

## 한우 체내 수정란 이식 후 수태율에 미치는 요인

손귀동, 송상현<sup>1</sup>, 정우재, 박충생, 이정규, 공일근<sup>1,\*</sup>

경상대학교 농업생명과학대학 응용생명공학부, <sup>1</sup>경상대학교 농생명과학원

## Factors Affecting on Pregnancy Rate of Recipients Following Transfer of Hanwoo Embryos Produced In Vivo

Gwi-Dong Son, Sang-Hyun Song<sup>1</sup>, Woo-Jae Jeong, Choong-Saeng Park, Jung-Gyu Lee and Il-Keun Kong<sup>1,\*</sup>

Division of Applied Life Science(BK21), College of Agriculture & Life Science, Graduate School of Gyeongsang National University

<sup>1</sup>Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University

### ABSTRACT

This study was performed to improve the pregnancy rates of recipients following transfer of bovine embryos produced *in vivo*. Superovulation response didn't show significant differences between each season (4.18 in spring; 4.36 in summer; 5.50 in fall; 4.38 in winter). Pregnancy rate was significantly different ( $p<0.05$ ) between fresh (43.4%) and frozen embryos (17.2%). In administration of hCG to recipients, the pregnancy rate of fresh embryos (45.7%) was slightly higher than that of control (35.3%), but the pregnancy rates of frozen embryos in control group (25.0%) was higher than that of hCG group (16.0%). When synchrony of recipient and embryo was -2, -1, 0 and 1, the pregnancy rates were 20.0, 45.0, 30.3 and 26.3%, respectively. The pregnancy rates of recipients synchronized by naturally or PGF<sub>2a</sub>, CIDR/PGF<sub>2a</sub>, and E/P/CIDR/PGF<sub>2a</sub>/E treatments were 35.3, 48.0, 29.0 and 40.0%, respectively. Gestation lengths and birth weights of female and male calf were 288 and 290.5 days, 28.3 and 30.0 kg, respectively.

The results were showed that the superovulation response was not affected by seasons, and also pregnancy rate didn't increase by administration of hCG, synchrony of embryo and recipients, synchrony methods. Further study and concern should be focused on improving the embryo freezing and pregnancy rate for commercial embryo transfer.

(Key words : pregnancy rate, hCG, season, embryo transfer, superovulation)

### 서 론

한우는 역용에서 육용으로 그 목적이 변화되어 왔고, 사육 형태도 전문화, 기업화되는 추세이며, 최근 WTO 및 한·미 FTA 등이 국내 육우 산업의 앞날에 많은 어려움이 예상되고 있다. 특히 한우 사육에 대한 양축가의 불안 심리와 사육 기반 위축 등으로 한우 산업이 위기에 직면해 있다. 이러한 위기를 극복하는 방안으로 육질이 우수한 한우를 대량 생산한다면, 한우 개량뿐만 아니라 농가의 소득 증대에 이바지 할 수 있을 것이다.

체내 수정란 생산에 영향을 미치는 요인으로는 계절같은 외적인 환경 요인들이 수정란 생산 효율에 영향을 미치는데, 과 배란 처리 시 계절적 영향은 난소 반응에 무관하거나(김 등, 1997; Massey와 Oden, 1984; Crister 등, 1980; Darrow 등, 1982), 여름(Gordon 등, 1987), 가을(Greve 등, 1979), 혹은 겨울과 봄(Hasler 등, 1983)이 좋았다고 한다. 수정란 이식후 임신율에

