

우리나라 受精卵 移植의 現況과 展望

金 重 桂*

Recent Studies and Future Possibilities of Embryo Transfer in Korea

Jung-Kye, Kim

Summary

The technique of bovine embryo transfer in Korea began very late compare to other countries and related researches have also been carried out in several limited places only as a foundmental works.

Especially, the studies on embryo freezing which play an important part on the spreading of bovine embryo transfer, evaluation of embryo and its dead-alive determination have almost not been done up to the present time. Therefore, for the improvement of the spread of embryo transfer experiment station, national breeding station as well as related industries and universities should perform more works with dividing specialization from now on.

Conclusively, by concentrating on such ultramodern technology as micromanipulation of mammalian early embryos and its transferring, contribution on the systematic spreading of embryo transfer in Korea and improvement of domestic animals performances together with the development of high characteristic livestock should be accomplished.

序 論

옛부터 家畜은 人類社會의 利用目的 아래 改良되어 왔으며 近來에 와서는 科學의 進歩에 隨伴되어 그 結果 遺傳의 形質이 優秀한 種牡畜을 最大로 利用하는 目的으로서 1970 年代 初期부터 全國적으로 利用된 凍結精液의 人工授精 事業으로 濟州道에서는 Brahman 凍結精液의 普及 例를 들 수 있다.

受精卵移植이라는 것은 人工授精의 反對 概念으로서 遺傳의 形質이 優秀한 種牡畜을 hormone 으로 多排卵을 誘起시켜 受精된 卵子를 採卵하여 保存하였다가 다른 많은 種牡畜에 移植하여 分娩하게 하는 것이다. 受精卵移植의 實用화가 이루어진다면 優秀한 種牡畜으로부터 많은 仔畜을 生産할 수 있고, 雙胎牛 誘起, 不妊家畜 및 繁殖 障害牛의 利用, 能力이 낮은 牝畜에서 高能力 乳牛의 仔畜을 分娩시킬 수

* 濟州大學校 農科大學 畜產學科

있으며, 外國으로부터 生畜牛를 도입하는 대신 優秀한 受精卵를 輸入하거나 저렴한 價格으로 輸送이 可能하게 되어 많은 努力과 外貨를 節減할 수 있다. 또한 優秀한 遺傳形質을 받은 同一個體의 子孫을 일시에 多數 確保할 수 있어 짧은 期間에 優良家畜 頭數를 增殖할 수 있다.

哺乳動物의 受精卵移植에 最初로 成功한 사람은 Heap(1890)로 家兔를 利用한 仔兔의 分娩을 위시하여, 1950 年度에 들어오면서 本格的으로 關心을 갖게 되어, 緬羊 (Lopyrin 등, 1950), 山羊 (Warwick 등, 1949), 돼지 (Kyansmickii, 1951), 소 (Willett 등, 1951) 등의 家畜에서 受精卵移植에 의한 仔畜 分娩이 始作되었다.

우리나라에서는 畜産試驗場에서 家兔와 山羊의 受精卵移植試驗이 1970 年부터 始作되었으나 (金 등, 1974; 徐 등, 1975), 當時 사정에 의해서 大家畜에 實施되지 못하였다가, 1980 年度에 들어서면서 本格的인 研究가 進行되어 많은 基礎研究 結果과 報告되었다 (金 등, 1982; 丘와 鄭, 1982; 金 등, 1983; 任 등, 1983; 石 등, 1983; 鄭 등, 1983).

現在에 이르러서는 畜産試驗場, 國立種畜院을 비롯하여 學界에서 많은 研究가 遂行되어 아직 試驗段階에 있으며, 濟州道에서도 濟州試驗場과 濟州大學

校에서 1987 年度부터 試驗事業이 開始되었다.

牛 受精卵移植 普及率을 向上시키기 위해서는 무엇보다 採卵率 向上, 凍結卵 技術 確立, 融解後 受精卵의 生死判定, 受胎率 向上 등이 先決問題로 되어 있으며, 現在 多方面으로 研究가 進行되고 있다. 그러므로 本 課題는 濟州道 畜産에 從事하는 農民에게 大家畜의 受精卵移植을 再認識시키고 우리나라의 現況과 問題點, 그리고 展望에 對해서 發表하고자 한다.

受精卵移植의 研究 現況

1. 受精卵移植 技術의 過程

大家畜의 受精卵移植을 遂行하기 위해서는 Fig.1과 같이 能力이 優秀한 Donor의 選拔이 무엇보다 重要하며 多數의 卵子를 生産하기 爲한 多排卵 誘起(PMSG 또는 FSH)를 實施한다. 發情이 發現되면 優秀한 種牡牛의 冷凍精液으로 授精을 實施한 후 受精卵이 子宮에 下降했을 6~7 日頃에 embryos를 人爲으로 體外로 回收하여 實體 顯微鏡下에서 受精卵의 使用可能性 如否를 檢査한 다음 貯藏 또는 凍結시켰다가 移植하게 된다.

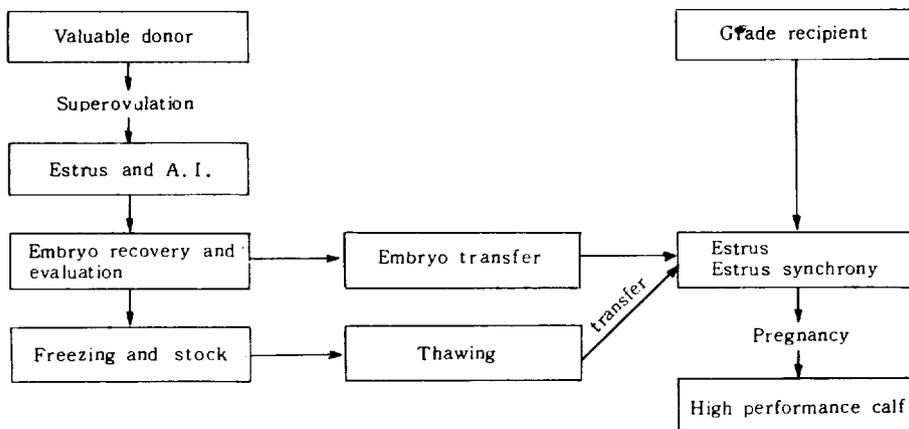


Fig.1. Schematic diagram of embryo transfer.

移植을 實施할 때는 二段階 (fresh embryos 와 frozen embryos)로 區分할 수 있는데, 後者(frozen embryos)의 境遇는 미리 發情을 誘導시키거나 自然發情 發現後 6~7日頃 Recipient 에 移植을 하여 着床이 된후 分娩에 이르게 되는 것이다.

2. 供卵牛 選定

優秀한 Donor의 選拔은 受精卵移植 技術을 家畜改良에 利用하는데 가장 큰 比重을 차지하고 있는데도 불구하고 等閑視되고 있다.

첫째로 優秀한 形質을 갖춘 種牝牛이어야 하며, 둘째로 個體에 따라 年齡, 產次, 品種, 體重, 健康, 飼養管理 등을 考慮하여야 한다.

Table 1은 產次에 따른 Donor의 排卵率과 卵子回收率을 調査한 것으로서 卵子回收率에 있어서 初產牛가 제일 좋았으며 (81%), heifer에서는 63.2%로서 初產보다 떨어졌으나 排卵率과 거의 類似하

게 產次가 進行됨으로써 排卵點과 排卵率은 漸次로 낮아지는 傾向을 보여주고 있다. 年齡이나 產次에 따른 多排卵 處理時 採卵率에 關해서는 研究者에 따라 다소 見解差가 있기 때문에 McGaugh等(1974)은 年齡과 無關하다는 反面, Greve 등(1979)에 依하면 有意差가 있었다고 하였다. 또한 Greve (1982)는 PMSG로 處理할 때 8歲 以下에서는 採卵率이 6.1~7.2個인데 比하여 8歲 以上은 3.7個로 현저히 減少함으로써 供卵牛 選定時 加급적 年齡 및 產次가 적은 것을 選擇하는 것이 좋을 것으로 思料된다. 品種中에는 大型種과 小型種으로 區分할 수 있는데 大型種보다는 小型種이 더 容易하다고 볼 수 있다. 金等(1985)은 350~450kg 體重이 가장 좋은 것으로서 Haupt (1981)과 Schilling 등(1982)보다는 낮은 體重이었다.

