

## 한우의 반복 과배란 처리에 의한 체내 수정란의 생산과 이식

신상민<sup>1</sup>, 김용준<sup>1\*</sup>, 이해리<sup>2</sup>, 신동수<sup>2</sup>, 김용수<sup>2</sup>, 김수희<sup>1</sup>, 이영준<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>전북대학교 수의과대학, <sup>2</sup>전라북도 축산위생연구소 종축시험소

## Production and Embryo Transfer of *In Vivo* Embryos by Repeated Superovulation Treatment of Hanwoo Cattle

Sang-Min Shin<sup>1</sup>, Yong-Jun Kim<sup>1\*</sup>, Hae-Lee Lee<sup>2</sup>, Dong-Su Shin<sup>2</sup>, Yong-Su Kim<sup>2</sup>,  
Sue-Hee Kim<sup>1</sup> and Young-Jun Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

<sup>2</sup>Livestock Breeding Starion, Jeonbuk Livestock Development & Research Institute

### ABSTRACT

This study was performed to investigate the possibility of repeated superovulation treatment at interval from 27 days to 41 days in Hanwoo cattle and to compare with superovulation effect between doses of FSH 200 mg and FSH 400 mg. Different doses of FSH (200 mg or 400 mg) were injected at Day 8 after controlled internal drug release (CIDR) treatment for superovulation of Hanwoo donors following CIDR treatment (Day 8 after the estrus). Superovulation was repeated four times for one donor and number of corpus luteum (CL), number of embryos, number of transferable embryos and pregnancy rate after embryo transfer (ET) were investigated. 5 cows were used for each FSH treatment (10 cows in total). Average number of CL were 10.16±3.85 and 11.56±2.35 for the donors treated with FSH 200 mg and FSH 400 mg, respectively. Average number of embryos collected were 8.85±4.05 and 8.30±1.73 for the donors treated with FSH 200 mg and FSH 400 mg, respectively. Average number of transferable embryos were 5.48±2.45 and 4.58±2.23 for the donors treated with FSH 200 mg and FSH 400 mg, respectively. The pregnancy rate following ET with embryos collected from 200 mg FSH treated donors and 400 mg FSH treated donors were 61.9% and 53.8% respectively. The numbers of embryos tended to be decreased as the numbers of repeat of superovulation were elapsed. These results indicated that superovulation treatment by about a month to Hanwoo donors is usable and 200 mg of FSH is preferable for simple FSH treatment following CIDR treatment.

(Key words : Hanwoo donor, superovualtion, dose of FSH, CIDR, transferable embryos, embryo transfer)

### 서 론

생산성이 높은 우수 가축의 생산에서 과거 1980년대 이전 인공수정이 국가 차원에서 주요 가축 번식 기술이었으나, 인공수정은 웅성의 우수한 유전자(paternal gene) 보급을 목표로 했던 반면, 수정란 이식은 웅성 및 자성의 우수한 유전 형질을 통합한 gamete를 생산하여 보급함으로써 생산성의 극대화를 이룬 기술로서 국가 산업 및 경제에 미치는 중요성은 지대하다.

가축 수정란 이식의 최종 목표는 생산성 증대이며, 이를 위하여 우수한 수정란의 대량 생산과 산자 생산을 위한 수태율의 향상이 요구되고 있으나, 현재까지 수태율을 높일 수 있는

최적의 조건은 명확히 확립되어 있지 않은 상태이다(김 등, 2008).

가축 생산성의 증대를 위한 수정란 생산 방법은 체외 수정과 체내 수정으로 구분된다. 체외 수정란의 경우 저렴한 비용으로 대량 생산이 가능하여 가축의 증식과 연구에 이용되고 있지만, 낮은 수태율, 높은 태아 손실율, 낮은 분만율, 과체중 및 기형 송아지의 생산 등 문제점이 존재한다(Schmidt 등, 1996; van Wagtenonk-de Leeuw 등, 1998; Numabe 등 2000; Lazzari 등, 2002). 이에 비해 체내 수정란의 경우 고비용과 노력이 요구되지만, 우수한 형질의 소를 사용할 수 있어 형질 개량 측면에서 체외 수정란보다 활용성이 높다(Greve 등, 1995; 임 등, 1998; 김 등, 2002; Ax 등, 2005; 박 등, 2005; 최 등, 2005).

\* 이 논문은 2006년도 전북대학교 지원연구비(연구기반조성 2006)에 의해 수행되었음.

\* Correspondence : E-mail : yjk@chonbuk.ac.kr

이와 같이 우수 가축의 생산에 더 가까이 접근할 수 있는 체내 수정란 생산을 위하여 소에서 사용되는 과배란 처리 성선자극 호르몬으로 FSH가 많이 사용되고 있다.

FSH를 사용하는 과배란 처리법은 PMSG 사용에 비해 수정란의 질은 우수하나 반감기가 짧아 하루에 2회, 4~5일간 연속 투여해야 하므로 번거로우며, 공란우에게 스트레스를 유발하고, 값이 비싼 것이 단점이다(Walsh 등, 1993; Demoustier 등, 1998). 또한, 동일 공란우에서도 발정 주기 중 호르몬 투여일과 투여량에 따른 번이가 많으며(Akbar 등, 1974; Nasser 등, 1993; Bo 등, 2002), 공란우의 난소 반응의 차이(Shea 등, 1984) 등도 문제점으로 알려져 있다. 따라서 FSH 흡수 시간을 연장하기 위하여 polyvinylpyrrolidone(PVP), carboxymethyl cellulose(CMC), propylene glycol, polyethylene glycol(PEG) 등을 사용하여 호르몬 투여 횟수를 줄이는 방법이 연구되었다(Lo pez-Sebastian 등, 1993; Suzuki, 1993; Takedomi 등, 1995; 임 등, 1998; 최 등, 2002).

