

한우 난소의 채란방법이 회수율, 배발달율 및 수태율에 미치는 영향

이정우 · 정수용 · 손병훈 · 한기호¹ · 오인석² · 서현준 · 공일근[†]
순천대학교 농업생명과학대학 동물자원과학과

Effect of Collective Methods on the Collection Efficiency, Blastocyst and Pregnancy Rate after IVP Embryo Transfer in Hanwoo

J. W. Lee, S. Y. Jung, B. H. Son, K. H. Han¹, I. S. Oh², H. J. Seo and I. K. Kong[†]

Department of Animal Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Sunchon National University

SUMMARY

This study was undertaken to access the effect of collection methods on the collection efficiency, blastocyst rate and pregnancy rate after IVP embryo transfer. The ovaries of Hanwoo were obtained from an abattoir and kept on 25 to 28°C and transported to laboratory within 4 hrs. The oocytes were collected by aspiration of follicles (2~6 mm) with or without slicing of ovaries after aspiration. The oocytes were matured *in vitro* (IVM) for 20 to 24 hrs in TCM-199 supplemented with 10% fetal bovine serum at 39°C under 5% CO₂ in air. Following routine IVM/IVF procedure, the oocytes and presumed zygotes were cultured for three day in CR1aa medium with BSA. The cumulus cells at 2 to 8-cell stage of embryos removed then the embryos and were cultured in CR1aa medium containing 10% fetal bovine serum in 5% CO₂ at 39°C. The fresh blastocysts cultured for 7 to 9 days were transferred into recipients. The numbers of oocytes recovered from two different methods, the aspiration and slicing after aspiration, were compared to know what. The number of oocytes per ovary was 8.2 and 6.5 in aspiration combining slicing, and aspiration groups, respectively ($p<0.05$). The cleavage rate in aspiration method are significantly ($p<0.05$) high than those in slicing post aspiration (27.9%), and aspiration (25.5%). The pregnancy rate in aspiration method (62.5%) was high than that in slicing method after aspiration (54.4%). The pregnancy rates of aspiration method and slicing method after aspiration in nullipara (58.1% vs 68.2%) was high than that in pluripara (49.5% vs 53.2%). The results obtained that the increased number of oocytes per ovary in slicing method after aspiration could be better than that in aspiration method. Pregnancy rate in aspiration method was slightly higher in than that in slicing method after aspiration.

(Key words : aspiration, slicing, *in vitro* development, embryo transfer)

서 론

수정란이식에 이용하는 수정란은 공란우의 과

¹ 한일가축병원(Han-II Animal Hospital)

² 에이비에스인코리아(Animal Breeding Service in Korea)

[†] Correspondence : E-mail : ikong@sunchon.ac.kr

배란과 초음파 유도에 의해 채취된 체내 성숙 난자를 체외수정시키는 방법 및 도살장에서 채취한 난소에서 난포란을 채란하여 체외성숙시킨 후 체외수정과 체외배양하는 방법 등에 의해 생산되고 있다. 그러나 종축 개량을 촉진시키기 위한 목적이 아닌 경우에는 과배란법과 초음파유도법은 비용 부담이 많은 반면 수정란을 충분히 공급하지 못하므로 효율적이지 못하다. 그러므로 선진국에서는 낮은 생산 비용으로 많은 수정란을 생산하여 산업적으로는 쌍자 생산이나 타 품종간 수정란이식을 위해서, 학문적으로는 핵이식에 의한 복제 동물 생산과 성관별에 의한 동성의 산자 생산 및 형질 전환 동물 생산 등의 연구를 위하여 도살장에서 채취된 난소에서 난포란을 채란하여 체외수정란을 만드는 기술을 이용하고 있다. 현재 국내에서도 체외수정란 생산과 수정란이식에 대한 연구가 활발하게 수행되어 체외 수정란 유래의 송아지 생산이 보고되고 있으나(황 등, 1993; 박 등, 1994; 한 등, 1994) 아직 산업적으로 이용할 수 있는 실용화 단계에 이르기 위해서는 해결해야 할 문제점이 많은 실정이다.

