

FSH 투여 용량과 방법에 따른 한우의 과배란 처리 효율

최수호¹ · 박용수¹ · 손우진² · 이준희³ · 노규진² · 김주현² · 최상용^{2,†}

¹경상북도 축산기술연구소, ²경상대학교 수의과대학, ³경상대학교 농업생명과학대학

Superovulation Response by FSH Treatments in Hanwoo

Soo-Ho Choi¹, Yong-Soo Park¹, Woo-Jin Son², Joon-Hee Lee³, Gyu-Jin Rho²,
Joo-Heon Kim² and Sang-Yong Choe^{2,†}

¹Kyungbuk National Livestock Research Institute, Yeongju 750-871, Korea

²College of Veterinary Medicine and ³Division of Applied Life Science, College of Agriculture and Life Science,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT

The present study was carried out to assess the effect of superovulation response and efficiency of embryo production induced with injection of FSH dissolved in polyethylene glycol (PEG) in Hanwoo. Eighty-eight cows were divided into four groups. In group 1, cattle were intramuscularly treated with twice-daily administration of 50 mg FSH for 4 days. Group 2 and 3 were subcutaneously single injection of 400 mg and 200 mg FSH dissolved in 30% PEG, respectively. Group 4 were subcutaneously single injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG at 7 day after CIDR insertion. The number of corpus luteum (CL) in group 2 resulted in significantly ($p < 0.05$) higher compared to group 1, 3 and 4 (18.5 vs. 11.2, 13.1 and 13.9, respectively). However, the number of total ova (7.9~10.4), transferable embryos (3.7~4.7), degenerate embryos (1.9~3.5) and unfertilized ova (1.8~2.7) did not differ among treatment groups. No difference was observed in pregnancy rate after transferring the recovered embryos among groups (36.0~50.0%). In addition, blood progesterone concentrations at embryo recovery did not differ among all groups. In conclusion, although no differences were observed in the number of total ova, transferable embryos and pregnancy rate after transfer, a single injection of reduced dose of FSH (200 mg FSH) at 7 day after CIDR insertion is more practical for superovulation treatments than frequent injection because of reduction of stress in Hanwoo and decreases of cost and labor.

(Key words : Superovulation, Embryo transfer, *In vivo* embryos, Hanwoo)

요 약

본 실험은 polyethylene glycol (PEG)에 용해시킨 FSH의 투여 방법과 용량에 따른 체내 수정란 생산 효율을 난소 반응과 회수되는 수정란의 수량과 품질, 수정란 이식 효율을 조사하였다. 공란우 88마리를 네 군으로 구분하였다. 처리 1군은 50 mg의 FSH를 하루 2회 4일 동안 투여하였으며, 처리 2 및 3군은 30% PEG에 녹인 400 mg과 200 mg의 FSH 용량을 1회 투여하였으며, 처리 4군은 CIDR로 처리 후 7일째에 30% PEG에 녹인 200 mg의 FSH를 처리하였다. 과배란 처리 후 황체수에서는 처리 1, 2, 3 및 4군에서 각각 11.2, 18.5, 13.1 및 13.9개로서, 처리 2군에서 다른 처리군보다 유의적으로 ($p < 0.05$) 높았다. 회수된 난자의 총 수에서 각 군의 결과는 8.5, 10.4, 8.7 및 7.9개였으며, 이식 가능한 수정란 수에서 각 군의 결과는 3.9, 4.3, 4.7 및 3.7개로 군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 각 과배란 처리 방법에 따라 생산된 수정란의 이식 후 수태율 (36.0~50.0%) 및 채란시 혈중 progesterone 농도 또한 군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 결론적으로 공란우에 스트레스를 적게 주며 과배란 처리 호르몬 비용과 노동력을 줄일 수 있으며, 여러 마리의 공란우를 발정 주기에 상관없이 한 번에 과배란 처리를 할 수 있는 CIDR를 사용 후 7일째 200 mg의 FSH를 1회 투여 방법이 축산 현장에서 적용하기에 매우 유용한 방법이라 사료된다.

