

供卵乳牛의 過排卵反應에 影響하는 要因에 관한 研究

李政鎬 · *徐泰光 · *朴恒均

한국수정란이식 동물병원

Factors Affecting Superovulatory Responses in Dairy Donor Cows

Jung Ho Lee, Tae Kwang Suh* and Hang Kyun Park *

Korea Embryo Transfer, Vet. Clinic

Summary

This study was carried out in order to find out better ways for superovulation and egg collection by checking some factors affecting on donor cows such as lactating and dried, age, season of treatment and sequence of treatment. The results were summarized as follows :

1. Number of corpus luteum and collected eggs of lactating and dried donor were 9.8 vs 8.0 and 9.6 vs 7.9, respectively. However, the rate of transferable embryos of lactating donor were higher than that of dried, 82.5% vs 48.1%.
2. The average number of corpus luteum and collected eggs of lactating donors under 7 years of age (6.7 vs lactating 5.3) were slightly lower than those of over 8 years of age (11.1 vs 9.2). But the rate of transferable embryos was better in under 7 years old donors than over 8 years (81.1% vs 49.3%). were 6.0, 4.8, 1.5, 1.8 and 75%, and those in the summer were 2.9, 3.8, 2.2 and 46.7%, respectively.
3. The average number of corpus luteum was the highest in winter (10.5) and the rate of egg collection was the best in autumn (94.7%). The rate of the transferable embryo was the highest in winter (64.3%).
4. The average number of corpus luteum was the lowest (5.5) in the animals treated six or more superovulating treatments. The rate of egg collection was the best in the third treatment group (90.2%), but it was getting worse after fifth treatment. The rate of transferable embryos was the highest in the second treatment group (94.1%), and it was decreased thereafter.

緒 論

가축능력개량의 한 방법인 수정란 이식기술이 외국의 경우 산업적으로 실용화되고 있으나 국내의 경우는 아직 실용화되지 못하고 있는 실정이다. 수정란 이식이 국내에서 실용화되기 위해서는 여러가지 문제들이 해결되고 정립되어야 하는데 그중에서도 우수한 공란우의 확보와 더불어 그 능력을 최대로 발휘되고 활용할 수 있게 하는 기술개발도 선결되어야 할 주요 과제중의 하나이다.

현재까지 여러 연구자들이 공란우의 능력을 최대로 발휘할 수 있는 효과적인 과배란 방법 및 그 반

응에 영향을 주는 요인들에 대해 연구해 왔으나 연구자에 따라 그 결과들이 차이가 많기 때문에 활용상 많은 어려움이 있다.

본 연구는 공란우의 효과적인 과배란 반응에 영향을 주는 공란우의 조건, 연령, 계절별 및 반복 과배란 처리요인을 조사하고자 시도하였다.

材料 및 方法

1. 供試動物

공란우는 혈통등록우 중 정상발정을 나타내고 발정주기가 정상인 Holstein 경산우를 이용하였으며 이

* 경북대학교 농과대학 낙농학과.

* Department of Dairy Science, College of Agriculture, Kyungpook National University.

들의 305일 보정 산유능력은 8000kg 이상이었다.

착유가 가능한 소는 계속 착유를 하였으며 부적합한 경우나 저수태우로서 공태기가 길어진 소는 건유시킨 후 정상발정이 2 회 이상 관찰된 정상우를 공사하였다.

2. 過排卵 誘起

공란우의 과배란 처리는 발정주기의 제 9 ~ 13일 (0일 = 발정당일)에 실시하였으며 처리된 직장검사에서 공란우의 황체상태를 확인후 처리하였다. 과배란 유기방법은 이승(1986)의 방법에 준하여 FS-H-P[®] (Schering, Canada)를 12시간 간격으로 1일 2회 절감식으로 4일간 36~44mg을 주사하고 F-SH-P[®]의 주사개시 3일째에 Estrumate[®] (I. C. I, UK) 4ml 또는 Lutalyse[®] (Upjohn, USA) 10mg을 주사하였으며 발정발현 12시간후 2~3회 12시간 간격으로 인공수정을 실시하였다. 공란우의 반복과배란 처리는 3~4개월의 간격을 두고 2회의 정상발정을 발현후 재처리를 실시하였다.

