

## 200 mg FSH 투여에 의한 한우의 과배란 유도 및 체내 수정란 생산

박정준<sup>1</sup> · 유한준<sup>1</sup> · 김기원<sup>1</sup> · 이승환<sup>3</sup> · 박춘근<sup>2</sup> · 홍성구<sup>3,\*</sup><sup>1</sup>명품한우컨설팅, <sup>2</sup>강원대학교 동물생명과학대학, <sup>3</sup>국립축산과학원 한우시험장Superovulatory Response to 200 mg FSH Level and Production *In Vivo* Embryos in Korean Native Cattle (Hanwoo)Joung-Jun Park<sup>1</sup>, Han-Jun Yoo<sup>1</sup>, Ki-Won Kim<sup>1</sup>, Seung-Hwan Lee<sup>3</sup>,  
Choon-Keun Park<sup>2</sup> and Seong-Koo Hong<sup>3,\*</sup><sup>1</sup>Developmental Biotechnology Laboratory, Myung-poomHanwooConsulting, Hoengseong 225-807, Korea<sup>2</sup>College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea<sup>3</sup>Hanwoo Experiment Station, National Livestock Research Institute, Pyeongchang 232-952, Korea

## ABSTRACT

This study was performed to investigate the FSH levels for superovulation procedure in Korean Native Cattle (Hanwoo). The effectiveness of 200 mg and 400 mg of FSH to initiate superovulation was examined in Hanwoo. Donors, at random stages of the estrous cycle, received a CIDR. 7 days later, 200 mg FSH group was treated with 40, 30, 20, 10 mg FSH levels in declining doses twice daily by intramuscular injection for 4 days. Also, 400 mg FSH group was treated with 80, 60, 40, 20 mg FSH levels. On the 3rd day administration of FSH, 25 mg PGF<sub>2</sub>α was administered and CIDR was withdrawn. Donors were artificially inseminated twice at 12 hr intervals. The donor cattle received 250 μg GnRH at time of 1st insemination and embryos were recovered 8 days after the 1st insemination. As a results, average number of CL treated with FSH 200 mg was higher as 20.9±1.20 than 15.8±0.63 for donors treated with FSH 400 mg, respectively ( $p<0.05$ ). Treated group of 200 mg FSH level increased ( $p<0.05$ ) the number of embryos recovered per procedure compared to 400 mg FSH level (18.2±1.18 vs. 12.38±0.52, respectively). When treatment of 200 mg FSH was performed, average transferable embryos/ova increased ( $p<0.05$ ) to 14.1±1.12 from 6.8±0.33 of treated of 400 mg FSH. Group of 200 mg FSH increased ( $p<0.05$ ) to 8.3±0.76 from 2.0±0.26 in morula stage compare to 400 mg FSH group. Mean of total early blastocyst and expanded blastocyst stage embryos was similar ( $p<0.05$ ) between the 200 mg and 400 mg FSH levels group (4.7±1.19 vs. 2.9±0.18 and 1.2±0.40 vs. 1.9±0.17). These results suggest that 200 mg FSH level-based superovulation protocol with CIDR may be effectively used for production of superior embryos in Hanwoo. In other words, the less level of FSH may be effectively applied for Hanwoo (Korean Native Cattle), because Hanwoo was smaller body size than beef or dairy cow.

(Key words : FSH level, Superovulation, Korean Native Cattle(Hanwoo), Embryo recovery)

## 서 론

국내 소 수정란이식은 40년 전 한우에 이어 젖소에 처음으로 도입된 이후, 수정란이식 연구는 활성화 및 산업화가 급속하게 진행되어 왔다. 소 수정란의 생산 및 이식을 이용한 개량 및 산업적 이용을 제한하는 제반 요인들을 극복하기 위한 연구가 지속적으로 시도되었음에도 불구하고, 공란우와 수란우의 개체에 따른 영향 요인들은 여전히 개선되지 않고 있다. 가축 수정란 이식의 최종 목

표는 생산성 증대이며, 이를 위하여 우수한 수정란의 대량 생산과 산자 생산을 위한 수태율 향상이 요구되고 있으나, 현재까지 수태율을 높일 수 있는 최적의 조건은 명확히 확립되어 있지 않은 상태이다(김 등, 2008).

