

소 수정란 이식에서의 배사멸과 임신율

김 창 근

중앙대학교 산업대학 축산학과

Embryonic Mortality and Pregnancy Rate in Bovine Embryo Transfer

C. K. Kim

Department of Animal Science, College of Industrial Studies, Chung-Ang University

Summary

It is widely recognized that the embryonic or fetal loss after breeding is common in the cattle and that it is an important factor affecting reproductive efficiency. The causes of this loss have been subject of extensive researches and the results indicate that the embryonic mortality may be primary factor responsible for low pregnancy rates in non-embryo transfer bovine populations as well as embryo transfer programs. However, its causes are still not clearly understood. The embryonic mortality or pregnancy rate has been influenced by various embryonic and maternal effects related to genetic and environmental factors. The timing and extent of embryonic mortality varies greatly according to authors and estimating methods, because it is difficult to make direct measurements. The major important factors that may influence the embryonic losses or pregnancy rates after embryo transfer can be summarized.

1. When an embryo is transferred to unmated recipients, the contralateral transfer to corpus luteum results in a lower survival rate than ipsilateral deposition. When the embryos are transferred for the production of twin calves, their survivals and twin pregnancies have quite inconsistent according to the transfer methods either to the unmated-synchronized or already mated recipients and more works are needed to accurately clarify the previous results.
2. Although embryos can be cultured *in vitro* some hours without the great declines in pregnancy rates, the rates differ markedly among culture times and media but may be improved by co-transfer systems.
3. Embryo developmental stages and quality grades clearly affect the survival rate following freezing and the pregnancy rate after transfer and the selection of embryos without chromosome abnormalities and of high fertile semen may also be considered to increase the pregnancy rates.
4. Many researches have attempted to relate the plasma progesterone levels to pregnancy rates and others have done either direct progesterone supplementation or luteal stimulation by hCG treatment in order to increase the pregnancy rates. However, these effects on pregnancy rates are inconsistent and also contradictory.
5. The asynchrony between donors or embryos and recipients may be a major cause of embryo death and low pregnancy rate and the sensitivity to uterine asynchrony differs in according to the quality and stages of embryos.
6. The extremes of poor or over nutrition during early pregnancy in the recipients are detrimental to the survival of embryos and the good body condition is required to prevent a reduction of pregnancy rates. The uterine pathogens in embryonic mortality or fertility have been questioned but the infection of *C. pyogenes* and *Campylobacter fetus* is still important pathogens.
7. The heat stress during early pregnancy may reduce conceptus weight and possibly increase the embryonic mortality.

서 론

소에서 수정후 배분화가 완료되는 시기(임신 약 45일) 이전에 일어나는 배사멸은 번식율 저하와 불임의 주원인이 되고 있다. 이러한 배사멸의 시기와 정도에 대하여 많은 연구가 행해져 왔지만 배사멸의 기준과 측정방법에 따라 보고자들간에 차이가 많다. 한편 배사멸의 원인이 단순하지 않고 배자체와 모체간에 복잡한 여러 요인들이 관여되고 있기 때문에 원인규명이 어려울 뿐만아니라 배사멸을 줄일 수 있는 방법의 제시도 용이한 것이 아니다. 수정란이식 기술에서도 일반적으로 약 7일령의 수정란을 이식하기 때문에 수정장애 또는 수정후 7일이전의 초기배사멸이 이미 제거된 조건인데도 불구하고 만족한 수준의 임신율을 얻지 못하고 있는 것은 수정란이식후에도 배사멸이 임신율에 영향을 하는 주요 요인이 되고 있음을 알 수 있다. 따라서 수정란이식기술의 산업화를 위하여 배사멸을 최소화할 수 있는 우수한 수정란의 생산과 수란우의 준비 및 이식기술의 개발은 매우 중요한 연구과제가 아닐 수 없다.

본고에서는 먼저 배사멸에 영향을 하는 요인과 배사멸의 시기와 정도를 살펴보고 수정란이식에서 임신율을 높이기 위하여 시도되어 온 주요연구결과들을 간략하게 소개하고자 한다.

배사멸과 임신율에 영향을 하는 요인

여러가지 요인들이 관여되고 있음을 보고한 대표적인 예를 요약하면 Table 1과 같다. 각 요인들이 어느 정도 영향을 미치는지에 대해서는 견해가 일치되고 있지 않으나 크게 분류해 본다면 유전적 및 환경적 요인 또는 배 및 모체요인으로 구분되고 있음을 알 수 있다.

특히 Hasler 등(1987)의 요인분석은 많은 수의 수정란이식에서 얻어진 결과이기 때문에 수정란이식에서의 배사멸의 최소화 또는 임신율의 향상방법을 찾는 데 크게 고려되어야 할 사항으로 판단된다.

배사멸의 시기와 정도

Table 2의 내용은 인공수정후에 얻어진 결과이다. 정상우와 저수태우에서의 배사멸이 대부분 7~18일

Table 1. Factors affecting embryonic mortality or pregnancy rate

Ayalon(1978)	Sreenan and Diskin(1987)	Hasler et al. (1987)
Genetic factors	Embryonic factors	Time of transfer
Inbreeding	Chromosomal abnormality	Age of donor
Family	Effect of donor	Quality of embryo
Chromosomal abnormality	Age of embryo	Day of flush
Isoimmunization	Quality of embryo	Stage of embryo
Environmental factors	Number of embryo	Induction of estrus
Nutrition	Fresh or frozen embryo	Donor-recipient synchrony
Age	Whole or bisected embryo	Interaction between:
Climate	Maternal factors	embryo quality and
Infection	Donor-recipient synchrony	flushing day
Condition at service	P ₄ of recipient	embryo quality and asynchrony
Semen quality	Site of transfer	
Hormonal imbalance	Method of transfer	
Uterine environment	Nutrition of recipient	
	Other factors	
	Embryo culture	
	Transfer easiness	
	Instrument	
	Recipient source	

Table 2. Timing of embryonic mortality in cattle

Authors	Normal	Repeat breeder
Wiebold (1988)	Before day 5	--
Diskin and Sreenan (1980)	Days 8~16	--
Maurer and Chenault (1983)	Days 8~16	--
Roche et al. (1981)	Days 8~18	--
Ayalon (1978)	After day 16	--
Sreenan and Diskin (1986)	Days 15~18	--
Ayalon (1978)	--	Days 7~8
Hawk et al. (1955)	--	Days 16~34

사이에 일어남을 알 수 있다. 그러나 수정란이식의 경우는 Fig. 1과 Table 3에서와 같이 특히 두 시기에서 높아지고 있다. 특히 35~45일 사이에서 불임 또는 재발정율이 높게 나타난 결과는 수정란이식에

있어서 배사멸이 임신율의 저하원인과 밀접한 관계가 있음을 보여주고 있다.

배사멸의 정도는 Table 4 및 5와 같이 역시 조사 시기와 보고자간에 차이가 많다. 인공수정의 경우

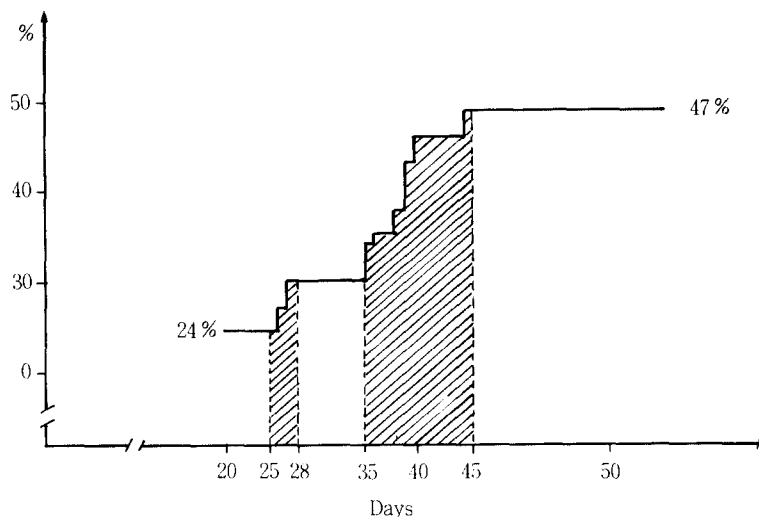


Fig. 1. Cumulative percentage of non-pregnant recipients after transfer of fresh bovine embryos (Heyman, 1985).