미치는 요인으로 수란우와 공란우의 발정 주기 불일치(Nelson 등, 1982), 황체 기능 부진(Stubblings과 Walton 1986; Remsen과 Roussel, 1982) 등 중요한 요소로 지적되었다. 발정 동기화 방법에는 PGF<sub>2a</sub> 유사체를 이용한 인위적 발정 동기화 방법(김 등, 1998; Tervit 등, 1980; Sreenan, 1975)이 있으며, Wright(1981)와 Coleman 등(1987)은 PGF<sub>2a</sub>를 이용한 발정 동기화에 의한 수태율은 차이가 없으나, Sreenan(1975)과 Halser 등(1987)은 인위적 발정을 유도한 수란우가 자연 발정 수란우에 비해 수태율이 높았다고 한다. 신선란과 품질이 우수한 동결란을 이식하였을 때 동결란이 10% 낮은 수태율을 보였다고 한다(Hasler, 2001; Niemann, 1991). 수란우의 황체 기능의 미약으로 progesterone의 농도가 감소하는 것은 수태율이 감소의 중요한 원인 중의 하나이다(Lukaszewska와 Hansel, 1980). 황체 기능 미약의 원인으로 조기 배 사멸이 되는 것을 방지하기 위하여, progesterone(Tribulo 등, 1997), human chronic gonadotropin(hCG;

\* 본 연구는 NURI(경남 바이오 비전 생물산업인력 양성사업단)의 지원으로 수행되었음.

\* Correspondence : E-mail : ikong@gnu.kr

Looney 등, 1984; Santos-Valadez 등, 1982), gonadotropin releasing hormone(Fernandez와 Larcocca, 1999; Ellington 등, 1991)을 처리함으로써 수정란 이식 후 수태율을 향상시키고자 하였다. Nishigai 등(1998)은 동결 수정란을 화우에 이식하여 황체 기능과 수태율과의 연관성을 조사한 결과, 혈중 Progesterone의 농도가 증가함으로써 수태율이 증가시킨다고 하였으나, Chagas 와 Lopes(2005)은 hCG처리는 progesterone의 농도를 증가시키고 부황체 유도하였으나 수태율에는 영향을 미치지 않았다고 한다. 체외 수정란 이식 후 태어난 송아지들이 체내 수정란 이식 후 태어난 송아지와 인공수정으로 태어난 송아지와 비교해 보면 임신 기간이 길고 체중이 무거운 경향을 보였다고 하였다(Numabe 등 2001; Young 등, 1998; Kruip와 den Dass, 1997; Behboodi 등, 1995).

본 연구에서는 과배란 처리 시 계절적 영향이 수정란의 생산에 미치는 영향을 검토하고, 수태율을 향상시키기 위하여 발정 후 7일째 1,500 IU hCG를 수란우에 처리, 신선란과 동결란 및 수란우의 발정 동기화가 수태율에 미치는 영향을 조사하려고 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 체내 수정란 생산

발정 주기와 상관없이 CIDR(CIDR-B; InterAg, Hamilton, NZ)를 삽입하는 방법을 이용하였다. 공란우에 CIDR를 삽입하는 날에 2.5 mg estradiol benzoate(에스론, 삼양애니팜), 50 mg progesterone(오바론, 삼양애니팜)을 주사하였다. CIDR 삽입 후 4.5 일째부터 4일 동안 FSH(Antorin, 36AU)를 감량법으로 12시간 간격으로 주사하였으며, FSH 주사 5, 6회째에 PGF<sub>2α</sub>(Lutalyse)를 투여했다. 7회째 FSH처리 후 CIDR를 제거하였다. 1회째 PGF<sub>2α</sub> 주사 후 48시간째에 100 μg의 GnRH를 주사한 후, 발정이 발현하면 12시간 간격으로 보증 종모우를 이용하여 인공 수정을 2~3회 실시하였다. 수정란 채란을 위하여 balloon catheter에 자궁각에 위치한 후, 관류액(D-PBS+0.1% PVA)으로 수정란을 채란하였다. 채란된 수정란은 현미경하에서 이식 여부를 결정하였다.

