

韓牛 受精卵의 凍結保存 및 雙仔生産에 관한 研究

I. 凍結 受精卵의 移植과 仔牛 生産

손동수 · 김일화 · 이호준 · 서국현 · 이동원 · 류일선 · 이광원 · 전기준 · 손삼규 · 최상용*

농촌진흥청 축산기술연구소

Studies on Embryo Cryopreservation and Twinning by Embryo Transfer of Korean Native Cattle I. Transfer of Frozen-thawed Embryos and Production of Calves

D. S. Son, I. H. Kim, H. J. Lee, K. H. Suh, D. W. Lee, I. S. Ryu, K. W. Lee,

K. J. Chun, S. K. Son and S. Y. Choe*

National Livestock Research Institute, Rural Development Administration

SUMMARY

This study was carried out to establish the techniques for producing the calves of genetically superior Korean Native cattle by transfer of frozen-thawed embryos. The effects of some factors related to embryo recovery following superovulation and pregnancy rate following transfer of frozen-thawed embryos were evaluated. Also calving state was investigated. The results obtained were as follows :

The mean number of total and transferrable embryos recovered per superovulated cow was 8.72 and 4.90, respectively, from a total of 72 superovulations using 34 donor cows. There were no significant differences in the number of total or transferrable embryos recovered per superovulated cow between products of follicle stimulating hormone (FSH), years, seasons, and collection numbers.

The pregnancy rate was found 44.44% following transfer of frozen-thawed embryos of Korean Native cattle to a total of 180 recipient cows including 82 Angus, 27 Charolais, 62 Hereford and 9 Korean Native cows. The pregnancy rate was significantly ($P < 0.05$) higher in the transfer of excellent (42.99) and good embryos (40.17%), compared with fair (5.90%) grade embryos. And the pregnancy rate was significantly ($P < 0.05$) higher in the transfer of embryos of morula stage (43.86%) than blastocyst stage (15.51%). But there were no significant differences in pregnancy rates between natural and induced estrus, estrus asynchrony of 1 days, breeds, and parities of recipient cows.

The normal calving rate of 80 pregnant cows following transfer of frozen-thawed embryos was 87.5% and the other 10 pregnant cows showed abortion during the period from pregnancy diagnosis at 50~60 days to calving.

The average gestation length of normally delivered recipients was 288.50 days and the

* 경상대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University)

average birth weight of 70 calves born was 24.22 kg. The gestation length was significantly ($P < 0.05$) shorter in the recipients delivering female calves (286.70 days) than males (289.39 days). But there were no significant differences in gestation length and birth weight of calves born between the recipient breeds.

(Key words : Korean Native cattle, superovulation, recovery, frozen-thawed embryo, pregnancy, calves)

서 론

수정란 이식은 소의 능력개량 측면에서 유용성이 높아 다른 가축에 비하여 실용화 연구가 활발히 진행되었으며, 1973년 Wilmut과 Rowson에 의해 동결 수정란의 이식으로 송아지가 생산되어 산업화의 기틀이 마련되었다.

Kanagawa(1987)는 수정란 이식을 성공적으로 수행하기 위해서는 우수한 유전 형질을 가진 수정란을 제공하는 공란우와 수정란을 받아서 수태하는 수란우의 선발, 다수의 수정란을 생산하기 위한 공란우의 과배란 유기, 공란우로부터 수정란의 회수, 회수한 수정란의 검사, 분류 및 보존, 이식한 수정란의 수태률을 향상시키기 위한 공란우와 수란우의 발정동기화, 수정란의 이식 등의 많은 과정이 원만히 이루어져야 한다고 하였다.

과배란을 유기한 공란우로부터 회수되는 수정란의 수와 성상에 영향을 미치는 주요인으로는 공란우의 건강상태와 연령 이외에도 과배란을 유기시키는 호르몬의 종류(Boland 등, 1991; Monniaux 등, 1983; Elsdon 등, 1978), 발정주기내의 투여 시기(Bellows 등, 1991; Goulding 등, 1990; Grasso 등, 1989; Savio 등, 1988; Lindsell 등, 1986), 투여량(Donaldson 등, 1986; Pawlyshyn 등, 1986; Donaldson, 1984b; Halley 등, 1979), FSH내 LH의 비율(Willmott 등, 1990; Donaldson과 Ward, 1987; Donaldson과 Ward, 1986), 투여 계절(Almeida, 1987a; Gordon 등, 1987; Hasler 등, 1983), 투여 빈도(Dorn 등, 1991; Almeida, 1987b; Donaldson과 Perry, 1983) 및 회수 일자(Donaldson, 1986; Lindner와 Wright, 1983) 등이 알려져 있다.

동결 수정란은 신선한 수정란을 이식했을 때보다 수태률은 낮으나(노 등, 1988; Nelson과 Nelson, 1988; Heyman, 1985), 장기 보존이 가능하고, 국제

간의 무역과 타 지역으로 수송을 쉽게 할 수 있는 장점이 있다.

Hasler 등(1987)과 Sreenan과 Diskin(1987)은 동결 수정란의 수태률에 영향을 미치는 요인은 수정란의 발육단계, 수정란의 질, 수정란의 이식방법, 수란우의 발정동기화 방법, 수란우와 수정란과의 발정동기화 정도, 수란우의 산차 및 수란우의 영양상태 등으로 수정란 자체, 수란우 및 기타 환경 요인 등에 의해 좌우된다고 하였다. 수정란은 발육단계가 상실배기에서 배반포기로 진행될수록 수태률이 높다는 보고(양 등, 1988; Putney 등, 1988; Wright, 1985; Looney 등, 1984; Wright, 1981; Schneider 등, 1980)와 발육단계간에 수태률의 차이가 없다는 보고도 있다(Pettit, 1985; Lindner와 Wright, 1983). Donaldson(1985)은 수정란의 질은 수태률에 미치는 영향이 크며 양질의 수정란이 수태률이 높다고 하였다(황과 조, 1988; Hasler 등, 1987; Shea 등, 1983). 발정동기화 방법에 따른 수태률은 연구자간에 차이가 많다. 인위적으로 발정을 유기한 수란우가 수태률이 높다는 보고(노 등, 1988; Sreenan 등, 1975)와 자연발정우가 높다는 보고(Godkin 등, 1987)가 있으나, Wright(1981)와 Coleman 등(1987)은 두 방법간에 차이가 없다고 하였다. 수란우와 공란우간의 발정동기화 정도에 따른 수태률은 연구자에 따라 다르게 보고되었다. 수란우와 공란우의 발정시간이 일치하였을 때(김 등, 1992; Lindner와 Wright, 1983; Schneider 등, 1980)와, 수란우가 공란우보다 먼저 발정이 발현되었을 때(Wright, 1981)와, 수란우가 공란우보다 늦게 발정이 발현되었을 때가 높다는 보고(양 등, 1988; 오 등, 1986)가 있다. Broadbent 등(1991)은 수란우의 산차에 따른 수태률은 미경산우가 경산우보다 다소 높다고 하였으나(김 등, 1992; 오 등, 1986), 석 등(1984)은 미경산우와 경산우간에 차이가 없었다고 하였다. 그러나 이러한 연구의 보고들

은 처리구에 대하여 단순하게 비교하였을 뿐, 요인들 상호간의 영향에 대하여 분석한 성적의 연구결과는 아니었다.