Table 3. Return to estrus intervals of embryo transfer recipients

Inter-estrus interval (days)	No. returning to estrus	% of recipients returning to estrus	% of recipients receiving embryos
2 ~16.5	14	3.4	1.5
17 ~24	222	53.9	24.4
24.5~34	24	5.8	2.6
34.5~46.5	84	20.4	9.2
45	68	16.5	7.5

(Markette et al., 1985)

Table 4. Extent of embryonic loss between various intervals in normal or repeat breeder cattle

Authors	Normal (%)	Repeat breeder (%)
Kidder et al. (1954)	24 (days 60~90)	-
Bearden et al. (1956)	11 (day 35)	-
Ayalon (1969)	14 (day 35)	-
Boyd et al. (1969)	15 (day 35)	-
Ayalon (1978)	20 (day 42)	-
Diskin and Sreenan (1980)	42 (day 42)	-
Roche et al. (1981)	23 (day 25)	-
Heyman (1985)	32 (days 24~60)	-
Tanabe and Almquist (1953)	-	29 (day 35)
Hawk et al. (1955)	-	72 (day 34)
Ayalon (1969)	6 (days 30~70)	36 (day 35)
Vaillancourt et al. (1979)	-	20 (days 30~70)

Table 5. Embryonic or feral loss between various intervals after nonsurgical transfer

Authors	No. transferred	% loss	Interval
Brand et al. (1978)	27	11	Days 60~90
Jillella and Baker (1977)	16	31	Days 45~90
Christie et al. (1980)	14, 15	12	Days 16~25
	15, 20	17	Days 25~42
Renard et al. (1980)	58	10	Days 21~28
		7	Days 28~35
		12	Days 35~60
Tervit et al. (1980)	31	12	Days 42-slaughter
Curtis et al. (1981)	40	28	Days 35~60
Heyman (1985)	37	32	Days 24~60

정상우에서 6~42%(평균 18%), 저수태우에서는 10~72%(평균 33%)로 변이가 크며 저수태우에서 약 2배 더 높음을 알 수 있다. 수정란이식의 경우도 7~32%(평균 18%)로 정상우의 인공수정태와 같은 수준이다. 그러나 수정란이식의 배사멸율은 약 7일째의 수정란을 채란하여 우수한 것만을 선별한 후에 이식되고 수란우의 조건도 우수한 개체만을 선별 이식되기 때문에 실제로 인공수정태보다 배사멸율이 훨씬 높다고 보아야 할 것이다. 즉 정상우의 배사멸율은 수정장애와 7일이전의 초기배사멸율 17~22%가 포함되고 있기 때문이다.

수정란이식의 조건과 임신율

1. 수정란의 이식수와 이식부위

현재까지 시도되어 온 수정란의 이식수와 이식부위는 Fig. 2와 같이 몇가지 형태로 행해져 왔다. 이들 방법에서 어느것이 어느정도로 배사멸과 임신율에 영향하는지에 대한 견해는 아직 일치되고 있지 않기 때문에 더 많은 연구가 필요한 부분이다.

1) 1개 수정란이식의 경우(Single transfer)

황체가 있는 쪽 자궁각(ipsilateral horn, Fig. 2A-a)에 이식하는 것이 Table 6과 같이 임신율이 높기 때문에 보편화되어 있다. 한편 황체와 반대쪽 자궁각(contralateral horn, Fig. 2A-b)에 이식하는 것은 conceptus에 의한 황체화 촉진 또는 황체퇴행억제기

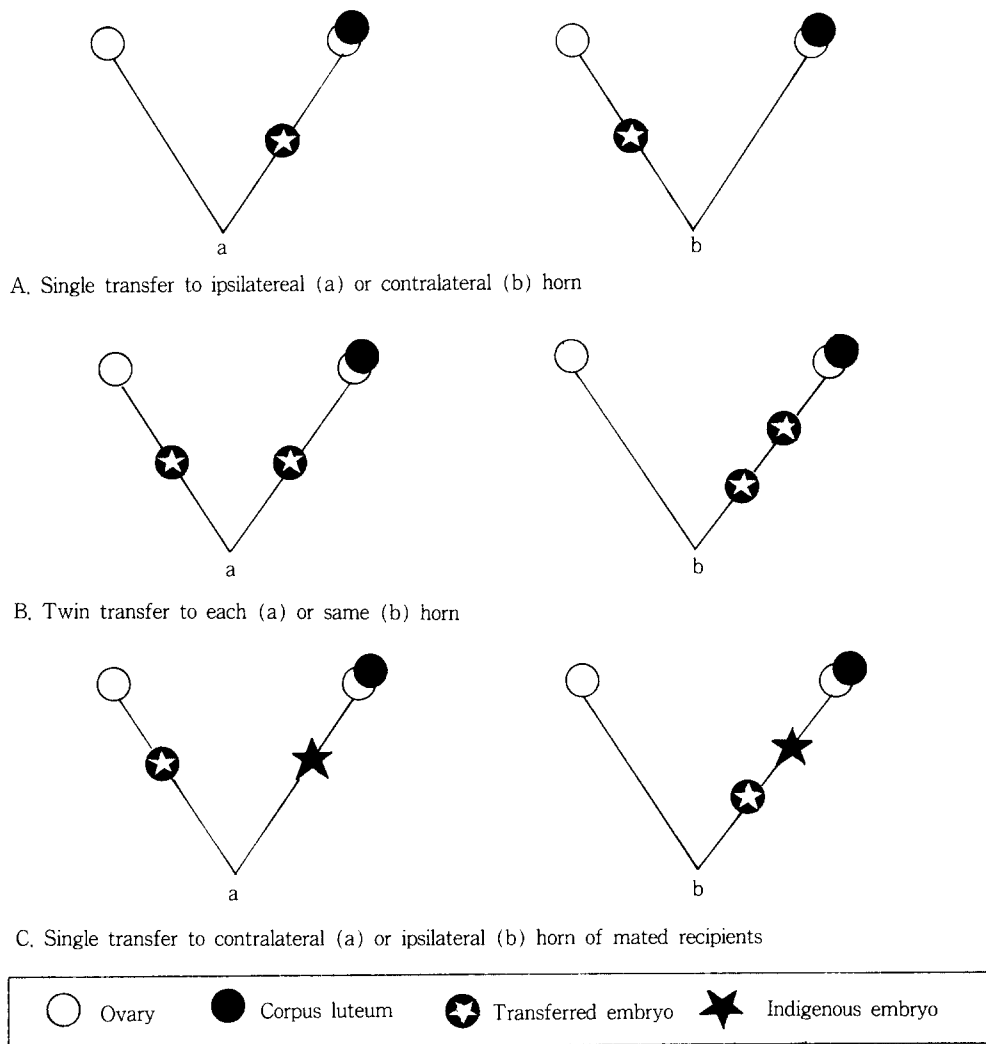


Fig. 2. Schematic presentation of different methods of transfer.

