

CIDR를 이용한 재래 흑염소의 발정동기화와 인공수정

최창용 · 강다원¹ · 조상래 · 김현중 · 최선호 · 최순호 · 김영근 · 노규진² · 최상용² · 손동수[†]
농촌진흥청 축산연구소 가축유전자원시험장

Effect of CIDR on Estrus Synchronization and Artificial Insemination of Korean Native Goat

C. Y. Choe, D. W. Kang¹, S. R. Cho, H. J. Kim, S. H. Choi, S. H. Choi, Y. K. Kim,
G. J. Rho², S. Y. Choe² and D. S. Son[†]

Animal Genetic Resources Station, National Livestock Research Institute, RDA

SUMMARY

Artificial insemination (AI) technology has widely applied in domestic animals including cattle for production and preservation of valuable animals. However, AI in goat was poorly studied. We here compared two different estrus synchronization methods, CIDR (controlled intravaginal drug release)+PGF_{2α} and CIDR+PMSG, in Korean native goats. After treatment of CIDR+PGF_{2α} or CIDR+PMSG for estrus synchronization, AI was applied to 38 recipients. Of 18 recipients treated with CIDR+PGF_{2α}, 4 recipients produced offsprings. However, no pregnancy was obtained in 20 recipients treated with CIDR+PMSG. Especially, after treatment of CIDR+PGF_{2α}, AI with fresh or frozen sperm showed markedly higher parturition rates than that of CIDR+PMSG. From these results, we suggest that combination of CIDR and PGF_{2α} could be used as good method for estrus synchronization in Korean native goats.

(Key words : artificial insemination, Korean native goat, estrus synchronization, frozen sperm)

서 론

재래 흑염소가 농가의 소득을 향상시키고 소비자의 요구에 알맞은 가축으로 정착되기 위해서는 현재 저조한 흑염소의 생산성을 보다 향상시키고 품종 고유의 특성을 계속 유지할 수 있는 개량증식방법이 강구되어야 한다. 이를 위해서는 우수한 종모축의 동결정액을 이용한 인공수정 기술이 개발되어 이용효율을 극대화시키는 기술이 선행되어야 할 것이다.

흑염소의 번식 특징 하나는 다른 가축에 비하여 번식능력의 계절성을 가진다는 것이다. 산양에 있어서 번식의 계절성은 품종 및 지리적인 위치 등에 주로 영향을 받는다. 산양의 번식계절은 북반구 온대지방에서는 단일번식동물로서 대체로 가을에 시작되지만, 일조시간, 기온 및 환경에 거의 변화가 없는 열대지방에서는 연중 번식이 가능하다(Dunn, 1982). 이러한 번식계절은 번식효율을 감소시키는 요인으로 작용하는데 이와 같은 번식효율을 개선하기 위하여 비번식계절에 인위적으로 발정 및 배란

¹ 경상대학교 의과대학 생리학교실(Department of Physiology, College of Medicine and Institute of Health Science, Gyeongsang National University)

² 경상대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University)

[†] Correspondence : E-mail : sonds@rda.go.kr

을 유기하여 수정시키거나 다태 임신율의 증진 및 수정란이식과 같은 방법을 활용하고 있다.

비번식계절의 무발정 산양에서 발정 및 배란을 유기시키는 방법으로는 번식계절이 시작되기 직전에 암컷과 수컷을 합사하는 사양관리 방법(Shelton, 1960), 일조시간의 조절에 의한 방법(Cheminéau 등, 1996; Bon durant 등, 1981), 호르몬처리 방법(Romano 등, 2000; Kusina 등, 2000; Greyling와 Vander Nest, 2000; Billings와 Katz, 1999; Freitas 등, 1997; Ritar 등, 1994, 1990), 황체퇴행물질인 prostaglandin의 주사에 의한 방법(Kusina 등, 2000; 나 등, 1994; 나, 1987) 등이 있다.