品種에 따른 過排卵時 黃體數와 卵子回收率의 効果는 Table 2에서 보여주는 바와 같이, 供試頭數가 적기는 하지만 KNC(韓牛)의 경우 PMSG 또는 FSH를 投與했을 때 排卵數, 採卵數가 各各 100%로

Table 1. Effect of parity on the ovulation and recovery rate in superovulated cows.

Parity	No. of cows treated	No. of CL	No. of ova recovered	Recovery rate (%)	No. of cows	No. of follicles	No. of CL	Ovulation rate (%)
Heifer	13	10.6 ± 1.17	6.7 ± 1.89	63.2	39	8.0	6.6	82.5
1	7	9.0 ± 2.85	7.3 ± 2.69	81.1	13	8.3	6.5	78.3
2	7	8.4 ± 2.12	5.0 ± 2.25	59.5	9	8.5	5.9	69.4
3	4	6.5 ± 1.66	4.0 ± 2.12	61.5	11	4.2	2.4	57.1
>4	4	7.3 ± 2.18	4.0 ± 1.78	54.7	15	3.7	2.6	70.1
Total or mean	35	9.0 ± 1.99	5.9 ± 2.15	65.6	87	6.6	4.8	72.3

(Kim et al. 1985)

Table 2. Effect of breeds on the ovulation and recovery rate in superovulated cows.

Breed	No. of cows	No. of CL	No. of ova recovered	Recovery rate (%)	No. of cows	No. of follicles	No. of CL	Ovulation rate (%)
KNC	3	6.2	2.3	38.3	14	6.4	5.0	78.1
Holsteine	17	9.6	6.0	62.5	30	7.3	5.2	71.1
Crossbred	15	8.9	6.4	71.9	43	6.0	4.1	68.3

(Kim and Chung. 1985)

4 畜産論叢

2.3 個로서 Holstein 이나 이들의 交雜種에서 各各 8.9 個와 6.0~6.4 個에 比하여 越等하게 낳았는데 이것은 品種間의 差異로서 Oliva 등(1984)과 Greve (1982)의 報告와 一致하였다. 그러므로 Donor 를 選定할 때는 規則的 發情週期를 가진 健康牛는 勿論 良好한 環境에서 飼育된 溫順한 소라야 하며, 個體에 따라서 子宮의 크기 擴張 및 整復狀態, 子宮角 및 頸管異常 등을 考慮하여야 한다.

3. 多排卵 誘起

多排卵 處理할 때 諸要因中에서 重要視되는 것은

hormone 種類, 保存方法, 投與量과 時期 및 方法, 反復投與 間隔, 그리고 優秀한 供卵牛, 季節, 卵巢 反應을 들 수 있다. 多排卵 誘起時에는 價格이 싸고 購入하기 쉬운 PMSG를 1回 投與로 쉽게 處理될 수 있으므로 여기서는 省略하고 半減期가 짧은 FSH 또는 FSH+LH 混用 投與方法을 說明하면 Fig. 2 에서 보여주는 바와 같이 發情週期의 7~14日頃 (특히 10~14日) 朝夕으로 나누어 同量法과 減量法으로 5日間 注入(30mg)하는데 減量投與는 5mg으로 부터 始作하여 每日 1mg씩 줄여서 5日째 끝낸다. FSH 投與後 48時間 또는 72時間 (Fahning, 1986)

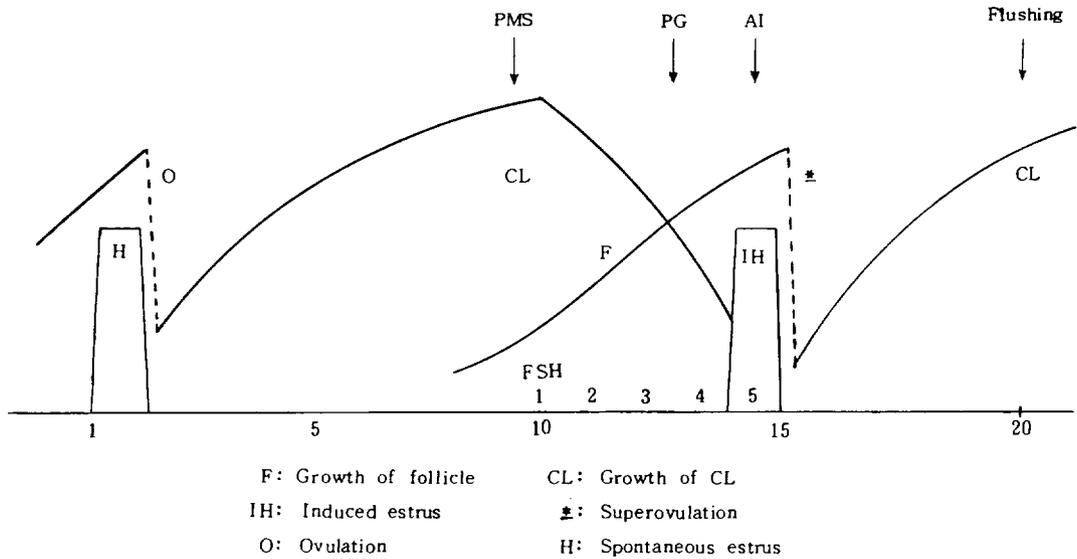


Fig.2. Induction of superovulation with PMS and FSH

Table 3. Recovery rate of ova following the hormone treatment with different dosage.

Treatment	No. of cows treated	No. of CL	No. of ova recovered	Recovered rate (%)	Reference
PMSG (2,000 IU)	5	5.8	4.0	69.0	Nam et al. 1985.
PMSG (2,500 IU)	12	14.1	4.6	32.5	Nam et al. 1985.
	19	9.3	5.3	56.9	Kim et al. 1985.
PMSG (3,000 IU)	11	11.5	4.5	39.7	Nam et al. 1985.

에 PGF 2 α (25~30 mg) 를 投與한 後 發情이 發現 되면 人工授精 (2日) 을 實施하고 6~7日頃 採卵을 實施한다.

Table 3은 PMSG와 PGF 2 α 의 投與水準을 比較한 것으로서 南등 (1985)은 2,000 IU~3,000 IU를 處理한 結果 黃體數는 2,500 IU 區에서 14.1個로 가장 많았으나, 回收卵子는 處理別 差가 없이 4.0~4.6 個였으며 採卵率은 2,000 IU 處理區가 69%로 第一 높았는데, 金등 (1985)도 2,500 IU 處理에서 9.3個 黃體數와 5.3個의 回收卵子 (回收率 57%)로 3,000 IU 區보다 큰 差異는 없었으나 좋은 成績을 보여주고 있다. 이러한 結果는 具와 鄭 (1982), 任등 (1983) 및 鄭등 (1983)의 成績보다 若干 높았으며 外國의 Manniaux 등 (1983), Hasler (1983)의 6.0~8.9個보다 低調하였다. 卵子回收率은 任등 (1983), 鄭등 (1983)과 거의 類似하였으나 Shea 등 (1976),

Hasler (1983)에 미치지 못하고 있다.

多排卵 誘起를 위해서 PMSG와 FSH를 比較하여 보면 Table 4에서 보여주듯이 PMSG 投與區에서 形成된 黃體數는 3.8~7.8 個였는데 (具와 鄭, 1982; 鄭등, 1983; 任등, 1983; 金등, 1985), FSH를 처리하였을 때는 黃體數가 7.3~8.8 個로서 (鄭등, 1983; 石등, 1983; 金등, 1985) PMSG 處理區보다 높은 數值를 보이고 있다 (Elsden 등, 1978; Moniaux 등, 1983).

