

한우 과배란처리시 CIDR 처리와 미처리가 수정란 생산에 미치는 영향

최선호[†] · 손동수 · 류일선 · 조상래 · 한만희 · 김현종 · 최창용 · 김영근
농촌진흥청 축산연구소 가축유전자원시험장

The Effects of Disregarding of Heat Detection on Embryo Production in Superovulation of Hanwoo

S. H. Choi[†], D. S. Son, I. S. Ryu, S. R. Cho, M. H. Han,
H. J. Kim, C. Y. Choe and Y. K. Kim

Animal Genetic Resources Station, NLRI, RDA

SUMMARY

This study was conducted to investigate the effects of disregarding of heat detection on embryo production in superovulation of Hanwoo cows. Donors which showed 1 or 2 times of normal heat and had no abnormality of reproductive tract were selected. The superovulation was performed injection of 2.5 mL FSH (Antorin R-10, Japan) 2 times on 5 days before next heat and continuously with the reduction of dose to 0.5 mL of first injection 2 times in a day for next 3 days. Otherwise, the donors of CIDR group were inserted CIDR plus (with the capsule of estradiol benzoate 10 mg) on Day 10 from standing heat for 9 days. On 6 days from insertion of CIDR, FSH was injected above same manners. The response according to the natural heat and CIDR were 82.2%, 89.7%, respectively. There were no difference between both treatments. The recovery rates of embryos were 7.7, 10.5, respectively and transferable embryos were 3.4, 3.8. There showed significant difference between both treatments ($p < 0.05$). These results suggested that disregarding of heat detection in superovulation could be produced transferable embryos for embryo transfer and preserve the donors from the excess hormonal administration and maintain the economical life span of genetically available Hanwoo donors.

(Key word : heat detection, embryo, Hanwoo)

서 론

고능력우의 과배란 처리 기법의 개선으로 공란우의 수정란 생산을 극대화하여 수정란 이식에 따른 개량을 조기에 할 수 있도록 유도하며, 이에 따라 농가에 고능력 소의 확대 보급으로 인하여 국가 단위의 능력 개량을 활성화함으로써 농가의 생

산성 향상을 기대할 수 있다. 경산 및 미경산우 중에 번식능력을 인정받은 경산우 위주의 과배란 처리가 가장 안정된 과배란 처리 수정란의 생산 기법으로 널리 이용되어 왔으나, 미경산우에 있어서도 고능력을 널리 전파할 수 있으며, 세대 간격을 줄일 수 있다는 장점을 지니고 있는 미경산우에 대한 과배란 처리 기법도 이용되고 있다(Merton

[†] Correspondence : E-mail : sunho@rda.go.kr

등, 2003). 미경산우에서는 물론 경산우에서도 정상적인 수정란을 얻기 위해서는 연령과 호르몬 처리가 가장 큰 영향을 미친다(Morrow 등, 1976; Onuma 등, 1970; Revel 등, 1995). 또한 성공적인 수정란 이식을 위해서는 공란우들의 다양한 과배란 반응의 차이(Adams 등, 1992; Guibault 등, 1991), 수정란의 생산량의 차이(Greve 등, 1995) 등에 의해서도 많은 변이가 나타나므로 보다 더 합리적인 처리 방법이 요구된다고 하겠다. 특히 과배란 처리는 여러 가지의 방법이 있으며, 적게는 2주일에서 한 달까지 소요되는 상당히 노동력이 요구되는 작업이라 할 수 있다. 그리고 타이밍이 상당히 중요한 요인으로서 발정주기를 확실히 파악하지 않고는 성공적인 과배란처리를 완수할 수 없다. 그 중에서도 FSH만을 이용한 자연발정의 경우는 황체기의 중기에 개시하여야 황체가 퇴행되면서 난포의 형성을 촉진할 수 있으며, progesterone 방출기구를 이용할 경우는 차기 발정일 10~16일경에 기구를 삽입하고 발정을 지연시킨 후에 실시하여야 목적을 달성할 수 있었으나, 발정주기와 무관하게 사용하여도 가능하게 되었다. 근래에는 축산은 두사육이 경제성을 가지게 되므로, 과배란 처리나 발정 동기화 등을 유도하기 위해서는 발정주기의 파악이 무엇보다 중요한 요인이라 하겠다. 따라서 본 연구는 소를 이용한 과배란 처리 기법을 보다 더 간편하게 수행할 수 있도록 과배란 처리 방법을 시도하여 노동력을 절감할 수 있는 적절한 과배란 처리 기법의 확립을 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시축

공란우는 축산연구소 가축유전자원시험장에서 사육하고 있는 정상적인 발정주기를 나타낸 한우 미경산 및 경산우 74두를 공시축으로 이용하여 과배란처리에 이용하였으며, 사육은 한우 사양표준(2002)에 준하여 사료를 급이하였고, 미네랄블록 등은 자유 급이하였다.

