

# 소 受精卵移植技術과 實用上の 問題點

金 熙 錫

農村振興廳 畜産試驗場

## Bovine Embryo Transfer and Its Problems in Practical Use

Hee Seok Kim

Livestock Experiment Station, Rural Development Administration

### Summary

Problems in the embryo transfer techniques and their practical application have been settle to some extent. However, with the organic cooperation between universities and the related institutes for more active works on the training of embryo transfer technicians, quarantine procedures of embryos when they are imported and exported and the future researches related to the embryo transfer, the embryo transfer techniques in Korea will be more practically, applied to animal industries. Universalization of embryo transfer techniques to the extent of artificial insemination will greatly contribute to the improvement of farm animals and multiplication of superior stocks and will save money by the import of relatively cheap embryos instead of expensive live animals.

### I. 緒 論

家畜의 改良效果를 더욱 增大시키기 위하여 最近 各國의 畜産研究機關에서 많은 研究가 이루어지고 있는 受精卵移植技術은 Heape(1890)가 家兎에서 受精卵移植에 成功한 이래 willet等(1951)이 供卵牛(donor cow)를 屠殺하여 回收한 受精卵을 外科의 方法으로 受卵牛(recipient cow)에 移植하여 分娩시킴으로서 玆한층 이 分野의 研究에 拍車를 가하고 있는 實情이다.

지금까지는 소의 能力을 改良하거나 어떤 品種을 만들어 내는데 주로 人工授精方法을 使用하여 왔으나 人工授精方法에 의한 自然繁殖方法으로는 後代의 遺傳的인 能力은 優良한 家畜의 能力에만 主로 의 존해야 한다. 더구나 암소가 妊娠했을 경우에는 最少한 1年정도는 걸려야 한마리의 송아지를 낳을 수 있어 아무리 優良한 암소라 해도 一生을 통하여 10頭 內외의 송아지 밖에는 生産할 수밖에 없다(Fig. 1). 그러나 受精卵移植技術에 의하면 優良한 암소의 子孫을 많이 얻을 수 있고 能力이 다소 낮은 암소로부터 송아지를 생산할 수 있으며 외국으로부터 生축을 도입하는 대신 受精卵을 導入하거나 少數의 優良암소를 導入하여 自體的으로 受精卵을 생산해

냄으로서 많은 外貨와 努力을 節減할 수 있으며 一時에 同一個體의 子孫을 多數 確保할 수 있어 短時日內에 家畜頭數를 增殖시킬 수 있고 또한 부모의 能力檢定을 할 수 있다. 그리고 새로운 遺傳因子の 導入으로 획기적인 새로운 個體의 創出이나 受精卵의 凍結保存으로 稀貴한 品種 또는 特殊個體의 長期保存이 可能하다.

이처럼 受精卵移植方法은 人工授精技法에 比하여 家畜의 改良이나 增殖等에 크게 功獻하겠지만 여기에는 많은 費用과 特殊한 技術이 必要하며 또한 需要가 뒤따라야 한다는 問題점이 남아 있다 하겠다.

여기서는 最近 國內外에서 이루어지고 있는 受精卵移植技術의 研究現況과 技術의 概要 및 實用上の 問題點과 今後의 研究課題等에 關하여 생각해 보고자 한다.

### II. 受精卵移植의 研究現況 및 技術概要

#### 1. 受精卵移植 研究現況

哺乳動物에서 最初로 受精卵移植技術이 成功한 것은 1890年 Heape에 의해서였다. 그후 1934年과 1951年에 緬羊 및 돼지에서 Warwick等 및 Kvensniku

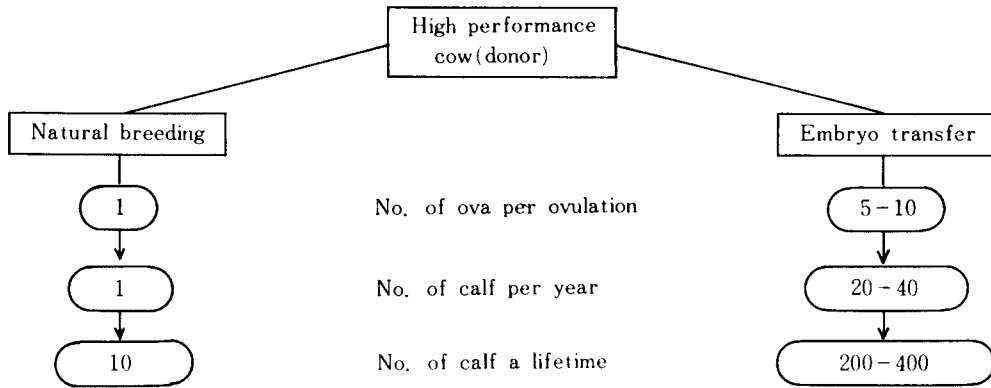


Fig. 1. No. of calf produced by natural breeding and embryo transfer

에 의하여 각각 成功하였으며 1964년에는 Mutter等에 의하여 非外科的으로 수정란을 이식하여 송아지를 생산하였다. 1970年代에 들어서서는 最初로 Canada의 Alberta州에 受精卵移植會社가 設立되고 Wilmut & Rowson(1973)에 의하여 소의 凍結卵移植으로 송아지를 탄생시킴에 따라 受精卵移植의 産業化의 첫단계를 내딛기 시작했으며 Hare等(1978)은 受精卵의 性鑑別로 송아지를 生産하기에 이르렀다.

1980年代에 와서는 受精卵의 顯微鏡的 微細 分離에 의한 雙仔生産이 Willadson等(1981)에 의하여 이루어졌으며 Brackett等(1982)에 의하여 소에 있어서 體外受精의 成功으로 송아지를 처음으로 生産하였다. 더우기 Fehilly等(1984)은 緬羊과 山羊의 受精卵을 細胞融合의 技法으로 Chimera를 生産하기에 이르렀다(Table 1).

受精卵移植의 産業化는 先進國들에 의하여 主導되고 있는데 Seidel(1981)에 의하면 1980年度에 區

美地域에서만도 약 25,000頭의 소가 受精卵 移植에 의하여 受胎되었고 1986年度에는 150,000頭 그리고 1990年度에는 250,000餘頭의 소가 受精卵移植에 의하여 受胎될 것으로 推定하고 있는 실정이다(Table 2).

## 2. 受精卵移植技術의 概要

受精卵移植技術의 過程(Fig. 2)을 간단히 說明하면 受精卵을 生産한 優良암소(donor cow)에 性腺刺戟 호르몬(GTH: gonadotropic hormone)을 주사하여 일시에 여러개의 卵子를 만들어 내도록 多排卵을 誘起시킨 다음 發精時에 優良한 牛소精液으로 受精시킨후 受精된 卵子가 일시에 子宮에 下降했을 때 人爲的으로 子宮을 灌流하여 受精卵을 回收하고 顯微鏡으로 그 受精卵의 使用可能如否를 檢査한다.