### 2. 수란우의 발정 동기화 및 수정란 이식

수란우는 정상적인 성주기를 가지며, 생식기 질병이 없는 개체를 선발하여 발정 동기화를 유도하였다. 선발된 수란우의 발정 동기화는 ① 자연 발정우(Natural), ② PGF<sub>2α</sub>(25 mg) 주사(PGF<sub>2α</sub> 법)하였으며, ③ CIDR를 7일 동안 질내 삽입하였으며 CIDR 제거 당일 PGF<sub>2α</sub>(25 mg)를 투여하는 방법(CIDR/PGF<sub>2α</sub> 법) 또는 ④ CIDR 삽입하고 2.5 mg estradiol benzoate, 50 mg progesterone주사 후 7일째에 CIDR를 제거하면서 PGF<sub>2α</sub> 25 mg을 투여한 후, 24시간째에 estradiol benzoate를 투여(E/P/

CIDR/PGF<sub>2α</sub>/E) 하였다. 수정란 이식은 발정 후 6~8일 사이에 실시하였으며, 수정란 이식 후, 1,500 IU hCG를 주사하여 수태율에 미치는 영향을 조사하였다.

### 3. 수정란 동결 보존 및 융해

수정란의 동결 보존을 위해서 채란된 수정란은 10%의 FBS 가 첨가된 D-PBS로 3~4회 세척한 다음, 1.8 M의 ethylene glycol에서 10분 동안 정착하였다. 수정란이 장착된 스트로는 -7°C의 동결기에 장착하여 10분 동안 식빙을 실시한 다음, 0.5°C/분의 속도로 -32°C까지 수정란을 동결하였다. 동결된 수정란은 수정란을 이식할 때까지 액체 질소통에 보관하였다. 동결 수정란은 공기 중에 5초 동안 융해한 후 온수에서 융해하였다. 융해 후, 수정란은 SOF 배양액에서 24시간 동안 배양하여 생존이 확인된 수정란만을 수정란 이식에 이용하였다.

### 4. 임신 감정 및 송아지 생시 체중 측정

수란우의 임신감정은 정상적인 발정 주기에 발정이 재귀되지 않은 수란우 중에서 50~60일 경과했을 때 직장 검사법으로 임신 유무를 판정하였다. 분만된 송아지는 즉시 저울로 생시 체중을 측정하였다.

### 5. 통계 분석

과배란 처리 후 계절별 수정란 회수율 비교는 Chi-square test를 이용하였고, 이외의 자료에 대한 분석은 ANOVA를 이용해 각 요인의 유의성( $p<0.05$ ) 검정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 과배란 후 계절별 수정란의 회수율

과배란 처리시 계절적 영향이 수정란의 회수율에 미치는 영향을 조사한 것이 Table 1과 같다. 총 64두의 공란우로부터 계절별로 봄, 여름, 가을, 겨울에 회수된 난자의 두 당 평균 수는 각각 8.41±5.92, 7.04±4.80, 9.25±5.32 및 9.23±6.07였으며, 이식 가능한 수정란은 4.18±4.34, 4.36±3.93, 5.50±3.79 및 4.38±3.40개였다. 본 연구 결과에서는 계절적으로는 유의적인( $p<0.05$ ) 차이는 없었다. Monty와 Racowsky(1987)는 총 난자수와 수정란 수가 여름에 영향을 받지 않았으며, Basile(1998)도 기후의 변화에도 영향을 받지 않았다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 Alfujairi 등(1993)은 겨울보다 여름에 황체 수와 이식 가능한 수정란이 적었으며, 손 등(2000)은 겨울에 6.1개의 이식 가능한 수정란을 채란하여 겨울에 이식 가능 수정란의 수가 많았다고 하였다.