그 反面 Nelson 등 (1976), Elsden (1976) 등 兩者間 差異가 없다고 하였고, Sreenan (1983), 靑柳等 (1987)에 依하면, PMSG 投與區는 卵子回收와 正常卵子數가 FSH 處理보다 좋았으나 有胎差는 없었다고 報告하였다. 그러므로 우리나라에서 購入하기 용이하고 값이 廉價이기 때문에 PMSG 사용을 가장 많이 하고 있으나 半減期가 길기 때문(Men-

Table 4. Formation of corpus luteum following PMSG and FSH administration.

Gonadotropin	Dosage (given/cow)	No. of cows treated	No. of CL		Reference
			Total	Number cow	
PMSG	2750 IU	6	23	3.8	Gu and Chung, 1982.
	3030 IU	42	289	6.7	Chung et al. 1983.
	2000 IU	13	101	7.8	Im et al. 1983.
	2500 IU	22	121	5.5	Kim et al. 1985.
FSH LH	20 mg	12	87	7.3	Chung et al. 1983.
FSH	38 mg	3	23	7.7	Seok et al. 1983.
FSH	40 mg	8	70	8.8	Kim et al. 1985.

Table 5. Effect of season on the ovarian response following superovulation.

Season	Kim et al., 1985				Chung et al., 1983		
	No. of cows	No. of follicles	No. of CL	Ovulation Rate (%)	No. of cows	Total no. of CL	No. of CL/cow
Spring	33	6.0	3.7	61.7	12	78	6.5
Summer	29	7.7	5.1	66.2	12	91	7.6
Autumn	13	6.5	5.8	89.2	9	61	6.8
Winter	12	6.0	4.5	75.0	10	59	5.9

zur 와 Schmas, 1979 ; 中原 등, 1984)에 反復使用에 不適合하며 FSH가 더 良好하다고 報告 (Crister 와 Rowe, 1980 ; 鈴木 등, 1983) 함으로써 앞으로 FSH 뿐만 아니라 FSH와 LH 混用, 그리고 用量, 注入量 및 方法과 PGF 2α 의 投與時日 및 分割 注入法, 反復投與 效果 등에 關한 試驗이 進行되어져 確固한 方法이 設定되어져야 하겠다.

季節에 따른 卵巢反應을 보면 (Table 5) 春季節에는 黃體數도 적었으며 (3.7 個), 排卵率도 61.7%로 가장 떨어졌고, 秋季節에서 黃體數 (5.1 個)와 排卵率 (89.2%)이 제일 높았으며, 다음 順位가 冬節期였다. 國內에서도 任 등 (1983)은 秋季節이 가장 좋다고 하였으나, 鄭 등 (1983)은 夏節期和 秋節期 順位로서 春 및 冬節이 卵巢反應이 나쁜 것으로 共通이었다. 그런데 Mariana 등 (1970)은 季節에 따라 差異가 없었다고 하였으며, Sergeev 와 Shiknov (1984)도 가을이 좋았다고 하여 本 成績과 一致하였으나, Denny (1967)는 여름보다 겨울이 더 좋았다고 함으로써 季節別 採卵場所에 따라 다르겠으나 큰 隔差는 없는 것으로 생각되어 무엇보다 環境造成이 必要하다고 思料된다.

4. 卵자의 回收

Embryos의 回收方法에는 外科的, 非外科的 方法 그리고 2元 (2 way) 및 3元 (3 way) 以外 諸方法 등이 있으나 最近 우리나라에서 많이 使用하고 있는 非外科的 方法 (2 way)이 普遍化되고 있는 實情이다.

Table 6은 導管의 氣室을 子宮角 基部에 固定하는 方法과 子宮角을 同時에 洗滌하는 技法 (子宮體 固定: Nash, 1981)을, 그리고 Table 7은 採卵時 直接關係가 있는 重力法 (gravity method)과 壓力法 (pressure method)을 各各 比較하였다. 洗滌器의 balloon 固定部位를 過去에는 子宮角 基部에서 實施하였으나 近來에 와서 쉽고 간편한 方法을 하기 위하여 子宮體에 實施하는 경우가 많은데 Table 6에서 보여주는 바와 같이 子宮角 固定時에는 卵回收率이 約 58~61%였으나 子宮體는 67~80% (金 등, 1985 ab)로서 보다 높은 回收率을 報告하고 있다 (任 등, 1983).

Table 7에 의하면 洗滌方法에 따른 洗滌液 回收率과 卵子回收率을 提示한 것으로서 重力法의 경우 19頭에 대하여 洗滌液 및 卵子回收率은 各各 94%,

Table 6. Effect of flushing site on the embryo recovery in superovulated cows.

Flushing site	No. of cows	No. of CL	No. of ova recovered	Recovered rate (%)	Reference
Uterin horn	22	8.7	5.3	60.9	Kim et al., 1985.
	28	10.3	6.9	67.0	Kim et al., 1985.
Uterin body	7	10.0	3.4	34.3	Im et al., 1983.

Table 7. Non-surgical recovery of ova from the donor cattle with different flushing method.

Flushing method	No. of cow flushed	Flushing recovery rate (%)	Total no. of CL	Total no. of recovered ova	Recovered rate (%)
Gravity method	19	94.0	141	80	56.7
Pressure method	18	96.0	148	88	59.5

(Chung et al., 1983)

56.7%에 比하여 壓力法 回收에서는 頭當(18頭) 平均 回收率이 各各 96.6, 59.5%로서 重力法보다 多少 良好하였으나 큰 차이는 없었다. 이러한 成績은 洗滌液 回收率에서 Rowe 등(1976), Greve 등(1977)과 비슷한 結果를 보였으며 卵子回收率에서는 Betteridge 등(1980)보다 多少 良好하였으나 Rowe 등(1976), 鈴木과 下平(1986), 鈴木등(1984)보다 低調한 成績이었다. 卵子回收의 成功率은 가장 重要한 것으로서 前述한 바 있듯이 採卵方法에 따라 크게 影響이 미치는 것으로서 特히 熟練된 技術向上으로 增進시킬 수 있다.

卵子回收의 成功率은 Table 8에서 보여주듯이 鄭 등(1983)은 37頭 洗滌시켜 成功率이 70.3%였고, 任 등(1983)은 頭數는 적으나 韓牛에서 78%로 약간 높았다.

이와같은 國內 成功率은 Brand 등(1976)의 52.1%보다는 높았으나 杉江等(1972)의 75%와 거의 類似하였으며 Testart와 Godard(1975)보다는 낮은 成績이었다.

非外科的에 의한 受精卵 回收率과 成功率 向上은 記述한 바와 같이 諸條件이 있으나 무엇보다 더 重要視되는 것은 技術上의 熟練程度를 높이는 것이다.

特히 鈴木等(1984)은 自動灌流具를 設置하여 回收率 增進, 一定 溫度維持, 그리고 無菌的, 衛生的이며 補助者가 必要없음을 報告하였고, 1986年度에는 balloon 先端部에 구멍을 12개 追加하여 卵子回收率을 91.4%로 向上시켰음을 發表함으로써 앞으로 우리도 이와같은 改善方法을 考慮하여 採卵 成功率을 向上시키는 데 좀더 努力하였으면 한다.

先進國에서는 受精卵의 凍結保存에 關한 試驗이 10餘年 前부터 遂行되어 現在에는 長距離 輸送 및 受精卵銀行의 利用이 可能하여져서 商業的 實用化로 國內에 導入되어 그 結果를 發表한 바 있다(金 등, 1985; 石 등; 1980). 그러나 牛受精卵의 凍結試驗 成績은 金 등(1985)의 報告外는 發表된 것이 없기 때문에 本 論文에서는 濟州大學에서 二年間 家兔와 mouse의 試驗에서 얻은 成績中 그 一部를 간단히 紹介하고자 한다.

원래 凍結受精卵의 生存에 影響을 미치는 諸要因이 存在하고 있으나 그 中에서 家兔의 受精卵 凍結에서 重要視되고 있는 耐凍劑 效果, 凍結速度, 融解 溫度에 關한 成績을 들면 Table 9, 10, 11에 記載된 것과 같다.