이때 즉시 移植하고자 할 때는 能力은 다소 떨어지나 發精週期가 同期化된 繁殖可能한 普通의 암소

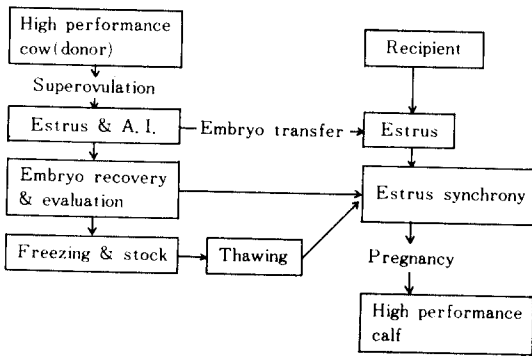
Table 1. Summary of histological developments of embryo transfer and related techniques

Year	Event	Researcher
1890	First successful embryo transfer in rabbit	Heap
1934	First successful embryo transfer in sheep	Warwick et al.
1951	First successful embryo transfer in pig	Kvansnickii et al.
1964	Successful nonsurgical embryo transfer in cattle	Mutter et al.
1971	First commercial company formed for embryo transfer in farm animals	Alberta Livestock Transplants Ltd.
1973	Offspring produced from frozen bovine embryo	Wilmut & Rowson
1981	Offspring produced from spilted bovine embryo	Willadsen et al.
1982	Offspring produced from in vitro fertilized bovine embryo	Brackett et al.
1984	Success of sheep-goat chimera	Fehilly et al.

**Table 2. Estimated and predicted pregnancies from bovine embryo transfer (North America)**

Year	Number
1978	10,000
1980	25,000
1982	50,000
1984	100,000
1986	150,000
1988	200,000
1990	250,000

(Seidle, Jr. and Seidle, 1981)



**Fig. 2. Shematic diagram of embryo transfer**

에 受精卵을 人工授精하는 要領으로 子宮頸管을 통해 子宮角先端에 移植하거나 또는 受精卵을 顯微鏡 檢査후  $-196^{\circ}\text{C}$ 로 凍結保存하고자 할 때는 Glycerol 이나 DMSO(dimethyl sulphoxide)와 같은 抗凍害劑가 들어 있는 保存液에 受精卵을 넣은후  $-35^{\circ}\text{C}$ 까지 점차 온도를 下降시키고 난 다음  $-196^{\circ}\text{C}$ 의 액체 질소내에 보존하게 된다. 凍結保存했던 受精卵을 移植하고자 할 때는  $-196^{\circ}\text{C}$ 에 保存되고 있는 受精卵이 들어 있는 straw를 꺼내어  $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ 의 물에 融解한 후 保存液내에 含有되고 있는 凍害防止劑를 除去하고 受精卵의 損傷如否를 顯微鏡으로 判定한 다음 앞에서 언급한 바와 같은 方法으로 子宮角先端에 移植하게 된다.

### Ⅲ. 實用上の 問題點

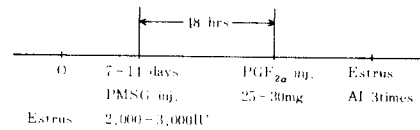
#### 1. 多排卵誘起 및 採卵率의 不均一

受精卵移植技術을 實用化함에 있어서 무엇보다 먼

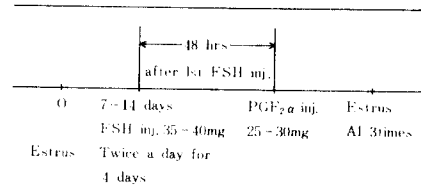
저 解決해야 할 것은 優良한 品種의 供卵牛로부터 良質의 受精卵을 如何히 多數 回數하느냐는 것이다.

多排卵處理時 受精卵回收에 影響을 주는 要因中에서 主要한 것은 性腺刺戟 호르몬제의 種類와 投與量, 供卵牛의 品種, 産次 및 年令, 多排卵誘起의 反復處理效果, 健康狀態 그리고 採卵當時의 內分泌狀態等を 들 수 있는데 이와 같은 要因에 따라 同一한 方法으로 호르몬을 投與해도 卵巢의 反應이나 回收率이 다를 수가 있는 것이다.

多排卵處理方法으로는 發情週期 7~14일경에 PMSG(Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin) 나 FSH(Follicle Stimulating Hormone)와 같은 性腺刺戟 호르몬제를 투여하고  $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Prostaglandin $F_{2\alpha}$ )의 투여로 發情을 誘導하는데 PMSG의 경우는 2,500 IU 内外를 1回投與하고 FSH의 경우는 35mg 内外를 投與한다(Fig. 3, Fig. 4).



**Fig. 3. Induction of superovulation by PMSG and  $\text{PGF}_2$**



**Fig. 4. Induction of superovulation by FSH and  $\text{PGF}_2$**

PMSG의 投與時는 Table 3에서 보는 바와 같이 採卵數가 5.5~5.8個로서 FSH의 경우 6.6~8.8個보다 다소 낮은 경향을 나타내고 있다. 그러나 이들 호르몬은 使用상에 있어서 각각 長短點을 갖고 있는 것으로 지적되고 있다. PMSG의 경우는 1回投與하며 價格이 저렴한나 投與時 卵巢에 存在하던 卵胞의 排卵이나 黃體化가 이루어져 결국 多排卵이 抑制되기도 하며 半減期(half-life)가 길어 反復投與할 경우에 多排卵誘起의 效果가 다소 떨어지는 수가 있다(Monnaix 等, 1983).

FSH의 경우는 PMSG와는 달리 半減期가 매우 짧기 때문에 여러번에 나누어 反復投與해야 하는

**Tale 3. Superovulated response, egg yield and quility in PMSG or FSH treated cow.**

Gonadotrophine	No. of cows	No. of CL	No. of embryo recovered	Reference
PMSG	22	10.4±8.5	5.8±5.2	Greve et al., 1983.
F S H	16	9.3±5.7	6.6±5.2	
PMSG	22	8.7±1.4	5.5±1.4	Kim, Chung., 1985.
F S H	8	10.8±3.12	8.8±3.2	

번거로움이 있고 價格이 비싸지만 多排卵의 效果가 PMSG에 비해 다소 높은 것으로 나타나고 있다. FSH의 投與方法도 1日 1회, 2회, 3회 또는 2일에 1회 投與하는 경우가 있는데 그중에서도 1日 2回投與하는 方法이 가장 좋다고 하며(Chupin and Procureur, 1982), 投與量에 있어서도 每日 同 量을 投與함 보다는 점차 減量投與함이 좋았다고(Donaldson, 1984) 하였으며 이러한 性腺刺戟 호르몬의 投與후 發情誘導를 위하여 一定한 間隔을 두고 PG F<sub>2α</sub>를 投與함에 있어서도 PMSG의 投與時는 2日(48時間)후에, FSH의 投與時는 3日후에 投與하는 것이 排卵數와 移植可能卵數가 많았다고(Elsden et al., 1978)하고 있으나 아직도 미해결된 점이 많다.

