

재래산양의 반복 과배란처리에 의한 난자의 회수율과 등급에 관한 연구

박희성[†] · 이윤희 · 김태숙 · 박준규 · 이지삼 · 김충희 · 정장용
진주산업대학교 동물생명과학과 · 동물생명산업지역협력연구센터

Effects of Repeated Superovulation on Recovery and Quality of Oocytes in Korean Native Goats

H. S. Park[†], Y. H. Lee, T. S. Kim, J. K. Park, J. S. Lee, C. H. Lee and J. Y. Jung

Department of Animal Science and Biotechnology & RAIRC, Jinju National University

SUMMARY

This study was designed to determine whether repeated superovulation is beneficial for recovery and quality of oocytes in Korean native goats. Seventy-six mature goats, maintained in a pen under natural day length and fed hay *ad libitum*, were pretreated with progestagen impregnated CIDR for 10 days and then the goats were divided into two groups. One group of the goats received a single intramuscular injection of 1,000 IU PMSG on Day 8 of CIDR insertion. The other group of the goats received twice daily intramuscular injections of a total of 70 mg FSH for 3 days from Day 8 of CIDR. All the gonadotropin treated goats were injected with 10 mg PGF₂ α on Day 8 and 400 IU hCG in the afternoon on Day 10. For oocyte recovery, donor goats were fasted 24 h before operation. Anesthesia was induced by intravenous injection of 2% xylazine(0.2 mg/kg body weight) and ketamin(11 mg/kg body weight). *In vivo* oocytes were recovered by follicle aspiration or oviduct flushing at 35 to 40 hours after hCG injection through mid-ventral incision. The mean number of CL and oocytes recovered and recovery rate of oocytes by oviduct flushing were greater($P<0.05$) in the first treatment than those in the second treatment. Contrary to our assumption, PMSG treatment significantly ($P<0.05$) increased the number of CL formed and recovery rate of oocytes compared to FSH. However, the same effect was not observed in recovery of follicular oocytes. There was no significant difference in oocyte quality between FSH and PMSG or first and second treatments. The present results indicate that repeated superovulation and repeated use of donor animals may be inefficient for obtaining oocytes in good qualities.

(Key words : goat, repeated superovulation, CIDR, FSH, PMSG, recovery, oocyte)

서 론

우리나라 재래산양은 체구가 작고, 성질이 온
순하여 다루기 쉽고, 임신기간이 짧은 것 등 생명

본 연구는 한국과학재단 지정 진주산업대학교 동물생명산업지역협력연구센터(과제번호: R12-2002-001-01004-0)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

[†] Correspondence : E-mail : hspark@jinju.ac.kr

공학 연구의 모델동물로서 매우 적합할 뿐만 아니라, 번식·생리학적으로 매우 중요한 가치를 지니고 있으며, 고유의 유전자원 보존 측면에서도 산양복제와 같은 다양한 연구를 통하여 개량체계의 확립이 절실히 요구된다. 이를 위해서는 무엇보다도 난자의 대량 확보방안이 마련되어야 하나 아직까지도 재래산양은 소나 돼지와는 달리 도축체계가 확립되어 있지 못하여 일시에 난자의 대량 확보가 불가능한 실정이다.

산양에서 인위적으로 다수의 난자를 일시에 성숙·배란을 통하여 확보할 수 있는 방법으로 과배란유기 방법이 이용되고 있다. 과배란유기는 주로 FSH 또는 PMSG를 이용하여 다수의 난포를 일시에 발육시키고 PGF₂α를 병용처리하여 황체의 기능을 함께 조절하는 방법으로서 FSH와 progesterone 병용법(Tervit 등, 1984), norgestomet ear implant법(Pendleton 등, 1986), PMSG와 병용처리법(Graff 등, 1999), FSH 단독처리법(Baril 등, 1988) 등이 보고되고 있는데, 그 중 FSH와 PMSG의 PGF₂α와의 병용투여와 progesterone과 FSH 또는 PMSG와의 병용투여법이 많이 사용되고 있다. 산양의 발정동기화를 위해서는 PGF₂α나 progesterone을 투여하는 방법이 있으며, PGF₂α 투여시에는 활동성 황체가 존재해야만 가능하므로 주로 0.3 g의 progesterone이 함유된 CIDR가 이용되고 있다(Rubianes 등, 1997; 송 등, 2003; 최 등, 2004).