또한, 과거에는 동일한 공란우에 대하여 3~4개월의 간격을 두고 1년에 3~4회 과배란 처리 방법을 사용하였다. 우수 공란우의 경우 그 우수한 능력을 보다 단기간에 보급하는 것이 요구되므로 성선자극 호르몬 투여 간격을 줄여 과배란 처리하는 방법도 최근에 시도되고 있다(최 등, 2002; 최 등, 2007).

따라서 이 연구에서는 공란우를 보다 효과적으로 활용하기 위한 방법으로서 공란우의 스트레스를 감소시키고 노동력을 절약하며 투여량 및 투여 시간 등 호르몬 투여 방법의 문제점을 최소화하고자 한우에서 FSH 1회 투여시 과배란 처리 결과가 나타나는지 그리고 1개월여의 단기간 간격으로 연속 과배란 처리가 가능한지, 연속 과배란 처리시 호르몬 용량에 따른 난소의 반응, 수정란의 생산 및 수정란 이식시 수란우의 임신율을 조사하고자 이 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공란우의 선발

한우 공란우는 전라북도 축산진흥연구소 증축시험소에서 사육중인 2~4산차, 3~5살의 한우 10두를 사용하였다. 임상 검사에서 건강 상태가 양호하고 분만 후 60일이 경과되었으며, 실험 전 2회 이상의 정상 성주기를 가진 소로서 과배란 처리 1회째는 발정 후 8일째가 되는 소를 선택하였으며 직장 검사시 양호한 형태의 황체와 자궁을 가진 소를 이용하였다. 또한, 공란우에 대하여 아카바네, 일본뇌염, 전염성비기관염, 소 바이러스성 설사 등에 대한 예방 접종을 완료하였으며, 결핵과 브루셀라 병성 감정 결과 음성의 소를 사용하였다.

### 2. 공란우의 사양 관리

공란우는 시험축 10두만을 축사 1칸에 합사하여 동시 사육

하였고, 배합 사료(2.5 kg/두/일) 및 혼합 목건초(6.5 kg/두/일)를 급여하였으며, 미네랄과 음수는 자유급이하였다.

### 3. 공란우의 과배란 처리

공란우의 과배란을 유도하기 위해 발정 후 8일째 CIDR(controlled internal drug release, InterAg, NewZealand)를 질내에 삽입하였고, CIDR 삽입 후 8일째 실험군에 따라 FSH(Folltropin-v, Bioniche Animal Health, Canada) 200 mg 또는 400 mg을 1회 주사하였다. 이 실험에 사용된 FSH는 동봉된 생리식염수 1 ml로 용해를 하였다. FSH 작용을 연장시킬 수 있는 polyethylene glycol(PEG, Fisher Biotech, U.S.A; M.W. 8000)을 최종 농도 30% 용액으로 만들기 위하여 PEG 3 g을 생리식염수 9 ml에 혼합하였다(W/V). 그 후 생리식염수에 용해된 FSH 1 ml와 PEG 용액 9 ml를 혼합하였고, 400 mg 투여군의 경우 10 ml를, 200 mg 투여군의 경우 5 ml를 각각 1회 피하로 주사하였다.

### 4. 연속 과배란 처리 및 처리 간격

과배란 처리는 한 공란우에 대하여 연속 4회 실시하였으며, 처리 간격은 1회 과배란 처리 후 1주 휴식(27일 소요), 2회 처리 후 2주간 휴식(34일 소요), 3회 처리후 3주간 휴식(41일 소요)시키는 방법으로 횟수가 진행될수록 1주씩 휴식기간을 늘렸으며, 따라서 처리 간격은 평균 34일(27~41일)이었다. 즉, 체란 후 1~3주간 휴식기를 가진 후 CIDR를 삽입하여 연속 과배란 처리를 수행하였다.

### 5. 발정 유기 및 인공수정

FSH 주사 후 2일째 CIDR을 제거하였고 발정유기를 위하여 PGF<sub>2</sub>α(Lutalyse, Upjohn, Belgium) 40 mg을 근육주사하였다. 인공수정은 PGF<sub>2</sub>α 주사 후 2~3일에 발정을 나타낸 공란우에 12시간 간격으로 2회 실시하였으며, 1회마다 2~3개의 straw(0.5 ml)의 동결정액을 용해하여 사용하였다.

### 6. 과배란 처리에 대한 난소 반응 검사

과배란 처리 결과로서 난소 반응 상태를 알아보기 위하여 2번째 인공수정 후 7일째에 수정란 회수 작업 전 직장 검사를 이용하여 공란우의 양쪽 난소를 면밀하게 촉진하여 각 난소의 황체수를 조사하였다.

### 7. 수정란 회수

마지막(2회차) 인공수정 후 7일째 two-way balloon catheter를 이용하여 수정란을 회수하였다. 수정란 회수를 위한 자궁관류액은 Dulbecco's PBS에 Fetal calf serum(FCS) 2%가 되도록 첨가한 관류액을 사용하였으며, 각 자궁각마다 400~500 ml의 관류액을 사용하였다.