PMSG의 投與水準에 따른 採卵의 效果를 보면

Table 4에서 Greve等(1979)이 報告에 의하면 2,000 IU에서 3,000대로 投與水準이 높아짐에 따라 採卵數가 5.9~6.9個로 약간 增加하는 경향을 보이지만 Kim & Chung(1985)에 의하면 호르몬水準이 增加하나 採卵數가 많아지는 경향은 보이지 않고 있다. 또한 호르몬水準이 增加하면 增加할수록 採卵數와는 反對로 移植可能한 卵子の 數는 적어지는 경향을 나타내고 있다.

FSH의 投與水準에 따른 採卵의 效果는 Table 5에서 보는 바와 같이 投與水準에 따라 차이가 심하다. 採卵數는 28mg 投與時가 14.9個로서 가장 많았지만 移植可能한 受精卵의 比率은 24mg의 경우가 57%로서 가장 높았음을 알 수 있다. 또한 50mg 이상의 경우는 採卵數와 移植可能卵의 數가 다소 적

**Table 4. Effect of dose level of PMS treatment on superovulated cow.**

Dose level (IU)	No. of cows	No. of embryo recovered	% viable embryo	Reference
2,000	25	5.9±1.2	52.5	Greve et al., 1979.
2,500	44	5.8±0.8	58.5	
3,000	20	6.9±1.2	42.6	
2,500	19	5.3±1.2		Kim & Chung., 1985.
3,000	3	5.0±2.7		

**Table 5. Effect of dose level of FSH-P treatment on embryo production.**

Dose(mg)	No. of collection	Embryo		
		Total	Transferable	Transferable, %
24	15	12.5±11.4	5.3±5.9	57±37
28	364	14.9±11.8	5.9±6.2	45±35
38	167	11.1± 9.2	5.5±6.4	52±34
40	342	12.5±10.7	5.1±6.2	43±42
50-52	90	7.4± 6.8	3.8±5.0	47±36
60	87	6.8± 8.4	2.7±4.2	40±38

(Donaldson, 1984)

**Table 6. Effects of breeds on the ova recovery in superovulated cows**

Breed	No. of cows	No. of CL	No. of ova recovered	Recovery rate(%)
KNC	3	6.0±2.25	2.3±0.88	38.3
Holstein	17	9.6±1.30	6.0±1.30	62.5
Crossbred	15	8.9±1.75	6.4±1.85	71.9

(Kim & Chung, 1985)

어짐을 알 수 있었다.

供卵牛의品種에 따른採卵率의效果를 보면(Table 6) 調査頭數가 적기는 하지만 KNC(韓牛)의 경우 PMSG 또는 FSH를 投與했을 때 排卵數 및 採卵數가 각각 6.0±2.25 및 2.3±0.88個로서 Holstein이나 그의交雜種들에 比하여 월등히 낮았는데 oliva等(1984)이나 Greve(1982)도 品種間에 有意差가 있었다고 한바 있다.

그러나 이러한 品種의 差異가 어디에 基因하는지는 分明치 않다.

供卵牛의 産次와 年令에 따라서는 多排卵誘起時 採卵數에 差異가 있다.

Table 7 과 8에서 보는 바와 같이 採卵數는 産次의 增加에 반해 낮아지는 편이었으며 採卵率은 1産次가 81.1%로 다소 높은 편이었다. 年令別로는 4~5세가 採卵數가 11.5個로 가장 많았는데 年令이

나 産次가 多排卵處理時 採卵率에 미치는 影響에 관해서는 研究者에 따라 다소 見解가 다르다. McGaugh等(1974)은 多排卵處理牛에 있어서 受精卵의 採卵率은 年令과는 無關하다고 하였는가 하면 Greve (1982)는 PMSG로 多排卵을 誘起한 個體에 있어서 採卵數는 供卵牛의 年令이 8세 이상일 때는 3.7個로서 8세 이하의 6.1~7.2個에 比하여 현저히 감소하였다고 報告한 바 있다.

따라서 多排卵處理에 使用할 供卵牛는 加齡적 産次나 年令이 적은 것을 選擇함이 바람직하겠다.

多排卵誘起를 위하여 性腺刺戟 호르몬을 反復使用하였을 때의 卵巢反應을 보면(Table 9) Hasler 等(1983)에 의하면 4回反復까지, Chung 等(1983)에 의하면 2回反復使用時까지 採卵數나 正常受精卵의 數가 많으나 그이상 反復使用할 경우는 다소 성적 이 저조한 傾向을 보이는데 이렇게 採卵을 反復함

**Table 7. Effect of parity on the ova recovery in superovulated cow**

Parity	No. of cows	No. of CL	No. of ova recovered	Recovery rate(%)
Heifer	13	10.6±1.77	6.7±1.89	63.2
1	7	9.0±2.85	7.3±2.69	81.1
2	7	8.4±2.12	5.0±2.25	59.5
3	4	6.5±1.66	4.0±2.12	61.5
>4	4	7.3±2.18	4.0±1.78	54.7

(Kim & Chung, 1985)

**Table 8. Effects of age of donor cows on embryo production**

Age(years)	≤2.5	3-4	4-5	5-6	6-7	7-9	>9
No. of donors	8	24	11	11	7	8	6
No. of embryos recovered	4.6±1.4	4.6±0.7	11.5±2.4	6.5±1.5	4.4±1.4	2.3±0.7	4.7±1.2
No. of viable embryos	1.4±0.5	2.6±0.6	5.7±1.7	3.5±1.4	2.7±1.0	2.0±0.5	2.8±1.3
% viable embryo	30.4	56.5	49.6	53.8	61.4	87.0	59.6

(Greve et al., 1979)

**Table 9. Effects of repeated superovulatory treatment on ovarian response**

Sequence of superovulation	No. of cows	No. of ova recovered	No. of normal embryo	Reference
1	35	10.6±9.2	7.8±8.0	Hasler et al., 1983.
2	35	10.8±7.5	7.5±6.6	
3	35	10.8±8.4	8.3±7.5	
4	35	12.7±8.9	7.3±7.1	
5	35	9.4±8.7	6.1±7.7	
6	30	7.8±7.0	3.6±4.4	
<hr/>				
1		12.5±3.42	8.7±2.12	Chung et al., 1983.
2		12.2±4.12	9.0±2.48	
3		8.8±3.10	6.1±1.93	
4		9.1±2.90	6.4±1.69	
5		7.4±2.34	5.3±2.10	

에 따라 採卵成績이 떨어지는 原因이 무엇인지를 明確히 밝히지는 못하고 있는 실정이다.

이처럼 供卵牛로서 反復採卵을 하고자 할 경우에는 投與하는 호르몬제에 대한 感受性 또는 耐性인지 아니면 기타 다른 要因에 의한 것인지를 구명하여 各급적 長期間에 걸쳐 多排卵을 反復處理할 수 있는 方法이 模索되어야겠다.

