

한우 체외수정란이식에 의한 산자 생산

조현조[†] · 김주현 · 송상현*
상주대학교 축산학과

Production of Calves by Transfer of *In Vitro* Produced Hanwoo Embryos

H. J. Cho, J. H. Kim and S. H. Song*

Department of Animal Science, Sangju National University, Sangju 742-170, Republic of Korea

SUMMARY

The objective of this study was to improve the efficiency of bovine embryo transfer by transferring of Hanwoo embryos into Hanwoo or Holstein recipients. The cryopreserved or fresh *in vitro* produced(IVP) embryos were transferred into uterine horn contralaterally or ipsilaterally to the corpus luteum. The recipients were inseminated by artificially on the next day of estrus. The pregnancy was diagnosed by rectal palpation at 60~90 days after transfer of the embryos. The pregnancy rate by transfer of one or two embryos was 78%(7/9) and 74%(31/42), respectively. The pregnancy rates according to the grade of corpus lutea of recipients was 75% (20/27) and 82.0%(18/22) at the grade of A and B, respectively. Ten(67.0%) of 15 Holstein recipients transferred with IVP Hanwoo embryos and 5(42.0%) of 12 Holstein recipients transferred with frozen IVP Hanwoo embryos were pregnant.

The single and twin calving ratio in Hanwoos was 77.0%(10/13) and 23.0%(3/13) in the recipients transferred with IVP embryos and 64.0%(7/10) and 27.0%(3/10) in the recipients transferred with frozen IVP embryos, respectively. Twenty-four pregnant cows following transfer of IVP embryos, 21(88.0%) calved the normal calves, and 2(8.3%) aborted. When the frozen IVP embryos were transferred, 16 pregnant cows calved 14(88.0%) normal calves and 2(13.0%) aborted.

In conclusion, when one or two IVP bovine embryos were transferred into recipients, the A and B grade of corpus luteum resulted in high pregnancy rates. For the production of twin calves, transfer of the IVP or frozen IVP embryos could be suitable.

(Key words : embryo transfer, *in vitro* embryos, twin production, Korean cattle)

서 론

수정란이식은 가축의 개량뿐만 아니라 가축의 번식효율을 증진하는 수단으로 널리 이용되고 있

는 번식기술이다. 최근 수정란이식 기술은 비약적인 발전을 하였으나, 산업적으로 이용하기 위해서는 많은 문제점들이 대두되고 있다. 무엇보다도 가장 중요한 문제 중의 하나는 수태율이 아주 낮다는 것이다.

*경상대학교 축산진흥연구소(Institute for Development of Livestock Production, Gyeongsang National University)

[†]Correspondence

수정란이식 기술이 조기에 정착하려면 수태율을 향상시킬 수 있는 방안이 모색되어야 할 것이다. 안정적인 수정란 생산체계 구축, 수정란의 동결기법 확립 등이 수정란 이식의 성공 여부를 결정하는 조건이 될 것이다. 체내수정란은 많은 비용과 노력이 소요되지만, 가축을 효율적으로 개량할 수 있으나, 체외수정란은 생산비용은 저렴하여 가축의 증식이나 기초연구에 이용할 수는 있으나 가축개량에는 이용할 수가 없다.

Hasler 등(1995)은 신선란과 동결란을 각각 이식하여 동결란보다는 신선란의 수태율이 유의적으로 높았으며, 동결란이 신선란에 비해 수태율이 낮은 것은 동결에 의한 수정란의 손상에 기인한다고 한다(Heyman, 1985). Sreenan과 Diskin(1987)은 황체발달 여부가 지나치게 미약하면 수태율이 낮다고 하였다. 또한 Sreenan(1988)은 배란된 난소축의 자궁에 수정란을 이식할 때 수정란의 생존율이 높다고 하였다. Heyman과 Chesen(1984)은 동결수정란 2개를 이식하는 것이 half 수정란 또는 한 개를 이식하는 것보다 유의적으로 높은 수태율을 얻었다고 하였다. 김 등(1998)은 신선란의 경우 1개 또는 2개의 수정란의 이식시 수태율에는 영향이 없었으나 동결란의 경우는 2개 이식에서 1개 이식한 것보다 다소 수태율이 높았다고 하였다. 체외수정란을 이식할 경우 체내 수정란이식에 비해 유산율이 높은 것은 태반분열의 수가 적은데 기인한다고 한다(Bavister 등, 1983; Reichenbach 등, 1992; Hasler 등, 1995; Massip 등, 1996).