Table 6. Pregnancy rate by uterine side of embryo transfer

Authors	Side of ET	
	Ipsilateral	Contralateral
Newcomb and Rowson (1976)	46 %	0 %
Sreenan (1976)	61	18
Tervit et al. (1977)	54	39
Newcomb et al. (1978)	85	30
Del Campo et al. (1979)	67	13
Holzer et al. (1979)	39	18

능(luteotropic or antiluteolytic signals)의 전달능력저하 또는 실패로 임신율이 저하될 가능성이 높다. 수정란의 자궁내 이식위치에 있어서는 자궁난관연접부에 가까운 자궁각선단(tip)이 우수하다는 보고들이 있으나 실제로 별 차이가 없다(Newcomb과 Rowson, 1980; Sreenan 등, 1976), 이식위치의 선택은 이식방법(외과적, 비외과적)에 따라 결정될 문제이다. 외과적이식은 자궁각선단에, 비외과적이식에서는 익숙한 경우가 아닐 경우 오히려 배사멸의 원인이 될 수 있기 때문에 착상율의 저하를 줄이기 위하여 Table 7과 같이 자궁각 중앙 또는 하단(mid-horn or base)

Table 7. Pregnancy rate by uterine position of embryo transfer

Authors	Position of ET	
	Mid or base	Tip
Boland et al. (1976)	21 %	57 %
Sreenan (1976)	60	65
Christie et al. (1980)	45	73
Newcomb et al. (1980)	61	69
Rowe et al. (1980)	45	60

Table 8. Transfer of two embryos

Authors	Method	No. embryos transferred	Pregnancy (%)		
			Total (%)	Twin	Single
Renard et al. (1977)	NS	20	12(60)	6	6
Newcomb et al. (1978)	NS	20	6(30)	4	2
Heyman and Renard (1978)	NS	47	27(58)	14	13
Newcomb et al. (1980)	S	80	63(79)	41	22
Anderson et al. (1979)	S	77	49(64)	35	14
Anderson et al. (1982)	S	175	110(63)	62	48

나뉘서 이식한 결과는 Table 8과 같이 수정란의 전체 임신율은 30~80%로 변이가 크며 쌍태율은 20~50%이다. 특히 Anderson의 결과는 총 252개 이식에서 쌍태 35%, 분만을 60%(159두 분만)을 나타내고 있다. 한편 Sreenan과 Diskin(1989)은 Table 9와

Table 9. Effect of unilateral or bilateral twin-embryo distribution on embryo survival rate to term in parous cows

	Twin embryo distribution	
	Unilateral	Bilateral
No. of cows	49	46
No. pregnant at Day 50 (%)	31(63)	33(72)
No. pregnant at Day 150	30(61)	31(67)
No. calved (%)	30(61)	29(63)
No. of sets of twins born (%)	10(33)	11(38)
No. of singles born (%)	20(67)	18(62)
Embryo survival in calved recipients (%)	40(67)	40(69)
Embryo survival overall (%)	40(41)	40(43)

(Sreenan and Diskin, 1989)

에 이식을 권장하고 있다(Newcomb et al., 1980; Sreenan, 1976).

2) 2개이식의 경우(Twin transfer)

쌍태유기를 위하여 시도되어 온 2개수정란의 이식 방법은 Fig. 2의 B와 C에서 보는 바와 같이 두가지 방법 즉 동기화시킨 수란우에 2개이식 또는 자연배란 수정된 수란우에 1개를 추가이식하는 방법으로 구분할 수 있다.

동기화 수란우에 Fig. 2B-a,b와 같이 양쪽자궁에

같이 수정란의 이식부위가 한쪽 또는 양쪽이식간에 있어서 쌍태나 수정란의 생존율에 차이가 없음을 보여주고 있다. 그러나 Rowson 등(1971)과 Renard 등(1980)에 의하면 한쪽 2개이식에서도 임신율은 높지만 쌍태분만율은 크게 저하되는 것으로 나타나 있으며 자연상태에서도 한쪽 2개 배란시의 배사멸율이 양쪽에서의 배란보다 높으며 쌍태분만율도 낮다고 Hanrahan(1983)도 보고한 바 있다.

Table 10은 Fig. 2C-a,b와 같이 자연배란 수란우에 수정란 1개를 추가 이식한 결과인데 두 수정란 모두의 임신율이 60~100%, 분만율은 4보고에서 76%로서 위의 동기화 시킨 수란우에서 보다 높았고 쌍태율에서는 25~45%로 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 그러나 자연배란수란우에 1개 추가이식의 경우 Sreenan 과 Diskin(1989)에 의하면 수정란의 이식부위에 따라 기존 자연수정란의 생존율에 영향이 있는 것으로 보고되었는데 어느 쪽에 이식하는 간에 쌍태율과 전체수정란의 생존율에는 차이가 없으나 이식수정란의 생존율은 황체가 있는 쪽에서 높으며 자연수정란은 추가이식이 다른 쪽에 이식될 때 생존율이 높았다. 이상의 결과에서 쌍태유기를 위한 수정란이식방법은 어느것이 가장 효율적인지에 대해서는 아직

Table 10. Transfer of one embryo to previously inseminated recipients

Authors	Method	No. embryos transferred	Pregnancy (%)		
			Total (%)	Twin	Single
Boland et al. (1975)	NS	24	15(63)	6	9
Sreenan and McDonagh (1979)	NS	25	15(60)	9	6
Testart et al. (1975)	NS	17	14(82)	6	8
Boland and Gordon (1978)	NS	15	10(66)	5	5
Holy et al. (1981)	NS	64	64(100)	29	35
Sreenan et al. (1981)	NS	84	49(58)	20	29

일치된 결과를 얻지 못하고 있다.

2. 수정란의 조건

1) 신선, 동결 또는 배양수정란

Table 11에 나타난 바와 같이 신선과 동결수정란 간에는 배사멸율과 임신율에서 차이가 없으나 배양수정란에서는 특히 임신 90일까지의 임신율이 신선과 동결수정란보다 현저히 낮음을 알 수 있으며 배사멸율은 다소 높았으나 유의적인 차이는 아니었다. 그러나 Table 12에서는 배양수정란에서의 임신율저하가 임신 35일 이후의 배사멸이 크게 관여되었음을 알

수 있다. 이러한 배사멸율을 줄이기 위한 방법으로 Heyman(1985)은 Fig. 3과 같이 동결수정란을 trophoblastic vesicle과 공동이식했을 때 이식 후 21~45일 사이에 수정란의 생존성이 크게 향상됨을 보고 하였다.

2) 수정란의 발생단계와 품질

수정란의 이식이 외과적방법으로 주로 실시되었던 시기에서는 발생초기단계의 수정란이 주로 이식되어 왔으나 비외과적 이식방법이 보편화되면서 부터 배반포시기의 수정란이 주축을 이루고 있다. Fig. 4는

Table 11. Pregnancy rate and embryonic loss after transfer of fresh, frozen or cultured embryos

Embryo	Recipient	Initiated	Confirmed	Embryonic
		pregnancies D21	pregnancies D90	mortality
Fresh	83	59(71.0%)	46(55.4%)	22.0%
Frozen	64	42(65.6%)	30(46.8%)	28.5
Cultured	45	28(62.2%)	15(33.3%)	46.4

* p<0.01

(Heyman, 1985)

Table 12. Number (%) of lost gestations after single cervical transfer

	Transfer of non-cultured blastocysts	Transfer of cultured blastocysts
Number of initiated gestations	58	28
Number (%) of lost gestations between		
Day 21 and day 28	6(10.3)	2(7.1)
Day 28 and day 35	4(6.8)	2(7.1)
Day 35 and day 60	7(12.0)*	9(32.1)
Total	17(29.3)	13(46.3)
Number (%) of gestations maintained over day 60	41(70.6)	15(53.7)

* p<0.01.

