

젖소에서 초음파기기를 이용한 난자 채취에 있어서 손가락 촉지를 이용한 난포란의 채란

진종인[†] · 홍승표 · 정장용 · 이지삼 · 박희성
진주산업대학교 축산학과

Study on Ovum Pick-up(OPU) with Finger-Sensibility using Oocyte Recovery in Holstein Heifers

J. I[†], Chin, S. P. Hong, J. Y. Jung, J. S. Lee and H. S. Park

Dept. of Animal Science, Chinju National University, Chinju 660-758, Republic of Korea

SUMMARY

This study was conducted to develop an improved method for oocyte pick-up(OPU) with finger-sensitivity using ultrasound-guidance from ovarian follicles in Holstein heifers. Oocytes were aspirated from ovarian follicles of clear-outline (>2mm), obscure-outline and invisible(\leq 2mm) on ultrasound images with 3 different vacuum pressure(40, 80, 120mmHg).

Total number of oocytes recovered/follicles were 309/237(130.4%), 113/80(141.3%) and 107/74(144.6%) with 40, 80 and 120 mmHg of vacuum pressure, respectively. Mean number of oocytes recovered was higher in 2 OPU/week (18.3 ± 5.3) than 1 OPU/week(14.5 ± 4.1), but this difference was not statistically significant. The recovery rates were not affected by the number of OPU as 135.6%(282 oocytes/208 follicles) in 1~20 OPU, 137.7% (168/122) in 21~40 OPU and 148.4%(92/62) in 41~60 OPU, respectively. The proportions of good oocytes (Grades I) recovered were not significantly different by the number of OPU until 40 OPU(12.4% in 1~20 OPU vs 16.7% in 21~40 OPU). However, a significantly($P < 0.05$) lower recovery rate resulted from more than 40 OPU compared to less than 40 OPU(7.6%).

These results imply that more fertilizable oocytes can be produced from invisible-immature follicles by transvaginal aspiration with finger-sensitivity from Holstein heifers.

(Key words : ultrasound, ovum pick-up, finger-sensitivity, vacuum pressure, Holstein heifers)

서 론

가축개량에 있어서 초기에는 종모우를 이용한 인공수정 기술이 개발되어 활발하게 이용되어 왔으나, 근래에는 생명공학 기술의 발달로 인하여 종 빈우를 이용한 수정란이식기술의 응용뿐만 아니라 난포란을 이용한 체외수정기법의 확립으로 산업화 단계에 이르렀다.

이러한 체외수정기술의 산업화를 위해서는 무엇보다도 난자의 다량화보가 가능해야 하며, 도축장에서 도축된 암소의 난소로부터 난포란을 이용할 경우 다량화보는 가능하나, 난자의 반복채취가 불가능하며, 수정란이식 후 태어난 산자의 모계통에 대한 혈통 및 능력을 알 수 없기 때문에 가축개량 측면에서는 효과가 적다.

반면에 초음파기기를 이용하여 생체에서 고능력 가축으로부터 미성숙 난포란을 주기적으로 다

[†]Correspondence

량 채취할 수 있다면, 체외수정란의 생산 기법으로 우량 수정란의 대량 생산 체계를 구축할 수가 있다(Pieterse 등, 1988). 초음파유도 난포란의 채취와 관련된 일련의 연구 중 임신우에서 난포란의 채취(Meintjes 등, 1995; Reinders와 Wagtendonk, 1996), 다양한 탐촉자의 사용(Scott 등, 1994; Hashimoto 등, 1999a), 번식장애우의 이용(Pieterse 등, 1992), 외기온도에 따른 채란율의 차이(Broussard 등, 1996), 미성숙 송아지로 부터의 채란(Tervit, 1996; Fry, 등 1998) 및 개체간의 난자 회수율(Bols 등, 1996b; Boni 등, 1997)등에 관한 많은 연구가 보고되고 있다.