현재 체외 수정란 생산기술이 상당한 수준으로까지 향상되어 배반포기로의 발달율이 향상되었다고 하나 필요로 하는 만큼의 배반포배의 공급을 충족할 수준까지 이른 것은 아니다. 그래서 한 개의 난소에서 가능한 한 많은 난포란을 획득하기 위해 난포란의 흡입법 외에 세절법을 이용한 연구가 Suss와 Madison (1983)에 의해 이루어진 후 여러 연구자들이 (Kay와 Frylink, 1992; Carolan 등, 1992; Takagi 등, 1992) 수행하여 흡입법보다 많은 난포란을 채란할 수 있었다고 하면, 체외 발달율도 두 방법간에 유의적 차이를 보이지 않으므로 세절법을 사용할 경우에 보다 많은 배반포배를 얻을 수 있다고 보고하였다.

체외수정란을 이용한 수정란이식의 실용화를 이루기 위해서는 여러가지의 문제점들이 해결되어야 하겠지만 우선적으로는 요구되는 만큼의 배반포배의 공급이 충분히 이루어져야 할 것이다. 수정란이식 기술을 이용하여 한우 사육 두수를 증가시키고 유전적으로 우수한 한우를 대량 생산할 수 있는 기술이 확립된다면, 한우 가격의 불안정과 사

료가격의 상승으로 불안해 있는 양축가의 사기 증진과 농가 소득 증대에 기여할 것이다.

따라서, 본 연구에서는 도축장에서 채취한 한우 난소를 이용하여 흡입법과 흡입법 후 세절법으로 회수한 난포란의 회수율과 발달율을 조사하며, 이렇게 생산된 수정란을 Holstein 암소에 이식 후 수태율에 미치는 영향을 조사함으로써 보다 효율적인 채란법으로 수정란이식 성공률을 높일 수 있는 요인들을 찾고자 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 난소의 채취

본 실험에서 사용된 난소는 도축장에서 도살된 한우의 암소에서 즉시 적출하여 항생제(100 units/ml penicillin G + 100 ug/ml streptomycin)가 함유된 생리식염수에 담아 4~5시간 내에 실험실로 운반하였다. 이때 온도가 25~28℃로 유지되도록 하기 위해 보온병을 이용하였다. 운반된 난소는 불필요한 조직을 잘라 낸 후 항생제가 첨가된 새로운 생리식염수(35~37℃)로 3~4회 세척하였다.

2. 난포란의 채란

1) 흡입법

실험실로 운반하여 생리식염수로 난소를 세척 후 Fig. 1 (A)와 같이 고무마개 위에 두 개의 흡입구멍을 만들어서 한쪽 7자 유리관 흡입부에 18 G 주사침을 연결하고 다른 한쪽 구멍은 Vacuum Pump (GAST, Japan)와 호수로 연결한 후 50 ml 튜브에 장착하여 난소의 실질을 통과하지 않고 난소 표면을 조심스럽게 이동하면서 직경 2~6 mm 크기의 난포에서 난포액과 함께 난포란을 흡입하였다. 50 ml 튜브에 흡입된 난포액을 5~10분간 정지 후 부유액을 제거한 후 정지된 난포액을 87 mm dish에 옮기고 도립현미경(Olympus, Japan)의 40배율 하에서 난포란을 선별하였다.

2) 세절법

난소 표면의 난포란(직경 2~6 mm)을 흡입한 후 난소에서 황체, 혈포 및 불필요한 조직을 잘라

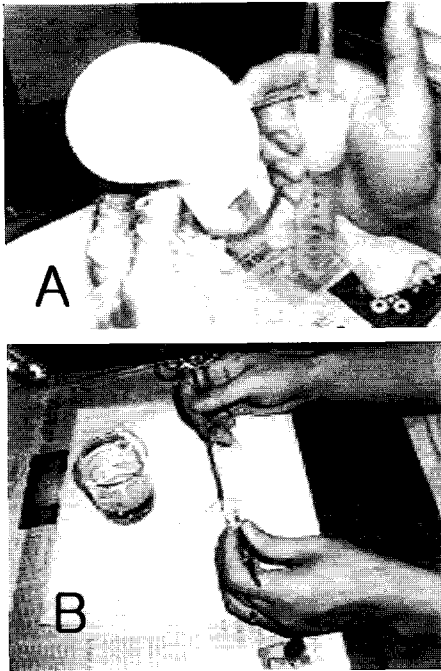


Fig. 1. Comparison of oocytes collection methods.
A : Aspiration method, B : Slicing method.