Renard et al. (1980)

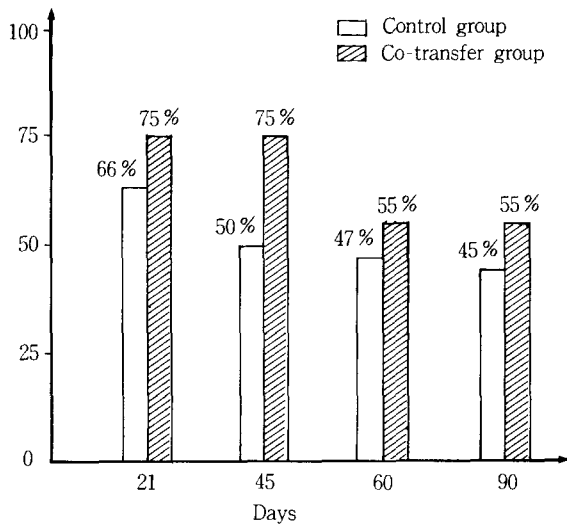


Fig. 3. Progression of pregnancy rate after co-transfer of frozen embryo and trophoblastic vesicles: A comparison with the controls (Heyman, 1985).

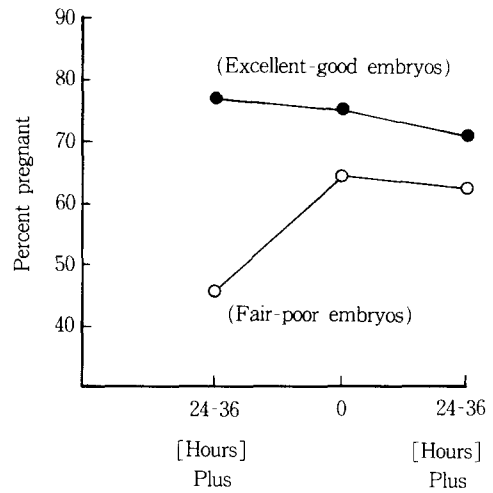


Fig. 5. Effect of recipient-donor estrous synchrony and embryo quality on pregnancy rate of recipients in surgical transfer of fresh embryos (Hasler et al., 1987).

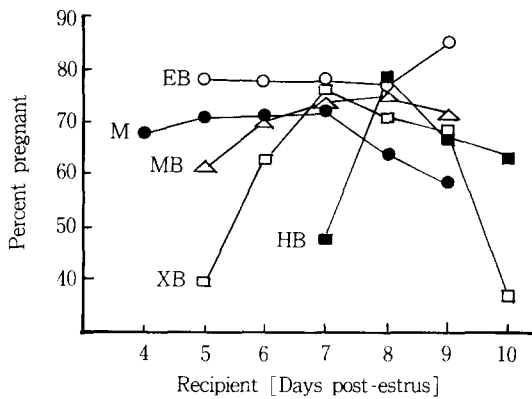


Fig. 4. Effect of stage of embryonic development and day of recipient's estrus on pregnancy rate of recipients in surgical transfer of fresh embryos (Hasler et al., 1987).

외과적으로 1개의 신선수정란을 이식한 결과인데 발생단계가 다른 수정란은 이식시기에 따라 임신율에 차이가 있음을 알 수 있다. 70~80%의 임신율을 얻기 위해서는 상실배와 초기배반포를 발정주기 5~7일, 중기 및 확장배반포는 7~8일, 부화배반포는 8~9일에 각각 이식되어야 한다. 이 결과에서 이식시의 수정란 발생단계가 고려되어야 함을 알 수 있다. 한편 외과적 이식과 비외과적 이식에서 모두 수정란의 품질이 임신율과 밀접한 관계가 있음을 Fig. 5

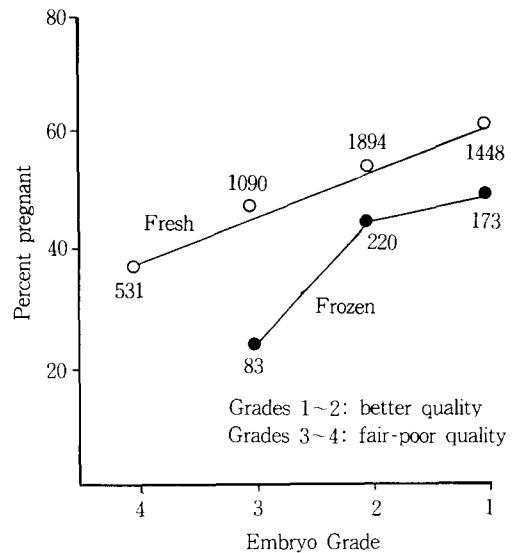


Fig. 6. Bovine pregnancies from nonsurgically transferred embryos (Leibo, 1984).

와 6에서 알 수 있다. 신선수정란의 외과적 이식의 경우 우수한 품질의 수정란은 동기화 정도가 $\pm 24 \sim \pm 36$ 시간에서는 임신율이 높으나 중정도이하의 수정란은 $+24 \sim +36$ 시간(공란우보다 일찍 발정된 수란우)에 이식하는 것보다 오히려 $-26 \sim -36$ 시간(공란우보다 늦은 발정우)에 이식할 때 임신율이

높았다. 대체로 상실배, 확장배반포는 비동기화에서도 강한 반면에 부화배반포는 자궁환경에 더 민감한 경향이 있다. 우수한 수정란이 아닐 경우 동기화상태가 매우 중요한 요인이 되고 있다.

3) 수정란의 염색체이상

Fayerie de Ahreu(1984)에 의하면 3~6일된 수정란에서 핵형이상율이 7%로 보고되었고 King과 Picard (1985)는 과배란 처리의 경우 5~7일 수정란에서 수정이상율이 16.6%라고 보고하였다. Hare 등 (1980)은 12~18일령 수정란에서 수정이상 1.9%임을 보고한 바 있다. 이상의 결과로 보아 염색체 이상이 수정란의 배사멸에 한 요인이 되며 염색체 이상을 가진 수정란의 이용은 피해야 할 것이다.

3. 수란우의 조건

1) 이식시 Progesterone 수준과 황체상태

Progesterone이 임신유지에 필수적인 호르몬이

되기 때문에 이식시 이 호르몬 수준과 수태율과의 관계를 조사한 보고들이 많으며 특히 수정란이식에서 임신율예측의 기초로 삼기 위하여 이식시 호르몬 수준측정이 시도되어 왔다. 그러나 이들과의 관계는 아직 일치된 결과를 얻지 못하고 있다. 인공수정 후(Hasler 등, 1980) 또는 수정란이식후(Sreenan과 Diskin, 1983)에 임신우와 비임신우간에 progesterone 수준차이가 인정되지 않았으며 또한 호르몬수준과 수태율간에도 인공수정(Diskin과 Sreenan, 1986)과 수정란이식(Stubblings와 Walton, 1986)에서 차이가 없었다. 그러나 인공수정후 임신우와 비임신우간에 호르몬수준에 차이가 있으며(Lukaszwska와 Hanse, 1980), 또한 수태율과 상관성이 있다는 보고도 있다(Maurer와 Echternkamp, 1982; Rosenberg 등, 1977).