3. 受精卵 回收

과배란처리후 인공수정을 실시한 공란우는 수정후 7~8일에 비외과적인 방법으로 24 gauge의 two way foley valved catheter를 이용하여 수정란을 회수하였다. 사용된 관류액은 modified Dulbecco's PBS에 5% fetal calf serum을 첨가하여 사용하였으며 한쪽 자궁각에 각각 500ml의 관류액으로 관류하여 수정란을 회수하였고 회수전 직장검사를 황체상태를 조사하였다.

4. 檢 卵

채란병에 회수된 관류액은 20~30분간 정지후 하부의 100ml 정도의 저류액을 plastic petri dish에 옮겨 25X의 실체현미경하에서 petri dish 내의 수정란을 찾았으며 검경된 수정란은 신선한 관류액으로 옮겨 3회 세척후 50X의 실체현미경하에서 발생상태를 조사하였다. 회수된 수정란은 할구의 손상이 없는 수정란 및 할구의 손상이 일부 있으나 정상적인 단계로 발생한 수정란을 이식가능한 수정란으로 구분하였다.

結果 및 考察

1. 供卵의 착유條件에 따른 過排卵 反應

착유우 및 건유우를 공란우로 이용하여 과배란 처리후의 난소반응 및 난자회수율은 Table 1과 같다.

Table 1. Superovulatory Responses in Lactating and Dried Donor Cows

Status of donors	No. of heads	No. of CL	No. of ova recovered (%)	No. of transferable embryo (%)
Lactating	5	9.8±1.9*	8.0±3.1 (81.6)	6.6±2.3 (82.5)
Dried	17	9.6±6.0	7.9±5.9 (82.3)	3.8±3.2 (48.1)

*Mean ± SD.

Table 1에서 보는 바와 같이 착유우를 공란우로 이용하여 과배란 처리한 결과 두당 평균 9.8개의 황체가 확인되고 평균 회수 난자수는 8.0개였으며 82.5%가 이식가능한 수정란이었다. 건유우를 공란우로 이용한 경우는 두당평균 9.6개의 황체가 확인되고 평균 회수 난자수는 7.9개였으며 48.1%가 이식 가능한 수정란이었다. 본 연구에서 나타난 착유우에서의 과배란 반응은 Darrow 등(1982)이 착유우를 공란우로 이용하여 과배란유기를 한 결과 두당 평균 황체수 및 회수 난자수는 각각 8.0개 및 6.1개, 이식 가능한 수정란은 65%였다고 보고한 결과보다 약간 우수한 결과였다.

또한 본 연구에서 나타난 건유우에서의 반응은 Darrow 등(1982)이 건유우를 공란우로 이용한 과배란 유기에서 얻어진 8.7개의 평균 황체수보다는 약간 우수한 결과이나 8.1개의 난자회수수와는 유사한 성적이었다.

본 결과에서 이식가능한 수정란의 비율이 착유우의 경우 회수된 난자중 82.5%로서 건유우의 48.1%보다 나은 결과를 보였는데 이는 Darrow 등(1982)의 착유우에서의 65%, 건유우에서의 35%라는 결과와 일치하는 경향이었다. 그러나 Hasler 등(1983)은 과배란처리의 경우 건유우 및 착유중인 공란우간에 회수난자수 및 수정란의 수에 차이가 없다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와는 일치하지 않은 결과였다.

2. 供卵牛의 年齡에 따른 過排卵 反應

공란우의 연령에 따른 과배란 반응 및 난자 회수

율은 Table 2 와 같다.

Table 2. Effect of Age of Donor Cows on Superovulatory Responses

Age of donors	No. of heads	No. of CL	No. of ova recovered (%)	No. of transferable embryo (%)
7 years or younger	7	6.7±3.3*	5.3±3.9 (78.8)	4.3±3.4 (81.1)
8 years or older	15	11.1±5.6	9.2±5.5 (83.1)	4.5±3.3 (49.3)

*Mean ± SD.

