

초음파유도 난포란 채취를 위한 기본 기술의 개발

II. 소의 마취방법과 채란기구의 개발

최민철 · 조성근* · 강태영 · 박준규* · 손우진 · 이효종

경상대학교 수의과대학, 동물의학연구소

Development of Basic Techniques for Ultrasound-guided Follicular Aspiration

II. Anesthetic Methods and Development of a Disposable Simplified Needle Guidance System for Ovum Pick-up

M. C. Choi, S. K. Cho*, T. Y. Kang, J. K. Park*,

W. J. Son and H. J. Lee

College of Veterinary Medicine, Institute of Animal Medicine,

Gyeongsang National University

SUMMARY

This experiment was carried out to develop the anesthetic methods for ultrasonography and a new simplified disposable needle guidance device for ovum pick-up(OPU) in cows. Three different anesthetic methods were applied as; 1) epidural analgesia only with 2% lidocaine(20~30 ml), 2) epidural analgesia with 2% under general sedation with xylazine, 3) epidural analgesia with 2% lidocaine under general sedation with detomidine.

We evaluated the anesthetic effects with items such as relaxation of anal sphincter, tail movement and rectal wall, retractability of both ovaries, additional anesthesia and possibility of OPU. Through this experiment, the above three anesthetic methods were applicable to OPU, but the epidural analgesia under general sedation with detomidine was most effective for OPU.

We developed a new disposable needle guidance device with stainless steel tube. With this, disposable needles can be easily attachable to any other intravaginal probes. And also, it was found to be practical, economic and effective for OPU with the recovery rate of 51.2%.

(key words : ultrasonography, epidural analgesia, disposable needle guidance device, ovum pick-up, cows)

서 론

초음파진단장치가 가축의 번식생리학에서 임신 및 생식기관의 관찰 등에 이용된 후(Siros와 Fortune, 1988; Pierson과 Ginther, 1987; Reeves

본 연구는 1996년도 교육부 학술연구 조성비(지역개발연구)에 의하여 연구되었음.

* 경상대학교 농과대학 축산학과(Department of Animal Science, Gyeongsang National University)

등, 1984; Pierson과 Ginther, 1984) 지속적인 초음파진단기기의 발달은 이 분야에서 더욱 정확하고 향상된 기능을 갖추게 되었다.

특히 최근에 국내에서도 수정란 이식기술이 발달하고, 이어서 복제동물이나 유전형질전환 소(transgenic cow)의 생산에 관한 연구도 수행 중이다. 이런 새로운 biotechnology의 시도로서 고능력의 품질의 소의 유전자를 가진 난자를 초음파유도로 채란하고 우수 종모우로부터 채취한 검정된 정자로서 체외수정시켜 이들 수정란을 이식하는 기법을 확립하는 것이 가축을 조기에 개량하여 축산발전에 이바지할 것으로 본다. 우수한 능력을 가진 한우나 유우의 난자를 계속적으로 꾸준히 확보하는 방법으로서는 초음파 진단장치를 이용하여 소의 질에 초음파의 탐촉자(probe)를 집어넣고 한 손으로는 직장 안에 넣어 난소를 잡아 질 부분에 가까이 유도하여 생검바늘을 이용하여 채란하는 방법이 개발되어 외국에서 활용 중에 있으며(Bols 등, 1995), 국내에서도 작년부터 초음파를 이용하여 채란하려는 연구가 시작되어 각 연구소 및 학교에 많은 연구가 진행 중이다. 따라서 본 연구에서는 초음파를 이용한 소의 난포란 채란에서 보다 좋은 방법을 찾고자하여 우선 마취 방법을 알아보았고, 작년부터 초음파 제조 회사에서 대동물에 맞게 종전에 사람에게 사용하던 질용 탐촉자를 길게 만들어서 이에 수입용 채란바

늘을 접촉한 것이 소개되어 본 대학에서도 구입하여 쓰고 실험 중에 있다. 그러나 needle 1개당 가격이 5~6만원이어서 경제적이지 못하며 수명이 길지 못한 단점이 있다. 본 연구에서는 값싼 1회용 needle을 이용하여 기초적인 난포란 채취기구를 고안하였으며 이의 현장적용을 통한 문제점 파악과 개선을 통하여 보다 좋은 기구가 보완되도록 하였고 그때의 채란율을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물과 과배란 처리

실험에 사용된 동물은 한우 및 Friesian-Holstein 젖소로서 과배란 처리를 위하여 follicle stimulating hormone(FSH; Folltropin-V[®], Australia)을 사용하였으며, Meintjes 등(1995)의 방법에 준하여 multiple decreasing doses로 400 mg FSH를 12시간 간격으로 1일 2회씩 3일간 근육주사한 후 12시간 만에 채란하거나, single dose로 400 mg FSH를 25% PVP에 첨가하여 1회 근육주사한 후 60시간에 채란하였다.