Table 13에서 보는 바와 같이 동결수정란의 이식에서 2 ng/ml 이하 또는 5 ng/ml 이상일 때 임신율이 저하되고 있으며 신선수정란에서도 유사한 결과가

Table 13. Pregnancy rate relative to recipient plasma progesterone level on day (day 7) of nonsurgical transfer of frozen/thawed cattle embryos

Progesterone level (ng/ml)	No. of transfers	No. of pregnancies	Pregnancy rate %
<1.99 ng/ml	17	6	35.3
2-4.99 ng/ml	47	24	51.1
>5.0 ng/ml	7	2	28.6
Total	71	32	45.1

(Niemann et al., 1985)

보고된 바 있다 (Stubblings와 Walton, 1986). 특히 Erb 등(1976)과 Ayalon(1978)은 배사멸이 높은 시기가 7~8일이며 이 때에 progesterone 수준의 차이보다는 estradiol이 정상보다 높은 개체에서 불임 또는 저수태율이 높아짐을 보고하였다. 따라서 수정란이식의 성공율을 높이기 위하여는 배사멸 또는 임신율에 영향하는 내분비적 요인에 관한 연구가 뒤따라야 할 것이다.

2) 수란우의 동기화

배사멸의 주원인이 수정란과 수란우의 비동기화에 있으며 ± 1 일의 비동기화에서 임신율이 저하되는

것으로 알려져 있다. 그러나 Hasler 등(1987)은 Fig. 7에서 보는 바와 같이 수란우가 공란우보다 36시간 앞서 발정이 와도 수태율 저하가 없으며 단지 공란우보다 12시간이상 늦어질 때 현저히 저하됨을 보고하였는데 그 이유로서 과배란우에서 수정란의 발달이 다소 빠르는데 기인됨을 지적하고 있다. 비동기화의 영향은 이미 앞에서 언급한 바와 같이 수정란의 상태가 불량할 경우 현저하며 수정란의 발생단계에 따라 비동기화에 대한 민감도에 차이가 있음을 고려해야 할 것이다.

임신율은 수란우에서 발정동기화의 방법간에 차이가 있음을 Table 14에서 알 수 있다. 황체퇴행에

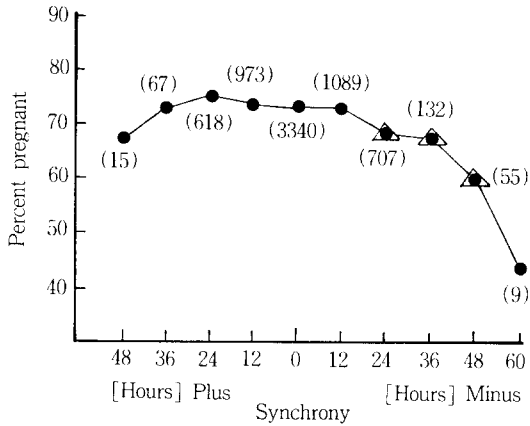


Fig. 7. Effect of recipient-donor estrous synchrony on pregnancy rate of recipients. Values in parentheses represent numbers of transfers. Triangles represent lower pregnancy rates ($P < .05$) than plus 24 hours (Hasler et al., 1987).

Table 14. Pregnancy rate of recipient heifers synchronized with Syncro-Mate B or Estrumate

Synchronization	No. of heifers	Pregnancy rate %
Syncro-Mate B	41	27.8 ^a ±7.6
Estrumate	26	64.3 ^b ±9.5

^{a,b}: $p < 0.01$.

(King et al., 1986)

의한 발정유기(Estrumate 이용)보다는 일정기간 progesterone을 유지하다가 제거시(Synchro-Mate B)에서 다소 임신율이 높았다. 한편 Table 15에서는 $PGF_2\alpha$ 에 의한 발정동기화에서의 임신율이 자연발정 수란우의 것과 유사함을 보여주고 있다.

3) 영양상태와 나이

영양상태가 배사멸에 크게 영향하지 않는다는 보고

Table 15. Pregnancy rates after transfer of fresh or frozen embryos into heifers after spontaneous estrus or estrus induced with $PGF_2\alpha$

Embryos	Spontaneous		Induced	
	Fresh	Frozen	Fresh	Frozen
No. of recipients	69	59	114	98
No. pregnant at 60 d	40	29	73	49
% pregnant	58.0	49.1	64.0	50.0

(Walton et al., 1986)

가 있으나(Hill 등, 1970) 착상완료시기(21~45일)까지 영양수준의 증가가 필요하며 그러나 과비상태를 피해야 한다고 보고되었다(Lowman, 1985). 한편 Spitzer 등(1978)은 미경산우우에서 교배 -21~+14일 사이에 -0.49kg/일의 체중감소에서 배사멸이 증가된다고 하였으며 Dunn(1980)도 -25~+35일 간에 -0.31kg/일의 체중감소는 +1.08kg/일의 증체보다 역시 배사멸이 증가됨을 보고한 바 있다. 수란우의 나이와 배사멸과의 관계는 미경산우가 4~5산우보다 배사멸이 높으며(Erb와 Holtz, 1958) 2~4산우보다 5산에서 더 높게 보고되었다(Ball, 1978).

4) 자궁감염

자궁내 비특이적 감염원과 배사멸과의 관계는 아직 의문점이 많으나 *C. pyogenes*는 수태율과 밀접

한 관계가 있는 것으로 인정되고 있다. 왜냐하면 자궁내막염의 주원인이 이들의 감염과 관계되고 있으며 불임우의 60~80%가 자궁내막염에 기인되기 때문이다. 한편 배사멸과 관계된 특이적 감염원으로서 trichomoniasis, brucellosis, IPV(IBR), campylobacteriosis가 중요시되고 있는데 앞의 3가지는 대부분 제거되어 왔으나 *C. fetus*에 의한 배사멸은 아직도 문제시되고 있다. 따라서 수정란이식에서도 자궁감염 여부가 배사멸 또는 임신율에 지대한 영향을 줄 수 있기 때문에 임상적으로 자궁질환이 없는 수란우의 선별이 중요하다.

4. 호르몬투여효과

수정란이식에서 임신유지에 필요한 황체호르몬 또는 그 분비를 촉진시키는 호르몬(iCG)의 투여로

이식수정란의 생존성을 높이고저 시도된 연구결과들이 있다. Sreenan과 Diskin(1983)의 결과를 보면 Table 16과 같이 progesterone 투여로 임신율이 22% 증가되었다. 그러나 임신 10~20일간에 100mg의 투여에서는 효과가 없었다. 한편 Diskin과 Sreenan(1986)은 정상우에서는 투여효과가 없었으나 저수태우에 투여시 현저한 임신율의 증가를 보고하였다.

또한 Walton 등(1986)은 Table 17과 같이 영양상태와 발정확인 등, 수란우의 관리상태가 양호한 경우와 불량한 관리조건의 수란우의 비교에서 불량한 조건에서 호르몬의 투여효과를 입증한 바 있다.

hCG 투여로 부황체유기 또는 황체로부터 progesterone의 합성을 증가시킬 경우에 얻어진 결과들을 보면 Table 18과 같이 임신율이 다소 상승되고 있지

Table 16. Effect of progesterone supplementation on pregnancy rate

	Treatment schedule	Treatment groups	
		Control	+ Progesterone
Exp. 1, pregnancy rate (%)	100 mg, Day 10-20	13 / 25(52%)	18 / 26(69%)
Exp. 2, pregnancy rate	100 mg, Day 5-35	9 / 20(45%)	14 / 19(74%)
Total (%)		22 / 45(49%)	32 / 45(71%)
% increase in pregnancy rate			+22

(Sreenan and Diskin, 1983)

Table 17. Effect of 200 mg progesterone treatment on pregnancy rate between good and poor management heifers

	Control	Progesterone
Good management		
No. of heifers	22	48
No. pregnant at 60 d	13	24
% pregnant	59	50
Poor management		
No. of heifers	33	41
No. pregnant at 60 d	7	19
% pregnant	21	46

(Walton et al., 1986)

만 hCG에 대한 효과는 더욱 연구되어야 할 과제임을 보여주고 있다.