한우 수정란 이식에 대한 연구는 단편적으로 보고되고 있으며(양 등, 1988), 자질이 검정된 우량 한우의 동결 수정란을 이식하여 능력개량에 활용한 연구 보고와 수정란의 회수 및 동결 수정란의 수태률에 미치는 요인들이 상호간에 영향을 준 성적, 수정란 이식우의 분만 성적에 대한 연구보고는 아직 접하지 못했다.

따라서 본 실험에서는 우량 한우의 수정란을 회수하고 동결보존 수정란의 수태률에 미치는 요인의 다각적인 분석과 수정란 이식우의 분만 상황을 조사하고, 생산성이 낮은 육우 등을 수란우로 이용하여 능력이 우수한 한우의 수정란을 이식하여 송아지를 생산하고, 한우 수정란이식의 실용화에 기여코자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물 및 정액

1) 공란우

본 실험에 공시된 공란우는 축산기술연구소 남원지소에서 보유하고 있는 암컷 한우중 발육성적이 상위 20%인 43두를 선발하여 사용하였다.

2) 수란우

한우 동결 수정란의 이식에 이용된 수란우는 축산기술연구소 대관령지소의 Angus종 82두, Charolais종 27두, Hereford종 62두와 남원지소의 한우 9두를 포함하여 180두를 공시하였다.

3) 공시 정액

공란우의 수정에 사용된 정액은 축협중앙회 개량사업본부 한우개량부의 후대검정을 필한 한우 종모우 8두에서 채취한 동결 정액을 공시하였다.

2. 공란우의 과배란 처리 및 수정

공란우의 과배란 유기에 사용된 성선자극호르몬은 FSH-P® (Schering-Plough Animal Health,

USA) 및 SUPER-OV® (Ausa International Inc., Canada)의 2종류로 발정주기 9~14일째부터 투여하였다. 선발된 공란우는 1~3회 과배란처리를 하였으며, FSH-P® 투여 12~24시간전에 gentamicin sulfate(D.S Gentamicin Inj®, Dongshin Pharm. Co., Korea) 80 mg을 멸균 증류수 50 ml에 희석하여 자궁강내에 주입하였다. FSH-P®는 32 mg을 5일간 12시간 간격으로 감량 분할하여 근육주사하고 FSH-P® 투여 4일째에 dinoprost(Lutalyse™, Upjohn, U.S.A.) 45 mg을 2회 분할 근육주사하였으며, SUPER-OV®는 75 unit를 3일간 12시간 간격으로 12.5 unit씩 동량 분할 근육주사하고 SUPER-OV® 투여 3일째에 dinoprost 45 mg을 2회 분할 근육 주사하였다.

공란우 발정발현 12시간 후에 정액 straw 2개를 사용하여 인공수정하고 GnRH(Conceral®, Dongbang Co., Korea) 200 µg을 근육주사하였다. 1차 수정 12시간 후 정액 straw 2개를 사용하여 재수정하였으며, 10~12시간 후 cefazolin sodium(Cefazol®, Eagle Chemical, Korea) 500 mg을 멸균 생리식염수 20 ml에 희석하여 자궁강내 주입하였다.

3. 수정란의 회수

과배란 처리된 공란우의 발정발현 7~8일째에 lidocaine hydrochloride(2% Lidocaine Inj®, Jeil Pharm. Co., Korea) 50~70 mg으로 경막외마취를 실시하고, Foley catheter(Balloon Catheter®, Fujihira Industry Co., Japan)를 이용하여 경관경유법으로 수정란을 채란하였다.

채란액은 56℃에서 30분간 비동화처리된 Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco BRL Life Technologies, Inc., U.S.A.) 2%와 100,000 unit의 penicillin G sodium, 100 mg + streptomycin sulfate + 250 µg의 amphotericine B(Anitibiotic-Anitmycotic®, Gibco BRL Life Technologies, Inc., U.S.A.)가 첨가된 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(D-PBS, Gibco BRL Life Technologies, Inc., U.S.A.)였다.

양측의 자궁각에 각각 250~350 ml의 채란액으로 관류하여 Foley catheter에 연결된 tubing을 이용, 500 ml cylinder에 회수한 채란액은 30분간 실온에

서 정지한 후 상층액을 천천히 제거하여 100 ml 정도의 남은 채란액을 100×20 mm의 멸균 petri dish에 옮겨 14~84배율의 실체현미경(Olympus, Japan)에서 수정란을 회수하거나, Foley catheter에 연결된 tubing을 직접 수정란회수기(Embryo Collector®, Fujihira Industry Co., Japan)에 연결하여 채란액을 여과하여 실체현미경하에서 수정란을 회수하였다.

회수한 수정란은 FBS가 20% 첨가된 D-PBS가 들어 있는 35×10 mm의 tissue culture dish(Corning Laboratory Science Co., U.S.A.)로 옮겨 Linder와 Wright(1983)의 기준에 따라 수정란의 발육 단계와 질을 형태학적으로 평가하였다. 수정란의 발육 단계는 상실배기(morula), 배반포기(blastocyst) 및 확장배반포기(expanded blastocyst)로 구분하였으며, 수정란의 질은 우수(excellent), 우량(good), 보통(fair) 및 불량(변성란 및 미수정란)으로 구분하였고, 이 중 우수, 우량 및 보통을 나타내는 수정란을 이식가능 수정란으로 선정하였다.

4. 수정란의 동결 및 융해

회수한 수정란중 우수 및 우량한 형태를 나타내는 수정란만 동결 보존하였다. 선별된 수정란은 FBS 20%와 0.4, 0.8 및 1.4 M 농도의 glycerol이 함유된 D-PBS 보존액에 각각 10분씩 평형한 후 0.25 ml straw(IMV, France)에 1개씩 장진하였다.

채취한 수정란의 동결은 수정란동결기(CG-5000®, Cryogenetic Technology Inc., USA)를 이용하여 실온에서 -6℃까지 1℃/분의 속도로 냉각하고 6℃에서 식빙후 10분간 정지하였다가 -35℃까지 0.3℃/분의 속도로 동결, 액체질소에 침지하여 보존하였다.

수정란의 융해는 수정란이 들어 있는 straw를 액체질소통에서 꺼내어 30~32℃의 온수에서 약 10~15초간 급속 융해한 후 수정란을 tissue culture dish로 옮겨 동결시의 역순으로 glycerol을 희석하였다. 희석이 끝난 수정란은 최종적으로 glycerol이 함유되지 않은 FBS가 20% 첨가된 D-PBS 보존액에서 약 10분간 보존 후 0.25 ml straw에 장진하였다.

5. 수정란의 이식

수란우는 luprostiol(Prosolvin®, Intervet, Holland) 15 mg을 1회 근육주사 또는 11일 간격으로 2회 근육주사하여 발정을 유지시키므로서 동기화하였으며, 자연발정우가 동기화되는 기간에 발정이 온 개체는 수정란 이식에 이용하였다.