2. 실험동물의 마취

마취 방법으로는 1) 2% lidocaine 20~30 ml를 제 1, 2 미추간 사이에 경막외마취(epidural anes-

Table 1. Criteria for anesthetic evaluation

Items	Evaluation	Score
Anal sphincter	Relaxation	2
	No relaxation	1
Tail movement	Relaxation	2
	No relaxation	1
Retraction of ovaries	Easily retractable	2
	Not retractable	1
Relaxation of rectal wall	Yes	2
	No	1
Additional anesthesia	Yes	2
	No	1
Possibility of ovum pick-up	Yes	2
	Possible, but unstable positioning	1
	No	0
Total scores		

thesia)를 한 경우, 2) 2% xylazine(Rompun[®], Korea)을 0.2 ml /100 kg 용량으로 정맥주사 후 경막외마취로 lidocaine을 10 ml 주사한 경우 및 3) detomidine HCl(Dormosedan[®], Canada)과 경막외마취로 lidocaine 10 ml를 사용하였다.

마취의 효과를 알아보기 위하여 다음의 항목 등에 관하여 점수를 주어 합산한 다음 그 평균치를 비교 조사하였다.

3. 채란용 기구들

1) 초음파 진단기

채란에 사용된 초음파 진단 장치로서는 국내 Medison사의 Sonoace-1500 및 Sonovet-600을 사용하였고, 이에 사용된 탐촉자는 6.5 MHz 인의용 및 수의전용의 질내 삽입 탐촉자에 고안된 기구를 장착하여 사용하였다.

2) 진공 펌프

진공펌프(Thomas[®], USA)는 75~80 mmHg의 진공압(분당흡입량 27~29 ml)를 유지하면서 조절하여 사용하였다.

3) 채란기구

(1) New simplified device

Stainless steel 파이프강을 제작 의뢰하여 만들었으며 외관통과 일회용 주사바늘과 진공펌프의 튜브를 연결하는 내관으로 구성된 것.

(2) Sonoace-1500 type

인체용 질내 삽입 탐촉자에 짧은(30 cm) needle device가 연결된 것.

(3) Sonovet-600 type

수의 전용으로 개발된 것으로 종래 인체용 질내 삽입 탐촉자의 길이를 늘리고 이에 맞는 긴(60 cm) needle device를 연결된 것을 사용하였다.

4. 난포란의 채란

소를 보정틀안에 넣고 위의 마취의 한 가지 방법을 이용하여 진정시키고, 직장내의 변을 제거한 뒤 회음부와 외음부의 오물을 깨끗하게 씻어내고 소독용 알코올용액과 povidone iodine 희석액으로 세척

한 후 채란기구가 장착된 탐촉자에 초음파용 gel를 바른 뒤 질내로 삽입하고 이어서 초음파 진단기구의 monitor를 보면서 난소를 촉진하고 난포를 확인하였다. 난포란 채란기구를 질을 통과하여 난포를 천자하여 난포액과 난포내의 난자를 채취하였다. Heparin이 섞인 기본배양액(TCM-199+10% FCS)으로 세척하여 needle속에 남아 있는 난포액을 완전히 흡입하였다.

5. 난포란의 회수

난포액이 들어 있는 tube는 채란 후 즉시 실험실로 운반하여 채란액은 실온에서 약 25~30분간 정치시킨 후 침전된 하층액을 5 ml의 피펫으로 흡입하여 구획이 그려져 있는 60 mm 배양접시에 옮겨서 40 배율의 도립현미경(Olympus Co., Japan)하에서 난포란을 회수한 후 기본 배양액(TCM-199+10% FCS)으로 4~5회 세척한 후 난포란을 채집하여 채란율을 조사하고 등급별로 분류 선별하였다.