5. 종모우의 영향

종모우에 따라 배사멸에 미치는 영향은 일치된 결과를 얻고 있지 못하나(Table 19) Bearden(1956)은 임신율이 높은 종모우가 낮은 종모우보다 배사멸이 낮고 임신율이 높은 종모우의 불임원인중에 대부분 원인이 배사멸에 기인된다고 하였다. Erb와 Fleshinger(1954)도 Table 20에서 임신율에 종모우간 차이가 있으며 29일까지의 배사멸율에도 차이가 있음을 보여주고 있다. 한편 29일까지 임신율에 차이는 없으나 180일에서는 차이가 나타나 있다. 이러한

Table 18. Effect of hCG administration on pregnancy rate

Authors	Treatment regime	Pregnancy, %		Change
		Control	+ hCG	
Christie et al. (1980)	1,000IU, D ₃	50	65	+15
Santos-valadez et al. (1982)	1,000IU, D ₁₅	56	67	+11
Holness et al. (1982)	1,000IU, D ₃₋₁₉	33	41	+ 8
Greve and Lehn-Jensen (1982)	1,500IU, D ₁₃₋₁₅	75	81	+ 6
Sreenan and Diskin (1983)	1,500IU, D ₁₉₋₂₀	52	65	+13
	1,500IU, D ₁₉₋₃₅	45	56	+11
	1,500IU, D ₁₀₋₂₀	68	57	+11
Massey et al. (1983)	5,000IU, D _{14 or 16}	48	54	+ 6
Looney et al. (1984)	5,000IU, D ₇	50	50	0

Table 19. Embryonic survival and embryonic mortality rate of bulls with histories of either low or high fertility in artificial breeding

Bull	Slaughter data		Causes of repeat breeding		
	(33-day)		% eggs	% embryonic	% breeding failure
	% normal embryos		not fert.	mortality	caused by EM
High	86.1		3.4	10.5	75.5
Low	57.7		23.1	19.6	46.3
High-low	28.4		19.7	9.1	29.2

(Bearden, 1956)

Table 20. Embryonic mortality following insemination with semen from bulls of differing fertilizing ability

Group of bulls with increasing fertility	No. of 1st services	Pregnancy		Embryo loss
		29 d	180 d	%
A	6,210	70.4	53.3	24.3
B	10,030	74.0	58.6	20.8
C	18,879	76.7	63.1	17.7
D	17,764	79.8	67.0	16.0

(Erb and Fleschinger, 1954)

결과로 보아 수정란이식에서도 임신율 향상을 위해서 종모우의 선택이 매우 중요한 요인이 됨을 알 수 있다.

6. 기후조건

인공수정후 고온이 임신율에 영향을 주며(Dunlap 와 Vincent, 1971), 특히 이러한 임신율의 저하가 배사멸에 기인됨이 보고되었다(Stott와 Williams, 1962). 고온의 영향이 직접적으로는 배발생에, 간접적으로는 모체의 내분비 이상을 일으키는 것으로 보고되었다(Johnson, 1985). Table 21은 육우에서 고온과 습도의 영향을 보여주고 있는데 임신율에 유의적인 저하는 없으나 conceptus와 황체무게에 차이가 있음을 알 수 있다.

7. 임신진단시기와 방법

일반적으로 임신진단은 30~70일 사이에서 행해지지만 직장검사에 따른 배 또는 태아사멸을 줄이기 위하여 대부분 42~46일 이후부터 실시되고 있다. 그러나 진단기술의 숙달정도에 따라 amniotic vesicle (약 28일부터), chorioallantoic membrane slip(약 30일부터), 태수파동(약 42일부터)의 촉진으로 진단이 가능하다. 임신진단의 시기와 방법에 따라 배사멸에 차이가 있음을 알 수 있다.

Vaillancourt 등(1979)은 Table 22와 같이 chorioallantoic membrane slip 법에서 50일 전후에 따라 7.2와 3.2%의 배사멸을 보고하였으며, Beghelli 등(1986)은 여러가지 방법을 비교한 결과 Table 23에서

Table 21. Effect of climate treatment on pregnancy rate, conceptus and corpus luteum

	Treatment		
	Control	I	II
Pregnancy rate, %	82	67	55
Conceptus wet weight, g	157.9	110.6	72.8
Corpus luteum weight, g	3.4	2.8	2.8

Treatment I : 12 h at 37°C and then 12 h at 33°C under 27% humidity.

(Biggers et al., 1987)

Treatment II : the same condition with Tr. I under 38% humidity.

Table 22. Prevalence of embryonic mortality after pregnancy diagnosis

Period of grstation (days)	Group A cows*		Group B cows'		Combined		Total (calved and aborted)
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	
<50	139	(3.1)	182	(4.1)	321	(7.2) ^a	4,440
>50	20	(0.66)	78	(2.6)	97	(3.2) ^b	3,037
Combined	150	(2.1)	260	(3.5)	419	(5.6)	7,477

* Aborted <30 days, 'Aborted >30 days. (Vaillancourt et al., 1979)

^{ab}: p<0.01.

Table 23. Pregnancy diagnosis by manual palpation performed at 33 to 45 days of gestation and embryonic mortality

Palpation method	No. of cows	No. of EM (%)
Fluctuance	330	6 (1.8)
Fluctuance and amnios	123	5 (4.07)
Fluctuance and slipping	112	5 (4.46)
Total	565	16 (2.82)

(Beghelli et al., 1986)

보는 바와 같이 방법간에 배사멸의 차이가 있음을 역시 보고하였다.

8. 이식기술

특히 비외과적 이식방법에서 주입자의 이식기술의 숙련정도에 따라 임신율의 차이가 있다(Table 24).

한편 자궁경관주입기의 통과가 곤란한 경우가 있는데 이는 수란우자체의 경관 크기에도 원인이 있겠으나 주입기 삽입기술에 따라서도 차이가 있으며 따라서 자궁경관 통과와 용이성에 따라 임신율에 차이를 나타내고 있다(Table 25). 또한 Rowe 등(1980)은 주입기가 이식위치인 자궁각심부까지 진행되는 소요

Table 24. Effect of technique of inseminator on pregnancy rate

Authors	Pregnancy rate		
	A	B	C
Halley et al. (1979)	46	24	-
Rowe et al. (1980)	58	35	-
Schneider et al. (1980)	53	48	28

(金川, 1984)

Table 25. Effect of easiness of cervical transfer on pregnancy rate

Authors	Pregnancy rate	
	Easy	Difficult
Boland et al. (1976)	32	17
Bowen et al. (1978)	20	0
Wright (1981)	59	50

(金川, 1984)

시간과 임신율에 관계가 있으며 빠를수록 그리고 자궁내막의 손상이 적을수록 임신율이 높다고 하였다.

적 요

소에서 교배 후 배사멸 또는 태아사멸은 일반적 현상이며 번식효율에 영향을 미치는 중요한 요인이 되고

있다. 이러한 손실에 대하여 많은 연구가 행해져 왔으며 배사멸이 수정란이식에서는 물론이고 일반 번식우에서 임신율 저하의 제1차적 요인으로서 지적되고 있다.