Table 9는 耐凍劑中 DMSO와 glycerol의 比較

Table 8. Effect of parity on the rate of success in non-surgical ova recovery.

Parity	No. of cows flushed	No. of cows succeeded	No. of cows failed	Rate of succes (%)	Reference
Holstein	37	26	11	70.3	Chung et al, 1983.
KNC	9	7	2	78.0	Im et al., 1983.

Table 9. Effect of the cryoprotectant dilution frozen by LN2 container on the development of rabbit embryos after culture.

Cryoprotectant	No. of embryos frozen	No. of embryos damaged	No. of embryos morphological normal after dilution	No. of embryos developed after culture	Survival rate (%)
1.4 M DMSO	213	30	183	112	53
10% Glycerol	268	28	240	157	59

(Kim et al, unpublished)

液體窒素 container 內서 緩慢凍結하여 CO₂ incubator 에서 24 時間 培養後 生存率을 表示한 것으로서 DMSO 區의 生存率은 53 %에 比하여 glycerol 區가 59 %로 有意性은 없었으나 良好하였는데 이는 Schmidt 등 (1985), Bilton 과 Moore (1977) 등과 一致하였다.

液體窒素 container 에서 凍結速度에 따라 凍結시킨 家兔卵자의 生存率 比較는 Table 10 에서 보여주는 것과 같이 緩慢凍結에 있어서 耐凍劑가 glycerol 일때 凍結融解後 生存率은 65 %로서 DMSO 處理의 58 %보다 若干 높았으며 平均 62 %였다. 急速凍結에서 glycerol 과 DMSO 處理했을 때 生存率은 各各 52, 50 %로 差異가 없었으나 平均 51 %로서 緩慢凍結보다는 낮은 數值였었다. 그러나 本 試驗으로 LN₂ Container 內에서 簡易凍結 하더라도 急速凍結의 可能性을 提示해 주었다 (Nieman, 1985;

Williams 와 Johnson, 1986). 그리고 Table 11 에 依하면 家兔受精卵을 凍結 保存하였다가 融解溫度에 따른 生存率을 比較한 것으로 38℃와 5℃에서 各各 57%와 55%로서 38℃ 溫水融解가 若干 좋았다 (Williadsen, 1978; Wittingham 등 1979). 이 結果는 Schmidt(1985)의 成績보다는 낮은 數值였으며, Wilmut(1972), Krag(1985) 등의 37℃에서 融解하는 것이 다른 方法에 比해서 좋았다는 結果와 같았다. 大家畜에 있어서 外國에서는 一段階 Straw凍結 (one-step straw) 인 簡易 凍結移植方法 등이 벌써 遂行되어 좋은 成績을 얻고 있다 (Leibo, 1984, 1985; Renard 등, 1983; Wright, 1985; 富永 등, 1986; 松崎 등, 1986; 鈴木 등, 1986).

上記 試驗과 2 年間の 經驗으로써 齧齒類를 利用한 基礎試驗을 土臺로 大家畜 受精卵의 凍結融解後 좋은 成績을 얻기 위해서는 採卵後 處理時間을 가능한 짧고 迅速하게 溫度變化가 없이 衛生的으로 耐凍

Table 10. Effect of various freezing rate and cyroprotectants on survival of rabbit embryos after culture.

Freezing rate	Cyroprotectant	No. of embryo frozen	No. of embryos damaged	No. of embryos normal after dilution	No. of embryos developed after culture	Survival rate (%)
Slow	Glycerol	141	8	133	91	65
	DMSO	97	12	85	56	58
Total or mean		238	20	218	147	62
Rapid	Glycerol	127	21	106	66	52
	DMSO	115	14	101	57	50
Total or mean		242	35	207	123	51

(Kim et al., Uupublished)

Table 11. Effect of thawing temperature with 10% glycerol on the survival of rabbit embryos after culture.

Temp. of thawing	No. of embryos frozen	No. of embryos damaged	No. of embryos morphological normal after dilution	No. of embryos developed after culture	Survival rate (%)
38℃	252	27	225	143	57
5℃	229	31	198	127	55

(Kim et al, unpublished)

劑 添加, 凍結 및 融解過程 그리고 耐凍劑 除去 等 全過程을 短時間內에 處理하는 것이 가장 중요하다 고 생각하며 (William, 1985; Wright, 1985), 그러 기 爲해서는 熟練이 必要하며 좀더 簡單한 處理, 凍結 方法 等 多方面으로 試驗을 各 研究所에서 遂行하 여 하루 속히 凍結 受精卵의 受胎率을 向上시키려는 努力이 時急하다고 생각된다.

5. 卵자의 評價 및 生死判定

受精卵의 生死判定은 顯微鏡下에서 外貌形態의 觀察에 依한 方法과 染色을 하거나 또는 FDA-test 에 依한 方法 等이 있다.

日本 北海道에서 Holstein으로 實施한 受精卵의 外貌形態의 分類에 따른 受胎率 比較는 Table 12 와 같이 總受精卵 94個中 48個가 差床하여 51.1%의 受胎率을 보였다. embryos의 形態別 受胎率은 優秀卵 60%, 優良卵 55.3%, 中等卵 42.9%, 그리고 不良卵 16.7%로 漸次 떨어지는 傾向을 나타

내어 주었으며, 金(1986), 吳(1986)도 最優秀卵의 69%로 가장 좋았으며 類似的 成績을 보여주고 있다. 이러한 結果는 Shea(1981), Right(1981)등에 依해서 受精卵의 等級에 따라 受胎率에 크게 영향을 미치는 것은 一致하고 있으나 受胎率은 本成績보다 높았으며 Kennedy 등(1983)은 凍結受精卵에서 같은 結果를 報告하고 있다.

Table 13은 受精卵의 顯微鏡下에 있어서 發育段 階別로 區分하여 受胎率을 比較한 綜合成績으로서 金(1986)은 日本 Holstein 雙實胚에서 48.1%로 낮은 受胎率을 보였으나 縮化 雙實胚와 初期 胚盤胞 및 胚盤胞 期間에는 66.7~80%로 높은 受胎率을 나타냈다가 擴張된 胚盤胞 66.7%로 若干 낮아졌으며 孵化된 胚盤胞에서는 33.3%로 가장 떨어지는 傾向을 보여주었다. 그리고 金등(1986)도 雙實期에서 48.1%로 낮았으나 胚盤胞에서 50%로 向上되었으며, 鄭(1983)은 分娩率로 보았을 때 22.2%(雙實胚)에서 31.3%(胚盤胞)로서 綜合하여 보면 縮化

Table 12. Effect of embryo quality on pregnancy rate by surgical and transcervical transfer.

	Excellent	Good	Fair	Poor	Total	Reference
No. of recipients	20	47	21	6	95	
No. of implantation	12	26	9	1	48	Kim, 1986.
Pregnancy rate (%)			45		51.1	

Table 13. Effect of embryonic cell stage of development on pregnancy and calving rate.

Cell stage	No. of recipient	No. of implantation (calving)	Pregnancy rate (%)	Calving rate (%)	Reference
Morula	9	2		22.2	Chung et al., 1983 ^a
	3	1			Kim et al., 1986 ^b
	79	38	48.1		Kim et al., 1986 ^c
Compacted morula	6	4	66.7		Kim, 1986 ^b
Early blastocyst	5	4	80.6		Kim, 1986 ^b
Blastocyst	16	5		31.3	Chung et al., 1983 ^a
	5	4	80.0		Kim, 1986 ^b
	15	8	50.0		Kim et al., 1986 ^c
Expanded blastocyst	3	2	66.7		Kim, 1986 ^b
Hatched blastocyst	3	1	33.3		Kim, 1986 ^b

된 雙實胚와 胚盤胞 期間까지 受胎率이 가장 좋았다는 것을 提示하여 주고 있다 (Wright, 1981). 그러나 Shea (1981)는 孵化된 胚盤胞의 受胎率이 가장 좋았으나 縮化된 雙實胚에서는 떨어졌다고 報告하였다.