6. 난포란의 등급분류

회수한 난포란은 아래와 같이 등급분류를 하였다.

- 1) Grade I ; 4층 이상의 난구세포층이 충분하면서 균일한 세포질을 가진 것.
- 2) Grade II ; 1~3층의 난구세포층을 가진 것.
- 3) Grade III ; 부분적으로 또는 완전히 나화된 것.
- 4) Grade IV ; 이미 성숙된 것.

7. 통계처리

마취효과에 따른 자료와 각 채란기구를 통한 채란율의 조사분석은 microstat의 통계 program을 이용하여 one-way ANOVA test로 유의성 검정을 하였다.

결 과

1. 마취의 효과

소에서 3가지 마취법을 적용하여 그 효과를 알아보았으며, Table 1에 의거하여 total scores로 계산

Table 2. Anesthetic scores of different anesthetic methods in cows

Methods of anesthesia	Heads of cows used	Total scores	Cases of ovum pick-up failure (%)
Epidural analgesia only	13	10.92±0.95*	2 (15.4)
Epidural analgesia under detomidine sedation	33	11.36±1.41	3 (9.1)
Epidural analgesia under xylazine sedation	44	10.74±1.55	5 (11.4)

* (mean ± S.D.)

Table 3. Recovery of follicular oocytes between a new simplified disposable OPU instrument and Sonoace-1500 type and Sonovet-600 type OPU instruments

OPU instruments	Heads of cows used	Recovery rates* (mean, %)	Total no. of observed follicles	No. of oocytes recovered			
				Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
New simplified device	14	51.2 ^{***a}	282	23	76	28	33
Sonoace-1500 type	17	32.3 ^b	202	3	24	15	7
Sonovet-600 type	25	56.4 ^a	466	65	70	57	57

* Recovery rates = (total No. of oocytes recovered / observed follicles) × 100.

** Superscripts a & b denote statistical difference within column (p < 0.05).

한 결과는 Table 2와 같다.

소에서 detomidine으로 진정시킨 다음 lidocaine으로 경막외마취한 경우 가장 높은 점수(11.36±1.41)를 보였으며 그 다음으로 lidocaine만으로 경막외마취를 한 것이 10.92±0.95, 그리고 xylazine으로 진정시킨 다음 lidocaine으로 경막외마취한 것이 10.74±1.55이었으나 이들 간에 통계적인 유의치는 인정되지 않았다. 채란을 하지 못한 경우에는 lidocaine으로 경막외마취만을 실시하였을 때가 다른 마취법을 실시하였을 때보다 적었으나 이 방법에서는 소가 주저앉는 경우가 대부분이어서 채란 때 시간이 많이 걸리고 한쪽 난소만 채란한 가능한 경우

도 있는 등의 단점이 있었다.

2. 채란기구의 고안(A new simplified disposable OPU instrument) 및 채란 성적

채란기구는 스테인레스 강관을 주문하여 이를 길이 45.5 cm(외경 8 및 3 mm)로 절단하여 외관과 내관으로 제작하였고 내관의 끝부분은 일회용 18 G 바늘이 끼울 수 있게 고안하고 이 내관안으로 가는 tube관이 바늘과 연결하고 다른 한 끝부분은 채란관과 연결되었으며, 여기에 진공이 적용하도록 하였다. 채란기구는 초음파 탐촉자위에 연결하여 난자 채란에 이용하였다(Fig. 1).

경제적이다(Table 4).

고 찰

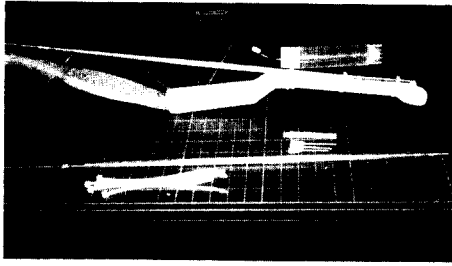


Fig. 1. A new simplified OPU instrument attached to a transvaginal probe.