내고, 난포란 채란을 어렵게 하는 난포액의 gel 현상을 막기 위해 난포란의 직경이 6 mm 이상의 난포는 미리 터뜨렸다. 그후 난소를 절개하여 항생제가 들어있는 생리식염수로 3~4회 세척하고 $\varnothing 90$ mm dish에서 펼친 후 blade로 난소의 표면과 내면을 가로와 세로로 길게 선을 긋듯이 세절한 후 난자 세척미디어(TL-Hepes)가 담겨져 있는 비이커에 여러 번 흔들어 난포란을 채란하였다.

3. 체외성숙

성숙배양액(TCM-199)에 10%의 fetal bovine serum (FBS, Gibco), 호르몬 (FSH 0.5 ug/ml, LH 5 ug/ml 및 Estradiol 1 ug/ml, Sigma)과 항생제(100 U/ml penicillin streptomycin, 100 ug/ml)을 첨가하여 체외성숙을 유도하였고, 이와 같이 준비된 체외성숙 배양액은 30 mm dish에 3 ml 분주하였고, 배양기에서 18시간 이상 전배양을 실시하여 평형을 유도하였다. 체외성숙은 Wiemer 등 (1991)의 방법에 준하여 TCM-199 배양액에 난포란을 난구세포의 충실도에 따라 Grade I, II로 구분하여 넣고 5% CO₂, 98~99% 습도, 39°C CO₂ 배양기에 24시

간동안 배양을 실시하여 난구세포의 팽창과 세포질의 충실도 등으로 체외성숙을 판정하여 체외수정에 공시 여부를 판단하였다.

4. 체외수정

체외수정 배양액에 6 mg/ml BSA를 첨가하고 항생제 (100 U/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin, 50 ug/ml)을 첨가한 배양액은 5 ml 분주하여, 배양기에서 18시간 전 배양을 실시하여 평형을 유도하였다. 체외수정 시 액체 질소에서 한우 동결정액 straw를 꺼내어서 38°C에서 1분간 용해 후 10 ml 정자 세척액 (D-PBS, Sigma)에 넣은 후 500 g에서 3분간 원심분리 후 정자 펠렛을 얻은 후 100 ng/ml heparin을 넣어 배양기에서 15분간 수정능 획득을 시킨 후 수정능이 획득된 정자의 최종농도가 $1\sim 2 \times 10^6$ sperms/ml이 되도록 한 후 5% CO₂, 98~99% 습도, 39°C CO₂ 배양기에 난자와 같이 넣은 후 24시간 동안 체외수정을 유도하였다.

5. 체외배양

체외배양은 CR1aa 배양액에 4 mg/ml BSA, 10% FBS를 첨가하여 이용하였다. 체외수정 20~22시간 후에 4 mg/ml BSA 첨가된 CR1aa 배양액으로 2~3회 세척한 후 3일간 체외배양을 실시하여 분할이 일어난 수정란만을 선별하여 10% FBS가 첨가된 CR1aa 배양액으로 2차 체외배양을 3일간 한 후 생산된 배반포 이상의 체외수정란만을 수정란이식에 이용하였다.

6. 수정란 이식 및 임신감정

수정란은 37~39°C가 유지될 수 있는 수정란 운반용 항온기에 담아 운반한 후 농가에 준비된 Holstein 암소에 비외과적 방법으로 straw 당 2개의 수정란을 장착하여 황체가 형성된 자궁각 부위에 이식을 실시하였다. 임신 감정은 1차적으로 이식 후 20~21일에 재발정이 발현되지 않으면 임신 가능성이 있음을 시사하였고, 45~60일 후에 직장 검사법으로 임신 여부를 최종 확인하였다.

7. 통계분석

본 연구의 결과는 SAS package(8.0)를 이용한

분산분석(ANOVA)법을 이용하여 Duncan 분석법과 LSD 분석법을 병용하여 분석하였고, 유의적 검증의 기준은 ($p < 0.05$) 이하로 하였다.