8. 수정란 평가

수정란의 평가는 20~50배 배율의 실체현미경하에서 실시하였고, 수정란을 발달 단계와 등급에 따라 Linder 등(1983)의 방법으로 평가하였다. 발달 단계는 4세포기, 8세포기, 16~32 세포기, compact morula, 배반포기, 부화배반포기를 확인하였으며, 수정란의 등급은 1등급(excellent), 2등급(good), 3등급(fair), 4등급(degenerated/undeveloped : <CM), 5등급(unfertilized)으로 구분하였으며, 1~3등급을 이식 가능한 수정란으로 평가하였다.

9. 수란우의 선발

이 연구에서 사용된 수란우는 전북 축산진흥연구소 종축시험소에서 사육된 Holstein 73두를 대상으로 하였고, 수란우는 2~6세, 산차는 1~5산이었다. 수란우의 선발 조건은 공란우의 선발 조건과 동일하였다.

10. 수정란 이식 및 임신 진단

체내 수정란 생산일에 기준하여 자연 발정 후 7일째 또는 PGF<sub>2</sub> α로 발정을 유도한 후 7일째에 있는 수란우에 한우 공란우로부터 생산된 신선 수정란을 이식하였다. 수정란 한 개를 0.25 ml straw에 장착한 후 수정란 이식용 주입기(Frech cas-sou gun, France)를 이용하여 황체가 있는 난소측 자궁각 선단부에 이식하였다.

임신 진단은 수정란 이식후 60~90일에 직장 검사를 이용하여 진단하였다.

11. 결과 조사

1) 과배란 처리후 난소 반응 조사

실험군별 공란우 각 5두에 대하여 4회의 과배란 반복처리 후 각 처리 횟수별 5두의 평균 황체수를 조사하였다.

2) 회수 수정란 수 및 이식 가능 수정란 수 조사

실험군별 공란우 각 5두에 대하여 4회의 과배란 반복 처리 후 각 처리 횟수별 5두의 평균 회수 수정란 수 및 평균 이식 가능 수정란 수를 조사하였다.

3) 수정란 등급 판정 및 이식 가능 수정란을 조사

실험군별 공란우 각 5두에 대하여 4회의 과배란 처리 후 수정란 등급 판정 결과를 통합하여 평균 이식 가능 수정란율 및 이식 불가능 수정란율을 조사하였다.

4) 수정란 이식 후 수태율 조사

실험군별 공란우 각 5두에 대하여 이식 후 임신 여부를 판정하였으며, 4회 과배란 처리 결과를 통합한 평균 수태율을 조사하였다.

12. 통계 처리

이 연구 결과에 대한 통계 분석은 T-test를 이용하여 2가지 서로 다른 FSH량에 따른 결과를 비교, 분석하였으며, 각 FSH 처리군에서 처리 횟수간 결과 비교는 ANOVA를 이용하였다.

결 과

1. FSH 투여 용량에 따른 공란우의 황체수와 수정란 회수율  
FSH 200 mg 투여군과 400 mg 투여군간의 과배란 처리에 따른 황체수의 결과는 Table 1과 같다.

두 투여 용량간 과배란 처리 횟수별 황체수 비교에서 1회와 4회째 과배란 처리시의 황체수는 400 mg 투여군에서 각각 15.00±6.93, 9.00±2.55개로서 200 mg 투여군의 결과인 9.40±3.21, 7.00±4.85개보다 각각 많았으며(p<0.05), 2회째 과배란 처리시에는 반대로 200 mg 투여군에서 13.40±4.16개로서 400 mg 투여군인 11.40±4.22개보다 황체수가 많았다(p<0.05).

Table 1. Evaluation of 4 times-repeated superovulation by number of corpus luteum of Hanwoo donor cows treated with different dose of FSH (Mean±SD)

FSH treatment	No. of donors	No. of *CL				Total no. of CL	Average no. of CL
		**Repeat of superovulation					
		1	2	3	4		
200 mg	5	9.40±3.21 <sup>a</sup>	13.40±4.16 <sup>a,A</sup>	10.80±4.66	7.00±4.85 <sup>a,B</sup>	40.60±15.42	10.16±3.85
400 mg	5	15.00±6.93 <sup>b,A</sup>	11.40±4.22 <sup>b</sup>	10.80±5.21 <sup>B</sup>	9.00±2.55 <sup>b,B</sup>	46.20± 9.39	11.56±2.35

\*CL : Corpus luteum

\*\*Superovulation was repeated by 27 days for the second, 34 days for the third, and 41 days for the fourth superovulation(average: 34 days)

<sup>a,b</sup> Different superscripts denote significance within columns (p<0.05)

<sup>A,B</sup> Different superscripts denote significance within rows (p<0.05)

두 투여 용량간 1회부터 4회까지 과배란 반복 처리 비교에서 처리 횟수가 진행될수록 황체수는 감소하는 수치를 나타냈으며, 총 황체수와 평균 황체수는 두 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

또한, 이 연구에서 각 FSH 투여군의 과배란 처리 횟수 간 황체수 비교는 FSH 200 mg 투여군에서 2회째가 13.40±4.16개로 4회째 7.00±4.85개보다 유의적으로 많았으며( $p<0.05$ ), FSH 400 mg 투여군의 경우에서도 1회째가 15.00±6.93개로 3회째 10.80±5.81개, 4회째 9.00±2.55개보다 유의적으로 많았다( $p<0.05$ ).