산양의 발정주기는 18~22일(평균 21일)로 이는 품종, 지역, 번식계절, 영양 및 환경적 요인 등에 따라서 달라지며, 특히 유산양은 번식 계절중에 9일 이하의 단발정주기도 관찰된다고 지적하고 있다(Jarose 등, 1971). 한편 재래 흑염소의 발정주기는 송 등(1984a)이 11일 이하의 단발정주기, 18~24일의 정상 발정주기 및 25일 이상의 장 발정주기로 구분하였으며 이들의 평균길이는 20.5일이라고 하였다.

산양의 발정주기중 혈중 progesterone농도의 변화는 발정기 때 1.0 ng/mL 이하의 낮은 수준이며, 이후 점차 증가하기 시작하여 발정 10~14일에 최고치에 이르고 발정 18일 이후부터 다시 다음 발정기까지 1.0 ng/mL 이하로 감소한다고 보고하고 있다(Abeyawardene와 Pope, 1990). 재래 흑염소에서 발정주기중 혈중 progesterone 농도의 변화는 송 등(1984b)이 발정주기가 20일인 재래 흑염소를 대상으로 발정일에서 발정 2일까지는 0.02~0.14 ng/mL, 발정후 6일에서 발정 16일까지는 4.46~8.98 ng/mL라고 보고하였고, 정 등(1984)도 발정일에서 발정 2일까지는 0.09~0.50 ng/mL, 5일부터 15일까지 2.78~5.98 ng/mL라고 보고하였다.

재래 흑염소에서 무발정 25두에 PMSG를 1회 주사한 결과 22두(88%)에서 발정이 발현되었고, 그중 10두가 교미를 하였으며, 10두 모두에게서 배란이 확인되었고 회수된 13개중 4개가 수정란이었다(나, 1987)는 보고가 있으며, 나 등(1994)은 2월에 12두를 대상으로 PGF_{2α} 5 mg을 11일 간격으로 투여하여 발정을 유기시킨 결과 투여후 45.4시간

에 10두가 발정이 발현되어 83%의 발정발현율을 나타내었고, 이를 자연교배시켜 9두가 임신되어 수태율이 90%를 나타내었으며, 교배후 153일에 쌍태 5복, 단태 4복의 새끼를 분만하였다.

가축의 인공수정 기술은 급속한 발달을 이루어 최근에는 동결정액의 개발로 소의 경우는 인공수정 기술이 보편화 되었다. 그러나 산양의 인공수정 보급률은 세계적으로도 아직 10% 미만이고 우리나라에서는 흑염소의 인공수정에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구는 재래 흑염소에 인위적으로 발정을 동기화시키고, 이를 이용하여 인공수정을 실시함으로써 흑염소도 다른 주요 가축과 마찬가지로 인공수정이 가능한 동물임을 확인하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 시험에 사용한 공시축은 축산연구소 가축유전자원시험장에서 사육하고 있는 재래 흑염소 중 이전에 번식 경험이 있는 건강한 흑염소를 9월에 발정동기화에 이용하였으며, 사양방법은 가축유전자원시험장의 사양방법에 따라 방사기(4월~10월)에는 방목장에서 오전 9시부터 오후 5시까지 윤환 방목으로 혼합목초를 자유채식하였고, 1일 기준 0.4 kg의 농후사료를 급여하였으며, 사사기와 방목 이후에는 건초와 물을 자유롭게 공급하였다.

2. 정액의 채취, 희석 및 동결

정액의 채취는 먼·산양용 electronic ejaculator를 이용하여 전기자극법으로 채취하였다. 채취한 정액은 정자가 저온충격을 받지 않도록 보온을 유지하면서 채취 즉시 실험실로 운반하여 pH, 정액량, 정자농도, 총정자수, 정자 운동성, 생존율, 형태적 기형을 등을 확인하였다. 정액 희석액은 원정액을 실험실로 운반즉시 222 g(Union 5KR[®], Hanil, Korea)에서 10분간 원심분리하여 정장물질을 제거한 후 Table 1과 같이 TYG(Tris-egg yolk-glycerol)액을 만들어 이용하였다.