축산물 시장의 개방, 지나친 도축에 의한 가임암소의 격감으로 한우 생산기반 붕괴 및 육우산업이 붕괴 직전 있다. 또한 젖소 송아지 가격하락으로 낙농가들도 많은 어려움이 있으므로 체외수정란을 생산·이식하여 쌍태를 유기하거나 Holstein에 한우의 체외수정란을 이식하여 한우 송아지를 생산한다면 양축가뿐만 아니라 낙농가에도 경제적으로 도움이 될 것이다.

따라서 본 연구에서는 한우의 체외수정된 동결란과 신선란을 한우 또는 Holstein에 각각 이식하여 수태율, 분만율, 단태율 및 쌍태율을 조사하여 수정란이식의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 체외수정란의 생산

1) 난포란의 채취 및 체외성숙

한우체외수정란 생산을 위하여 도축장에서 난소를 직출하여 penicillin G (100 units/ml)와 streptomycin (100 µg/ml)이 포함된 생리식염수(28~30 °C)가 들어 있는 보온병에 담아 실험실로 운반하였다. 운반된 난소는 항생제가 첨가된 생리식염수로 3~4회 세척한 후, 18 G의 주사침이 부착된 10 ml 주사기를 이용하여 난포란을 채취하였다. 직경 : 2~7 mm의 난포에서 난포액과 난포란을 흡입하여 채란한 후, 15 ml의 원심분리관에 담아 10~15 분간 정치하였다. 정치후 침전물과 난포액을 피펫으로 흡입하여 stereomicroscope에서 난포란을 채취하였다. 채취한 난포란은 체외성숙용 배양액으로 3~4회 세척하여 실험에 공시할 난포란을 선별하였다.

난포란의 체외성숙용 기본배양액은 25 mM HEPES가 첨가된 TCM-199 (Earle's salt, Sigma, USA)의 기본배양액을 3차 증류수를 이용하여 pH 7.4, 삼투압은 290 mOsm/kg로 조정하여 제조하여 0.2 µm filter(Gelman Sci., USA)로 여과후 냉장 보관하면서 사용하였다. 체외성숙 배양액은 TCM-199 배양액에 LH (10 µg/ml), FSH (10 µg/ml), estradiol-17β (1 µg/ml)을 첨가했으며, 10% fetal bovine serum (FBS)를 첨가하였다.

체외성숙은 50 µl의 체외성숙 배양액에 15~20개의 난포란을 넣고 5% CO₂, 98~99% 습도, 39 °C CO₂ incubator에서 24시간 동안 체외성숙을 유도하였다.

2) 체외수정 및 체외배양

동결정액은 온수(37°C)에서 용해한 후, Percoll density gradient법으로 정자를 분리·사용하였다. 15 ml의 원심분리관의 하층에 90% Percoll 2 ml을 넣고 그 상층에는 45%의 Percoll 2 ml을 처리한 다음, 정액을 그 상층에 올려놓았다. 500 × g에서 20 분 동안 원심분리한 후, 2 ml의 Sp-TALP를 첨가하

여 350 × g에서 5분 동안 원심분리하여 활력이 우수한 정자를 채취하였다. 난구세포가 확장된 체외 성숙된 난포란은 vortexing 후 난구세포를 부분적으로 제거하였다. 난포란은 15~20개가 들어 있는 체외수정용 배양액 소적의 정자 최종농도는 1~2 × 10⁶ sperms/ml이 되도록 농도를 조절하여 22~24시간 동안 39°C, 5% CO₂ incubator에서 체외수정을 유도하였다.

체외수정 24시간 후 체외배양액으로 3~4회 세척한 후, 50 μl의 TCM-199 소적에 15~20개의 수정란을 난구세포와 체외수정 후 7~9일 동안 배양하여 배반포 수정란으로 발달을 유도하여 생산된 배반포 수정란은 동결하거나 수정란이식에 공시하였다.

2. 체외수정란의 동결 및 융해

1) 체외수정란의 동결

배반포 수정란은 10% FBS가 첨가된 D-PBS로 3~4회 세척한 후, 동결보존액(1.5 M ethylene glycol)에서 20분 동안 평형을 유지하였다. 평형 후 수정란은 0.25 ml의 straw (straw당 4개)에 loading을 실시하였다. 20°C에서 -7°C까지는 분당 1°C의 속도로 냉각하였으며, -7°C의 cryochamber에서 액체질소로 냉각된 집게 또는 forceps로 수정란이 장착된 부위를 식빙을 유도하였다. cryochamber에서 10분 동안 holding 한 후, -35°C까지 분당 0.3°C의 속도로 냉각시켜 -35°C에서 15분 동안 holding 하였다. Straw는 이식할 때까지 액체질소에서 보관하였다.