결 과

1. 채란별 회수율

채란방법에 따른 한우 수정란 회수율에 대한 성적을 Table 1에 나타내었다. 총 3,131개의 난소를 흡입법 후 세절법으로 채란하였고, 3,365개의 난소를 흡입법으로만 채란한 결과 흡입법 후 세절법에서는 25,544개, 그리고 흡입법에 의해서는 21,744개의 난자를 채란하게 되었다. 난소당 난포란의 수에서는 흡입법 후 세절법에 있어서 8.2개, 흡입법은 6.5개로 흡입법 후 세절법에서 평균 1.7개의 난포란을 추가적으로 채란할 수 있었다.

2. 채란별 분할율 및 배발달율

흡입법 후 세절법과 흡입법으로 채란된 난포란을 체외성숙·수정에 공시 후 분할율과 배발달율을 Table 2에 나타내었다. 체외성숙된 난자의 2-cell 이상 분할율은 흡입법에 의해서 채란된 난자의 경우 83.5%였으며, 흡입법 후 세절법은 76.0%로 흡입법에 의한 채란방법에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 높은 분할율을 얻었다. 채란별 배발

달율에 있어서 흡입법 후 세절법에 의해 채란된 난자의 발달율은 28.3%이며, 흡입법에 의해서 채란된 난자의 발달율은 22.8%로 채란방법에 따른 배발달율은 유의차를 보이지 않았다. 또한 난소 1개당 이식 가능한 배반포의 생산은 흡입후 세절법에서 1.8개로 흡입법의 1.1개보다 유의적으로 많은 수정란을 생산하였다.

3. 채란별 생산된 수정란 이식 후 수태율

채란별 한우 수정란이식 후 수태율에 대한 성적은 Table 3에서와 같이 흡입법만으로 생산된 수정란을 251두에 이식하여 157 (62.5%)두가 수태가 되었으며, 흡입법 후 세절법으로 생산된 수정란을 443두 이식하여 241 (54.4%)두가 수태가 되어 흡

Table 3. Effect of collection methods on pregnancy rate after embryo transfer

Collection methods	No. and (%) of recipients	
	Transferred	Pregnancy
Slicing after aspiration	443	241(54.4) ^a
Aspiration	251	157(62.5) ^b

^{a,b} Values with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

Table 1. Effect of collection methods on efficiency of oocyte collection

Collection methods	No. of ovaries used	No. of oocytes collected	No. of oocytes per ovary
Slicing after aspiration	3,131	25,544	8.2 ^a
Aspiration	3,365	21,744	6.5 ^b

^{a,b} Values with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

Table 2. Effect of collection methods on efficiency of IVP embryo production

Collection methods	No. of oocytes used	No. and (%) of embryos cleaved	No. and (%) of blastocysts developed	No. of blastocysts per ovary
Slicing after aspiration	19,956	15,135(75.8) ^a	5,655(28.3) ^a	1.8 ^a
Aspiration	17,344	14,636(84.4) ^b	3,946(22.8) ^b	1.1 ^b

^{a,b} Values with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

Table 4. Effect of recipient typer and collection methods on the pregnancy rate after IVP embryos

Type of recipients	Collection methods	No. and (%) of recipients	
		Transferred	Pregnancy
Nullipara	Slicing after aspiration	253	147(58.1) ^a
	Aspiration	157	107(68.2) ^b
Pluripara	Slicing after aspiration	190	94(49.5) ^a
	Aspiration	94	50(53.2) ^b

^{a,b} Values with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

입법으로 생산된 수정란을 이식 후 수태율이 유의적으로 높게 나타났다.

4. 경산우와 처녀우의 수정란이식 후 수태율

채란별 생산된 수정란을 경산우와 처녀우에 이식 후 수태율에 미치는 영향에 대한 결과는 Table 4에서와 같이 흡입법 후 세절법으로 채란하여 생산된 수정란으로 이식 후 경산우 190두에서 94 (49.5%)두, 처녀우 253두에서 147(58.1%)두가 수태되었으며, 흡입법으로 채란하여 생산된 수정란으로 이식 후 경산우 94두에서 50(53.2%)두, 처녀우 157두에서 107(68.2%)두가 수태되어 처녀우와 경산우와의 차이보다는 채란방법간의 유의적인 차이를 보였다.