2. 공란우의 과배란 처리 및 인공수정

공란우는 직장검사로 생식기 상태를 검사하여

양호한 개체를 선정하여 발정을 관찰하고 발정발현 16일째 FSH (Antorin R10, Kawasaki Pharm, Japan)를 2.5 mL (2AU=1.0 mL) 2회를 주입하고, 0.5 mL 감량으로 12시간 간격으로 4일간 반복 투여하였으며, 5회째에 PGF₂α 25 mg (Lutalyse, Upjohn, USA)을 주사하여 발정을 유도하였다. 한편 CIDR를 이용한 과배란처리에 있어서는 발정발현 10일째에 9일간 CIDR를 질내에 삽입하였으며, CIDR는 estradiol benzoate 10 mg(0.5 mL)의 캡슐이 부착된 것이었으며, CIDR 삽입 6일째에 FSH (Antorin R10, Kawasaki Pharm, Japan)를 2.5 mL (2AU=1.0 mL) 2회를 주입하고, 0.5 mL 감량으로 12시간 간격으로 4일간 반복 투여하였으며, 5회째에 PGF₂α 25 mg (Lutalyse, Upjohn, USA)을 주사하였고, 7회째에 CIDR를 제거하였다. 공란우들은 발정발현 12시간 후 KPN 정액 2 straw를 인공수정 및 GnRH(Conceral, Upjohn, USA) 200µg을 근육주사하였으며, 12시간 후 정액 2 straw를 재차 인공수정하였다.

3. 수정란 회수

공란우를 인공수정 후 6~8일에 2% lidocaine 6 mL로 경막외마취 후 FBS 2%가 함유된 D-PBS용액으로 Foley catheter를 이용하여 자궁경관경유법으로 수정란을 회수하였다. 자궁으로부터 관류된 배양액은 embryo collector (FHK, Japan)로 수정란이 회수되도록 하였으며, 실제현미경하에서 수정란을 관찰 및 채취하고 신선한 10%-TCM199 배양액으로 3회 이상 세정하였다.

4. 수정란의 평가

회수된 채란액을 실제현미경하에서 수정란을 회수하여 IETS(International Embryo Transfer Society) Manual(Stringfellow와 Seidel, 1990)의 평가 방법에 따라 수정란의 등급과 발육단계를 구분하였다. 회수된 수정란 중 미세한 결함을 가진 수정란(1등급)과 소수의 돌출된 할구와 변성세포가 존재하는 수정란(2등급)을 이식가능 수정란으로 분류하였다.

5. 통계처리

시험 결과는 과배란치리에 대한 반응율은 LSD를 이용하여 분석하였고, 자연발정과 CIDR치리에 의한 수정란의 회수율에 대한 결과는 SAS 프로그램을 이용한 Duncan의 다중검정법을 이용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 한우에 있어서 발정주기 미확인이 과배란치리시 반응을

한우 공란우에 발정주기를 확인하지 않고, 과배란치리시 반응율은 Table 1과 같다. CIDR를 이용한 과배란치리시 반응을 나타내지 않은 공란우는 없었으며, 수정란이 회수되지 않은 것은 3두였고, 자연발정의 경우는 무반응이 5두를 나타냈고, 수정란이 회수되지 않은 것은 3두였다. 수정란이 회수된 것은 자연발정이 82.2%, CIDR 처리시 89.7%였다. 두 처리간의 반응율은 유의적인 차이를 확인할 수 없었다. Kang 등(1999)은 발정 16일째에 CIDR를 처리하였을 때, 난포파(follicular wave)에 따라 발정주기가 약간 지연되는 경향을 보인다고 하였으며, 특히 3 wave의 경우가 약 6.5일 정도 지연된다고 하였다. Sirois와 Fortune(1990)도 외인적인 progesterone은 발정주기를 지연한다고 하였으며, 발정제귀도 빨리 회복될 수 있다고 하였다(Macmilan과 Peterson, 1993). 또한 CIDR의 삽입 후 4일경부터 혈중 progesterone의 농도가 황체기 이전보다 상승한다고 이미 보고된 바 있다(Peterson과 Henderson, 1990). 그리고 황체기 이전에는 progesterone의 수준이 LH surge를 억제하기에 충분하지 않으며, dominant follicle의 성숙을 억제하

