

## 한우 수란우의 임신율에 대한 hCG 영향과 혈장 요소태질소 수준과의 관계

박수봉<sup>†</sup> · 임석기 · 우계석 · 김일화 · 최선호 · 이장희 · 김인철 · 손동수  
축산기술연구소

### Relationship of Plasma Urea Nitrogen Level and Influence of hCG on Pregnancy Rates in Hanwoo Recipients

S. B. Park<sup>†</sup>, S. K. Im, J. S. Woo, I. H. Kim, S. H. Choi,  
J. H. Lee, I. C. Kim and D. S. Son

National Livestock Research Institute, R.D.A., Chonan, 330-800, Republic of Korea

#### SUMMARY

This study was undertaken to test the hypothesis that treatment with hCG (5,000 IU) at the time of embryo transfer would enhance pregnancy rates in recipients, and the concentration of plasma urea nitrogen(PUN) in recipients was related to the effect of hCG on the reproductive performance. Blood samples were taken according to experimental condition for the assessment of the endogenous plasma progesterone concentration and plasma urea nitrogen. Concentrations of progesterone in plasma were higher in cows treated with hCG on day 7 (estrus=day 0) than in those untreated during 7~43 days after insemination. The pregnancy rates were 65.5 and 54.6% for the hCG treated and untreated groups, respectively. In recipient group categorized with PUN concentration of <12 mg/dl, the pregnancy rates were 68.8 and 46.7% for the hCG treated and untreated groups, respectively. The results suggest that hCG treatment at 7 days after insemination could be used to increase the pregnancy rate of embryo transfer, and only the recipients with PUN concentration of <12 mg/dl were influenced by treatment with hCG.

(Key words : pregnancy rate, plasma urea nitrogen, hCG, Hanwoo recipient)

#### 서 론

수정란이식의 수태율 향상을 위해서는 수란우의 관리가 아주 중요하다. 그러나 관리를 잘 한다고 해도 모든 소가 적합한 수란우가 되지는 않는다. 그래서 수란우의 선정기법에 대한 연구와 아울러 좋은 수란우를 만들기 위한 빈식기능 제어에 관한 다양한 연구가 진행되어 왔다. 그러한 연구 중에서 임신 유지와 관련한 황체기능의 증진에 관

한 연구가 많은데 progesterone의 투여법(Robinson 등, 1989; Macmillan 등, 1990; Van Cleeff 등, 1991; Stevenson과 Mee, 1991; Broadbent 등, 1992), hCG투여법(Veenhuizen 등, 1972; Wagner 등, 1973; Holness 등, 1982; Breuel 등, 1990; Walton 등, 1991; Rajamahendran과 Sianangama, 1992)과 GnRH투여법(Macmillan 등, 1986; Drew와 Peters, 1991, 1992, 1994; Ellington 등, 1990, 1991) 등이 포함된다.

그러나 이러한 연구들에 의해 얻어진 결과는 수

<sup>†</sup>Correspondence

태율이 향상되거나 되지 않는 상반된 결과를 보고하고 있어, 이러한 처리방법이 수란우에 도움이 되는지 규명될 필요가 있다고 지적되고 있다(Betteridge와 Loskutoff, 1993). 수태되지 않은 많은 소들이 초기 및 증기황체기에 낮은 수준의 progesterone을 분비하고(Bulman과 Lamming, 1978) 이와 같은 황체기능이 정상이 아닌 소에서 번식의 손실이 일어난다(Wilmut 등, 1985). 이러한 황체기능의 이상을 가져오는 요인 중 영양적 관리의 부적절한 경우가 많으므로(Ashworth, 1995) 상기 연구들의 상반된 결과의 도출은 영양적 요인에 의한 수란우의 번식기능의 이상에 기인할 수도 있다.

본 연구는 hCG투여가 수정란이식의 수태율을 증진시킬 수 있는지 검토하고 수태에 중요한 단백질과 에너지 균형에 대한 지표로 이용되는 혈장 요소테질소 수준과의 관계를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시축 및 사양관리

본 시험의 공란우 및 수란우는 축산기술연구소 대관령지소에서 사육 중인 한우 성빈우 증 생식기의 상태가 양호하고 정상 발정주기를 가진 경산우를 사용하였다. 사양관리는 사사기에는 대관령지소 관행방법으로 08:00~09:00시 사이에 옥수수 사일리지와 농후사료를 급여하였으며 물은 자유음수 시켰다. 또한 방목기에는 방목지에서 청초를 자유채식 시켰으며 농후사료는 급여하지 않았다.

