

## 소의 비외과적 수정란이식에 있어서 수태율에 영향을 미치는 요인

黃 禹 錫 · 趙 忠 鎭

서울대학교 수의과대학

### 서 론

최근 10수년간 소의 수정란이식기술이 발달되어 축산현장에 보급되면서 가축개량과 생산증진에 대한 공헌도가 높아지고 있어 축산경영향상에 중요한 일면으로 등장되었다.

이에 따라 북미 등 선진국에서는 1983년에만도 소에서의 이식두수가 140,000두에<sup>22)</sup> 이르렀고, 1986년에는 연간 200,000두를<sup>7)</sup> 돌파하게 되었으며 국내에서도 1982년에 具 와 鄭<sup>28)</sup>에 의해 소에서 첫 성공례가 보고된 이래 대학, 연구기관 및 기업목장수준에서 수정란이식이 실험적 또는 산업적수준에서 활발히 진행되고있다.

수정란이식에 있어 성공율을 증진시키기 위해 수정란-受卵牛상호관계를 포함한 수많은 시도가 이루어져왔다.

供卵牛-受卵牛사이의 정확한 발정동기화가 필수불가결한 요인이라는 보고<sup>20,21,26)</sup>와 수란우측<sup>26)</sup> 또는 공란우측<sup>12)</sup>의 발정이 빨라야 된다는 결과 등 연구자에 따라 차이를 보이고 있다.

이밖에도 소에서의 수정란이식에 의한 수태율에 영향을 주는 요인으로서 수정란의 質<sup>4,6,14,26,27)</sup>, 발육단계<sup>26,27)</sup>, 동결보존여부 및 상태<sup>18,23,26,27,30)</sup>, 수란우의 발정주기<sup>26)</sup>, 이식난이도<sup>6)</sup>, 자연발정주기 또는 인공유도주기여부 등<sup>6)</sup>이 있으며, 이식수정란의 수<sup>8,24)</sup>, 이식부위<sup>5,15,26)</sup>, 착유유무 또는 산차<sup>26)</sup>, 이식술자 및 마취여부 등<sup>2)</sup>에 의한 수태율의 차에 대해 상반된 견해들이 보고되고 있다. 따라서 이 연구는 소의 수정란이식에 있어 승패를 가름하는 수태율에 미치는 영향

을 몇가지 측면에서 살펴보고자 신선수정란과 동결수정란을 이용하여 홀스타인 젖소에 이식실험을 수행하였다.

### 재료 및 방법

수정란의 준비: 수정란을 채취하기 위한 전반적인 준비 및 술법은 필자등의 前報<sup>30)</sup>에 준하였다.

즉 공란우로는 임상적으로 생식기질환에 이환되어 있지 않은 것으로 진단되고 정상성주기를 나타내는 홀스타인종 젖소(1~6산차)를 이용하였다.

과잉배란처리는 follicular stimulating hormone (FSH:Antrin, 덴카製藥, 日本)을 공란우의 체중, 산차, 유량 등을 감안하여 감량법에 의해 연속4일간 총8회(32~36mg) 투여하였으며 투여개시 3일째에 prostaglandin F<sub>2α</sub> 제제(PGF<sub>2α</sub>, Lutalyse, Upjohn, U.S.A.) 12.5mg을 12시간 간격으로 2회 주사하였다.

공란우의 발정을 확인하고 동결수정란을 이용하여 12시간 간격으로 2회 인공수정하였으며 과잉배란처리에 대한 전엽성성선자극호르몬(APG)의 영향을 알아보기위해 일부의 공란우에 첫수정 후 APG를 주사하였다.

수정란의 회수는 수정후 6~7일에 Foley catheter를 이용한 자궁관류법으로 실시하였으며 채란액은 소혈청을 1%첨가한 minimum essential medium(eagle, U.S.A., 1% CS + MEM)을 이용하였다.

수정란의 質 및 발육단계는 Renard 및 Heyman<sup>24)</sup>의 분류법에 준해 현미경검사로서 구분하였다.

직장검사로써 확인한 난소의 황체수와 회수란 수 및 이식에 이용할 수 있는 정상란율을 현미경 검사로서 조사하였다.