가축 생산성의 증대를 위한 수정란 생산 방법은 체외 수정과 체내 수정으로 구분된다. 체외 수정란의 경우 저렴한 비용으로 대량 생산이 가능하여 가축의 증식과 연구에 이용되고 있지만, 낮은 수태율, 높은 태아 손실율, 낮은 분만율, 과체중 및 기형 송아지의 생산 등 문제점을 안고 있다(Schmidt 등, 1996; van Wagtenonk-de Leeuw

\* 본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ907008052011)의 지원에 의해 이루어진 것임.

† Corresponding author : Phone: +82-33-330-0601, E-mail: hskhanu@korea.kr

등, 1998; Numabe 등 2000; Lazzari 등, 2002). 이에 비해 체내 수정란의 경우 고비용과 노력이 요구되지만, 우수한 형질의 소를 사용할 수 있어 형질 개량 측면에서 체외 수정란보다 활용성이 높다는 장점을 가지고 있다(Greve 등, 1995; 임 등, 1998; 김 등, 2002; Ax 등, 2005; 박 등, 2005; 최 등, 2005). 이러한 체내 수정란의 생산을 위해 가장 많이 쓰이는 방법이 과배란 처리를 통한 수정란 채란 방법인데, 과배란 처리는 이식 후 높은 수태율을 가진 다수의 수정란을 생산하기 위해 실시된다. 수정란 이식 기술이 실용화되기 위해서는 기본적으로 과배란 처리 방법이 확립되어야 한다. 과배란 처리 방법은 소 수정란 이식에 있어서 가장 핵심적인 기술이지만 아직까지 이식 가능한 수정란을 안정적이고 효율적으로 생산하는데 많은 문제점이 남아 있다. 소의 과배란 처리에 이용되는 호르몬으로는 PMSG와 FSH가 있는데, PMSG는 sialic acid가 함유된 복합 당단백질로 투여 후 2차 난포를 자극하여 난포란의 발육을 촉진시키는데, 회수된 수정란의 수량은 많지만 수정란의 질이 저하되고, 난포의 배란 지연이나 난포낭종 발생을 야기하여 다음 발정 주기에 나쁜 영향을 미치게 된다(Monniaux 등, 1983). 반면, 뇌하수체에서 추출한 FSH를 사용하는 과배란 처리 방법의 경우, 회수되는 수정란의 질은 PMSG보다 우수하나, 4~5시간의 짧은 반감기로 인해 연속해서 투여해야 하는 단점이 있다(Walsh 등, 1993; Demoustier 등, 1998). 또한, 동일 공란우에서도 발정 주기 중 호르몬 처리 개시일과 투여량(Akbar 등, 1974; Nasser 등, 1993; Bo 등, 2002)에 따른 변이가 많으며, 주위 환경의 온도 스트레스(Wolfenson 등, 1997), 공란우의 호르몬 감수성 저하(Shea 등, 1984), FSH 제제에 함유되어 있는 LH의 성분 비율(Murphy 등, 1990) 등도 문제점으로 알려져 있다. 이 외에도, FSH로 과배란을 유기할 때의 문제점은 주사로 인한 소의 스트레스 유도, 12시간 간격으로 FSH를 투여해야 하는 등에 따른 노동력 등이 지적되고 있지만, 가장 큰 단점은 값비싼 FSH 제제로 인한 수정란 생산 경비의 증가이다. 이와 같은 과배란 방법의 문제점들을 해결하기 위해 FSH의 생리적 반감기를 인위적으로 연장시킬 수 있는 방법으로 FSH 흡수를 지연시킬 수 있는 고분자 유기물질인 PVP(polyvinylpyrrolidone), CMC(carboxymethyl cellulose), propylene glycol, PEG(polyethylene glycol) 등을 사용하여 호르몬의 투여 횟수를 줄이는 방법이 연구되기도 하였다(Lopez-Sebastian 등, 1993; Suzuki 1993; Takedomi 등, 1995; 임 등, 1998; 최 등, 2002). 최 등(2002)에 의하면 200 mg 1회 투여가 400 mg 1회 투여와 50 mg 8회 투여에 비하여 이식 가능한 수정란의 수가 더 많다고 보고한 반면, 임 등(1998)은 한우의 과배란 처리 성적의 변이성이 크다고 보고한 바가 있다.