발정이 동기화된 수란우는 수정란 이식전에 직장검사를 통하여 뚜렷한 황체가 있는 개체를 선발하였으며, 직장 및 자궁을 이완시켜 수정란 이식이 보다 용이하게 하기 위하여 lidocaine hydrochloride 50 mg으로 경막외마취를 하였다.

용해한 수정란을 0.25 ml straw(IMV, France)에 주입하여 수정란이식기(IMV, France)에 장진하고, sheath(IMV, France)와 oversleeve(IMV, France)을 장착하여 질내로 삽입하였다. 이식기 끝이 자궁경관 입구에 도달하면 oversleeve을 당겨서 파열시킨 후 이식기의 선단부가 질점막에 접촉되지 않은 상태로 자궁경관에 진입하여 통과하고, 황체 존재측의 자궁각 선단부에 이식기 끝이 도달하게 하여 수정란을 주입하였다.

6. 수정란 이식우의 임신진단

수정란 이식후 50~60일경에 직장검사로 태막과 자궁의 크기 등을 측정하여 임신 여부를 확인하였다.

7. 통계학적 분석

실험결과와 통계학적 분석은 General Linear Models Procedure(SAS, 1988)를 이용하여 least square means을 구하고 요인간의 유의차를 검정하였다. 최소자승평균을 구하기 위하여 설정한 선형 모형은 다음과 같다.

1) 회수 수정란수

$$y_{ijklmn} = \mu + h_i + y_j + s_k + r_l + c_m + e_{ijklmn}$$

여기서 y_{ijklmn} : 회수 수정란수

μ : 회수 수정란의 평균

h_i : 호르몬의 효과($i=1,2$)

y_j : 연도의 효과($j=1,4$)

s_k : 계절의 효과($k=1,4$)

r_l : 처리빈도의 효과($l=1,3$)

c_m : 회수일자의 효과($m=1,2$)

e_{ijklmn} : 오차 합계

2) 수태률

$$y_{ijklmno} = \mu + b_i + p_j + t_k + s_l + g_m + c_n + e_{ijklmno}$$

여기서 $y_{ijklmno}$: 수태률

μ : 수태률의 평균

b_i : 품종의 효과($i=1,4$)

p_j : 산차의 효과($j=1,4$)

t_k : 발정동기화 정도의 효과
($k=1,4$)

s_l : 수정란 발육단계의 효과($l=1,2$)

g_m : 수정란 등급의 효과($m=1,3$)

c_n : 발정동기화 방법의 효과
($n=1,2$)

$e_{ijklmno}$: 오차 합계

3) 생시체중 및 임신기간

$$y_{ijk} = \mu + b_i + s_j + e_{ijk}$$

여기서 y_{ijk} : 생시체중 및 임신기간

μ : 생시체중 및 임신기간의 평균

b_i : 품종의 효과($i=1,4$)

s_j : 성별효과($j=1,2$)

e_{ijk} : 오차 합계

결 과

1. 수정란의 채취성적

한우 공란우 34두를 1~3회 과배란처리하여 총 72회에 걸쳐 수정란을 회수하였다. 부여한 FSH제제의 종류, 체란년도, 체란계절, 반복체란에 따른 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 공란우당 회수한 수정란은 평균 8.72개 였고 그 중 이식가능 수정란은 4.9개 였다.

Table 1. Embryos production by factors related in superovulated Korean Native cows

Items	No. of donors	No. of embryos recovered /donor	No. of embryos transferrable /donor
Overall mean	72	8.72±6.58	4.90±5.02
FSH			
FSH-P®	67	9.74±1.64 ^a	5.84±1.23 ^a
SUPER-OV®	5	7.57±4.01 ^a	4.68±3.01 ^a
Years			
1992	7	10.62±3.98 ^a	9.84±2.99 ^a
1993	32	7.92±2.79 ^a	4.04±2.10 ^a
1994	19	10.88±2.97 ^a	3.83±2.23 ^a
1995	14	5.20±2.11 ^a	3.34±1.59 ^a
Season			
Spring	18	8.12±3.15 ^a	3.81±2.37 ^a
Summer	29	9.52±2.51 ^a	5.69±1.89 ^a
Autumn	17	9.33±2.39 ^a	6.04±1.79 ^a
Winter	8	7.65±3.10 ^a	5.50±2.33 ^a
Collection no. †			
1st	43	10.50±2.20 ^a	6.64±1.66 ^a
2nd	25	8.66±2.67 ^a	4.96±2.01 ^a
3rd	4	6.80±3.69 ^a	4.19±2.78 ^a

* Least square means and standard errors except for overall mean. Means with different superscripts within each factor group were significantly different ($P<0.05$).

† Collection intervals from the 1st to the 2nd from the 2nd to the 3rd were 94.88±36.16 days and 2nd to 3rd 50±25.90 days, respectively.

FSH제제의 종류에 따른 회수 수정란과 이식가능 수정란은 FSH-P®가 9.74개와 5.84개 였고, SUPER-OV®에서는 7.57개와 4.68개가 회수되었으나 FSH-P®와 SUPER-OV®사이에는 유의적인 차이가 없었다.

연도별 회수 수정란과 이식가능 수정란은 1992년 10.62와 9.84, 1993년 7.92와 4.04, 1994년 10.88와 3.83, 1995년 5.20와 3.34가 회수되었으나 연도간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

계절별 회수 수정란과 이식가능 수정란은 봄에는 8.12와 3.81, 여름에는 9.52와 5.69, 가을에는 9.33과 6.04, 겨울에는 7.65와 5.50가 회수되었으나 계절별로는 유의성 있는 변화가 없었다.

수정란 회수빈도에 따른 회수 수정란과 이식가능 수정란은 1회 채란시에는 10.50과 6.64, 2회에서는 8.66과 4.96, 3회에서는 6.80과 4.19가 회수되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 반복 채란간격은 1회 채란과 2회 채란간에 94.88일, 2회와 3회 간에는 74.50일이었고 반복하여 채란할 때에는 2회 이상 발정을 확인 후 과배란처리를 하였다.

발정후 수정란 회수일에 따른 수정란의 발육단계와 회수 수정란수는 Table 2에서 보는 바와 같다. 수정후 7일에 회수된 이식가능 수정란 4.18개중 상실배기가 2.19개로 52.5%, 배반포기는 1.75개로 42.0%, 확장배반포기는 0.23개로 5.5% 였고, 8일에 회수된 이식가능 수정란 6.34개중 상실배기가 0.56개

로 8.8%, 배반포기는 4.52개로 71.3%, 확장배반포기는 1.26개로 19.9% 였다. 공란우 발정후 7일에는 상실배기가, 8일에는 배반포기와 확장배반포기가 많이 회수되었으며, 확장배반포기는 회수일에 따라 유의적인 차이를 나타내었다($P < 0.05$).

2. 동결 수정란 이식우의 자우 생산

한우 동결 수정란을 융해후 수란우에 이식하여 수태률을 분석한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 수란우 180두에 동결 수정란을 이식하여 임신된 수란우는 80두로서 평균 44.44%의 수태률을 나타내었다.

