

한우 체외수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 영향을 미치는 수정란측 요인

박용수 · 김소섭¹ · 박흠대² · 박현정³ · 김재명^{4*}
경상북도 축산기술연구소

Effects of Embryo Factors on Pregnancy and Abortion Rate after Transfer of *In Vitro* Produced Korean Native Cattle Embryos

Y. S. Park, S. S. Kim¹, H. D. Park², H. J. Park³ and J. M. Kim^{4*}

Kyongbuk Livestock Research Institute

SUMMARY

In this study, we investigated the effects of number, grade, stage and day of embryos on pregnancy and abortion rates of Holstein heifer recipients after transfer of *in-vitro* produced Korean Native Cattle (Hanwoo) embryos. When one, two or three blastocysts were transferred to recipients, pregnancy (32.0, 44.0 and 32.0%) and abortion (12.5, 13.6 and 6.3%) rates did not differ among treatments. The pregnancy and abortion rates of different grades of blastocysts were 40.8~44.2% and 9.4~16.3%, respectively. However, they were not significantly different. According to the stage of blastocyst, the pregnancy rates were similar between 39.1% and 45.3%. However, the abortion rate in hatched blastocyst stage (20.8%) was significantly higher than that in late blastocyst stage (9.0%). The pregnancy rates in day 7 · 7 and day 7 · 8 blastocyst (47.1 and 53.9%, respectively) was significantly higher than that in the day 9 · 9 and 8 · 9 blastocyst (29.8 and 27.7%, respectively). The abortion rate was the highest in the day 8 · 9 blastocyst (30.8%) among treatments, and it was significantly different compared to that in the day 7 · 7 blastocyst (10.1%). Therefore, this study suggested that the pregnancy rate was affected by only day of embryos, while the abortion rate was affected by stage and day of embryos.

(Key words : bovine, *in vitro*, embryo transfer, pregnancy, abortion)

서 론

수정란 이식은 포유동물의 생식기 내에 존재하는 수정란을 대리모의 자궁에 되돌려 새로운 산자

를 얻는 방법이다. Heape(1890)가 토끼에서 수정란이식을 성공한 이후, 각종 동물에 대한 연구가 진행되어 면양(Warwick 등, 1934), 산양(Warwick 와 Berry, 1949), 돼지(Day, 1979) 및 소(Willet 등,

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

¹ 충북대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University)

² 대구대학교 식품생명공학부(Division of Life Food and Biotech, Daegu University)

³ 제주대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Cheju National University)

⁴ 포천중문의대(College of Medicine, Pochon Cha University)

* Correspondence : E-mail : dangi2359@hanmail.net

1951)에서 각각 산자를 생산하였다.

소에서 수정란 이식은 다배란-수정란 이식법(Multiple ovulation and embryo transfer)을 이용하여 체내로부터 수정란을 생산하였으나, 비용 및 효율성 등의 문제로 인하여 국내에서는 제한적으로만 이용하고 있다. 한편 Brackett 등(1982)이 도축된 소의 난소로부터 회수한 미성숙 난포란을 이용하여 송아지 생산에 성공한 이래로 체외수정란의 생산 기법에 대한 많은 연구가 진행되어 체외에서 수정된 난자의 20~30% 정도가 이식 가능한 배반포로의 안정적인 발달이 가능하게 되었다. 그러나 수정란 이식의 일차적 목표인 임신은 수정란의 종류에 따라 다소 차이는 있지만, 체외 수정란을 이용하였을 경우가 30±10%로서(Peterson과 Lee, 2003) 인공수정의 79%(Xu 등, 1995) 및 체내 수정란의 64%(Schmidt 등, 1996)보다 낮으며, 수란우의 선택, 기술자의 경험 및 사양 환경에 따라 그 재현성이 매우 낮다. 체외 수정란이 이식된 수란우의 유산율은 9~47%로서(Schmidt 등, 1996) 인공수정과 체내 수정란의 4~8%(Hasler 등, 1987)보다 훨씬 높고, 송아지의 체중, 임신 기간, 난산 및 기형이 증가하였다(Kruip와 den Dass, 1997). 따라서 수정란 이식의 산업화를 위해서는 수정란 생산 효율 증진과 더불어 임신을 향상, 유산, 분만 및 신생 송아지에 대한 연구가 더 필요하다.