한편, 공란우로부터 신선 수정란을 채란하여 수란우에 이식하기 위해서는 수란우의 이식일자에 맞춘 공란우의 과배란 처리 방법이 필요하다. 그동안 PGF<sub>2</sub> α, GnRH, CIDR 등을 사용한 발정 및 배란 동기화 방법(Pursley 등, 1998; Twagirumung 등, 1992; Yavas, 1999; Stevenson 등, 2000; Martinez 등, 2001)이 연구되고 개발되어 왔지만, FSH 투여와 CIDR를 함께 사용한 후 그 효과를 알아본 연구는 부족한 실정이다. 이에, 본 연구는 200 mg, 400 mg의 FSH의 투여 용량과 CIDR의 전 처리에 따른 한우의 과배란 및 체내 수정란 생산 효율에 대해 알아보고자

수행되었다.

## 재료 및 방법

### 공란우 선발

본 연구에서 공란우 선발에 이용된 자료는 국립축산과학원 한우시험장에서 2000년부터 2011년까지 사육되거나 도축된 한우 5,700두에 대하여 표현형 자료와 혈통 자료를 이용하여 분석하였다.

공란우 선발을 위한 분석대상 형질은 냉도체중, 배최장근 단면적, 등지방두께 및 근내지방도이며, 각 형질에 대한 통계분석 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ij} = u + sex_i + b1X + a_{ij} + e_{ij}$$

여기서,  $Y_{ij}$ 는  $i$ 번째 성별을 고정효과로,  $b1$ 는 도축일령( $X$ )에 대한 회귀계수,  $a_{ij}$ 는  $i$ 번째 성별 및  $j$ 번째 개체의 상가적 유전효과, 그리고  $e_{ij}$ 는 임의의 환경 오차이다. 유전모수 추정 및 육종가추정은 ASReml (Gilmour 등, 2006)을 이용하여 추정하였고, 추정육종가를 표준화 육종가로 환산하여, 집단에서 상위 5%를 선발하여 공란우로 선발하였다.

### 공란우의 과배란 처리 및 수정란 채란

공란우의 과배란을 유도하기 위해 CIDR-plus(InterAg, Hamilton, New Zealand)를 질 내에 삽입 후 7일째부터 FSH 제제인 Folltropin<sup>®</sup>-V(Vetrepharm, Canada)을 투여한다. 200 mg의 FSH 처리군은 총 FSH 200 mg을 40 mg, 30 mg, 20 mg, 10 mg의 용량으로 1일 오전, 오후 각 2회씩 점감법으로 주사하여 총 8회, 12시간 간격으로 근육 주사를 하고, 400 mg의 FSH 처리군은 총 400 mg의 FSH를 80 mg, 60 mg, 40 mg, 20 mg의 1회 투여 용량으로 나누어 동일한 방법으로 공란우에게 투여한다. FSH 투여 3일 후에 모든 처리군의 CIDR-plus를 제거하고 PGF<sub>2</sub> α 제제인 Lutalyse(Pharmacia & Upjohn, USA)를 25mg 주사하였으며, FSH 투여 완료 후에 12시간 간격으로 인공수정을 2회 실시하고, GnRH 제제를 250 μg 주사하였다. 인공수정 7일 후, 수정란 채란을 위해 공란우의 제2, 3 미 추사이에 2% lidocaine hydrochloride 5 ml로 점감적 주사를 통해 경막의 국소마취를 실시하고, balloon catheter를 자궁선단부에 주입 및 장착하여 수정란 채란을 실시하였다(Fig. 1).

### 수정란의 평가

Complete flush solution(Bioniche Animal Health, Canada)으로 자궁을 관류하여 수정란을 채란하고, Em-Con-Filter(Kruuse, Marslev, Denmark)로 여과하여 실체현미경(Olympus, Japan)하에서 수정란을 회수한다. 회수

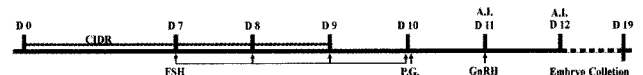


Fig. 1. Superovulation method with CIDR treated 200 mg or 400 mg of FSH levels in Hanwoo.

된 수정란은 국제수정란이식학회의 수정란 평가 기준 (IE-TS)에 따라 1등급(excellent or good)과 2등급 (fair)으로 평가, 분류된 수정란만을 선별하였다.

### 통계 분석

200 mg 및 400 mg의 FSH에 의한 과배란 처리 및 수정란 채란을 통해 조사된 황체 반응, 수정란 회수율 및 발달단계에 대한 결과들은 SAS 9.1(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA 분석과 Duncan's multiple range test에 의하여 유의차( $p < 0.05$ )를 검정하였다.

