

한우 공란우 과배란 처리와 혈액 내 요소태 질소 수준과의 관계

손준규^{1,†} · 최창용¹ · 조상래¹ · 연성흠¹ · 최선호¹ · 김남태¹ · 정진우¹ · 김성재¹ · 정연섭¹ · 복난희¹ · 유용희¹ · 손동수²

¹농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원시험장, ²국립축산과학원 기술지원과

Relationship between Superovulation Treatment and Blood Urea Nitrogen(BUN) Concentration in Hanwoo Donors

Jun-Kyu Son^{1,†}, Chang-Yong Choe¹, Sang-Rae Cho¹, Seong-Heum Yeon¹, Sun-Ho Choi¹, Nam-Tae Kim¹, Jin-Woo Jung¹, Sung-Jae Kim¹, Yeon-Sub Jung¹, Nan-Hee Bok¹, Yong-Hee You¹ and Dong-Soo Son²

¹Animal Genetic Resources Station, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 590-832, Korea

²Technology Services Division, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

ABSTRACT

The objective of this study was investigate the superovulation treatment and to relate concentrations of blood urea nitrogen(BUN) in Hanwoo donors. Thirty six, at random stages of the estrous cycle, received a CIDR. Four days later, the animals were superovulated with a total of 28AU FSH (Antorin, 2AU=1 ml) administered twice daily in constant doses over 4 days. On the 3th administration of FSH, CIDR was withdrawn and 25 mg PGF_{2α} was administered. Cows were artificially inseminated twice after estrous detection at 12 hr intervals. The cows received 100 µg GnRH at the time of 1st insemination. Embryos were recovered 7 or 8 days after the 1st insemination. Cows with BUN <10, 11~18 and ≥19 mg/dl had return of estrus of 34.6, 30.5 and 30.4 days respectively. Return of estrus after superovulation treatment was not significantly lower for cows with blood urea nitrogen (BUN) above 10 mg/dl than for cows with BUN below 10 mg/dl. Cows with BUN <10, 11~18 and ≥19 mg/dl had number of transferable embryos of 3.2±1.2, 5.4±1.9 and 4.1±2.1 respectively.

(Key words : Hanwoo donors, *In vivo* embryo, Blood urea nitrogen, Superovulation)

서 론

우리나라 축산업에서 최근 이용되고 있는 소의 수정란 이식 기술은 우리나라 축산 여건상 우수 종축의 기반 구축과 증식의 소요 기간을 단기화 할 수 있는 동시에 우수한 종축의 유전 능력을 신속히 확대 보급할 수 있기 때문에 이러한 목표에 접근하는데 매우 적절한 방법으로 인식되고 있다. 수정란 이식은 우수 유전형질을 보유하고 있는 암가축으로부터 다수의 수정란을 회수하여 다른 개체에 이식 후 자축을 생산함으로써 우수한 유전 형질을 가진 개체를 효과적으로 정식시킬 수 있고, 형질이 동일한 다수의 자축을 단시간 내에 생산이 가능하므로 가축의 능력 개량에 매우 유용하게 이용할 수 있다(Smith, 1984; Christensen, 1991). 소의 수정란 이식에 있어 우수한 소의 생산을 통한 가축의 개량에 활용하고자 과배란 및 수정란 이식(multiple ovulation and embryo transfer: MOTE) 기법이 이용되고 있다(Seidel, 1981; Smith, 1988; 손 등, 2000). 1980년대 초 국내에 수정란 이식 기술이 도입된 이래 수

정란 이식 기술의 효율이 크게 향상되었으나 산업적으로 이용함에 있어서는 아직 해결해야 할 문제점이 많이 남아 있다. 과배란 및 수정란 이식 기법의 성공적인 수행을 위해서는 우수한 공란우를 선정하여 과배란 처리에 의해 양질의 수정란을 많이 회수하는 것이 무엇보다 중요하다.