서 론

수정란 이식 기술을 산업화하기 위해서는 근본적으로 과배란 처리 방법이 확립되어야 한다. 과배란 처리 방법

[†] Corresponding author : Phone: +82-55-751-5824, E-mail: sychoe@gsnu.ac.kr

은 소 수정란 이식에 있어서 가장 핵심적인 기술이지만 아직까지 이식 가능한 수정란을 안정적이고 효율적으로 생산하는 데 많은 문제점이 남아 있다. 소의 과배란 처리 호르몬으로는 PMSG와 FSH가 있다. PMSG는 sialic acid가 함유된 복합 당단백질로 투여 후 2차 난포를 자극하여 난포란의 발육을 촉진시키는데, 회수된 수정란의 수량은 많지만 수정란의 질이 저하되고 난포의 배란 지연이나 난포낭종 발생을 야기하여 다음 발정 주기에 나쁜 영향을 미치게 된다(Monriax 등, 1983). 이와 반대로 뇌하수체에서 추출한 FSH를 사용하는 과배란 처리 방법의 경우, 회수되는 수정란의 질은 PMSG보다 우수하나, 4~5시간의 짧은 반감기로 인해 하루에 2회씩, 4일간 연속해서 투여해야 하는 단점이 있다(Walsh 등, 1993; Demoustier 등, 1998). 또한, 동일 공란우에서도 발정 주기 중 호르몬 처리 개시일과 투여량(Akbar 등, 1974; Nasser 등, 1993; Bo 등, 2002)에 따른 변이가 많으며, 주위 환경의 온도 stress(Wolfenson 등, 1997), 공란우의 호르몬 감수성 저하(Shea 등, 1984), FSH 제제에 함유되어 있는 LH의 성분 비율(Murphy 등, 1984; Lindsell 등, 1986; Gonzalez 등, 1990; Willmott 등, 1990) 등도 문제점으로 알려져 있다.

FSH로 과배란을 유기할 때의 문제점은 주사로 인한 소의 스트레스를 야기하며, 12시간 간격으로 FSH를 투여해야 하는 등에 따른 노동력과 수정란 생산 경비의 증가 등이 제시되고 있다. 이러한 과배란 방법의 문제점을 해결하기 위해 FSH의 생리적 반감기를 인위적으로 연장시킬 수 있는 방법으로 FSH 흡수를 지연시킬 수 있는 고분자 유기물질인 PVP(polyvinylpyrrolidone), CMC(carboxymethyl cellulose), propylene glycol, PEG(polyethylene glycol) 등을 사용하여 호르몬의 투여 횟수를 줄이는 방법이 연구되어 왔다(Lopez-Sebastian 등, 1993; Suzuki, 1993; Takedomi 등, 1995; 임 등, 1998; 최 등, 2002). 국내에서는 실험동물인 토끼에서 최 등(1996)이 Folltropin-V를 25% PVP에 녹여 과배란을 유기하여 1회 투여가 다회 투여와 유사한 효과를 나타내어 간편하고 실용적인 방법이라고 보고하였다. 또한, 산업동물인 한우에서도 임 등(1998)은 1회 투여시 FSH의 용해제의 종류와 농도를 선정하기 위하여 1%와 5% CMC, 30%와 50% PVP, 30%와 50% PEG에 용해시킨 FSH의 1회 주사와 기존의 다회 주사에 의한 난소 반응을 비교 검토한 결과를 다회 투여와 비교하였을 때, 30% PEG에서 발정 유기율, 채란수와 정상수정란 수가 더 높게 나타났으며, FSH의 주사 후 7일째 혈중 progesterone 농도도 다른 용매제에 비해서 높게 나타났다고 보고하였다.

최 등(2002)에 의하면 200 mg 1회 투여가 400 mg 1회 투여와 50 mg 8회 투여에 비하여 이식 가능한 수정란의 수가 더 많다고 보고하였으나 시험두수가 적었다. 또한, 임 등(1998)은 한우의 과배란 처리 성적이 변이성이 크다고 보고하였다.

과배란 처리 전에 CIDR를 삽입하고 제거하면서 발정 유기를 시켰을 경우와 자연 발정 주기 중에 과배란 처리를 시작하여 PGF₂α 투여로 황체를 퇴행시키면서 발정 유기를 시켰을 때, 총 회수된 수정란의 수와 이식 가능한 수정란의 수는 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다(Lafri 등, 2002). 그러나 발정 유기에 상관없이 LH peak와 인공수정 사이의 10시간 전후로 과배란 처리 성적에

는 큰 영향을 보였다고 보고하였다. Son 등(2007)은 EB-CIDR, GnRH-CIDR 처리군과 발정 주기 중에 과배란 처리군 간의 성적에는 유의적인 차이는 보이지 않았지만, 발정 주기 중의 과배란 처리 성적이 더 좋은 것으로 보고하고 있다.

신선 수정란을 채란 후 이식하기 위해서는 수란우의 이식일자에 맞추어 공란우의 과배란 처리가 요구되고 있다. 하지만 FSH 1회 투여와 CIDR를 함께 사용한 후 그 효과를 알아본 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 실험은 체내에서 FSH의 흡수를 지연시키는 고분자 유기물질인 30% PEG을 이용하여 FSH를 용해한 후, 다회 투여와 1회 투여, 400 mg과 200 mg FSH의 용량, CIDR의 전 처리가 공란우의 발정 유기, 황체수, 이식 가능한 수정란 수, 이식 후 수태율에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

공시동물

본 실험에 공시된 공란우는 경상북도 축산기술연구소에서 사육중인 88두의 중빈우를 사용하였다. 3대 이상 혈통이 확인된 체형이 좋으며, 생식기 상태가 양호하고 발정 주기가 정상이며 신체총질도(body condition score, BCS, Edmonson 등, 1989)는 1~5 기준으로 2.75~3.75인 등급을 선별하였다. 또한, 아까바네병, 전염성 비기관염, 소 바이러스성 하리 등에 대한 예방접종을 정기적으로 실시하였으며, 결핵, 브루셀라병, 요네병, 백혈병 등 각종 전염병의 발생이 없는 개체를 선별하였다.