卵子の 生死判定에 있어서는 濟州大學에서 처음으로 mouse와 家兔 그리고 牛受精卵에 關해서 試驗을 하였으나 大家畜의 供試卵이 20個 未滿으로 여기서는 家兔에 對하여 一部成績을 記述하고자 한다.

FDA-test (Schilling 등 1979; Franks 등 1986)는 fluorescence를 培養後 螢光 顯微鏡으로 生死判定을 3段階 (P₅, P₃, P₁, N₀)로 分類하여 score를 주어서 判定을 比較하였다.

Table 14는 家兔의 embryos를 凍結過程中 植水方法에 따른 生存性을 FDA-test로 調査한 것으로서 N-seeding (植水하지 않은 것)에서는 P₅ (分割球 100% 生存) 42%, P₃ (50% 以上 生存) 33%, P₁ (50% 以上 生存) 16%, N (死卵) 9%로서 平均 score는 3.2로 生存性이 가장 높았으며, P-seeding score (핀셋트植水)은 P₅: 35%, P₃: 28%, P₁: 21%, N: 16% 平均 2.8로 제일 낮았고, Co-seeding (구리를 감어서 植水한 것)은 score 3.0을 획득하였다. 이러한 生存程度를 4等分하여 平均 score로 計算하였기 때문에 embryos의 生存性을 比較하는 데는 簡便하고, 쉽고, 信賴性을 斯할 수 있었다 (Bielanski 등, 1986). Schilling

등 (1982)은 FDA-test 生存卵子を 判定하는데 실험치미경보다 10% 높았고 빠르고 正確한 成績을 얻었으며 培養後 卵子發育에 障害가 (82%) 없었다고 報告하였다. 그러나 凍結融解後 P₅ 및 P₃ 등이 어느 程度 CO₂ incubator에서 生存하고 移植後 着床할 것인지는 앞으로 이 方面에 研究를 遂行할 計劃에 있다.

6. 受精卵의 移植結果

優秀한 供卵牛로부터 많은 受精卵이 採卵되었다 하더라도 Donor와 같이 發情週期를 가진 健康하고 環境이 좋은 Recipient에 移植되어 受胎率向上이 뒤따라지 않으면 受精卵 移植技術 普及은 不可能하게 되는 것이다.

新鮮 受精卵의 外科 및 非外科的 綜合受胎率比較는 Table 15와 같이 外科的 移植의 受胎率은 56.3% (石 등, 1983; 金 등, 1986)로 非外科的 受胎率 40.9% (石 등, 1983; 金 등, 1985; 金, 1986)와 分娩率 47.6% (鄭 등, 1983)보다 若干 높은 成績을 보임으로써, New-Comb 등 (1979)의 外科的 受胎率 49~50%보다는 높았으나, Elsdon (1978)의 60~70%보다는 낮은 數值였다. 그리고 非外科的 受胎率에서는 Wright 등 (1981), 高橋 등 (1981, 1982) Renard 등 (1983)보다 낮은 結果를 보여주었다.

上述한 것 以外 Recipient는 適當한 體軀를 갖추고 營養狀態가 良好하여야 하며 疾病, 代謝 및 繁殖

Table 14. Effect of seeding procedures with 10% sucrose on embryo viability evaluated by FDA test in rabbit.

Method of seeding	No. of embryo frozen	No. of survival embryos evaluated by FDA				Score
		P-5	P-3	P-1	N-0 (%)	
No-seeding ^a	158	66 (42)	52 (33)	26 (16)	14 (9)	3.2
P-seeding ^b	135	47 (35)	38 (28)	28 (21)	22 (16)	2.8
Cu-seeding ^c	95	35 (37)	28 (30)	23 (24)	9 (9)	3.0

*P: Positive (5)
a: No-seeded

P-3: partial (3)
b: Pincette-seeded

P-1: partial (1)
c: Copper-seeded

N: negative (0)

障害가 없어야만 受胎率이 向上될 수 있으며 (金, 1986), 發情後 6~7 日에 移植하게 되므로 子宮狀態, 黃體 크기와 彈力性이 良好한 것을 參考하여야 한다.

新鮮受精卵과 凍結卵의 受胎率을 比較한 것은 Table 16에서와 같이 新鮮受精卵의 受胎率은 56~61% (石 등, 1983 ; 金 등, 1986)로 높은 數値를 보여 주었으나 凍結受精卵에서는 17.0~45.7% (石 등,

Table 15. Results of pregnancy and calving rate by surgical and nonsurgical transfer.

Transfer	No. of recipient		No. of implantation		Pregnancy rate (%)		Calving rate (%)	
	S	N-S	S	N-S	S	N-S	S	N-S
Chung et al (1983)		42		20				47.6
Suk et al (1983)	10	20	3	9	30.0	45.0 ^a		
Kim et al (1985)		109		32		29.4 ^b		
Kim et al (1986)		95		46		48.4 ^c		
Kim (1986)	22	45	15	23	68.2	51.1		
Total	32	269	18	110	56.25	40.89		47.6

a ; Rectal palpation at day-45 and 60 after transfer

b ; Rectal palpation at day-60 after transfer

c ; Rectal palpation at day-60 to 70 after transfer

S ; surgical, N-S ; Non-surgical

Table 16. Pregnancy rate after the transfer of fresh or frozen embryos by surgical and nonsurgical transfer.

Embryos	No. of recipients		No. of implantation		Pregnancy rate (%)		Reference
	S	N-S	S	N-S	S	N-S	
Fresh	3	15	2	8	66.7	55.6	Suk et al., 1983.
		25		14		56.0	Kim et al., 1986.
Frozen	7	5	1	1	14.3	20.0	Suk et al., 1983.
		70		32		45.7	Kim et al., 1986.
Total	10	115	3	55	30.0	47.8	

Table 17. Effect of breeds on the pregnancy rate by nonsurgical transfer.

Breed	No. of recipients	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)	Reference
Holstein	19	3	15.8	(Suk et al., 1983) ^a
	30	12	40.0	(Suk et al., 1983) ^b
	30	11	36.7	(Suk et al., 1984)
	46	24	52.2	(Yang et al., 1986)
KNC	8	3	37.5	(Yang et al., 1986)
Crossbred	6	0	0	

1983; 金등, 1986)의 낮은成績으로 이것도 外國에서 導入된 凍結卵자의 結果이다.

Table 17도 美國에서 導入된 凍結受精卵을 Holstein과 韓牛 그리고 交雜牛에 移植한 後 그 受胎率을 調査한 것으로서 Holstein (79頭)에서는 15.8~40.0% (石등, 1983, 1984)로서, 梁등(1986)의 52.2% 成績이 石등(1984)보다 높았으나 韓牛와 韓牛交雜種(14頭)에서는 平均受胎率이 21.3% (3/14)로서 凍結卵자의 受胎率 低調를 나시 보여 주고 있다.

이러한 結果는 Niemann 등(1985), Pettie(1985), 正木(1984), 高橋등(1981, 1982), 鈴木등(1986), Williams 와 Johnson(1986) 등에 比하여 상당히 受胎率이 떨어지고 있다. 그러므로 앞으로 좀더 많은 試驗이 學界에서나 各 試驗場에서 牛 凍結受精卵에 關한 研究를 遂行하여 많은 利點을 갖고 있는 凍結卵의 普及率이 하루속히 成就되기를 期待한다.

今後 研究展望

1. 問題點과 改善

上述한 바와 같이 受精卵 移植技術에 關한 全般的인 現況을 들어 說明하였는데 이의 普及向上을 위하여 一般의 改善點을 들면 다음과 같다.

1) 우리나라는 現在까지 受精卵 移植에 關한 研究를 遂行할 施設과 場所가 局所的으로 除限되어 있었으므로 앞으로 各 試驗場, 國立種畜院, 有關產業體, 大學研究室에서 基本施設을 갖추어 分業的으로 基礎試驗, 技術開發에 關한 研究가 多方面으로 遂行되어야 늦게 始作된 우리의 後進性을 克服할 수 있을 것으로 思料된다.