고 찰

소를 이용한 연구에서 Suss와 Madison (1983)은 세절법으로 난포란을 회수한 후 난소 한 개당 20~30개의 난포란을 채란하였으며, 흡입법 후에 세절법으로 채란하여 추가적으로 난자를 얻은 8개 보다 월등히 높은 결과를 나타냈었다. Xu 등 (1988)과 Mayr 등 (1986)은 흡입법을 이용하여 난소당 평균 11개 난포란을 채란하였으며, 그 중 약 50%가 체외수정에 공시할 수 있는 난자라고 보고하였다. 이는 흡입법이 세절법보다 채란율이 저조

함을 시사한다. 또한, 양 (Kay와 Frylinck, 1992)과 염소 (Mogas 등, 1992)에서도 세절법을 이용함으로써 흡입법보다 많은 수의 난포란을 채란하여 세절법으로 채란하는 것이 수정란 생산에 효과적이라고 보고하였다.

흡입법과 세절법을 병용하였을 때 Iwasaki 등 (1987)은 한 난소에서 채취된 난포란 중 우량란이 29.7%인 3.8개였으며, Sato 등 (1990)은 12.3개, Takagi 등 (1992)은 16.1개로서 본 연구 회수율에 있어서 흡입법 후 세절하여 8.2개로 약 4~8개 정도의 차이를 보였으며, 흡입법으로 채란한 난자 수는 6.5개였다. 따라서 한우 난소를 두 가지 채란법을 병용하는 방법이 흡입법으로 채란하는 것보다 다량의 우량한 난자를 추가적으로 확보할 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 수정률은 2~6 mm의 난포내에 있는 난자들을 흡입법으로 채란한 후 세절법으로 채취된 난자들은 보다 미성숙 혹은 폐쇄과정의 난포들에서 기원되었을 가능성이 높기 때문일 것으로 사료된다. Takagi 등 (1992)은 흡입법에 의해 채란된 난포란의 체외 수정율이 세절법으로 채란된 난포란의 수정율보다 높아 본 연구와 일치된 결과를 볼 수 있다. 반대로 Carolan 등 (1994)은 흡입법과 Dissection시 각각 82.3%와 84.7%의 수정율을, Hamano와 Kuwayame (1993)도 흡입법과 Cutting시 79.7%와 82.4%의 수정율은 차이가 없었다고 보고하였다.

본 연구의 배 발달율에 있어서는 흡입법이나 세절법에 의해서 채란된 난자의 발달율이 차이가 없다는 Carolan 등(1994)의 보고가 있었으며, 흡입법이 시간적인 면에서는 다소 빠를 수 있지만 세절법은 적은 수의 난소를 이용하여 같은 수의 난자를 획득할 수 있다는 장점을 지니고 있다고 보고하여 세절법의 이용을 권장하기도 했으나, 본 연구에서는 세절법과 흡입법으로 비교실험을 하지 않아 위의 결과와 직접적인 비교를 할 수 없기에 이 부분에 있어서 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 흡입법 후 세절법을 했을 경우 난소당 배반포수에 있어서는 0.7개 정도 배반포를 얻을 수 있었기에 추가적으로 흡입법으로 채란을 한 후 세절법을 병행하여 난자를 얻는 것이 수정란 생산에

있어 효율적인 방법인 것으로 사료되어진다.

이 연구에서 채란별 생산한 수정란이식 후 수태율에 부분에 있어서 두 방법간 차이를 보이지 않을 것이라 생각했으나 통계분석 후 약간의 차이를 나타냈다. 이는 시술자의 숙련도와 수란우의 사양 형태 그리고 시술자의 수란우 선별능력이 수태율에 많은 영향을 미친 것으로 사료되어지며, 채란별 생산된 배반포로 인한 수태율에 영향을 미쳤다고는 판단할 수 없었다. 실질적으로 수정란의 이식에 있어서 Sediol (1980)은 이식 시술자의 숙련도에 따라 26%에서부터 67%까지의 수태율의 차이를 나타냈다고 보고하였다. 채란별 생산된 수정란을 이식하여 수태율에 미치는 영향에 대한 보고자료가 없어서 위의 결과와 직접적인 비교는 할 수 없었다. 본 연구에서 알 수 있는 결과 어떠한 채란방법이 효율적이고 많은 수의 난자를 회수할 수 있는가하는 것이다. 또한 수정란이식에 있어서 산업적인 부분을 고려한다면 우선적으로 요구되는 만큼의 수정란공급이 충분히 이루어진다면 저렴한 생산 비용으로 많은 수의 수정란을 생산하여 경제적 가치와 이익은 물론 양축가의 사기 증진과 농가 소득 증대에 기여할 것으로 사료된다.