수정란 이식에서 임신을 향상을 위하여 수정란의 발육 단계와 품질(Linder와 Wright, 1983), 수란우 요인(Hasler, 1992; 김 등, 2005a), 기술자의 기술적 요인(김 등, 2005b), 사양 관리 및 환경 요인(Hasler 등, 1987) 등이 연구되었다. 한편 수정란 축의 요인에 관해서는 배반포의 등급(Linder와 Wright, 1983; Hasler, 2001), 발생 단계(Wright, 1981; 황 등, 2004), 이식 수량(Numabe 등, 2000), 발생 일령(Hasler, 2001)이 임신율에 미치는 효과는 검토되었으나, 임신 후 유산에 관한 조사는 거의 없었다.

본 연구는 2002년부터 2003년까지 2년간 동안에 수행한 1,000 여 건의 수정란 이식을 분석하여, 이식에 제공하는 배반포의 수량, 품질, 발생 단계 및 발생 일령이 수란우의 임신과 유산에 미치는 효과를 분석하였다.

재료 및 방법

1. 배양액

본 연구에 사용된 배양액 중 난소로부터 난포란의 세척 및 회수용은 25mM HEPES와 3mg/ml BSA(Sigma, A6003)가 첨가된 Hepes-TALP 용액, 체외 성숙용은 0.2mg/ml pyruvate(Sigma, P3662), 1 μg/ml FSH(Sigma, F8174), 10 μg/ml LH(Sigma, L9773) 및 10% FBS(Sigma, F0643)가 첨가된 TCM-199(Gibco, 12340-030) 용액, 체외 수정용은 6 mg/ml BSA와 10 μg/ml heparin(Sigma, H3149)이 첨가된 TALP 용액, 체외배양용은 3mg/ml BSA 또는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액을 각각 이용하였다. 그리고 실험에 제공되는 배양액의 미세소적은 mineral oil(Sigma, M8410)을 도포하여 39℃, 5% CO₂ 배양기에서 최소한 4시간 이상 평형을 하였다.

2. 난포란의 회수 및 체외성숙

도축 한우에서 난소를 적출하여 25 μg/ml gentamycin(Sigma, G1264)이 첨가된 0.9% 생리식염수(30~33℃)가 들어 있는 보온병에 담아 2~3시간에 실험실로 운반하였다. 수집된 난소는 penicillin G (Sigma, P3032)가 첨가된 생리식염수로 3~4회 세척하여, 18G 주사침이 부착된 10ml 주사기를 이용하여 직경 2~8mm의 가시난포로부터 난포란을 회수하였다. 회수된 난포란은 실체 현미경 하에서 난구세포의 부착 상태가 치밀한 것만을 선별하여, 50 μl의 체외성숙용 배지에 15개 난포란을 옮겨 22시간 동안 39℃, 5% CO₂ 배양기에 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다.

3. 체외수정

한우 동결정액 1개를 실온에서 10초간, 37℃의 향온수조에서 30초간 처리하여 용해한 후 90%, percoll(Sigma, P4937) 2ml 용액이 담겨져 있는 15ml 원심분리관(Corning, 430052)에 조심스럽게 놓은 후 700g에서 20분간 원심분리 후 하층부의 정자괴 만을 회수하여, 2ml의 신선 체외수정용액으로 350g에서 10분간 원심분리함으로써 정자를 세척하였다. 그리고 정자 농도는 25×10⁶ sperms/ml

가 되도록 조절하여, 15개씩의 난포란이 함유되어
 져 있는 46 μ l의 체외수정용액에 heparin 2 μ l와 정
 자 2 μ l를 각각 첨가하여(최종 정자농도 1×10^6
 sperms/ml) 39°C, 5% CO₂ 배양기에 20시간 동안
 배양함으로써 체외 수정을 유도하였다.

4. 체외배양

체외수정 후 실제 현미경 하에서 형태적으로 정
 상이라고 판단된 수정란만을 회수하여, 15개씩의
 수정란(배양 1일)을 3mg/ml BSA가 첨가된 CR1aa
 용액 20 μ l에 넣고, 39°C, 5% CO₂ 배양기에서 배
 양하였으며, 배양 3일째와 5일째에는 10% FBS가
 첨가된 CR1aa 용액으로 교환하여 배양하였다.