재래산양의 반복 과배란처리는 1회 처리에 비하여 유전적인 선발효과를 높일 수 있으며, 높은 과배란처리 반응과 개체변이의 최소화, 배란율, 수정란 생산율 등 유전적 개량을 개선시킬 수 있는 장점이 있다. 반복 과배란처리에 있어서는 처리간격은 1년 또는 6개월 간격으로 처리하는 것이 만족할 만한 결과를 얻을 수 있다(Moore와 Shelton, 1962; Palsson, 1962). 반복처리횟수는 계절구분 없이 5회까지 가능하므로 전체 회수 난자수는 향상되나 3회 처리부터는 발정 유기율, 배란율 및 회수율 등 전체적으로 감소가 일어난다(AI-Kamali 등, 1985; Fuki 등, 1985; Mckelvey 등, 1986; Torres와 Sevelle, 1987).

본 연구는 체세포 핵이식에 의한 복제수정란

및 복제산양을 생산하기 위하여 수란난자의 확보를 위한 일련의 연구로서 과배란 처리방법과 공란산양의 반복 사용 여부 등을 검토하고자 재래산양에 과배란처리를 실시하여 체내 성숙난자(배란된 난자) 및 난포란을 회수하였으며, 이때 배란점, 회수율 및 난포란의 등급 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

공시동물은 체중 15~25 kg 전후의 성숙한 미경산 재래산양으로서 진주 근교의 사육농가로부터 임상적으로 건강하다고 인정되는 것을 구입하여 인근의 임대농장에서 사육하면서 내·외부 기생충구제와 일정기간 동안 적응시킨 다음 본 연구에 사용하였다. 사양관리는 일반 관행법에 따라 사육하되 농후사료는 추가급여 하였으며, 식엽과 물은 자유섭취토록 하였다.

2. 과배란 유기

난자의 회수를 위하여 과배란유기를 실시하였으며, 먼저 발정동기화를 위하여 progestagen 제제인 CIDR(Progesterone 0.3 g, Eazi Breed, InterAg, New Zealand)를 10일간 질내에 삽입하고 과배란 처리는 FSH(Follitropin-V, Vetrepharm, Canada)를 CIDR 삽입 8, 9, 10일째에 12시간 간격으로 70 mg을 감량법으로 투여하였으며, PMSG(Folligon, Intervet, Netherland)의 경우는 1,000 IU를 CIDR 삽입 제 8일째에 1회 투여하였다. PGF₂α(Lutalyse, Upjohn, U.S.A.)는 8일째에 FSH 또는 PMSG와 함께 10 mg 투여하고 CIDR는 10일째에 제거와 동시에 hCG(Chorulon, Intervet, Netherland) 400 IU를 투여하여 과배란을 유도하였다. 반복 과배란처리는 첫 번째 시술 후 2~3개월 정도 경과 후 첫 번째와 동일한 방법으로 실시하였다.

3. Oocyte의 회수

난자의 채취는 hCG 투여후 35~40시간에 난관관류법(oviduct flushing) 또는 난포흡입법(follicle aspiration)으로 실시하였다. 난관으로부터 성숙난자의 회수는 외과적인 방법으로 산양의 복정중선

을 절개한 후 난관관류방법으로 난자를 회수하였다. 먼저 과배란 처리한 산양을 약 24시간 절식시킨 다음 2% xylazine(Rompun, Bayer, Korea)을 체중 kg당 0.2 mg씩 근육주사하여 진정마취시키고, HCl ketamine(Ketamine, Yuhan, Korea)을 체중 kg당 11 mg씩 근육주사하여 전신마취를 유도하였다. 마취가 도입된 산양은 복정중선을 절개하여 난관과 난소를 체외로 노출시킨 다음 배란점을 확인한 후 난자의 회수를 위하여 catheter(Tom Cat, Kendall Co., U.S.A.)를 난관누두부로 삽입하여 5~10 mL의 M2(Sigma Co., U.S.A.) 배양액을 난관 자궁접합부 쪽에서 주입하여 관류하였다.

