

發情誘起犬의 卵巢反應과 受精卵의 外科的 回收

康炳奎 · 崔漢善 · 羅鎮洙* · 吳琦錫 · 孫彰好 · 李且範

全南大學校 獸醫科大學

全南大學校 農科大學 畜產學科*

(1989. 5. 6 접수)

Ovarian response and surgical collection of embryos after induction of estrus in the bitch

Byong-kyu Kang, Han-sun Choi, Jin-su Na*

Ki-seok Oh, Chang-ho Son, Cha-bum Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

*Department of Animal Science, College of Agriculture, Chonnam National University**

(Received May 6, 1989)

Abstract: The aim of the present study was to test the efficiency of estrous induction in the premature, metestrous and anestrus bitches.

The estrus was induced with prostaglandin $F_{2\alpha}$, estradiol-17 β , pregnant mare serum gonadotropin(PMSG) and human chorionic gonadotropin(HCG) in the treatment A, and with PMSG and HCG in the treatment B. Day 0 was the first day of estrone injection in the treatment A and the day of PMSG injection in the treatment B. Twenty three of the twenty six bitches were laparotomized under general anesthesia between 11 and 18 days after onset of behavioral estrus, whereas three bitches were not laparotomized and remained until parturition. Ovarian responses were evaluated with the total number of corpora lutea or ovulation sites. The uterine horns were flushed with phosphate-buffered saline added heat treated canine serum(10%), the flushing media was collected into watch glass and the ova were examined under stereomicroscope.

The results obtained were as follows:

1. Standing estrus was observed on the day 17.7 ± 1.5 after injection of estrone in the treatment A, but ovarian responses were not detectable.
2. Standing estrus was observed on the day 12.2 ± 0.2 after injection of PMSG in the treatment B and 14 of 17 bitches showed ovarian responses. Ova were recovered in 9 of the 14 bitches.
3. Ovarian responses were observed in one of the three premature bitches, two of the three metestrous bitches and all of the 11 anestrus bitches. The average number of the ova collected from 9 bitches were 12.2 ± 1.4
4. Three bitches in the treatment B exhibited behavioural estrus and all of them were mated

本論文은 1986, 1987년도 全南大學校 學術研究費에 의해 수행되었으며 그 요점은 1987년도 제31차 대한수의학회에서 발표하였음.

with fertile male dog, resulting the pregnancy in only one bitch. The pregnant bitch gave the birth of two pups.

Key words: bitch, estrous induction, ovarian response, ovum.

緒 論

암개는 單發情 동물로서 그 性周期은 약 6개월이며,¹⁻³ 발정지속기간도 대개의 경우 10~17일로 매우 길고 또 가축의 性周期 즉 發情前期, 發情期, 黃體期, 發情休止期와는 달리 發情前期, 發情期, 發情後期, 無發情期로 분류되며⁴ 無發情期에 이어 發情前期가 긴 특징을 갖고 있다. 이러한 번식특성 때문에 犬에 있어서 外因性 호르몬투여에 의한 發情의 誘起는 가축 특히 乳牛에서^{5,6}처럼 아직 실용화된 방법은 확립되어 있지 아니하고 受精卵移植의 성공예로는 Kinney 등^{7,8}과 Takeishi 등⁹의 보고가 있을 뿐이다.