탐촉자(7.5, 5.0MHz)주파수가 다를 경우 난포 외벽선이 뚜렷하게 보이는 것과 보이지 않은 난포 간의 차이에 따라서 회수율에 영향을 미치며, 가시 난포로서 중난포(4~10 mm) 이상의 난포를 채란 할 경우에도 실제로는 small follicle(≤ 3 mm)들이 채란될 수 있기 때문에 OPU를 이용한 채란에 있어서 정확하게 채란율을 비교 평가하기가 어렵다고 하였다(Becker 등, 1996). 무엇보다도 초음파 유도 난포란의 회수기법은 많은 장점이 있음에도 불구하고 도축장 유래 난포란에 비해 저조한 회수율로 인하여 이용의 제한을 받고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 젖소에서 초음파 유도 난포란의 다양생산의 기초를 마련하고자 초음파 난자 채란기기를 이용한 난포란의 회수에 있어서 일반적인 채란방법과 아울러 손가락 촉지에 의한 small 난포로 부터 회수를 실시하였으며, 이때 음압의 차이, 주당 채란횟수, 반복채란 등이 회수율과 난포란의 등급에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

초음파 채란용 젖소는 임상적으로 건강하고 번식장애가 없으며, 11~15개월령의 체중 300~400 kg로써, 정상적으로 발정주기가 발현한 Holstein 육성우 6두를 사용하였다. 실험우의 사양은 사양 표준에 준하여 사육농가에 위탁관리를 하였으며, 정기적으로 질병과 건강상태 유무를 검진하였다.

2. 채란 기구

생체내 난포발육의 관찰과 난자채란에 사용된 기구는 SONOACE-600 형(Medison Co., 한국)으로 동물용으로 개발되어진 초음파기기를 사용하였으며, 탐촉자는 6.5MHz convex scanner(Medison Co., 한국)를 사용하였고, 채란에 사용된 needle은 가축용으로 개발되어진 long non-disposable needle로써, 총 길이는 136 cm, 17-gauge의 직경과 63 cm iron-tubing, silicon tubing 73cm가 연결된 것을 사용하였다. 또한 conical tube(12~50 ml)를 반복적으로 교환할 수 있게 제작된 것을 사용하였으며, vacuum pump(Cook LTD., 호주)는 음압 조절이 가능한 기기를 사용하였다.

3. 보정과 마취

공란우 보정은 시술자의 안정성과 공란우의 직장과 질, 난소와 자궁 등의 안정성 및 채란의 효율이 떨어지는 것을 방지하고 움직임을 최소화하기 위하여 고안 제작된 보정틀을 이용하였다. 초음파 채란을 위한 마취는 Bergfelt 등(1995)의 방법을 응용하여 실시하였다. 즉 xylazine hydrochloride (Rompun, 바이엘화학, 한국)을 0.1 ml/100 kg 용량으로 미징맥주사 후 국소마취를 위하여 2% lidocaine(제일화학, 한국) 2 ml/100kg을 미추 1번과 2번 사이의 경막외에 주사하였다. 이때 주사액을 2~3등분으로 분할하여 투약하였다.

4. 질 세척 및 난포 확인

보정과 마취가 완료된 소는 직장내의 변을 완전히 제거하고 외음부를 깨끗이 세척한 후 멸균된 생리식염수로 3~4회 질 세척을 실시하였다. 난포의 확인은 손가락 감각과 탐촉자(6.5MHz; Sonovet-600; Medison, Co. 한국)를 이용하여 확인하였으며, 탐촉자를 질에 삽입하여 경관입구의 질벽에 고정한 후 난소를 견인하여 난소의 크기와 난포의 수를 확인하였다. 이때 탐촉자의 삽입은 외음부를 약 90° 이상의 각도로 당겨서 탐촉자가 질 내부로 삽입이 용이하게 하여 오염이 발생되지 않게 조심하면서 탐촉자를 질 내부로 삽입한 다음 탐촉자를 경관입구 질벽에 고정하였다.