난포내 미성숙난자의 회수는 성숙난자를 회수한 다음 난소의 난포로부터 20G needle이 부착된 5 mL 주사기로 난포액과 난포란을 흡입하여 회수하였다.

4. 회수란의 검사 및 분류

회수란은 5% GS(Sigma Co., U.S.A.)가 첨가된 신선한 M2 배양액으로 4~5회 세척한 후 난구세포의 부착 정도와 세포질의 충실도에 따라 박 등(2000)의 방법에 준하여 다음과 같이 4등급으로 분류하여 난자의 회수율을 조사하였다.

Grade I : 난구세포가 2~3층 이상이고 세포질이 균일한 것.

Grade II : 난구세포가 1~2층이고 세포질이 균일한 것.

Grade III : 난구세포가 1층 또는 부분적으로 나화된 것.

Grade IV : 난구세포가 나화되고 세포질이 퇴화된 것.

5. 통계학적 분석

실험결과의 통계학적 분석은 SAS package를 이용하여 실시하였으며, GLM(General Linear Model) procedure를 적용하여 각 요인의 least square mean을 구하여 요인간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 반복 과배란치리에 의한 체내 성숙난자의 회수율

재래산양에 FSH와 PMSG로 2회 반복 과배란 처리를 실시하여 회수한 체내성숙난자의 회수율을 조사한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

FSH를 투여하여 공란산양으로 처음 사용하였을 때 두당 배란수(황체수), 회수율 및 두당 평균 회수율은 6.63 ± 0.63 개, 43.8% 및 2.92 ± 0.52 개로서 두 번째 사용하였을 때의 2.88 ± 0.69 개, 17.4% 및 0.50 ± 0.27 개보다 유의적($P < 0.05$)으로 높았다. PMSG를 사용하였을 때 첫 번째가 11.30 ± 1.29 , 69.2% 및 7.81 ± 1.14 개로서 두 번째의 7.56 ± 1.11 개, 44.9% 및 3.39 ± 0.86 개보다 유의적($P < 0.05$)으로 높았다. 투여 호르몬간의 비교에 있어서도 FSH를 투여하여 처음 사용하였을 때의 배란수, 회수율 및 두당 평균 회수율은 각각 6.63 ± 0.63 개, 43.8% 및 2.92 ± 0.52 개로서 PMSG 투여구의 11.30 ± 1.29 , 69.2% 및 7.81 ± 1.14 개보다 유의적($P < 0.05$)으로 낮았다. 뿐만 아니라 두 번 반복 사용하였을 때 FSH 투여가 2.88 ± 0.69 개, 17.4% 및 0.50 ± 0.27 개로서 PMSG 투여구의 7.56 ± 1.11 개, 44.9% 및 3.39 ± 0.86 개보다 유의적($P < 0.05$)으로 낮았다.

Mishra 등(2002)은 뱀갈 산양에 PMSG 750 IU와 hCG 500 IU를 전회 발정 제10일째에 투여하여 과배란 처리 후 외과적으로 회수하였을 때 두당 황체수는 5.9개였으며, 난자회수율은 60.74%라고 하여 본 연구결과보다 다소 낮은 편이었다. 체내성숙난자의 회수와 외과적 회수방법 등에 관련한 연구보고는 거의 없어서 직접적으로 비교하기는 어려우나 Stangl 등(1999)은 면양 4두를 1,500 IU의 PMSG와 2.5 mL의 anti-PMSG를 1회 투여하여 1주당 1회 또는 2주당 1회 OPU방법으로 20회 이상 난포란을 회수하였을 때 경시적으로 난소와 난관누두부의 유착이 일어나긴 하였으나, 4두 모두 자연발정에 의한 정상적인 임신이 가능하였다고 보고하였다. Sevillano 등(1997)은 PMSG와 anti-PMSG를 반복투여하였을 때 난포란의 회수율과 quality는 흡입방법과 난포의 크기에 주로 영향을 받는다고 보고하였다. Bari 등(2001)은 Scottish Blackface 면양에 FSH를 이용하여 3회 반복 과배란치리를 하여 LOPU 방법으로 회수하였을 때 면양 1두당 회수 난자수는 각각 8.9개(첫 번째), 8.7