이식 수정란의 질에 따른 수태률은 우수가 42.99%, 우량이 40.17%, 보통이 5.90%로 우수와 우량이 보통보다 유의적으로 높은 수태률을 보였다($P < 0.05$). 수정란의 발육단계에 따른 수태률은 상실배기가 43.86%로 배반포기 15.51%보다 유의적으로 높은 수태률을 보였다($P < 0.05$). 수란우의 발정동기화 방법에 따른 수태률은 PGF_{2α}투여에 의한 발정유기 수란우가 39.60%, 자연발정 수란우가 19.77% 였으나 발정동기화 방법간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 수란우와 공란우의 발정동기화 정도에 따른 수태률은 수란우가 공란우보다 발정이 1일 늦게 발현된 수란우가 37.42%, 같은 날 발현된 수란우가 21.81% 였으며, 수란우의 발정발현이 공란우보다 1일 늦거나 같은 날 발현된 수란우간의 수

Table 2. Comparison of embryos recovered in days 7 and 8 in superovulated Korean Native cows

Items	Collecting day	
	Day 7	Day 8
No. of donors	59	13
No. of embryos recovered /donor	5.66±2.21 ^a	11.65±3.14 ^a
No. of embryos transferrable [†] /donor	4.18±1.66 ^a	6.34±2.36 ^a
No. of embryos developed to /donor		
Morula	2.19±1.23 ^a	0.56±1.75 ^a
Blastocyst	1.75±1.13 ^a	4.52±1.61 ^a
Expanded blastocyst	0.23±0.14 ^a	1.26±0.19 ^b

* Least square means and standard errors. Means with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

† All embryos of morula, blastocyst and expanded blastocyst embryos stage were evaluated as transferrable.

Table 3. Comparison of conception rate by factors related on transfer of frozen-thawed embryos of Korean Native cattle*

Items	No. of recipients transferred	No. of recipients pregnant	Conception rate (%)
Overall mean	180	80	44.44 ± 49.82
Embryonic grade			
Excellent	85	40	42.99 ± 14.07 ^a
Good	61	31	40.17 ± 12.30 ^a
Fair	34	9	5.90 ± 16.07 ^b
Embryonic stage			
Morula	98	47	43.86 ± 13.45 ^a
Blastocyst	82	33	15.51 ± 13.73 ^b
Synchronization method			
Natural	18	7	19.77 ± 16.50 ^a
Induced	162	73	39.60 ± 11.73 ^a
Synchrony (day) [†]			
+2	3	2	57.42 ± 30.36 ^a
+1	49	27	37.42 ± 9.87 ^a
0	125	50	21.81 ± 8.76 ^a
-1	3	1	2.09 ± 29.47 ^a
Recipient breed			
Angus	82	42	37.88 ± 12.02 ^a
Charolais	27	10	16.45 ± 15.11 ^a
Hereford	62	24	30.54 ± 12.05 ^a
KNC	9	4	33.87 ± 22.37 ^a
Recipient parity			
Heifer	67	27	26.37 ± 15.02 ^a
1~2	49	22	29.78 ± 13.11 ^a
3~6	44	25	46.03 ± 14.24 ^a
7≤	20	6	16.56 ± 16.19 ^a

* Least square means and standard errors except for overall mean. Means with different superscripts within each factor group were significantly different ($P < 0.05$).

[†] Figures indicate days when the recipient exhibited estrus after (+) or before (-) the donor showed estrus.

태물에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 수란우 품종에 따른 수태률은 Angus종이 37.88%, Charolais종이 16.45%, Hereford종이 30.54%, 한우가 33.87% 였으나 품종간에 유의적인 차이는 없었다. 수란우 산차에 따른 수태률은 처녀우; 26.37%, 1~2산차; 29.78%, 3~6산차; 46.03%, 7산차; 16.56% 였으나 산차가 수태률에 유의적으로 영향을 미치지 않았다.

한우 동결 수정란을 이식한 수란우의 유산률은 Table 4에서 보는 바와 같다. 임신된 수란우 80두중

10두가 유산하여 12.5%의 유산률을 나타내었으며,

Table 4. Calving and abortion rates pregnant cows following transfer of frozen-thawed embryos of Korean Native cattle

Items	No. of cows	Percentage
Total no. of pregnant cows	80	100.0
Aborted cows	10	12.5
Calved cows	70	87.5

Table 5. Birth weight and gestation length by recipient breed and calves sex following transfer of frozen-thawed embryos of Korean Native cattle (KNC)*

Items	No. of recipients	Birth weight (kg)	Gestation length (days)
Overall mean	70	24.22±2.84	288.50±5.49
Breed			
Angus	38	24.18±0.46 ^a	287.86±0.83 ^a
Charolais	9	23.33±0.95 ^a	285.92±1.72 ^a
Hereford	19	25.05±0.66 ^a	290.90±1.19 ^a
KNC	4	22.75±1.42 ^a	287.50±2.57 ^a
Sex			
Female	33	23.82±0.59 ^a	286.70±1.07 ^a
Male	37	23.83±0.57 ^a	289.39±1.04 ^b

* Least square means and standard errors except for overall mean. Means with different superscripts within each factor group were significantly different ($P < 0.05$).

87.5%는 정상적인 분만을 하였다.

한우 수정란 이식 수란우의 임신기간과 생시체중을 수란우 품종과 송아지 성별로 분석한 결과는 Table 5와 같다. 정상적으로 분만한 수란우의 평균 임신기간은 288.50일이었으며 생시체중은 24.22kg이었다. 수란우 품종에 따른 임신기간은 Angus종: 287.86일, Charolais종: 285.92일, Hereford종: 290.90일, 한우: 287.50일 였으나 품종간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 한편 성별에서는 암송아지를 임신한 수란우가 286.70일로 수송아지를 임신한 수란우의 289.39일에 비해 유의적으로 짧은 임신기간을 보였다($P < 0.05$). 분만 송아지의 생시체중은 수란우 품종에 따라 Angus종: 24.18kg, Charolais종: 23.33kg, Hereford종: 25.05kg, 한우: 22.75kg 였고, 성별로는 암송아지가 23.82kg, 수송아지가 23.83kg 였으며, 송아지의 생시체중에는 수란우의 품종과 성별이 유의적인 영향을 미치지 않았다.

고 찰

소에서 수정란 이식은 일찍이 실용화가 되어 능력 개량과 증식의 수단으로 널리 이용되어 왔다 (Callesen 등, 1996; Lohuis, 1995; Lohuis 등, 1993; Hasler, 1992; King 등, 1985a). 국내의 소 수정란 이식 연구는 1980년대 초부터 시작되어 수정란의 생산 효율 및 이식 수정란의 수태률에 대한

연구와 실험실적인 연구가 주로 이루어졌으며(황과 조, 1988; 정 등, 1983a; 정 등, 1983b; 구 등, 1982; 고 등, 1981b), 일부에서는 젖소의 동결 수정란을 외국으로부터 도입(석 등, 1984; 오 등, 1986), 또는 능력이 우수한 젖소로부터 수정란을 회수하여 능력 개량에 활용하여 왔다(노 등, 1988; 이 등, 1987). 그러나 한우에서는 능력이 우수한 공란우로부터 수정란을 채취하여 능력 개량 및 증식을 위한 수단으로 활용한 연구보고는 아직 없다. 따라서 우수한 형질을 보유하고 있는 한우에서 수정란을 채취, 동결 보존이 경제성이 낮은 육우 등에 이식하므로써 우량 한우 송아지의 조기 증식과 한우의 능력개량을 수행하면서 수정란 회수, 수태률, 분만상황을 조사 분석하였다.