정액의 동결은 정장물질이 제거된 상태에서 37℃의 7% glycerol이 함유된 희석액으로 희석하고

Table 1. Composition of extender for goat semen

Extender ingredients	TYG
Tris(hydroxymethyl)aminomethane(g)	3.03
Egg yolk(mL)	20
Fructose(g)	1.25
Citric Acid(g)	1.70
Glycerol(mL)	7
D.W.(mL)	72
Total volume(mL)	100.0

TYG ; Tris-egg yolk-glycerol.

피펫을 이용하여 세심하게 교반한 후 5℃ 냉장실에서 2시간 평형시켰다. 평형후 0.5 mL 스트로우 내에 스트로우당 정자수가 2×10^8 이 되게 분주 봉인한 다음 액체 질소 증기 5 cm 위에서 10분간 예비동결 시킨 후 액체 질소 탱크에 직접 침적하였다. 동결된 정액 스트로우는 인공수정시 37℃ 항온수조에서 10~15초간 용해하여 이용하였다.

3. 발정동기화 및 인공수정

1) CIDR+PGF_{2α}

발정동기화를 위해 9월 초순경 재래 흑염소의 외음부를 생리식염수와 70% 알콜솜으로 세척한 후 CIDR sheep and goat[®](Pharmacia and Upjohn, New Zealand)를 질내에 삽입하여 7일째 제거하였다. 제거 24시간전 3 mg의 PGF_{2α}(Lutalyse[®], Upjohn, USA)를 근육주사하고, PGF_{2α} 투여 40시간, 48시간째에 2차례 인공수정을 실시하였다. 인공수정은 질 점액을 분비하거나 승가를 허용한 개체를 이용하여 축산연구소에서 개발하여 특허(실용신안)등록된 가축인공수정기구(Fig. 1)를 이용하여 자궁경관을 직접 눈으로 확인하면서 경관을 통과한 후 정액을 주입하였다.

2) CIDR+PMSG

CIDR sheep and goat[®]를 질내에 삽입하고 15일째 제거하면서 동시에 PMSG(Folligon[®], Intervet,

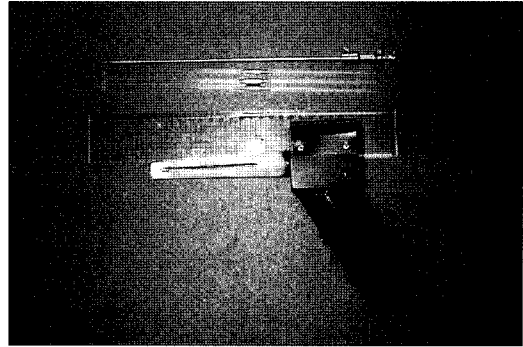


Fig. 1. Artificial insemination instrument for domestic animal.

Australia) 200 IU를 근육주사하였다. PMSG 투여 후 40, 48시간째에 발정 발현이 확인된 개체에 2차례 인공수정을 실시하였다.

4. Progesterone 농도 측정

발정동기화 처리기간동안 progesterone의 체내 농도 변화를 측정하기 위해 CIDR 삽입 전부터 인공수정 다음날까지 매일 오후 1시경 진공채혈관을 이용하여 경정맥에서 채혈하고 12시간동안 냉장보관 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액 혈청만을 채취한 후 호르몬 분석시까지 -20℃에 냉동보관하였다. 혈청 progesterone의 농도측정은 형광면역분석법(Fluorescence immunity assay)으로 측정하였다.

5. 통계처리방법

실험 결과의 통계학적 분석을 위하여 SAS(Statistical Analysis System) package를 이용하였으며, 요인별 반복수가 같지 않아 GLM(General Linear Models) procedure를 적용하여 각 요인의 least square means를 구하여 처리구간의 유의성을 검정하였다.