수란우는 경상북도 축산기술연구소에 사육하고 있는 건강 상태와 번식 능력은 양호하나 이모색이 있으며, 외모 심사점수가 낮은 미경산우 및 경산우 70두를 사용하였다.

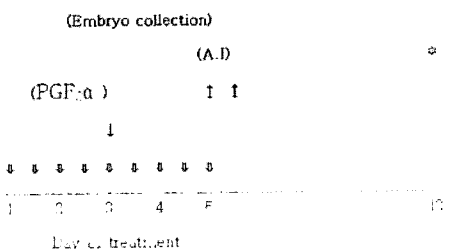
과배란 처리

과배란 처리는 4가지 방법을 사용하였으며, 자연발정 상태에서 공란우의 발정 후 9~13일째 FSH(Falltropin-V, Vetrepharm, Canada)를 8회 투여하거나 1회 투여하여 과배란 처리를 개시하였다. 제 1군은 대조군으로서 1일 12시간 간격으로 2회 주사하면서 4일간 총 400 mg의 FSH(1회; 50 mg)를 근육주사하였고(Gonzalez 등 1990), 제 2군은 30% polyethylene glycol(PEG)에 용해시킨 400 mg의 FSH를 견갑부 피하에 1회 주사하였고, 제 3군도 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 견갑부 피하에 1회 주사하였다. 제 4군은 과배란 처리 7일전에 CIDR(progesteron 1.9 g, estradiol 10 mg, InterAG, New Zealand) 전 처리하고 나서 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 견갑부에 피하에 1회 주사하였다. 발정을 유도하기 위해 PGF₂α (Lutalyse, Upjohn, Belgium) 25 mg을 FSH 처리 후 48시간째 근육주사 하였다(Fig. 1).

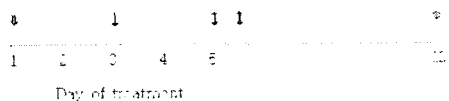
인공수정

PGF₂α 주사 후 48시간째 발정관찰 없이 12시간 간격으로 2회 인공수정을 실시하였으며, 인공수정에 사용된 정액은 농협에서 공급된 한우 동결정액(KPN 336, 480)을 사용하였다.

Group 1. Multiple doses of FSH 50 mg



Group 2. Single dose of FSH 400 mg in 30% PEG



Group 3. Single dose of FSH 200 mg in 30% PEG



Group 4. CIDR + Single dose of FSH 200 mg in 30% PEG

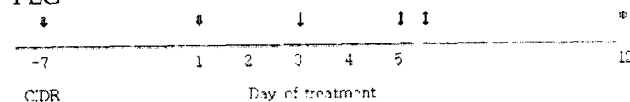


Fig. 1. Treatment schedules for superovulation and embryo collection. ↓, FSH injection; ↓, PGF₂α; ↑↑, Artificial insemination; *, Embryo collection.

황체 및 수정란 검사

1차 인공수정 후 7일째 직장 검사를 통해 과배란 처리된 공란우의 난소를 촉진하거나 초음파(7.5 MHz rectal probe, sonovet-600; Medison, Korea)를 이용하여 황체의 개수를 조사하고 수정란을 회수하였다(Fig. 2). 수정란 회수는 비외과적 관류 방법으로 2% Lidocaine(광명약품, 한국)를 제 1~3미추 사이에 7 ml 주사하여 경막 외 마취를 실시한 후 배변반사가 일어나지 않을 때, 각각의 자궁각에 Foley catheter(FHK, Nipro, Japan)를 완전하게 고정시킨 후 embryo collection medium(Agtec, USA)을 관류액으로 사용하여 수정란을 회수하였다. Foley catheter를 이용한 자궁 내 수정란 관류 방법은 30ml 주사기를 이용

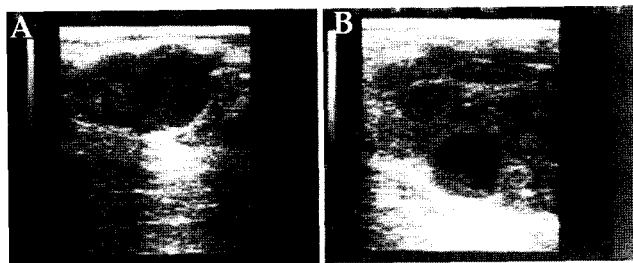


Fig. 2. Ultra-sonography of corpus luteum in the ovary. A) 10 days after estrus, B) 7 days after superovulation.

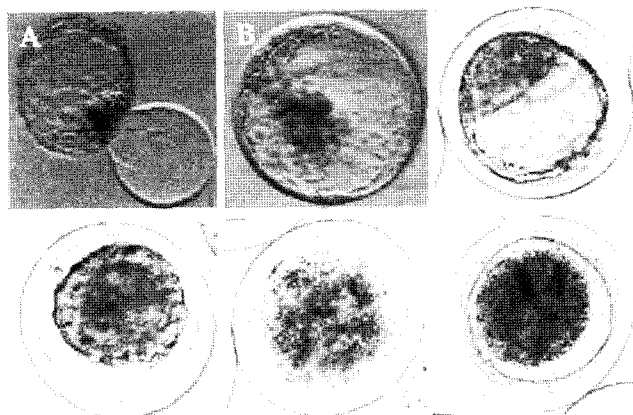


Fig. 3. Embryos collected by using of Folltropin-V at 7 day after artificial insemination (x100). A) Hatched blastocyst, B) Expanded blastocyst, C) Intact blastocyst, D) Morula, E) Degenerated embryo, F) Unfertilized embryo.