소의 번식에서 유전적으로 우수한 자질을 지니고 있는 많은 송아지를 생산하여 고능력 핵군을 조성하기 위해 과배란과 수정란 이식(Multiple Ovation and Embryo Transfer, MOET)의 기술을 이용하고 있으나 아에는 여러 요인이 영향을 미치고 있다. 공란우 측면에서는 과배란처리 반응, 과배란처리 시기, 수란우에서는 산차, 발정동기화, 이식 빈도, 수정란 이식에서는 황체의 질, 이식부위, 수태률, 임신기간중 발정, 유산률, 분만에서는 생산 송아지수, 성별, 분만 송아지 상태 등의 요인이 있다(Callesen 등, 1996).

과배란유기 목적으로 FSH제제를 투여하였을 때

이식가능 수정란의 회수에 대한 반응이 다르게 나타나는 원인은 FSH내에 함유되어 있는 LH가 수정란을 저해하여 LH성분이 증가할수록 이식가능 수정란 수를 감소시키기 때문인 것으로 알려져 있다 (Donaldson 등, 1987; Donaldson, 1986). 그러나 Lindsell 등(1986)은 FSH-P®에 의한 과배란 유기시 FSH와 LH의 비율이 황체수, 회수 수정란, 이식가능 수정란의 수에 영향을 미치지 않는다고 했다.

FSH는 적정량을 투여시 양호한 반응을 보이거나 과량 또는 부족량을 투여시는 반응을 저하시킨다는 연구보고가 많다. Bellows 등(1991)은 합성 소 난포자극호르몬(The recombinant bovine follicle stimulating hormone, bFSH) 18mg을 투여하였을 때 24mg을 투여하였을 때보다 정상적인 수정란 수가 많았다고 하였으며, Donaldson(1984b)은 FSH-P®를 24~40mg 투여한 경우 이식가능 수정란이 5.1~5.9개가 회수되었으나 50~60mg을 투여하였을 때는 2.7~3.8개로 감소함으로 28mg을 투여하는 것이 좋다고 했다. Pawlyshyn 등(1986)도 육우에서 FSH-P®를 60mg을 투여하였을 때 회수되는 수정란과 이식가능 수정란수가 감소하였으며 30mg 투여시 이식가능 수정란수는 회수 수정란의 34%인 6.4개 였다고 했다.

Donaldson(1990)은 FSH-P® 30mg과 SUPER-OV® 75unit를 투여하여 과배란처리 반응을 비교한 결과 SUPER-OV®는 회수한 난자 중 59.7%인 6.8개가 이식가능 수정란이었고 FSH-P®는 회수한 난자 중 35.5%인 3.4개가 이식가능 수정란으로, FSH-P®보다는 SUPER-OV®가 양호한 결과를 나타냈다고 했다.

본 연구에서는 공란우 72두에서 회수한 수정란은 평균 8.72개였고 그 중 이식가능 수정란은 4.90개로 56.2%를 나타내어 다른 연구자들의 성적과 일치하거나 보다 양호한 결과를 얻었다. 그러나 FSH종류에 따른 회수 수정란과 이식가능 수정란은 FSH-P®가 9.74개와 5.84개, SUPER-OV®는 7.57개와 4.68개로서 Donaldson(1990)의 SUPER-OV®가 FSHP®보다는 이식가능 수정란이 더 많이 회수되었다는 보고와의 차이는 공시축이 적은데서 나타나는 결과로 추측된다.

Hasler 등(1987)은 6년간 825두의 공란우에 1,625

회 과배란처리로 수정란을 회수한 결과에서 연도간에 유의적인 차이가 없었다고 하였다. 본 연구에서도 1992년부터 4년간 과배란처리 된 공란우로부터 72회에 걸쳐 회수한 수정란의 수를 조사 분석한 결과는 연도간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

계절이 과배란처리에 미치는 영향에 대하여 Shea 등(1984)과 Massey와 Oden(1984)은 겨울이, Almeida(1987a)와 Gordon 등(1987)은 여름이, Kim 등(1985a)은 여름이 다른 계절보다 저조한 성적을 나타내었다고 했다. 그러나 Hasler 등(1983)은 과배란처리후 공란우로부터 회수되는 이식가능 수정란의 수는 계절과는 무관하다고 하였으며, 본 연구에서도 계절이 회수되는 수정란과 이식가능 수정란에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

Almeida(1987b)는 과배란처리의 반복은 호르몬의 이종단백에 대한 항체가 생성되어 과배란 반응이 감소하는 경향을 나타낸다고 하였으며, Hasler 등(1983)도 반복하여 과배란을 처리하면 난자의 수정률과 회수되는 수정란의 수가 감소한다고 하였다. 그러나 Donaldson과 Perry(1983)와 양 등(1988)은 과배란처리를 반복하여도 이식가능 수정란 수에는 영향을 미치지 않았다고 하였으며, 본 연구에서도 반복처리의 빈도에 따라 회수 수정란과 이식가능 수정란의 수에 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

과배란 처리된 공란우에서 회수되는 수정란의 발육단계에 대하여는 연구자간에 다소 차이를 나타내고 있다(Donaldson, 1986; Lindner와 Wright 1983; Betteridge, 1977). Donaldson(1986)은 수정 후 6일에 회수되는 수정란은 상실배기가 92.5%, 7일은 상실배기와 배반포기가 각각 31.9%와 57.5%, 8일은 배반포기와 탈출배반포기가 각각 81.0%와 10.9%라고 하였으며, 수정 후 7일 이후에는 이식가능 수정란이 많이 회수되었다고 하였다. Lindner와 Wright(1983)는 수정 후 5~6일에 회수되는 수정란은 상실배기가 87~90%, 7일은 상실배기와 배반포기가 각각 40%와 53%, 8일은 배반포기와 확장 및 탈출 배반포기가 각각 45%와 41%라고 하였다.

본 연구에서는 공란우의 발정 후 7일에 회수된 이식가능 수정란의 발육단계는 상실배기; 52.5%, 배반포기; 42.0%, 확장배반포기; 5.5%였고, 8일은

상실배기; 8.8%, 배반포기; 71.3%, 확장배반포기; 19.9%였다. 따라서 한우의 과배란처리 후 수정란 채취에서 상실배기는 수정후 7일에, 배반포기는 8일에 대부분이 회수가 되는 것을 알 수가 있었다.

수정란 이식의 실용화에 따라 동결 수정란의 수태률은 매우 향상되어 비외과적이식에서도 50~70%의 수준에 있다(Lohuis 등, 1993; Munar와 Hasler, 1989; Thibier와 Nibart, 1987). 본 연구에서는 평균 44.44%로 다소 저조한 성적을 나타내었다. 그러나 노 등(1988)의 44.0%, 오 등(1986)의 45%와 비슷한 결과를 나타내었고, 김 등(1992)의 32.4% 보다는 양호한 성적을 보였다.