FSH 200 mg 투여군과 400 mg 투여군간 4회 과배란 반복 처리 후 황체수에 비하여 회수된 수정란율과 회수 수정란수에 대비된 이식 가능한 수정란율은 Table 2와 같다.

황체수에 비교하여 회수된 수정란율은 200 mg 투여군의 경우 87.2%, 400 mg 투여군의 경우 71.9%이고, 두 투여군의 총 황체수에 대한 총 수정란 회수율은 79.0%이었으며, 회수된 수정란수에 비교하여 이식 가능 수정란율은 200 mg 투여군의 경우 61.6%, 400 mg 투여군의 경우 54.8%, 두 투여군의 총 수정란수에 대비한 총 이식 가능 수정란율은 58.3%이었다.

2. 반복 과배란 처리에 의한 한우의 회수 수정란 및 이식 가능 수정란 수

200 mg, 400 mg의 두 용량의 FSH를 사용하여 과배란 반복 처리시 회수된 수정란수와 이식 가능 수정란 수의 비교는 각각 Table 3 및 Table 4와 같다.

회수된 수정란 수는 과배란 처리 2회째 200 mg 투여시 11.20± 5.17개로서 400 mg 투여시의 6.80±3.19개보다 유의적으로( $p<0.05$ ) 많았으며, 그 밖의 다른 과배란 처리 회수에서는 두 FSH 투여 용량간 유의적 차이는 인정되지 않았다. 그리고 4회 과배란 반복 처리 후 전체 수정란수 및 평균 수정란수에서 두 실험군간 유의적인 차이는 인정되지 않았다.

또한, 각 FSH 실험군에서 1회부터 4회까지의 과배란 반복처리 횟수간 비교에서 FSH 200 mg 투여군에서의 수정란 수는 2회째가 11.20±5.17개로 4회째 6.60±5.03개보다 많았으며( $p<0.05$ ), 400 mg 투여군에서는 횟수간 유의적인 차이는 없었다.

이식 가능 수정란 수는 과배란 처리 2회와 3회째 200 mg 투여시 각각 6.80±5.59, 6.40±2.30개로서 400 mg 투여시의 4.60±3.78, 4.20±3.83개보다 각각 많았으며( $p<0.05$ ), 4회째에서는 400 mg 투여시 4.40±2.30개로 200 mg 투여시 2.60±2.30개보다 많았다( $p<0.05$ ). 그 밖의 다른 과배란 처리 횟수에서는 서

Table 2. Rate of collected *in-vivo* Hanwoo embryos and transferable embryos following 4-times repeated superovulation with different dose of FSH

FSH treatment	No. of donors	Total no. of *CL	Total no. of embryos	Rate of embryo recovery		Rate of transferable embryos	
				Total no. of embryos collected/total no. of CL (%)	Total no. of transferable embryos	No. of transferable embryos/total no. of embryos collected (%)	
200 mg	5	203	177	177/203(87.2)	109	109/177 (61.6)	
400 mg	5	231	166	166/231(71.9)	91	91/166 (54.8)	
Total	10	434	343	343/434(79.0)	200	200/343 (58.3)	

\*CL : Corpus luteum.

Table 3. Evaluation of 4 times-repeated superovulation by number of collected embryos from donor cows treated with different dose of FSH (Mean±SD)

FSH treatment	No. of donors	No. of embryos collected				Total no. of embryos collected	Average no. of embryos
		Repeat of superovulation					
		1	2	3	4		
200 mg	5	8.60±2.88	11.20±5.17 <sup>a,A</sup>	9.00±4.42	6.60±5.03 <sup>B</sup>	35.40±16.20	8.85±4.05
400 mg	5	11.20±8.04	6.80±3.19 <sup>b</sup>	8.00±5.15	7.20±2.86	33.20± 6.91	8.30±1.73

<sup>a,b</sup> Different superovulation denote significance within columns ( $p<0.05$ ).

<sup>A,B</sup> Different superovulation denote significance within rows ( $p<0.05$ ).

로 다른 FSH 투여 용량간 유의적 차이는 없었다.

또한, 각 실험군 별 1회부터 4회까지 과배란 반복처리 횟수 간 비교에서 FSH 200 mg 투여군에서 이식 가능한 수정란 수는 과배란 처리 2회, 3회째가 각각 6.80±5.59, 6.40±2.30개로 4회째의 2.60±2.30개보다 유의적으로 많았으며( $p<0.05$ ), FSH 400 mg 투여군에서는 과배란 반복 처리 횟수간 유의적인 차이는 없었다. 또한 전체 이식 가능한 수정란수 및 과배란 처리 횟수 당 평균 이식 가능한 수정란수에서 두 FSH 투여 용량간 유의적인 차이가 없었다.

3. 반복 과배란 처리 후 수정란 평가

FSH 200 mg과 400 mg을 4회 과배란 반복처리 후 회수된 수정란의 평가는 Table 5와 같다. 전체 회수된 수정란수는 FSH 200 mg와 400 mg 투여군에서 각각 177, 166개이었고, 이식이 불가능한 수정란의 수는 각각 68, 75개이었으며, 따라서 이식이 불가능한 수정란의 비율은 실험군별 전체 회수된 수정란수에 비하여 각각 38.4%, 45.2%이었다.

4. 체내 수정란 이식 결과

발정 후 7일째의 홀스타인 수란우에 이 실험에서 생산된

한우 체내 수정란을 이식한 결과는 Table 6과 같다.