결 과

발정 동기화 방법에 따른 발정의 발현 및 발정 발현시간은 Table 2와 같다. CIDR+PGF_{2α} 방법은 55.6%(10/18두)에서 CIDR를 제거한 후 평균 16.3±2.5시간에 발정이 발현된 반면 CIDR+PMSG 방법

Table 2. Effect of different estrus synchronization methods on estrus induction times after removal of CIDR

Estrus synchronization	No. of goats	No. of goats estrus induced (%)	Time* (h) of estrus induction (Mean±SD)
CIDR+PGF ₂ α	18	10(55.6)	16.3±2.5 ^a
CIDR+PMSG	20	8(40.0)	40.0±3.5 ^b

* Time following removal of CIDR.

^{a,b} The value with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

은 40.0%(8/20두)에서 CIDR 제거후 40.0±3.5시간에 발정이 발현되었다.

동일한 시기에 인공수정을 위해 실시한 발정동기화 과정중 혈청내 progesterone농도는 Fig. 2와 같이 변화하는 양상을 보였다.

CIDR+PGF₂α와 CIDR+PMSG 두 처리구에서 CIDR 삽입 후 progesterone 농도가 5~15 ng/mL 농도로 상승하여 제거 당일까지 높은 수준의 progesterone의 혈중 농도를 유지하였다. 그러나 CIDR를 제거하면 다음날 바로 그 농도가 1 ng/mL 수준으로 급격히 떨어지는 것을 확인하였다. 따라서 CI-

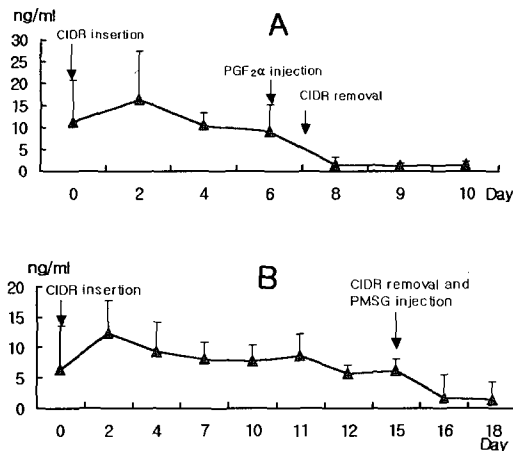


Fig. 2. Changes in serum progesterone concentration during estrus synchronization with combinations of CIDR with PGF₂α (A) or PMSG (B).

Table 3. Effect of different estrus synchronization treatment on parturition rate after artificial insemination

Estrus synchronization	Recipient treatments*		Parturition(%)
	Sperm	No. of goats inseminated	
CIDR+PGF ₂ α	Fresh	8	2(25.0)
	Frozen	10	2(20.0)
CIDR+PMSG	Fresh	10	0
	Frozen	10	0

*Estrus was synchronized either of CIDR with PGF₂α or with PMSG.

DR 주입전 개체별 progesterone의 초기 농도에 상관없이 CIDR 제거시 progesterone의 급격한 하강을 유도하여 발정을 동기화 시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

발정 동기화 방법별, 사용정액의 종류별 인공수정후의 분만율은 Table 3과 같다.

CIDR+PGF₂α를 사용하였을 경우 신선 정액에서 25%(2/8두), 동결정액에서 20%(2/10두)의 분만율을 나타내었으며 1~2두의 산자를 생산하였다. 그러나 CIDR+PMSG를 발정 동기화 방법으로 사용한 경우에는 20두의 인공수정후 분만에 이르지 못하였다.

고찰

산양은 계절번식 동물로서 번식시기가 봄, 가을로 편중되어 있는 경향이 있다. 이에 본 연구에서는 재래 후염소를 인위적으로 발정을 유지시키고, 발정 유도시간별 호르몬의 변화 양상을 조사하며, 발정이 발현된 개체에 인공수정을 실시하여, 인공수정을 보편적으로 실시하는 한우, 젖소처럼 인공수정의 가능 여부를 확인하고자 하였다.