Table 2 에서 보는 바와 같이 7 세 이하의 공란우에 대한 과배란 처리후의 난소반응은 평균 황체 수 및 회수 난자수에서 각각 6.7개 및 5.3개로서 8 세 이상의 각각 11.1개 및 9.2개보다 저조한 반응을 나타내었다. 난자 회수율은 7 세 이하의 공란우는 78.8%, 8 세 이상의 공란우는 83.1%로서 큰 차이가 없었으나 이식가능한 수정란의 비율에서는 7 세 이하의 공란우는 81.1%, 8 세 이상의 공란우는 49.3%로서 7 세 이하의 공란우에서 현저하게 높은 결과를 나타내었다.

Hasler 등(1981)과 Donaldson(1984)은 공란우의 연령이 과배란 반응에 영향을 미친다고 보고하였으며 Hasler 등(1983)은 10세 이하의 공란우에서의 과배란처리후 수정란은 10세 이상의 공란우에서 보다 유의적으로 높았으며 평균 회수 난자수 및 이식가능한 수정란의 수는 6 세 이하의 공란우는 각각 10.6개 및 6.8개, 7~10세의 공란우는 각각 10.6개 및 6.9개로서 차이가 없었으며 15세 이상의 공란우는 각각 5.6개 및 2.6개로서 10세 이하의 공란우와

는 현격한 차이를 나타내었다고 보고하였다.

본 연구의 결과에서 7 세 이하 및 8 세 이상의 공란우 사이에 평균 회수 난자수 및 이식가능한 수정란의 차이가 있었는데 이는 Hasler 등(1983)의 6세 이하 및 7~10세의 공란우 사이에 과배란 처리후 반응의 차이가 없었다는 보고와는 일치하지 않는 결과였다. 이식가능한 수정란의 비율이 본 연구에서 7 세 이하와 8 세 이상의 공란우간에 현저한 차이가 있었던 점은 더 많은 공시축을 이용하여 더 추시되어야 할 과제로 사료된다.

3. 供卵牛의 季節別 過排卵 反應

계절에 따른 공란우의 과배란 반응은 Table 3 에 나타난 바와 같다.

계절별 과배란 처리후 공란우에서의 반응은 Table 3 에서 보는 바와 같이 황체수는 봄(2-4월)이 평균 7.6개로 가장 적었으며 가을(8-10월)이 9.5개, 여름(5-7월)이 10.1개, 겨울(11-1월)이 10.5개로서 겨울이 가장 많았다. 그러나 난자 회수율은 겨울이 66.7%로서 가장 낮았으며 봄이 90.2%, 여름이 91.4%, 가을이 94.7%로서 가을이 가장 높았다. 이식가능한 수정란의 비율은 겨울이 64.3%로 가장 낮았으며 봄이 54.5%, 여름이 54.1%, 가을이 55.6%로서 거의 비슷하였다. Hasler 등(1983)은 계절별 공란우의 과배란 반응을 조사한 결과 난자 회수 수는 겨울(11-1월)이 11.2개로 가장 많았으며 여름(5-7월)이 9.2개로 가장 적었다고 보고하였는데 이는 겨울(11-1월)에 회수된 난자수가 가장 적었다는 본 연구의 결과와는 다른 결과였다.

또한 Hasler 등(1983)은 겨울보다 여름의 수정율이 71%로서 유의적으로 높았다고 보고하였는데 이

Table 3. Effect of Season on Superovulatory Responses in Donor Cows

Season	No. of heads	No. of CL	No. of ova recovered (%)	No. of transferable embryo (%)
Winter (Nov.-Jan.)	4	10.5±0.5*	7.0±2.4 (66.7)	4.5±2.1 (64.3)
Spring (Feb.-Apr.)	8	7.6±3.5	6.9±3.7 (90.2)	3.8±2.5 (54.5)
Summer (May-Jul.)	8	10.1±9.3	9.3±8.1 (91.4)	5.0±4.3 (54.1)
Autumn (Aug.-Oct.)	2	9.5±0.7	9.0±.0 (94.7)	5.0±2.8 (55.6)

*Mean ± SD.