본 연구에서 수정란이식에 이용된 대리모의 상태, 즉 미경산우와 경산우를 이용하였을 때 수태율에 미치는 영향을 조사하였다. Wright 등 (1981)는 경산우와 처녀우간에 수태율에 큰 차이가 없었다고 하였으나, Elsdon 등 (1982)과 오 등 (1986)은 처녀우 또는 초산우를 수란우로 선정하는 것이 좋다고 하였다. 한편 Donaldson 등 (1982)은 처녀우에서 더 유리한 조건은 없다고 하여, 현재 보고자들 간에 일치된 견해를 보이고 있지 않았다. 수란우의 나이는 조산과 관계가 있으며 4산 이하에서 조산이 많았다는 보고도 있었다 (King 등, 1985). 수란우에 따른 수태율에서 처녀우가 경산우보다 높은 것은 자궁의 상태가 양호하고 경산우에 비해 영양적인 스트레스를 적게 받기 때문인 것으로 알려져 있다. 본 실험의 결과에서 나타난 것처럼 처녀우가 경산우보다 두 채란방법에 상관없이 전체적으로 약간 높은 것으로 Broadbent 등 (1991)이 경산우보다 처녀우가 수태율이 높았다는 보고와 일치됨을 나타냈다.

본 연구에서는 채란별 수태율 성적에 있어서 약간의 유의적 차이를 보였으나, 체외수정란 생산의 중요한 재료인 난소를 수급하기가 어려운 국내 실정을 고려한다면 적은 양의 난소에서 최대한의 난자를 회수한다면 흡입법과 세절법을 병용한 방법을 사용하여 학문적, 산업적으로 많은 부분에서 수정란이 활용될 것으로 사료된다.

적 요

도축장에서 회수한 한우 난소로부터 난자를 회수하기 위한 방법으로 흡입법 후 세절법과 흡입법으로 난자를 회수하여, 난자의 회수율과 채란된 난자를 체외수정 후 발달율과 수정란 이식 후 수태율에 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 난자 회수율은 각 난소당 회수된 난자수는 흡입 후 세절법이 8.2개, 흡입법이 6.5개로서 흡입 후 세절법을 병용하는 것이 난자 회수율에서 유의적으로 많았다.
2. 채란방법에 따른 체외수정란의 분할율은 흡입 후 세절법이 75.8%, 흡입법은 84.4%로서 유의적이 차이를 보이지 않았다.
3. 배반포 발달율은 흡입 후 세절법이 28.3%, 흡입법은 22.8%로서 흡입 후 세절법이 유의적으로 높았다.
4. 난소당 배반포수에서는 흡입 후 세절법이 1.8개로서 흡입법의 1.1개보다 유의적으로 많은 배반포수를 생산할 수 있었다.
5. 채란별 수태율 조사 결과 흡입 후 세절법이 54.4%, 흡입법이 62.5%로서 흡입법으로 채란된 난자로부터 얻어진 수정란을 이식하였을 때 높은 수태율을 얻을 수 있었다.
6. 경산우와 처녀우에 수정란이식 후 수태율은 경산우는 흡입법 후 세절법이 54.4%, 흡입법은 62.5% 나타났고, 처녀우는 흡입법 후 세절법이 58.1%, 흡입법은 68.2%로서 경산우와 처녀우에 관계없이 흡입법으로 채란한 난자로부터 생산된 수정란을 이식하였을 때 수태율이 유의적으로 높은 결과를 얻었다.

이상의 결과에서 채란방법에 따른 난소당 이용 가능한 난자의 회수율은 흡입 후 세절법을 이용함

으로서 많은 난자와 수정란을 생산할 수 있었다. 그리하여 한정된 난소를 효율적으로 활용하기 위해서는 흡입 후 세절법을 이용하는 것이 전체적인 효율 향상에 도움이 될 것으로 판단된다.

