

인공수정후 수정란 추가이식이 수태율 및 쌍태생산에 미치는 영향

오성종 · 양보석 · 이명식 · 엄정열* · 이수윤** · 이인형

축산기술연구소

Effects of Embryo Transfer Following Artificial Insemination in Hanwoo on the Pregnancy Rate and Twin Production

S. J. Oh, B. S. Yang, M. S. Lee, J. Y. Ueom*, S. Y. Lee** and I. H. Lee

National Livestock Research Institute, R. D. A.

SUMMARY

This study was carried out to produce twin calves by embryo transfer in Hanwoo and investigate the pregnancy and twin rate by recipient's conditions. All recipients were bred at estrus by artificial insemination with Hanwoo semen and then transferred an additional embryo produced *in vivo* or *in vitro* to the uterine horn contralateral to the corpus luteum on Day 7.

The results obtained were as follows:

1. The pregnancy rate was higher in young recipients of 3 years (68.8%) than in old ones of 10 years and greater(36.4%). And for CL size pregnancy rate was 57.9, 45.4 and 60.1% in large, medium and small size of CL of recipients, respectively.
2. 447 recipients were transferred an additional embryos at 7th day after AI and average pregnancy rate was 57.5% and twin production rate was 22.2%.
3. Average pregnancy and twin production rate by direct transfer methods of frozen-thawed IVF embryos was 56.0 and 16.7%.
4. The ratio of male to female twin in a total of 55 twin pairs was 54.6%, and average gestation lengths of male to female and female to female twin were 280.6 ± 5.4 and 279.7 ± 5.4 days, respectively. Average birth weight of twins was heavier in male and male twin (23.2 ± 5.8 kg) than in male and female twin (20.5 ± 2.6 kg).

(Key words : twin, bovine IVF embryos, pregnancy rate, embryo transfer)

서 론

우리나라의 한우 최고기의 자급율은 50% 정도에 머물고 있으며 특히 한우 송아지 생산비는 외국의 3 배 이상으로 국제 경쟁력을 약화시키는 중요한 요인으로 분석되고 있다. 한우의 경쟁력을 높이기 위

해서는 고능력의 한우를 대량 생산하고 사양기술 개발에 의한 생산비 절감이 무엇보다도 시급한 실정에 있다. 한우의 대량생산에 의한 생산비 절감은 쌍자 생산에 의한 방법이 효율적인 방법중의 하나라고 사료된다.

자연상태에서 육우(한우 포함)의 쌍자 생산율은 1~2% 미만이며 또한 쌍자분만에 대한 반복율 역

* 영주시 농촌지도소, ** 진안군 농촌지도소

시 극히 낮아 선발에 의한 쌍자유기 방법은 현실적으로는 어려운 것이다. 따라서 많은 연구자들이 성선자극호르몬 처리로 2개의 난자를 배란하게 하여 쌍자를 생산하게 하는 연구가 많이 수행되어 왔다 (Turman 등, 1971; Schilling과 Holm, 1963). 그러나 성선자극호르몬의 처리는 개체의 난소반응이 차이가 심하므로 항상 2개의 난자를 배란시킬 수 없을 뿐만 아니라 경우에 따라서는 3태, 4태 이상의 송아지를 분만하므로써 산자는 물론 어미에게도 상당한 타격을 주어 산업적으로 이용하기에는 많은 문제를 안고 있다.