### 2. 공란우의 다배란처리 및 인공수정

다배란처리는 발정주기 11일째 400 mg NIH-FSH-P1 Folltropin-V를 생리식염수 1 ml에 용해시켜 Polyethylenglycol(PEG, Fish Biotech, USA; M.W. : 8,000) 30%(w/v) 용액 9 ml와 혼합하여 견갑부에 1회 피하주사 하였으며, 발정유가를 위하여 Folltropin-V 처리개시 후 48시간에  $PGF_{2\alpha}$  25 mg (SANOFI Sante Nutrition Animale, France)을 근육주사하였으며 48시간 후 발정을 확인하여 발정이 확인된 개체는 12시간 후와 24시간 후에 2회 인공수정을 실시하였다.

### 3. 수정란의 회수 및 평가

다배란처리된 공란우의 발정발현 7~8일째에 lidocaine hydrochloride(2% Lidocaine, Jeil Pharm. Co., Korea) 8 ml로 경막의 마취를 실시하여 속분을 제거한 다음 난소를 검사하여 황체의 수를 조사하였다. 수정란 회수는 Foley catheter(Agtech, Rusch, Co. USA)를 경관경유법으로 자궁체에 고정된 다음 fetal bovine serum(Gibco, BRL Life Technologies, USA)이 1% 첨가된 D-PBS용액으로 관류시켜 수정란회수기(Embryo Collector, Fujihara Industry Co. Japan)로 회수하였다.

### 4. 수정란이식 및 hCG투여

관류된 체란액을 87×15 mm petri dish에 옮겨 실체현미경하에서 수정란을 회수한 다음 20%의 FBS가 첨가된 D-PBS용액이 들어 있는 35×10 mm culture dish로 옮겨 Linder와 Wright(1983)의 기준에 따라 수정란의 발육단계와 질을 형태학적으로 분류하였다. 수정란의 발육단계는 상실배기, 배반포기 및 확장배반포기로 구분하였으며, 수정란의 질은 우수, 우량, 보통 및 불량(변성란 및 미수정란)으로 구분하였고 이 중 우수, 우량 및 보통을 나타내는 수정란을 정상수정란으로 분류하여 이식하였다. 자연발정의 확인 후 7일째 수란우는 2% lidocaine 5 ml로 경막의마취를 하고 0.25 ml 스트로에 장진된 수정란을 비외과적으로 황체가 확인된 쪽의 자궁각 선단부에 이식하였으며 이식 60일 후에 직장검사에 의하여 임신여부를 진단하였다. 또한 hCG투여에 따른 수태율 증진효과를 조사하기 위해 수정란이식 직후 hCG 5,000 IU(Stesis Laboratories Inc., USA)를 근육주사하였다.

### 5. 수란우의 혈액채취 및 성분분석

수란우의 혈액은 이식 당일 및 시험목적에 따라 다양한 시기에 heparin처리된 15 ml vacutainer를 사용하여 경정맥으로부터 채취하였고, 곧바로 ice box에 넣어 실험실로 운반하였고 3,000 rpm에서 원심분리 후 혈장을 채취하여 -20°C에서 동결보존하였다. 요소테질소의 분석은 혈액성분 자동분석기(Ciba Corning)를 이용하였고 progesterone은 DELFIA Progesterone Kit를 이용하여 분석하였다.

## 6. 통계분석

본 실험결과와 통계분석은 Chi-square 검정에 의하여 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

수정란이식 직후 hCG를 투여한 후 3일 간격으로 채혈하여 혈장내 progesterone의 변화를 검정한 결과는 Fig. 1과 같다. hCG를 투여한 소에서는 발정발견 후 10일째부터 대조구의 혈장내 progesterone의 수준보다 높게 나타나고 그 이후 검정된 43일째까지 그 차이를 유지하였다. 이러한 결과는 한우에서 7일째 hCG투여에 의해 난소의 황체와 공존하던 난포가 매란되어져 부황체가 형성되고 그 이후 지속적으로 기능황체로서 활동하고 있음을 나타낸다. 이와 유사한 결과는 몇몇 연구(Price와 Webb, 1989; Walton 등, 1991; Rajamahendran과 Sianangama, 1992)에서 보고된 바 있다.

