

Direct Embryo Collection(DEC)에 의한 한우의 수정란 채란

유한준¹, 이용승², 박정준¹, 김기원¹, 박춘근^{2,*}
¹명품한우컨설팅, ²강원대학교 동물생명과학대학

Embryo Recovery by Direct Embryo Collection (DEC) in Korean Native Cattle (Hanwoo)

Han-Jun Yoo¹, Yong-Seung Lee², Joung-Jun Park¹, Ki-Won Kim¹ and Choon-Keun Park^{2,*}

¹Developmental Biotechnology Laboratory, Myung-poomHanwooConsulting, Hoengseong 225-807, Korea

²College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT

This study was performed in order to simplify the operation and minimize stress of donor and be readily available in the field with low cost and high quality embryos using the Direct Embryo Collection (DEC). Donors, at random stages of the estrous cycle, received a CIDR. 7 days later, 200 mg FSH was treated with 40, 30, 20, 10 mg FSH levels in declining doses twice daily by intramuscular injection for 4 days. On the 3rd day administration of FSH, 25 mg PGF₂α was administered and CIDR was withdrawn. After FSH injections were complete, 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. Embryo collection from superovulated donors was performed to flushing by non-surgical methods of 3-way, 2-way and DEC (1-way). The average number of recovered embryos were 11.25 ± 0.63, 12.5 ± 0.65 and 11.75 ± 0.48 from operations of 3-way, 2-way and DEC methods, respectively. There were no significant differences among the embryo collection methods. Also, The average number of transferable embryos were 6.25 ± 0.48, 7.25 ± 0.48 and 7.25 ± 0.63 from each embryo collection procedures. The number of transferable embryos was no differences among the 3-way, 2-way and DEC methods, respectively. Meanwhile, the ratio of transferable embryos for all recovered embryos from DEC methods was higher as 61.7 % than 55.6 %, 58 % from methods of 3-way, 2-way. And the flushing solution required for recovering embryos by DEC method was significantly lower as 0.28 ± 0.32 l than 1.8 ± 0.12 l, 1.75 ± 0.10 l from 3-way, 2-way methods (*p*<0.05). Also, the time required for recovering embryos by DEC methods was significantly lower as 27 ± 2 min than 51 ± 3, 45 ± 2 min, respectively (*p*<0.05). In conclusion, these results suggest that DEC method for embryo collection may be effectively used for production of *in vivo* embryos using less flushing solution and, it might be effectively available in the field compared to conventional embryo recovery methods using 3-way or 2-way balloon catheter.

(Key words : direct embryo collection(DEC), embryo recovery, Hanwoo, superovulation)

서 론

1970년대 초 캐나다에서 실용화된 소 수정란이식은 복미와 유럽을 중심으로 많은 발전을 이루어왔다. 소에서 수정란이식은 유전적인 능력 개량의 수단으로 폭 넓게 활용되었다(Christensen, 1991). 즉, 능력이 우수한 공란우로부터 과배란처리 및 수정란 채란에 의해 생산된 체내 수정란을 능력이 낮은 집단에 이식함으로써, 우수한 능력을 보유하고 있는 송아지를 일시에 다량 생산하여 집단의 능력을 조기에 개량하는 다배란 수정란이식(MOET; Multiple Ovulation and Embryo Transfer)

방법이 이용되고 있다(Seidel, 1981; Smith, 1988; Lohuis, 1997; 손 등, 2000). 최근에는 혈통 및 능력이 확인된 공란우로부터 초음파진단기를 이용하여 생체 난자 채취(OPU; Ovum Pick Up) 기법에 의해 미성숙 난포란을 반복적으로 채취하며, 채취된 난자의 체외수정과 배양으로 체외수정란을 생산하는 기술이 적용되고 있다(Pieterse 등, 1988; Kruij 등, 1994; 박 등, 2000; Manik 등, 2003; 최 등, 2011).

산업적으로 동물의 수정란 이식에 있어서, 산업성을 결정하는 요인에서 가장 중요한 것은 우수한 형질을 가진 암컷과 우수한 수컷의 생식세포로 생산된 수정란을 많이 확보하는 것

* 본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(Grant No. 109007-03)의 지원에 의해 이루어진 것임.