供卵牛의 繁殖狀態도 多排卵誘起時에 採卵 및 受胎率에 많은 影響을 미치게 된다. 2회이내의 採精으로 受胎가 되는 供卵牛(healthy)는 採卵數 및 受胎率에 있어서 各各 10.3個 및 68%로서 3회이상의 授精으로 受胎되는 受胎不良牛(infertile)에 비하여 월등히 良好한 成績을 나타내고 있는 것을 알 수 있다(Table 10). 따라서 供卵牛는 可及的이면 正常發

情週期를 나타내며 受胎가 잘되는 健康하고 正常的인 繁殖能力이 있는 소라야 하겠다.

血中の progesterone 水準과 採卵數와의 關係도 Table 11에서 Greve等(1983)이 報告한 바와 같이 매우 중요한 것으로서 Progesterone의 正常的인 變化曲線을 나타내는 소(normal)와 이와는 反대로 非正常變化를 나타내는 소(deviating)에 있어서 排卵數와 採卵數 및 受精率을 보면 normal인 소는 各各 11.9個, 8.4個 및 88%인데 反하여 deviating인 소는 各各 6.7個, 2.8個 및 43%로서 normal인 소에 비하여 현저히 떨어짐을 볼 때 採卵畜은 반드시 内分泌狀態까지도 엄밀히 檢査하여 되도록이면 努力과 時間 및 費用을 最少限으로 하고 採卵數를 많게 하여야 하겠다. 아울러 호르몬 水準을 적은 費用으로

**Table 10. Effect of reproductive health on superovulated response**

Item	Reproductive status		Combine
	Healthy	Infertile	
No. of cows	666	318	984
Mean ova/donor	10.3	6.1	8.9
Mean fertilized ova/donor	6.7	2.6	5.4
Mean embryo/donor	6.4	2.4	5.1
Ova fertilized %	66	4	61
Donor with no ova %	4	2	10
Donor with no embryo %	14	5	26
No. of embryos transferred	3,707	604	4,311
Pregnant recipient %	68	58	67

Hasler et al., 1983

**Table 11. The relationship between plasma progesterone profiles and embryo production in PMSG-FSH stimulated donors**

	Type of profiles		Total
	Normal	Deviating	
No. of cows	23	15	38
No. of CL	11.9±5.2	6.7±8.9	10.0±9.2
No. of eggs recovered	8.4±4.8	2.8±3.5	6.1±5.2
No. of viable embryo (%)	6.1±3.9(73)	0.5±1.0(17)	3.8±4.2(62)
Fertilization rate (%)	88	43	83

(Greve et al., 1983)

簡單하고 正確히 判定할 수 있는 技術開發에 대한 문제가 남아 있다고 할 수 있다.

## 2. 受精卵移植技術과 受胎率

아무리 優良한 供卵牛로부터 多數의 受精卵을 回收하여 많은 頭數의 受卵牛(recipient)에 移植하였다 하더라도 移植한 全頭數가 受胎되는 것은 아니다.

이는 受精卵의 發育段階와 質, 移植畜의 産次, 內分泌狀態, 移植部位 및 移植까지의 保存時間이나 移植技術上的 問題等 受胎率을 좌우하는 主要 要因이 많기 때문이다.

移植될 受精卵의 發育段階는 受胎率에 差異가 있다. Table 12에서 보는 바와 같이 受精卵은 어느정도 發育이 進行된 初期胚盤胞胚(early blastocyst)나 後期胚盤胞胚(late or expanded blastocyst)가 桑實

**Table 12. Effect of developmental stage of embryo transferred on pregnancy rate**

Cell stage	No. of recipients	No. of pregnant(%)	Reference
Morula	97	23(23.1)	Halley et., al. (1979)
Blastocyst	354	96(27.1)	
Expanded blastocyst	135	51(37.8)	
Early morula	586	359(61)	Schneider et al. (1980)
Late morula	1176	792(67)	
Early blastocyst	600	402(67)	
Late blastocyst	139	99(71)	
Late morula	133	70(53)	Shea (1981)
Early blastocyst	307	172(56)	
Expanded blastocyst	188	109(58)	
Hatched blastocyst	45	29(64)	
16-cell	5	2(40)	Linder and Wright, Jr. (1983)
Morula	26	10(38)	
Compact morula	186	65(35)	
Early blastocyst	165	63(38)	
Blastocyst	141	54(38)	
Expanded blastocyst	199	90(45)	
Hatched blastocyst	61	24(39)	

**Table 13. Effect of embryo quality on pregnancy rate**

Embryo quality	No. of embryos	No. of pregnant (%)	Reference
Good	1,809	1,272 (70)	Schneider et al., 1980.
Fair, Poor	694	380 (55)	
-----	-----	-----	-----
Excellent	292	130 (45)	Linder & Wright, Jr., 1983.
Good	292	128 (44)	
Fair	149	40 (27)	
Poor	50	10 (20)	
-----	-----	-----	-----
Excellent	16	11 (69)	Oh et al., 1986.
Good	39	14 (36)	
Fair	5	2 (40)	

배나 그 이전 段階의 受精卵에 비하여 受胎率이 다소 높다.

受精卵의 質역시 受胎率에 미치는 영향이 큰 것으로서 Schneider等(1980), Linder & Wright(1983), Oh等(1986)에 의하면 Table 13에서 보는 바와 같이 受精卵의 狀態가 Excellent(우수)하거나 Good(양호)인 경우가 Fair(보통)이나 Poor(불량)한 것에 비하여 受胎率이 높았음을 볼 때 移植時에 受精卵의 發育狀態와 質을 正確히 判定하여 조금이라도 不適合하다고 여겨지는 受精卵은 移植에 使用하지 말아야 했다.

受精卵의 質을 判定하는데는 일반적으로 實體顯微鏡을 利用하여 受精卵의 狀態를 判定하고 있으나 이 方法으로는 受精卵의 生死 如否를 嚴密히 判定할 수는 없다. 따라서 受精卵의 生死를 뚜렷이 구별하기 위해서는 特殊한 染色法을 利用하여 受精卵의 狀態를 間接적으로 파악하고 있는데 Table 14에서 보는 바와 같이 살아있는 細胞에만 存在하는 特

殊酵素를 活用한 螢光染色法을 利用하여 受精卵의 生死를 鑑別한 結果를 보면 實體顯微鏡으로 正常受精卵이라고 判定된 것 35個中에서 螢光染色法으로 살아있는 受精卵이라고 判定된 것은 29個로서 83% 였는데 여기서 17%는 살아있지 않은 受精卵인데 實體顯微鏡으로는 살아있는 受精卵으로 잘못 判定이 된 것이다(Hoppe & Bavister, 1984).