FSH 200 mg 투여군의 경우 21개의 수정란을, FSH 400 mg 투여군의 경우 52개의 수정란을 홀스타인 수란우에 이식하여 각각 13두, 28두가 임신되었고, FSH 200 mg 투여군의 경우 61.9%, FSH 400 mg 투여군의 경우 53.8%의 임신율을 나타내었다.

고찰

이 연구에서 FSH를 200 mg과 400 mg으로 용량을 다르게 하여 투여한 2개의 실험군에서 1회부터 4회까지 반복 과배란 처리후 나타난 황체수는 200 mg 투여시 1, 2, 3, 4회에서 각각 9.40±3.21, 13.40±4.16, 10.80±4.66, 7.00±4.85개였고, 400 mg 투여시 1, 2, 3, 4회에서 각각 15.00±6.93, 11.40±4.22, 10.80±5.81, 9.00±2.55개였다. 이 결과는 처리 횟수가 진행될수록 황체수가 감소되는 수치를 보이기는 하였으나, 4회째 평균 황체수가 200 mg, 400 mg 투여군에서 각각 7, 9개로서 이와 같은 이 실험에서의 FSH 1회 투여 방법의 결과는 기존의 FSH를 감량하여 4~5일간 매일 반복 투여후의 과배란 처리 반응의 결과와 크게 차이가 나지 않으며, 또한 한 공란우에 대하여

Table 4. Evaluation of 4 times-repeated superovulation by number of transferable embryos from donor cows treated with different dose of FSH (Mean±SD)

FSH treatment	No. of donors	No. of *transferable embryos				Total no. of transferable embryos	Average no. of transferable embryos
		Repeat of superovulation					
		1	2	3	4		
200 mg	5	6.00±2.35	6.80±5.59 <sup>a,A</sup>	6.40±2.30 <sup>a,A</sup>	2.60±2.30 <sup>a,B</sup>	21.80±9.78	5.48±2.45
400 mg	5	5.00±2.83	4.60±3.78 <sup>b</sup>	4.20±3.83 <sup>b</sup>	4.40±2.30 <sup>b</sup>	18.40±9.32	4.58±2.23

\*Transferable embryos : excellent, good, fair grades.

<sup>a,b</sup> Different superovulation denote significance within columns ( $p<0.05$ ).

<sup>A,B</sup> Different superovulation denote significance within rows ( $p<0.05$ ).

Table 5. Evaluation of quality of collected Hanwoo embryos following 4 times-repeated superovulation treatment by different dosage of FSH

FSH treatment	No. of donors	Total no. of embryos collected	*Transferable embryos	Embryo evaluation (%)			Total no. of non transferable embryos
				Non-transferable embryos			
				Under normal stage (<**CM)	Degenerated	Unfertilized embryos	
200 mg	5	177	109 (61.6)	7 (4.0)	53 (29.9)	8 (4.5)	68 (38.4)
400 mg	5	166	91 (54.8)	5 (3.0)	62 (37.4)	8 (4.8)	75 (45.2)

\*Transferable embryos : excellent, good, fair grades.

\*\*CM : Compact morula.

Table 6. Result of embryo transfer with *in-vivo* produced Hanwoo embryos following superovulation treatment by different dose of FSH to Holstein recipients

FSH treatment	No. of embryos	No. of Holstein recipients	No. of recipients pregnant	Pregnancy rate (%)
200 mg	21	21	13	13/21 (61.9)
400 mg	52	52	28	28/52 (53.8)

기존 처리 방법인 3~4개월 간격으로 과배란 처리하는 방법과 다르게 이 연구에서 27~41일, 평균 약 1개월 간격으로 과배란 반복처리하여도 과배란 효과를 나타낸다고 보여진다.

FSH 200 mg과 400 mg을 투여한 2개의 실험군 모두에서 과배란 반복처리 횟수가 증가할수록 황체수가 감소하는 양상을 나타내었다. 이는 Son 등(2007)의 연구에서 투여 횟수, 용량의 차이 및 투여 방법의 차이가 있으나, FSH를 총 28 mg 투여시 황체수가 첫 번째 과배란 처리의 결과 10.6±1.5개, 두 번째 과배란 처리의 결과 5.3±1.0개로서 첫 번째 과배란 처리 때보다 두 번째 과배란 처리할 때 황체수가 감소하는 양상과, FSH를 총 24 mg 투여시 황체수가 첫 번째 과배란 처리의 결과 10.0±1.3개, 두 번째 과배란 처리의 결과 6.6±1.8개로서 두 번째 과배란 처리시 감소하는 양상을 보이는 결과와 비슷하였다. Satori 등(2003)은 FSH 단독투여로서는 과배란 반응에 좋은 효과를 낼 수 없으므로, FSH 투여 개시 후 2~3일째에 PGF<sub>2</sub>α를 투여함으로써 과배란 반응이 높다고 보고하였다. 이 연구에서도 FSH 다량 단독투여 후 2일째에 PGF<sub>2</sub>α를 투여하여 과배란 효과가 나타난 바, 이와 유사한 결과로 생각된다.