* Correspondence : E-mail : parkck@kangwon.ac.kr

과 수태율이다. 그러나 우수 수정란의 대량 확보가 용이치 않아 대량 확보를 위한 과배란 유기법, 도축된 가축의 난소로부터 얻어낸 난자를 이용한 체외수정법, 초음파를 이용한 난소 내 난자 채란법(OPU) 및 체내 수정란 채란 방법 등이 고안되었다. 이 중 효과적으로 우수한 양질의 수정란을 획득하기 위해 대부분 과배란 유기법을 통한 체내 수정란 채란 방법이 이용되고 있다(Rowe 등, 1982; Donaldson, 1983; George 등, 1997).

기존의 수정란 채란기술은 외과적인 방법과 비외과적인 방법이 이용되고 있으며, 이 중 외과적인 방법은 채란 과정에서 개복 수술을 하여야 하므로 비외과적 방법에 비해 고비용과 장시간이 소요된다. 또한 수정란 채란을 위해 필요한 장비가 많고, 혼자서 시술하기 어려우며, 동일한 공란우에서 반복적인 수정란 회수가 어렵다는 단점도 가지고 있다. 이러한 문제점으로 인해 소의 채란 방법은 현재 국내외적으로 대부분 비외과적 방법으로 실시되고 있다. 비외과적인 방법에는 2-way 및 3-way에 의한 이용한 수정란 채란 방법이 이루어지고 있으며, 이 중 3-way line을 이용한 수정란 채란 방법의 과정은 필요 장비가 많고 시술 과정이 복잡하여 혼자서 시술하기가 어렵다는 문제점을 가지고 있다. 때문에 시술 과정에서 2명 이상의 인원이 필요한 점과 catheter의 재질이 금속이기 때문에 자궁 내벽이 catheter에 의해 손상될 위험을 가지고 있다. 또한 수정란 회수를 위해 관류액을 흘려보내는 시간이 약 1시간 이상 소요되고, 자궁 손상을 줄이기 위해 채란에 이용되는 공란우의 보정이 필수적으로 작용함으로써 장시간 보정과 관류액에 의한 충격으로 공란우에게 스트레스를 유발시킨다. 2-way line을 이용한 수정란 채란 방법은 3-way를 이용한 채란 방법의 문제점을 보완하기 위해 관류액이 유입되는 관을 하나의 관으로 사용하도록 하여 과정을 간편화하고 자궁 내벽의 자극을 줄이기 위해 catheter 재질을 latex 또는 silicon 재질로 변경하여 자궁 내에서 catheter가 잘 휘어질 수 있도록 하였다. 채란 과정은 3-way를 2-way로 조정하여 보다 간편화하였지만, 관류액의 주입관과 회수관이 길고 필요 장비 및 소모품이 많아 시술에 2명 이상의 인원이 필요하고 많은 시간이 소요된다는 문제점을 가지고 있다. 또한 3-way와 마찬가지로 채란하는 동안 공란우의 보정이 필수적이고 보정틀을 갖춘 채란 장소도 필요로 한다. 또한, 3-way 및 2-way에 사용되는 catheter 및 기타 소모품들의 값비싼 비용으로 인해 수정란의 생산 단가가 높아지고, 이로 인해 수정란 이식 산업의 활성화 및 현장에서의 활용도가 미비하다는 단점이 있다.

그러므로, 본 연구는 종래의 수정란 채란 방법들의 문제점들을 극복하기 위하여 새로운 1-way line의 수정란 직접 채란 방법(Direct Embryo Collection; DEC)을 개발하여 보다 채란 과정이 간편하고 채란 시간을 단축시켜, 공란우의 채란 시 스트레스를 최소화시키고 현장에서 손쉽게 이용할 수 있으며, 저비용으로 우수한 양질의 수정란을 효율적으로 확보하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공란우 선발