발정 동기화를 위해 장착한 CIDR를 제거하면 다음날 바로 progesterone의 농도가 1 ng/mL 수준으로 급격히 떨어지는 것을 확인하였다. 이는 CIDR의 제거 즉시 progesterone의 농도가 1 ng/mL 이하로 떨어졌다는 Billing와 Katz(1999)의 결과와

일치하였고, 질내 progesterone 스펀지(Kusina 등, 2000; Greyling와 Vander Nest, 2000)나 norgestomet(Kusina 등, 2000)의 귀내 삽입물을 발정 동기화 제제로 사용하였을 경우 제거 즉시 progesterone 농도가 떨어졌다는 보고와도 유사한 결과를 나타내었다.

산양의 발정주기중 혈중 progesterone 농도의 변화는 발정기 때 1.0 ng/mL 이하의 낮은 수준이며, 이후 점차 증가하기 시작하여 발정 10~14일에 최고치에 이르고 발정 18일 이후부터 다시 다음 발정기까지 1.0 ng/mL 이하로 감소한다고 보고하고 있다(Abeyawardene와 Pope, 1990). 본 실험에서도 CIDR의 제거후 progesterone의 농도가 발정기의 수준인 1.0 ng/mL 정도의 수준으로 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 따라서 CIDR의 이용이 인공수정을 위한 발정 동기화 처리방법으로 효과적인 것으로 사료된다.

본 실험에서 CIDR+PGF_{2a} 방법을 이용하여 신선정액에서 25%(2/8두), 동결정액에서 20%(2/10두)의 분만율을 나타낸 반면 CIDR+PMSG를 발정 동기화 방법으로 사용하였을 경우 분만까지 이르지 못하는 못하였는데, Ritar 등(1990)과 Greyling과 Vander Nest(2000)은 CIDR+PMSG 투여방법으로 40.7%와 65~80%, Romano 등(2000)은 progesterone 스펀지 삽입으로 73.7%의 수태율을 보고하였고, Freitas 등(1997)은 progesterone 스펀지나 norgestomet ear implant와 PMSG의 투여로 45.5~75.0%의 분만율을 보고하였다. Kusina 등(2000)은 progesterone 스펀지 삽입으로 70%, norgestomet ear implant로 64%, PGF_{2a} 제제인 cloprostenol의 10일 간격 2회 투여로 82% 및 progesterone 스펀지와 cloprostenol 병용 투여로 83%의 분만율을 보고하였다. 본 실험에서 CIDR를 이용한 발정 동기화 방법을 재래 흑염소에 이용할 경우 PGF_{2a} 제제를 이용하여 황체를 퇴행시킴으로 발정을 명확히 발현시키는 것이 과배란제제인 PMSG를 사용하는 것보다 분만율을 높일 수 있는 방법으로 사료된다.

이처럼 외국과 본 실험에서 분만율의 차이가 현격히 나타나는 이유로 발정 동기화 방법의 미숙, 자체 생산된 동결정액의 질 저하, 산양 사육환경의 차이, 시술자의 기술 부족 등 여러 가지 원인이 있

겠으나 재래 흑염소에서 지금까지 거의 접근하지 못했던 발정 동기화 후 인공수정으로 산자를 생산한 자체에 큰 의미를 부여할 수 있다. 따라서 계속적인 재래 흑염소의 인공수정방법에 대한 연구를 수행한다면 우리나라 고유 가축인 재래 흑염소의 개량과 유전자원의 보존에 크게 기여할 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 재래 흑염소의 인공수정기술을 개발하여 우수한 재래 흑염소의 이용효율을 극대화 시키는데 그 목적을 두고 축산연구소 가축유전자원 시험장에서 사육하고 있는 재래 흑염소의 정액을 채취하여 이를 동결보존한 후 필요시 사용하였다. 발정 동기화 처리로 인위적으로 발정을 유기한 개체에 인공수정을 실시하여 처리방법별 발정 유기율, 호르몬의 변화양상 및 분만율을 조사하였다. 발정 동기화 방법 중 CIDR+PGF_{2a} 방법에서 55.6%, CIDR+PMSG 방법에서 40.0% 발정이 발현되었다. CIDR+PGF_{2a}와 CIDR+PMSG 두 처리구에서 CIDR삽입 후 progesterone 농도가 상승하여 CIDR 제거하는 당일까지 높은 수준의 progesterone의 혈중 농도를 유지하였다. 그러나 CIDR를 제거하면 다음날 바로 그 농도가 1 ng/mL 수준으로 급격히 떨어지는 것을 확인함으로써 재래 흑염소의 발정 동기화를 위해 CIDR를 이용하는 것이 유용한 방법으로 확인되었다. 이들 중 CIDR+PGF_{2a}를 사용하였을 경우 신선 정액에서 25%, 동결정액에서 20%의 분만율을 나타내었다.