수정란 이식 기술의 중요한 요인은 우선 유전적으로 능력이 우수한 공란우로부터 이식 가능한 정상 수정란을 많이 생산하는 것인데, 과배란 처리에 대한 난소 반응은 개체에 따라 투여 호르몬에 대한 차이가 크며, 수정란 생산에 영향을 미치는 여러 가지 요인들이 복합적으로 작용하기 때문에 정상 수정란 생산의 안정적인 체계는 거의 개선되지 못하고 있는 실정이다(Armstrong, 1993). 과배란 처리에 영향을 미치는 요인은 공란우 개체에 따른 난소 반응의 차이(Shea 등, 1984), 성선 자극 호르몬의 종류(Elsden 등, 1978; Goulding 등, 1991; Staigmiller 등, 1992), 호르몬 투여량(Donaldson, 1984; Pawlyshyn 등, 1986), 과배란 처리 방법(Takedomi 등, 1992; Yamamoto 등, 1994; 임 등, 1998), 공란우의 연령(Hasler 등, 1981; Donaldson, 1984), 번식 경력(Isogai 등, 1993), 반복 과배란 처리(Donoidson

* Corresponding author : Phone: +82-63-620-3521, E-mail: junkyuson@korea.kr

과 Perry, 1983; Warfeld 등, 1986; Almeida, 1987), 계절(Shea 등, 1984; Bastidas와 Randel, 1987) 등이 관계된다고 하였다. 국내에서도 소에서 과배란 처리에 대한 보고(양, 1994; 김 등, 1997; 손 등, 1997; 임 등, 1998; 손 등, 2006)가 되고 있다.

기존의 과배란 처리 방법에서는 발정 주기의 황체기(발정 후 8~13일)에 성선 자극 호르몬의 투여가 필수적이었으며, 공란우의 발정 관찰이 요구되었다. 그러나 최근에는 발정 주기에 구애받지 않고 임의의 시기에 progesterone 방출 기구를 자궁 내 삽입하고 성선 자극 호르몬으로 과배란 처리를 하는 방법으로도 기존의 과배란 처리 방법과 유사한 수정란 생산 성적을 나타내고 있다(Andrade 등, 2003). 이러한 새로운 과배란 처리 방법이 우수 수정란 생산 사업에 활용시에는 짧은 기간 내 능력이 우수한 공란우의 활용을 극대화 시키므로 수정란의 생산 비용을 낮출 수 있을 것이다(손 등, 2005). 우수 공란우로부터 다양한 수정란을 생산하기 위하여 다배란 처리의 반복 수행이 불가피하므로 효과적인 반복처리 또한 중요한 요인이 되고 있다. 호르몬 반복처리에서 난소 반응이 저하됨이 보고되고 있으며(정 등, 1983; 이 등, 1987), Almeida(1987)는 과배란 처리의 반복으로 혈청 내 성선 자극 호르몬에 대한 항체가 생성되기 때문에 과배란 처리의 반복에 따라 난소 반응이 감소하는 경향이 있다고 보고하였다. 그러나 Donaldson과 Perry(1983)는 과배란 처리를 10회까지 반복하여도 이식 가능 수정란 수에 차이가 없다고 보고하였으며, 과배란의 반복 처리에서 차이가 없다는 보고도 있다(Moor 등, 1984; 양 등, 1988; 양, 1994).

혈장 내 요소태 질소는 간장에서 NH₄ 비독화 과정에서 생성되는 산물로서 혈장 내의 요소태 질소 수준은 섭취한 단백질의 양과 분해성, 단백질과 에너지의 균형성 등을 반영해 준다(Ferguson 등, 1993). 그러므로 영양 관리의 적정성을 판정하는 지표로서 활용되어 왔다. 혈장 내 요소태 질소 수준에 의해 난소 기능의 재개와 관련한 영양 관리의 평가 가능성은 검토하는 것도 큰 의미가 있다고 사료된다. 이식 가능 수정란을 안정적으로 다수 생산하는 것은 수정란 이식 기술의 실용화를 위한 가장 기초적이며, 매우 중요한 과제라 할 수 있다.

따라서 본 연구는 국립축산과학원 가축유전자원시험장에서 실시한 성적 자료를 분석하여 한우의 체내 수정란 생산을 위한 과배란 처리와 혈장 내 요소태 질소 수준과의 관계를 구명하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

공시우

본 연구의 자료는 국립축산과학원 가축유전자원시험장에서 보유하고 있는 형질이 우수한 엘리트 암소로 선발된 한우 경산우 36두를 공시하였다.