Small 난포의 촉지는 손가락 끝부분을 약간 세워 손가락 힘을 조절하면서 촉지하였다. small 난포가 존재하는 부위는 난소의 표면보다 약간 솟아있거나 또는 약간 힘들되는 듯한 느낌을 감지할 수 있으며, 난포가 존재하는 부위는 난소의 실질조직보다 탄력을 느낄 수 있었다. 이러한 방법으로 감지된 난포를 small 난포로 판단하여 채란을 실시하였다. 이때 난포가 흡입되는 것은 손가락 감각에 전달되며, 또한 needle silicon-tube 를 통하여 난포액이 이동되는 것을 확인하였다.

5. 난포란의 채란

채란은 공시된 공란우로부터 발정주기에 관계 없이 1) 주당 1 또는 2회 채란으로 60회까지 반복 채란을 실시하였으며, 2) 음압의 차이, 3) 연속 채란효과, 4) 개체별 반복 채란에 따른 난포란의 등급 등을 조사하였다.

needle의 준비는 난포란이 needle 내에서 유착의 방지 및 흡입시 난포란의 유입이 원활히 이루어지도록 0.2% heparin과 5% FBS가 첨가된 D-PBS (Sigma, 미국) 배양액을 주사침강 및 연결된 흡입관에 흡입하여 채운 후 사용하였다.

초음파 image 상에 뚜렷하게 나타난 난포 모두를 흡입한 다음 초음파기기의 monitor에 나타나지 않거나, 뚜렷하게 보이지 않은 난포란 채란을 위하여 난소문을 약자와 소지 사이에 끼워 난소를 고정한 후 잔존 난포들을 손가락의 감각을 이용하여 위치를 확인하였다. 그리고 needle-tip의 위치는 직장벽을 통하여 손가락 감각에 전달되는 것을 이용하여 위치를 확인하였다.

감각을 이용한 small 난포의 흡입방법은 난포의 크기가 needle-tip 사각면의 길이보다 작으므로 난포를 직접 흡입하는 방법을 이용할 경우에 needle-tip이 난포를 찌를과 동시에 난포액과 난포란이 복강으로 유실될 우려가 있으므로, 이를 방지하기 위하여 needle-tip을 난포 주변의 난소실질로 찌른 다음 난포강으로 진입하여 난자와 난포액을 흡입하였다. 온도충격을 방지하기 위하여 37.5°C가 유지되는 보온병을 사용하였으며, 이때 사용되어진 흡입용 vacuum pump의 압력은 40, 80 및 120mmHg로 조절하여 사용하였다. 연속하여 난포란을 흡입

할 경우 첫 번째의 난포에 needle을 난포강으로 진입하여 흡입한 후 난포강으로부터 needle을 제거하지 않은 상태에서 다음 흡입할 난포강에 진입하는 방법으로 연속적으로 채란을 실시하였다.

초음파 image 상의 난포란의 흡입은 난포를 초음파 monitor 상에 설정된 biopsy line 위에 고정시킨 후 채란을 위하여 needle을 needle-guided를 통하여 monitor에 biopsy line이 설정된 방향으로 진입하여 난소의 실질조직을 찌르면서 난포강으로 밀어 넣었다. 초음파 image상에서의 위치와 난소내로 needle이 들어가는 감각이 전달될 때 vacuum pump를 이용하여 난포강내의 난포란과 난포액을 모두 흡입하였다.

6. 난포란의 회수 및 등급분류

채란 후 즉시 난포란과 난포액이 들어 있는 conical tube(12~50 ml)는 37°C로 유지하면서 실험실로 운반하여 5% FBS가 첨가된 D-PBS로 1~2회 세척한 후 도립 현미경(Nikon, Co., 일본)하에서 난포란을 회수하였으며, 기본배양액(TCM -199 + 5% FBS)을 이용하여 4~5회 세척한 후 난포란의 등급분류는 Wiemer 등(1991)의 방법으로 다음과 같이 분류하였다.