는데는 충분한 양이므로 CIDR의 처리 4~5일후에 LH surge와 배란이 일어나게 된다(Beal, 1996). 그러나 본 연구에서는 자연발정 중 FSH와 PGF_{2α}를 처리하여 CIDR치리와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 화우의 경우는 약 75%가 3 wave인 것으로 알려져 있어, 한우의 경우도 유사한 난포파를 가지고 있을 것으로 사료되므로 혈중 progesterone의 양이 개체에 따라 많은 차이를 보일 것으로 사료된다. 따라서 향후 한우에 대한 난포파와 progesterone 등의 내분비적 변화에 대하여 더 많은 조사가 요구된다고 하겠다.

2. 한우에 있어서 발정주기 미확인후 과배란치리시 수정란의 회수율

한우에 있어서 발정주기 미확인에 의한 과배란치리와 CIDR를 이용한 과배란치리 후 수정란의 회수율은 Table 2와 같다. 자연발정을 이용한 과배란치리의 경우는 7.7개를 채취하였으며, 이식 가능 수정란은 3.4개였으며, CIDR를 이용한 과배란치리에서 수정란은 10.5개를 채취하여 이식 가능 수정란은 3.8개였다. 수정란 회수율에 있어서 유의적인 차이를 보였다.

이러한 결과는 발정주기를 기준으로 progesterone을 주입하지 않아도 과배란 처리를 할 수 있다는 편리함을 시사한다고 하겠다. 즉 과배란 처리를 위해서는 여러 번의 처리를 하여야 수정란을 채취할 수 있으며, 각 처리에서 차이를 보이는 원인에 따라 난소의 반응, 수정란의 수 등에서 현저한 차이를 보이므로, 이러한 처리를 줄일 수 있다는 커다란 장점이 있다고 할 수 있다. Lafri 등(2002)은 발정 11일째에 CIDR처리한 것이 발정 무시에 의한 처리와는 방법에서 약간의 차이가 있

Table 1. The results of superovulation response on natural heat or CIDR without heat detection in Hanwoo

Treatments	No. of cows superovulated	No. of cows		
		Embryo recovered(%)	Non-recovered	Non-response
Natural heat	45	37(82.2)	3	5
CIDR	29	26(89.7)	3	-
Total	74	63(85.1)	6	5

Table 2. The results of embryo recovery on natural heat or CIDR without heat detection in Hanwoo

Treatments	No. of cows superovulated	No. of embryos			
		Transferable	Degenerated	Unfertilized	Total
Natural heat	37	3.4±4.8	1.3±3.0	3.0±3.8	7.7±6.1 ^a
CIDR	26	3.8±3.7	2.5±2.9	4.2±6.4	10.5±6.9 ^b
Total	63	3.6±4.1	2.0±3.0	3.7±5.5	9.3±6.7

^{a,b} different superscripts within the column mean significant difference ($p < 0.05$).

으나, 자연발정에서 보다 좋은 결과를 보인다는 것과는 차이가 있었으며, Kang 등(1999)이 발정주기 16일에 CIDR처리에 의해 젖소에서 난포 성장에 영향을 미치지 못한다고 한 결과와도 차이를 보이고 있다. 또한 Nasser 등(2004)과 Martinez 등(2004)에서와 같이 CIDR가 아닌 P4와 E2의 적절한 조합과 E2와 GnRH를 적절히 조합하여 이용하는 방법으로 유사한 결과를 보임으로서 과배란의 처리기법은 축종, 연령, 호르몬의 선택과 투여량 등 여러 요인에 의해 크게 변화함을 알 수 있다. Ax 등(2005)은 미경산우를 이용하여서도 미수정란의 발생은 연령에는 많은 영향을 받지 않는으나, 10개월령 이하의 것이 14개월령 이상의 것보다는 많았다고 한 것과 같이 이식가능 수정란의 생산은 10개월령부터 횡수를 늘려가면서 이용하여도 가능함을 알 수 있다. 그러므로 적절한 과배란 처리 기법을 확립하여야 수정란 이식의 산업화를 조금 더 앞당길 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 한우를 공란우로 이용시 효율을 최대화하고, 과도한 호르몬의 투여를 억제하며, 그로 인하여 공란우의 경제수명을 연장하고자 과배란처리시 차기 발정을 고려하지 않고 과배란을 유도하였을 때 공란우의 반응과 수정란의 생산율을 조사하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 한우 경산우 및 미경산우를 자연발정을 확인하고 차기발정 5일전에 FSH를 1일 2회 4일간 투여한 것과 발정을 확인하지 않고 CIDR를 이용하여 동일한 호르몬을 방법으로 과배