그리고 螢光染色된 살아있는 受精卵이라고 判定된 것 19個중에서도 培養의 結果 有絲分裂를 계속하는 것은 17個분(90%)으로 그중 10%는 發育이 안 되는 것이 포함되어 있었다는 것이다(Schilling 等, 1979). 따라서 實體顯微鏡으로 直接檢査한 후 有絲分裂까지 確認한다면 결국 27%의 誤差가 생길 수 있다는 결론이다. 이런 결과로 미루어 보아 상기 두 시험의 성격상 동일시 하여 推論하기는 어렵지만 受精卵의 生死如否를 正確히 判定하기란 그리 쉬운 일 이 아니다. 따라서 受精卵의 性狀에 나쁜 影響이 없고 客觀적으로 신속하며 간헐하게 判定할 수 있는

**Table 14. F.D.A. test for the viability of cow and hamster embryos**

Item	Status of embryos		Reference
	Fresh	Cultured (undeveloped) <sup>a</sup>	
No. of hamster embryos tested	35	32	Hoppe & Bavister., 1984.
No. of fluorescent embryos(%)	29(83) <sup>b</sup>	18(56) <sup>c</sup>	
-----	-----	-----	-----
No. of FDA-positive cow embryos	19		Schilling et al., 1979.
No. of embryos with mitoses (%)	17(90)		

a; 8-cell-embryos cultured 24th, but failed to develop.

b, c; Significantly different at P<0.05.



**Table 15. Effect of recipient parity on pregnancy rate**

Parity	No. of recipients	No. of pregnant (%)	Reference
Cow	2,200	1,298 (59)	Wright, 1981.
Heifer	245	143 (58)	
Cow	16	6 (37.5)	Seok et al., 1984.
Heifer	14	5 (35.7)	
Cow	28	12 (42.9)	Oh et al., 1986.
Heifer	32	15 (46.9)	

技術의 開發이 要求된다.

受胎率에 미치는 産次的 効果가 Table 15에 나타나 있다. Wright(1981)나 Seok等(1984)에 의하면 經産牛가 未經産牛보다 受胎率이 약간 더 높으나 Oh等(1986)에 의하면 經産牛가 受胎率이 더 낮았는데 이는 經産牛중에 1~2産외에 産次가 많은 經産牛가 많이 포함되었기 때문이었다. 따라서 受卵牛로 使用할 소는 未經産牛 또는 經産牛중에서도 年수이나 産次가 적은 소를 選擇함이 좋으리라 思料된다.

家畜의 内分泌狀態가 受胎率에 미치는 影響이 있음은 周知의 事實이다.

Nieman等(1985)에 의하면(Table 16) 受精卵를 移植할 날자 즉 發情후 7일 되는 날에 受卵牛의 血中 Progesterone의 水準과 受胎率과의 關係를 조사한 結果를 보면 Progesterone 水準이 1.99ng/ml 이하 및 5.00ng/ml 이상의 소는 受胎率이 각각 35.3% 및 28.6%로서 매우 낮았는데 반하여 2.00~4.99ng/ml 범위의 소는 51.1%로 매우 높은 結果를 보이고 있다. 이러한 結果는 受精卵를 移植받을 受卵牛가 正常發情週期中의 것이라면 發情후 7일째에는 發情黃體가 正常的으로 發育存在하여 Progesterone 水準이 어느정도 維持된다는 것이다.

그렇지만 發情黃體가 매우 작거나 없을 경우는 P-

rogesterone 水準이 正常이하일 것이며 또한 黃體 囊腫과 같은 경우는 그 水準이 지나치게 높을 수가 있는 것이기 때문에 移植當日 또는 그 전날에 血中の progesterone 水準을 檢査함이 좋을 것이다. 그러나 아직은 progesterone을 農家現場에서 簡單히 測定할 수 있는 方法이 確立되어 있지 않기 때문에 直腸檢査에 의한 黃體의 存在好否 判斷에 依存하고 있는데 今後 이들 兩者의 併用으로 좀 더 仔細한 内分泌狀態를 파악하여 受胎率을 올려야 한다.

受精卵移植時 子宮内の 移植部位가 受胎率에 差異가 있다. Table 17에 의하면 研究者에 따라 다소 차이가 있지만 대부분 子宮角先端에 移植하는 경우가 子宮角分岐點부근의 基部에 移植하는 경우 보다 受胎率이 높았다. 그러나 Sreenan(1976)은 子宮角基部나 子宮角先端에 移植하여 거의 비슷한 結果를 얻었음을 報告하고 있는데 受精卵의 着床에 미치는 子宮内の 環境條件에 관한 연구가 좀 더 이루어져야 하겠다.

體外로 回收된 受精卵는 本未있던 子宮内の 條件에 비하여 不適合한 外部 環境의 影響으로 오래 保存이 어렵다.

一般的으로 新鮮受精卵의 경우에 採卵後 10여 시간 이내에 移植을 마치는 것이 좋다고 하고 있으나

**Table 16. Pregnancy rate relative to recipient plasma progesterone levels on the day(7) of transfer of frozen-thawed bovine embryo**

Plasma progesterone levels (ng/ml)	No. of recipients	No. of pregnant	Pregnancy rate(%)
<1.99	17	6	35.3
2.00-4.99	47	24	51.1
>5.00	7	2	28.6
Total	71	32	45.1

(Nieman et al., 1985)

**Table 17. Pregnancy rate to either the tip or the base of uterine horn**

Researcher	Pregnancy rate(%)	
	Base of uterine horn	Tip of uterine horn
Boland et al. (1976)	21	57
Sreenan (1976)	60	65
Newcomb et al. (1980)	45	69
Rowe et al. (1980)	45	60
Christie et al. (1980)	45	73

Tervit等(1977)에 의하면 採卵後 2 시간 이내에 移植할 때 50%로서 2~5 시간 이상 보존후 移植할 때 보다 훨씬 受胎率이 높다고 하였다. Pettit(1985)이 凍結受精卵製造까지에 所要된 時間別로 受胎率을

調査한 結果에 의하면 이것 역시 3 시간 이내에 凍結시키는 것이 66%로 受胎率이 가장 높았으며 그 후 시간이 경과함에 따라 점차 受胎率은 떨어짐을 알 수 있다(Table 18).

**Table 18. Effect of egg storage time on pregnancy rate**

Egg storage time(h)	No. of recipients	No. of pregnant (%)	Reference
0.5-1	16	8 (50)	Tervit et al,1977.
A 1-2	28	14 (50)	
2-3	6	2 (33)	
3-5.5	6	2 (33)	
1.5-3.0	119	79 (66)	Pettit., 1985.
B 3.1-4.0	166	93 (56)	
4.1-5.0	114	57 (50)	
5.1-7.0	102	46 (45)	

A : Time between embryo collection and transfer.

B : Time between embryo collection and freezing.

여기서 앞에 言及한 Tervit等(1977)의 研究 結果는 新鮮受精卵에 대하여, 그리고 Pettit(1985)의 研究結果는 凍結受精卵에 대한 受胎率이지만 後者인 凍結受精卵移植成績이 더 良好한 것은 그만큼 研究가 나중에서 이루어져 技術上의 進前에 基因한 것이 라 여겨진다. 여하간 受精卵을 採取했을 때는 可及的 短時間內에 모든 처리과정을 마치고 移植을 하거나 凍結保存을 시킴이 그만큼 受胎率을 높이는 길 이 되겠다.