### 2. 신선란과 동결란의 수태율

한우 체내 수정란을 과배란 처리된 공란우로부터 채란하여

Table 1. Effect of season of superovulation on recovery rate of Hanwoo embryos in superstimulated Hanwoo cows

Seasons of superovulation	No. of donors	No. of recovered				No. total ova
		Embryo	Embryos degenerated	Oocytes unfertilized	Transferable embryos	
Spring	22	4.62±4.40	2.64±2.70	1.45±4.40	4.18±4.34	8.41±5.92
Summer	25	4.48±3.97	1.12±1.36	1.44±3.03	4.36±3.93	7.04±4.80
Autumn	4	5.50±3.80	3.00±2.00	0.25±0.50	5.50±3.79	9.25±5.32
Winter	13	5.00±4.36	2.92±3.33	0.92±1.98	4.38±3.40	9.23±6.07
Total	64	4.70±4.10	2.10±2.50	1.30±3.30	4.40±3.90	8.10±5.40

발정 후 6~8일째에 신선란 또는 동결 수정란을 각각 발정 동기화된 수란우에 이식한 결과는 Table 2와 같다. 신선란과 동결란을 각각 이식하여 43.3과 17.2%로 동결란과 신선란의 수태율 차이가 10~15% 차이가 난다고 한 이전의 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다(Spell 등, 2001; Sreenan과 Diskin, 1987; Leibo, 1986). Martinez 등(2002)은 1.5 M의 ethylene glycol로 동결 용해한 소 수정란과 신선란을 이식한 수태율은 차이가 없다고 하였으나, Niemann(1991)은 동결 수정란의 수태율이 신선란에 비해 10% 정도 낮았다고 한다. 본 연구에서 동결 수정란 이식 후 수태율이 낮아, 동결 방법 또는 수정란 이식 과정 중의 문제 등을 검토하여 수태율 향상을 고려해야 할 것으로 사료된다.

### 3. hCG 투여가 수태율에 미치는 영향

발정 후 7일째의 수란우에 1,500 IU hCG를 처리하여 수정란 이식을 한 결과는 Table 3과 같다. 신선란과 동결란 이식 시 hCG를 처리한 수란우와 대조구의 수태율은 각각 35.3과 45.7% 및 25.0과 16.0%로서 유의적인( $P>0.05$ ) 차이가 없었다. 또한, 동결란 이식의 경우 hCG처리구가 대조구보다 더 낮은 결과를 보였으며, 대조구의 두수가 적어 처리구간의 직접적인 비교가 불가능하다고 판단되었다.

Nishigai 등(2001)은 배란 후 5일째 1,500 IU의 hCG를 주사하여 부황체를 유기했을 때, 혈중 progesterone의 농도는 증가

Table 2. Comparison of pregnancy rates of recipients following transfer of fresh or frozen Hanwoo embryos produced *in vivo*

Treatments	No. of recipients	No. of recipients pregnant	Pregnancy rate (%)
Fresh	76	33	43.4 <sup>a</sup>
Frozen	29	5	17.2 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> The means are significantly different ( $p<0.05$ ).

하지만  $E_2$ 의 농도는 감소하였다고 한다. Kerbler 등(1997)은 hCG는 progesterone의 농도를 증가시키고 황체를 활성화시켜 황체로부터 progesterone의 분비를 촉진시킨다고 한다. 인공수정 후에도 1,500 IU의 hCG를 처리하면 수태율이 개선되는 효과가 있다고 한다(Kerbler 등, 1997; Kaneda 등, 1981). Chagas 와 Lopes(2005)은 hCG 처리는 progesterone의 농도를 증가시키고 부황체 유도하였으나, 태아 생존에 영향을 미치지 않았다고 하여 본 연구의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

### 4. 수정란과 수란우의 동기화

한우 체내 수정란을 발정 동기화 된 수란우에 이식하여 수태율을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 수정란과 수란우의 동기화 차가 -1일과 0일째의 수태율은 각각 45.0과 30.3로 높게 나타났으며, -2일, 1일 차이의 경우에 수태율이 각각 20.0과 26.3%로 낮은 경향을 보였다. Hasler 등(1995)은 수정 후 7일째의 수정란과 수란우의 발정 동기화가 ±24시간일 때는 수태율에 차이가 없었으며, +36시간 때에는 수태율이 낮은 경향을 보였다고 한다. 수란우와 공란우와의 발정 동기화가 일치할수록 수태율이 높으며(Newcomb, 1979; Sreenan과 McDough, 1979), 수정란과 수란우의 동기화가 -1일 때 가장 높은 수태율을 나타나기도 했다(Putney 등, 1989).