수정란 이식 기술이 발전하면서 2개의 수정란을 이식하여 쌍자 유기를 하는 연구가 시도되었는데 고가의 수정란 수요가 대두되었고 특히 수태율이 그리 높지 않은 문제가 있었다. 이런 문제를 극복하고자 정상 발정시 인공수정을 하고 7일후 수정란을 추가 이식하는 연구들이 많이 이루어지고 있다(오 등, 1993; Davis 등, 1988; 鈴木 등, 1986; Christie 등, 1979; Anderson 등, 1979). 그러나 쌍자 생산시 임신기간이 짧고(오 등, 1993; Anderson 등, 1979), 생시체중이 작으며(鈴木 등, 1986), 젖소에서는 유량이 다소 감소할 수 있으며(Nielen 등, 1989; Chapin 과 Van Vleck, 1979) 분만후 발정제 귀일이 길어진다는 보고(Sreenan과 Diskin, 1987) 등 쌍자생산시 여러가지 문제점도 있으나 우리나라와 같이 송아지 값이 비싸고 짧은 기간내에 소의 증식 및 송아지 생산비 절감을 위해서는 인공수정후 수정란 이식기법에 의한 쌍자생산 연구의 활성화가 필요하다고 사료된다. 최근 들어 우리나라에서도 체외 수정란이 저렴하게 대량생산되고 있으며 특히 동결란을 용해후 어떠한 조작도 없이 인공수정과 똑같이 수정란이식을 하는 직접이식용 동결 기술의 발달로 수정란 이식기술은 보편화된 일반 기술로 자리를 잡고 있다.

따라서 본 연구는 한우의 체내 혹은 체외에서 생산된 수정란을 동결보존하여 발정이 동기화되고 인공수정된 수란우의 황체 반대측 자궁각에 이식시 수태율과 쌍자생산에 미치는 영향을 검토하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 수정란 생산

1) 체내 수정란

다배란 처리는 발정후 9~13일 사이에 직장검사로 황체가 뚜렷이 존재하는 개체에 FSH 28mg을 용량 점감법으로 4일간 처리하였고 PGF_{2α} 처리는 FSH 첫 주사후 48시간에 12시간 간격으로 2회 처리하여 다배란을 유지시켰다. 다배란 처리된 공란우는 발정시 2~3회 인공수정시켰으며 발정후 7일째 비외과적인 방법으로 수정란을 채란하였다. 채란액은 1%의 FCS(Gibco, 미국)가 들어있는 mPBS(Gibco, 미국) 1,000ml를 사용하여 채란하였으며 실제 현미경하에서 수정란의 질을 판정하였다.

2) 체외 수정란

도축된 한우 암소의 난소를 25℃의 생리식염수에 넣어 2~3시간 이내에 실험실로 옮겨 37℃의 생리식염수로 3~5회 난소를 깨끗이 씻은 후 18G의 주사기로 직경이 2~7mm이내의 난포에서 난자를 흡인하였다. 채란된 난자중 난구세포가 충실히 붙어있는 난포란을 5%의 FCS 첨가된 TCM-199(Gibco, 미국) 배양액으로 2%의 CO₂ 배양기에서 20시간 성숙배양시켰다. B. O. 액에 5mM의 caffeine-sodium benzonate와 10μg/ml의 heparin을 넣은 정자 세척액으로 1,800 rpm으로 정자를 2회 세척하여 정자의 최종 농도를 5~6×10⁶/ml로 조정후 성숙된 난자와 6시간 동안 수정배양을 하였다. 수정이 끝난 난자는 TCM-199 배양액으로 수회 세척하여 정자세포를 깨끗이 제거한 다음 난구세포와 9일간 공배양시키면서 배반포 이상으로 발육한 수정란을 현미경으로 판정하였다(오 등, 1995).

2. 수정란의 동결 및 융해

실체 현미경하에서 형태적으로 우수한 질의 배반포 이상의 수정란을 동결에 공시하였다. 체내 수정란은 축산기술연구소 관행법인 Glycerol 3단계 평형방법으로 수정란을 평형후 동결 보존하였으며 체외 수정란은 1.8M의 Ethylene glycol을 이용한 직접이식용 동결법으로 수정란을 동결보존하였다(오 등, 1995).

동결 수정란은 20℃의 물에서 20초간 용해하고 체내 수정란은 sucrose+glycerol, sucrose 그리고 신선 수정란 배양액으로 옮기며 삼투압 조정 및 동해방지제를 제거하였고, 체외 수정란은 용해후 삼투압의 조정과 동해방지제 제거없이 바로 이식에 공시하였다.