이렇게 만들어진 채란기구를 이용하여 채란한 성적과 종래에 사용해 왔던 Sonoace-1500에 장착된 인체용 질내 삽입 탐촉자를 이용한 채란기구(이하 'Sonoace-1500 type')와 최근에 개발된 Sonovet-600에 장착된 개량된 수의용 탐촉자를 이용한 채란기구(이하 'Sonovet-600 type')와의 채란율을 비교한 것은 다음과 같다(Table 3). 고안된 기구는 전체의 채란율은 51.2%이어서 처음 사용된 Sonoace-1500 type보다는 우수한 효과가 있음을 알 수 있었고($P < 0.05$) 새로 개발된 Sonovet-600 type인 56.4%와 거의 같은 채란율을 나타내었다.

또한 이 고안된 채란기구와 종래에 사용해 오던 Sonoace-1500과 Sonovet-600의 탐촉자들과 연결된 채란기구를 비교할 때 고안된 기구는 처음 강관을 구입하고 제작하는데 수고가 있지만, 위의 2종류의 탐촉자에 연결해서 사용할 수 있을 뿐 아니라 그 채란기구의 끝부분이 일회용 바늘을 사용하기 때문에 채란에 드는 비용이 매우 적은 장점이 있어서 매우

초음파를 이용한 소의 난포란 채취시 소의 마취에서는 Bergfelt 등(1994) 및 Stubbings과 Walton(1995)은 경막외 마취로 2% lidocaine을 4~10 ml의 사용하여 채란하였으며, Gibbons 등(1994)은 acepromazine maleate(44 mg/100 kg B.W., IV)와 2% lidocaine(6 ml)을 이용한 경막외 마취로서, Becker 등(1996)과 Pieterse와 Kappen(1988)은 detomidine과 경막외마취에다 강직완화를 위해 hyoscine을 사용을 보고하였으나 대부분의 많은 연구자들(Bungartz 등, 1995; Meintjes 등, 1995; Vos 등, 1994; Pieterse 등, 1991; Pieterse 등, 1991)은 detomidine(1 mg/100 kg, B.W., IV)으로 진정된 후 2% lidocaine으로 경막외 마취를 보고 하였다. 특히 Pieterse와 Kappen(1988)은 detomidine과 경막외마취에다 강직완화를 위해 hyoscine을 사용이 detomidine 단일 사용보다 효과가 좋다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 소의 경막외마취로 통상 사용량인 2% lidocaine 5~10 ml(Short, 1987; Booth와 McDonald 1982)으로는 조작하기 힘들고 한 번 채란하기 위해 채란 바늘이 질벽을 통관한 후에는 심한 통증과 함께 불안한 것을 관찰하였고, 보통 20 ml 이상의 용량을 사용했고, 추가로 투여하였을 때는 소의 후구가 마취로 인하여 체중을 견디지 못하고 주저앉는 경우가 많아서 채란하는 데 많은 시간과 어려움이 있었다. 또한 연구에서는 2마리의 소에서 근육이완제인 Vetrabutin HCl(Monjal[®], Boehringer Ingel-

Table 4. Characteristics of each OPU instruments

OPU instruments	Attachability	Commecial availability	Cost for purchase	Cost for OPU	Probes
New simplified device	Yes	No	Low	Very low	No
Sonoace-1500 type	No	Yes	High	High	Human use only
Sonovet-600 type	No	Yes	High	High	Veterinary use only

heim, Germany)를 사용하였으나 자궁근은 이완이 되나 직장과 기타 장기들이 쉽게 견인이 되지 않는 문제점으로 계속적으로 사용하지 않았다. 그리고 소의 진정제로 가장 많이 사용되는 xylazine(Rompun®, Bayer Korea)과 lidocaine을 이용한 경막외마취로는 대부분 채란이 가능하였으나 전반적으로 소의 자세가 불안정하고 흔들림이 심한 것을 많이 경험하였고, detomidine과 lidocaine을 이용한 경막외마취를 이용할 때는 약간의 불안정이 인정되었으나 큰 어려움이 적었다. Xylazine는 중요한 alpha-adrenoceptor agonist로 반추수에 진정제로서 효과가 좋으며, alpha-adrenoceptor agonist의 개발 중에 발견된 매우 강력한 pre & postsynaptic alpha₂-adrenoceptors인 detomidine은 소와 말에서 진정, 진통, 심혈관 및 호흡기 등에 영향력이 있으며 자궁근육을 수축하지 않으며, 말에서 전기자극으로 뇌의 전압(brain potentials)과 통증반응(pain reaction)에 관한 detomidine의 효과에 관하여 xylazine과 비교에서 detomidine은 xylazine보다 더욱 적은 용량에서도 진통효과가 있으며 용량을 증가시키면 이의 작용이 더한다고 하였다(Short, 1987). 본 연구의 결과에서 보는 바와 같이 detomidine과 lidocaine의 경막외마취 방법이 가장 적합한 방법으로 나타난 것도 자궁수축을 하지 않는 점과 진통효과가 우수한 점에 기인한 것이 아닌가 사료된다.