공란우 과배란 처리 및 인공수정

시험군은 공란우의 발정 주기와 관계없이 progesterone releasing intravaginal device(CIDR-plus, InterAg, New Zealand)를 질내 삽입하고 4일째부터 FSH(Antorin, 2AU

=1 ml, Kawasaki Mitaka, Japan)를 4일에 걸쳐 28AU 근육주사하였으며, CIDR 삽입 후 7일째 PGF₂α(LutalyseTM, Phamacia Co., Belgium)를 오전 25 mg, 오후 15 mg을 근육 주사하였으며, CIDR를 제거하였다. 인공수정은 PGF₂α 주사 후 48시간 전후 발정을 확인하고 12시간 간격으로 정액 2스트로우씩 2회 실시하였으며, 1차 인공수정 후 100 μg Gonadotropin(GnRH, Fertagyl[®], Intervet, Holland)을 근육주사하였다.

수정란 회수, 평가 및 초음파 검사

인공 수정 후 7일째에 수정란을 회수하였으며, 회수를 위한 관류액은 Embryo Collection Medium(Agtech, BiolifeTM, USA)을 이용하여 비외과적인 방법으로 회수하였다. 회수된 수정란은 Manual of the International Embryo Transfer Society(Stringfellow와 Seidel, 1998)의 기준에 따라 code 1(excellent or good)과 code 2(fair)로 평가된 수정란은 이식 가능 수정란, code 3(poor)과 code 4(dead or degenerating)로 평가된 수정란은 이식 불가능 수정란으로 구분하였으며, 과배란 처리한 공란우의 황체 수를 파악하기 위한 난소 초음파(Sonoace 600 with a 5.0 MHz linear array transducer; Medison Co., Led., Seoul, Korea)검사를 실시하였다.

채혈, 호르몬 및 생화학 분석

Progesterone(P₄) 농도 측정을 위해 한우 공란우 36두를 공시하여 CIDR 삽입하는 날부터 일주일에 2회, 수정 후 100일까지 채혈하여 호르몬 및 생화학을 분석하였다. 채혈 방법은 오전 10~11시 사이 heparin 처리된 15 ml vacutainer를 사용하여 경정맥에서 약 10 ml를 채혈하여 곧바로 실험실로 운반하였고, 3시간 이내에 3,000rpm에서 원심분리 후 혈청을 분리하여 분석시까지 냉동보존(-20 °C)하였다. 혈중 P₄ 농도는 의료용 면역 흡광 측정 장치(Immulite 1000, DPC CIRRUS, Inc, USA)를 이용하여 측정하였으며, BUN 분석은 자동생화학 분석기[7180, Kawasaki Mitaka(주), Japan]를 이용하여 분석하였다.

통계분석

한우 공란우 과배란 처리와 BUN 수준과의 유의성 분석은 SAS program의 Chi-square를 이용하였고, *p*<0.05 이하의 경우 유의한 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

혈장 내 요소태 질소는 사료 섭취 후 그 수준이 상승하다가 점차 낮아지는 일중 변동이 심한 대사산물이다. 그러므로 번식을 위한 사양관리의 적정성을 판단하는 지표로써 혈장내 요소태 질소 수준을 이용하기 위해서는 요소태 질소 수준이 안정된 시각에 채혈한 재료를 사용하는 것이 중요하다. 본 실험에서는 혈장 내 요소태 질소 수준을 분석하기 위해 오전 10~11시 동일한 시간에 시료를 채취하였다. 혈장내 요소태 질소 수준을 검토했을 때 4시간 경과 시 가장 높은 수준을 보이다가 12시간 경과 시 사료급여전과 같은 수준으로 감소하고, 그 후 안정

Table 1. Effect of BUN concentration on embryo production

BUN concentration (mg/dl)	Cows (n)	Embryo yield	
		No. total ova	No. transferable embryos
< 10	3	4.7±1.8	3.2±1.2
11~18	30	12.6±2.7	5.4±1.9
19 <	3	8.9±2.3	4.1±2.1