하여 주입과 흡입을 2~3회씩 반복하여 채란하였고, 약 8 회 정도 반복하여 관류하면서 embryo collection filter (FHK, Nipro, Japan)에 담아서 수정란 채집을 용이하게 하였다.

Embryo collection filter(FHK, Nipro, Japan)를 도립현 미경(Olympus, Japan) 100배 배율에서 검경하여 수정란의 발육 단계와 등급을 Linder와 Wright(1983)의 기준에 따라 아래와 같이 형태학적으로 평가하였다(Fig. 3).

수정란 이식 및 임신진단

수정란은 발정 후 6~7일째 된 수란우에서 경막외마취 없이 직장질법에 의한 자궁경관 경유법(비외과적인 이식 방법)을 이용하여 회수하였다. 1, 2등급으로 확인된 상실 배기 또는 배반포기 수정란 한 개를 0.25 ml straw에 장착한 후, 수정란 이식용 주입기로 황체 측 자궁각에 이식하였다. 임신 진단은 이식 후 약 2개월째 직장검사 방법으로 자궁각과 태막을 촉진함으로써 임신을 확인하였다.

혈중 Progesterone 농도 측정

공란우의 혈액은 수정란의 회수시 경정맥으로부터 채취하였다. 채취한 혈액은 EDTA나 heparin이 처리되지 않은 멸균 튜브에 담아서 실온에서 약 2~3시간 보관 후 717 × g에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 호르몬 분석 전까지 -20℃에서 보관하였다. 혈청 progesterone 농도는 Coat-A-Count progesterone(DPC, USA)를 이용하여 Radioimmunoassay(RIA) 방법에 따라 COBRA II(PACKARD, USA)로 측정하였다.

통계처리

실험 결과의 통계적 분석은 χ^2 -test을 이용하여 임신율의 유의성 분석을 하였으며, ANOVA의 Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test를 적용하여 각 처리 구간의 난소 반응, 수정란 회수율, 수정란 평가, 임신율 및 혈중 progesterone 농도에 관한 유의성을 검정하였다. $p < 0.05$ 일 때 각 군간의 유의성을 인정하였다.

Table 1. Numbers of corpus luteum and embryos recovered by different superovulation treatments

Treatment groups*	No. of cow	No. of corpus luteum	No. (%) of recovered embryos**	No. (%) of transferable embryos***
1	23	11.2±5.1 ^b	8.5±5.0(75.9)	3.9±3.1(45.9)
2	10	18.5±7.5 ^a	10.4±7.2(56.2)	4.3±4.0(41.3)
3	23	13.1±5.1 ^b	8.7±5.1(66.4)	4.7±3.9(54.0)
4	32	13.9±6.4 ^b	7.9±6.0(56.8)	3.7±3.8(46.8)

^{ab} Value with different superscripts in the row were significantly different ($p<0.05$).

* 1 : Cows administered total 400 mg FSH injected intramuscularly twice daily for 4 days.

2 : Cows administered a single subcutaneous injection of 400 mg FSH dissolved in 30% PEG.

3 : Cows administered a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

4 : Cows inserted a CIDR at 7 day ago before a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

** Proportion data of recovered ova/embryos out of total number of corpus luteum.

*** Proportion data of transferable embryos out of total number of recovered embryos.

Data showed Mean±S.D.

결 과

공란우의 황체수와 수정란 생산

각 과배란 처리에 따른 공란우의 황체수와 수정란의 회수 결과는 Table 1과 같다. 제 1, 2, 3 및 4군의 평균 황체수는 각각 11.2±5.1, 18.5±7.5, 13.1±5.1 및 13.9±6.4개로 나타났다. 30% PEG에 용해시킨 400 mg의 FSH를 1회 피하 주사한 제 2군은 나머지 군과 평균 황체수를 비교하였을 때 유의적으로($p<0.05$) 높게 나타났다. 회수된 난자와 수정란 수에 있어서도 각 군의 결과가 8.5±5.0, 10.4±7.2, 8.7±5.1 및 7.9±6.0개로 비슷한 수치를 보였으며, 군간의 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 회수율은 회수된 난자와 수정란 수를 황체수로 나눈 값의 백분율이며, 제 1군이 다른 군에 비해 높은 회수율(75.9%)을 나타내었고, 2군의 회수율은 56.2%로 가장 낮았다. 회수된 수정란에서 이식 가능한 수정란인 1등급과 2등급의 수는 각 군당 3.9±3.1, 4.3±4.0, 4.7±3.9 및 3.7±3.8개로 비슷한 결과를 보였으며, 회수된 난자와 수정란 수도 비슷하여 유의성은 인정되지 않았다. 회수된 수정란에 대한 이식 가능한 수

정란의 비율은 FSH 200 mg 1회 투여한 3군은 54.0%를 보였고, 나머지 1, 2, 4군에서는 비교적 낮은 45.9%, 41.3% 및 46.8%의 결과를 보였으나, 군간의 유의적인 차이는 인정되지 않았다.