이 연구에서 과배란 반복처리시 FSH의 두 투여 용량(200 mg, 400 mg)간의 총 황체수와 평균 황체수는 유의적인 차이가 없었다. 이는 Son 등(2007)의 연구에서 평균 황체수가 FSH를 총 28 mg 투여시 7.9±1.0개, 총 24 mg 투여시 8.3±1.1개로서 두 투여 용량간의 유의적인 차이가 없다는 결과와 유사하다. 이와 같이 두 투여 용량간의 차이가 인정되지 않았기 때문에 FSH 200 mg 투여가 400 mg 투여보다 경제적으로 유용하다고 생각된다. Son 등(2007)의 연구 결과 28 mg과 24 mg 투여시 각각의 평균 황체수와 본 연구의 200 mg과 400 mg 투여시 각각의 평균 황체수를 비교하였을 때 본 연구의 평균 황체수가 Son 등(2007)의 결과보다 많았다. 이는 이 실험에 사용된 FSH의 투여 용량에 따른 난소 반응의 차이로 사료된다.

이 연구에서 황체수에 비교된 회수 수정란율은 200 mg 투여군의 경우 87.2%, 400 mg 투여군의 경우 71.9%이었고, 회수된 수정란수에 대한 이식 가능 수정란율은 200 mg 투여군의 경우 61.6%, 400 mg 투여군의 경우 54.8%이었다. 이것은

통계적으로 유의성을 나타내지 못하였으나 수치상으로 보아도 200 mg 투여가 400 mg보다 더욱 경제적이고 유용한 것으로 생각된다. 최 등(2007)의 연구에서 1일 2회, 4일동안 총 FSH 400 mg을 투여한 군과 CIDR을 사용하지 않고 황체기에 있는 공란우에 30% PEG에 용해한 FSH 400 mg과 200 mg을 각각 1회 투여한 2개의 군과 CIDR을 사용 후 7일째 30% PEG에 용해한 FSH 200 mg를 1회 투여한 군의 황체수에 대한 회수된 수정란수의 비율은 각각 75.9%, 56.2%, 66.4%, 56.8%이었고, 회수된 수정란수에 대한 이식 가능한 수정란수의 비율은 각각 45.9%, 41.3%, 54.0%, 46.8%이었으며, 실험군간 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고하였다. 따라서 호르몬 비용을 줄일 수 있고 공란우의 채란 시점과 수란우의 이식 시기를 일치시킬 수 있는 CIDR의 전처리가 과배란 처리에 있어 유용한 방법임을 제시하였다. 또한, 최 등(2002)의 연구에서 FSH 400 mg 1회 투여와 200 mg 1회 투여 그리고 200 mg 2회 투여시 전체 황체수에 대한 회수된 수정란수의 비율은 각각 55.5%, 70.1%, 71.6%으로서 투여군간 유의적인 차이는 보이지 않았다.

최 등(2005)은 감량법과 유사한 방법으로 과배란을 반복 처리한 결과, 회수 수정란수는 1회, 2회, 3회, 4회 각각 9.2±4.5, 9.9±8.3, 7.0±4.5, 10.7±4.6개였으며, 평균 9.2±5.5개의 수정란을 회수하여 그중 4.1±4.7개의 이식 가능 수정란을 회수하였다. Satori 등(2003)은 수정란 회수 결과 7.1~8.2개였으며, 이식 가능 수정란은 2.7~3.6개 정도를 보고하였다.

이 연구에서 FSH 200 mg, 400 mg 투여군에서 과배란 반복 처리 4회를 통틀어 평균 수정란수는 각각 8.85±4.05개, 8.30±1.73개이었으며, 두 투여군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이 결과는 FSH 감량법을 이용한 최 등(2005)의 결과와 유사한 것으로 생각된다.

또한, 이 연구에서 FSH 200 mg 및 400 mg 투여군에서 과배란 반복처리 4회를 통틀어 이식 가능한 수정란 수는 각각 5.48±2.45, 4.58±2.23개로서 역시 상기 연구자의 결과와 유사하였다. 이 연구의 결과에서 유의적인 차이는 없었지만 200 mg 투여군에서 400 mg 투여군보다 이식 가능 수정란수의 수치가 더 높았던 것은 FSH의 용량을 반으로 사용하여도 과배란에 이용 가치가 있음을 시사한다고 하겠다.

이 연구에서 이식이 불가능한 수정란은 미성숙 단계의 수정란, 변성된 수정란, 미수정란으로 구분하였고, 이식이 불가능한 수정란의 비율은 FSH 200 mg, 400 mg 투여군에서 각각 38.4%, 45.2%이었으며, 이식이 가능한 수정란의 비율은 각각 61.6%, 54.8%이었다. 이 결과만 보아도 FSH 200 mg 투여는 400 mg 투여보다 유용성이 입증된다고 하겠다. 또한, 최 등(2002)의 연구에서 FSH 400 mg 1회 투여와 200 mg 1회 투여 그리고 200 mg 2회 투여시 이식이 가능한 수정란의 비율은 이 실험의 수정란 평가 방법에 준하여 평가하였을 경우 각각 53.9%, 77.3%, 66.7%였다. 이 결과를 이 연구의 수정란 평가

결과와 비교하였을 때 200 mg 투여 결과에서 약간의 차이는 있으나 유사한 결과로 판단된다. 따라서 이 연구 및 최 등(2002)의 결과로 볼때 FSH 200 mg 투여가 경제적으로 유용하다고 생각된다.

한편, 이 연구에서 CIDR 전처리 여부에 대한 비교 연구는 수행되지 못하였으나, 4회 반복처리를 하였음에도 불구하고 회수 수정란수 및 이식 가능 수정란 수에서 FSH 200 mg 투여군의 경우 2회째와 4회째만이 유의적인 차이가 있었고, 그 밖의 횟수간 차이가 없었을 뿐 아니라 FSH 400 mg 투여군의 경우 전 횟수 처리간의 유의적인 차이가 없었던 것은 CIDR 전 처리가 과배란을 위한 성선자극 호르몬 방출과 관련하여 하나의 중요한 역할을 한 것으로 사료된다.