그러나 그 원인에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다. 배사멸 또는 임신율은 유전적, 환경적 요인과 관련된 여러가지의 배 및 모체 영향에 의해 크게 좌우되고 있다.

배사멸의 시기와 정도는 측정방법의 어려움 때문에 보고자 또는 측정방법에 따라 차이가 많다. 수정란 이식후 배사멸 또는 임신율에 영향하는 주요 요인을 다음과 같이 요약할 수 있다.

1. 동기화 수란우에 1개 수정란의 이식의 경우 황체와 같은 쪽의 이식이 생존율이 보다 높으며 만일 쌍태유기를 위하여 수정란을 이식할 때는 동기화 수란우 또는 자연발정교배 수란우의 조건, 이식방법에 따라 수정란의 생존율과 쌍태율에 차이가 많으며 보다 명확한 결과를 얻기 위하여 더욱 많은 연구가 필요하다.

2. 수정란의 체외배양에서 임신율의 큰 저하없이 수시간 배양이 가능하지만 배양시간과 배양액에 따라 임신율에 차이가 많으며 체세포와 공동이식시 크게 개선될 수 있다.

3. 수정란의 발생단계와 품질에 따라 동결과 이식 후 임신율에 차이 많으며 임신율의 향상을 위하여 염색체 이상이 없는 수정란과 높은 수태율을 갖는 정액의 선별이용이 고려되어야 한다.

4. 수정란이식때의 progesterone 수준과 임신율과의 관계에 대해 많은 연구가 행해졌고 임신율 향상을 위해서 progesterone의 투여 또는 hCG처리에 의한 황체기능향상에 따른 효과는 변이가 크고 일치된 결과를 얻지 못하고 있다.

5. 공란우 또는 수정란과 수란우간의 비동기화가 배사멸과 임신율 저하의 주된 원인이 되며 비동기화에 대한 감수성은 수정란의 발생단계와 품질에 따라 다르다.

6. 임신초기때 극단의 영양상태는 배생존에 악영향을 주며 임신율의 저하를 막기 위하여 양호한 신체조건 유지가 필요하다. 자궁의 감염원이 배사멸에 미치는 영향에 대해서는 아직 의문시 되나 *C. pyogenes* 와 *Campylobacter fetus*는 아직 중요한 병원체로 여기고 있다.

7. 임신초기 때 고온은 conceptus의 발달을 저해하며 배사멸을 증가시킬 수 있다.

참 고 문 헌

- Anderson GB, Bon Durant RH and Cupps PT. 1982. Induction of twins in different breeds of cattle. *J. Anim. Sci.*, 54:485-490.
- Anderson GB, Cupps PT and Drost M. 1979. Induction of twins in cattle with bilateral and unilateral embryo transfer. *J. Anim. Sci.*, 49:1037-1041.
- Ayalon N. 1969. Final report of research comparative studies of repeat breeders and normal cows and heifers. *Kimron Vet. Inst., Beit Dagan (Israel)*, pp. 1-92.
- Ayalon N. 1978. A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 54:483-493.
- Ball PJH. 1978. The relationship of age and stage of gestation to the incidence of embryo death in dairy cattle. *Res. Vet. Sci.*, 25:120-122.
- Bearden HJ, Hansel WM and Bratton RW. 1956. Fertilization and embryonic mortality rates of bulls with histories of either low or high fertility in artificial breeding. *J. Dairy Sci.*, 39:312-318.
- Beghelli V, Boiti C, Parmigiani E and Barbacinis. 1986. Pregnancy diagnosis and embryonic mortality in the cow. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals*, pp. 159-170. Eds Sreenan JM and Diskin MG, Martinus Nijhoff Publ., The Hague.
- Biggers BG, Geisert RD, Wetteman RP and Buchanan DS. 1987. Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. *J. Anim. Sci.*, 64:1512-1518.
- Boland MP, Croshy TF and Gordon I. 1975. Twin pregnancy in cattle established by non-surgical egg transfer. *Brit. Vet. J.*, 131:738-740.
- Boland MP, Crosby TF and Gordon I. 1976. Birth of twin calves following a single transcervical non-surgical egg transfer technique. *Vet. Rec.*, 99:274-275.
- Boland MP and Gordon I. 1978. Twinning in lactating Friesian cows by non-surgical egg transfer. *Vet. Rec.*, 103:241.

- Boyd HP, Bacsich P, Young A and McCracken JA. 1969. Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. *Brit. Vet. J.*, 125:87-97.
- Brand A, Aarts MH, Zaayer D and Oxender WD. 1978. Recovery and transfer of embryos by non-surgical procedures in lactating dairy cattle. In: *Control of Reproduction in Cow. A seminar in the EEC Prog. of Coord. of Res. Beef Prod.* 1977. Current Topics., *Vet. Med.* 1:281-291.
- Christie WB, Newcomb R and Rowson LEA. 1980. Non-surgical transfer of bovine eggs: Investigation of some factors affecting embryo survival. *Vet. Rec.*, 106:190-193.
- Curtis JL, Elsdon RP and Seidel GE Jr. 1981. Non-surgical transfer of bovine embryos. *Theriogenology*, 15:124(abstr.).
- Del Campo MR, Rowe RF and Ginther DJ. 1979. Relationship between side of embryo and transfer and pregnancy rate in cattle. *Proc. 71st Annu. Meet. Am. Soc. Anim. Sci.*, p. 290.
- Diskin MG and Sreenan JM. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fert.*, 59: 463-468.
- Diskin MG and Sreenan JM. 1986. Progesterone and embryo survival in the cow. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals*, pp. 142-158. Eds Sreenan JM and Diskin MG, Martinus Nijhoff Publ., The Hague.
- Dunlap SE and Vincent CK. 1971. Influence of post-breeding thermal stresses on conception rate in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 32:1216-1218.
- Dunn TG. 1980. Relationship of nutrition to successful embryo transplantation. *Theriogenology*, 13:27-39.
- Erb RE and Flerchinger FH. 1984. Influence of fertility level and treatment of semen on non-return decline from 29 to 180 days following artificial service. *J. Dairy Sci.*, 37:938-948.
- Erb RE, Garverick HA, Andel RD, Brown BL and Callahan CJ. 1976. Profiles of reproductive hormones associated with fertile and non-fertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*, 5:227-242.
- Erb RE and Holtz EW. 1958. Factors associated with estimated fertilization and service efficiency of cows. *J. Dairy. Sci.*, 41:1541-1552.
- Gayerie de Abreu F. 1984. A cytogenetic investigation of early stage bovine embryos-relation with embryo mortality, *Abst. No. 44. Winter Meet. Soc. Study of Fertility*, London.
- Greve T and Lehn-Jensen H. 1982. The effect of HCG administration on pregnancy rate following non-surgical transfer of viable bovine embryos. *Theriogenology*, 17:91.
- Hanrahan JP. 1983. The inter-ovarian distribution of twin ovulations and embryo survival in the bovine. *Theriogenology*, 20:3-11.
- Hare WCD, Singh EL, Betteridge KJ, Eaglesome MD, Randall GCB, Mitchell D, Bilton RJ and Trounson AD. 1980. Chromosomal analysis of 159 bovine embryos collected 12 to 18 days after estrus. *Can. J. Genet. Cytol.*, 22:615-626.
- Hasler JF, Bowen RA, Nelson LD and Seidel GE Jr. 1980. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. *J. Reprod. Fert.*, 58: 71-78.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27:139-168.
- Hawk HW, Wiltbank JN, Kidder HE and Casida LE. 1955. Embryonic mortality between 16 and 34 days postbreeding in cows of low fertility. *J. Dairy Sci.*, 38:673-676.
- Heyman Y. 1985. Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. *Theriogenology*, 23:63-75.
- Heyman Y and Renard JP. 1978. Production de surnaux par transplantation d'embryons chez les bovins de race a viande. *Ann. Med. Vet.*, 122:157-163.
- Hill JR Jr, Lamond DR, Hendricks DM, Dickey JF and Niswender GD. 1970. The effects of undernutrition on ovarian function and fertility in beef heifers. *Biol. Reprod.*, 2:78-84.
- Holness DH, McCabe CT and Sprowson GW. 1982.