소의 채란에 쓰이는 기구는 50 cm 이상의 긴 바늘을 이용한 것과 1회용 바늘이나 짧은 바늘을 사용하는 장치 등이 현재 사용되고 있으며, 긴 바늘을 이용하여 채란한 보고가 많으며(이 등, 1996; Meijes 등, 1995; Stubbings와 Walton, 1995; Hasler 등, 1995; Looney 등, 1994; Bergfelt 등, 1994; Gibbons 등, 1994; Pieterse 등, 1991; Pieterse와 Kappen, 1988), Bungartz 등(1995), Bols 등(1995) 및 Becker 등(1996)은 1회용 바늘 및 단침을 이용하여 채란하였다. 특히 최근에 Bols 등(1995)는 1회용 바늘을 이용한 새로운 채란기구를 고안하여 그 동안 긴 바늘을 이용한 경우에서의 단점인 바늘 끝이 무디지고 갈더라도 쉽게 처음의 바늘끝의 예리한 점을 회복 못한다든지, 구입비용의 고가 등을 보완하여 새로운 1회용 바늘의 사용이 더욱 실질적이며 경제적이라고 보고하였다. 본 연구

에서는 처음에 본 연구팀이 채란에 사용된 Sonoac-1500의 초음파와 여기에 사용되는 인체용 질내 삽입 탐촉자(6.5 MHz)에 연결할 수 있는 30 cm의 바늘은 소의 채란시 쉽게 needle guidance를 왕래하면서 쉽게 휘어지는 경향이 많았으며 수입품으로 고가인 점이 문제점으로 나타났었다. 이번에 개발된 1회용 바늘을 사용한 채란기구는 이러한 결점을 보완하고자 개발되었으며 약간의 제작비만 사용되고 1회용 바늘을 사용할 수 있어서 매우 경제적이라 할 수 있다. 이 기구는 Bols 등(1995)가 개발한 채란기구와는 비슷하나 Bols 등(1995)은 기다란 원통 안에 탐촉자 및 needle guidance와 바늘이 연결되어 있게 하고 전체 손잡이가 있게 고안되었으나, 개발된 것은 어느 탐촉자에도 쉽게 연결할 수 있게 되어 있으며, needle guidance에 해당되는 외통과 내부의 needle을 끼울 수 있는 가는 파이프에 튜브를 안쪽으로 연결하게 되어 있고 채란시의 비용이 적게 드는 경제적인 채란기구이다.

초음파유도를 이용한 소의 난포란의 채란에 관하여서는 여러 학자들이 다양한 채란율을 보고하였다. 1회용 바늘과 단침을 이용한 경우 Bols 등(1995)는 42%, Bungartz 등(1995)는 66.3~74.4% 그리고 Becker 등(1996)은 44%의 채란율을 보고하였다. 긴 바늘을 이용한 채란기구를 이용한 소의 채란에서는 채란율은 적게는 19%에서 70%까지 여러 학자들에 의해서 다양하나 약 40~60%의 범위에 든다. 본 연구에서 개발된 채란 기구로 사용했을 때의 채란성적이 50%를 상회하고 또 최근에 초음파 회사(Medison, Korea)에서 개발된 Sonovet-600 초음파와 이에 맞는 수의 전용 탐촉자 및 채란기구와의 성적 비교에서도 큰 차이가 없어서, 앞으로 소의 난포란 채란시 좋은 채란성과 많은 이용이 기대된다.