이 연구에서 FSH 200 mg과 400 mg 투여군에서 각각 21개, 52개의 수정란을 홀스타인 수란우에 이식하여 각각 13두, 28두가 임신되어 200 mg 투여군의 경우 61.9%, 400 mg 투여군의 경우 53.8%의 임신율을 나타내었으며, 이 결과는 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 못하였으나, FSH 400 mg의 반인 200 mg 투여를 하여도 400 mg에 비해 더 나쁘지 않을 뿐 아니라 더 높은 수치를 나타내었으므로 200 mg 사용이 경제적이고 유용하다고 사료된다. 김 등(1998)은 과배란 처리 호르몬으로 FSH-P와 SUPER-OV로 구분하여 생산된 수정란을 이식하여 각각 67.4%와 58.7%의 임신율을 나타내었으며, 김 등(2004)의 결과에서는 신선 체내 수정란의 임신율이 한우에서 63.6%, 홀스타인에서 57.1%를 보였으며, 김 등(2002)은 신선 수정란에서 45.4~65.7%의 임신율을 보고한 바, 이 연구 결과와 유사하였다.

따라서 이상의 결과 FSH 200 mg 또는 400 mg을 1회 단독 투여하고 1개월여 간격으로 4회 연속 과배란 처리 방법을 사용한 후 과배란 반응 정도, 회수된 수정란 수 및 이식 가능한 수정란 수, 이식 후 수태율에서 기존의 방법인 FSH 4~5일 감량 방법 및 한 공란우에 대하여 과배란 처리를 3~4개월 간격으로 처리한 결과와 비교했을 때 큰 차이를 나타내지 않았고, 또한 이 연구의 200 mg과 400 mg 투여군 비교에서 200 mg 사용시 역시 400 mg 사용의 경우와 차이가 없거나 좋은 성적을 나타냄으로써 200 mg 사용의 경우 소 과배란 처리에서 간편하고 경제적인 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단되어 FSH 200 mg 1회 투여가 유용하다고 사료된다. 아울러, FSH 1회 투여 방법은 감량 투여 방법에 비해 동물에서 스트레스를 줄이고 사용 방법이 용이하므로 소 수정란 이식에서 과배란 처리 방법으로 제시할 수 있다고 보여진다.

## 결 론

과배란 반복 처리를 위해 서로 다른 FSH 용량(200 mg과 400 mg)의 1회 투여가 한우의 체내 수정란의 생산에 유용한

지 알아보고자 한우 10마리에 대하여 27~41일(약 1개월) 간격으로 4회 과배란 반복처리 후 난소의 반응, 수정란의 생산 및 Holstein 수란우에 수정란 이식 후 임신율을 조사하였다.

1. 4회 과배란 반복처리시 FSH 400 mg 투여군에서 1회째와 4회째의 황체수는 각각 15.00±6.93, 9.00±2.55개로 200 mg 처리군보다 각각 많았으며, FSH 200 mg 투여군에서는 2회째의 황체수가 13.40±4.16개로서 400 mg 투여군보다 많았다( $p<0.05$ ). 각 군에서 과배란 처리 횟수가 진행될수록 황체수가 감소하는 수치를 나타내었다. 전체 황체수 및 평균 황체수는 FSH 200 mg 투여군과 400 mg 투여군 사이에 유의적인 차이가 없었다.
2. 과배란 반복처리후 FSH 투여 용량간 황체수에 비하여 회수된 수정란율은 FSH 200 mg 투여군에서 87.2%, FSH 400 mg 투여군에서 71.9%였으며, 전체 수정란 수에 비하여 전체 이식 가능 수정란율은 200 mg 투여군에서 61.6%, 400 mg 투여군에서 54.8%이었다.
3. 반복 과배란 처리에 의한 횟수간 회수 수정란수는 2회째 200 mg 투여군이 400 mg 투여군보다 더 많은 수정란수를 나타낸 것( $p<0.05$ )을 제외하고는 두가지 FSH 투여 용량간 유의적인 차이는 없었다. 1회부터 4회까지 실험군별 과배란 처리 횟수간의 이식 가능 수정란수는 FSH 200 mg에서는 2회째가 11.20±5.17개로 4회째보다 많았으며( $p<0.05$ ), 400 mg에서는 횟수간 유의적인 차이는 없었다.
4. 이식 가능 수정란 수에서 두가지 FSH 투여 용량간 차이는 과배란 처리 2회째와 3회째 FSH 200 mg 투여군에서 400 mg 투여군보다 더 많은 이식 가능 수정란수를 나타내었으며( $p<0.05$ ), 4회째는 FSH 400 mg 투여군이 200 mg 투여군보다 많았다( $p<0.05$ ). 전체 이식 가능한 수정란수와 평균 이식 가능한 수정란수는 두 군간의 유의적인 차이가 없었다.
5. 반복 과배란 처리 횟수간 이식 가능 수정란수는 FSH 200 mg 투여군의 경우 2회와 3회의 이식 가능 수정란수가 4회보다 많았으며( $p<0.05$ ), FSH 400 mg 투여군의 경우 횟수간 유의적인 차이는 없었다.
6. 과배란 반복처리 후 회수된 수정란에 대한 평가에서 회수된 수정란수에 대한 이식 불가능 수정란율은 FSH 200 mg 투여군과 FSH 400 mg 투여군에서 각각 38.4%, 45.2%이었다.
7. FSH 200 mg 투여군과 400 mg 투여군에서 생산된 수정란을 홀스타인 수란의 21두와 52두에 각각 이식한 결과 수태율은 각각 61.9%, 53.8%이었다.