**수정란의 동결 및 용해:** 수정란의 동결은 glycerol을 동결보호제로하여 5% semifetal calf serum이 첨가된 Dulbecco's phosphate-buffered saline(50% SFCS + PBS)에 glycerol농도를 1.4M로하여 1 step방법으로 첨가 평형시켰다.

동결수정란은 0.25ml의 플라스틱straw내에 1개씩의 수정란을 넣어 봉하였다.

동결방법은 Hoxan PSP(日本)동결기를 이용하여 개시온도를 20℃로, -7℃까지는 매분 1℃씩 하강시키고 -7℃에서 10분간 植氷시킨후 -30℃까지는 매분 0.3℃씩 하강시켜 -30℃에서 10분간 정지시켰다가 액체질소내에 보존하였다.

동결수정란의 용해는 37℃온탕에서 30초간 넣어 진탕시키는 급속용해법을 응용하였다.

동결보호제의 제거는 petri dish에 1.4M의 glycerol이 함유된 50% SFCS + PBS액 0.5ml에 용해시킨 straw내의 수정란을 넣은후 30% SFCS + PBS액을 0.1ml를 첨가하여 5분간 작용시키고 연이어 동일액을 0.2ml 5분, 0.2ml 5분, 0.5ml 5분, 1.5ml 5분, 2.5ml 5분 그리고 5ml를 첨가하여 마지막으로 10분간 작용시켜 이 과정을 완성하였으며 이식시까지 실온에서 보존하였다.

**수란우의 준비:** 수정란을 이식시킬 수란우 중 생후 18개월(체중 380kg)이상되고 정상발정주기를

보이는 임상적으로 정상적인 처녀우와 분만후 60일이상 경과한 경산우 중에 일부는 자연발정주기를 이용하였으며, 나머지는 발정주기 10~13일경에 25mg의 PGF<sub>2α</sub>를 11일간격으로 2회 주사하여 발정동기화를 유도하였다.

이식시에는 5ml의 2% lidocaine액으로 미추마취를 하였으며 체온을 측정하였다.

**이식 및 수태율판정:** 수정란의 이식은 필자 등의 前報<sup>30)</sup>에 준하였으며 이식경험이 1~6년인 수의사 4명(Y.S.H.C)이 실시하였으며 이식소요 시간을 측정하여 이식난이도에 따른 성적을 조사하였고 자궁각 좌우측에 따르는 성적을 비교하였다.

수란우의 standing발정시간을 기준으로 이식수정란의 발육단계와 비교하여 발정시차에 따르는 성적을 비교하였다. 또한 이식시 직장검사로써 황체의 크기 및 상태를 조사하였으며 황체의 분류는 Hasler 등<sup>7)</sup>의 방법에 준하였다.

수태율판정은 이식후 60일에 직장검사로써 수태여부를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

과임배란처치를 위한 FSH투여와 이에 수반되어 발생하는 발정시 APG투여 여부에 대한 난소 반응 및 회수란수와 이식가능난수는 Table 1에 나타난바와 같다.

공란우 두당 평균 황체수, 회수란수 및 이식가능난수는 APG투여 여부에 관계없이 유의차를 인정할 수 없었다.

이 성적은 과임배란처치시 황체수가 17±3이

Table 1. Ovarian Response and Embryo Recovery Following Administration of Follicular Stimulating Hormone(FSH) and Anterior Pituitary Gonadotrophin(APG) in Donor Cow

Hormones treated	FSH	FSH+APG
Number of donor	26	32
Number of corpus luteum per donor	11.1±1.21	12.3±1.84
Number of embryos recovered per donor	8.2±1.35	8.7±1.39
Number of embryos transferable per donor	6.4±0.98	6.6±1.01

Table 2. Pregnancy Rates after Transfer of Fresh or Previously Frozen Embryos into Heifer 7 days after Spontaneous Estrus or Estrus Induced by Treatment with Prostaglandin  $F_{2\alpha}$

Embryos	Spontaneous		Induced	
	Fresh	Previously frozen	Fresh	Previously frozen
Number of recipients	13	11	136	51
Number of pregnant	8	6	81	30
Percent pregnant	61.5	54.5	59.5	58.8

Table 3. Embryo Quality and Pregnancy Rates of Fresh and Frozen Bovine Embryos

Quality grade	Fresh		Frozen	
	Number of transferred	Number of pregnant (%)	Number of transferred	Number of pregnant (%)
1	133	84 (63.6) <sup>a</sup>	38	23 (60.5) <sup>a</sup>
2	88	40 (45.4) <sup>b</sup>	23	11 (47.8) <sup>b</sup>
3	46	14 (30.4) <sup>c</sup>	11	2 (18.1) <sup>d</sup>

a, b, c, d: significantly different with each other (P<.05).