Table 3. Effect of administration of hCG to recipient on pregnancy following transfer of *in vivo* produced Hanwoo embryos

Embryo	Treatment	No. of recipients	No. of recipients pregnant	Pregnancy rate (%)
Fresh	Control	16	6	35.3
	hCG	60	27	45.7
Frozen	Control	4	1	25.0
	hCG	25	4	16.0
Total		105	38	36.2

Table 4. Effect of synchrony of recipient and embryo on pregnancy following transfer of *in vivo* produced Hanwoo embryos

Synchrony (Day)	No. of recipients	No. of recipients pregnant	Pregnancy rate (%)
-2	5	1	20.0
-1	29	13	45.0
0	33	14	30.3
1	38	10	26.3

##### 5. 발정 동기화 방법이 수태율에 미치는 영향

자연 발정우, PGF<sub>2α</sub>, CIDR/PGF<sub>2α</sub> 및 E+P+CIDR/PGF<sub>2α</sub>/E 방법으로 동기화한 수란우에 수정란은 이식한 결과는 Table 5와 같다. 자연 발정우, PGF<sub>2α</sub>, CIDR/PG, E/P/CIDR/PGF<sub>2α</sub>/E로 처리한 수란우의 수태율은 각각 35.3, 48.0, 29.0, 40.0%로 유의 적인( $p>0.05$ ) 차이는 없었다.

김 등(1998)은 자연 발정 동기화, PGF<sub>2α</sub>에 의해 동기화된 수란우에 체내 수정란을 이식한 결과, PGF<sub>2α</sub>에 의해 인위적 동기화를 한 수란우에서 수태율이 높았다고 한다. 양 등(1997)은 동결 수정란을 자연 발정우와 PGF<sub>2α</sub>, PRID에 의해 발정 동기화된 수란우에 이식한 결과, 자연 발정우에서 수태율이 높았다고 한다. 손 등(2006) CIDR + PGF<sub>2α</sub> 투여 방법이 수태율을 높였다고 보고하였다. 그러나 Wright(1981)와 Coleman 등(1987)은 자연 발정 동기화와 인위적 발정 동기화 간에 수태율에는 차이가 없다고 하였다.

##### 6. 임신 기간과 체중

수정란 이식 후 태어난 송아지의 생시 체중과 임신 기간을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 임신 기간은 암송아지와 수송 아지가 각각 288과 290.5일이며, 생시 체중은 28.3과 30.1 kg으로 유의 적인( $p>0.05$ ) 차이는 없었다.

송아지의 체중은 체외 수정란을 이식하였을 때가 체내 수정란에서 이식하였을 때보다 무거웠다(Farin과 Farin, 1995). 일본 흑모 화우에서 체외 수정란과 체내 수정란 이식에 의해 태

Table 5. Effect of estrus synchronization of recipient on pregnancy following transfer of *in vivo* produced Hanwoo embryos

Synchronization	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant (%)
Natural	17	6 (35.3)
PGF <sub>2α</sub>	23	11 (48.0)
CIDR/PGF <sub>2α</sub>	45	13 (29.0)
E+P+CIDR/PGF <sub>2α</sub> /E	20	8 (40.0)

Table 6. Birth weight and gestation length of calves derived from *in vivo* produced embryos

	Female	Male
No. of calves	3	9
Birth weight (kg)	28.3±4.0	30.1±5.1
Gestation length (day)	288.3±3.1	290.5±4.6

어난 송아지의 체중과 임신 기간이 무겁거나 길었다고 한다 (Numabe 등, 2001). Wrenzycki 등(1996)은 체외 수정란은 산자의 과도한 체중(large offspring syndrome)이 문제라고 하였다. 본 연구에서 평균 인공 수정으로 태어난 송아지 25 kg, 임신 기간 283~285일과 비교했을 때 무겁거나 긴 경향을 보였다. 태어난 산자수가 적어 이 결과 만으로는 판단하기 어려우며, 앞으로 이와 같은 경향이 보인다면 그 원인이 규명되어야 할 것이다.