Grade I : 4층 이상의 난구세포층이 충만하면서 균일한 세포질을 가진 것

Grade II : 1~3층의 난구세포층을 가진 것

Grade III : 부분적으로 또는 완전 나화된 것

Grade IV : 난구세포층이 팽화, 퇴하되었거나 또는 투명대가 손상이 있는 것

7. 통계학적 분석

본 실험에서 얻어진 결과들의 통계학적 분석은 SAS package의 GLM을 이용하여 각 요인의 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 난포란의 흡입방법과 음압이 회수율에 미치는 영향

젖소에서 초음파 유도 난포란 채란시 음압을 달리하여 초음파 image 상으로부터 난포의 외벽선이

Table 1. Effect of different pressure to follicular oocytes by ultrasound-guided aspiration with finger-sensibility in Holstein heifers

	Aspiration vacuum(mmHg)		
	40	80	120
No. of session	24	13	21
No. of follicles on ultra image	237	80	74
No. of oocyte collected(%)	309(130.4)	113(141.3)	107(144.6)
No. of collected oocyte grade(%)			
Grade I	45(14.7)	15(13.3)	10(9.3)
Grade II	93(30.3)	32(28.3)	30(28.0)
Grade III	96(31.0)	33(29.2)	34(31.8)
Grade IV	75(24.3)	33(29.2)	33(30.8)

뚜렷하게 보이는 것(>2 mm)과 뚜렷하지 않거나, 초음파 image 상에서 보이지 않는 난포(≤ 2 mm)로부터 손가락 감각으로 회수한 성적은 Table 1에서 보는 바와 같다.

첫소에서 session과 음압을 40, 80 및 120 mmHg로 각각 달리하여 채란을 실시하였을 때 초음파 image상의 난포수는 237, 80 및 74개였으며, 난포란의 회수율은 309개(130.4%), 113개(141.3%) 및 107개(144.6%)였다.

Hashimoto 등(1999b)은 채란시 18G needle로 40mmHg과 80mmHg 음압조건으로 100개의 난포로부터 46 ± 4.8 개의 난자를 회수하였으며, 이중 40 mmHg는 31 ± 5.8 (G I)와 6 ± 1.9 (G II)개였고, 80 mmHg에서 6 ± 2.9 (G I)개와 11 ± 2.4 (G II)개를 회수하였다고 보고하였다.

Hashimoto 등(1999a)은 도축 난소에서 음압의 증가로 1등급과 2등급에 속하는 난포란의 회수율은 감소한다고 하였으며, Bols 등(1997)도 도축우를 이용하여 음압이 높을수록 등급은 낮아진다고 하였다. 또한 채란시의 음압에 있어서 Bols 등(1996a)은 70~130 mmHg의 범위내에서는 난포란의 물리적인 손상을 주지 않는다고 하였다. 반면에 Lezn 등(1987)은 채란시의 높은 음압이 채란수는 증가시키나, 난포란의 형태가 비정상적이거나 나화 난포란이 많아진다고 한 보고는 본 연구 결과와 유사하다.

초음파기기를 이용한 난포란의 채란시 회수율을 높이기 위해서는 손가락으로 난포감지, needle

의 크기, 난포를 찌르는 방향과 각도, 음압 및 첫 번째 난포 흡입 후 두 번째 난포의 흡입방법 등이 많은 영향을 미치는 것으로 생각되며, 생체로부터 초음파 채란시 초음파 image 상에 뚜렷하지 않거나, 보이지 않는 난포로부터의 채란은 매우 어려운 기술이지만 많은 경험만 쌓으면 가능할 것으로 생각된다.

2. 채란빈도가 난포란의 회수율에 미치는 영향

초음파 image 상에 확인된 난포수와 난포란의 회수율이 채란빈도에 따른 차이는 Table 2에서 보는 바와 같다.