## 2. 新鮮受精卵 利用時 發情同期化

受精卵을 生産해낸 供卵牛와 受精卵을 移植받은 受卵牛의 子宮内部의 狀態는 可及的 同一함이 좋다. 子宮의 狀態가 同一하기 위해서는 人爲的으로 손쉽게 할 수 있는 것이 發情週期の 同期化이다. Wright (1981)에 의하면 發情同期化程度에 있어서 受卵牛

에 비하여 發情이 12時間 일찍 나타났거나(-12) 또는 12시간 늦게 나타나는 경우(+12)에 受胎率이 높다고 하였으며 Chung等(1983)은 受卵牛와 供卵牛의 發情同期化가 完全一致 하는 것이 受胎率이 가장 높다고 한바 있다.

그러나 Kim & Chung(1985)의 보고에 의하면 發情同期化 程度가 完全一致하거나 受卵牛가 12시간 늦게 發情을 나타낸 것이 다소 受胎率이 높다고 하였는데(Table 19) 이러한 문제도 앞서 言及한바 있거니와 受精卵의 初期着床에 관한 여러가지 研究가 이루어져야 하겠다.

受卵牛의 條件은 受胎率에 많은 影響을 미친다. 自然發情이온 소와 人爲的으로 發情을 誘導한 受卵牛에 대하여 受精卵을 移植하여 受胎率을 調査한 結果를 보면(Table 20) Church & Shea(1976)는 自然發情畜이 受胎率 62%로서 誘起發情畜에 비하여 매

**Table 19. Effect of donor-recipient synchrony on pregnancy rate**

Synchrony(hrs)	No. of recipients	No. of pregnanct(%)	Reference
-24	98	60 (61)	Wright, 1981.
-12	374	256 (68)	
0	747	443 (59)	
+12	620	380 (61)	
+24	301	176 (58)	
-12	12	3 (25.0)	Chung et al., 1983.
+ 0	15	5 (33.3)	
+12	8	2 (25.0)	
-12	16	6 (37.5)	Kim & Chung., 1985.
0	66	30 (45.5)	
+12	13	10 (76.9)	

\*If the recipients were exhibited the esturs before the donor, it referred to “-”, and if after the donor, it referred to “+”.

**Table 20. Effect of natural and induced heat on pregnancy rate.**

Researcher	Natural	Induced by PGF <sub>2α</sub>
Sreenan (1975)	50 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>
Kanagawa (1975)	41	46
Church & Shea (1976)	62	44 <sup>b</sup> 46 <sup>c</sup>
Wright (1981)	58	59

a; Survival rate of two embryo transferred to recipient.

b; Induced heat by single shot of PGF<sub>2α</sub>.

c; Induced heat by twice shots of PGF<sub>2α</sub>.

우 높은 受胎率을 보였다고 하였으며 Sreenan(1975), 金川弘司(1975) 및 Wright(1981)는 自然發情畜보다는 發情誘起畜이 다소 受胎率이 높다고 報告하고 있는 실정으로 研究者에 따라 다른 見解를 보이고 있는데 요는 어떤 發情畜을 利用하든지 發情觀察을 正確히 하고 直場檢査에 의한 黃體의 存在有無와 겸하여 血中 progesterone 水準의 測定으로 適合한 受卵牛를 選定함이 매우 重要한 일이라 하겠다.

#### 4. 凍結受精卵의 受胎率 低調

受精卵을 單純處理로 外界溫度에서 오래 保存할 수 있다면 必要時에 受卵牛에 수시로 移植시킬 수가 있어 發情週期の 同期化라는 번거로운 過程이 필요없게 되므로 經濟적으로 유리할 것이다. 그러나 採取된 受精卵은 窒溫이나 低溫(4℃)에서 오래 保存하면 受胎率이 떨어져 現在로서는 凍結保存을 하지 않는한 數時間 이내에 移植을 해야만 하는 실정에 있다.

따라서 受精卵 移植技術이 實用化되기 위해선 우선 受精卵의 凍結保存技術이 先行되어야 한다. Table 21에서 보는 바와 같이 아직도 新鮮受精卵에 비하여 凍結受精卵 또는 培養한 受精卵移植에 의한 受胎率은 낮은 실정으로 앞으로 新鮮 및 凍結受精卵의 受胎率을 높여 現在 소에 있어서 冷凍精液으로 授精을 實施하는 것처럼 簡便하고 受胎率도 높아야 普遍化되어 實用化가 앞당겨 지리라 여겨진다.

#### 5. 供卵牛 및 受卵牛의 選擇과 確保

近來 우리나라에서도 試驗研究의 일환 또는 高能力優良種畜 生産을 目的으로 外國으로부터 國立種畜院과 畜産試驗場 그리고 一部 企業牧場에서 젓소 및 肉牛의 凍結受精卵을 다소나마 導入移植 하여 송아지를 生産한바 있다.

이미 國內에 들어와 있는 기존 젓소와 肉牛들은 能力이 優良한 것도 一部 있겠으나 대부분은 젓소의 경우 年間 泌乳量이 4,000~5,000kg 정도이다. 장차

Table 21. Pregnancy rate after the transfer of fresh or frozen embryo.

Embryo	No. of recipients	No. of pregnancy(%) t	Reference
Fresh	83	46 (55.4)	Heyman, (1985.
Frozen	64	30 (46.8)	
Culture*	45	15 (33.3)	
Fresh	25	14 (56.0)	Oh et al.,1986.
Frozen	70	32 (45.7)	

\*Culture for 24~28 hours.

國內에서 受精卵移植技術이 技術的, 制度的인 면에서 安定을 이루고 實用化 되려면 高能力牛 受精卵의 生産普及이 가장 중요한 문제일 것이다.

一時에 高能力牛를 다수 확보하기는 어렵기 때문에 受精卵을 生産할 供卵牛(donor)의 다수확보나 이를 위한 原種 송아지의 生産 및 受卵牛의 確保에 政府의 支援 및 뜻있는 養畜家들이나 大企業들의 積極的인 參與가 있어야겠다. 供卵牛나 受卵牛의 選擇條件중 주요한 것을 要約해 보면 다음과 같다.

가. 供卵牛의 選擇條件

- (1) 遺傳的 形質이 優良한 血統을 가진 것
- (2) 正常發情週期를 가진 繁殖能力이 良好한 것
- (3) 後産停滯, 難産 및 傳染性 疾患이 없을 것
- (4) 2回 以內의 人工授精으로 受胎되는 것
- (5) 老습이 아닌 것

나. 受卵牛의 選擇條件

- (1) 正常發情週期를 反復하는 健康한 것
- (2) 젖소交雜種이거나 哺乳能力이 좋은 것
- (3) 發育이 잘 되는 未經産牛 혹은 正常分娩經驗

이 있는 初産牛

- (4) 過肥되지 않고 繁殖障害疾患이 없는 것
- (5) 傳染性疾患이 없는 것.

## 6. 受精卵의 普及價格 引下

優良한 암소로부터 採卵한 受精卵은 現在 外國에서 去來價格이 受精卵의 品種이나 能力 및 取扱會社에 따라 差異가 있으나 普遍的으로 1頭당 1個에 500~1,500\$ (50~150만원정도) 이상에 去來되고 있다(Table 22).