Hasler 등(1987)은 신선 수정란의 외과적 이식에서 수태률은 우수; 73%, 우량; 60%, 보통; 41%이었다고 하였으며, 황과 조(1988)는 동결 수정란의 비외과적이식에서 1등급; 60.5%, 2등급; 47.8%, 3등급; 18.1% 였다고 했다.

본 연구에서도 우수 및 양호한 수정란의 수태률이 각각 42.99% 및 40.17%로 보통의 수정란 5.90%보다 유의적으로 높은 수태률을 나타내어 우수 및 우량의 수정란을 이식하여야 수태률이 높아짐을 알 수 있었다.

수정란의 발육단계에 따른 수태률에 대한 본 연구에서 상실배기의 수태률이 43.86%로 배반포기 15.51%보다 유의적으로 높은 성적을 나타내어($P < 0.05$), 배반포기가 상실배기보다 수태률이 높다는 보고(양 등, 1988; Putney 등, 1988; Hasler 등, 1987; Wright, 1985; Looney 등, 1984; Wright, 1981; Schneider 등, 1980; Halley 등, 1979)와 차이를 보였는데 이것은 본 실험에 공시된 수란우가 상실배기 수정란의 착상에 적합한 조건을 갖추고 있었기 때문으로 사료된다.

Sreenan 등(1975)은 수정란의 발정동기화 방법에 따른 수태률은 PGF_{2α} 등의 호르몬제를 투여하여 발정을 유기한 수란우가 자연발정우보다 수태률이 높으며, 그 이유는 발정유기 호르몬제를 투여한 후에는 발정관찰을 집중적으로 세심하게 하여 이식수정란과 발정동기화를 정확하게 맞출 수 있기 때문이라고 하였다. 그러나 Wright(1981)는 동기화 방법이 수태률에는 영향을 미치지 않는다고 했다. 본 연구에서는 PGF_{2α} 투여에 의한 발정유기 수란우의

수태률이 41.09%, 자연발정 수란우가 24.13% 였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

이식하는 수정란에 적합한 자궁환경을 가진 수란우를 선택하여야 수태률이 높아지기 때문에 수정란의 일령과 수란우와의 발정동기화가 중요하나 연구자에 따라 다소 다르게 보고하고 있다. 본 연구에서는 수란우가 공란우보다 1일 늦게 발현되었을 때의 수태률이 37.42%, 수란우와 공란우의 발정발현일이 일치하였을 때가 21.81% 였으나 유의적인 차이는 없었다.

Donaldson(1984a)과 Putney 등(1988)은 수란우의 품종이 수태률에 영향을 미친다고 하였으나 Hasler 등(1987)은 수태률의 차이가 없다고 하였다. 본 연구에서는 Angus종, Charolais종, Hereford종 및 한우의 품종간에 수태률이 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

수란우의 산차에 따른 수태률에서 미경산우가 경산우보다 높은 것은 자궁의 상태가 양호하고 경산우에 비해 영양적인 스트레스를 적게 받기 때문인 것으로 알려져 있다. Putney 등(1988)은 젖소에서는 미경산우가 경산우보다 수태률이 높았으나 육우에서는 경산우가 미경산우보다 높은 수태률을 나타내었다고 했다. 그러나 석 등(1984)은 동결 수정란을 외과적으로 이식하였을 때 미경산우와 경산우의 수태률은 각각 35.7%와 37.5%로 비슷하였다고 했다. 본 연구에서도 수란우의 산차에 따른 수태률이 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

King 등(1985a)은 수정란 이식된 수란우의 유산률은 3~15% 수준으로 주로 30~90일 이내의 유산률이 높으며, Betteridge(1993)는 유산의 원인은 수정란 이식시 수정란의 질이 다소 영향을 미친다고 하였다. 본 연구에서의 유산률은 12.5%로서 Kim 등(1985b)의 15.6%보다는 다소 낮았으나 Hasler 등(1987)의 4.7%, Dochi 등(1995)의 10.4%보다는 높은 유산률을 나타내었다.

Humes 등(1987)은 수정란 이식 송아지의 임신기간 및 생시체중은 수란우보다 공란우의 영향을 받는다고 하였다. King 등(1985b)은 수정란 이식 후 송아지 생시체중은 Angus종; 32.8kg, Hereford종; 36.2kg으로 자연번식된 송아지와 차이가 없었다고 했고, Chapman 등(1978)도 Hereford종의 생시체

중은 평균 31kg이라 하였으며, 임신기간은 King 등 (1985b)은 수정란 이식 수란우의 임신기간은 Angus종; 281.0일, Hereford종; 285.7일이었고 수송 아지가 암송아지보다 1.4일 길었으며 수정란이식 송아지의 임신기간이 자연번식에 송아지보다 1.5일이 더 길었다고 했다.

한우의 임신기간은 283~286일이고, 생시체중은 23~25kg으로 생시체중과 임신기간은 유전적인 요인과 환경적인 요인에 의해 결정되는 경제형질로서 중요한 의미를 갖고 있으며, 임신기간이 짧을수록 번식효율을 높이고 생산비를 줄일 수 있는 유리한 점이 있다. 한우의 생시체중과 임신기간은 분만계절, 사육지역, 산차, 송아지의 성, 단태와 쌍태 분만 등의 요인들이 영향을 미친다고 하였다(최 등, 1996; 신 등, 1986; 신 등, 1984; 탁 과 이, 1979). 신 등(1986)은 한우 및 Angus종의 생시체중은 24.1kg 및 25.9kg이었고 임신기간은 285.7일 및 279.8일이었으며, 한우에 있어서는 수송아지가 암송아지보다 임신기간이 1일 이상 길게 나타나고 체중은 0.6kg 정도가 무거웠고, 봄이나 여름에 분만된 송아지가 가을과 겨울에 분만된 송아지보다 생시체중이 무거웠다고 하였으며, 이는 외기온이 높아지고 일조시간이 길어지는 현상에 따라 암소의 신체적 조건에 변화를 가져와 생시체중에 이행되는 것으로 추측된다고 하였다.

본 연구에서는 한우 수정란이식으로 분만한 수란우의 평균 임신기간은 288.50일이었으며 생시체중은 24.22kg이었다. 수란우 품종에 따른 임신기간은 Angus종; 287.86일, Charolais종; 285.92일, Hereford종; 290.90일, 한우; 287.50일로서 한우와 Angus종은 유사하였으나 한우보다 Hereford종은 길었고, Charolais종은 짧았다. 한편 성별에서는 암송아지를 임신한 수란우가 수송아지를 임신한 수란우보다 유의적으로 짧은 임신기간을 보였다($P < 0.05$). 분만 송아지의 생시체중은 수란우 품종에 따라 Angus종; 24.18kg, Charolais종; 23.33kg, Hereford종; 25.05kg, 한우; 22.75kg으로 Hereford종에서 분만한 송아지가 다소 무거웠으며, 송아지 성별에 따른 차이는 없었다. 한우 수정란의 육우 이식에서 분만한 송아지의 임신기간은 한우의 일반적인 임신기간보다 다소 길었으나 생시체중은 유사하였

다. 한우 동결 수정란의 이식으로 분만한 송아지의 임신기간이 다른 보고자들의 한우의 평균 임신기간보다 다소 긴 것은 육우 수란우의 영향보다는 환경의 요인이 영향을 미친 것으로 사료된다.