주당 1회씩 15회 반복채란을 실시하였을 때 초음파 image 상의 난포수는 162개였으며, 채란수는 217(134.0%)개였다. 주당 2회 채취는 6회를 실시하여 86개의 난포를 확인하였고, 110(128%)개의 난포란을 회수하였다. 주당 평균 회수율은 14.5 ± 4.1 개와 18.3 ± 5.8 개로서 주당 채란 횟수간에 차이는 없었다($P<0.05$).

Sthans 등(1991)은 발정주기와 관계없이 주당 PMSG 500IU를 투여하여 1회 또는 2회 난자채취를 하는 경우 주당 회수 난자수는 2회가 많았으나, 1회 채란당 난포수와 난자수는 차이가 없었다고 하였으며, Gibbons 등(1994)도 발정주기 3~4일에 채란을 시작하여 5주 동안 주당 1회 또는 2회 OPU를 실시한 결과 회수된 난포란의 수는 주당 회수빈도간에 차이가 없었다고 보고하였다. Simon 등(1993)은 65일 동안 48시간 또는 96시간 간격으

Table 2. Effect of aspiration frequency on oocyte recovery with finger-sensibility using ultrasound-guided aspiration in Holstein heifers

Aspiration frequency /week	No. of weeks	No. of follicle on monitor	No. of oocyte collected (%)	Grade of oocyte collected				No. of oocyte collected/ week*
				G I	G II	G III	G IV	
Once	15	162	217(134.0)	31 (14.3)	67 (30.9)	64 (29.5)	55 (25.3)	14.5±4.1 ^a
Twice	6	86	110(128.0)	14 (12.7)	36 (32.7)	36 (32.7)	24 (21.8)	18.3±5.8 ^a

* Mean±SE

** Values with same superscripts were not significantly different(P<0.05).

로 반복하여 채란한 결과 난자회수율은 38.1%와 31.4 %로서 차이가 없었으며, 이러한 원인은 회수 간격이 짧아 난포들이 우위난포로 발육하는 것이 억제되어 기존 우위난포에 의해 다른 난포의 발육이 억제된다고 보고하였다. 반면에 Imai 등(2000)은 탐촉자 7.5MHz를 이용하여 채란 능력이 우수한 사람과 우수하지 않는 사람간의 비교실험에서 주당 1회(14.6 ± 6.0)와 2회(18.9 ± 6.8)채란시 확인된 난포의 수는 차이가 없었으나, 난포란의 회수율에 있어서는 각각 9.6 ± 3.5 개와 23.6 ± 9.3 개가 회수되어 주당 채란 횟수간에 따라서 회수율이 다르다고 하였으며, 또한 초음파기기에 의한 생체내 난포란 채란기술의 습득이 완숙해질수록 채란율도 높다고 보고하였다. Loskutoff 등(2000)은 11두의 공란우를 이용하여 두당 2~8 mm로부터 난포를 평균 9.96 ± 0.51 개를 흡입하였으나, 회수된 난자수는 13.8 ± 0.77 개로서 관찰된 난포수보다 회수된 난포란의 수가 높게 나타난다고 한 연구보고는 본 연구의 결과와 유사한 경향을 나타내는 것을 볼 때 생체 초음파 유도 채란시 난포수의 확인과 난포란의 회수율은 시술자의 숙련도에 따라서 다소 차이가 있는 것으로 생각된다.

3. 연속채란과 개체별 난포란의 회수율

초음파 유도 채란에 있어서 수정란의 대량생산을 위하여 주당 3~4일 간격으로 2회 연속해서 반복채란으로 난포란의 대량생산 가능성과 개체별

난포란 생산능력을 비교한 조사는 Table 3 및 4에서 보는 바와 같다.