5. 배반포의 이식

수란우는 2003년 3월부터 2004년 9월까지 경상
 북도 경산, 영천, 성주, 달성, 청도, 칠곡, 대구 및
 상주 지역의 젓소 사육농가에서 사육 중인 홀스타
 인을 이용하였다. 수정란 이식은 준비된 한우 배반
 포를 비외과적 이식기(MVE, France)에 장착하여
 황체가 존재하는 자궁각에 이식하였다.

6. 배반포

1) 수 량

배양 7일령의 배반포를 실험 목적에 따라 1, 2
 및 3개씩을 각각 이식하였다.

2) 품 질

배양 7일령의 배반포의 등급을 Linder와 Wright
 (1983)의 기준에 의하여 Grade 1, Grade 2 및 Grade
 3으로 분류하였고, 각 등급의 배반포 1개씩을 이식
 하였다.

3) 발생단계

배양 7일 또는 8일째의 배반포를 발생 단계에
 따라 Middle Blastocyst(MB), Late Blastocyst(LB)
 및 Hatched Blastocyst(HB)로 구분하였고, 배반포
 2개씩을 이식하였다.

4) 발생 일령

체외배양 7, 8 및 9일째의 MB 또는 LB 단계의
 것을 조합하여 각각 이식하였다.

7. 임신 및 유산 검정

한우 수정란을 이식한 후 60일에 직장검사로 임
 신을 판정하였다. 임신이 확인된 수란우가 재발정
 및 태아 또는 태반의 배출이 확인된 경우에 직장
 검사를 다시 실시하여 태아의 존재 유무와 자궁변
 화의 소견을 기초로 유산을 판정하였다.

8. 통계처리

실험 결과에 대한 통계학적 분석은 χ^2 -test를 이
 용하였고, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 이식 수량

체외에서 생산된 한우 배반포의 이식 수량이 수
 란우의 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과
 는 Table 1과 같다. 임신율은 1개, 2개 및 3개 이식
 군이 각각 32.0%, 44.0% 및 32.0%였고, 유산율은
 각각 12.5%, 13.6% 및 6.3%이었다. 2개 이식군의
 임신율과 유산율이 높은 경향이었으나 유의차는
 인정되지 않았다.

2. 배반포 등급

체외에서 생산된 한우 배반포의 품질이 수란우
 의 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는
 Table 2와 같다. 임신율은 Grade 1군이 44.2%,
 Grade 2군이 41.7% 및 Grade 3군이 40.8%로서 각
 군 간에 유사한 경향이였다. 유산율은 Grade 1군,

Table 1. Effects of embryo numbers on pregnancy and
 abortion rate of recipients after transfer of
in-vitro produced Hanwoo embryos

Number of blastocysts	No. of recipients	No. (%) of pregnancy	No. (%) of abortion
1	50	16 (32.0)	2 (12.5)
2	50	22 (44.0)	3 (13.6)
3	50	16 (32.0)	1 (6.3)

Table 2. Effects of embryo qualities on pregnancy and abortion rate of recipients after transfer of *in-vitro* produced Hanwoo embryos

Grade	No. of recipients	No. (%) of pregnancy	No. (%) of abortion
Grade 1	120	53 (44.2)	5 (9.4)
Grade 2	120	50 (41.7)	6 (12.0)
Grade 3	120	49 (40.8)	8 (16.3)

Grade 2군 및 Grade 3군에서 각각 9.4%, 12.0% 및 16.3%로서 grade 3군이 다소 높았으나 유의차는 인정되지 않았다.

3. 발생 단계

체외에서 생산된 한우 배반포의 발생단계가 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 3 과 같다. 임신율은 MB군이 42.7%, LB군이 41.9%, HB이 45.3% 및 MB·LB군이 39.1%로서 유사한 경향이였다. 한편 유산율은 MB군, LB군, HB군 및 MB·LB군에서 각각 11.8%, 9.0%, 20.8% 및 11.9%로서, HB군이 가장 높았으며 특히 LB군과는 유의차가 인정되었다($p < 0.05$).

4. 발생 일령

체외에서 생산된 배반포의 발생 일령이 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 4와 같다. 임신율이 7·7일군, 8·8일군, 9·9일군, 7·8

Table 3. Effects of developmental stages of embryos on pregnancy and abortion rate of recipients after transfer of *in-vitro* produced Hanwoo embryos

Stages	No. of recipients	No. (%) of pregnancy	No. (%) of abortion
MB	178	76 (42.7)	9 (11.8) ^{ab}
LB	173	73 (42.2)	6 (8.2) ^a
HB	117	53 (45.3)	11 (20.8) ^b
MB·LB	151	59 (39.1)	7 (11.9) ^{ab}

^{a,b} Different superscripts in the same columns are significantly different($p < 0.05$).