Thun 등¹⁰은 PMSG와 HCG를 병용투여(피하주사)하여 25두중 14두에서 發情이 발현되었고 Archbald 등¹¹은 PMSG와 HCG를 병용투여한 발정유기실험에서 PMSG를 근육주사한 것은 5두중 4두에서 발정증상을 보였으나 피하주사한 예는 5두중 2두에서만 발정증상을 보인다. Wright¹²는 11두의 無發情期 犬에 PMSG(110IU/kg/week)를 2 내지 3회 투여하여 8두에서 발정을 유기시켰으나 발정유기 후의 妊娠率 등에 대하여는 언급하지 않았다. 또한 Chaffaux 등¹³은 PMSG와 HCG 병용투여에서 無發情後期 犬(발정종료후 6개월 경과)과 無發情前期 犬(발정종료후 4~5개월 경과)의 발정유기에서 無發情後期 犬에서만 10두중 3두에서 임신이 가능했다고 하였다. 한편 Takeishi 등¹⁴은 estrone 투여후 發情出血이 인정된 다음 PMSG 및 HCG 병용에 의하여 7두중 6두가 임신되었음을 보고하고 있다. Nakao 등³은 無發情期 犬에 PMSG와 HCG를 병용투여하고, 發情後期 犬에 prostaglandin F_{2α} 투여후 PMSG와 HCG 병용에 의하여 無發情期 犬 11두중 2두와 發情後期 犬 4두중 1두가 수태함을 보고하였고 발정유기 때의 낮은 수태율은 黃體機能의 이상임을 지적한 바 있다.

한편 Drost¹⁵는 난소반응을 검사하기 위해서는 犬의 난소가 특이하게 卵巢囊에 싸여 있으므로 卵巢囊을 절개한 후 난소를 노출시켜야 관찰이 가능하고 開腹한 상태에서 육안적으로 황체수의 관찰이 용이하지 않다고 하였다.

犬에서의 受精卵의 회수방법으로는 外科的 방법에 의거한 卵管灌流法¹⁶ 및 子宮角灌流法 등¹¹이 있다. 그런데 Creamer 등¹⁷은 犬에서의 受精卵의 회수시기 결정

은 다른 가축에 비하여 어렵고 卵管에서의 受精卵의 회수 또한 卵巢囊 때문에 어렵다고 시사한 바 있으나 발정후 13~18일경의 자궁 이행 때에는 용이하게 회수할 수 있다고 하였다.

본 연구의 목적은 발정유기 때의 性周期의 상대 즉 性成熟後의 未經產犬, 發情後期 및 無發情期 犬을 대상으로 발정유기시 호르몬제의 투여방법의 검토와 임상적 발정증상의 조사, 난소반응의 조사 및 受精卵의 외과적 회수 등 受精卵 移植術의 기초실험에 목적을 두고 있다.

材料 및 方法

實驗動物: 체중 8~15kg, 연령은 10개월령에서 5년령까지의 珍島犬 및 在來雜犬의 암컷 26두와 수컷 7두를 대상으로 하였으며 실험개시 전에 구충제(piperazine[®])와 DHPL(canine distemper, canine contagious hepatitis, canine parvovirus, canine leptospirosis)백신을 투여하였다. 性周期의 구분은 康 등¹⁸과 동일한 방법으로 실시하여 性成熟 후의 未經產犬 5두, 發情後期 犬 4두, 無發情期 犬 17두로 구분하였다.

發情誘起方法: 발정유기는 康 등¹⁸과 동일하게 두가지 방법 즉 PGF_{2α}, estrone, estradiol-17β, PMSG, HCG를 투여하여 발정을 유기시킨 處理 A와 PMSG, HCG를 투여하여 발정을 유기시킨 處理 B로 나누어 실시하였으며 estrone 및 PMSG 투여 첫날을 實驗開始日(day 0)로 하였다.

發情의 確認 및 交配: 가. 陰唇橫徑의 計測: 武石 등¹⁹의 방법에 준하여 음순부횡경의 最大幅을 측정하였다.

나. 發情出血의 확인: 약제처리 10일전부터 발정이 종료될 때까지 매일 出血色, 出血量, 粘度 등을 육안적으로 관찰하였다.

다. 腔粘液의 檢査: 약제처리 3일 전부터 발정 종료시까지 매일 채취하고 세포의 분류 및 관찰은 Schutte,²⁰⁻²² Christie 등²³의 방법에 준하였으며 약제처리시 性周期 상태의 분류 및 交配適期の 判定에 응용하였다.

라. 수개의 許容反應: 약제처리 개시일부터 매일 9시와 18시에 2회에 걸쳐 교배의 허용여부를 관찰하였다.

마. 交配: 수개를 허용하는 것은 모두 2~5회에 걸쳐 자연교배시켰다.