2) 체외수정란의 융해

Straw는 30°C의 물에서 10초 동안 융해한 다음, 수정란을 petri dish에 쏟아내었다. 10분 동안 PBS에 침지하여 동결보호제를 제거하였다. 10분 후 수정란은 난관상피세포의 단층이 형성된 TCM 배양액에서 배양하여 생존 여부를 확인하였으며, 생존이 확인된 수정란은 수란우에 이식하였다.

3. 수정란이식 및 임신감정

한우 24두와 Holstein 27두에 1~2개의 동결란

또는 신선란을 10% FBS가 첨가된 D-PBS와 함께 0.25 ml straw에 장착하여 비외과적 방법으로 황체측 또는 황체반대측 자궁각 심부에 수정란을 각각 이식하였다. 수정란의 이식은 한우에 인공수정 후 7~8일째 한우 체외수정란을 이식을 하거나, Holstein은 발정 후 7~8일째에 수정란을 이식하는 두 가지 방법을 이용하였다.

수정란이식 후 21일경에 발정이 재귀되지 않은 수란우를 약 60~90일경에 직장검사법으로 임신 여부를 최종 확인하였다.

4. 통계학적 분석

실험결과와 통계적 분석은 SAS package를 이용하여 실시하였으며, GLM (General Linear Model) Procedure를 적용하여 각 요인의 Least square means를 구하여 요인간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 수정란의 수가 수태율에 미치는 효과

한우의 체외수정란(신선란, 동결란)을 1개 또는 2개의 수정란을 Holstein 또는 한우는 인공수정 후에 각각 이식한 결과는 Table 1과 같다. 9두의 수란우에 1개의 수정란을 이식한 결과 7두가 임신하여 78%가 수태되었으며, 2개의 수정란을 42두의 수란우에 이식하여 31두가 임신하여 74%가 수태되었다.

Johnson 등(1989)은 1 또는 2개의 수정란을 황체반대측 자궁각에 이식하여 1개의 수정란을 이식한 수란우에서 높은 수태율(67와 42%)을 얻었다. Suzuki 등(1994)은 수정후 1개의 수정란을 이식한 수란우에서 높은 수태율 얻은 것은 체내수정란의 생존에 적당한 환경을 제공해 줌으로써 이식된 수정란의 생존율에도 효과적이라고 하였다. 김 등(1998)은 신선란이식시는 1개 또는 2개의 수정란 이식이 수태율에는 영향을 미치지 않았으나 동결란을 이식할 경우에는 2개를 이식하는 것이 1개를 이식하는 것보다 다소 높은 수태율을 얻었다고 한다. Heyman과 Chesen(1984)은 동결수정란 2개를 이식하는 것이 한 개를 이식하는 것보다 유의적으로 높은 수태율을 얻었다고 하였다.

Table 1. Effect of transfer number of embryos on pregnancy rate in Hanwoo

Number of embryos transferred	No. of recipients transferred	No. (%) of recipients pregnant
1	9	7(78.0)
2	42	31(74.0)

2. 황체의 등급에 따른 수태율

동결란과 신선란을 한우에 또는 Holstein에 수정란을 이식하기 전, 직장검사로 황체의 등급을 A, B 및 C로 구분하여 한우는 인공수정 후 수정란을 이식하였으며, Holstein은 발정 후 7~8일째 수정란을 이식한 결과는 Table 2와 같다. 38두의 수란우에서 A, B 및 C등급의 황체를 가진 수란우 27, 21 및 1두의 수태율은 각각 75, 82 및 0%로서 B등급의 황체를 가진 수란우의 수태율이 높은 경향을 나타내었다.