라는 Sreenan 등<sup>24)</sup>의 성적에는 미치지 못하였으나 국내의 타 연구결과인 3.8~7.8개<sup>28, 29)</sup>에 비해서는 높은 수준이었다.

한편 CL에 대한 회수율은 Olivera-Angel<sup>17)</sup>의 14.8~39.5%보다는 높은 수준이었다.

수란우의 자연발정주기를 이용한 이식과 PGF<sub>2α</sub>를 처치한 인공발정동기화에 의한 이식수태율은 Table 2에 나타난바와 같았다. 즉 자연발정주기에서의 신선수정란 및 동결수정란의 수태율은 각각 59.5% 및 58.8%로서 양군간의 유의차를 인정할 수 없었다.

이는 Wright<sup>26)</sup> 또는 Walton 등<sup>25)</sup>이 보고한 자연발정주기와 인공발정주기의 수태율에 있어 유의차가 없었다는 성적과는 일치하는 결과였으나 Godkin 등<sup>6)</sup>의 자연발정주기의 47% 및 인공주기

의 29%로서 유의차있는 성적과는 일치하지 않았다.

수정란의 질이 수태율에 대한 영향은 Table 3에 나타나있다.

즉 각 grade간에는 유의차가 인정되었으며 특히 동결란의 grade 3의 수정란은 신선란의 grade 3에 비하여도 유의차가 나타났다. 이는 수정란의 질에 따라 수태율에 차가 있다는 일반적인 타 보문<sup>4, 6, 14, 26, 27)</sup>들과 일치하는 경향이였으며 특히 동결란의 경우는 저급일수록 수태율이 현저히 저하되는 것으로 보아 수정란 채취후 동결보존시에는 우량품질의 수정란을 선발해야할 것으로 생각된다.

수정란의 발육단계와 수태율과의 관계는 Table 4에 나타난바와 같이 상실배가 초기배반

Table 4. Effect of Embryo Stage on Pregnancy Rates of Fresh and Frozen Embryos

Stage of embryonic development	Fresh		Frozen	
	Number of transferred	Number of pregnant (%)	Number of transferred	Number of pregnant (%)
Morula	86	38 (44.1) <sup>a</sup>	12	4 (33.3) <sup>a</sup>
Early blastocyst	75	48 (64.0) <sup>b</sup>	17	8 (47.1) <sup>b</sup>
Blastocyst	78	51 (65.3) <sup>b</sup>	26	14 (53.8) <sup>b</sup>
Expanded blastocyst	44	28 (63.6) <sup>b</sup>	14	7 (50.0) <sup>b</sup>

a, b: significantly different with each other (P<.05).

**Table 5.** Effect of Transfer location on Pregnancy Rates of Fresh and Frozen Bovine Embryos

Transfer site	Fresh		Frozen	
	Number of transferred	Number of pregnant (%)	Number of transferred	Number of pregnant (%)
Right horn	185	109 (58.9)	39	22 (56.4)
Left horn	136	75 (55.1)	22	10 (45.4)

**Table 6.** Corpus Luteum Quality and Pregnancy Rates of Fresh and Frozen Embryos

Corpus Luteum quality	Fresh		Frozen	
	Number of transferred	Number of pregnant (%)	Number of transferred	Number of pregnant (%)
1	191	126 (65.9) <sup>a</sup>	32	19 (59.3) <sup>a</sup>
2	104	57 (54.8) <sup>a</sup>	18	9 (50.0) <sup>a</sup>
3	87	29 (33.3) <sup>b</sup>	12	3 (25.0) <sup>b</sup>

a, b : significantly different with each other (P<.01).

포~확대배반포에 비해 낮은 성적이었으나 배반포기사이의 성적에는 유의차를 인정할 수 없었다.