수정란 평가

채란된 수정란의 평가는 Linder와 Wright(1983)의 평가 기준에 따라 1등급과 2등급 수정란을 이식 가능한 수정란, 3등급을 변성란, 4등급은 미수정란으로 분류하였다. 이식 가능 수정란은 제 3군에서 4.7개로 가장 많이 나왔고, 4군에서 3.7개로 가장 적게 나왔으나 유의적인 차이는 보이지 않았다 (Table 2). 또한, 회수된 수정란 중에 미수정란의 발생이 가장 낮은 군은 제 3군으로 1.8개였으며, 1군에서 가장 높은 2.7개를 보였으나 유의적 차이는 없었다.

수태율

각기 다른 처리군에서 회수된 1등급과 2등급의 이식 가능한 수정란 1개를 발정이 확인된 수란우에 이식한 후 60일째 임신 진단에 따른 결과를 Table 3에 나타내었다.

Table 2. Quality of embryos recovered by different superovulation treatments

Treatment groups*	No. of cows	No. of non-fertility ovum	No. of degeneration	No. of transferable
1	23	2.7±4.2	1.9±2.0	3.9±3.1
2	10	2.6±3.6	3.5±4.1	4.3±4.0
3	23	1.8±2.8	2.2±2.2	4.7±3.9
4	32	2.4±4.2	1.9±1.6	3.7±3.8

* 1 : Cows administered total 400 mg FSH injected intramuscularly twice daily for 4 days.

2 : Cows administered a single subcutaneous injection of 400 mg FSH dissolved in 30% PEG.

3 : Cows administered a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

4 : Cows inserted a CIDR at 7 day ago before a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

Data showed Mean±S.D.

Table 3. Pregnancy rates after transfer of embryos recovered by different superovulation treatments

Treatment groups*	No. of recipients	No. of transferred embryos	No. of pregnant recipients	Pregnancy rate (%)
1	8	8	4	50.0
2	11	11	4	36.4
3	26	26	12	46.2
4	25	25	9	36.0
Total	70	70	29	41.4

* 1 : Cows administered total 400 mg FSH injected intramuscularly twice daily for 4 days.

2 : Cows administered a single subcutaneous injection of 400 mg FSH dissolved in 30% PEG.

3 : Cows administered a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

4 : Cows inserted a CIDR at 7 day ago before a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

제 1군은 8두에 이식하여 4두가 수태되어 50.0%로 가장 높은 수태율을 보였으나, 각 군간 수태율은 36.4%, 46.2% 및 36.0%로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈중 Progesterone 농도

각기 다른 과배란 처리 방법에 따라 채란시 채취된 혈액의 혈중 progesterone 농도를 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 과배란 처리 호르몬인 FSH를 50 mg씩 다회 투여 군과 FSH 200 mg을 1회 투여한 군의 농도는 10.0±3.5 ng/ml와 10.5±5.7 ng/ml로 유사하였다. 나머지 FSH 400 mg을 1회 투여한 군과 CIDR를 전 처리한 FSH 200 mg 1회 투여군의 농도가 14.2±6.7 ng/ml와 15.7±3.2 ng/ml로 유사하였고, 앞서 두 군보다는 높았지만 각 처리구별 혈중 progesterone 농도는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

고찰

본 연구에서는 공란우의 호르몬 처리 방법에 따른 공

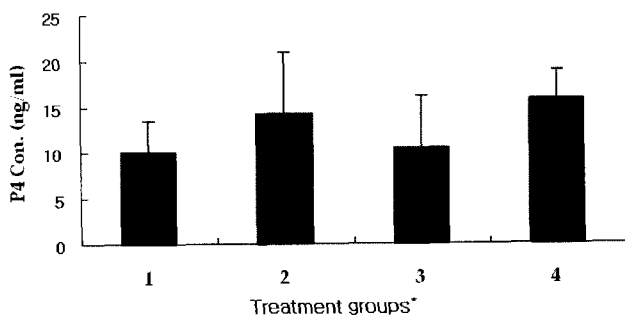


Fig. 4. Comparisons of plasma progesterone concentration at the time for embryo flushing in cows that treated by different superovulation regimens. * 1 : Cows administered total 400 mg FSH injected intramuscularly twice daily for 4 days, 2 : Cows administered a single subcutaneous injection of 400 mg FSH dissolved in 30% PEG, 3 : Cows administered a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG, 4 : Cows inserted a CIDR at 7 day ago before a single subcutaneous injection of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG.

란우의 발정 유기, 황체수, 이식 가능한 수정란 수 그리고 이식 후 수태율을 조사하였다.