Sreenan과 Diskin (1987)은 황체의 등급이 A, B인 수란우의 수태율은 유의적인 차이가 없었으나, C등급인 수란우에서는 수태율이 현저하게 낮았다고 한다. 배란된 난소가 있는 자궁에 수정란을 이식했을 때 수정란의 생존율이 아주 높았다고 하였다(Sreenan, 1988). Niemann 등(1985)은 황체의 등급이 A, B 및 C등급에서 각각 54, 42 및 60%로서 황체와 수태율간에 차이가 있다고 하였다. 김 등(1998)은 신선란에서는 등급(A, B 및 C)에 관계없이 수태율은 각각 65.0, 65.0 및 63.6%로서 관계가 없었으나, 동결란의 경우 등급에 따라 각각 43.2, 16.2 및 0%로서 A등급의 황체를 가진 수란우에

Table 2. Pregnancy rates of recipients according to status of corpus luteum

Status of corpus luteum	No. of recipients transferred	No.(%) of recipients pregnant
A	27	20(75.0)
B	22	18(82.0)
C	1	0
Total	38	38(75.0)

수정란을 이식하는 것이 높은 수태율을 나타내었다고 한다.

3. Holstein에 한우 체외수정란이식

Holstein에 발정 후 7~8일째 한우 체외수정란을 동결란과 신선란으로 구분하여 이식한 결과는 Table 3과 같다. 신선란은 15두의 수란우에 이식하여 10두가 수태되었다(67%). 동결수정란은 12두의 수란우에 이식하여 5두가 수태되었다(42%). 따라서 동결란보다는 신선란에서 다소 높은 수태율을 얻어 동결에 의한 수정란의 손상에 기인하여 동결란의 수태율이 낮은 것으로 판단된다.

Hasler 등(1995)은 수정 후 7일째의 신선란과 동결란을 각각 이식하여 56와 42%가 수태되어 신선란이 동결란에 비해 유의적으로 높은 수태율을 얻었다. Elsdon 등(1982)는 체내 신선란과 동결란을 이식하여 74와 67%의 수태율을 보고하였다. 또한, 김 등(1998)도 체내 신선란과 동결란의 수태율이 각각 63.5와 21.4%로서 신선란이 동결란에 비해 유의적으로 높은 수태율을 나타내었다고 한다. 신선란이 동결란보다 수태율이 높은 것은 동결·융해로 인하여 수정란 세포의 손상 때문이라고 하였다(Heyman, 1985). Sreenan과 Diskin(1987)도 동결융해과정 중 10~20%의 수정란이 사멸하며, 수정란이식후에도 배 사멸율이 10~15% 정도 높다고 한다. Wagtendo 등(2000)은 BRL cells와 공배양하여 생산된 신선란과 동결란을 이식하여 수태율이 각각 37.2와 37.8%로 유의적인 차이를 보이지 않았다고 한다. 체외수정란의 완만동결후 이식에 의한 수태율은 60~70%정도이며(Niemann,

Table 3. Pregnancy rates of Holstein cows following transfer of IVP Hanwoo embryos according to the source of embryos

Embryo source	No. of recipients transferred	No. (%) of recipients pregnant
Fresh IVP	15	10(67.0) ^a
Frozen IVP	12	5(42.0) ^a

* There was no significant (P<0.05) difference between the same superscripts in the column.

1991; Kajihara 등, 1992; Hasler 등, 1995; Massip 등, 1995), 오 등(1986)은 동결수정란을 이식하여 45%, 노 등(1988)은 44%, 손 등(1997)은 44.4%의 수태율을 보여 본 연구의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

4. 한우에 인공수정 후 한우 체외수정란 이식

자연발정은 한우에 인공수정 후 한우 체외수정란을 동결란과 신선란으로 구분하여 각각 이식한 결과는 Table 4와 같다. 인공수정 후 수정란이식을 하였으므로 수태율은 인공수정 또는 수정란이식에 의한 것인지는 정확하게 알 수는 없었으나, 신선란을 13두의 수란우에 이식하여 13두가 수태되었으며, 이중 단태가 10두(77%), 쌍태 3두(23.0%)였다. 동결란을 이식했을 경우, 11두 중 10두가 수태되었으며, 이중 단태가 7두(64.0%), 쌍태 3두(27.2%)였다.

Suzuki 등 (1994)은 수란우에 체외수정란을 이식했을 때의 수태율은 52.6%, 인공수정 후 동결란을 추가적으로 이식했을 경우에는 수태율이 69.6%로서 인공수정 후 수정란이식 하는 것이 수태율이 높았다. 인공수정 후 체외수정란을 이식했을 때, 수태율이 77%였으며, 이중 쌍태율은 65%였다고 한다(Lu와 Polge, 1991).

5. 분만율과 유산율

한우와 Holstein 51두에 한우 신선란 또는 동결란을 이식한 결과는 각각 24두 및 16두가 임신하였다. 신선란과 동결란이식에 의한 분만율은 각각 88.0(21/24)와 88%(14/16)이었으며, 유산율은 각각 8.0(2/24)와 13.0%(2/16)였다.