3. 수정란 이식

수정란 이식을 위하여 농가에서 사육중인 암소에 자연발정 혹은 인위적인 발정동기화를 유도(PGF_{2α} 혹은 PRID처리)하였고 발정시 2회의 인공수정을 시켰다. 인공수정후 7일째 직장검사로 황체의 존재 여부와 크기를 확인하여 수란우를 선정하였다. 수정란 이식전 2%의 lidocaine(광명제약, 한국)으로 미근부 마취를 시켜 황체가 존재하는 반대측 자궁 각 선단에 수정란 1개를 추가 이식하였다. 수란우 황체의 크기는 직장검사를 통하여 크고 뚜렷이 돌출한 것을 큰 황체 (Big CL), 중간크기(Medium CL), 그리고 작은 황체크기(Small CL)로 구분하였다. 임신확인은 수정란 이식후 60일에 직장검사 혹은 NR법으로 하였고 쌍자 생산율은 임신두수대비로 쌍자 분만성적을 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 수란우의 연령 및 황체의 크기가 수태율에 미치는 영향

1) 수란우의 산차에 따른 수태율

수정란을 이식하기 위하여 발정 동기화된 수란우를 연령별로 구분하여 수태율을 조사한 결과를 Table 1에 나타냈다. 인공수정후 7 일째 수정란 이식

Table 1. The effect of age of recipients on pregnancy rate

Age(year)	No. of cows transferred(%)	No. of cows pregnant	Pregnancy rate(%)
<3	45	31	68.9
4~6	111	60	54.1
7~10	44	21	47.7
>10	11	4	36.4
Total	211	116	55.0

한 수란우의 수태율은 3세 미만 즉 초산우인 경우가 가장 높은 수태율(68.9%)을 나타냈고 나이가 많아 질수록 수태율은 점차 떨어져 10세 이상에서는 36.4%로 가장 낮은 임신율을 보였다. 총 211두의 이식축의 평균 수태율은 55.0%였다.

본 연구에서 나이가 어린 것이 노령우에 비하여 높은 수태율을 나타낸 것은 일반적으로 수정란 이식에 공시되는 수란우는 미경산우가 영양에 의한 스트레스와 건강의 문제 등이 경산우에 비하여 좋을 뿐만 아니라 이식수정란이 자궁에 착상하여 임신유지가 되는데 있어서 경산우에 비하여 좋다는 Broadbent 등(1991)의 결과와 일치하는 경향이였다. 그러나 Hasler 등(1987)은 처녀우에서 15세 이상의 수란우를 이용하여 수정란 이식한 결과 14세 미만에서는 수태율의 차이가 없었고 15세 이상의 노령우에서는 유의적으로 낮은 수태율을 보고하여 본 연구의 결과와 다소 다른 결과를 나타냈다. 이는 수란우의 나이보다는 사양관리 상태와 건강한 번식 상태가 더 중요한 것으로 사료된다. 그러나 수란우로서 미경산우의 이용은 이식시 자궁 경관의 통과가 쉽지 않은 경우도 있을 뿐만 아니라 분만시 난산 등의 위험도 있어서 쌍자생산용으로는 적합치 않고 단태 이식시에는 자궁의 충분한 발육이 되었는지를 확인후 이식해야 한다고 하였다(Phillipson, 1976).

2) 수란우의 황체크기가 수태율에 미치는 효과

인공수정후 7일째 직장검사로 수란우의 황체를 검사하여 구분한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 큰 황체를 가진 57두의 수란우에 수정란을 추가 이식하였던 바 이중 33두가 임신하여 57.9%의 수태율을 나타냈고 작은 황체의 수란우는 60.1%의 수태율을 그리고 중간 크기의 황체에서는 45.4%의 수태율

Table 2. The effect of size of corpus leuteum on pregnancy rate

CL size	No. of cows transferred(%)	No. of cows pregnant	Pregnancy rate(%)
Big CL	57	33	57.9
Medium CL	97	44	45.4
Small CL	64	39	60.1
Total	218	116	53.2

을 나타내어 오히려 황체의 크기가 작은 것이 높은 수태율을 보였다.