적 요

본 연구는 소에서 초음파 유도 난포란 채취에 있어서 보다 좋은 채란방법을 찾고자 하여 소의 마취의 여러 가지 방법과 채란기구를 고안한 것과 이를 채란율을 알아보았다. 소의 마취방법으로서는 2% lidocaine을 이용한 경막외마취만 한 경우와 xylaz-

ine 진정과 lidocaine으로 경막외마취를 한 경우 및 detomidine으로 진정과 lidocaine으로 진정한 경우를 항분괄약근, 직장벽 및 꼬리운동의 이완성, 난소의 건인성, 추가마취의 여부 및 채란 가능성으로 나누어서 이들을 비교하였다. 마취방법 중에서 3가지 채란이 가능하지만 detomidine과 lidocaine으로 경막외마취가 좋은 방법으로 나타났다. 종래의 채란 기구의 문제점인 쉽게 무디지거나 구입비용이 고가인 점을 보완하고자 1회용 바늘을 이용한 채란기구를 개발하여, 경제성과 어느 탐촉자에도 장착할 수 있게 고안하였으며, 이를 통해 채란하였을 때의 채란율의 비교에서 인체 질내 삽입 탐촉자와 연결된 채란기구(32.3%)보다는 유의치 있는 높은 채란성적(51.2%)을 나타내었으며, 최근의 초음파제작회사에서 개발된 긴 바늘의 채란기구(56.4%)와도 동등한 채란효과를 나타내었다.

참고문헌

- Bergfelt DR, Lightfoot KC and Adams GP. 1995. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation heifers. *Theriogenology*, 42:895-907.
- Bols PEJ, Vandenheede JMM, Van Soom A and de Kruif A. 1995. Transvaginal ovum pick-up(OPU) in the cow: a new disposable needle guidance system. *Theriogenology*, 43: 677-687.
- Bungartz L, Lucas-Hahn A, Rath D and Niemann H. 1995. Collection of oocytes from cattle via follicular aspiration aided by ultrasound with or without gonadotrophin pretreatment and in different reproductive stages. *Theriogenology*, 43:667-674.
- Gibbons JR, Beal WE, Krisher RL, Faber EG, Pearson RE and Gwazdauskas FC. 1994. Effect of once- versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology*, 42:405-419.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, McCauley AD, Mower SA, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-159.
- Looney CR, Lindsey BR, Gonseth CL and Johnson DL. 1994. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization(IVF) for embryo production in problem cow. *Theriogenology*, 41:67-72.
- Meintjes M, Bellow MS, Broussard JR, Paul JB and Godke RA. 1995. Transvaginal aspiration of oocytes from hormone-treated pregnant beef cattle for *in vitro* fertilization. *J. Anim. Sci.*, 73:967-974.
- Nicholas H. Booth and Leslie E. McDonald (ed.). 1982. *Veterinary Pharmacology and therapeutics*. 5th ed., The Iowa State University Press, Ames, pp. 372.
- Pierson RA and Gintehr OJ. 1987. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers, *Theriogenology*, 28:929-936.
- Pierson RA and Gintehr OJ. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary, *Theriogenology*, 21: 495-504.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip ThAM and Taverne MAM. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30:751-762.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Willemse AH and Taverne MAM. 1991. Characteristics of bovine estrus cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles for ovum pick-up. *Theriogenology*, 35:401-413.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Wurth YA, van Beneden ThH, Willemse AH and Taverne MAM. 1991. Transvaginal ultras-

- ound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24.
- Reeves JJ, Rantanen NW and Hauser M. 1984. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. *Theriogenology*, 21:485-494.
- Short CE(ed.). 1987. Principles and practice of veterinary anesthesia. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 49-53, 117.
- Siros J and Fortune JE. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction*, 39:308-317.
- Stubbings RB and Walton JS. 1995. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology*, 43:705-712.
- Vos PLAM, de Loos FAM, Pieterse MC, Benders MM, Taverne MAM and Dieleman SJ. 1994. Evaluation of transvaginal ultrasound-guided follicle puncture to collect oocytes and follicular fluids at consecutive times relative to the preovulatory LH surge in eCG /PG-treated cow. *Theriogenology*, 41: 829-840.
- 이병천, 이강남, 김남렬, 황우석. 1996. 송아지 난소에서 초음파 유도에 의한 한우의 미성숙난자 채취시에 bST-FSH 처리효과에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 11:103-109.
-
- (접수일자 : 1997. 7. 28 / 채택일자 : 1997. 8. 22)