과배란 처리 방법에 따른 공란우의 난소 반응 및 수정란 회수 결과를 살펴보면, FSH 50 mg의 다회 투여, FSH 400 mg 1회 투여, FSH 200 mg 1회 투여, CIDR+FSH 200 mg 1회 투여시 황체수에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Dattena 등(1994)의 보고에서는 p-FSH 16 mg을 30% PVP 용액에 용해시켜 1회와 다회 투여 후 8.6개와 7.8개의 황체수를 기록하여 본 연구 결과보다 낮은 황체수를 보여주었다. 이는 투여된 FSH 용량에 따른 차이와 암양과 암소의 품종별 차이로 인하여 나타난 결과로 생각된다. 하지만 본 연구의 400 mg 1회 투여의 황체수가 18.5개로 임 등(1998)이 보고한 75 unit FSH의 다회 투여와 30% PEG에 용해한 FSH의 1회 투여 후 결과인 12.6개 및 24.8개와 유사한 결과를 보였다. 이는 과배란 처리한 개체의 품종이 동일하였기 때문에 나타난 결과로 사료된다. 젖소에서는 30% PVP에 용해시킨 20~50 mg의 FSH 1회 근육주사가 효과적이었다고 보고되었다(Yamamoto 등, 1994). 임 등(1998)에 의하면 30% PEG에 용해시킨 75 unit FSH의 1회 투여와 다회 투여 후 회수된 난자의 총 수는 각각 19.5와 8.8개였으며, 이식 가능한 수정란 수는 9.9개와 5.4개로 본 연구의 FSH 200 mg 사용한 결과와 유사하였다. 이러한 결과는 FSH의 체내 흡수가 PEG로 인하여 충분히 지연되었기 때문에 나타나는 현상으로 FSH의 잔존 효과가 증가되었다는 것을 알 수 있다. 따라서 투여 용량을 절반으로 사용하였을 경우에도 비슷한 결과를 보이므로 FSH 200 mg의 사용이 경제적으로 유리한 방법이라고 생각된다.

Son 등(2007)은 4일간 8회 투여하는 FSH를 사용하는 처리군에서 EB-CIDR와 GnRH-CIDR를 전 처리한 군과 발정 주기 중에 과배란 처리를 한 군을 각각 성적을 비교하였는데, 회수된 난자의 총 수는 10.0개, 6.7개 및 9.1개이며, 이식 가능한 수정란 수는 4.0개, 4.0개 및 6.0개로 유의적인 차이는 보이지 않았다. 하지만 발정 주기 중의 과배란 처리 성적이 더 효과적이라고 보고하였다. Lafri 등(2002)에 의하면 과배란 처리 전에 CIDR를 삽입하고 제거하면서 발정 유기시켰을 경우와 자연 발정 주기 중에 과배란 처리를 시작하여 PGF₂α 투여로 황체를 퇴행시키면서 발정 유기시켰을 때 총 회수된 수정란 수는

11.2개와 11.1개이며, 이식 가능한 수정란 수는 5.8개와 6.1개로 유의적인 차이가 없었다고 하였다. LH peak와 인공 수정 시간이 짧은 군의 경우에는 과배란된 난자의 체내 성숙 시간이 충분치가 못하기 때문에 회수되는 수정란의 수는 유사하나, 수정란의 질적 저하를 보인다고 보고하였다. 본 실험에서도 FSH 200 mg을 1회 투여한 군과 CIDR를 전 처리한 그룹에서 난소 반응, 수정란 회수율과 이식 가능한 수정란 수에서 유의적인 차이를 보이지 않으므로 호르몬 비용을 줄일 수 있고 공란우의 채란 시점과 수란우의 이식 시기를 일치시킬 수 있는 CIDR의 전 처리가 과배란 처리에 있어 유용한 방법으로 사료된다.

Human menopausal gonadotropin(hMG)에서 Sugano와 Shinogi(1999)은 450 IU와 600 IU를 30% PVP와 섞어서 근육으로 1회 주사하는 것과 600 IU를 3일 동안 다회 주사하는 방법, FSH 30 mg을 30% PVP와 섞어서 피하로 주사하는 방법을 비교하였을 때, 이식 가능한 수정란의 수가 hMG는 5.4개, 7.5개, 6.3개 및 2.1개였고, 미수정란의 비율은 43.8%, 18.3%, 19.1% 및 48.8%로 hMG 450 IU와 FSH 30 mg을 1회 투여한 구에서 미수정란의 비율이 다른 군에 비해서 유의하게 높게 나타났는데, hMG 용량이 상대적으로 낮은 것에 기인하여 나타난 현상으로 사료된다. p-FSH의 8회 투여와 목과 어깨의 피하에 각 1회 투여한 결과에서 총 회수된 수정란의 수는 11.3개, 9.0개 및 10.8개이며, 수정된 난자의 수는 6.3개, 3.6개 및 5.2개로 보고하고 있으며, 이식 가능한 수정란 4.8개, 2.5개 및 4.5개로 흡수를 지연시키는 고분자 유기물질을 첨가하지 않고도 다회 투여와 비슷한 성적을 확인할 수 있었다. 이를 통하여 흡수 지연 물질이 아니더라도 흡수 자체가 서서히 되는 부위에 주사함으로써 이식 가능 수정란의 회수율을 높일 수 있다는 것을 확인할 수 있다(Bo 등, 1994). 양질의 이식 가능한 수정란 비율이 FSH 다회 투여에서는 68.2%이고, FSH-PVP 1회 투여에서는 84.0%로 나타나 1회 투여가 더 효과적이라고 보고하였으나(Dattena 등, 1994), 본 결과에서는 50 mg 다회 투여의 이식 가능한 수정란 비율이 45.9%로 다른 그룹의 이식 가능한 수정란 비율이 41.3~54.0%와 비슷한 결과를 보였다.