반복채란시 난포란 회수율은 1~20회까지 135.6%, 21~40회까지는 137.7% 및 41~60회까지는 148.4%의 회수율을 보였으며, 확인된 난포수도 208개(1~20회), 122개(21~40회) 및 62개(41~60회)로서 채란횟수가 많아질수록 확인된 난포의 수는 감소하는 경향이었고, session 당 채란수는 14.1 ± 8.8 개, 8.4 ± 3.5 개 및 4.8 ± 2.4 개의 난포란 회수율을 보여 연속 채란횟수가 증가할수록 회수율은 유의적($P<0.05$)으로 감소하였다. 회수한 난포란의 등급은 20회(12.4%)와 40회(16.7%)까지 반복채란시는 유의적($P<0.05$)인 차이가 없었으나, 41~60회까지의 반복채란시에는 1등급이 7.6%로서 유의적($P<0.05$)으로 낮았다.

육성우 3두를 이용하여 개체별로 17~18회 반복채란시 초음파 image 상에 나타난 난포의 수는 89, 67 및 148개였으며, 회수한 난포란의 수는 126(141.6%), 94(14.3%) 및 203(137.3%)개였다. 1, 2 및 3번 개체의 채취 횟수당 평균 난자수는 7.4 ± 3.7 개, 5.2 ± 1.9 개 및 11.3 ± 6.0 개로서 유의적($P<0.05$)인 차이는 없었다.

Broadbent 등(1997)은 Simmental 육성우 8두를 이용하여 주당 1회씩 12주 동안 반복채란보다 4주와 8주동안 반복 채란하였을 때가 회수율이 높았다고 하였으며, Hasler 등(1995)은 성선자극호르몬 처리와 처리하지 않은 개체에서 24주 동안 16회와

Table 3. Effect of repeat collection on follicular oocytes with ultrasound-guided aspiration in Holstein heifers

No. of session*	No. of follicle on monitor	No. of oocyte collected(%)	Grade of oocyte collected (%)				No. of oocyte collected/session*
			G I	G II	G III	G IV	
20(1~20)	208	282(135.6)	35 ^{ab} (12.4)	84 (29.8)	89 (31.5)	74 (26.2)	14.1±8.8 ^a
20(21~40)	122	168(137.7)	28 ^a (16.7)	49 (29.2)	45 (26.8)	46 (27.4)	8.4±3.5 ^{ab}
20(41~60)	62	92(148.4)	7 ^b (7.6)	26 (28.3)	29 (31.5)	30 (32.6)	4.8±2.4 ^b

* Mean±SE

** Values with different superscripts were significantly different($P<0.05$).

Table 4. Effect of repeat collection of cows on follicular oocytes with ultrasound-guided aspiration in Holstein heifers

cows	No. of session	No. of follicle on monitor	No. of oocyte collected(%)	Grade of oocyte collected(%)				No. of oocyte collected/head*
				G I	G II	G III	G IV	
1	17	89	126(141.6)	18 (14.3)	35 (27.8)	36 (28.6)	37 (29.4)	7.4±3.7 ^a
2	18	67	94(140.3)	14 (14.9)	26 (27.7)	27 (28.7)	27 (28.7)	5.2±1.9 ^a
3	18	148	203(137.2)	24 (11.8)	62 (30.5)	64 (31.5)	53 (26.1)	11.3±6.0 ^a

* Mean±SE

** Values with same superscripts were not significantly different($P<0.05$).

111주 동안 78회의 채란을 실시하였을 때 1.6~13.4개와 최종 5회에서 1.6~10.0개를 회수하였으나, 일부 개체에서는 50회 이상 반복 채란때부터 회수율이 급격히 감소한다고 보고하였다. Joly 등 (1997)도 과배란 처리후 초음파채란에 있어서 난포란의 평균회수율이 1와 4주에서 15 ± 1.2 개 및 11.6 ± 1.2 개로서 반복적으로 연속채란시 회수율이 감소한다는 보고는 본 연구결과와 일치한다.