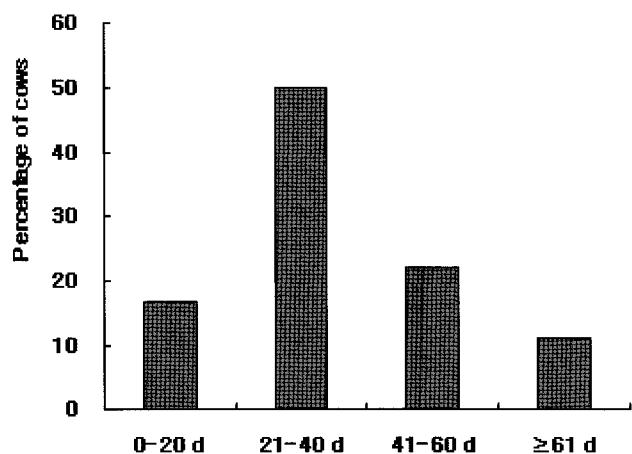
Table 2. Relationship between return of estrus and blood urea nitrogen(BUN) concentration

BUN concentration (mg/dl)	Number	Return of estrus (day)
< 10	3	34.6
11~18	30	30.5
19 <	3	30.4

적인 요소태 질소 수준이 유진된다고 보고(Elrod 등, 1993; 박 등, 1999)되어 있다. 연구자에 따라 혹은 연구대상 지역별로 사양관리 조건이 달라 적정 요소태 질소의 범위는 조금씩 차이가 있으나, 젖소에서는 12~18 mg/dl가 널리 적용되고 있다.

표 1에서는 젖소의 사양관리 진단에 있어 적정 혈중 요소태 질소 수준과 조금 다르게 11~18 mg/dl와 그 이하 및 이상의 수준을 가진 한우 공란우를 나누어 회수 난자수 및 이식 가능한 수정란 수를 조사한 결과를 보여준다. 혈중 요소태 질소 수준이 10 이하, 11~18 및 19 mg/dl 이상일 때의 회수 난자 수는 각각 4.7±1.8, 12.6±2.7, 8.9±2.3개였으며, 이식 가능 수정란 수는 3.2±1.2, 5.4±1.9, 4.1±2.1을 보였으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다. BUN 수준과 발정 재귀일과의 비교에서도 혈중 요소태 질소 수준이 10이하, 11~18 및 19 mg/dl 이상일 때의 발정 재귀일은 각각 34.6, 30.5, 30.4일로 11 mg/dl 이상일 때 발정 재귀일이 다소 짧아지는 것을 확인할 수 있었으나, 공시두수의 부족에 기인한 것인지 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 2).

총 36두의 공란우 중 6두(16.7%)는 분만 후 20일 이내에 난소 주기가 재개되었지만, 4두(11.1%)는 분만 후 60일까지도 난소 주기가 재개되지 않았다. 단지 50.0%와 22.2%의 공란우가 과배란 처리 후 21과 40일 사이 및 41일에서 60일 사이에 난소 주기가 각각 재개되었다(그림 1). 국내에서 사용되는 젖소군에서도 분만 후 비정상적인 난소 주기를 가진 개체의 발생 빈도가 높고 특히 황체기가 연장과 무 배란이 난소 주기 이상의 대표적 형태이다. 공란우 과배란 처리 후 그 지연의 정도에 대한 보고는 되어 있지 않지만, 젖소가 분만 후 지연의 사례를 보고한 초기연구 결과(Lamming과 Darwash, 1998; Opsomer 등, 1998)보다는 더 심했으나, 최근의 Shrestha 등(2004a)의 연구 결과보다는 적었다. 아직 많은 연구가 이루어지지는 않았지만 공란우의 과배란 처리 후 비정상적인 난소 주기를 가진 개체의 발생 빈도도 높아질 수 있었으며, 기전과 요인에 대해서 명확하지 않지만 이러한 난소 주기의

**Fig. 1. Percentage of cows that resumed ovarian cyclicity after superovulation treatment.**

이상에 의해 난자 회수율 및 이식 가능 수정란 수의 저하가 초래할 것으로 생각된다.