따라서 국제 경쟁력이 약하고 경제성이 낮은 육우를 사육하는 목장에서 한우로 교체하고자 할 때 한우의 수정란을 육우에 이식하게 되면 분만되는 송아지는 유량도 한우보다 많고 장기사육으로 지역의 상재질병에 대한 저항성이 있는 육우의 초유를 충분히 섭취할 수 있으므로 건강한 송아지를 육성할 수 있어, 질병에 의한 생산성의 감소를 방지할 수 있고 한우 구입비를 절감하면서 우량한 한우의 입식과 증식에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

동결 수정란 이식에 의하여 유전적으로 우수한 능력을 보유한 한우 송아지 생산기술의 정착을 위해 본 연구를 실시하였으며, 과배란처리시의 수정란 회수와 동결 수정란의 수태률에 미치는 요인을 분석하고, 송아지 분만 상황을 조사한 결과는 다음과 같다.

공란우 34두를 1~3회 과배란처리하여 72회에 걸쳐 회수한 수정란은 평균 8.72개였고, 그 중 이식가능 수정란은 4.90개였다. 과배란처리용 FSH제제의 종류별, 회수 연도별, 회수 계절별 및 회수 빈도별로 회수 수정란과 이식가능 수정란수를 조사하였더니 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

동결 수정란을 180두의 수란우(Angus종; 82두, Charolais종; 27두, Hereford종; 62두, 한우; 9두)에 이식하여 임신된 수란우는 80두로서 평균 44.44%의 수태률을 나타내었다. 이식 수정란의 질에 따른 수태률은 우수; 42.99%, 우량; 40.17%, 보통; 5.90%로 우수와 우량이 보통보다 유의적으로 높은 수태률을 보였다($P < 0.05$). 수정란의 발육단계에 따른 수태률은 상실배기가 43.86%로 배반포기의 15.51%보다 유의적으로 높은 수태률을 나타내었다($P < 0.05$). 그러나 수란우의 발정동기화 방법, 수란우와 공란우와의 발정동기화 정도, 수란우의 품종 및 수란우의 산차에 따른 수태률의 유의적인 차이는 없었다.

임신된 수란우 80두 중 10두가 유산하여 12.5%의 유산률을 나타내었으나 87.5%는 정상적인 분만을 하였다.

정상적으로 분만한 수란우 70두의 평균 임신기간은 288.50일이었으며 생시체중은 24.22kg이었다. 분만 송아지의 성별에 따른 수란우의 임신기간은 암송아지가 286.70일로 수송아지 289.39일보다 유의적으로 짧았으나($P < 0.05$), 수란우 품종에 따른 임신기간과 생시체중은 유의적인 차이가 없었다.

참고문헌

- Almeida AP, Fo. 1987a. Seasonal variations in the superovulatory responses to PMSG in dairy cow. *Theriogenology*, 27(1):204.
- Almeida AP, Fo. 1987b. Superovulatory responses in dairy cows repeatedly treated with PMSG. *Theriogenology*, 27(1):205.
- Bellows RA, Staigmiller RB, Wilson JM, Phelps DA and Darling A. 1991. Use of bovine FSH for superovulation and embryo production in beef heifers. *Theriogenology*, 35(6):1069-1082.
- Betteridge KJ. 1977. Embryo transfer in farm animals : A review of techniques and applications. Canada Dept. Agric., Ottawa. Monograph., 16:1-10.
- Betteridge KJ and Loskutoff NM. 1993. Prospects for improving the survival rate of transferred embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 36:262-265.
- Boland MP, Goulding D and Roche JF. 1991. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*, 35(1):5-17.
- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DF. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology*, 35(1):125-139.
- Callesen H, Greve T and Christensen F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 27(1):217.
- Callesen H, Liboriussen T and Greve T. 1996. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 42:215-226.
- Chapman HD, Young JM, Morrison EG and Edwards NC, Jr. 1978. Differences in lifetime productivity of herefords calving first at 2 and 3 years of age. *J. Anim. Sci.*, 46(5):1159-1162.
- Coleman DA, Dailey RA, Leffel RE and Baker RD. 1987. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *J. Dairy Sci.*, 70(4):858-866.
- Dochi O, Imai K and Takakura H. 1995. Birth of calves after direct transfer of thawed bovine embryos stored frozen in ethylene glycol. *Anim. Reprod. Sci.*, 38:179-185.
- Donaldson LE and Perry B. 1983. Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cows. *Theriogenology*, 20(2):163-168.
- Donaldson LE. 1984a. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology*, 21(6):1013-1018.
- Donaldson LE. 1984b. Dose of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenology*, 22(2):205-212.
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stages and grades with recipient estrous synchrony in bovine embryo transfer. *Vet. Rec.*, 119:489-491.
- Donaldson LE. 1986. Day of embryo collection, quality and pregnancy rates in cattle. *Vet. Rec.*, 118:661-663.
- Donaldson LE and Ward DN. 1986. Effects of luteinising hormone on embryo production in superovulated cows. *Vet. Rec.*, 119:625-626.
- Donaldson LE, Ward DN and Glenn SD. 1986. Use of porcine follicle stimulating hormone

- after chromatographic purification in superovulation of cattle. *Theriogenology*, 25(6):747-757.
- Donaldson LE and Ward DN. 1987. LH effects on superovulation and fertilization rates. *Theriogenology*, 27(1):225.
- Donaldson LE. 1990. Embryo production by SUPER-OV[®] and FSH-P[®]. *Theriogenology*, 33(1):214.
- Dorn CG, Baker JF, Lunt DK and Kraemer DC. 1991. Repeated, short interval superovulation in virgin heifers. *Theriogenology*, 35(1):302.
- Elsden RP, Nelson LD and Seidel GE, Jr. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 9(1):17-26.
- Godkin AM, Leslie KE, Wain GM and Leslie BE. 1987. Factors affecting pregnancy rate following non-surgical transfer of frozen bovine embryos. *Theriogenology*, 27(1):230.
- Gordon I, Boland MP, McGovern H and Lynn G. 1987. Effect of season on superovulatory responses and embryo quality in Holstein cattle in Saudi Arabia. *Theriogenology*, 27(1):231.
- Goulding D, Williams DH, Duffy P, Boland MP and Roche JF. 1990. Superovulation in heifers given FSH initiated either at day 2 or day 10 of the estrus cycle. *Theriogenology*, 34(4):767-778.
- Grasso F, Guibault LA, Roy GL, Matton P and Lussier JG. 1989. The influence of the presence of a dominant follicle at the time of initiation of a superovulatory treatment on superovulatory responses in cattle. *Theriogenology*, 31(1):199.
- Halley SM, Rhodes III RC, Mckellar LD and Randel RD. 1979. Successful superovulation, nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. *Theriogenology*, 12(1):97-108.
- Hasler JF, McCauley AD, Schermerhorn EC and Foote RH. 1983. Superovulatory response of Holstein cows. *Theriogenology*, 19(1):83-99.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27(1):139-168.
- Hasler JF. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75(10):2857-2879.
- Heyman Y. 1985. Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. *Theriogenology*, 23(1):63-75.
- Humes PE, Voelkel SA, Aguel CF, Rorie RW and Godke RA. 1987. The effect of the beef recipient female on embryo transplant offspring. *Theriogenology*, 27(1):115-137.
- Kanagawa H. 1987. Research problems of embryo transfer technology. *Korean J. Emb. Trans.*, 2(1):1-8.
- Kim HS, Kim YJ, Lee JM, Lee KS and Chung KS. 1985a. Studies on the factors affecting superovulation induction in cattle. *Korean J. Anim. Sci.*, 27(4):201-205.
- Kim HS, Oh SJ, Yang BS, Lee KS and Chung KS. 1985b. Studies on the non-surgical embryo recovery and transfer in cattle. *Korean J. Anim. Sci.*, 27(4):206-210.
- King KK, Seidel GE, Jr. and Elsden RP. 1985a. Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rates and characteristics of calves. *J. Anim. Sci.*, 61(4):747-757.
- King KK, Seidel GE, Jr. and Elsden RP. 1985b. Bovine embryo transfer pregnancies. II. Lengths of gestation. *J. Anim. Sci.*, 61(4):758-762.
- Lindner GM and Wright RW, Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Ther-*