란을 처리하였을 때, 반응율은 각각 82.2%, 89.7%였으며, 유의적인 차이는 인정되지 않았다.

2. 한우 경산우 및 미경산우를 자연발정을 확인하고 차기 발정 5일전에 FSH를 1일 2회 4일간 투여한 것과 발정을 확인하지 않고 CIDR를 이용하여 동일한 호르몬을 같은 방법으로 과배란을 처리하였을 때, 수정란의 회수율은 각각 7.7개, 10.5개를 회수하였고, 그 중 이식가능 수정란은 각각 3.4개, 3.8개를 나타냈으며, 두 처리 간에 유의적인 차이를 나타냈다 ($p < 0.05$).

이상의 결과로 한우 공란우는 경산우 및 미경산우를 발정주기를 확인하지 않고도 과배란처리시 반응을 확인할 수 있었으며, 수정란의 회수에 있어서도 적절하게 채취할 수 있으므로 한우를 공란우로서 과도한 호르몬으로부터 보호할 수 있으며, 그에 따라 경제수명을 연장할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 고능력 한우를 이용한 수정란 이식의 활성화에 유용한 방법이며, 농가에도 확산하여 소득향상에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JC and Ginther OJ. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular wave in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 94:177-188.
- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D, McCauley TC. 2005. Superovulation and embryo recovery from peri-

- pubertal Holstein heifer. *Anim. Reprod. Sci.*, 85: 71-80.
- Beal WE. 1996. Application of knowledge about corpus luteum function in control of estrus and ovulation in cattle. *Theriogenology*, 45:1399-1411.
- Greve T, Callesen H, Hyttel R and Assey R. 1995. The effects of exogenous gonadotropins. *Theriogenology*, 43:41-50.
- Guilbault LA, Grasso F, Lussier JC, Rouillier P and Maton P. 1991. Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of dominant follicle. *J. Reprod. Fertil.*, 9:81-89.
- Kang HG, Nakao T, Nakada K and Moriyoshi M. 1999. Effect of CIDR treatment at day 16 of estrous cycle on follicular growth in dairy heifer with two or three follicular wave. *J. Reprod. Dev.*, 45:57-63.
- Laffi M, Ponsart C, Nibart M, Durand M, Morel A, Jeanguyot N, Badinant F, De Mari K and Humblot P. 2002. Influence of CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology*, 58: 1141-1151.
- Macmilan KL and Peterson AJ. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anestrus. *Anim. Reprod. Sci.*, 33: 1-25.
- Martinez MF, Kastelic JP and Mapletoft RJ. 2004. The use of estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. *Theriogenology*, 62:363-372.
- Merton JS, de Roos APW, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PLAM, and Dielman SJ. 2003. Factors affecting oocytes quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, 59:553-597.
- Morrow DA, Swanson LV and Hafs HD. 1976. Estrous behavior and ovarian activity in prepubertal heifers. *Theriogenology*, 6:427-435.
- Nasser LF, Reis EL, Olivera MA, Bo GA and Baruselli PS. 2004. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* × *Bos taurus* recipient. *Theriogenology*, 62:1577-1584.
- Onuma H, Hahn J and Foote RH, 1970. Factors affecting superovulation, fertilization and recovery of superovulated ova in prepubertal cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 21:119-126.
- Peterson AJ and Henderson HV. 1990. Plasma progesterone concentrations in ovariectomized dairy cows treated with a CIDR-B breeding device. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 43:308.
- Revel F, Mermillod P, Peynot N, Renard JP and Heyman Y. 1995. Low developmental capacity of *in vitro* matured and fertilized oocytes competence for embryogenesis in prepubertal calves. *Biol. Reprod.*, 56:386-392.
- Sirois J and Fortune JE. 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology*, 127: 916-925.

(접수일: 2005. 10. 25 / 채택일: 2005. 12. 17)