혈장 내 요소태 질소 수준은 섭취한 단백질의 양과 분해성, 단백질과 에너지의 균형성 등을 반영해준다(Ferguson 등, 1993). 그러므로 영양관리의 적정성을 판정하는 지표로서 활용되어 왔고, 특히 젖소의 수태율과 관련하여 수많은 보고(Ferguson 등, 1993; Butler 등, 1996; Park 등, 1997)들이 있었다. 혈장 내 요소태 질소의 수준이 기준치보다 낮을 경우는 대부분 사료섭취량이 부족한 것으로 판정을 하고, 높을 경우는 사료내 에너지의 부족에 기인한다고 해석을 하는 것이 일반적이다. 그러므로 혈장 내 요소태 질소의 수준을 파악함으로써 현재의 에너지 수준 상태를 유추해 볼 수 있다. 본 연구 결과, 유의적인 차이는 보이지 않았지만 혈장 내 요소태 질소의 수준이 11 mg/dl 보다 낮을 경우 회수 난자수나 이식 가능 수정란 수 및 과배란 처리 후 난소 주기 재개에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

인용문헌

1. Almeida AP (1987): Superovulatory response in dairy cows repeatedly treated with PMSG. Theriogenology 27:205.
2. Andrade JC, Oliveira MA, Lima PF, Guido SI, Bartolomeu CC, Tenorio Filho F, Pina VM, Iunes-Souza TC, Paula NR, Freitas JC (2003): The use of steroid hormones in superovulation of Nelore donors at different stages of estrous cycle. Anim Reprod Sci 77: 117-125.
3. Armstrong DT (1993): Recent advances in superovulation of cattle. Theriogenology 28:531-540.
4. Bastidas P, Randel RD (1987): Seasonal effects on embryo transfer results in Brahman cows. Theriogenology 28:531-540.
5. Butler WR, Calaman JJ, BEAM AW (1996): Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy ra-