임신을 성공적으로 유지하려면 황체에서 충분한 progesterone의 분비가 있어야 하는데 progesterone의 농도와 황체의 크기는 항상 일치하지 않을 수도 있으며 황체의 크기에 따른 수태율의 차이는 없었고 단지 발정발현을 정확히 확인하는 요인으로 활용하는 것이 바람직하다고 하였다(Hasler 등, 1987). 황체의 크기와 황체의 기능활성을 나타내는 progesterone과의 관계 역시 정확한 상관관계는 밝혀지지 못하고 있다(Looney 등, 1984; Donaldson, 1985). Assey 등(1993)은 황체 크기와 progesterone농도간의 상관관계는 인정되었으나 개체간의 변이가 크기 때문에 수태율을 높이기 위해서는 초음파진단기를 이용하는 황체의 크기와 기능성등을 확인하는 것이 바람직하다고 하였다. Remsen 등(1983)은 Day 7과 8 즉 수정란 이식일에 혈중 progesterone의 농도가 2.0~5.0ng/ml 이상이면 수란우로서 좋다고 하였으나 수정란 이식시 5~8ng/ml 이상이면 수태율이 저조하게 된다는 상반된 보고(Northey 등, 1985; Niemann 등, 1985) 등이 있어 이에 관해서는 보다 많은 연구가 수행되어야 될 것으로 사료된다(Coleman 등, 1987; Stubbing 과 Walton, 1986). 한편 수정란 이식후 혈중 progesterone의 수준을 인위적으로 높이기 위하여 progesterone제제를 주입 혹은 주사하는 연구에 있어서도 보고자에 따라 각기 다른 효과를 보고하고 있다(Walton 등, 1986; Christie 등, 1979).

본 연구에서 황체의 크기가 작거나 큰 것이 높은 수태율을 보이는 것은 개체차에 따른 원인도 있지만 대체로 큰 황체는 황체기능을 원만하게 유지하고 있고 작은 것은 황체로서 기능을 시작하는 단계에 있으므로 황체세포로부터 progesterone의 분비가 증가하기 때문이고 중간 크기의 황체중에는 전 발정기의 퇴행황체를 잘못 촉진된 것도 상당수 포함되어 있기 때문에 황체의 크기로만은 수란우를 선정하는 것은 잘못될 수 있음을 시사하고 있다.

2. 인공수정후 수정란 추가 이식에 의한 쌍자 생산

Table 3. The pregnancy rate of Hanwoo frozen-thawed embryos produced *in vivo* by year

Year	No. of recipients embryos transferred	No. of pregnancy (%)	No. of twin	Twin rate (%)
1991	111	54(48.7)	11	20.4
1992	166	97(58.4)	24	25.3
1993	170	106(62.4)	22	20.8
Total	447	257(57.5)	57	22.2

1) 체내 동결 수정란 이식에 의한 쌍자율

1991년부터 3년간 한우 체내 수정란을 Glycerol 3 단계 평형방법으로 동결하여 수정란 이식에 이용하였다. 발정 동기화처리로 발정이 온 수란우에 인공수정을 하고 7일후 황체가 존재하는 반대측 자궁각에 이식하여 쌍자 임신을 유기하여 분만한 성적률 Table 3에 나타냈다.

시험 첫해인 1991년에는 한우 111부에 체내 수정란을 이식하여 54부가 임신되어 48.7%의 낮은 임신율을 얻었으나 1992년에는 58.4% 그리고 1993년에는 62.4%로 수태율은 해가 갈수록 높아졌다. 그러나 쌍자율은 1991년과 1993년에 각각 20.4와 20.8%였으나 1992년에는 25.3%로 이식한 년도에 따라 다소 다른 결과를 얻었다. 총 447부의 한우 체내 수정란을 이식하여 257부가 임신하여 57.5%의 수태율을 나타냈고 임신두수중 쌍자 분만두수는 57부로 평균 22.2%의 쌍자 생산율을 얻었다.