- Observations on the use of human chorionic gonadotrophin during the post-insemination period on conception rates in synchronised beef cows with suboptimum reproductive performances. *Theriogenology*, 17:133-140.
- Holy L, Jiricek A, Vanatka F, Vrtel M and Fernandez V. 1981. Artificial induction fo twinning in cattle by means of supplemental embryo transfer. *Theriogenology*, 16:483-487.
- Holzer G, Nelson ID and Seidel GE Jr. 1979. Unpublished (Seidel GE Jr. 1981): Critical review of embryo transfer procedures with cattle. In: *Fertilization and Embryonic Development in vitro*. pp. 323-353. Eds Mastroianni L Jr and Biggers JD. Plenum Press, NY.
- Jillella D and Baker AA. 1977. Transcervical transfer of bovine embryos, *Vet. Rec.*, 103:574-576.
- Johnson HD. 1985. Physiological responses and reproductivity of cattle. In: *Stress Physiology in Livestock Vol. II*. pp. 3-23. Eds Yousef MK, CRC Press, FL.
- Kidder HE, Black WG, Wiltbank JN, Ulberg LC and Casida LE. 1954. Fertilization rates and embryonic death rates in cows bred to bulls of different levels of fertility, *J. Dairy Sci.*, 37:691-697.
- King ME, Odde KG, Lefever DG, Bluntzer JS, Oden AJ and Massey JM. 1986. Synchronization of estrus in embryo transfer recipients receiving demi-embryos with Synchro-mate B or Estrumate. *Theriogenology*, 13:26:221-229.
- King WA and Picard L. 1985. Haploidy in preattachment bovine embryos. In: *Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer*. King WA. *Theriogenology*, 23:161-174 (1985).
- Leibo SP. 1984. A one-step method for direct nonsurgical transfer of fozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 21:767-790.
- Loony CR, Oden AJ, Massey JM, Johnson CA and Godke RA. 1984. Pregnancy rates following HCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*, 21:246.
- Lowman BG. 1985. Feeding in relation to suckler cow management and fertility. *Vet. Rec.*, 117:80-85.
- Lukaszewska J and Hansel W. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 59:485-493.
- Markette KL, Seidel GE Jr and Elsdon RP. 1985. Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. *Theriogenology*, 23:45-62.
- Massey JM, Oden AJ, Voelkel SA and Godke RA. 1983. Pregnancy rate following HCG treatment of bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 19:140.
- Maurer RR and Chenault JR. 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 56:1186-1189.
- Maurer RR and Echterkamp SE. 1982. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology*, 17:11-22.
- Newcomb R, Christie WB and Rowson LEA. 1978. Comparison of the fetal survival rate in heifers after the transfer of an embryo surgically to one uterine horn and non-surgically to the other. *Vet. Rec.*, 105-432-434.
- Newcomb R, Christie WB and Rowson LEA. 1980. Fetal survival rate after the surgical transfer of two bovine embryos. *J. Reprod. Fert.*, 59:31-36.
- Newcomb R and Rowson LEA. 1976. Aspects of the non-surgical transfer of bovine eggs. *Proc. 8th Int. Congr. Anim. Reprod & AI, Krakow*, 3:262-265.
- Newcomb R and Rowson. 1980. Investigation of physiological factors affecting nonsurgical transfer. *Theriogenology*, 13:41-49.
- Nieman H, Sacher B and Elsaesser F. 1985. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of fozen/thamed bovine embryos. *Theriogenology*, 23:631-639.
- Renard JP, Heyman Y and du Mesnil du Buisson F. 1977. Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage. *Theriogenology*, 7:189-194.
- Renard JP, Heyman Y and Ozil JP. 1980. Importance of gestation losses after non-surgical transfer of cultured and non-cultured bovine blastocysts. *Vet.*

- Rec., 107: 152-153.
- Roche JF, Boland MP and McGeady TA. 1981. Reproductive wastage following artificial insemination in heifers. *Vet. Rec.*, 109:401-403.
- Rosenberg M, Gerz Z, Davidson M and Folman Y. 1977. Seasonal variations in postpartum plasma progesterone levels and conception in primiparous and multiparous dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 51:363-367.
- Rowe RF, Del Campo MR, Critser JR and Ginther OJ. 1980. Embryo transfers in cattle: Nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.*, 41:1024-1028.
- Rowson LEA, Lawson RAS and Moor RM. 1971. Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fert.*, 25:261-269.
- Santos-Valadez S de, Seidel GE Jr and Elsdon RP. 1982. Effect of HCG on pregnancy rates in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 17:85.
- Spitzer JC, Niswender GD, Seidel GE Jr and Wilthank JN. 1978. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. *J. Anim. Sci.*, 46:1071-1077.
- Sreenan JM. 1976. Egg transfer in the cow: Effect of site of transfer. *Proc. 8th Int. Congr. Anim. Reprod. & AI*, III:269-272.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1983. Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 112:517-521.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1986. The extent and timing of embryo loss in cattle. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals*. pp. 1-11. Eds Sreenan JM and Diskin MG. Martinus Nijhoff, Publ., The Hague.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27:99-113.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1989. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 87:657-664.
- Sreenan JM, Diskin MG and McDonagh T. 1981. Induction of twin-calving by non-surgical embryo transfer: A field trial. *Vet. Rec.*, 109:77-80.
- Sreenan JM, Disking MG and McDonagh T. 1981. Induction of twin-calving by non-surgical embryo transfer: A field trial. *Vet. Rec.*, 109:77-80.
- Sreenan JM and McDonagh T. 1979. Comparison of the embryo survival rate in heifers following artificial insemination, non-surgical blastocyst transfer or both. *J. Reprod. Fert.*, 56:281-284.
- Stott GH and Williams RJ. 1962. Causes of low breeding efficiency in dairy cattle associated seasonal temperatures. *J. Dairy Sci.*, 45:1369-1375.
- Stubbings RB and Walton JS. 1986. Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos. *Theriogenology*, 26:145-155.
- Tanabe TY and Almquist JO. 1953. Some causes of infertility in dairy heifers. *J. dairy Sci.*, 36:586(abstr.).
- Tervit HR, Cooper MW, Goold PG and Haszard GM. 1980. Nonsurgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 13:63-71.
- Tervit HR, Havik PG and Smith JF. 1977. Egg transfer in cattle: pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. *Theriogenology*, 7:3-8.
- Testart HR, Godar-Siour C and du Mesnil du Buisson F. 1975. Transvaginal transplantation of an extra egg to obtain twinning in cattle. *Theriogenology*, 4:163-168.
- Vaillancourt D, Bierschwal CJ, Ogwu D, Elmore RG, Martin CE, Sharp AJ and Youngquist RS. 1979. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *JAVMA*, 175:466-468.
- Walton JS, Martineau NA and Stubbings RB. 1986. Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipients: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. *Theriogenology*, 26:837-845.
- Wiebold JL. 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 84:393-399.
- 金川弘司. 1984. 牛の受精卵移植, 近代出版, 日本. pp. 91-92.