이상의 결과, 한우 공란우에 대한 FSH 200 mg 또는 400 mg 1회 투여시 과배란 처리가 가능하다는 점과 4회 연속 과배란 반복 처리 방법이 사용가능하다는 점, 그리고 FSH 200

mg 투여가 400 mg 투여보다 경제적이고 유용한 방법이라고 사료된다.

### 참고문헌

- Akbar AM, Nett TM and Niswendwr GD. 1974. Metabolic clearance and secretion rates of gonadotrophins at different stage of the oestrus cycle in ewes. *Endocrinology*. 94: 1318-1324.
- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D and McCauley TC. 2005. Superovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifer. *Anim. Reprod. Sci.* 85:71-80.
- Bo GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H and Mapletoff RJ. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
- Demoustier MM, Becker J-F, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J-L and Ectors F. 1998. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology* 30:379-386.
- Greve T, Callesen H, Hyttel R and Assey R. 1995. The effects of exogenous gonadotropins. *Theriogenology* 46:41-50.
- Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruiop T, Niemann H and Galli C. 2002. Cellular and molecular deviations in bovine *in vitro* produced embryos are related to the large offspring syndrome. *Biol. Reprod.* 67:767-775.
- Linder GM, Wright RW. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 29:407-416.
- Lopez-Sebastian A, Gomez-Brunet A, Lishman AW, Johnson SK and 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.
- Nasser LF, Adams GP, Bo GA and Mapletoft RJ. 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40:713-724.
- Numabe T, Oikawa T, Kikiuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese Black calves by transfer of produced *in vitro*. *Theriogenology* 52:1-10.
- Satori R, Suarez CA, Monson RL, Guenther JN, Rosa GJ and Wiltbank MC. 2003. Improvement in recovery of embryos/ova using a shallow uterine horn flushing technique in superovulated Holstein Heifers. *Theriogenology* 60:1319-1330.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves, and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46: 527-539.
- Shea BF, Janzen RE and 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.
- Son DS, Choe CY, Cho SR, Choi SH, Kim HJ, Kim IH. 2007. The effect of reduced dose and number of treatments of FSH on superovulatory response in CIDR-treated Korean native cows. *J. Reprod. Dev.* 53:1299-1303.
- Suzuki T. 1993. Bovine embryo transfer and related techniques. *Mol. Reprod. Dev.* 36:236-237.
- Takedomi T, Aogagi Y, Konish M, Kishi H, Taya K, Watanabe G and Sasamoto S. 1995. Superovulation in Holstein heifers by a single subcutaneous injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 43:1259-1268.
- van Wagendonk-de Leeuw AM, Aerts BJB and den Dass JHG. 1998. Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: a field study. *Theriogenology* 49:883-894.
- Walsh JH, Mantovani R, Duby RT, Overstrom EW, Dobrinsky JR, Enright WJ, Roche JF and Boland MP. 1993. The effects of once or twice daily injections of p-FSH on superovulatory response in the cow. *Theriogenology* 33:347.
- 김덕임, 서상원, 정재경, 이규승, 서길웅, 박창식, 정영채, 박병권. 2002. 한우에 있어서 체내 수정란의 생산과 이식에 관한 연구: 한우 수정란 이식이 수태율에 미치는 요인. *한국수정란이식학회지* 17:33-44.
- 김용준, 박훈, 이해리, 신동수, 조성우, 김용수, 김수희. 2008. 체내 또는 체외에서 생산된 한우 수정란을 젖소 수란우에 이식한 결과. *한국수정란이식학회지* 23:167-175.
- 김용준, 송재웅, 서세현, 정구남, 김용수, 이해리, 신동수, 조성우, 김수희. 2004. 한우 및 젖소에서 과배란 처리를 이용한 체내 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과. *한국수정란이식학회지* 19:209-218.
- 김홍률, 김덕임, 원유석, 김창근, 정영채, 이규승, 서길웅, 박창식. 1998. 한우에서 수정란 이식의 효율 증진에 관한 연구: 수정란 조건이 이식후 수태율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 13:53-60.
- 박용수, 김소섭, 박훈대, 박현정, 김재명. 2005. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 수정란측 요인. *한국수정란이식학회지* 20:89-95.
- 임석기, 우제석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수. 1998. 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Follitropin-V의 1회 피하



주사에 의한 다배란 유기. 한국수정란이식학회지 13:207-212.

최선호, 류일선, 손동수, 조상래, 한만희, 김현종, 최창용, 김영근. 2005. 한우의 반복 과배란 처리 및 산차가 수정란 생산에 미치는 영향. 한국수정란이식학회지 20:185-190.

최수호, 박용수, 손우진, 이준희, 노규진, 김주현, 최상용. 2007. FSH 투여 용량과 방법에 따른 한우의 과배란 처리 효율.

Reprod. Dev. Biol. 31:199-205.

최수호, 박용수, 조상래, 강태영, 신상희, 강삼순, 노규진, 최상용. 2002. PEG 용해 FSH 투여 방법에 따른 소 과배란 유기 및 수정란 이식효율. 한국수정란이식학회지 17:67-77.

---

(접수일: 2009. 2. 23 / 채택일: 2009. 3. 5)