개(두 번째) 및 8.8개(세 번째)로서 차이가 없다고 보고하였다. Park 등(1991)은 우리나라 재래산양에서 P₄ + PMSG(500 IU)와 P₄ + FSH(20 mg)를 처리하였을 때 배란점은 3.8±0.6개 및 8.3±1.3개로서 통계학적인 차이는 없었으며, 이중 P₄ + FSH(20 mg) 처리에서는 3.9±0.8개의 수정란을 회수하였으며, 회수율은 47.2%라고 보고하였다. 윤 등(1997)은 재래산양에서 FSH 단독투여 및 FSH와 hCG를 병용투여 하였을 때 배란점은 각각 7.9 및 9.7개로서 차이가 없었으며, 회수한 난자수도 각각 4.4 및 8.2개로서 차이가 없었다. Choi 등(2004)은 CIDR 삽입 후 FSH와 PMSH를 이용하여 과배란 처리를 하였을 때 배란점은 각각 16.3±4.5 및 16.4±2.8개로서 차이가 없다고 하였으며, 수정란회수율에 있어서도 각각 6.7±8.9 및 6.3±4.4개로서 차이가 없다고 보고하였다.

이상의 결과에서 보면 반복 과배란처리에 의한 난자의 회수율 감소는 배란수의 차이 및 회수방법에 기인하는 것으로 생각된다. OPU 또는 LOPU 방법으로 회수하는 경우는 비교적 생식기의 지나친 자극이나 유착 등의 손상이 적지만 본 연구에서와 같이 외과적인 방법으로 회수하였을 경우는 Table 1의 PMSG 투여구에서 보는 바와 같이 첫 번째 회수는 27두에서 두 번째 회수는 18두로 9두가 줄어든 것은 유착에 의한 난자의 회수가 불가능하였기 때문이다. 앞으로 회수율 개선을 위하여 회수방법의 검토가 필요하나, 국내에서는 아직까지 중소동물에서 OPU 또는 LOPU 방법의 이용이 미미한 실정인데, 이는 중소동물용 초음파 probe

의 보급이 원활치 않은 것이 주된 원인이라 할 수 있을 것이다.

처리한 호르몬의 종류에 따른 회수율의 차이는 연구자들에 따라서 많은 차이가 있는데 이것은 아마도 공시산양의 연령, 건강상태, 처리 호르몬제의 차이, 처리시의 생식기의 상태, 실험시기(외기온도), 처리간격, 회수시간 및 회수방법 등 다양한 요인들이 영향을 미치는 것으로 생각되며, 앞으로 보다 세밀한 연구 검토가 필요한 것으로 생각된다(Table 1).

2. 반복 과배란처리에 의한 난포란의 회수율

재래산양에 FSH와 PMSG로 2회 반복 과배란 처리를 실시하여 회수한 난포란의 회수율과 회수란의 등급을 조사한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다.

회수한 난포란의 등급별 회수율은 1, 2, 3 및 4 등급에 있어서 FSH를 투여하여 처음 사용하였을 때의 20.6, 14.9, 28.1 및 36.4%와 두 번째 사용하였을 때의 31.3, 28.1, 28.1 및 12.5% 간에 유의적인 차이가 없었다. 또한 난소당 회수율에 있어서도 4.15±0.39 및 4.00±0.83개로서 차이가 없었다. PMSG를 사용하여 처음 채란하였을 때 등급별 회수율은 각각 12.9, 14.1, 35.0 및 38.0%로서 두 번째의 36.4, 5.1, 34.3 및 24.2%와 차이가 없었으며, 난소당 회수율도 3.40±0.51 및 2.75±0.43개로서 차이가 없었다. 투여한 호르몬간의 비교에 있어서도 회수한 난포란의 등급과 난소당 회수율 모두 유의적인 차이가 없었다.