## 적 요

발정 주기와 상관없이 CIDR를 삽입하는 날에 2.5 mg estradiol benzoate, 50 mg progesterone을 주사하였다. CIDR 삽입 후 4일 동안 FSH를 감량법으로 12시간 간격으로 주사하였으며, FSH 주사 5, 6회째에 PGF<sub>2α</sub>를 투여했다. 1회째 PGF<sub>2α</sub> 주사 24시간 후 CIDR를 제거하고 GnRH를 주사하였다. 공란우들을 1번째 PGF<sub>2α</sub> 주사 후 60시간과 72시간에 수정을 시켰다. 인공수정 7일 후 회수된 수정란을 수정란 이식 때 progesterone 농도를 증가시켜 수태율을 향상시키기 위해 수란우에 hCG 1,500 IU를 주사하였다. 수란우의 발정 동기화는 ① 자연 발정우(natural), ② 직장 검사로 황체가 존재하는 수란우에 25 mg PGF<sub>2α</sub> 처리구(PGF<sub>2α</sub>), ③ CIDR를 질내에 7일간 삽입하고 제거하는 당일 PGF<sub>2α</sub> 25 mg을 투여하는 방법(CIDR + PG법) 및 ④ CIDR를 삽입하고 2.5 mg estradiol benzoate, 50 mg progesterone 주사 후 7일 후 제거하는 당일 PGF<sub>2α</sub> 25 mg 투여 후 뒷날 estradiol benzoate 투여(E/P/CIDR/PGF<sub>2α</sub>/E) 방법으로 발정을 유도하였다.

계절에 따른 과배란 반응은 회수된 수정란들은 계절 간에 유의적 차이가 보여주지 못하였다(봄; 4.18, 여름; 4.36, 가을; 5.50, 겨울 4.38). 신선란(43.4%) 이식 후 수태율은 동결란(17.2%)보다 높게 나타났다. 신선란을 이식하여 hCG 처리한 한우 수란우의 수태율(45.7%)은 대조구(35.3%)보다 약간 높게 나왔다. 그러나 동결란을 수란우에 이식하였을 때, 대조구의 수태율(25.0%)이 hCG 처리구(16.0%)보다 높게 나타났다. 수정란 이식 후 -2, -1, 0 및 1일째의 수란우와 수정란의 동기화 일에 따른 수태율은 20.0, 54.0, 30.3% 그리고 26.3%였다. 자연 발정 수란우, PGF<sub>2α</sub>, CIDR/PGF<sub>2α</sub>, E/P/CIDR/PGF<sub>2α</sub>/E로 발정된 수란우들의 수태율은 각각 35.3, 48.0, 29.0 및 40.0%로 나타났다. 하지

만 이들 동기화 방법에 따른 유의차는 없었다. 수정란 이식 후 태어난 수송아지와 암·숫송아지의 임신 기간은 각각 288일과 290.5일이었으며, 생시 체중은 각각 28.3과 30.0 kg이었다.

결론적으로 계절에 따른 과배란 반응의 변동은 없었고, hCG 처리, 수란우와 수정란의 동기화, 동기화 방법에 따른 수태율의 향상을 보여주지 못하였다. 향후에는 수정란 이식의 산업화를 위해서는 수정란의 동결과 수태율 향상에 관심을 가져야 할 것이다.