참고문헌

- Abeyawardene SA and Pope GS. 1990. Concentrations of oestradiol-17 β in plasma and milk and progesterone in plasma during the oestrous cycle and in early pregnancy in goats. Br. Vet. J., 146:101-105.
- Billings HJ and Katz LS 1999. Facilitation of sexual behavior in french-alpine goats treated with intravaginal progesterone-releasing devices and

- estradiol during the breeding and nanbreeding seasons. *J. Anim. Sci.*, 77:2073-2078.
- Bon Durant RH, Darien BJ, Munro CJ, Stabenfeldt GH and Wang P. 1981. Photoperiod induction of Fertile oestrus and changes in LH and progesterone concentrations in yearling dairy goats (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.*, 63:1-9.
- Chemineau P, Malpoux B, Pellétier J, Leboeuf B, Delgadillo JA, Deletang F, Pobel T and Brice G. 1996. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photoperiodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA. Prod. Anim.*, 9:45-60.
- Dunn P. 1982. The goatkeeper's Veterinary Book. Farming press LTD. pp. 134-140.
- Freitas VJF, Baril G and Saumande J. 1997. Estrus synchronization in dairy goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Animal. Reprod. Sci.*, 46:237-244.
- Greyling JPC and Vander Nest M. 2000. Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. *Small. Ruminant. Res.*, 36:201-207.
- Jarose SJ, Deans RJ and Dukulow WR. 1971. The reproductive cycle of the African Pygma and Toggenburg goat. *J. Reprod. Fertil.*, 24:119-123.
- Kusina NT, Tarwirei F, Hamudikuwanda H, Agumba G and Mukwena J. 2000. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF₂ α , and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of mashona goat does. *Theriogenology*, 53:1567-1580.
- Ritar AJ, Ball PD and O'may PJ. 1990. Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2:377-384.
- Ritar AJ, Robertson JA and Evans G. 1994. Ovu-latory activity, hormonal induction of ovulation and fertility of young cashmere and angora female goats in a temperate environment. *Reprod. Fertil. Dev.*, 6:737-747.
- Romano JE, Grabo BG and Christians CJ. 2000. Effect of sterile service on estrus duration, fertility and prolificacy in artificially inseminated dairy goats. *Theriogenology*, 53:1345-1353.
- Shelton M. 1960. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrus cycling and ovulation of Angora does. *J. Anim. Sci.*, 19: 368-375.
- 나진수, 임계택, 손창호. 1994. 한국재래산양의 발정유기 및 임신기간중 혈장 progesterone 수준 변화. *한국축산학회지*, 36:374-378.
- 나진수. 1987. 재래산양에서 월별 발정발현상황의 조사 및 발정의 유기. *한국축산학회지*, 29:288-294.
- 송또준, 박충생, 최상용. 1984a. 재래산양의 발정주기 및 발정 지속시간에 관한 연구. *한국축산학회지*, 26:523-529.
- 송또준, 박충생, 최상용. 1984b. 재래산양의 발정주기중 혈중 Progesterone 및 Estradiol-17 β 의 수준의 변화. *한국축산학회지*, 26:534-540.
- 정영호, 정영채, 김창근. 1984. 한국재래산양의 번식과정에 따른 혈청내 progesterone과 estradiol-17 β 의 수준 변화에 관한 연구. *한국가축번식학회지*, 8:100-109.

(접수일: 2005. 10. 15 / 채택일: 2005. 12. 17)