King 등(1985)은 수란우의 유산율은 3~15%이

Table 5. Calving and abortion rates of Holstein and Hanwoo recipients by transfer of fresh or frozen IVP embryos

Embryo source	No. of cows pregnant	No. (%) of cows	
		Calved	Aborted
Fresh IVP	24	21(88.0)	2(8.3)
Frozen IVP	16	14(88.0)	2(13.0)

며 30~90일 이내에 유산율이 높으며, 그 원인은 수정란의 질에 좌우된다고 하였다. Mee(1991)는 수정란이식 후 쌍태와 단태시 유산율은 각각 1.2와 1.8%이며, Takada 등(1991)은 체외수정란을 양측 자궁각에 이식했을 때 유산율이 25%로서 높다고 하였다. Wagtendok 등(2000)은 AI와 MOET에 의한 유산율(1.3와 1.1%)보다 체외수정란 이식에 의한 유산율(2.6%)이 높다고 하였으며, 이는 체외수정란이 인공수정보다 유산율이 높은 것은 비정상적인 태아 및 요막수종에 의한 유산이 높았다고 하였다. 손 등(1997)은 동결수정란을 이식했을 때, 분만율은 87.5%이며, 유산율은 12.5%라고 하였다. 송 등(2000)은 신선란을 이식했을 때, 분만율과 유산율이 각각 80.0%와 13.3%라고 하였다. 체외수정란이 체내수정란에 비해 이식에 의해 유산율이 높은 것은 적은 태반분열의 수에 기인한다고 한다(Bavister 등, 1983; Reichenbach 등, 1992; Hasler 등, 1995; Massip 등, 1996).

적 요

본 연구는 신선란과 동결란을 한우 또는 Holstein에 이식하여 수정란이식 효율을 개선하기 위

Table 4. Pregnancy rates of Hanwoo recipients following transfer of IVP bovine embryos according to the source of embryos

Embryo source	No. of recipients transferred	No. (%) of recipients pregnant		
		Total	Single	Twin
Fresh IVP	13	13(100)	10(77.0) ^a	3(23.0) ^b
Frozen IVP	11	10(91.0)	7(64.0) ^a	3(27.2) ^b

* There was no significant (P<0.05) difference between the same superscripts in the column.

해 본 연구를 수행하였다.

체외수정란은 완만동결법으로 동결하거나 신선란을 수란우의 황체측 또는 반대측 자궁각에 각각 이식하였다. 한우는 인공수정 후 Holstein은 발정 후 수정란이식을 실시하였다. 임신감정은 직장점사법으로 수정란이식 후 60~90일경에 임신 여부를 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 체외에서 생산된 신선란 또는 동결란 한개 또는 두 개를 수란우에 이식한 결과, 각각 수태율이 78%(7/9)와 74%(31/42)였다.
2. 황체 등급에 따라 수정란 이식후 수태율을 조사한 바, A와 B의 황체를 가진 수란우에서 수태율이 각각 75.0%(20/27)와 82.0%(18/22)의 수태율을 나타내었다.
3. Holstein에 체외생산 신선란과 동결란을 이식했을 때, 각각 수태율이 67.0%(10/15)와 42.0%(5/12)로 신선란에서 수태율이 다소 높게 나타났다으나 유의적인($P<0.05$)차이는 없었다.
4. 한우에 인공수정 후 체외생산 신선란을 이식했을 때 단태율과 쌍태율이 각각 77.0%(10/13)와 23.0%(3/13)였으며, 동결란을 이식했을 경우는 64.0%(7/10)와 27.2%(3/10)였다.
5. 체외생산 신선란을 이식시 분만율과 유산율은 각각 88.0%(21/24), 8.3%(2/24)이며, 체외생산 동결란을 이식하였을 경우에는 각각 88.0%(14/16), 13.0%(2/16)로서 동결란에서 다소 높은 유산율을 나타내었다.

이상의 결과를 요약하면, 황체의 등급이 A, B인 수란우에 1 또는 2개의 신선란을 이식하는 것이 높은 수태율을 얻을 수 있으며, 쌍태를 유기하는 방법으로 신선란 뿐만 아니라 동결란을 이식하는 것도 효과적인 것으로 사료된다.