는 겨울에 64.3%로서 이식가능한 수정란이 가장 많이 회수된 본 연구의 결과와는 다소 다른 결과를 보였으며, Shea 등(1984)은 12월과 2월의 난자회수율이 58%로서 가장 낮았다고 보고하여 겨울에 난자의 회수율이 낮았다는 본 연구의 결과와 비슷한 경향을 보였다. 그러나 생존 가능한 난자 (viable ova)의 비율에 있어서는 1월에 회수한 경우가 가장 저조하였던 결과는 본 연구의 이식 가능한 난자와 비교할 때에 일치하지 않는 경향이였다.

한편 Gorden 등(1987)은 공란우의 과배란 반응에 있어서 여름이 봄 또는 겨울보다 저조한 반응을 나타내며 계절이 과배란 반응 및 수정란의 질(quality)에 주요한 영향을 미친다고 보고하였으며, Lerner 등(1986)과 Critser 등(1979) 및 Almeida(1987a)도 공란우의 과배란 반응에 계절적인 영향이 작용한다고 보고하였다. 그러나 Massey와 Oden(1984)은 겨울에 공란우의 과배란 반응이 저조하나 유의적인 차이는 없었으며 계절이 공란우의 반응능력에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. Critser 등(1980)과 Darrow 등(1982)도 계절이 공란우의 과배란 반응에 영향을 미치지 않는다고 보고하여 연구자들에 따라 다소 상이한 결과를 보인 것으로 보아 계절이 과배란 반응에 미치는 영향에 대하여는 더 연구되어야 할 과제라 하겠다.

4. 過排卵 處理의 反復에 따른 過排卵 反應

공란우에 대해 3~4개월의 간격으로 2회의 정상 발정을 발현 후 반복 과배란 처리하였을 때의 과배란 반응은 Table 4와 같다.

Table 4에 나타난 바와 같이 황체수에 있어서는

Table 4. Superovulatory Responses in Donor Cows Treated Repeatedly with FSH

Sequence of super-ovulation	No. of heads	No. of CL	No. of ova recovered (%)	No. of transferable embryo (%)
1	9	77 (8.6)	69 (89.6)	51 (73.9)
2	2	24 (12.0)	17 (70.8)	16 (94.1)
3	3	51 (17.0)	46 (90.2)	10 (21.7)
4	2	20 (10.0)	18 (90.0)	9 (50.0)
5	2	19 (9.5)	13 (68.4)	7 (53.8)
6 and more	4	22 (5.5)	12 (54.5)	5 (41.7)
Total	22	213 (9.7)	175 (82.2)	98 (56.0)

1차 처리시 8.6개, 2차 처리시 12.0개, 3차 처리시 17.0개로 3차 처리시에 가장 높았으며 4차 처리시 10.0개, 5차 처리시 9.5개 및 6차 처리시 5.5개로 6차이상 처리시 가장 적었다. 난자 회수율은 각각 89.6%, 70.8%, 90.2%, 90.0%, 68.4% 및 54.5%로 5차 반복처리 이후에 급격히 저하되는 경향을 나타내었다. 또한 이식 가능한 수정란의 비율에 있어서는 각각 73.9%, 94.1%, 21.7%, 50.0%, 53.8% 및 41.7%로서 3차 반복처리시 21.7%로서 가장 낮았으며 3차 이후는 1차 또는 2차 반복처리에 비해 감소하는 경향이였다. Hasler 등(1983)은 반복 과배란 처리간에 2회의 자연발정을 두고 10회까지 반복처리시 회수 난자수의 저하 경향은 없었으나 5회까지 반복처리시 수정율의 차가 있어 회수된 수정란의 수에 유의적인 차가 있었으며 5회 이상의 반복처리에서는 수정율의 저하가 있었다고 보고하였는데 본 연구에서는 3회 이후부터 이식 가능한 수정란의 비율이 낮아져서 이와는 약간 다른 경향을 보였다.