2) 受精卵移植에 많이 사용하고 있는 簡單한 基本資料 및 器具와 hormone 種類(PMSG, FSH) 그리고 重要試藥 등이 國產品으로 代置되도록 獎勵되어야 한다.

3) 隣接國家인 日本만 하더라도 1957年度에 農林省畜産試驗場, 國立種畜牧場, 家畜改良事業團, 大學校 各縣試驗場에서 大家畜受精卵 移植試驗이 施行되었고 1970年度에 人工授精師에도 벌써 受精卵 移

植에 關한 教育이 實施되고 있었다. 우리나라에서도 人工授精師에 教育을 實施하여 技術人力養成이 先行되어야 한다.

4) 多排卵 誘起에 따른 受精卵의 回收率 向上을 위하여 보다 簡便하고 쉽게 回收하는 器具 또는 方法을 改善하는데 努力하고 卵子移植 方法의 簡便化와 技術熟達이 必要하고 一段階 straw 凍結에 依한 耐凍劑 除去없이 直接 移植시키는 方法等 多養한 試驗의 必要性이 時急하다고 본다.

5) 앞으로 受精卵 移植技術을 普及化시키기 위해서는 凍結受精卵에 關한 많은 試驗이 遂行되어 簡便하고 容易한 方法으로 時間 短縮과 衛生的인 方法을 開發하는 데 힘쓸 것이다.

6) 受精卵의 評價 및 生死判定方法 研究에 重要함으로서 凍結卵 生死를 速히 判斷하여 現在 受胎率 低下를 水準以上으로 올리도록 努力하여야 할 것이다.

2. 今後 研究展望 (技術開發)

受精卵移植에 있어서 앞으로 尖端技術이 開發되어야 할 範圍는 넓다. 그러나 研究現況에서 言及된 것은 省略하고 今後 技術展望에 關한 것만을 紙面上 簡單하게 記述하고자 한다.

1) 雙胎誘起 (異卵性 雙仔誘起)

發情週期에 hormone 處理하여 2個의 卵子를 排卵케 하는 方法이 있으나, 受精卵移植에 利用은 2個의 受精卵을 兩子宮角에 移植하거나, 또는 發情時에 人工授精을 實施하고 黃體가 없는 다른 子宮角에 受精卵 1個를 追加 移植하여 異卵性雙仔를 誘起하는 것으로 異性雙仔에서는 암가축에서 85~95%가 freemartin이 되기 때문에 主로 肉牛增殖에 使用하는 것이 勸獎된다.

2) 分割球 分離 (一卵性 多胎誘起)

普通 1個의 受精卵을 2~4 細胞期에 分離하여 遺傳形質이 같은 2~4頭의 一卵性 多胎를 生産하는 것으로서, micromanipulator 라는 顯微鏡 操作으로써 人爲的으로 分割球를 尖端技術로 等分하여 體外에서 雙實期 以後까지 培養後 凍結保存시켰다가 移植하게 된다. 特히 乳牛增殖에서 優秀한 遺傳形質을 普及시키는 데 기여하며 分割受精卵의 性を 判斷하면서 一

卵性 多胎 암가축 生産이 可能하며 더욱 하나의 分割球가 一定한 段階까지 分化했을 때 다시 分割球 分離시켜 培養을 反復할 수 있다면 1個의 受精卵에서 永久的으로 多數의 優秀受精卵을 獲得할 수 있을 것이다.

3) 核融合과 移植

核融合이란 例를 들어서 緬羊과 山羊의 受精卵(透明帶 除去後) 割球를 融合시킨 混性 受精卵을 移植시켜 中間 chimera를 生産함으로써 山羊 體型에 緬羊과 같은 털을 덮고 있는 中間種이 되는 것이다. 그리고 乳牛와 肉牛의 中間 chimera는 相互 特徵을 갖추는 犏牛를 生産시킬 수 있는 것으로 交雜種의 段階를 거치지 않고 쉽게 chimera를 生産possible한 것이다.

核移植은 쉽게 말해서 遺傳的 複製人間을 例로 들 수 있는 것으로서 體細胞부터 2倍體의 細胞核을 受精卵(前核除去)에 移植시킴으로써 遺傳的 複製 家畜을 生産可能하게 되는 것이다. 다시말해서 大家畜에 應用된다면 不良 遺傳子를 가진 受精卵에 高能力 乳牛 核을 移植하여 乳量이 많이 生産되는 同一한 個體의 複製乳牛를 多數 生産하게 되어 經濟的 利益이 크다고 볼 수 있다.

4) 雌·雄性 前核의 除去(片親發生)

이것은 mouse 卵子가 受精된 후 雄性 또는 雌性 前核을 除去시킴으로써 父親이나 母親 一方의 遺傳子만을 갖는 個體가 發生하게 되므로 遺傳적으로 完全히 homo化 仔畜을 만드는 것이다. 現在까지 片親發生 作出은 mouse에서만 成功되었으므로 家畜으로 試驗이 遂行된다면 近親繁殖의 被害없이 能力이 優秀한 雌·雄畜의 遺傳形質을 永續적으로 100 percent 維持할 수 있게 되는 것이다. 卽 哺乳動物의 染色體는 本來 hetero型이나 植物의 自家受精과 같이 homo型으로 繼續된다는 것이다.

5) 受精卵의 性 鑑別

受精卵의 性別을 判定하여 移植하면 希望하는 性의 犏牛를 生産할 수 있는 것이다. 受精卵의 性別 檢查는 一卵性 多胎에서 分離시킨 分割球 1個를 가지고 染色體 檢查를 하여 判別할 수 있으나 技術操作이 複雜하고 實用化가 不可能하므로 最近 H-Y 抗

原의 抗體反應을 利用하여 受精卵의 性別 檢查를 하는 方法인데 H-Y 항체는 雌性 受精卵에만 結合하고 雌性 受精卵에는 結合하지 않는다. 그러므로 補體를 만들기 위해서는 암쥐에 숫쥐 脾臟細胞를 連續 投與한 후, 암쥐의 血清을 採取하여 培養中에 있는 embryos에 添加하여 正常發育된 것은 大部分 XX性 染色體를 가진 암쥐(80%以上)를 生産하게 되는 것으로 大家畜에서도 같은 結果를 얻고 있다(菅原, 1985). 여기서 乳牛의 發育된 卵子를 凍結시켜 保存하였다가 移植하여 分娩하게 되면 牝畜의 乳牛만을 分娩하게 된다.

6) 體外受精卵의 活用

體外受精은 人間의 體外受精에 依한 試驗管 baby로 너무나 잘 알려진 것으로 生體內에서 이루어지는 受精過程을 in vitro에서 人爲적으로 再現시켜 牝畜에서 採取한 卵子和 精子를 試驗管內에서 受精시켜 培養後 雙實期 以後에 移植시켜 새로운 仔畜을 生産하게 되는 것을 들 수 있다.

7) 原始卵자의 體外培養

卵巢內에서 未成熟 狀態의 原始卵胞를 採取하여 體外에서 培養시켜 成熟되면 受精이 되어 어느 段階까지 發育될 때 凍結貯藏시킨 다음 移植하는 方法으로서 今後 研究에서 致重할 研究課題인 것이다. 이 方法이 實用化된다면 乳牛의 犏牛가 出生時 卵巢에 8~10萬個의 原始卵胞를 活用하여 利用된다면 上述한 尖端技術(體外受精, 分割球 分離, 性 鑑別 核移植 등)에 適用하여서 家畜改良과 增殖에 큰 效果를 가져올 것으로 展望된다.