적 요

본 연구는 젖소에서 초음파유도 난포란의 다양 생산의 기초를 마련하고자 초음파 난자 채란기기를 이용한 난포란의 회수에 있어서 일반적인 채란

방법과 아울러 손가락 촉지에 의한 small 난포로부터 회수를 실시하였으며, 이때 음압의 차이, 주당 채란횟수, 반복채란 등이 회수율과 난포란의 등급에 미치는 영향을 조사하여 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 젖소에서 초음파 image 상의 난포와 촉지된 난포로부터 음압을 40, 80 및 120 mmHg로 각각 달리하여 채란을 실시하였을 때 초음파 image 상으로는 237, 80 및 74개의 난포를 확인하였고 난포란의 채란은 각각 309개(130.4%), 113개(141.3%) 및 107개(144.6%)였다.
2. 주당 1회씩 15회 반복채란을 실시하였을 때 162개의 난포확인과 217(134.0%)개의 난포란을 회수하였으며, 주당 2회씩 6회 반복채란은

- 86개의 난포와 110(128%)개의 난포란을 회수하였다. 평균 채란수는 주당 1회 채란시 14.5 ± 4.1 개, 2회 채란시 18.3 ± 5.8 개의 난포란을 회수하였으나, 주당 채란 횟수에 따른 채란된 난자수는 차이가 없었다.
3. 반복채란시 확인된 난포수는 1~20회까지 208개, 21~40회까지는 122개 및 41~60회까지는 62개로서 채란횟수가 많아질수록 확인된 전체 난포수는 감소하였으며, session 당 채란수는 14.1 ± 8.8 개, 8.4 ± 3.5 개 및 4.8 ± 2.4 개로서 반복 채란횟수가 증가할수록 회수한 난포란은 유의적($P < 0.05$)으로 감소하였다. 회수한 난포란 중 1등급 난포란은 1~20회에서는 12.4%였고 20~40회에서는 16.7%로 차이가 없었으나, 41~60회까지의 반복채란시에는 7.6%로서 40회 이상의 반복 채란시에서는 1등급 난포란의 회수율이 유의적($P < 0.05$)으로 낮았다.
 4. 공란우 3두를 이용하여 개체별로 17~18회 반복채란시 초음파 image상에 나타난 난포의 수는 89, 67 및 148개로서 개체간에 차이가 있었으나, 회수된 난포란의 수는 126(141.6%), 94(14.3%) 및 203(137.3%)개로서 1, 2 및 3번 개체의 경우 채취 횟수당 평균 7.4 ± 3.7 개, 5.2 ± 1.9 개 및 11.3 ± 6.0 개로서 유의적($P < 0.05$)인 차이가 없었다.

참고문헌

- Becker F, Kanitz W, Nürnberg G, Kurth J and Spitschak M. 1996. Comparison of repeated transvaginal ovum pick up in heifers by ultrasonographic and endoscopic instruments. Theriogenology, 46:999-1007.
- Bergfelt DR, Lightfoot KC and Adams GP. 1995. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. Theriogenology, 42:895-907.
- Bols PEJ, Soom VA, Ysebaert MT, Vandenheede JMM and Kruif DA. 1996a. Effects of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. Theriogenology, 45:1001-1014.
- Bols PEJ, Soom VA, Vanroose G and Kruif DA. 1996b. Transvaginal oocyte pick-up in infertile belgian blue donor cows: Preliminary results. Theriogenology, 45:359.
- Bols PEJ, Ysebaert MT, Soom VA and Kruif DA. 1997. Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and development capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. Theriogenology, 47:1221-1236.
- Boni R, Roelofsen MWM, Pieterse MC, Kogut J and Kruip ThAM. 1997. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. Theriogenology, 48:277-289.
- Broadbent PJ, Dolman DF, Watt RG, Smith AK and Franklin MF. 1997. Effect of frequency of follicle aspiration on oocyte yield and subsequent superovulatory response in cattle. Theriogenology, 47:1027-1040.
- Broussard JR, Rocha A, Lim JM, Blair RM, Roussel JD and Hansel W. 1996. The effect of environmental temperature and humidity on the quality and developmental competence of bovine oocytes obtained by transvaginal ultrasound-guided aspiration. Theriogenology, 45:351.
- Fry RC, Simpson TL and Squires TJ. 1998. Ultrasonically guided transvaginal oocyte recovery from calves treated with or without GnRH. Theriogenology, 1077-1082.
- 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.
- Hashimoto S, Takakura R, Minami N and Yamada M. 1999a. Ultrasound-guided follicle aspiration: Effect of the frequency of a linear transvaginal probe on the collection of bovine