한편 Hasler 등(1983)은 5회 이상의 반복처리에서 수정율의 저하가 있었음에도 불구하고 공란우들이 반복처리에 대해 반응하는 능력에는 10회까지의 반복처리에는 변이가 없었다고 보고하였는데 그 결과는 반복처리시마다 PMSG를 약 200IU 씩 증가시켜 과배란 처리를 한 결과 공란우에 대한 과배란의 반복처리가 배란율, 생존가능 수정란(viable embryo)의 수 및 수정란의 질 등의 반응능력에 영향을 미치지 않았다고 보고한 Moor 등(1984)의 보고와 일치되는 경향을 나타내었다. 그러나 Gordon (1982)은 호르몬의 반복처리는 난소반응을 저하시킨다고 하였으며, Donaldson과 Perry(1983)는 FS-H로 공란우에 반복 과배란 처리시 처리횟수가 증가할 수록 수정란의 회수율이 감소하였으며 FSH의 주사량을 증가시켜도 감소 경향이 개선되지 않았다고 보고하였다. 또한 Warfield 등(1986)은 1~2회 반복과배란 처리시보다 3회 이상 반복처리시 황체수, 회수난자수 및 이식가능한 수정란의 수 등에서 모두 저조한 반응을 나타내었고 3~8회의 반복과배란 처리를 받은 공란우 중 81%의 공란우에서 0~1개의 이식가능한 수정란을 회수하여 3회 이상 반복처리시 반응이 매우 저조하다고 보고하였으며, Ali Dinar 등(1987)은 PMSG로 반복과배란 처리시 4회 이상의 반복 처리에서부터 배란율등이 감소하

었다고 보고하였다.

한편 Almeida (1987b)는 건유기의 공란우를 PM-MSG로 반복 과배란 처리시 황체수 및 회수 난자수의 저하 경향은 있었으나 처리간 유의적인 차는 인정되지 않았다고 보고하였다. 본 연구에서 반복 과배란 처리를 실시한 공시동물의 수가 적기 때문에 유의적인 경향을 찾을 수는 없었으나 대체로 3 회 이상의 반복처리시 과배란 반응이 저조해지는 경향을 얻었다. 반복 과배란 처리에 대한 공란우의 과배란 반응에 대해서는 여러 연구자들 사이에 다소 다른 경향을 보이고 있기 때문에 공란우의 사용효율을 높이기 위해서는 더욱 추시하여야 할 분야이다.

結 論

본 연구는 공란우의 과배란 반응에 미치는 여러 가지 요인들을 조사, 검토코자 실시하였으며 공란우의 조건, 연령, 계절에 따른 공란우의 반응 및 반복 과배란 처리에 대한 과배란 반응의 결과는 다음과 같다.

1. 공란우의 조건 즉 착유와 건유우의 과배란 반응은 황체수와 회수난자수에서는 각각 9.8개, 8.0개 및 9.6개, 7.9개로서 유사하였으나 이식가능한 수정란의 비율에서는 착유우는 82.5%로서 건유우의 48.1%보다 나은 성적을 보였다.

2. 공란우의 연령에서 7 세 미만의 공란우에서는 황체수 및 회수난자수가 각각 6.7개 및 5.3개로서 8 세 이상의 11.1개 및 9.2개보다 저조한 반응을 나타내었으나 이식가능한 수정란의 비율에서는 7 세 미만이 81.1%로서 8 세 이상의 49.3% 보다 높았다.

3. 계절에 따른 과배란 반응은 황체수에 있어서는 겨울(11-1월)이 10.5개로서 가장 많고 봄(2-4월)이 7.6개로 가장 적었으며 난자 회수율은 가을(8-10월)이 94.7%로서 가장 높고 겨울(11-1월)이 66.7%로서 가장 낮았으며 이식 가능한 수정란의 비율은 겨울(11-1월)이 64.3%로 가장 높고 그 외의 계절에서는 반응의 차이가 거의 나타나지 않았다.