結 論

우리나라의 家畜 受精卵移植 技術은 外국의 技術을 도입할 때 너무나 늦게 研究가 始作되었으며 이따금 諸 試驗도 局限된 場所에서만 遂行되어 있었으므로 基礎研究에 不遇한 實情이다. 特히, 大家畜의 受精卵 移植 普及에 重要한 比重을 차지하고 있는 受精卵凍結, 卵자의 評價와 生死判定에 따른 受精卵移植 等に 關한 研究는 거의 없는 狀態이다. 그러므로 受精卵移植의 普及 向上을 爲해서는 앞으로 各 試驗場,

國立種畜院은 勿論 有關產業體, 各 大學研究室에서 分業的으로 많은 試驗이 遂行되어져야 한다. 그리고 尖端技術 研究 卽 哺乳動物 初期胚의 受精卵 微細操作法을 위시하여 操作後 培養, 移植에 關한 研究에

加一層 努力함으로써 體系化되어 우리나라 受精卵移植 普及에 奇與와 家畜能力 改良 및 優良家畜의 擴大增進에 邁進하여야 할 것이다.

References

- Betteridge, K. I., M. D. Eaglesome, G. C. B. Randall and D. Mitchell. 1980. Collect description and transfer of embryos from cattle 10~16 days after oestrous. *J. Reprod. Fert.*, 59; 205~216.
- Bielanski, A. V., Schneider, V. P. Pawlyshyn and R. J. Maletoft. 1986. Factors of effecting survival of deef frozen bovin embryos in vitro; The effect of freezing container and method of removing cyroprotectant. *Theriogenology*, 25; 429~437.
- Brand, A., Gunnink, J. W., Drost, M., Aarts, M. H. and Bois, C. H. W. 1976. Non-surgical embryo transfer in cattle: Bacteriological aspects. In *egg transfer in cattle*. Ed. L. E. A. Rowson, Commision of European Communities, Luxembourg, 57~68.
- Bilton, R. J. and N. W. Moore. 1977. Successful transfort of frozen cattle embryo from New Zealand to Australia. *J. Reprod. Fert.*, 50; 363~364.
- Critser, J. K., R. F. Rowe., M. R. Delcamp and O. J. Ginther. 1980. Embryo transfer in cattle; Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos and length of posttreatment estrus cycle. *Theriogenology*, 13; 397.
- Denny, J. E. F. M. 1967. Ovulation and fertilization in response to serum gonadotropin. Pt. 1; 299~300.
- Elsden, R. P., J. F. Nelson and G. E. Seidel, Jr. 1976. Non-surgical recovery of bovin eggs. *Theriogenology*, 6; 503~507.
- Elsden, R. P., J. F. Nelson and G. E. Seidel, Jr. 1978. Superovulating cows with stimulating hormone and mare's serum gonadotropin. *Theriogenology*, 6; 523~532.
- Franks, G. C., S. L. Coley., B. Betterbred and R. D. Page. 1986. The effect of cyroprotective agents, Dilution rates, Freezing rates, and freezing units on the survival of bovin embryos. *Theriogenology*, 23; 194.
- Greve, Torben, Henrik Lehn-Jensen, and N. O. Rashechx. 1977. Non-surgical recovery of bovin embryos. *Theriogenology*, 7; 237~244.
- Greve, T., H. Lehn-Jensen, N. O. Rasbech. 1979. Morphological evaluation of bovin embryos recovered nonsurgical from superovulated dairy cows on days 61/2 to 71/2; A field study. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19; 1599~1611.
- Greve, T. 1982. Bovin egg transplantation in Denmark. A study with special emphasis on the practical application and factors affecting the superovulatory responses number and quality of egg. *Anim. Breed. Abst.*, 50; 723.
- Hasler, J. F., A. D. Mauley, E. C. Sshermerhorn and R. H. Foote. 1983. Superovulatory responses of holstein cows. *Theriogenology*, 19; 83~99.
- Haupt, P, et al. 1981. Factors influencing super-ovulation success in lactating cow and their fertility after egg collection. *Anim. Breed. Abstr.*, 49; 603.
- Kennedy, L. G., M. P. Boland and I. Gordon. 1983. The effect of embryo quality at freezing on subsequent development of thawed cow embryos. *Theriogenology*, 19; 823~832.

- Krag, K.T., I.M. Koehler and R.W. Wright, Jr. 1985. A method of freezing early murine embryos by plunging directly into liquid nitrogen. *Theriogenology*, 23; 199.
- Kweon O.K., Kanagawa H, Takahashi Y, Yamashina H, Seike N, Mori K, Iwazumi Y, Aoyagi Y. One H. 1986. Factors affecting superovulation response in cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.* 48; 495 ~ 503.
- Leibo, S.P. 1985. Field trial of one-step diluted frozen-thawed bovin embryos; An update. *Theriogenology*, 23; 201.
- Leibo, S.P. 1984. A one-step method for direct non-surgical transfer of frozen-thawed bovin embryos. *Theriogenology*, 21; 767~790.
- Mcgaugh, J.D., D.Ols and D.C. Kratzer. 1974. Ovum recovery in superovulated cows and cleavag rates in the fertilized ova. *Theriogenology*, 1; 213 ~ 217.
- Mariana, J.C., P. Mauleon, M. Benoit, and C. Chupin. 1970. In *Research sur l'Induction Experimentale de Naissances Gemellaires Chez Les Bovins*, Lab. de Physiol. de La Reprod. 37-Nouz; IIV. France. Chap, 4.
- Monniaux, D., Chupin, D. and Saunande, J. 1983. Superovulatory response of cattle. *Theriogenology*, 19; 55-81.
- Newcomb, R. 1979. Surgical and non-surgical transfer of bovin embryos. *Vet. Rec.*, 105; 432~434.
- Oliva, O., F. Cremonsi, S. Crotti and A. Lauria. 1984. Effect of breed, age and type of treatment on superovulation in cow. *Anim. Breed. Abstr.*, 52; 213.
- Niemann, H. 1985. Freezing of bovin embryos; Effects of a one-step addition of 1.4M glycerol. *Theriogenology*, 23; 369~379.
- Pettit, W.H. Jr. 1985. Commercial freezing of bovin embryos in glass ampules. *Theriogenology*, 23; 13~16.
- Renard, J.P., Y. Heyman, P. Leymonie and J.C. Plat. 1983. Sucrose dilution; A technique for field transfer of bovin embryos frozen in the straw. *Theriogenology*, 19; 145.
- Rowe, R.F., M.R. Del campo, C.L. Elts, L.R. French, R.P. Winch and O.J. Ginther. 1976. A single cannula technique for non-surgical collection of ova from cattle. *Theriogenology*, 6; 471~483.
- Schilling, E., H. Niemann, S.P. Cheng and H.H. Doepke. 1979. DAPI-a further fluorescence test for diagnosing the viability of early cow and rabbit embryos. *Zuchthyg*, 14; 170~172.
- Schilling, E., H. Niemann and D. Smidt. 1982. Evaluation of fresh and frozen cattle embryos by fluorescence microscopy: In vitro fertilization and embryos transfer by Hafez and Semn. *MTP Lancaster*, pp. 349~355.
- Schmidt, P.M., C. Schiewe and D.E. Wildt. 1985. Variables influencing post-thaw embryo survival rates in mice. *Theriogenology*, 23; 229.
- Sergeev, N.I. and I.Y. Shikhov. 1984. The effectiveness of hormonal induction of ovulation in cow and donor heifer in relation to the season of the year. *Anim. Breed. Abstr.*, 52; 217.
- Shea, B.F., Hines, D.J., Lightfoot, D.E., Ollis, G.W. and Olson, S.M. 1976. The transfer of bovin embryos. In; *Egg transfer in cattle*. Rowson, L.E.A. Ed., Commission of the European Communities, Luxembourg, p. 145~152.
- Shea, B.F. 1981. Evaluating the bovin embryo. *Theriogenology*, 15; 31~42.
- Whittingham, D.G., M. Wood, J. Farrant, H. Lee and J.A. Halsey. 1979. Survival of frozen mouse embryos after rapid thawing from -196°C. *J. Reprod. Fert.*, 56; 11~21.
- Willadsen, S., C. Poleg and L.E.A. Rowson. 1978. The viability of deepfrozen cow embryos. *J. Reprod. Fert.*, 52; 391~393.
- William H. Pettit, Jr. 1985. Commercial freezing