체내 수정란의 수태율에 있어 수란우의 발정동기화 방법, Ovsynch와 GnRH+PGF₂ α/estrus detection에 따라서도 이식 후 수태율이 48%와 62%를 보였고, PGF₂ α/estrus detection와 CIDR-B 처리구에 따라서도 53.3%와 62.7%, 수란우에 eCG를 투여한 군의 이식 후 수태율이 57.6%로 다양하게 나타났으며, 대조군의 이식 후 수태율 41.7%보다 유의적으로 더 높았다(Bo 등, 2002). 이와 같이 수정란의 이식하는 수란우의 발정동기화 방법에 따라서 이식 후 수태율의 차이가 있었다. 본 실험의 결과에서 신선 수정란을 수란우에 이식하여 전체적인 수태율이 41.4%로 나타났다. 이는 Martinez 등(2002)이 신선 수정란과 동결 수정란을 이식한 후 각각 53.8%와 45.4%의 수태율을 나타낸 것과 비교해 볼 때 비슷한 수태율을 보인 것으로 사료된다. 상업적인 수정란 이식 사업을 하는 EmT(1, 2), EmT-W 및 Holland Genetics에서 이식된 자료를 Hasler (1995)가 보고한 바로는 비외과적 신선 수정란 이식 방법으로 미경산우와 경산우의 수태율이 각각 78.8%와 60.7%로 미경산우가 유의적으로 더 높았으며, 본 실험 결과보다 훨씬 높은 수태율을 보였다. 이식한 년도와 계절별로는 이식 수태율에 차이가 없었으며, 이식회사에 따

라서는 61.0~73.2%로 유의적 차이를 보였다. 이러한 차이는 수란우의 사양관리 조건의 차이에서 비롯된 것이라 사료된다. 본 실험의 결과를 바탕으로 다양한 과배란 처리에 의해 생산된 수정란 수와 품질에서는 다소 차이를 보이지만, 회수된 수정란 중에서 이식 가능한 수정란만을 선별하여 수란우에 이식한다면 각기 다른 과배란 처리에도 수태율에는 차이가 없음을 알 수 있다.

본 연구에서 각 처리구별 채란시 progesterone 농도를 분석하였는데, 처리 구간 유의적인 차이는 보이지 않았다. 손 등 (2007)은 CIDR를 전 처리한 군과 자연발정 중에 과배란 처리한 군간에 과배란 처리시와 채란시 progesterone과 estrogen의 농도에서 비슷한 호르몬의 경향과 수치를 보였다고 하였다. Lafri 등(2002)은 자연 발정 주기 중에 과배란 처리한 군보다 CIDR를 전 처리하면서 과배란 처리한 군에서 첫 과배란을 시작할 시점에서는 progesterone 농도가 14.8 ng/ml로 더 높았으나, 첫 인공 수정 시점에서 두 군간에는 거의 차이를 보이지 않은 정도이며, 평균 0.53 ng/ml 이하로 검출되었다고 보고하였다. 또한, p-FSH를 Holstein 처녀우에 다회 투여(총 30 mg)하여 혈중 p-FSH 농도가 40~80 ng/ml 수준으로 3~66시간 동안 지속된 결과를 보였고, 25%와 50% PVP에 용해시킨 30 mg pFSH 1회 피하 투여에도 40~80 ng/ml 범위를 3~60시간 동안 혈중 농도를 유지하였다고 보고했다(Takedomi 등, 1995). 이러한 결과는 고분자 유기물질에 녹인 1회 투여법이 다회 투여와 비교하였을 때 혈중 FSH의 농도가 비슷하게 유지된다는 것을 나타내었다. 본 연구에서도 채란시점의 progesterone 농도에서 다회 투여한 것(총 400 mg)과 200 mg FSH를 1회 투여한 그룹이 비슷한 결과를 보였고, 400 mg FSH 1회 투여와 CIDR와 병행하여 200 mg FSH를 1회 투여한 군이 더 높은 수치를 보였지만 유의적인 차이가 없었다. 따라서 투여 횟수와 투여량이 progesterone 농도의 변화를 야기하지는 않는다는 것을 확인하였다.