## 결 과

### FSH 투여 용량에 따른 공란우의 황체 개수와 수정란 회수율

FSH 200mg 투여군과 400mg 투여군간의 과배란 처리에 따른 평균 황체 개수의 결과는 Table 1과 같다. 두 투여 용량 간 과배란 처리에 의해 생성된 평균 황체 개수는 200 mg의 FSH 용량이 400 mg의 FSH 용량보다 유의적으로 높은 값을 나타냈다( $20.9 \pm 1.20$  vs  $15.8 \pm 0.63$ ,  $p < 0.05$ ). 또한, 왼쪽 및 오른쪽에 위치한 난소별 비교에서도 200 mg의 FSH 용량이 400 mg의 FSH 용량보다 평균 황체 개수가 유의적으로 높게 나타났다( $9.7 \pm 0.65$  vs  $7.4 \pm 0.30$ ,  $11.3 \pm 0.78$  vs  $8.4 \pm 0.45$ ,  $p < 0.05$ ). 하지만 동일한 처리군 내에서 왼쪽 및 오른쪽에 위치한 난소별 생성된 황체 개수에서는 유의적인 차이가 발견되지 않았다. 수정란 채란 결과, 총 회수된 수정란이 200 mg의 FSH 처리군에서는 평균  $18.2 \pm 1.18$ 개로 관찰되었고, 이 중 이식 가능한 수정란의

평균 개수는  $14.1 \pm 1.12$ 개로 관찰되었다. 반면, FSH 400 mg의 처리군에서는 총 회수된 수정란의 평균 개수는  $12.3 \pm 0.52$ 개이며, 이식 가능한 평균 수정란 개수는  $6.8 \pm 0.33$ 개로 모두 200 mg의 FSH 처리군보다 유의적으로 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ). 평균 황체 개수에 대한 총 회수된 수정란의 평균 개수 비율은 200 mg과 400 mg의 처리군에서 각  $86.9 \pm 1.90\%$ 와  $78.0 \pm 0.49\%$ 로 200 mg의 FSH 처리군에서 유의적으로 높게 관찰되었고( $p < 0.05$ ), 평균 황체 개수에 대한 이식 가능한 수정란의 평균 개수 비율 또한  $67.1 \pm 2.66\%$ 와  $43.2 \pm 1.40\%$ 로 200 mg의 FSH 처리군이 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ).

### FSH 투여 용량에 따른 수정란 채란 성적

Table 2는 과배란 처리 방법에 따른 수정란 채란성적을 나타낸 결과로서, 총 회수된 수정란에 대한 이식 가능한 수정란의 비율을 보여주는 표이다. 총 회수된 수정란 중 수정란 이식에 사용할 수 있는 수정란은 200 mg 및 400 mg의 FSH 처리군에서  $77.27 \pm 2.75\%$  및  $55.38 \pm 1.76\%$ 로 나타나, 200 mg의 FSH 처리군에서 채란 효율이 유의적으로 더 높다는 것을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ).

이식 가능한 수정란들의 발달 단계를 조사하여, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 200 mg 처리군에서는 상실배 단계의 평균 수정란 개수는  $8.3 \pm 0.76$ 개, 초기 배반포와 확장 배반포 단계의 수정란은 각각  $4.7 \pm 1.19$ 개와  $1.2 \pm 0.40$ 개로 관찰되었다. 400 mg의 처리군의 경우, 상실배 단계의 수정란만이  $2.0 \pm 0.26$ 개로 200 mg의 처리군과 비교하여 유의적으로 낮게 나타났고( $p < 0.05$ ), 초기 배반포와 확장 배반포 단계의 수정란에서는 각각  $2.9 \pm 0.18$ 개 및  $1.9 \pm 0.17$ 개로 유의적인 차이가 발견되지 않았다.

Table 1. Rate of recovered and transferable embryos for corpus luteum following superovulation with 200 mg or 400 mg of FSH levels in Hanwoo (Korean Native Cattle)

FSH level	No. of corpus luteum			Embryo recovery		Transferable embryos	
	Left	Right	Total	No. of recovered embryos	Rate of recovered embryos/CL	No. of transferable embryos	Rate of transferable embryos/CL
200 mg	$9.7 \pm 0.65^a$	$11.3 \pm 0.78^a$	$20.9 \pm 1.20^a$	$18.2 \pm 1.18^a$	$86.9 \pm 1.90^a$	$14.1 \pm 1.12^a$	$67.1 \pm 2.66^a$
400 mg	$7.4 \pm 0.30^b$	$8.4 \pm 0.45^b$	$15.8 \pm 0.63^b$	$12.3 \pm 0.52^b$	$78.0 \pm 0.49^b$	$6.8 \pm 0.33^b$	$43.2 \pm 1.40^b$

Values with different superscripts differ significantly (Mean $\pm$ SEM,  $p < 0.05$ ).