- of bovin embryos in glass ampules. Theriogenology, 23; 13~16.
- Williams, T.J. and S.E. Johnson. 1986. A method for one-step freezing of mouse embryos. Theriogenology, 26; 125~133.
- Willumt, U. 1972. The effect of cooling rate, warming rate, cyroprotective agent and stage of development on survival of mouse embryos during freezing and thawing. Life sci., 11; 1071~1079.
- Wright, J.M. 1981. Non-surgical embryos transfer in cattle embryo-recipient interactions. Theriogenology, 15; 43~56.
- Wright, J.M. 1985. Commercial freezing of bovin embryos in straws. Theriogenology, 23; 17~29.
- Yoshito, et al. 1987. Studies on superovulation with PMSG and FSH in cows. Hormone levels of plasma steroid and results of embryo recovery. Jpn. J. Anim. Reprod., 33; 167~172.
- 鄭吉生, 催炳相. 1982. 大家畜에 있어서 受精卵移植의 現況과 展望, 韓國家畜繁殖學會報, 6; 1~18.
- 鄭吉生, 李勳澤, 鄭炳鉉, 柳承煥, 羅鎮洙. 1983^a. 受精卵移植에 의한 牛의 雙胎誘起에 관한 研究, I, 性腺刺戟 호르몬 投與에 對한 卵巢反應에 影響을 미치는 要因, 韓畜誌, 25; 205~209.
- 鄭吉生, 朴欽大, 盧煥喆. 1983^b. 受精卵移植에 의한 牛의 雙胎誘起에 관한 研究, II, 多排卵 處理의 反復이 卵巢反應과 受精卵의 發達에 미치는 影響, 韓畜誌, 25; 267~271.
- 鄭吉生, 李勳澤, 朴欽大, 鄭炳鉉, 柳承煥. 1983^c. 受精卵移植에 의한 雙胎誘起에 관한 研究, III, 受精卵의 非外科的 回收, 韓畜誌, 25; 408~412.
- 鄭吉生, 盧煥喆, 尹鍾三, 丁泰榮. 1983^d. 受精卵移植에 의한 雙胎誘起에 관한 研究, IV, 回收된 受精卵의 形態學的 考察, 韓畜誌, 25; 413~417.
- 鄭吉生, 尹鍾三, 李勳澤, 柳承煥, 金正翊. 1983^a. 受精卵移植에 의한 牛의 雙胎誘起에 관한 研究, V, 非外科的으로 移植한 新鮮 및 凍結受精卵의 分燒成績, 韓畜誌, 25; 425~429.
- 具滋弘, 鄭量國. 1982. 젖소의 非手術的 受精卵 回收 및 移植試驗, 大韓獸醫學會誌, 18; 45~82.
- 鄭鎮官. 1984. 소의 受精卵의 冷凍方法, 韓畜誌, 26; 145~149.
- 任京淳, 李用斌, 鄭丘敏. 1983. 소에 있어서 非外科的 方法에 의한 受精卵의 採卵技術 開發에 관한 研究, 韓畜誌, 25; 244~253.
- 金重柱, 徐國聖, 申源執, 薛東攝, 金相喆, 李用斌. 1974. 토끼의 受精卵移植에 있어서 卵細胞 分裂期와 移植部位에 관한 研究, 韓畜誌, 16; 93~99.
- 金熙錫. 1982. 소 受精卵 移植技術과 實用上의 問題點, 韓國家畜繁殖學會報, 10; 145~160.
- 金熙錫, 金英鎮, 李根常, 鄭吉生. 1985^a. 소에 있어서 多排卵 誘起에 影響을 미치는 要因에 관한 研究, 韓畜誌, 27; 201~205.
- 金熙錫, 吳成宗, 梁甫錫, 李根常, 鄭吉生. 1985^b. 소에 있어서 非外科的 採卵 및 移植에 관한 研究, 韓畜誌, 27; 206~210.
- 金熙錫, 吳成宗, 梁甫錫, 柳承煥, 金鍾國, 白舜龍, 李根常. 1986. 소의 多排卵 誘起 및 受精卵 移植에 관한 研究, 韓國受精卵移植研究會誌, 1; 69~75.
- 金熙錫, 吳成宗, 梁甫錫, 柳承煥, 金鍾國, 李根常. 1986. 소에 있어서 移植受精卵의 生存性에 影響을 미치는 要因에 관한 研究, 韓畜誌, 28; 578~583.
- 金相根. 1986. 牛 受精卵의 形態 및 發育段階가 受胎率에 미치는 影響에 관한 研究, 韓畜誌, 28; 521~526.
- 菅原七郎. 1985. 受精卵移植と 先端技術との 關連 について, 日本畜產學會 東北支部會報, 35; 125~135.
- 鈴木達行, 下平乙夫, 藤山雅照. 1983. ウシ凍結受精卵の 1段階 ストロウ法 による移植, 日本繁殖會誌, 29; 162~163.
- 鈴木達行, 鈴木軸彦, 下平乙夫, 藤山雅照. 1984. ウシ受精卵의 自動灌流器具 について, 日本家畜繁

- 殖會誌, 30;194~197.
- 石瑚峰, 李光原, 申溶植, 金浩重, 趙閔衍, 池高夏, 吳大均, 任京淳, 알피 엘스덴, 1983^a, 소의 凍結受精卵의 受胎에 미치는 影響, I, 글리세롤 浮遊液에 의한 六段階 平衡의 影響, 韓畜誌, 25; 430~437.
- 石瑚峰, 李光原, 申溶植, 金浩重, 趙閔衍, 吳大均, 池高夏, 任京淳, 알피 베이커, 1983, 소의 凍結受精卵이 受胎에 미치는 影響, II, 無糖 浮遊液에 의한 2段階 平衡의 影響, 韓畜誌, 25;430~437.
- 石瑚峰, 李光原, 吳成龍, 孫東秀, 尹忠根, 金浩重, 趙閔衍, 吳大均, 池高夏, 任京淳, 지디마흔, 1984, 소의 凍結受精卵이 受胎에 미치는 影響, III, 五段階 浮遊에 의한 글리세롤 除去卵의 外科的 移植의 影響, 韓畜誌, 26;429~434.
- 松崎重範, 岩野信也, 青柳敬人, 岩住安晃, 1986, 一段階 스톱-로-法 による牛 凍結胚의 移植 おび 受胎率 向上에 關する試み, 日本家畜繁殖學會 70回大會 講演要旨集, 20~27.
- 徐國聖, 金重柱, 申源執, 任京淳, 薛東攝, 李用斌, 1974, 山羊의 受精卵移植에 關한 研究, 產畜試驗場 研究報告, 17;21~32.
- 鈴木達行, 下平乙夫, 1985, 發情後 7~8 日目に採取した供卵牛 血清カロ培養液 によるウシ 受精卵의 體外培養, 日本家畜繁殖學會誌, 31;1~8.
- 鈴木達行, 下平乙夫, 酒井豊, 松田修一, 三浦秀夫, 伊藤一伸, 1986, 片側子宮角 への受精卵移植によるウシ의 雙子生産 について, 日本家畜繁殖學會誌, 32;44~47.
- 吳成宗, 梁甫錫, 金熙錫, 李根常, 金剛植, 스피어스 아우리, 1986, 소의 發情同期化 및 凍結受精卵 移植에 關한 研究, 韓畜誌, 28;468~473.
- 杉江信, 相馬正, 福光進, 大槻清彦, 1972, 牛의 受精卵移植에 關する研究, 特히 non-surgical technique による卵子移植, 日本畜産試驗場 研究報告, 第25號.
- 高橋芳幸, 鈴木達行, 齊藤則夫, 1981, 紙の覆いを付けた人工授精器具 によるウシ受精卵의 移植, 日本家畜繁殖學會誌, 27;54~55.
- 高橋芳幸, 1983, ウシ受精卵移植에 關する 非手術的 移植에 關する研究, 日本家畜繁殖學會誌, 29; 136~139.
- 正木淳二, 1984, 牛의 受精卵移植 をめぐる 内外の 動き, 宮獸會報, 37;3~8.