참고문헌

- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DE. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology*, 27:125-139.
- Carolan C, Monaghan P, Gallagher M and Goden I. 1994. Effect of recovery method on yield of bovine oocytes per ovary and their developmental competence after maturation, fertilization and culture *in vitro*. *Theriogenology*, 41: 1061-1068.
- Donaldson LE. 1982. Embryo transfer in cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio Texas. pp. 54-65.
- Elsden RP, Seidel GE Jr, Takeda T and Farrand GD. 1982. Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred nonsurgically. *Theriogenology*, 17:1-10.
- Hamano S and Kuwayama M. 1993. *In vitro* fertilization and development of bovine oocytes recovered from the ovaries of individual donors: A Comparison between the cutting and aspiration method. *Theriogenology*, 39:703-712.
- Iwasaki ST, Kono Nakahara T, Shioya Y, Fukushima M and Hanada. A. 1987. New methods for the recovery of oocytes from bovine ovarian tissue in relation to *in vitro* maturation and fertilization. *Japanese J. Anim. Reprod.*, 33: 188-192.
- Kay GW and Frylinck S. 1992. Recovery of ovine follicular oocytes: Effect of different methods on yield and quality. *Proceedings of the Twelfth International Congress on Anim. Reprod. (Hague)*, 1:345-347.
- King KK, Seidel GE Jr and Elsden RP. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. II. Lengths of gestation. *J. Anim. Sci.*, 61:758-765.
- Mayr B, Schellander K, Schleger W and Fuher F. 1986. Bovine oocytes: *in vitro* maturation and IVF study. *Proceeding of Congress on Future Aspects in Human in vitro Fertilization (Vienna)*. *J. In vitro Fert. Embryo Trans.*, 3:76-77.
- Mogas TA, Maritino MF, Palomon MJ and Paramio MT. 1992. Effect of method of recovery on the number and type of oocytes obtained for IVF. *J. Reprod.*, 52:90 (abst.).
- Sato E, Matsuo MM and Miyamoto H. 1990. Meiotic maturation of bovine oocytes *in vitro* improvement of meiotic competence by dibutyl cycle adenosine 3',5'-monophosphate. *J. Anim. Sci.*, 68:1182-1187.
- Seidel GE. 1980. Critical review of embryo transfer procedures with cattle. *Fert and Embryo Develop*, Plenum Press, pp. 323-353.
- Suss U and Madison. 1983. Morphology and meiotic development of bovine oocytes cultured *in vitro*. *Archives of Andrology*, 11:217-218.
- Takagi TK, Mori T, Takahashi S, Sugawara S and Masaki J. 1992. Differences in development of bovine oocytes recovered by aspiration or by mincing. *J. Anim. Sci.*, 70:1923-1927.
- Wright RW Jr and Bondioli KR. 1981. Aspects of *in vitro* fertilization and embryos culture in domestic animals. *J. Anim. Sci.*, 53:702-729.
- Xu K, Greve T, Callesen H and Hyttel P. 1988. Birth of a calf following *in vitro* fertilization of *in vitro* matured oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, 1:18 (abst.).
- 오성중, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소의 발정 동기화 및 동결수정란이식에 관한 연구. *한축지*, 28:468-473.
- 박충생, 공일근, 노규진, 주영국, 송상현, 황영균, 박준규, 조성근, 전병균, 이경미, 윤희준, 최민철, 광대오, 이효종, 최상용. 1994. 체외성숙, 수정 및 배양된 한우 체외수정란의 유우이식에 의한 산자 생산. *한국가축번식학회지*, 18: 47-54.

박희성, 이지삼, 정장용. 2000. 한국 재래산양의 난포란의 회수와 체외수정란에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 15:287-293.

조상래, 강태영, 박종식, 허창기, 송상현, 이효종, 최상용. 2001. 채취방법에 따른 소 난포란의 회수율 및 수정란의 발달율. 한국수정란이식학회지, 16:99-105.

한용만, 이철상, 이정호, 김선정, 신상태, 김동훈, 이훈택, 정병현, 정길생, 김영수, 김영훈, 이근

세, 김교국, 황윤식, 이경광. 1994. 체외수정란 유래의 송아지 생산. 한국가축번식학회지, 18: 17-13.

황우석, 조충호, 이병천, 신태영, 노상호, 김성기, 전병준, 이강남, 신언익, 임홍순. 1993. 한우정액 유래 체외수정 송아지 생산에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 8:143-149.

(접수일: 2005. 1. 25 / 채택일: 2005. 3. 26)