Sreenan 등(1975)은 자궁각 양쪽에 각 1개의 수정란을 이식하는 방법으로 72부에 이식한 결과 55부가 임신되어 76.4%의 수태율을 나타냈고 쌍자율은 55부 임신중에서 76.4%로 상당히 높은 쌍자 임신을 나타냈다. 그리고 Anderson 등(1979)도 양쪽 자궁각에 수정란을 이식하거나 혹은 인공수정후 황체의 반대측 자궁각에 수정란을 이식하는 방법으로 쌍태임신을 유기시킨 결과 수태율은 각각 76%와 60%로 수정란만을 이식한 것이 다소 높은 수태율을 보였으나 쌍태 분만율은 각각 72%와 70%로 유의적인 차이가 없었다고 하였다. 그러나 Davis 등(1988)은 임신된 45부중 7부가 쌍자를 분만하여 15.6%의 쌍자생산율을 보고하고 있어 연구자에 따라 각기 다른 쌍자생산 결과를 보고하고 있다.

Table 4. The pregnancy rate of direct transfer of frozen-thawed bovine IVF embryos

Area transferred embryos	No. of recipients	No. of pregnancy (%)	No. of twin	Twin rate (%)
A	31	16(54.6%)	—	0
B	20	9(45.0%)	1	11.1
C	24	17(70.8%)	6	35.3
Total	75	42(56.0%)	7	16.7

본시험에서 수태율이 다소 낮은 것은 이식된 수정란이 동결란을 사용하였고 이식기술의 숙련도 차이에서 오는 원인이라고 사료된다. 그리고 대상우 선정에 있어서 농가에서 사육하고 있는 한우 암소중 임신이 안된 암소를 일괄적으로 발정동기화 처리에 의해 발정을 유기시키고 인공수정하였기 때문에 정확한 번식기록이 있고 정상 사양관리된 수란우의 수태 성적보다는 다소 저조한 것으로 사료된다.

2) 체외 동결 수정란 직접이식에 의한 쌍자율

체의 수정에 의해 생산된 배반포의 수정란을 직접 이식용으로 동결 보존하였다가 발정이 와서 인공수정 한 한우 수란우중 황체가 뚜렷이 존재하는 반대측 자궁각 심부에 이식하여 얻어진 수태율은 Table 4에서 보는 바와 같다.

전국 3개 지역에서 총 75두의 수란우에 비외과적으로 이식하여 42두가 임신되어 56.0%의 수태율을 얻었으나 수태율이 45.0%에서 부터 70.0%까지 지역간 차이가 심하였다. 그리고 임신두수 대비 쌍자생산을 역시 0%에서 35.3%로 지역간의 차이가 유의적으로 높았다.

Moore(1994)는 체내 수정란을 1.4M glycerol +0.6M sucrose로 동결보존후 직접이식에 의하여 53%의 수태율을 보고하였고 McIntosh와 Hazleger(1994) 역시 동결 체외 수정란을 직접이식으로 59%의 임신율을 보고하였으며 Suzuki 등(1993)은 1.8M의 ethylene glycol을 이용한 체외 동결 수정란의 직접이식으로 74%의 수태율을 보고한 바 있다. 오 등(1995)은 인공수정 한 암소에 한우 체외 동결 수정란 1개를 직접이식한 결과 53.0%의 수태율과 26.3%의 쌍자생산을 보고하였다. 본 연구에서 체외 동결수정란의 직접이식으로 얻은 수태율은 체

내 동결수정란의 57.5%와 통계적 유의차가 없었으며 특히 쌍자 분만율도 비슷하였으나 외국의 50% 이상의 수태성적보다는 낮은 결과였다.

본 연구에서 사용한 한우 체외 수정란의 동결란 직접이식기술은 이식하는 술자의 숙련도가 높고 수란우를 잘 선발하여 이식한다면 체내 동결수정란의 3단계 융해법보다 실용화 면에서 유용하리라 사료된다.

3) 쌍자분만의 임신기간, 성비 및 생시체중

수정란 추가 이식에 의하여 임신된 수란우중 쌍자가 생산된 분만성적은 Table 5에서 보는 바와 같다.

쌍자 송아지의 평균 임신기간은 암놈 : 암놈 및 암수의 이성쌍자 분만시는 279.7±5.4일과 280.6±5.4일로 비슷하였으나 수놈 : 수놈인 쌍자에서는 283.9±5.0일로 임신기간이 다소 길었다. 일반적으로 쌍자의 임신기간은 정상 한우의 임신기간인 285일보다 약 5일 정도 임신기간이 단축되었다. 분만된 쌍자의 체중에서는 암수 쌍자생산시 평균 20.5±2.6kg으로 가장 낮았으며 수놈 : 수놈 혹은 암놈 : 암놈에서는 오히려 높은 생시체중을 나타냈다.