Table 1. Effects of superovulation treatment on recovery of *in vivo* oocytes in goats

Hormone	Oocytes collection	No. of goats used	No. of CL/goat (mean±SE)	No. of oocytes collected(%)	No. of oocytes/goat (mean±SE)
FSH	First	49	6.63±0.63 ^{AA}	142(43.8) ^{AA}	2.92±0.52 ^{AA}
	Second	8	2.88±0.69 ^{BA}	4(17.4) ^{BA}	0.50±0.27 ^{BA}
PMSG	First	27	11.30±1.29 ^{AB}	211(69.2) ^{AB}	7.81±1.14 ^{AB}
	Second	18	7.56±1.11 ^{BB}	61(44.9) ^{BB}	3.39±0.86 ^{BB}

* Values with different superscripts in the same column are significantly ($P<0.05$) different in results of oocyte recovery between first and second treatments (small letters) or between FSH and PMSG (capital letters).

Koeman 등(2003)은 미성숙 산양과 성숙한 산양에 FSH를 처리하여 LOPU 방법으로 난포란을 회수하였을 때 회수율은 각각 25.2 ± 2.8 개 및 16.0 ± 1.2 개로서 성숙한 산양보다는 미성숙산양에서 난포란의 회수율이 높다고 하였으며, 회수한 난자 중에서 82%가 1 또는 2등급이라고 하였는데, 이러한 결과는 본 연구보다 높은 성적이다. Berlinguer 등(2004)은 변양의 비번식계절에 전체 96 IU의 FSH를 4회에 걸쳐 동일한 양으로 투여하였을 때와 감량법으로 투여하였을 때 LOPU 방법으로 회수한 난자는 16.3 ± 8.1 및 19.8 ± 8.8 개로서 유의적인 차이는 없다고 하였고, 회수한 난자의 2등급(난구세포가 2개층 이상 있는 것)이상의 비율이 89.0 및 91.4%라고 보고하였다. 회수한 난포란의 등급분류의 기준은 연구자에 따라 다소 차이가 있다. Baldassarre 등(2003)은 70 mg의 FSH와 300 IU의 eCG를 Nigerian Dwarf, Saanen, Nubian 및 Angora 종에 투여하여 LOPU 방법으로 난자를 회수하였을 때 11.3 ± 5 , 19.2 ± 13 , 20.3 ± 10 및 9.8 ± 4 개로서 Nubian 종에서 가장 많은 난자를 회수하여 종에 따른 차이가 있다고 보고하였다. 또한 Nigerian Dwarf종에서 2개월 간격으로 반복 과배란 처리를 하여 난자를 회수하였을 때 회수한 난자수는 각각 11.4 ± 5 (1회), 16.3 ± 6 (2회), 12.9 ± 3 (3회) 및 8.8 ± 3 (4회)개로서 2회 반복 과배란처리를 하였을 때가 가장 높다고 하였다. 그러나 회수 방법에 있어서 LOPU 방법은 TUGA(transvaginal ultrasound-guided aspiration)방법에 비하여 유착의 위험이 높다고 하였다. Graff 등(1999)은 산양에서 20 mg의 FSH를 4일간 감량법으로 반복 과

배란 처리를 하여 LOPU 방법으로 난포란을 회수하였을 때 첫 번째 처리구는 7.8 ± 2.1 개였고 반복 처리구에서는 7.6 ± 1.4 개로서 차이가 없다고 보고하였다.

이상의 결과에서 보면 대체로 본 연구결과 보다 높은 성적을 나타내었는데 이러한 차이는 산양의 연령, 건강상태, 회수시간, 반복 과배란처리 간격 등 다양한 원인이 있는 것으로 생각되며, 본 연구에서는 반복 처리회수간에 차이는 없었으나, 생식기 유착으로 인하여 두 번째 처리에서는 회수 가능한 산양이 줄어들어 전체 회수난자수가 감소하였다. 처리한 FSH와 PMSG 호르몬간에 회수율이나 회수한 난자의 등급의 차이가 없었다. 따라서 값비싼 FSH보다는 PMSG의 사용도 검토해 볼 필요가 있는 것으로 판단된다(Table 2).