수정란이식 후 5,000 IU의 hCG를 주사하여 수태율 증진에 미치는 효과를 검토한 결과는 Table 1과 같다. 수정란이식 직후 hCG를 투여한 처리구에서 임신율이 65.5%로 대조구 54.6%에 비하여 임신율이 증진되는 경향을 보였다. 이러한 결과는 progesterone의 투여는 임신율에 좋은 효과가 있고 hCG처리에 의해서 부황체가 형성되어 progesterone의 수준이 증가된다는 Walton 등(1991)의 보고와 수정 후 7일째 hCG투여에 의해 부황체가 형성되고 배사율이 감소된다는 Rajamahendran과 Sianangama(1992)의 결과에 의해 지지된다. 그러나 progesterone과 hCG투여에 의해 수란우의 임신에 큰 영향이 없다는 보고(Breuel 등, 1990)와는 상이한 결과이다. 이러한 상이한 결과 도출의 중요한 요인으로서 영양적 관리의 부적절성을 들 수 있다.

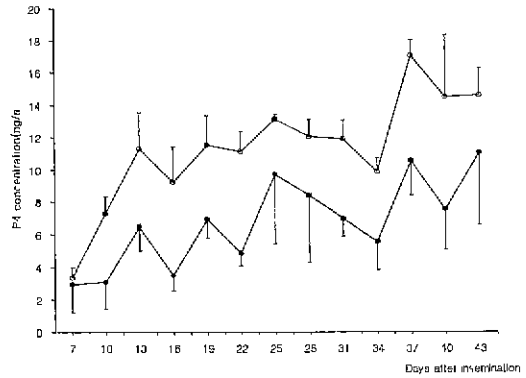


Fig. 1. Change of the progesterone concentration in cows treated with hCG at 7 days after insemination (○) and untreated cows (●).

이러한 점에 착안하여 영양적인 요인과 hCG효과와의 관계에 대해 검토하였다.

최근 사료급여시 단백질과 에너지의 균형을 파악할 수 있는 지표로서 혈장 혹은 우유 중 요소태질소 수준을 검정하여 그 결과를 바탕으로 한 우군 및 개체의 번식 사양관리 상황을 진단하는 연구가 활발하게 진전되고 있다(Ferguson 등, 1993; Butler 등, 1996; Park 등, 1997a,b; Larson 등, 1997; Kim 등, 1998). 이러한 요소태질소 수준에 따라 우군 및 개체의 번식 사양진단이 가능함에 따라 번식 문제우의 별도관리를 통해 번식효율을 증진시키고자 하는 시도가 국외뿐만 아니라 국내에서도 점차 고조되고 있다. 이러한 진단기법의 활용은 수정란 이식에 공시되는 수란우의 적정성 판정도 가능하다고 보고되었다(Park 등, 2000). 수정란이식시 채혈하여 혈장내 요소태질소를 분석하여 수란우 선정의 혈장 요소태질소 기준(Park 등, 2000)에 따라 12~16 mg/dl과 <12 mg/dl이 농도의 우군을 나누어 수태율을 조사한 결과는 Table 2와

Table 1. Effect of hCG treatment on pregnancy rate in recipient cows

hCG treatment	No. recipients		Pregnancy rate (%)
	Transferred	Pregnant	
Untreated	55	30	54.6
5,000 IU	29	19	65.5

Table 2. Effect of hCG treatment on pregnancy rate in recipient cows categorized with plasma urea nitrogen(PUN) levels

PUN level(mg/dl)	hCG treatment	No. recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
< 12	Untreated	30	14	46.7
	5,000 IU	16	11	68.8
12~16	Untreated	25	16	64.0
	5,000 IU	13	8	61.5