CIDR의 전 처리와 PEG에 용해시킨 FSH 200 mg의 투여가 난소 반응과 회수되는 수정란의 수량과 품질, 이식 후 수태율, 과배란 처리시 호르몬의 변화 등에 있어서 다른 처리군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 다회의 주사로 인해 야기되는 공란우의 스트레스를 줄이고, 고가의 FSH 비용을 줄임으로써 과배란 처리 비용과 노동력을 줄일 수 있으며, 여러 마리의 공란우를 발정 주기에 상관없이 한 번에 과배란 처리를 할 수 있는 CIDR의 전 처리와 PEG에 용해시킨 FSH 200 mg을 투여한 과배란 처리 방법이 축산 현장에서 적용하기에 매우 유용한 방법이라고 사료된다.

인용문헌

1. Akbar AM, Nett TM, Niswendwr GD (1974): Metabolic clearance and secretion rates of gonadotrophins at different stages of the oestrus cycle in ewes. *Endocrinology* 94:1318-1324.
2. Bo GA, Hockley DK, Nasser LF, Mapletoft RJ (1994): Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. *Theriogenolo-*

- gy 42:963-975.
3. Bo GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft RJ (2002): The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
 4. Dattena M, Vespignani S, Branca A, Gallus M, Ledita S, Naitana S, Cappai P (1994): Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestus ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 42:235-239.
 5. Demoustier MM, Becker J-F, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J-L, Ectors F (1998): Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology* 30: 379-386.
 6. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G (1989): A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72:68-78.
 7. Gonzalez A, Lussier JG, Caruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ (1990): Superovulation of beef heifer with Follitropin-V: a new FSH preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology* 33:519.
 8. Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Stokes JE, Trimmer SA (1995): Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology* 43:141-152.
 9. Lafri M, Ponsart C, Nibart M, Durand M, Morel A, Jeanguyot N, Badinand F, De Mari K, Humblot P (2002): Influence CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology* 58:1141-1151.
 10. Lindsell CE, Rajkumar K, Manning AW, Emery SK, Mapletoft RJ, Murphy BD (1986): Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotrophins. *Theriogenology* 25:167.
 11. Lindner GM, Wright RW Jr (1983): Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416.
 12. Lopez-Sebastian A, Gomez-Brunet A, Lishman AW, Johnson SK, Inskoop EK (1993): Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. *J Reprod Fertil* 99:437-442.
 13. Martinez AG, Brogliatti GM, Valcarcel A, de las Heras MA (2002): Pregnancy rates after transfer of frozen bovine embryos: a field trial. *Theriogenology* 58:963-972.
 14. Monniaux D, Chupin D, Saummande J (1983): Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19: 55-81.
 15. Murphy DB, Mapletoft R, Manns J, Humphrey WD (1984): Variability in gonadotrophin preparations as a factor in superovulatory response. *Theriogenology* 21:117-125.
 16. Nasser LF, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ (1993): Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40:713-724.
 17. Shea BF, Janzen RE, McDermand DF (1984): Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology* 21:186-195.
 18. Son DS, Choe CY, Choi SH, Cho SR, Kim HJ, Han MH, Ryu IS, Suh GH, Kim UH, Kim IH (2007): Effect of estradiol benzoate or GnRH treatment prior to superstimulation in CIDR-treated, Korean active cows (*Bos taurus*). *Anim Reprod Sci* 100:14-21.
 19. Sugano M, Shinogi T (1999): Superovulation induction in Japanese black cattle by a single intramuscular injection of hMG or FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Ani Repro Sci* 55:175-181.
 20. Suzuki T (1993): Bovine embryo transfer and related techniques. *Mol Reprod Dev* 36: 236-237.
 21. Takedomi T, Aogagi Y, Konish M, Kishi H, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S (1995): Superovulation in Holstein heifers by a single subcutaneous injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 43:1259-1268.
 22. Walsh JH, Mantovani R, Duby RT, Overstrom EW, Dobrinsky JR, Enright WJ, Roche JF, Boland MP (1993): The effects of once or twice daily injections of p-FSH on superovulatory response in heifers. *Theriogenology* 40:313-321.
 23. Willmott N, Saunders J, Bo GA, Palasz A, Pierson RA, Mapletoft RJ (1990): The effect of FSH/LH ratio in pituitary extracts on superovulatory response in the cow. *Theriogenology* 33:347.
 24. Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R (1997): Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim Reprod Sci* 47:9-19.
 25. Yamamoto M, Ooe M, Kawaguchi M, Suzuki T (1994): Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 41:747-755.
 26. 임석기, 전기준, 우제석, 최재관, 양보석, 오성중, 윤상보 (1998): 한우에 있어서 다양한 용매에 용해시킨 FSH의 1회 주사에 의한 난소 반응. *한국수정란 이식학회지* 13:213-217.
 27. 최수호, 박용수, 조상래, 강태영, 신상희, 강삼순, 노규진, 최상용 (2002): PEG 용해 FSH 투여 방법에 따른 소 과배란 유기 및 수정란 이식 효율. *한국수정란 이식학회지* 17:67-77.
 28. 최상용, 노규진, 최창용, 강태영, 윤희준, 손우진, 이효중, 박충생 (1996): 토끼에서 FSH제의 Single Injection에 따른 과배란 유기 효과. *한국수정란 이식학회지* 11: 211-216.

(접수일자: 2007. 8. 11 / 채택일자: 2007. 9. 16)