Table 4. Effects of blastocyst ages on pregnancy and abortion rate after transfer of *in vitro* produced Hanwoo embryos

Days	No. of recipients	No. (%) of pregnancy	No. (%) of abortion
7·7	274	129(47.1) ^b	13(10.1) ^a
8·8	240	82(34.2) ^{ab}	11(13.4) ^{ab}
9·9	47	14(29.8) ^a	2(14.3) ^{ab}
7·8	165	89(53.9) ^b	10(11.2) ^{ab}
8·9	47	13(27.7) ^a	4(30.8) ^b

^{a,b} Different superscripts in the same columns are significantly different($p < 0.05$).

일군 및 8·9일군에서 각각 47.1%, 34.2%, 29.8%, 53.9% 및 27.7%로서 7·7일군과 7·8일군의 것이 9·9일군과 8·9일군의 것에 비하여 유의하게 높은 경향이였다($p < 0.05$). 유산율은 10.1~30.8%였고, 특히 8·9일군이 30.8%로서 7·7일군(10.1%)보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).

고 찰

본 연구는 2002년부터 2003년까지 2년간 동안에 수행한 1,000여 건의 수정란 이식을 분석하여, 이식에 제공하는 배반포의 수량, 품질, 발생 단계 및 발생 일령이 수란우의 임신과 유산에 미치는 효과를 분석하였다.

일반적으로 수정란 이식 후 임신율은 수정란의 품질, 수란우의 조건 및 시술자의 기술력에 영향을 받는다. 인공수정의 임신율이 가장 높은 경향이고, 수정란에서는 체내 수정란이 체외 수정란에 비하여 높았다(Numabe 등, 2000). 한편 수정란 측면에서의 임신율에는 동결성(Hasler, 2001), 이식 수량(Numabe 등, 2000), 배반포의 등급(Linder와 Wtigh, 1983; Hasler, 2001), 발생 단계(Wright, 1981; 황 등, 2004), 발생 일령(Hasler, 2001) 등이 영향을 미친다.

체내 수정란은 이식 수량에 따른 임신율의 차이가 없었으나, 체외 수정란은 2개를 이식한 경우가 1개를 이식한 경우보다 임신율이 높았다(Numabe 등, 2000). 그러나 본 연구에서는 이식 수량에 따른

차이가 없었다.

배반포의 등급은 good 등급 이상 또는 Grade 1 등급 배반포의 임신율이 대체로 높은 경향이었으나(Farin과 Farin, 1995; Hasler 2001), 차이가 없다는 보고도 있다(Linder와 Wright, 1983; Spell 등, 2001). 본 연구에서는 등급에 따라 임신율이 40.8~44.2%로서 유사한 경향으로 Linder와 Wright(1983) 및 Spell 등(2001)의 보고와 같은 경향이였다. 그러나 배반포의 등급에 따른 임신율의 다양한 결과는 등급의 평가 기준이 개인에 따라 다소 차이가 있기 때문인 것으로 생각되며, 특히 본 연구에서는 배양 7일령의 배반포의 등급을 평가하여 이식하였기 때문에 임신율의 차이가 없는 것으로 사료된다. 한편 Hasler(2001)은 배반포의 평가에서 형태적인 등급의 평가보다는 발생 단계의 평가가 더 정확하다고 하였다.

배반포의 발생 단계에 따른 임신율은 배반포 단계가 상실배 단계에 비하여 대체로 높았으나(Hasler 등, 1987; 황 등, 2004), 본 연구와 Hasler (2001)은 유사한 경향이였다. 그러나 Dochi 등(1998)은 오히려 MB 또는 LB 단계가 상실배 단계에 비하여 임신율이 낮았다.