적 요

본 연구는 재래산양에 있어서 과배란 처리시 공란 산양의 반복사용에 따른 oocyte의 회수방법과 회수란의 질적 개선방법을 확립하기 위하여 실시하였으며, 성선자극호르몬의 1회 처리와 반복처리, 호르몬제의 종류에 따른 oocyte의 회수율과 등급을 조사하였다. 공시동물은 체중 15~25 kg 전·후의 성숙한 미경산 재래산양으로서 발정동기화를 위하여 CIDR를 10일간 질내에 삽입하고 과배란 처리는 70 mg의 FSH와 1,000 IU의 PMSG를 투여하여 과배란을 유지하였다. $PGF_2\alpha$ 는 8일째에 투여하였으며, CIDR는 10일째 제거와 동시에 hCG 400 IU를 투여하였다. 난자의 회수는

Table 2. Effects of superovulation treatment on recovery of follicular oocytes in goats

Hormone	Oocytes collection	No. of oocytes collected	No. of oocytes by grade(%)				No. of oocytes/ovary (mean±SE)
			I	II	III	IV	
FSH	First	423	87(20.6)	63(14.9)	119(28.1)	154(36.4)	4.15±0.39
	Second	64	20(31.3)	18(28.1)	18(28.1)	8(12.5)	4.00±0.83
PMSG	First	163	21(12.9)	23(14.1)	57(35.0)	62(38.0)	3.40±0.51
	Second	99	36(36.4)	5(5.1)	34(34.3)	24(24.2)	2.75±0.43

* Values in the same column are not significantly different($P>0.05$).

hCG 투여 후 35~40시간째에 외과적인 방법으로 실시하였으며, 회수한 난자는 난구세포와 세포질의 부착정도에 따라 4등급으로 분류하여 회수율을 조사하였다.

FSH와 PMSG를 투여하여 공란 산양으로 처음 사용하였을 때 49두에서 324(6.63±0.63)개와 27두에서 305(11.30±1.29)개의 배란점을 확인하였으며, 이 중 43.8%(142/324)와 69.2%(211/305)가 회수되어 두당 회수율은 2.92±0.52개와 7.81±1.14개로서 FSH와 PMSG간에 전체 회수율과 두당 회수율은 PMSG 처리구가 유의적($P<0.05$)으로 높았다. 반복 사용하였을 때 FSH와 PMSG 처리구의 두당 배란수는 2.88±0.69개와 7.56±1.11개였으며, 회수율은 각각 17.4%(4/23) 및 44.9%(61/136)로 PMSG 처리구가 유의적($P<0.05$)으로 높았다. 두당 회수율은 0.50±0.27개 및 3.39±0.86개로서 PMSG 처리구가 유의적으로 높았다. 회수한 난포란의 1 및 2등급에 있어서 공란 산양으로 처음 사용하였을 때 FSH 투여구는 각각 20.6%(GI) 및 14.9%(GII)였으며, PMSG 투여구는 12.9%(GI) 및 14.1%(GII)로 나타났다. 반복 사용하였을 때 회수한 난포란의 등급은 FSH 투여구는 각각 31.3%(GI) 및 28.1%(GII)였으며, PMSG 투여구는 36.4%(GI), 5.1%(GII)로 나타났다. 이상의 결과로 볼 때 배란된 난자의 회수율은 PMSG가 FSH보다 높았으며, 난포내 난자의 회수율은 투여 호르몬 및 반복사용 여부에 따른 차이는 없었다.

참고문헌

Al-Kamali AA, Boland MP, Crosby TF and Gordon I. 1985. Reduced superovulatory response in the ewe following repeated gonadotrophin treatment. *Vet. Rec.*, 116:180-181.

Baldassarre H, Wang B, Kafidi N, Gauthier M, Neveu N, Lapointe J, Sneek L, Leduc M, Duguay F, Zhou JF, Lazaris A and Karatzas CN. 2003. Production of transgenic goats by pronuclear microinjection of *in vitro* produced zygotes derived from oocytes recovered by laparoscopy. *Theriogenol.*, 59:831-839.

Bari F, Khalid M, Wolf B, Haresign W, Murray A and Merrell B. 2001. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenol.*, 56:147-155.

Baril G, Casamitjana P, Perrin J and Valle JC. 1988. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Proceedings of the 4th Meeting European Embryo Transfer Association(Lyon)*, p. 67-93.