- oocytes. Theriogenology, 52:139-152.
- Hashimoto S, Takakura R, Kishi M, Sudo T, Minami N and Yamada M. 1999b. Ultrasound-guided follicle aspiration: The collection of bovine cumulus-oocyte complexes from ovaries of slaughtered or live cows. Theriogenology, 51:575-765.
- Hasler JF, Hendderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauly AD, Mower SA, Neely B, Shuery L, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. Theriogenology, 43:141-152.
- Imai K, Kobayashi S, Tsujino T, Shin-noh M, Goto Y, Kaneyama K and Kojima T. 2000. Effect of the frequency of ovum pick-up intervals on follicle number, oocyte recovery and embryo production rates in cattle. Theriogenology, 53: 359.
- Joly GC, Ponchon S, Thuard JM, Durand M, Nibart M, Marquant-Le Guenne B and Humblot P. 1997. Effects of superovulation on repeated ultrasound guided oocyte collection and *in vitro* embryo production in pregnant heifers. Theriogenology, 47:157.
- Lezn S, Leeton J and Renou P. 1987. Transvaginal recovery of oocytes for *in vitro* fertilization using vaginal ultrasound. J. *In Vitro Fertil. Embryo Transfer*, 4:51-55.
- Loskutoff NM, Armstrong DL, Ohlrichs CL, Johnson DL, Funk DJ, VanRoeket PV, Molina JA, Lindsey BR, Looney CR, Bellow SM, Hammer CJ, Thler HD and Simmons LG. 2000. Transvaginal, ultrasound-guided oocyte retrieval and the developmental competence of *in vitro*-produced embryos *in vitro* and *in vivo* in the Gaur(*Bos gaurus*). Theriogenology, 53: 337.
- 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.
- Pieterse MC, Kappen EA, 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, Wurth YA, Beneden VTH, Willemse AM and Taverne MAM. 1992. Repeated transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up in eCG-treated cows. Theriogenology, 37:273.
- Reinders JMC and Wagtendonk-de Leeuw VAM. 1996. Improvement of a moet program by addition of *in vitro* production of embryos after ovum pick up from pregnant donor heifers. Theriogenology, 45:354.
- Scott CA, Robertson L, Mousra DRTD, Paterson C and Boyd JS. 1994. Technical aspects of transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration in cows. Vet. Rec., 134:440-443.
- Simon L, Bungarts L, Rath D and Niemann H. 1993. Repeated bovine oocyte collection by means of a permanently rinsed ultrasound guided aspiration unit. Theriogenology, 39:312.
- Sthans VDA, Westerlaken VDLAJ, Wit DAAC, Eyestone WH and Bore DHA. 1991. Ultrasound-guided transvaginal collection of oocytes in the cow. Theriogenology, 35:288.
- Tervit HR. 1996. Laparoscopy/laparotomy oocyte recovery and juvenile breeding. Anim. Reprod. Sci., 42:227-238.
- Wiemer KE, Watson AJ, Polanski V, McKenna AI, Fick GH and Schultz GA. 1991. Effects of maturation and co-culture treatments in the developmental capacity of early bovine embryos. Mol. Reprod. Dev., 30:330-338.

(접수일: 2000. 11. 20 / 채택일: 2000. 12. 21)