우리나라에서도 이미 일부 회사에서는 受精卵移植事業을 營業적으로 소규모로 수행하고 있다. 그러나 아직은 供卵牛의 부족으로 需要者가 保有하고 있는 供卵牛를 活用하여 採卵, 移植을 實施하고 있는데 受精卵 移植에 所要되는 費用은 1頭當 55만원 정도이다(Table 23). 이처럼 受精卵의 값이 비싸면 需要者가 적기 마련이다.

그러므로 受精卵의 需要者가 보다 싼값으로 必要時에 원하는 受精卵을 經濟的인 부담없이 구입하여 移植할 수 있도록 受精卵 生産費를 낮추는 문제도 鮮決되어야 한다.

## IV. 今後研究課題

Godke(1981)가 國際受精卵 移植協會員들로부터 受精卵 移植에 관한 今後研究 優先順位를 調查報告

Table 22. The price of embryo.

(Unit : US \$)

Breed	Company				
	Trans W. G.	Cryo. G.	I. G. T.	Sel. E.	Carn.
Holstein	1,500	400-600	800-1,000	-	500
Brownswiss	-	-	-	950*	-
Brahman	1,100	-	-	-	-
Brangus	1,100	-	-	-	-
Hereford	-	-	800	-	-
Swine	3,500 <sup>b</sup>	-	-	-	-

a : Pregnant base.    b : One litter.

**Table 23. The cost of embryo transfer in Korea.**

(Unit : Won)

Items	Cost
Donor programing	100,000
Synchronization of recipient	80,000
Embryo collection	120,000
The price of one embryo	50,000
Operation	80,000
Trip to farm(3times)	120,000
<b>Total</b>	<b>550,000<sup>a</sup></b>

a: The total cost do not include the semen cost.

한 것을 보면(Table 24) 受精卵의 凍結保存을 優先하여 多排卵의 誘起, 受精卵의 性狀評價, 性調節, 體外培養 및 微細操作을 비롯하여 受精卵의 着床에 關係 깊은 子宮내의 環境調節이나 受精卵의 代謝에 關한 研究까지도 관심을 갖고 있는 것을 볼때 우리나라에서도 이에 關連된 모든 研究분야에 종사하는 人들이 中적 淸적인 상호협조로 연구를 꾸준히 해나 가야 할것으로 믿는다.

**Table 24. Ranking of research priorities from surveys of the members of the International Embryo Transfer Society.**

Rank	Research
1	Cryopreservation of embryos
2	Non-surgical embryo transfer
3	Superovulation and follicular development
4	Evaluation of viability of embryos
5	Fertilization
6	Sex ratio control; sex determination of embryo
7	In vitro culture and manipulation of embryos
8	Uterine environment and embryo metabolism

(Godke, 1981)

## V. 結 論

以上에서 言及한 受精卵의 移植技術과 이를 實用化하는데 關連된 問題點들은 國內에서도 現在 어느

水準까지는 鮮決되고 있으나 그 밖에도 受精卵移植 技術者의 確保나 受精卵의 輸出入 및 檢疫上의 問題를 비롯하여 앞서 열거한 今後研究課題들에 대하여 國內의 大學이나 研究機關, 그리고 이에 關聯한 機關들의 相互 有機的인 協助體系로 더욱 活潑한 研究가 이루어지면 우리나라에서도 受精卵移植技術의 實用化는 머지 않아 많은 進前이 있을 것으로 期待 한다.

그리하여 受精卵移植技術도 오늘날 널리 普及되고 있는 冷凍精液을 利用한 人工授精技術과 같이 普遍化된 技術로 發展되면 家畜의 能力改良 및 高能力 優良家畜의 擴大增殖에 크게 寄與할 것이고 生畜 代 身에 受精卵의 導入으로 外貨와 努力을 節減할 수 있을 것이다.

## 질 의 (鄭 鎮 官, 畜 産 試 驗 場)

: FDA test와 같은 螢光物質 調查에 의한 受精卵의 生死를 判定하는 方法과 利用上의 問題點에 대하여 말씀하여 주십시오.

## 답 변

: 受精卵을 移植하기 전에 生死를 判定하는 方法 으로는 흔히 使用되는 顯微鏡에 의한 方法외에 DA PI(Diamino-2 Phenyl-indole) 또는 FDA(Fluorescine diacetate) 檢査法이 주로 이용되고 있습니다. 上記 2 가지 方法은 螢光物質로 受精卵을 염색하여 螢光顯微鏡으로 受精卵內의 형광의 發生 여부를 調查하는 것으로서 DAPI 檢査法은 살아있는 細胞는 螢光物質에 의하여 염색되지 않는 特性을 利用하기 때문에 염색이 된 細胞는 죽어있는 細胞라고 判定 하게 됩니다.

또 FDA法은 非螢光物質인 FDA가 살아있는 細胞에만 存在하는 hydrolases라는 enzyme과 反應하게 되면 이 非螢光物質이 형광물질로 變化하기 때문에 형광현미경으로 檢査했을때 螢光을 發하는 細胞는 살아있는 細胞로, 螢光을 發하지 않는 細胞는 죽은 細胞로 判定하는 方法입니다.

그러나 上記한 方法에 의해 受精卵의 生死를 正確히 判斷할 수 있다고는 하지만 현재로서는 完全한 生死 判定은 어려운 실정이고 더구나 螢光顯微鏡과 같은 特殊장비가 必要하기 때문에 보다 간편하고 정확한 判定法의 開發이 要求되고 있습니다.

## 질의(이영호, 斗山開發)

: FDA가 受精卵에 해롭지는 않는지요?

### 답 변

: 螢光染色을 하기 위해서는 時間과 溫度의 調節, 속련도 등의 제반조건에 따라 受精卵의 性狀에 다소 나쁜 영향을 미칠 수가 있기는 하지만 FDA가 受精卵에 직접적으로 큰 해를 끼치지는 않는 것으로 發表되어 있습니다.

## 要約(박항균, 경북대학교)

發表者께서는 受精卵 移植技術과 實用上的 問題點에 대해서 Donor와 Recipient로 나누어 各各에 있어서의 問題點 및 解決策에 대해서 말씀하셨으며 아울러 좋은 卵子の 확보 및 保存方法에 대해서도 언급하시어 앞으로 이 分野의 研究과제에 귀중한 資料를 提供해 주셨습니다.