Berlinguer F, Leoni G, Bogliolo L, Pintus PP, Rosati I, Ledda S and Naitana. 2004. FSH different regimes affect the developmental capacity and cryotolerance of embryo derived from oocytes collected by ovum pick-up in donor sheep. *Theriogenol.*, 61:1477-1486.

Choi CY, Son DS, Kim YK, Han MH, Kweon UG, Choi SH, Choy YH, Choi SB, Cho YM, Son SK, Rho GJ and Choe SY. 2004. Development of superovulation method in Korean native goats. *Korean J. Emb. Trans.*, 19:61-66.

Fuki Y, Kano H, Kobayashi M, Tetsura M and Ono H. 1985. Response to repeated to superovulation treatment in the ewe. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 31:155-157.

Graff KJ, Meintjes M, Dyer VW, Paul JB, Denniston RS, Ziomek C and Godke RA. 1999. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval following FSH stimulation of domestic goats. *Theriogenol.*, 51:1099-1119.

Koeman J, Keefer CL, Baldassarre H and Downey BR. 2003. Developmental competence of prepubertal and adult goat oocytes cultured in semi-defined media following laparoscopic recovery. *Theriogenol.*, 60:879-889.

McKelvey WAC, Robinson JJ, Aitken RP and Robertson IS. 1986. Repeated recoveries of embryos from ewe by laparoscopy. *Theriogenol.*, 25:855-865.

Mishra OP, Pandey JN and Gawande PG. 2002. A comparative study on fresh and frozen embryo transfer superovulation in black bengal goats

- (*Capra hircus*). Korean J. Emb. Trans., 17:91-100.
- Moore NW and Shelton JN. 1962. The application of the technique of egg transfer to sheep breeding. Aust. J. Agric. Res., 13:718-724.
- Palsson H. 1962. Augmentation of fertility of Iceland ewes with pregnant mare serum in successive years. J. Reprod. Fertil., 3:55-63.
- Park CS, Choe SY, Lee HJ, Lee JS and Park HS. 1991. Studies on the technological development of embryo transfer and manipulation in goats. Korean J. Anim. Sci., 33:294-301.
- Pendleton RJ, Youngs CR, Rorie RW, Memon MA and Godke RA. 1986. The use of norgestomet implants for the synchronization and superovulation of dairy goats. Theriogenol., 25:180 (abstr).
- Rubianes E, Kmaid S, Castro T de, Carbajal B, Benquet N and Pinczal A. 1997. Superovulatory response to FSH treatments initiated at wave 1 emergence or 4 days after CIDR insertion in ewes. Theriogenol., 47:176(abstr).
- Sevillano C, Anel L, De La Fuente J, Alvarez M, Celorrio I, De Paz P et al. 1997. *In vitro* development of sheep embryo derived of repeated laparoscopic folliculoaspiration. Theriogenol., 47:298.
- Stangl M, Kuhholzer B, Besenfelder U and Brem G. 1999. Repeated endoscopic ovum pick-up in sheep. Theriogenol., 52:709-716.
- Tervit HR, Goold PG and Mckenzie. 1984. Embryo transfer in Angora and Saanen goat. Theriogenol., 21:269.
- Torres S and Sevelle C. 1987. Repeated superovulation and surgical recovery of embryo in the ewe. Reprod. Nutri. Develop., 27:859-863.
- 박희성, 이지삼, 정장용. 2000. 한국 재래산양의 난포란의 회수와 체외수정에 관한 연구. 한국 수정란이식학회지, 15:287-293.
- 송태현, 한만희, 천행수, 박병권, 서길웅, 이규승. 2003. 프로그에스타겐이 한국 재래산양의 발정동기화 및 과배란유기에 미치는 영향. 한국가축번식학회지, 27:241-248.
- 윤우식, 이철상, Igor Goldman, 방남수, 구덕본, 한용만, 신상태, 유육준, 박창식, 이경광. 1997. 한국 재래산양에서의 과배란유기와 외래유전자주입에 적합한 수정란의 회수에 관한 연구. 한국가축번식학회지, 21:373-379.

(접수일: 2004. 4. 3/ 채택일: 2004. 7. 10)