참고문헌

- Bavister BD, Leibfreid ML and Lieberman G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. Mol. Reprod. Dev., 32:265-270.
- Elsden RP, Seidle GE Jr, Takeda T and Farrand GD. 1982. Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred non-surgically. Theriogenology, 17:1-10. 1982.
- Halser JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Skuey LS, Stockes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. Theriogenology, 43:141-152.
- Heyman Y and Chesen P. 1984. Freezing bovine embryos: survival after cervical transfer of one half, one or two blastocysts frozen in straws. Theriogenology, 21:240 (Abstr.).
- Heyman Y. 1985. Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. Theriogenology, 23:63-75.
- Johnson WH, Etherington WG, de Rose EP, Wilton JW and Savage NC. 1989. The production of twins in beef cattle utilizing embryo transfer technology. Theriogenology, 31:206 (Abstr.).
- Kajihara Y, Kometani N, Shitanaka Y, Saito S, Yamaguchi Y, Hishiyama K and Endo M. 1992. Pregnancy rates and birth after the direct transfer of frozen-thawed bovine IVF embryos. Theriogenology, 37:233(Abstr.).
- King KK, Seidle GE Jr and Elsdén RP. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rates and characteristics of calves. J. Anim. Sci., 61:747-757.
- Lu K and Polge C. 1991. Pregnancy and twinning rates after transfer of IVF embryos to the bred recipient. Proceeding of the Seventh Congress of the European Embryo Transfer Association (Cambridge) 164.
- Massip A, Mermillod P and Dinneys A. 1995. Morphology and biochemistry of *in vitro* produced bovine embryos: implications for their cryopreservation. Hum. Reprod., pp. 10 : 3004-3011.
- Massip A, Mermillod P, Van Langendonck A, Reichenbach HD, Lonergan P, Berg U, Carolan

- C, De Roover R and Brem G. 1996. Calving outcome following transfer of embryos produced *in vitro* in different conditions. Anim. Reprod. Sci., 44:1-10.
- Mee JF. 1991. Factors affecting the spontaneous twinning rate and the effect of twinning on calving problems in nine Irish dairy herds. Irish Vet. J., 44:14-20.
- Niemann H, Tenhumberg H, Sacher B and Kruff B. 1985. Pregnancy rates after non-surgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. Anim. Breed. Abstract pp. 53:206-207.
- Niemann H. 1991. Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. Theriogenology, 35:109-124.
- Reichenbach HD, Liebrich J, Berg U and Brem G. 1992. Pregnancy rates and birth after unilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. J. Reprod. Fertil., 95:363-370.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. Theriogenology, 27:99-113.
- Sreenan JM. 1988. Embryo transfer: its uses and recent developments. Vet. Rec., 122:624-629.
- Suzuki T, Geschi M, Yonai M and Sakaguchi M. 1994. Effects method of embryo production and transfer on pregnancy rate, embryo survival rate, abortion and calf production in beef cows. Theriogenology, 41:309 (Abstr.).
- Takada N, Ohisa N, Numabe T and Ishikawa Y. 1991. Production of twin calves by transfer of bovine embryos produced *in vitro*. Vet. Rec., 128:307 (Abstr.).
- Van Wagtenok-de Leeuw AM, Mullaart E, de Roos APW, Merton JS, den Dass JHG, Kemp D and de Ruigh L. 2000. Effects of different reproduction techniques: AI, MOET or IVP on health and welfare of bovine offspring. 53:585-597.
- 김홍률, 김덕임, 박노형, 김창근, 정영채, 윤종택, 전광주. 1998. 한우에서 수정란 이식의 효율증진에 관한 연구 II. 수란우의 조건이 이식 후 수태율에 미치는 영향. 한국수정란이식학회지, 13(1):61-67.
- 노환철, 정광업, 신규용, 정병현, 백운화, 정길생. 1988. 우 동결수정란의 산업적 이용에 관한 연구. 한국축산학회지, 30(3):151-159.
- 손동수, 김일화, 이호준, 서국현, 이동원, 류일선, 이광원, 전기준, 손삼규, 최상용. 1997. 한우 수정란의 동결보존 및 쌍자생산에 관한 연구 I. 한우 동결수정란의 동결보존 및 쌍자생산에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 12(1):75-89.
- 송상현, 조성근, 심보용, 강다원, 정기화, 손동수, 이효종, 박충생, 최상용. 2000. 한우 체외수정란을 이용한 쌍자생산에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 15(1):47-56.
- 오성종, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소 발정동기화 및 동결수정란이식에 관한 연구. 한국축산학회지, 28(7): 468-473.

(접수일: 2000. 11. 16 / 채택일: 2000. 12. 15)