거세우 출하 자료를 바탕으로 출하 결과의 자질 평가에 적합한 개체로 등지방 7 mm 이하, 등심 단면적 100 cm² 이상, 근내 지방도 No. 8 이상, 도체중 400 kg 이상 개체를 모체로 상위 0.1%인 한우 암소를 후보 공란우로 선발하였다. 후보 공란우 중 이모색 및 흑비경의 유무와 체구 및 후구의 외소 여부 등의 외모 및 체형 심사를 실시하였고, 직장 검사를 통해 질병 유무의 판단과 번식 기능이 양호한 공란우를 다시 선발하여, 종합형 3두, 도체중형 3두, 배최장근단면적형 3두, 근내지방도형 3두로 총 12두의 공란우를 최종 선발하였다. 3-way 및 2-way, DEC(1-way)를 이용한 수정란 채란에 사용하기 위해 선발된 공란우를 다시 처리군 별로 4두씩 분류하여 실험에 이용하였다.

2. 공란우의 과배란 처리

공란우의 과배란을 유도하기 위해 CIDR-plus(InterAg, Hamilton, New Zealand)를 질 내에 삽입 후 7일째부터 FSH 제제인 Folltropin[®]-V(Vetrepharm, Canada)를 투여하였다(Fig. 1). 공란우의 발정을 개시하기 위하여 총 FSH 200 mg을 40 mg, 30 mg, 20 mg, 10 mg의 용량으로 1일 오전, 오후 각 2회씩 점감적으로 주사하여 총 8회에 걸쳐 12시간 간격으로 근육 주사로 투여하였다. FSH 투여 3일째에 PGF₂α 제제인 Lutalyse(Pharmacia & Upjohn, USA)를 25 mg 1회 투여하고 모든 처리군의 CIDR-plus를 제거하였으며, FSH 투여 개시 후 5일째, 오전에 GnRH 제제(Fertagyl; Intervet Inc., Millsboro, NJ, USA)를 250 µg 투여하고, 12시간 간격으로 인공수정을 2회 실시하였다. 수정란의 채란은 2차 인공수정 7일 후에 2% lidocaine hydrochloride(리도카인, 제일제약) 5 ml를 투여하여 경부외막의 국소마취를 실시하고, balloon catheter를 자궁 내에 주입 및 장착하여 수정란 채란을 실시하였다.

3. 수정란 채란

기존의 수정란 채란 방법은 철심이 연결된 balloon catheter를 공란우의 자궁경을 통과시켜 자궁각에 위치하도록 하고, catheter가 자궁각에서 이탈되지 않도록 고정시킨다. 철심 제거 후, 3-way방식은 3-way collection equipment(IMV, French)를 이용하고, 2-way 방식은 Y-tubing(Agtech, Manhattan, KS, USA)을 이용하여 complete flush solution(Bioniche Animal Health, Canada)과 balloon catheter를 연결하고, 수정란이 회수되는 부분으로 EmCon-Filter(Kruuse, Marslev, Denmark)를 연결한다. Y-tubing을 사용하여 관류액을 조절하며, 자궁내 순환관류법, 즉 자궁내로 관류액을 유입시키고, 다시 회수하는 방법을 반복적으로 실시하여 수정란을 회수하게 된다(Donaldson 등, 1983;

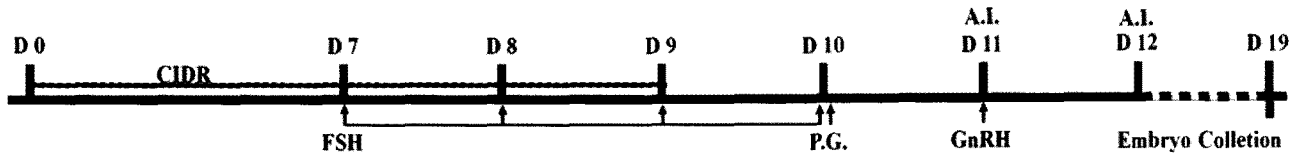


Fig. 1. Superovulation method with CIDR treated 200 mg of FSH level in Hanwoo.

Rowe 등, 1982). 이에 반해, DEC(Direct Embryo Collection) 방법을 사용한 수정란의 채란은 Y-tubing 대신 50 ml 주사기를 사용하며, catheter의 장착이 완료된 후, 관류액이 채워진 일회용 60 ml 주사기를 catheter의 끝에 장착된 50 ml 주사기 어댑터에 연결하여 주사기를 통해 직접적으로 관류액을 주입하고, 다시 주사기로 회수하는 방법을 사용한다. 회수된 관류액은 EmCon-filter를 통해 여과시켜 수정란을 회수한다(Fig. 2).