한우에서 쌍자 임신시 임신기간은 난태보다 5일 정도 빨랐는데 이러한 결과는 Davis 등(1989)이 육우에서 쌍자 임신기간은 난태시보다 5~8일이 짧았고 수놈일 경우는 1일이 더 길었다는 보고와 일치하고 있다(오 등, 1993; Anderson 등, 1979; 鈴木 등, 1986). 그리고 Nielen 등(1989)도 젖소에서 쌍자 임신기간은 274.8일로 난태의 280.4일보다 약 6일 정도 빨랐다고 하여 젖소와 육우에서의 쌍자생산시 임신기간은 비슷한 보고를 하고 있다. 쌍자생산시 생시체중은 난태보다 10%~20% 정도 가벼우며 이

Table 5. The sex ratio, gestation length and birth weight of twin calves produced by embryo transfer

Sex of twin calves	No. of head	Gestation length(day)	Birth weight(kg)
M : M	12	283.9±5.0	23.2±5.8
M : F	30	280.6±5.4	20.5±2.6
F : F	13	279.7±5.4	22.5±6.9

는 수란우의 나이, 영양상태, 종모우의 영향 및 수란우 사양관리에 따라 달라질 수 있다 하였다(Bellows 등, 1974). 그러나 쌍자 임신시 쌍자 전체의 무게는 단태보다 훨씬 무겁고 자궁의 용적 부족으로 인해 자궁내 압력 증가와 태아의 중추계에서 CRF (cortisol releasing factor)가 조기에 방출되어 혈중 cortisol 농도가 증가하여 분만개시가 빠르기 때문에 임신기간이 짧아지는 것으로 사료된다.

한우에서도 쌍자 생산시 외국의 육우와 젖소와 마찬가지로 임신기간은 5일 정도 짧아지고 쌍자의 생시체중 역시 단태보다 10~15% 정도 적었다.

적 요

본 연구는 1991년부터 1994년까지 총 522두의 수란우에 체내 혹은 체외에서 생산된 수정란을 이용하여 수정란 이식 기법으로 한우의 쌍자 생산을 유기하고자 농가에서 사육중인 암소를 발정동기화 시키고 인공수정후 7일째 황체의 반대측 자궁각 심부에 수정란 1개를 추가 이식하여 수란우의 조신에 따른 수태율과 쌍자생산에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다.

1. 수란우의 연령이 3세 미만에서 가장 높은 수태율(68.9%)을 나타냈고 나이가 많아짐에 따라 수태율도 떨어졌으며 10세 이상에서 가장 낮은 36.4%의 수태율을 나타냈다.
2. 이식전 수란우의 황체의 크기가 가장 크고 뚜렷한 수란우의 임신율은 57.9% 그리고 가장 적은 황체의 수란우에서의 수태율은 60.1%였고 중간 크기의 황체에서는 가장 낮은 45.4%였다.
3. 체내에서 생산된 한우 동결 수정란을 447두의 한우 수란우에 이식하여 257두가 임신되어 47.5%의 수태율을 얻었으며 쌍자 생산율은 20.2%였다.
4. 체외에서 생산된 수정란을 직접이식용 동결법으로 동결하고 융해후 75두의 수란우에 직접이식으로 42두가 임신하였고 쌍자분만율은 16.7%였다.
5. 쌍자분만된 55쌍의 송아지중 암수쌍자의 비율은 54.6%였고 쌍자의 임신기간은 암수 혹은 암늬:암늬의 쌍자일 경우는 각각 280.6 ± 5.4 와

279.7 ± 5.4 일이었으나 수늬:수늬의 쌍자에서는 283.9 ± 5.0 일로 길었다. 생시체중은 수늬:수늬에서 가장 무거운 23.2 ± 5.8 kg였고 암수쌍자에서 가장 가벼운 20.5 ± 2.6 kg이었다.