- te in lactating dairy cattle. *J Anim Sci* 74: 858-865.
6. Christensen LG (1991): Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. *Theriogenology* 35: 141-149.
 7. Donaldson LE, Perry B (1983): Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cows. *Theriogenology* 20:163-168.
 8. Donaldson LE (1984): Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology* 21:963-967.
 9. Elrod CC, Van Amburgh M, Butler WR (1993): Alteration of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J Anim Sci* 71:702-706.
 10. Elsden RP, Nelson LD, Seidel GE, Jr (1978): Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9:17-26.
 11. Ferguson JD, Galligan DT, Blanchard T, Reeves N (1993): Serum urea nitrogen and conception rate : The usefulness of test information. *J Dairy Sci* 76: 3742-3746.
 12. Goulding D, Williams DH, Roche JF, Boland MP (1991): Superovulation in heifers using pregnant mare's serum gonadotropin or follicle stimulating hormone during the mid luteal stage of the estrus cycle. *Theriogenology* 36:949-958.
 13. Hasler JF, Brooke GP, McCauley AD (1981): The relationship between age and response to superovulation in Holstein cows and heifers. *Theriogenology* 15:109.
 14. Isogai T, Shimohira I, Kimura K (1993): Factors affecting embryo production following repeated superovulation treatment in Holstein donors. *J Reprod Dev* 39:79-84.
 15. Lamm GE, Darwash AO (1998): The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Anim Reprod Sci* 52:175-190.
 16. Moor RM, Kruip Th AM, Green D (1984): Intraovarian control of folliculogenesis : Limits to superovulation. *Theriogenology* 21:103-116.
 17. Opsomer G, Coryn M, Kruif A (1998): An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesteron profiles. *Reprod Dom Anim* 33:193-204.
 18. Park SB, Kim HS, Kim CK, Chung YC, Lee JW, Kim CH (1997): Relation of conception rate and plasma urea nitrogen in dairy cattle. *Korean J Anim Reprod* 21(2): 185-189.
 19. Pawlyshyn V, Lindsell CE, Braithwaite M, Mapleton RJ (1986): Superovulation of beef cows with FSH-P : A dose-response trial. *Theriogenology* 25:179.
 20. Seidel GE (1981): Superovulation and embryo transfer in cattle. *Science* 211:351-358.
 21. Shea BF, Janzen RE, McDermand DP (1984): Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology* 21:186-195.
 22. Smith C (1984): Genetic improvement of livestock, using nucleus breeding units. *World Animal Review* 65:2-10.
 23. Smith C (1988): Application of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology* 29:203-212.
 24. Staigmiller RB, Bellows RA, Anderson GB, Seidel GE, Foot WD, Menino AR, Wright RW (1992): Superovulation of cattle with equine pituitary extract and porcine FSH. *Theriogenology* 37:1091-1099.
 25. Takedomi T, Aogagi Y, Konishi M, Kishi H, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S (1992): Superovulation in Holstein heifers by a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 39: 327.
 26. Warfield SJ, Seidel GE, Jr, Elsden RP (1986): A comparison of two FSH regimens for superovulating cows and heifers. *Theriogenology* 25:213.
 27. Yamamoto M, Ooe M, Kawaguchi M, Suzuki T (1994): Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 41:747-755.
 28. 김홍률, 김덕임, 원유석, 김창근, 정영채, 이규승, 서길웅 (1997): 한우에서 FSH-P와 SUPER-OV에 의한 체내 수정란 생산에 관한 연구. I. 다배란 처리 조건에 따른 체내수정란 생산에 영향을 미치는 요인. *한국수정란이식학회지* 12:37-48.
 29. 박수봉, 임석기, 우제석, 김일화, 최선호, 서상욱, 류일선, 손동수 (1999): 한우 수란우의 혈장 요소태 질소와 수태율의 관계. *한국수정란이식학회지* 14: 83-88.
 30. 손동수, 김일화, 이호준, 서국현, 이동원, 류일선, 이광원, 전기준, 손삼규, 최상용 (1997): 한우수정란의 동결 보존 및 쌍자 생산에 관한 연구. I. 동결수정란의 이식과 자우생산. *한국수정란이식학회지* 12:75-90.
 31. 손동수, 김일화, 류일선, 연성희, 서국현, 이동원, 최선호, 박수봉, 이충섭, 최유림, 안병석, 김준식 (2000): 젖소 MOET Scheme의 추진을 위한 수정란 생산과 이식. *한국수정란이식학회지* 15:57-65.
 32. 손동수, 최창용, 한만희, 최선호, 조상래, 김현종, 김영근, 김일화 (2005): CIDR를 이용한 한우 공란우의 과배란 처리 간격이 회수 난자의 성상에 미치는 영향. 제45회 발생공학국제심포엄 및 학술대회 초록집 p 95.
 33. 손동수, 한만희, 최창용, 최선호, 조상래, 김현종, 류일선, 최성복, 이승수, 김영근, 김삼기, 김상희, 신권희, 김일화 (2006): 우수 한우의 수정란 생산 및 이식. *한국수정란이식학회지* 21:147-156.
 34. 양보석, 오성종, 유승환, 김희석, 정연후, 이근상 (1988): 한우에 있어서 다배란의 반복처리 및 동결수정란 이식에 관한 연구. *한국수정란이식연구회지* 3:38-42.
 35. 양보석 (1994): 체내 및 체외 소 수정란의 임신율에 영향을 미치는 요인에 관한 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문.
 36. 이정호, 서태광, 박항균 (1987): 공란유우의 과배란 반응에 영향하는 요인에 관한 연구. *한국수정란이식연*

- 구회지 2(1):27-32.
37. 임석기, 우제석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수 (1998): 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Folltropin-V의 1회 피하주사에 의한 다배란 유기. 한국수정란이식학회지 13:207-212.
38. 정길생, 박홍대, 노환칠, Richard A. Carmichael (1983): 수정란 이식에 의한 우의 쌍태 유기에 관한 연구. II. 다배란 처리의 반복이 난소 반응과 수정란의 발달에 미치는 영향. 한국축산학회지 25(4):267-271.
(접수일자: 2010. 9. 9 / 채택일자: 2010. 9. 17)