4. 수정란 평가

Complete flush solution(Bioniche Animal Health, Canada)으로 자궁내를 관류하여 회수된 관류액은 EmCon-Filter(Kruuse, Marslev, Denmark)로 여과하여 실체 현미경(Olympus, Japan)하에서 수정란을 수집한다. 수정란은 국제수정란이식학회(IETS)의 수정란 평가 기준(Stringfellow와 Seidel, 1998)에 따라 1등급(excellent or good)과 2등급(fair), 3등급(poor)과 4등급(dead or degenerating)으로 평가, 분류하였고, 1등급 및 2등급으로 분류된 수정란은 이식 가능한 수정란, 3등급 및 4등급으로 분류된 수정란을 이식 불가능한 수정란으로 판별하였다.

5. 결과 도출

각 수정란 채란 방법에 의해 회수된 총 수정란 개수와 이식 가능한 수정란 개수를 조사하였으며, 수정란 채란을 위해 catheter를 자궁 내로 삽입하고 장착하는 시기부터 채란 시술을 마친 후, catheter를 자궁으로부터 제거하는 시기까지를 시술 시간으로 계산하였으며, 시술에 소모된 관류액의 양은 1 l 단위로 관류액을 사용하여 시술을 마친 후, 남아 있는 관류액의 양을 계산하여 도출하였다. 또한 수정란 채란에 필요한 최소

인원 및 공란우의 보정 여부를 조사하였다.

6. 통계 분석

3-way, 2-way 및 DEC 방법을 통해 얻어진 수정란 채란 결과와 채란 과정에 소모된 관류액의 양 및 시간에 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

Table 1은 3-way 및 2-way를 이용한 기존의 채란 방법과 본 실험에 사용된 DEC를 이용한 1-way 방법을 비교한 것으로 채란 효율성을 나타낸 결과이다. 수정란 채란 방법으로 분류된 실험 처리군별로 수정란 채란이 이루어졌고, 총 회수된 수정란 평균 개수, 이식 가능한 수정란 평균 개수 및 채란 효율성에 대한 결과를 조사하였다. 그 결과, 총 회수된 수정란의 평균 개수는 3-way, 2-way 및 DEC(1-way) 방법에서 각각 11.25 ± 0.63 , 12.5 ± 0.65 , 11.75 ± 0.48 개로 관찰되어 상호간의 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 이식 가능한 수정란의 평균 개수 또한 처리군별로 각각 6.25 ± 0.48 개, 7.25 ± 0.48 개, 7.25 ± 0.63 개로 관찰되어 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 얻어진 결과를 통해 채란 효율성을 분석한 결과 3-way 방법에서는 55.6%, 2-way 방법에서는 58%, DEC(1-way) 방법에서는 61.7%로 조사되었다.

Table 2는 기존의 채란 방법인 3-way 및 2-way법과 본 연구의 1-way를 이용한 채란 방법의 비교 결과 중에서 채란 과정 동안 소모된 관류액의 양, 시술 시간, 채란 작업에 필요한

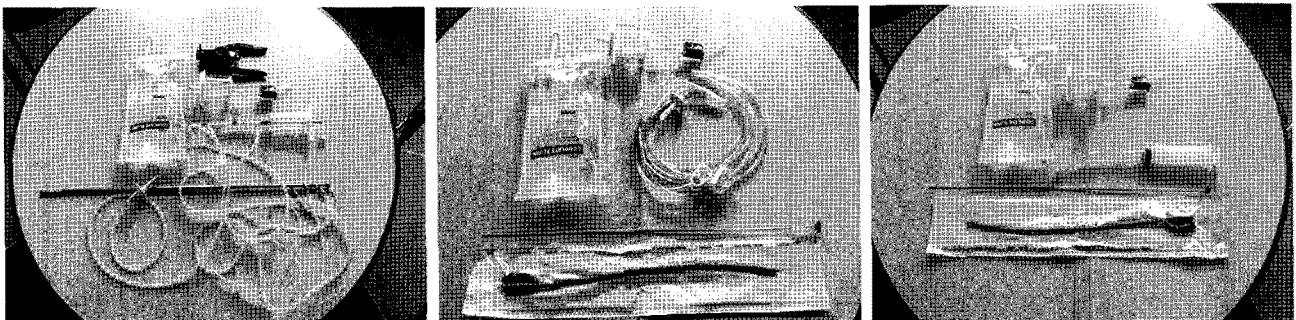


Fig. 2. Pictures of embryo collection device using 3-way (left), 2-way (center) and 1-way (DEC; right) method.