## V. 引用文獻

1. Boland, M.P., T.F. Crosby and I. Gordon. 1976. Birth of twin calves following a single transcervical non-surgical egg transfer technique. *Vet. Rec.* 99: 274-275.
2. Brackett, B.G., Bousquet, M.L. Boice, W.J. Donawick, J.F. Evans and M.A. Dressel. 1982. Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biol. Reprod.* 27: 147-158.
3. Chupin, D. and R. Procureur. 1982. Use of pituitary FSH to induced superovulation in cattle: Effect of injection regimen. *Theriogenology* 17: 81.
4. Christie, W.B., R. Newcomb and L.E.A. Rowson. 1980. Non-surgical transfer of bovine eggs: Investigation of some factors affecting embryo survival. *Vet. Rec.* 106: 190-193.
5. Chung, K.S., H.D. Park, H.C. Rho and R.A. Carmichael. 1983. Twin induction by embryo transfer in cattle II. Effect of repeated treatment for superovulation on ovarian response and embryo development. *Korean J. Anim. Sci.* 25(4): 267-271.
6. Church, R.B. and B. Shea. 1976. Some aspects of bovine embryo transfer: Commission of the European Comities, Luxemburg. pp. 73-86.
7. Donaldson, L.E. 1984. Dose of FSH-P as a variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenology* 13: 73-85.
8. Elsdon, R.P., L.D. Nelson and G.E. Seidel, Jr. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9: 17-26.
9. Fehilly, C.B., S.M. Willadsen and E.M. Tucker. 1984. Interspecific chimaerism between sheep and goat. *Nature* 307: 634-638.
10. Godke, R.A. 1981. April newsletter, International embryo transfer society. pp5.
11. Greve, T. 1982. Bovine egg transplantation in Denmark. A study with special emphasis on the practical application and factors affecting the superovulatory response, number and quality of egg. *Anim. Breed. Abstr.* 50: 723.
12. Greve, T., H. Lehn-Jensen and N.O. Rasbech. 1979. Morphological evaluation of bovine embryos recovered non-surgically from superovulated dairy cows on 6½ to 7½: A field study. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19: 1599-1611.
13. Greve, T., H. Callesen and P. Hyttel. 1983. Endocrine profiles and egg quality in the superovulated cow. *Nord. Vet. Med.* 35: 408-421.
14. Halley, S.M., R.C. Rhodes, III, L.D. Mckeller and R.D. Randel. 1979. Successful superovulation, nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. *Theriogenology* 12: 97-108.
15. Hare, W.C.D. 1978. Relationship of embryo sexing to other methods of prenatal sex determination in farm animals: A review. *Theriogenology* 9: 27-43.
16. Hasler, J.F., A.D. McCauley, E.C. Schermerhorn and R.H. Foote. 1983. Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology* 19: 83-99.
17. Heape, W. 1890. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother. *Proc. R. Soc. Lond.* 48: 457-458.
18. Heyman, Y. 1985. Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. *Theriogenology* 23: 63-75.

19. Hoppe, R.W. and B.D. Bavister. 1984. Evaluation of the fluorescein diacetate (FDA) vital dye viability test with hamster and bovine embryos. *Zuchtcyg* 14: 170-172.
20. Kim, H.S. and K.S. Chung. 2985. Studies on the factors affecting superovulation induction in cattle. *Res. Rept. RDA*. 27(2): 1-15.
21. Kvansniku, A.V. 1951. Interbreed ova transplantation. *Sovetsk. Zooteh.* 1: 36-42. [*Anim. Breed. Abstr.* 19: 224.]
22. Linder, G.M. and R.W. Wright, Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20: 407-416.
23. McGaugh, J.D., D. Olds and D.C. Kratzer. 1974. Ovum recovery in superovulated cows and cleavage rates in the fertilized ova. *Theriogenology* 1: 213-217.
24. Manniaux, D., D. Chupin and J. Saumande. 1983. Superovulatory response of cattle. *Theriogenology* 19: 55-81.
25. Mutter, L.R., A.P. Graden and D. Olds. 1964. Successful non-surgical bovine embryo transfer. *A.I. Digest* 12: 3.
26. Newcomb, R., W.B. Christie and L.E.A. Rowson. 1980. Fetal survival rate after the transfer of 2 bovine embryos. *J. Reprod. Fert.* 59: 31-36.
27. Niemann, H., B. Sacher and F. Elsaesser. 1985. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology* 23: 631-639.
28. Oh, S.J., B.S. Yang, H.S. Kim, K.S. Lee, K.S. Kim, H.M. Oury and J. Spears. 1986. A study on the synchronization and frozen embryo transfer in cattle. *Res. Rept. RDA* (in press).
29. Oliva, O., F. Cremonsi, S. Crotti and A. Lauria. 1984. Effect of breed, age and type of treatment on superovulation in cows. *Anim. Breed. Abstr.* 52: 213.
30. Pettit, W.H. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules. *Theriogenology* 23(1): 13-16.
31. Rowe, R.F., M.R. Del Campo, J.K. Crister and G.J. Ginther. 1980. Embryo transfer in cattle: Nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.* 41: 1024-1028.
32. Schilling, E., H. Niemann, S.P. Cheng and H.H. Doepke. 1979. DAPI-a further fluorescence test for diagnosing the viability of early cow and rabbit embryos. *Zuchthyg* 14: 170-172.
33. Schneider, H.J. Jr., R.S. Castleberry and J.L. Griffin. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology* 13: 73-85.
34. Seidel, G.E. Jr. and S.M. Seidel. 1981. The embryo transfer industry. *New technologies in animal breeding.* by Academic Press, Inc. pp. 71-72.
35. Seok, H.B., K.W. Lee, S.Y. Oh, D.S. son, C.K. Yun, H.Y. Kim, Y.Y. Cho, D.K. Oh, S.H. Chee, K.S. Im and G.D. Mahon. 1984. Influence of frozen embryos on conception in cattle III. Effects of surgical transfer of ova rehydrated by five-steps for glycerol elimination. *Korean J. Anim. Sci.* 26(5): 429-434.
36. Shea, B.F. 1981. Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology* 15: 31-42.
37. Sreenan, J.M. 1975. Successful non-surgical transfer of fertilized cow eggs. *Vet. Rec.* 96: 490-491.
38. Sreenan, J.M. 1976. Egg transfer in cow: Effect of site of transfer. *Proc. 8th Int. Congr. Anim. Reprod. A.I., III*, 269-272.
39. Tervit, H.R., P.G. Havik and J.F. Smith. 1977. Egg transfer in cattle: pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. *Theriogenology* 7: 3-10.
40. Warwick, B.L. et al. 1934. Results of mating rams to Angora female goats. *Proc. Am. Soc. Anim. Prod.* 27th Ann. Meet. 225-227.
41. Willadsen, S.M., H. Len-Jensen, C.G. Fehilly and R. Newcomb. 1981. The production of monozygotic twins of preselected parentage by micro-manipulation of non-surgically collected cow embryos. *Theriogenology* 15: 23-29.
42. Willet, E.L., W.G. Black, L.E. Casida, W.H. Stone and P.J. Buncker. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science, N.Y.* 113: 247.
43. Wilmut, I. and L.E.A. Rowson. 1973. Experiments

- of the low temperature preservation of cow embryos. *Vet. Rec.* 92: 686-690.
44. Wright, J.M. 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle. Embryo-recipient interaction. *Theriogenology* 15: 43-56.
45. 金川弘司. 1975. カナダ, アメリカにおける牛の受精卵 移植実用化の実際. I. 技術編. 繁殖技術(特別号), 1~11.