### 참고문헌

- Alfujairi MM, Albrahim RM and Elnouty ED. 1993. Seasonal variations in superovulatory responses of Holstein cows treated with pregnant mare serum gonadotropin in Saudi Arabia. *J. Reprod. Fertil.* 11:75 (Abstract).
- Basile JR, Chebel RJ and Basile LF. 1998. Effect of season on embryo transfer in superovulated Holstein cows with PMSG. *Br. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 35:257-259.
- Behboodi E, Anderson GB, Bondurant RH, Cargill SZI, Krescher BR, Medrand JF and Muray JD. 1995. Birth of calves that developed from *in vitro*-derived bovine embryos. *Theriogenology* 44:227-232.
- Chagas SJ and Lopes LC. 2005. Luteophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. *Theriogenology* 64:49-60.
- Coleman DA, Dailey RA, Leffel RE and Baker RD. 1987. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *J. Dairy Sci.* 70:858- 866.
- Criste JK, Rowe RF, Delcampo MR and Ginther OJ. 1980. Embryo transfer in cattle: Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos and length of post-treatment estrus cycles. *Theriogenology* 13:397-406.
- Darrow MD, Lindner GM and Goemann GG. 1982. Superovulation and fertility in lactating and dry dairy cows. *Theriogenology* 17:84(Abstract).
- Ellington JE, Foote RH, Farrell PB, Hasler JF, Webb J and Henderson WB. 1991. Pregnancy rates after the use of transfer recipients. *Theriogenology* 36:1035-1042.
- Farin PW and Farin CE. 1995. Transfer of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*: Survival and fetal development. *Biol. Reprod.* 52:676-682.
- Ferandez T and Larcocca C. 1999. Pregnancy rates in embryo transfer recipients following GnRH administration on day 13 of the estrous cycle. *Theriogenology* 51:404 (Abstract).
- Gordon I, Boland MP, McGovern H and Lynn G. 1987. Effect of season on superovulatory responses and embryo quality in Holstein cattle in Saudi Arabia. *Theriogenology* 27:231 (Abstract).
- Greve T, Lehn-Jensen H and Rasbech ND. 1979. Morphological evaluation of bovine embryos recovered non-surgically from superovulated dairy cows on day 6½ to 7½: A field study. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 19:1599-1611.
- Halser JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology* 43: 141-152.
- Halser 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* 37:139-168.
- Hasler JF, McCauley AD, Schermerhorn EC and Foote RH. 1983. Superovulatory response of Holstein cows. *Theriogenology* 19:83-99.
- Hasler JF. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 56:1401-1415.
- Kaneda Y, Domeki I, Kamomae H, Otake M, Watanabe F and Nishikata K. 1981. Effects of additional injection of hCG on the formation of the corpus luteum and the fertility of estrous synchronized dairy heifers by stimulus injection with prostaglandin F<sub>2α</sub> and estradiol benzoate. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 27:89-91.
- Kerbler TL, Buhr MM, Jordan LT, Lesile KE and Walton JS. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by conceptus in cattle. *Theriogenology* 47:703-714.
- Kruip TAM and den Dass JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy and offspring. *Theriogenology* 47:43-52.
- Leibo SP. 1986. Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 25:166 (Abstract).
- Looney 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 (Abstract).
- Lukaszewska J and Hansel W. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 59:

- 485-493.
- Martinez AG, Brogliatti GM, Valcarcel A and de las Heras MA, 2002. Pregnancy rates after transfer of frozen bovine embryos: a field trial. *Theriogenology* 58:963-972.
- Massey JM and Oden AJ. 1984. No seasonal effect on embryo donor performance in the southwest region of the USA. *Theriogenology* 21:196-217.
- Monty DE Jr and Racowsky C. 1987. *In vitro* evaluation of early embryo viability and development in summer heat stressed, superovulated dairy cows. *Theriogenology* 28:451-465.
- Nelson LD, Elsden RP and Seidel GE Jr. 1982. Effect of synchrony between estrous cycles of donors and recipients on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 17:10 1(Abstract).
- Newcomb R. 1979. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. *Vet. Rec.* 105:432-434.
- Niemann H. 1991. Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. *Theriogenology* 35:109-124.
- Nishigai M, Kamomae H, Tanaka T and Kaneda Y. 2001. The effect of administration of human chronic gonadotropin in enhancing bovine corpus lutea luteinizing and luteal function. *J. Reprod. Dev.* 47:283-294.
- Nishigai M, Kamomae H, Tanaka T, Kaneda Y. 1998. Pregnancy rate and blood progesterone concentrations on the previous day and the day of frozen embryo transfer in parous recipient cows of Japanese Black. *J. Reprod. Dev.* 44:413-419.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2001. Birth weight and gestation of Japanse black calves following transfer of embryos produced *in vitro* with or without co-culture. *J. Vet. Med. Sci.* 63:515-519.
- Putney DJ, Drost M and Thatcher WW. 1989. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. *Theriogenology* 31:765-778.
- Remsen LG and Roussel JD. 1982. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology* 18:365-372.
- Santos-Valadez S, Seidel GE Jr and Elsden RP. 1982. Effect of hCG on pregnancy rates in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 17:85 (abstract).
- Spell AR, Beal WE, Corah LR and Lamb GC. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 58: 287-297.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27:99-113.
- Sreenan JM and McDough T. 1979. Comparision of the embryos durvival rate in heifers following artificial insemination, non-surgical blastocyst transfer of both. *J. Reprod. Fertil.* 56:281-284.
- Sreenan JM. 1975. Successful non-surgical transfer of fertilized cow eggs. *Vet. Rec.* 96:490-491.
- Stublings 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.
- Tervit HR, Coper MW, Good PG and Haszad GM. 1980. Non-surgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology* 13:63-71.
- Tribulo R, Nifro M, Burry E, Cassia M, Tribulo H and Bo GA. 1997. Pregnancy rates in recipients receiving CIDR-B devices immediately following embryo transfer. *Theriogenology* 47:372 (Abstract).
- Wrenzycki C, Hermann D, Carnwath JW and Niemann H. 1996. Expression of the gap junction gene connexine 43 (Cx 43) in preimplantation bovine embryos derived *in vitro* or *in vivo*. *J. Reprod. Fertil.* 108:17-24.
- Wright JM. 1981. Non-surgical transfer in cattle: embryo-recipient interaction. *Theriogenology* 15:43-46.
- Young LE, Kervin D, Sinclair KD and Wilmut I. 1998. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev. Reprod.* 3:155-163.
- 김일화, 손동수, 이호준, 이동원, 서국현, 류일선, 양병철, 이광원, 고문석. 1997. 젖소 수정란의 생산에 영향을 미치는 요인에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 12:103-110.
- 김홍률, 김덕임, 원유석, 김창근, 정영채, 이규승, 서길웅, 박창식. 1998. 한우에서 수정란 이식 효율 증진에 관한 연구 I. 수정란의 조건이 이식 후 수태율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 13:53-60.
- 손동수, 김일화, 류일선, 연성희, 서국현, 이동원, 최선호, 박수봉, 이충섭. 2000. 젖소 MOET scheme의 추진을 위한 수정란 생산 및 이식. *한국수정란이식학회지* 15:57-65.
- 손동수, 한만희, 최창용, 최선호, 조상래, 김현종, 류일선, 최성복, 이승수, 김영근, 김삼기, 김상희, 신권희, 김일화. 2006. 우수 한우의 수정란 생산 및 이식. *한국수정란이식학회지* 21:147-156.
- 양보석, 오성종, 박원종. 1997. 한우 체외 동결 수정란의 융해 후 생존성과 직접 이식후 수태율에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 12:67-74.