Table 1. Compare with embryo collection methods using 3-way, 2-way and 1-way (DEC) for No. of recovered embryos and recovered embryos for E.T (Mean \pm SEM)

Methods	No. of donor (n)	No. of recovered embryos (n)	No. of recovered embryos for E.T (n)	Efficiency of method ¹⁾ (%)
3-way	4	11.25 \pm 0.63	6.25 \pm 0.48	55.6
2-way	4	12.5 \pm 0.65	7.25 \pm 0.48	58
1-way (DEC)	4	11.75 \pm 0.48	7.25 \pm 0.63	61.7

¹⁾ % = (No. recovered transferable embryos/No. recovered embryos) \times 100

최소인원 및 공란우의 보정 여부를 조사하여 나타낸 것이다. 3-way 및 2-way를 이용한 채란 방법은 일반적으로 알려져 있는 채란과정으로 수행하였으며, DEC를 이용한 1-way 방법은 본문에 기재된 바와 같이 수행하였다. 실험 결과, 채란 과정 동안 사용된 관류액의 양에서 DEC(1-way) 방법이 0.28 \pm 0.32 l의 양을 소모하여 함께 수행된 3-way 및 2-way의 채란 방법에 소모된 양(1.80 \pm 0.12 l 및 1.75 \pm 0.10 l)보다 유의적으로 적게 사용되었음을 알 수 있었다(p <0.05). 채란 시술에 소모된 시간 또한 DEC(1-way)를 이용한 채란 방법에서 27 \pm 2분이 소요된 반면, 기존의 채란 방법인 3-way 및 2-way에서는 각각 51 \pm 3분과 45 \pm 2분이 소요되어 DEC(1-way)를 이용한 채란 방법이 기존의

채란 방법과 비교하여 유의적으로 시술 시간을 적게 필요로 한다는 결과를 얻을 수 있었다(p <0.05). 뿐만 아니라, DEC(1-way) 채란 방법은 채란을 위한 공란우의 보정이 필요하지 않고 혼자서도 채란 작업을 수행할 수 있었다.

일반적으로 사용되는 3-way 및 2-way 채란 방법과 1-way에 의한 채란 방법에서 1회 수정란 채란에 소요되는 경비를 비교하기 위해 Table 3에 나타내었다. 소요되는 경비 조사는 수정란 채란 시 사용되는 필수적인 물품들만을 선택하여 1회 채란 시에 소모되는 양을 파악하여 이루어졌다. 그 결과, DEC(1-way)를 이용한 방법이 3-way 및 2-way와 비교하여 크게 절감된 104,100원이 소모됨을 알 수 있었다. 이것은 3-way 방법과

Table 2. Compare with embryo collection methods using 3-way, 2-way and 1-way (DEC) for flushing solution, collection time, working environment (Mean \pm SEM)

Methods	Flushing sol. (l)	Collection time (min)	Workers (No.)	Holer for cattle
3-way	1.80 \pm 0.12 ^a	51 \pm 3 ^a	2	○
2-way	1.75 \pm 0.10 ^a	45 \pm 2 ^a	1~2	○
1-way (DEC)	0.28 \pm 0.32 ^b	27 \pm 2 ^b	1	×

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

Table 3. The cost of once procedure using each embryo collection method of 3-way, 2-way and 1-way (DEC)