이는 상실배와 배반포기사이에는 차가 있으나 배반포기 수정관간에는 유의차가 없다는 Wright (1981)<sup>26)</sup>의 성적과는 일치하였으나 배반포기란 사이에도 유의차가 있다는 1985년의 Wright<sup>27)</sup>의 보고와는 상이했으며 발육단계간에는 수태율의 차가 없다는 Peltit<sup>10)</sup>와 Leibo 등<sup>10,11)</sup>의 성적과는 더욱 일치하지 않았다.

이식자궁각과 수태율과의 관계는 Table 5에 나타남과 같이 신선란에서 좌, 우 각 55.1% 및 58.9%, 동결란에서 좌, 우 자궁각이 각각 45.4% 및 56.4%로서 유의차가 없어 Hasler 등<sup>7)</sup>, Wright<sup>26)</sup> 및 Ghafouri 등<sup>5)</sup>과 유사한 경향이었으나 좌측에 비해 Ghafouri 등<sup>5)</sup>이 주장한바와 같이

비록 유의차가 없어도 소의 생리해부학적 특성에 의해 좌측난소에 비해 우측난소가 활성이 강하다는 사실을 유념해야 할 것이라는 주장을 고려하는 편이 좋을 것으로 생각된다.

이식시 수란우의 황체의 상태에 따른 수태율은 Table 6에 나타남과 같이 신선란과 동결란 양측 모두 grade 1 과 2에는 유의차가 없었으나 grade 3은 유의성 있게 낮은 수태율을 얻었다.

이와같은 결과는 황체의 상태와 수태율과는 무관하다는 성적들<sup>7,9,13)</sup>과는 차이가 있었으나 황체상태가 양호한 수란우가 불량한 황체를 지닌 수란우에서보다 수태율이 높아 황체가 이식적합 수란우 선발에 유용한 기준이 될 수 있다는 Donaldson<sup>3,16)</sup>의 성적과는 유사하였다.

또한 이식난이도와 수태율과의 관계를 조사한 성적은 Table 7에 나타남과 같다.

**Table 7.** Effect of Ease of Transfer on Pregnancy Rates of Fresh and Frozen Bovine Embryos

Ease* Score	Fresh		Frozen	
	Number of transferred	Number of pregnant (%)	Number of transferred	Number of pregnant (%)
1	177	118 (66.6) <sup>a</sup>	32	19 (59.3) <sup>a</sup>
2	131	60 (45.8) <sup>a</sup>	12	6 (50.0) <sup>a</sup>
3	69	22 (31.8) <sup>b</sup>	18	5 (27.7) <sup>b</sup>

\*Ease score 1 required less than 5 minutes to transfer.

" 2 required 5-15 minutes to transfer.

" 3 required over 15minutes to transfer.

a, b : significantly different with each other (P<.05)

case score 1, 2에 비해 3이 유의성 있게 낮은 결과였다. 이는 이식난이도가 수태율에 유의성 있는 차이를 보이지는 못한다는 Wright<sup>26)</sup>의 결과와는 상위하지만, 이식난이도 category 1에서의 수태율이 78%로서 category 2~4에서보다 현저히 높았다는 사실과는 유사한 경향이었다.

특히 처녀우에서와 같이 이식기가 자궁경관을 통과하기가 용이하지 않은 상태에서는 이식시의 상처, 경관자극에 의한 황체의 융해 등과 관련지어 볼때 용이하게 이식하면 수태율이 저하되지 않을 것으로 생각되어 이식술자의 경험 및 숙련도가 중요한 지표가 될 수 있을 것 같다.

한편 이식시 수란우의 체온과 수태율과는 특이한 관계를 발견할 수 없었다.

## 결 론

젖소에서 과잉배란처치에 대한 호르몬의 효과, 비수술적 수정란이식에 있어서 수태성적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 공란우에 FSH 및 APG를 투여하고 그에 따르는 난소반응 및 수정란회수상태 등을 조사하였다.

한편 451두에 대한 신선란과 동결란의 비수술적이식에 있어 수정란의 질, 발육단계, 이식부위, 수란우의 황체형태, 이식난이도 및 발정동기화상태(자연발정주기 vs인공유도주기)등에 따르는 수태성적을 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. FSH에 의한 과잉배란처치 후 APG투여 여부는 공란우에서의 황체수, 회수란수 및 정상란율에 유의성 있는 차를 인정할 수 없었다.

2. 수란우에 있어 자연발정주기와 PGF<sub>2α</sub>를 이용한 인공유도발정은 이식수태율에 유의차를 나타내지 않았다.