Table 2. Rate of transferable embryos for recovered embryos following superovulation with 200 mg or 400 mg of FSH levels in Hanwoo (Korean Native Cattle)

FSH level	No. of donors	No. of recovered embryos	No. of transferable embryos	Rate of transferable embryos /recovered embryos
200 mg	15	$18.2 \pm 1.18^a$	$14.1 \pm 1.12^a$	$77.27 \pm 2.75^a$
400 mg	15	$12.3 \pm 0.52^b$	$6.8 \pm 0.33^b$	$55.38 \pm 1.76^b$

Values with different superscripts differ significantly (Mean $\pm$ SEM,  $p < 0.05$ ).

Table 3. Developmental stages of transferable embryos following superovulation treatment by 200 mg or 400 mg of FSH levels in Hanwoo (Korean Native Cattle)

FSH level	No. of transferable embryos	Developmental stages of embryos for E.T		
		Morula	Early blastocysts	Expanded blastocysts
200 mg	14.1±1.12 <sup>a</sup>	8.3±0.76 <sup>a</sup>	4.7±1.19 <sup>a</sup>	1.2±0.40 <sup>a</sup>
400 mg	6.8±0.33 <sup>b</sup>	2.0±0.26 <sup>b</sup>	2.9±0.18 <sup>a</sup>	1.9±0.17 <sup>a</sup>

Values with different superscripts differ significantly (Mean±SEM,  $p < 0.05$ ).

## 고찰

본 연구에서는 공란우의 호르몬 처리 방법에 따른 공란우의 발정 주기, 평균 황체 개수, 총 회수된 평균 수정란 개수 및 이식 가능한 평균 수정란 개수, 회수된 수정란들의 발달 단계에 대하여 조사하였다. 과배란 처리 방법에 따른 공란우의 난소 반응 및 수정란 회수 결과를 살펴보면 200 mg의 FSH level을 투여하였을 때에 평균 20.9±1.20개의 황체가 생성되었고, 평균 18.2±1.18개의 수정란이 회수되었다. 이러한 결과는 400 mg의 FSH level을 과배란 처리에 이용한 방법보다 높은 결과인데, 이러한 결과는 한우에서 더 적은 농도의 FSH 호르몬만으로도 이식에 충분한 개수의 수정란을 과배란을 통해 생산할 수 있다는 점을 시사해준다. 최 등(2007)은 CIDR 및 PEG에 용해시킨 FSH 200 mg 1회 투여 방법이 기존의 400 mg의 FSH 다회 투여 방법과 비교해 큰 차이가 없다고 보고한 바 있고, 반복채란의 경우 본 연구와 투여 방법이 다르지만 200 mg의 FSH 용량을 과배란 처리에 이용하였을 경우, 반복채란을 위한 과배란 처리를 1개월 간격으로 하여도 과배란 효과를 얻을 수 있었다는 연구 결과 또한 보고된 바 있다(신 등, 2009). 하지만 반복채란의 경우 과배란 처리로 인한 황체 생성이 감소한다고 보고된 바 또한 있다(신 등, 2009; Son 등, 2007). 이러한 결과들은 한우에서 200 mg의 FSH 농도에 의한 과배란 효과가 나타난 본 실험의 결과와 일치하는 부분이며, FSH 200 mg의 사용은 호르몬의 남용으로 인한 부작용, 즉 호르몬 내성과 같은 공란우의 감수성 저하, 체내 호르몬 불균형으로 인한 발정재귀 지연과 같은 번식 장애(Shea 등, 1984; Murphy 등, 1984) 등의 위험을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 반복채란을 위한 휴식기를 절감시킬 수 있을 것이라 생각된다.