같다. 혈장내 요소테질소 수준이 12~16 mg/dl의 수란우인 대조구와 hCG 투여구에서 각각 64.0과 61.5%의 수태율을 보여 주었고, 12 mg/dl이하의 대조구와 hCG투여구에서 각각 46.7과 68.8%의 수태율을 나타내었다. 혈중 요소테질소 수준이 낮은 경우 사료급여시 에너지의 과잉공급에 의한 과비상태이거나 사료내의 단백질 함량의 부족에 기인한다. 수란우는 선발과정에서 BCS(Body Condition Score)를 2.5~3정도로 제한했기 때문에 단백질 급여의 부족에 원인이 있다고 사료된다. 그러므로 hCG의 투여효과는 혈장내 요소테질소 수준이 낮은, 즉 단백질 급여가 부족한 수란우에만 나타난다. 상기 hCG투여 효과에 대한 연구들의 상반된 결과의 도출은 그 시험에 공시된 수란우의 사양관리 상태의 수준에 따른 번식기능의 정상성 차에 기인한 것으로 사료된다. 이와 관련한 연구로서 단백질 급여 부족시 AI 수태율이 대조구 74%에 비해 32%로 낮았고(Sasser 등, 1989), 조절기구는 잘 알 수 없으나 분만 후 LH pulse frequency가 증가하지 않고 LH분비가 저하되며 GnRH에 대한 반응성이 증가된다는 보고가 있다(Randel, 1990). 또한 혈장내 요소테질소 수준이 12~16 mg/dl보다 낮거나 높은 우군의 수정란 이식시(발정발견 후 7일째) 혈장내 progesterone 수준이 낮았다(박 등, 1999). 그러므로 단백질 급여가 부족한 조건에서 관리된 수란우는 LH분비능이 저하되고 황체형성 부전에 따른 progesterone 분비저하가 발생되고 수정란으로 부터 유래하는 항황체퇴행 인자인 interferon  $\tau$ 의 생산이 저하되어(Kerbler 등, 1997) 배사율이 발생된다고 추론된다

이러한 번식기능이 부조화에 있는 소에 대한 hCG투여는 progesterone의 분비를 촉진시킴으로써 배사율을 예방하여 임신율을 증진시킬 수 있다고 사료된다.

## 적 요

본 연구는 수정란이식시 hCG(5,000 IU)투여가 수란우의 임신율을 증진시킬 수 있고 번식효율에 대한 hCG효과는 수란우의 PUN 농도와 관련있다는 가설을 검증하기 위해 수행되었다. 혈액시료는 progesterone과 PUN의 변화를 검토하기 위해 실험 조건에 따라 채취되었다. 혈장내 progesterone 농도는 수정 후 7~43일 동안 hCG처리구에서 대조구에 비해 높았다. 임신율은 hCG처리구와 대조구에서 각각 65.5%와 54.6%이었다. PUN농도가 <12 mg/dl인 수란우군에서 hCG처리구와 대조구의 임신율은 각각 68.8%과 46.7%이었다. 이러한 결과는 수정란 이식시 hCG투여는 수정란이식의 임신율을 증진시킬 수 있고 PUN농도가 정상보다 낮은 수란우에서만 hCG의 증진효과가 있음을 제시한다

## 참고문헌

- Ashworth CJ. 1995. Maternal and conceptus factors affecting histotropic nutrition and survival of embryos. *Livestock Production Science*, 44:99-105.
- Betteridge KJ and Loskutoff NM. 1993. Prospects for improving the survival rate of transferred

- embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 36:262-265.
- Bulman DC and Lamming GE. 1978. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod Fert.*, 54:447-458.
- Broadbent PJ, Sinclair KD, Dolman DF, Mullan JS and McNally JR. 1992. The effect of a Norgestomet ear implant (Crestar) on pregnancy rate in embryo transfer recipients. *Proceedings of the Twelfth International Congress of Animal Reproduction (The Hague)* 2:782-784.
- Bruel WA, Gonzalez LV, Stuart MJ and Fuquay JW. 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology*, 34:139-145.
- Butler WR, Calaman JJ and Beam SW. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74:858-865.
- Drew SB and Peter AR. 1991. The effect of treatment with a gonadotropin releasing hormone on the fertility of dairy cows. *Proceedings of the British Society of Animal Production (Winter Meeting)*, Paper 171 (2pp.).
- Drew SB and Peter AR. 1992. The effect of treatment with a gonadotropin-releasing hormone analogue on the fertility of dairy cows. *Proceedings of twelfth International Congress on Animal Reproduction (The Hague)* 3:1121-1123.
- Drew SB and Peter AR. 1994. Effect of buselerin on pregnancy rates in dairy cows. *Vet. Rec.*, 134 : 267-269.
- Ellington JE, Foote RH, Webb J, Hasler J and McGrath A. 1990. The use of a GnRH analog in an embryo transfer field trial. *Theriogenology*, 33 : 225-230.
- Ellington JE, Foote RH, Farrell PB, Hasler JF, Webb J, Henderson WB and McGrath AB. 1991. Pregnancy rates after the use of a gonadotropin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 36:1035-1042.
- Ferguson JD, Galligan DT, Blanchard T and Reeves N. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate : The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 76:3742-3746.
- Holness DH, McCabe CT and Sprowson GW. 1982. Observations on the use of human chorionic gonadotropin(hCG) during the post-insemination period on conception rates in synchronized beef cows with suboptimal reproductive performance. *Theriogenology*, 17: 133-140.
- Kerbler TL, Buhr MM, Jordan LT, Leslie KE and Walton JS. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*, 47:703-714.
- Kim HS, Park SB, Kim CK, Chung YC, Lee JW and Kim CH. 1998. Effect of dietary crude protein level on blood urea nitrogen, milk yield and conception rate of dairy cows. *Korean J. Dairy Sci.*, 20(3):163-168.
- Larson SF, Butler WR and Currie WB. 1997. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 80: 1288-1295.
- Lindner GM and Wright RW, Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Macmillan KL, Taufu VK, and Day AM. 1986. Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Animal Reproduction* 11:1-10.
- Macmillan KL, Taufu VK, Day AM and Petersen AJ. 1990. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *Proceedings of the*

- Third International Ruminant Reproduction Symposium (Nice), Abstr. 23.
- Park SB, Kim HS, Kim CK, Chung YC, Lee JW and Kim CH. 1997a. Relation of conception rate and plasma urea nitrogen in dairy cattle. *Korean J. Anim. Reprod.*, 21(2):185-189.
- Park SB, Kim HS, Lee MS, Park JK, Chang WK and Lee JK. 1997b. Herd reproductive performance related to urea nitrogen concentration in bulk milk. *Korean J. Anim. Reprod.*, 21(2): 191-195
- Park SB, Im SK, Woo JS, Kim IH, Choi SH, Shu GH, Ryu IS and Son DS. 2000. The usefulness of plasma urea nitrogen test as an indicator for recipient selection for bovine embryo transfer. *Theriogenology* 53:315. Abstr.
- Price CA and Webb R. 1989. Ovarian response to hCG treatment during the oestrus cycle in heifers. *J. Reprod. Fert.*, 86:303-308.
- Rajamahendran R and Sianangama PC. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin on dominant follicles in cows : formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J. reprod. Fert.*, 92:577-584.
- Randel RD. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, 68:853-862
- Robinson NA, Leslie KE and Walton JS. 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72:202-207.
- Sasser RG, Williams RJ, Bull RC, Ruder CA and Falk DG. 1989. Postpartum reproductive performance in crud protein restricted beef cows: return to estrus and conception. *J. Anim. Sci.*, 66:3033-3039.
- Stevenson JS and Mee MO. 1991. Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *J. Dairy Sci.*, 74:3849-3856.
- Van Cleeff J, Drost M. and Thatcher WW. 1991. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrus responses of dairy heifers. *Theriogenology*, 36: 795-807.
- Veenhuizen EL, Wagner JF and Tonkinson LV. 1972. Corpus luteum response to 6-chloro-17-aceto oxyprogesterone and hCG in cow. *Biol. Reprod.*, 6:270-276.
- Wagner JF, Veenhuizen EL Tonkinson LV and Rathmacher RP. 1973. Effect of placental gonadotropin on pregnancy rate in the bovine. *J. Anim. Sci.* 36:1129-1136.
- Walton JS, Holbert GW, Robinson NA and Leslie KE. 1991. Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days post insemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Res.*, 54:305-308.
- Wilmut I, Sales DE and Ashworth CJ. 1985. The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. *Theriogenology*, 23:107-119
- 박수봉, 이명식, 전익수, 노환국, 성환후, 박용윤, 임석기, 우제석, 권응기. 1999. 혈중 요소테질소 수준과 배사멸의 관계 구명연구. 축산기술연구소 1998년 축산시험 연구 보고서.

---

(접수일 : 2000. 4. 24 / 채택일 : 2000. 7. 30)