4. 반복 과배란 처리후의 과배란 반응은 6 차 이상 반복 처리시 황체수가 5.5개로 가장 적었고, 난자 회수율은 3 차 처리시 90.2%로 가장 높았으며

5 차 이후에서는 감소하는 경향이었고 이식 가능한 수정란의 비율은 2 차 처리시 94.1%로 가장 높았으며 3 차 반복처리 이상에서는 감소하였다.

參 考 文 獻

1. Ali Dinar, M., Diskin, M.G., McDonagh, T. and Sreenan, J.M. (1987). Oestrous and ovarian responses in repeatedly superovulated cows. *Theriogenol.*, 27:201 (Abstr.)
2. Almeida, F.A.P. (1987a). Seasonal variations in the superovulatory responses to PMMSG in dairy cows. *Theriogenol.*, 27:204 (Abstr.)
3. Almeida, F.A.P. (1987b). Superovulatory responses in dairy cows treated repeatedly with PMMSG. *Theriogenol.*, 27:205 (Abstr.)
4. Critser, J.K., Gunsett, F.C., Winch, R.P., Eilts, C.L. and Ginther, O.J. (1979). Factors affecting ova transfer in Limousin, Maine-Anjou, and Simmental cattle. *Theriogenol.*, 11:95 (Abstr.)
5. Critser, J.K., Rowe, R.F., Del Campo, M.R. and Ginther, O.J. (1980). Embryo transfer in cattle: Factors affecting superovulatory response, number of transferrable embryos, and length of post-treatment estrous cycles. *Theriogenol.*, 13:397-406.
6. Darrow, M.D., Lindner, G.M. and Goemann, G.G. (1982). Superovulation and fertility in lactating and dry dairy cows. *Theriogenol.*, 17:84 (Abstr.)
7. Donaldson, L.E. (1984). Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenol.*, 21:963-967.
8. Donaldson, L.E. and Perry, B. (1983). Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cows. *Theriogenol.*, 20:163-168.
9. Gordon, I. (1982). Synchronization of estrus and superovulation in cattle. In: *Mammalian Egg Transfer*. ed. C.E. Adams. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp. 63-80.
10. Gordon, I., Boland, M.P., McGovern, H. and Lynn, G. (1987). Effect of season on superovulatory responses and embryo quality in Holstein cattle in Saudi Arabia. *Theriogenol.*, 27:231

- (Abstr.).
11. Hasler, J.F., Brooke, G.P. and McCauley, A.D. (1981). The relationship between age and response to superovulation in Holstein cows and heifers. *Theriogenol.*, 15:109 (Abstr.).
 12. Hasler, J.F., McCauley, A.D., Schermerhorn, E.C. and Foote, R.H. (1983). Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenol.*, 19: 83-99.
 13. Lee, J.H., Park, H.K. and Kim, H.K. (1986). Studies on the use of repeat breeders as donors for embryo transfer in dairy cow. *Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.*, 4:102-108.
 14. Lerner, S.P., Thayne, W.V., Baker, R.D., Henschen, T., Meredith, S., Inskoop, E.K., Dailey, R.A., Lewis, P.E. and Butcher, R.L. (1986). Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, 63:176-183.
 15. Massey, J.M. and Oden, A.J. (1984). No seasonal effect on embryo donor performance in the southwest region of the USA. *Theriogenol.*, 21: 196-217.
 16. Moor, R.M., Kruip, Th. A.M. and Green, D. (1984). Intraovarian control of folliculogenesis: Limits to superovulation? *Theriogenol.*, 21:103-116.
 17. Shea, B.F., Janzen, R.E. and McDermid, D.P. (1984). Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenol.*, 21:186-195.
 18. Warfield, S.J., Seidel, G.E. Jr. and Elsdon, R.P. (1986). A comparison of two FSH regimens for superovulating cows and heifers. *Theriogenol.*, 25:213 (Abstr.)