- ioenology, 20(4):407-416.
- Lindsell CE, Rajkumar K, Manning AW, Emery SK, Mapletoft RJ and Murphy BD. 1986. Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotropins. *Theriogenology*, 25(1):167.
- Lohuis MM, Smith C and Dekkers JCM. 1993. MOET results from a dispersed hybrid nucleus programme in dairy cattle. *Anim. Prod.* 57:369-378
- Lohuis MM. 1995. Potential benefits of bovine embryo-manipulation technologies to genetic improvement programs. *Theriogenology*, 43(1):51-60.
- 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(1):246.
- Massey JM and Oden AJ. 1984. No seasonal effect on embryo donor performance in the southwest region of the USA. *Theriogenology*, 21(1):223-232.
- Monniaux D, Chupin D and Saumande J. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19(1):55-81.
- Munar CJ and Hasler JF. 1989. Results of the first frozen bovine embryos exported from the USA to Argentina. *Theriogenology*, 31:320.
- Nelson CF and Nelson LD. 1988. Cryopreservation of 7- to 9-day bovine embryos. *Theriogenology*, 29(1):281.
- Pawlyshyn V, Lindsell CE, Braithwaite M and Mapletoft RJ. 1986. Superovulation of beef cows with FSH-P: A dose-response trial. *Theriogenology*, 25(1):179.
- Pettit WH, Jr. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules. *Theriogenology*, 23(1):13-16.
- Putney DJ, Thatcher WW, Drost M, Wright JM and DeLorenzo MA. 1988. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology*, 30(5):905-922.
- Savio JD, Keenan L, Boland MP and Roche JF. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.*, 83(2):663-671.
- Schneider HJ, Jr., Castleberry RS and Griffin JL. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13(1):73-85.
- Shea BF, Janzen RE, McAlister RJ and McDermand DP. 1983. Freezing of bovine embryos: Effects of embryo quality, time from thawing to transfer and number frozen per vial. *Theriogenology*, 20(2):205-212.
- Shea BF, Janzen RE and McDermand DP. 1984. Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology*, 21(1):186-195.
- Sreenan JM, Beehan D and Mulvehill 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 rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27(1):99-113.
- Thibier M and Nibart M. 1987. Disease control and embryo importations. *Theriogenology*, 27(1):37-47.
- Willmott N, Saunders J, Bo GA, Palasz A, Pierson RA and Mapletoft RJ. 1990. The effect of FSH LH ratio in pituitary extracts on superovulatory response in the cow. *Theriogenology*, 33(1):347.
- Wilmot I and Rowson LEA. 1973. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. *Vet. Res.*, 92:686-690.

- Wright JM. 1981. Non-surgical transfer in cattle: embryo-recipient interaction. *Theriogenology*, 15(1):43-46.
- Wright JM. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in straw. *Theriogenology*, 23(1):17-29.
- 고광두, 정길생, 이기만. 1981. 한우의 수정란이식에 관한 연구 제Ⅲ보. 수정란의 비외과적 채취와 이식. *한국축산학회지*, 23(4):331-337.
- 구자홍, 정창국. 1982. 젖소의 비수술적 수정란회수 및 이식시험. *대한수의사회지*, 18(10):45-52.
- 김일화, 손동수, 이광원, 장인호. 1992. 젖소의 신선 수정란과 동결수란의 비외과적 이식에 관하여. *대한수의학회지*, 32(1):143-151.
- 노환철, 정광업, 신규용, 정병현, 백운화, 정길생. 1988. 우 동결수정란의 산업적 이용에 관한 연구. *한국축산학회지*, 30(3):151-159.
- 석호봉, 이광원, 오성룡, 손동수, 윤충근, 김호중, 조윤연, 오대균, 지철하, 임경순, 지디 마흔. 1984. 소의 동결수정란이 수태에 미치는 영향 Ⅲ. 5단계부유에 의한 그리세롤제거란의 외과적이식의 영향. *한국축산학회지*, 26(5):429-434.
- 신원집, 백동훈. 1984. 환경요인이 한우의 임신기간에 미치는 영향. *한국축산학회지*, 26(8):653-657.
- 신원집, 백동훈, 윤계봉, 김용환. 1986. 축우의 생시 체중과 임신기간에 영향을 미치는 요인. *한국축산학회지*, 28(10):629-634.
- 양보석, 오성종, 유승환, 김희석, 정연후, 이근상. 1988. 한우에 있어 다배란의 반복처리 및 동결 수정란 이식에 관한 연구. *한국수정란이식연구회지*, 3(1):38-42.
- 오성종, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소 발정동기화 및 동결수정란 이식에 관한 연구. *한국축산학회지*, 28(7):468-473.
- 이정호, 서태광, 박항균. 1987. 공란유우의 과배란 반응에 영향을 미치는 요인에 관한 연구. *한국수정란이식연구회지*, 2(1):27-32.
- 정길생, 이훈택, 박흥대, 정병현, 유승환. 1983a. 수정란이식에 의한 우의 쌍태유기에 관한 연구 Ⅲ. 수정란의 비외과적 회수. *한국축산학회지*, 25(5):408-412.
- 정길생, 정병현, 노환철, 윤종삼, 정태영. 1983b. 수정란이식에 의한 우의 쌍태유기에 관한 연구 Ⅳ. 회수된 수정란의 형태학적 고찰. *한국축산학회지*, 25(5):413-417.
- 최호성, 백동훈, 신원집, 손삼규, 나종삼. 1996. 한우의 체중에 대한 임신단계 및 제요인의 효과. *한국축산학회지*, 38(1):23-30.
- 탁태영, 이기만. 1979. 환경요인이 한우의 임신기간, 생시체중 및 생시체형에 미치는 영향. *농시보고*, 21(축산):75-81.
- 황우석, 조충호. 1988. 소의 비외과적 수정란이식에 있어서 수태률에 영향을 미치는 요인. *한국임상수의학회지*, 5(1):1-7.