참고문헌

- Anderson GB, Cupps PT and Drost M. 1979. Induction of twinning in cattle with bilateral and unilateral embryo transfer. *J. Anim. Sci.* 49:1037-1042
- Bellows RA, Short RE, Wiltbank NH and Pahnish OF. 1974. Multiple births and artificial rearing of calves. *J. Anim. Sci.* 30:1030 (Abstr.)
- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DF. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology.* 35:125-139.
- Chapin CA and Van Vleck LD. 1979. Effects of twinning on lactation and days open in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 63:1881-1886
- Christie WB, Newcomb R and Rowson LEA. 1979. Embryo survival in heifer after transfer of an egg to the uterine horn contralateral to the corpus luteum and the effect of treatments with progesterone or hCG on pregnancy rates. *J. Reprod. Fert.* 56:701-706
- Davis ME, Harvey WR, Bishop MD and Gearheart WW. 1988. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: Embryo survival rate, gestation length, birth weight and weaning weight of calves. *J. Anim. Sci.* 67:301-310
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stages and grades with recipient oestrous synchrony in bovine embryos transfer. *Vet. Rec.* 117:489-491.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Footte RH. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a lar-

- ge-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*. 27:139-168.
- Looney CR, Oden AJ, Massey JM, Johnson CA and Godke RA. 1984. Pregnancy rates following HCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*. 21:246
- McIntosh A and Hazeleger NL. 1994. The use of ethylen glycol for freezing bovine embryos. *Theriogenology*. 41:253
- Nielen M, Schukken YH, Scholl DT, Wilbrink HJ and Brand A. 1989. Twinning in dairy cattle : A study of risk factors and effects. *Theriogenology*. 32:845-862
- Niemann H, Sacher B and Elsaesser F. 1985. Prognancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non-surgical transfer of frozen /thawed bovine embryos. *Theriogenology*. 23:631-639.
- Northey DL, Parnes FL, Eyestone WH and First NL. 1985. Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*. 23:214
- Phillipson J. 1976. Studies on calving difficulty, stillbirth and associated factors in Swedish cattle breeds. I. General introduction and breed averages. *Acta. Agric. Scand*. 26:151-164.
- Remsen LG, Roussel JD and Kalihaloo AK. 1983. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology* 18: 365-372
- Schilling E and Holm W. 1963. Investigations on induction of limited multiple ovulations in cattle. *J. Reprod. Fert*. 5:283
- Sreenan JM, Beehan D and Muulvehill P. 1975. Egg transfer in the cow : Factors affecting pregnancy and twinning rates following bilateral transfers. *J. Reprod. Fert*. 44:77-85
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*. 27:99-113
- Stubbing RB and Walton JS. 1986. Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos. *Theriogenology*. 26:145-155.
- Suzuki TM, Takagi M, Yamamoto M, Noediono A, Saha S, Sakakibara H and Oe M. 1993. Pregnancy rate and survival in culture of *in vitro* fertilized bovine embryos frozen in various cryoprotectants and thawed using a one-step system. *Theriogenology*. 40:651-659.
- Turman SJ, Laster DB, Recharger RE and Stephens DF. 1971. Multiple births in beef cows treated with equine gonadotrophin(PMS) and chorionic gonadotrophin (HCG). *J. Anim. Sci*. 33:962-967
- Walton JS, Martineau NA and Stubbings RB. 1986. Pregnancy rates in holstein embryo transfer recipients: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. *Theriogenology*. 26:837-845
- 鈴木達行, 下平乙夫, 酒 豊, 松田修一. 1986. 片側子宮角への受精卵移植によるウシの雙子生産について. *日本家畜繁殖誌*. 32:44-47
- 오성중, 양보석, 이명식, 성환후, 정진관, 강홍주. 1993. 수정란 추가이식에 의한 한우 쌍자 생산 연구. *농업논문집*. 35:507-512
- 오성중, 양보석, 이명식, 백광수, 성환후, 정진관, 임경순. 1995. 직접이식을 위한 소 체외 수정란의 동결융해후 생존성 및 수태율에 미치는 영향. *가축번식학회지*. 19:49-54