3. 수정란의 질을 3등급으로 분류한 수태성적에서 각 등급에 따라 유의성있게 수태성적의 차가 인정되었으며( $p < 0.05$ ) 특히 동결란에서는 3등급란의 수태율이 18.1%로서 동결보존시 저급란은 제외시키는 것이 합리적일것으로 판단되었다.

4. 수정란의 발육단계별 수태율은 상실배에 비해 배반포란이 유의성있게 높았으나( $p < 0.05$ ) 배반포기의 각 단계에 따르는 수태율차는 인정할

수 없었다.

5. 이식자궁각에 따르는 수태율차는 신선란과 동결란 양군에서 모두 발견할수 없었다.

6. 이식시 직장검사로 분류한 황체의 등급에 따른 수태율에서 1등급 및 2등급에서는 유의차가 없었으나 1, 2등급과 3등급사이에서는 유의차가 있어( $p < 0.05$ ) 황체상태가 이식대상 수란우 선발 기준의 하나가 될수 있음을 알 수 있었다.

7. 이식난이도에 따르는 수태율에 있어 난이도 1 및 2등급에서는 유의차가 없었으나 3등급에서는 유의성있게( $p < 0.05$ ) 낮은 것으로 미루어 이식술자의 경험 및 기술숙련도가 수태율과 연관될 수 있음을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. Baker, A.A., Kobayashi, G. and Jillella, D.: A comparison of the pregnancy following non-surgical and surgical transfer and visual grading of bovine embryos on farms in South-Eastern Queensland. *Theriogenology* (1983) 19:111(Abstr.).
2. Curtis, J.L., Elsdén, R.P. and Seidel, Jr., G.E.: Non-surgical transfer of bovine embryos. *Theriogenology*, (1981) 15:124(Abstr.).
3. Donaldson, L.E.: Recipients as a source of variation in cattle embryo transfer. *Theriogenology*, (1985) 23:188(Abstr.).
4. Elsdén, R.P., Seidel, Jr., G.E., Takeda, T. and Farrand, G.D.: Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred non-surgically. *Theriogenology*, (1982) 17:1.
5. Ghafouri, M.T.A., Ludwick, T.M., Rader, E.R. and Marcinkowski, D.P.: Some effects of side of pregnancy on performance in dairy cattle with implications on embryo transfer procedures. *Theriogenology*, (1980) 13:96(Abstr.).
6. Godkin, A.M., Leslie, K.E., Wain, G.M. and Leslie, B.E.: Factors affecting pregnancy rate following non-surgical transfer of frozen bovine embryos. *Theriogenology*, (1987) 27:230(Abstr.).

7. Hasler, J.F., McCauley, A.D., Lathrop, W.F. and Foote, R.H.: Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, (1987) 27:139.
8. Heyman, Y.: Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. *Theriogenology*, (1985) 23:63.
9. Humblot, P., Perrin, J., Jeanguyot, N., Nibart, M. and Thibier, M.: Effects of age and quality of thawed embryos, synchronization and corpus luteum function on pregnancy rates of bovine embryo recipients. *Theriogenology*, (1987) 27:240(Abstr.).
10. Leibo, S.P.: Field trial of one-step diluted frozen-thawed bovine embryos: An update. *Theriogenology*, (1985) 23:201(Abstr.).
11. Leibo, S.P.: Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, (1986) 25:166(Abstr.).
12. Lindner, G.L. and Wright, Jr., R.W.: Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, (1983) 20:407.
13. Looney, C.R., Oden, A.J., Massey, J.M., Johnson, C.A. and Godke, R.A.: Pregnancy rates following HCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*, (1984) 21:246(Abstr.).
14. Markette, K.L., Seidel, Jr., G.E. and Elsdon, R.P.: Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. *Theriogenology*, (1985) 23:45.
15. Newcomb, R.: Egg recovery and transfer in cattle. in *Mammalian egg transfer*. Ed. C.E. Adams, CRC Press, (1982) p. 81.
16. Nicmann, H., Sacher, B. and Elsaesser, F.: Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non-surgical transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, (1985) 23:631.
17. Olivera-Angel, M., Voss, H.J. and Holtz, W.: Recovery rate and quality of embryos collected from suckled cows and beef heifers after superovulation. *Theriogenology* (1984) 22:553.
18. Pettit, Jr., W.H.: Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules. *Theriogenology*, (1985) 23:13.
19. Renard, J.P. and Heyman, Y.: Variable development of superovulated bovine embryos between day 6 and day 12. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys*, (1970) 19:119.
20. Rowson, L.E.A., Moor, R.M. and Lawson, R.A.S.: Fertility following egg transfer in the cows; effect of method, medium and synchronization of oestrus. *J. Reprod. Fert.*, (1969) 18:517.
21. Rowson, L.E.A., Lawson, R.A.S., Moor, R.M. and Baker, A.A.: Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J. Reprod. Fert.*, (1972) 28:427.
22. Seidel, S.M.: Survey of the embryo transfer industry. *Embryo transfer Newslett.*, (1984) 3:8.
23. Shea, B.F.: Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology*, (1981) 15:31.
24. Sreenan, J.M.: Non-surgical embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, (1978) 9:69.
25. Walton, J.S., Martineau, N.A. and Stubbing, R.B.: Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipients: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. *Theriogenology*, (1986) 26:837.
26. Wright, J.M.: Non-surgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, (1981) 15:43.
27. Wright, J.M.: Commercial freezing of bovine embryos in straw. *Theriogenology*, (1985) 23:17.
28. 구자홍, 정창국 : 젖소의 비수술적 수정란 회수 및 이식시험. *대한수의사회지*, (1982) 18 : 45.
29. 임경순, 이용빈, 정구민 : 소에 있어서 비외과적 방법에 의한 수정란의 채란기술개발에