Lafri 등(2002)에 의하면 과배란 처리 전에 CIDR를 삽입하고 제거하면서 발정을 유기시켰을 경우와 자연 발정 주기 중에 과배란 처리를 시작하여 PGF<sub>2</sub>α 투여로 황체를 퇴행시키면서 발정을 유기시켰을 때 총 회수된 수정란 수는 11.2개와 11.1개이며, 이식 가능한 수정란 수는 5.8개와 6.1개로 유의적인 차이가 없었다고 하였다. 본 실험에서도 발정주기를 고려하지 않고 무작위로 공란우를 선발하여 실험에 이용하였는데, FSH 200 mg 및 CIDR 전 처리에 의한 과배란 처리가 난소 반응, 수정란 회수율과 이식 가능한 수정란 수에서 개체별 유의적인 차이를 보이지 않으므로 공란우의 채란 시점과 수란우의 이식 시기를 일치시킬 수 있는 CIDR의 전 처리가 과배란 처리

에 있어 유용한 방법으로 사료된다.

결론적으로 CIDR의 전 처리와 FSH 200 mg의 투여가 난소 반응과 회수되는 수정란의 개수와 체내 수정란 생산 효율에 있어서 400 mg의 처리군보다 좋은 효과를 얻을 수 있었다. Dattena 등(1994)의 보고에서는 암양에 p-FSH 16 mg을 30% PVP 용액에 용해시켜 1회와 다회 투여 후 8.6개와 7.8개의 황체 개수를 보고하였는데, 다른 종인 특성을 고려해 봐야 하지만 한우보다 훨씬 적은 양의 16 mg의 FSH 농도에서도 과배란 효과가 나타나는 것을 알 수 있다. Son 등(2007)은 FSH 28 mg 투여시의 평균 황체수가 본 연구의 평균 황체 개수보다 적은 7.9±10개, 총 24 mg 투여시 8.3±1.1개로서 두 투여 용량간의 유의적인 차이가 없다는 결과도 보고된 바 있다. 이와 같은 결과들의 차이는 실험에 사용된 FSH 투여 용량에 따른 난소 반응의 차이로 생각이 되며, 품종과 환경을 고려하여 알맞은 FSH의 농도의 사용이 필요할 것으로 보인다. 고가의 FSH 비용을 줄임으로써 과배란 처리 비용과 수정란 생산 단가를 낮출 수 있고, 이러한 결과는 수정란 이식 사업이 보다 경쟁력을 갖추고 활성화시키는 데에 도움이 될 것이라고 생각된다. 또한, 발정 주기에 구애받지 않고 한 번에 여러 마리의 공란우를 과배란 처리를 할 수 있는 CIDR의 전 처리와 FSH 200 mg을 투여한 과배란 처리 방법이 보다 경제적, 효율적이며 축산 현장에서 적용하기에 매우 유용한 방법이라고 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ907-008052011)의 지원으로 수행된 연구 결과의 일부이며, 강원대학교 동물자원공동연구소의 기술적 지원에 감사를 표합니다.

## 인용문헌

1. Akbar AM, Nett TM, Niswendwr GD (1974): Metabolic clearance and secretion rates of gonadotropins at different stages of the oestrus cycle in ewes. *Endocrinology* 94:1318-1324.
2. Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D, McCauley TC (2005): Su-

- perovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifer. *Anim Reprod Sci* 85:71-80.
3. Bo GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft RJ (2002): The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
  4. Dattena M, Vespignani S, Branca A, Gallus M, Ledda S, Naitana S, Cappai P (1994): Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestrus ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 42:235-239.
  5. Demoustier MM, Becker J-F, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J-L, Ectors F (1998): Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology* 30:379-386.
  6. Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Thompson R (2006): ASReml User Guide Release 2.0 VSN. International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
  7. Greve T, Callesen H, Hyttel R, Assey R (1995): The effects of exogenous gonadotropins. *Theriogenology* 46:41-50.
  8. Lafri M, Ponsart C, Nibart M, Durand M, Morel A, Jeanguyot N, Badinand F, De Mari K, Humblot P (2002): Influence CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology* 58:1141-1151.
  9. Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruiop T, Niemann H, Galli C (2002): Cellular and molecular deviations in bovine *in vitro* produced embryos are related to the large offspring syndrome. *Biol Reprod* 67:767-775.
  10. Lopez-Sebastian A, Gomez-Brunet A, Lishman AW, Johnson SK, Inskip EK (1993): Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. *J Reprod Fertil* 99:437-442.
  11. Martines NF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ (2001): The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J Anim Sci* 80:1746-1751.
  12. Monniaus D, Chupin D, Saummande J (1983): Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19:55-81.
  13. Murphy DB, Mapletoft R, Manns J, Humphrey WD (1984): Variability in gonadotrophin preparations as a factor in superovulatory response. *Theriogenology* 21:117-125.
  14. Nasser LF, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ (1993): Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40:713-724.
  15. Numabe T, Oikawa T, Kikiuchi T, Horiuchi T (2000): Production efficiency of Japanese Black calves by transfer of produced *in vitro*. *Theriogenology* 52:1-10.
  16. Pursley JR., Silcox R, Wilbank MC (1998): Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 81:2139-2144.
  17. Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Hansen HB (1996): Pregnancies, calves, and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
  18. Shea BF, Janzen RE, McDermand DF (1984): Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology* 21:186-195.
  19. Son DS, Choe CY, Choi SH, Cho SR, Kim HJ, Han MH, Ryu IS, Suh GH, Kim UH, Kim IH (2007): Effect of estradiol benzoate or GnRH treatment prior to superstimulation in CIDR-treated, Korean native cows (*Bos tarurus*). *Anim Reprod Sci* 100:14-21.
  20. Stevenson JS, Thompson KE, Forbes WL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR (2000): Synchronizing estrus and/or ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet and prostaglandin F<sub>2</sub> α with or without timed insemination. *J Anim Sci* 78:1747-1752.
  21. Suzuki T (1993): Bovine embryo transfer and related techniques. *Mol Reprod Dev* 36:236-237.
  22. Takedomi T, Aogagi Y, Konish M, Kishi H, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S (1995): Superovulation in Holstein heifers by a single subcutaneous injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 43:1259-1268.
  23. Twagiramungu H, Guilbault LA, Proulx J, Villeneuve P, Dufour JJ (1992): Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J Anim Sci* 70:1904-1910.
  24. van Wagendonk-de Leeuw AM, Aerts BJG, den Dassel JHG (1998): Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: a field study. *Theriogenology* 49:883-894.
  25. Walsh JH, Mantovani R, DUBY RT, Overstorm EW, Dobrinsky JR, Enright WJ, Roche JF, Boland MP (1993): The effects of once or twice daily injections of p-FSH on superovulatory response in heifers. *Theriogenology* 40:313-321.
  26. Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R (1997): Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim Reprod Sci* 47:9-19.
  27. Yavas Y, Johnson WH, Walton JS (1999): Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and progesterone, and the induction of evaluation using hCG in postpartum beef cows. *Theriogenology* 52:

- 949-963.
28. 김덕임, 서상원, 정재경, 이규승, 서길용, 박창식, 정영채, 박병권 (2002): 한우에 있어서 체내 수정란의 생산과 이식에 관한 연구: 한우 수정란 이식이 수태율에 미치는 요인. 한국수정란이식학회지 17:33-44.
  29. 김용준, 박훈, 이해리, 신동수, 조성우, 김용수, 김수희 (2008): 체내 또는 체외에서 생산된 한우 수정란을 젖소 수란우에 이식한 결과. 한국수정란이식학회지 23: 167-175.
  30. 박용수, 김소섭, 박흠대, 박현정, 김재명 (2005): 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 수정란측 요인. 한국수정란이식학회지 20:89-95.
  31. 신상민, 김용준, 이해리, 신동수, 김용수, 김수희, 이영준 (2009): 한우의 반복 과배란 처리에 의한 체내 수정란의 생산과 이식. 한국수정란이식학회지 24:47-56.
  32. 임석기, 우제석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수 (1998): 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Folltropin-V의 1회 피하주사에 의한 다배란 유기. 한국수정란이식학회지 13:207-212.
  33. 최선호, 류일선, 손동수, 조상래, 한만희, 김현중, 최창용, 김영근 (2005): 한우의 반복 과배란 처리 및 산차가 수정란 생산에 미치는 영향. 한국수정란이식학회지 20:185-190.
  34. 최수호, 박용수, 조상래, 강태영, 신상희, 강삼순, 노규진, 최상용 (2002): PEG 용해 FSH 투여 방법에 따른 소 과배란 유기 및 수정란 이식 효율. 한국수정란이식학회지 17:67-77.
  35. 최수호, 박용수, 손우진, 이준희, 노규진, 김주현, 최상용 (2007): FSH 투여 용량과 방법에 따른 한우의 과배란 처리 효율. 한국동물번식학회지 31:199-205.
- (접수일자: 2011. 8. 31 / 채택일자: 2011. 9. 7)