Product	3 way			2 way			1 way (DEC)		
	Unit price	QTY ¹⁾	Total	Unit price	QTY ¹⁾	Total	Unit price	QTY ¹⁾	Total
Catheter	330,000	1	330,000	50,000	1	50,000	50,000	1	50,000
Y-junction flush tube	.	.	.	30,000	1	30,000	.	.	.
Syringe (60 ml)	100	1	100	100	1	100	100	1	100
Emcon filter	44,000	1	44,000	44,000	1	44,000	44,000	1	44,000
Flushing solution	50,000	2	100,000	50,000	2	100,000	50,000	0.2	10,000
Total cost			474,100			224,100			104,100

¹⁾ Quantity (Unit: Won)

비교하여 약 1/4.5이며, 2-way 방법과는 약 1/2 가량 차이 나는 경미이다. 이러한 결과를 통해 DEC(1-way)를 이용한 수정란 채란 방법은 비용면에서 매우 효율적인 방법인 것으로 생각된다.

고 찰

본 연구는 DEC에 관한 것으로, 소에서 수정란 이식에 이용되는 체내 수정란을 과배란으로 유도된 공란우로부터 직접 회수하기 위한 채란 방법에 관한 것이다. 실험 결과에 따르면 DEC에 의한 1-way의 방식으로 수정란을 채란하게 되면 평균 이식 가능한 수정란의 개수를 7.25 ± 0.63 개를 회수할 수 있었으며, 61.7%의 채란 효율을 얻을 수 있었다. 또한 기존의 채란 방법인 3-way 및 2-way 방법과 비교하여 유의적으로 절감된 0.28 ± 0.32 l의 관류액 소모량과 27 ± 2 분의 시술 시간으로 기존의 방법보다 효율적인 채란 결과를 얻을 수 있었다. 1회 채란에 소모되는 비용 또한 기존 방법과 비교하여 최대 1/4.5, 최소 1/2 가량 절감하는 효과 또한 얻을 수 있었다.

DEC(1-way) 방법은 손으로 주사기를 통해 주입시킨 관류액을 다시 주사기를 당겨 흡입하는 압력에 의해 수정란이 주사기 안으로 관류액과 함께 흡입되게 함으로써 수정란을 채란하는 방식이다. 기존의 채란 방법은 위치 차를 이용한 방법, 즉 관류액을 주입시킨 위치보다 상대적으로 낮은 위치에 있는 회수관을 통해 관류액을 회수하기 때문에 수정란을 회수하는 데에 작용하는 힘이 적게 들어 채란과정이 오래 걸리고, 소모되는 관류액이 많다는 단점을 갖는다. 반면, DEC(1-way)에 의한 수정란 채란 방법은 직접적으로 주사기의 관류액을 통해 압력과 힘이 작용하기 때문에 더 강한 압력에 의해 수정란을 회수함으로써, 단시간에 적은 양의 관류액으로 수정란을 더 효율적으로 채란할 수 있다.

일반적으로 수정란은 체외 수정란과 체내 수정란으로 구분된다. 체외 수정란은 체내 수정란의 생산 비용보다 저렴하고 대량 생산이 가능하기 때문에 많이 이용되고 있지만 낮은 수태율과 높은 유산율, 낮은 분만율을 비롯하여 과체중 및 기형 송아지의 생산 등의 문제점이 보고된 바 있다(Schmidt 등, 1996; van Wagtenonk-de Leeuw 등, 1998; Numabe 등 2000; Lazzari 등, 2002). 반면, 체내 수정란은 체외 수정란의 단점들 극복할 수 있는 우수한 질을 가지며, 우수한 유전자원을 보유한 개체를 직접적으로 사용할 수 있어 형질 개량 측면에서 체외 수정란보다 활용성이 높다는 연구 결과가 있다(Greve 등, 1995; 임 등, 1998; 김 등, 2002; Ax 등, 2005; 박 등, 2005; 최 등, 2005). 하지만 체내 수정란의 생산을 위해 고비용과 많은 노력이 요구되기 때문에 수정란 이식 산업이 활성화되지 못하여 수정란 공급 부족 등의 문제점을 지적받고 있다. 이에 대체적으로 등장한 OPU에 의한 산자 생산 기술(Pieterse 등, 1988)이 있지만, OPU 시술 숙련도, OPU 보조, OPU 간격, 호르몬 처리 및 동

기화 등(Merton 등, 2003)의 이유로 활성화되지 못한 상태이다.