관한연구. 한국축산학회지, (1983) 25 : 244.  
30. 조충호, 황우석, 정창국, 전윤성, 이홍식, 이

창우 : 젖소수정란의 급속동결법 개발에 관  
한연구. 한국임상수의학회지, (1987) 4 : 5.

## Factors Affecting Pregnancy Rates Following Non-surgical Embryo Transfer in Cow

Woo-Suk Hwang, D. V. M., Ph.D., and Choong-Ho Cho, D. V. M., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

### Abstract

An observational study was conducted to evaluate the effect of anterior pituitary gonadotropin on super-ovulation in donors, embryo quality, development stage of embryo, transfer location, corpus luteum quality of recipient, ease of transfer and induced versus natural estrus on pregnancy rates.

The data were collected from 451 non-surgical transfers of fresh and frozen bovine embryos.

1. The average number of CL, formed in ovaries which were stimulated with follicular stimulating hormone, and/or APG, were  $11.1 \pm 1.21$ ,  $12.3 \pm 1.84$ , respectively.  
The numbers of embryos recovered were  $8.2 \pm 1.35$ ,  $8.7 \pm 1.39$ , and the numbers of transferable embryos were  $6.4 \pm 0.98$ ,  $6.6 \pm 1.01$ , respectively.
2. There was no effect of spontaneous versus prostaglandin-induced estrus of recipients on pregnancy rates of either fresh (61.5% vs. 59.5%) or previously frozen (54.5% vs. 58.5%) embryos.
3. There were significant differences ( $p < 0.05$ ) in pregnancy rates for embryo grade 1 (63.6%), grade 2 (45.4%) and grade 3 (30.4%) in fresh group and for grade-1 (60.5%), grade-2 (47.8%) and grade-3 (18.1%) in previously frozen embryos.
4. The recipients transferred with embryo morulae were found to have a lower ( $p < 0.05$ ) pregnancy rates than those transferred with embryos of blastocyst in both fresh and previously frozen embryos.
5. There was no significant difference between transfer locations in pregnancy rates using both fresh and frozen embryos.
6. Attempts to select recipients for high pregnancy rates on the basis of corpus luteum (CL) quality were performed.  
CL were classified into 3 quality grades, on the basis of size and prominence. Quality grades 1 and 2 group had higher ( $p < 0.05$ ) pregnancy rates than grade-3 group using both fresh and frozen embryos.
7. Ease of transfer was ranked to a scale of one to three on the basis of increasing difficulty (time required).

Transfers ranked as ease score 1 and 2 had significantly higher ( $P < 0.05$ ) pregnancy rates (45.8%, 66.6%) than ease score 3 (27.7%, 31.8%) using both fresh and frozen embryos respectively.