배반포 발생 일령은 배양 7일째가 8일 및 9일에 비하여 임신율이 높았으나(Hasler 등, 1995), Suzuki 등(1991)은 오히려 8일째가 7일째보다 높았다. 본 연구에서는 발생 7일령의 배반포가 9일령의 것에 비하여 유의하게 높은 경향이였고, 특히 7일과 8일령의 배반포를 조합하여 이식한 경우가 가장 높았다. 이와 같이 7일째의 배반포가 임신율이 높은 원인은 조기에 배반포 단계에 도달한 것의 품질이 좋고, 특히 발생 7일령의 배반포가 다른 시기에 비하여 많은 세포수를 가지고 있기 때문인 것으로 생각된다(Park 등, 2005).

소에서 유산율은 인공수정이 5% 미만, 체내 수정란이 8% 미만인 것에 비하여 체외 수정란은 20~30%로서 아주 높은 수준이고(Sakaguchi 등, 2002), 발생한 유산 중에서 원인 규명이 가능한 경우는 20% 정도에 불과하다(이 등, 2004). 특히 체외 수정란이 이식된 수란우에서는 조기배사멸의 발생율이 높다(McEvoy 등, 1995). 체외 수정란이 체내 수정란 및 인공수정에 비하여 임신율과 유산율이 낮

은 것은 connexine 43(Wrenzycki 등, 1996), cell number (Park 등, 2005), 비정상 chromosomes 증가 (Iwasaki, 1992) 및 적은 태반 분엽 수(Bavister 등, 1983)때문이라고 한다. Numabe 등(2000)은 이식에 공한 수정란이 2개인 경우가 1개에 비하여 유의하게 유산율이 높았으나 본 연구에서는 이식 수량에 따른 유산율의 차이가 없었다. 한편 수정란의 다른 요인들, 즉 배 발달 단계, 발생 일령 및 품질에 따른 유산율의 보고는 거의 없었다. 본 연구에서는 배 발달 등급에 따른 유산율의 차이가 없었으나, HB의 유산율이 LB에 비하여(20.8 vs. 9.0%) 발생 8일과 9일째가 7·7일째의 것(30.8 vs. 10.1%)에 비하여 유의하게 높았다. 발생 8일과 9일째 배반포의 유산율이 높은 것은 이 시기의 배반포는 HB 단계인 것이 많고, HB 단계의 배반포는 형태적으로 불완전하기 때문에 이식을 위한 외부 스트레스에 쉽게 영향을 받기 때문인 것으로 생각된다(Han 등, 2003) 따라서 체외수정란 이식 후 성공률을 향상시키고, 송아지 생산의 효율을 증가시키기 위해서는 발생 7일령의 확장 배반포를 이식하는 것이 효과적일 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 체외수정란 이식의 산업화를 조기에 달성하기 위해서, 임신율을 향상에는 배양 7일과 8일째의 배반포를 조합하여 이식해야 하고, 유산을 예방하기 위해서는 배양 7일째의 확장 배반포를 이식하는 것이 효과적일 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 한우 체외수정란의 이식에 있어서 수정란 측 요인들이 수란우의 임신과 유산에 미치는 영향을 검토하였다. 이식에 제공하는 배반포의 수량에 따른 임신율은 1개, 2개 및 3개 이식군에서 각각 32, 44 및 32%였고, 유산율은 6.3~13.6%로서 2개 이식군의 임신율과 유산율이 가장 높았으나 유의차는 인정되지 않았다. 배반포 등급에 따른 임신율은 40.8~44.2%, 유산율은 9.4~16.3%로서 유사한 경향이였다. 배반포의 발생 단계에 따른 임신율은 39.1%~45.3%로서 비슷하였으나, 유산율은 HB군(20.8%)이 LB군의 9.0%에 비해서는 유의하게 높았다($p < 0.05$). 배반포의 발생일령에

따른 임신율은 배반포 7·7일째와 7·8일째가 각각 47.1%와 53.9%로서 9·9일 및 8·9일째(29.8 및 27.7%)에 비해 유의하게 높았다($p<0.05$). 유산율은 8·9일령이 30.8%로 가장 높았고 7·7일령의 10.1 %와는 유의차가 인정되었다.