결론적으로, 본 연구의 1-way 방식을 채택한 DEC를 이용한 수정란 채란 방법은 간편하면서도 효과적으로 수정란을 채란할 수 있는 기술이다. 적은 양의 관류액으로 효과적인 채란이 가능하며, 채란 시간도 기존의 2-way 또는 3-way 방식에 비해 효과적으로 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라, 수정란 채란을 위한 경비 또한 절감시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다. 이러한 점은 수정란 생산에 필요한 고비용, 높은 노동력 등의 문제점을 극복할 수 있도록 해주며, 수정란 이식 산업의 활성화에 도움을 줄 수 있을 것이라 생각된다. 또한 DEC에 의한 수정란 채란 과정은 시험 가축의 스트레스를 감소시킬 뿐만 아니라, 지속적으로 가축의 자궁선단부를 자극할 필요가 없어 가축이 받게 되는 스트레스를 줄일 수 있으며, 채란 시설이 필요 없는 간편한 방법이기 때문에 현장에서의 활용가치는 더욱 높다고 생각된다. 즉, DEC 방법은 간편하고 접근성이 기존의 채란 방법보다 용이하기 때문에 현장에서의 활용도가 더욱 높아 추후에 수정란 채란 및 이식 사업의 활성화에 도움을 줄 것으로 기대된다.

감사의 글

강원대학교 동물자원공동연구소의 기술적 지원에 감사를 표합니다.

참고문헌

- Christensen LG. 1991. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. *Theriogenology* 35:141-149.
- Donaldson L. 1983. The effect of prostaglandin $F_2\alpha$ treatments in superovulated cattle on estrus response and embryo production. *Theriogenology* 20:279-285.
- George E, Seidel R, Peter Elsdon and John F. Hasler. 1997. *Embryo Transfer in Dairy Cattle*. Hoard's Dairyman Books. Milwaukee, Wisconsin, pp.96.
- Kruij TA, Boni R, Wurth YA, Roelofsen MW and Pieterse MC. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology* 42:675-684.
- Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruijop T, Niemann H and 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.
- Lohuis MM. 1997. Strategy for dairy cattle improvement utilizing MOET in Canada. *Anim. Genetic and Breeding* 1: 224-226.
- Manik RS, Singla SK and Palta P. 2003. Collection of oocytes

- through transvaginal ultrasound-guided aspiration of follicles in an Indian breed of cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 76: 155-161.
- Merton JS, de Roos AP, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PL and Dieleman SJ. 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* 59:651-674.
- Numabe T, Oikawa T, Kikiuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese Black calves by transfer of produced *in vitro*. *Theriogenology* 52:1-10.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip TA and Taverne MA. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology* 30:751-762.
- Rowe RF, Del Campo MR, Critser JK and Ginther OJ. 1980. Embryo transfer in cattle: Nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.* 41:1024-1028.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sulon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sulon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves, and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
- Seidel GE. 1981. Superovulation and embryos transfer in cattle. *Science* 211:351-358.
- Smith C. 1988. Application of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology* 29:203-212.
- Stringfello DA and Seidel SM. 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society. 3rd ed., International Embryo Transfer Society Inc., Illinois, pp.165-170.
- van Wagendonck-de Leeuw AM, Aerts BJB and den Dass JHG. 1998. Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: A field study. *Theriogenology* 49:883-894.
- 박성재, 양보석, 임기순, 성환후, 장원경, 정일정, 박충생. 2000. 한우에 있어서 초음파기기를 이용한 생체내 난자 채취시 채란조건 및 수태율에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 24: 199-208.
- 손동수, 김일화, 류일선, 연성흠, 서국현, 이동원, 최선호, 박수봉, 이충섭, 최유림, 안병석, 김준식. 2000. 젃소 MOET Scheme의 추진을 위한 수정란 생산과 이식. *한국수정란이식학회지* 15:59-65.
- 최병현, 진종인, 권태현, 김성수, 조현태, 공일근. 2011. 한우와 젃소 대리모가 OPU 유래 한우 송아지의 체중과 임신 기간에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 26:27-32.

(접수: 2011. 8. 2 / 심사: 2011. 8. 3 / 채택: 2011. 8. 20)