참고문헌

- Bavister BD, Leibfried ml and Lieberman G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. Biol. Reprod., 28:235-247.
- Brackett BG, Bousquet D, Boice ML, Donawick WJ, Evans JF and Dressel MA. 1982. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. Biol. Reprod., 27:147- 158.
- Day BN. 1979. Embryo transfer swine. Theriogenology, 11:27-31.
- Dochi O, Yamaoto Y, Saga H, Yoshiba N, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A, Tominaga K, Oda Y, Nakashima T and Inohae S. 1998. Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. Theriogenology, 49: 1051-1058.
- Farin PW and Farin CE. 1995. Transfer of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro* survival and fetel development. Biol. Reprod., 52:676-682.
- Halser JF. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. J. Dairy. Sci., 75:2857-2879.
- Hasler JF. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. Theriogenology, 56:1401-1415.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. Theriogenology, 43:141-152.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-recipient interaction on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. Theriogenology, 27:139-169.
- Han YM, Kang YK, Koo DB and Lee KK. 2003. Nuclear reprogramming of cloned embryos produced *in vitro*, Theriogenology, 59:33-44.
- Heape W. 1890. Prod. Roy. Soc. Br., 48:457.
- Iwasaki S. 1992. Studies on cytogenetic and morphological assessment of bovine embryos fertilized *in vitro*. Jpn. J. Anim. Reprod., 38:109-119.
- Kruip TAM and den Dass JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy and offspring. Theriogenology, 47:43-52.
- Linder GM and Wright RW Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. Theriogenology, 20:407-416.
- McEvoy JD, Mayne CS and McCaughey WJ. 1995. Production of twin calves with *in vitro* fertilised embryos: effects on the reproductive performance of dairy cows. Vet. Rec., 136:627-632.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese black calves by transfer of bovine embryos produced *in vitro*. Theriogenology, 54:1409-1420.
- Park YS, Kim SS, Kim JM, Park HD and Byun MD. 2005. The effects of duration of *in vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent development, quality and transfer of embryos. Theriogenology, 64:123-134.
- Peterson AJ and Lee RSF. 2003. Improving successful pregnancies after embryo transfer. Theriogenology, 59:687-697.
- Sakaguchi M, Geshi M, Hamano S, Yonai M and Nagai T. 2002. Embryonic and calving losses in bovine mixed-breed twins induced by transfer of *in vitro*-produced embryos to bred re-

- ipients. Anim. Reprod. Sci., 72:209-221.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sullon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. Theriogenology, 46: 527-539.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR and Lamb GC. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. Theriogenology, 56:287-297.
- Suzuki T, Yamamoto M, Coe M, Nishikata Y, Okamoto K and Tsukihara T. 1991. Effect of media on fertilization and development rates of *in vitro* fertilized embryos, and of age and freezing of embryos on pregnancy rates. Theriogenology, 35:278 (abstr).
- Warwick BL, Berry RO, and Horlacher WR. 1934. Results of mating rams to angora female goats, In: Proceedings of the 27th Annual Meeting of the American Society of Animal Production, pp. 225-227.
- Warwick BL and Berry RO. 1949. Inter-genetic and intraspecific embryo transfers in sheep and goat. J. Hered., 40:297.
- Willet FL, Black WG, Gasida LE, Stone WH and Buckner PJ. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. Science, 113:247.
- Wrenzycki C, Hermann D, Carnwath JW, Niemann. 1996. Expression of the gap junction gene connexin 43(Cx 43) in preimplantation bovine embryos derived *in vitro* or *in vivo*. J. Reprod. Fertil., 108:17-24.
- Wright JM. 1981. Non-Surgical embryo transfer in cattle: embryo-recipient interactions. Theriogenology, 15:43-55.
- Xu ZZ, Burton JR, Burton LR and Macmillan KL. 1995. Reproductive performance of synchronized lactation dairy cows. Proc. NZ. Soc. Anim. Prod., 55:242-244.
- 김소섭, 박용수, 박민철, 박흥대, 김일화, 최석화. 2005a. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 영향을 미치는 수란우측 요인들, 한국수정란이식학회지, 20:17-24.
- 김소섭, 박용수, 박윤미, 박흥대, 심호섭, 김남형. 2005b. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 영향을 미치는 시술자측 요인들, 한국수정란이식학회지, 20:9-15.
- 이병천, 김대용, 장구, 조종기, 김재훈, 김민규, 강성근, 황우석. 2004. 수정란 이식에 의한 유산 발생 원인과 예방대책. 한국수정란이식학회지, 19(1) supp:23-35.
- 황환섭, 장현용, 김성근, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙, 체외수정란의 수정란이식에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 19:1-10.

(접수일: 2005. 5. 3 / 채택일: 2005. 6. 12)