바. Progesterone 측정: 약제처리 전후의 혈장중 progesterone 농도는 Choi 등²⁸의 방법에 따라 측정하

Table 1. Manifestation of estrus and ovulation after induction of estrus with estrone, PMSG, HCG and estradiol-17 β (treatment A)

Bitch No.	Treatment to onset interval(days)			Duration(days)		Evidence of ovulation
	Vulval swelling	Vaginal bleeding	Male acceptance	Proestrus	Estrus	
101	4	8	20	12	9	Neg*
102	4	12	21	9	6	Neg
103	4	16	20	4	4	Neg
104	4	7	13	6	22	Neg
105	3	11	19	8	16	Neg
106	4	7	13	6	24	Neg
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	3.8 \pm 0.2	10.2 \pm 1.4	17.7 \pm 1.5	7.5 \pm 1.1	13.5 \pm 3.4	

* Negative: Lack of plasma progesterone and ovarian structures.

Table 2. Comparison of the results obtained after induction of estrus with PMSG and HCG in each phase of the estrous cycle (treatment B)

Estrous* cycle	Bitch No.	Treatment to onset interval(days)			Duration(days)		Evidence of ovulation
		Vulval swelling	Vaginal bleeding	Male acceptance	Proestrus	Estrus	
Premature	209	7	5	12	7	10	Neg**
	210	5	5	13	8	14	Neg
	213	7	6	18	10	18	Neg
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	6.3 \pm 0.7	5.3 \pm 0.3	14.3 \pm 1.9	9.0 \pm 1.5	14.0 \pm 2.3	
Metestrus	211	4	6	14	8	22	Neg
	212	7	8	14	6	20	Neg
	214	5	3	8	5	24	Neg
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	5.3 \pm 0.9	5.7 \pm 1.5	12.0 \pm 2.0	6.3 \pm 0.9	22.0 \pm 1.2	
Anestrus	201	6	9	13	4	9	Neg
	202	8	4	11	7	9	Pos***
	203	9	9	13	4	7	Pos
	204	7	5	12	7	10	Pos
	205	4	5	12	7	14	Neg
	206	—	—	11	—	10	Pos
	207	7	6	14	8	14	Pos
	208	5	7	17	10	14	Pos
	215	6	5	11	6	24	Pos
	311	5	2	7	5	11	Pos
	312	3	—	8	—	9	Pos
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	5.5 \pm 0.8	4.7 \pm 0.9	11.7 \pm 0.8	5.3 \pm 0.9	11.9 \pm 1.4	
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	5.6 \pm 0.5	5.0 \pm 0.6	12.2 \pm 0.2	6.1 \pm 0.7	14.1 \pm 1.4		

* Estrous cycle of bitches before induction of estrus.

** Negative: Lack of plasma progesterone and ovarian structures.

*** Positive: Increased plasma progesterone and ovarian structures.

Table 3. Ovarian response after induction of estrus with PMSG and HCG in premature, metestrous and anestrus bitches (treatment B)

Estrous* cycle	Bitch No.	Days of laparotomy after estrus	Ovarian structure			Total number of CL	No. embryos recovered	
			Ovary	CL	Follicle 5mm		per ovary	per head
Premature	209	11	L	2	0	2	0	0
			R	0	0		0	
	210	16	L	0	0	0	0	0
			R	0	0		0	
	213	12	L	0	0	0	0	0
			R	0	0		0	
Metestrus	211	14	L	0	0	0	0	0
			R	0	0		0	
	212	13	L	1	0	5	0	0
			R	4	0		0	
	214	11	L	21	0	33	0	0
			R	12	0		0	
Anestrus	201	14	L	14	0	29	0	0
			R	15	0		0	
	202	16	L	6	0	20	3	14
			R	14	0		11	
	203	14	L	8	0	13	6	10
			R	5	0		4	
	204	15	L	9	0	19	4	9
			R	10	0		5	
	205	13	L	6	0	16	0	0
			R	10	0		0	
	206	18	L	19	0	39	4	10
			R	20	0		6	
	207	15	L	8	0	21	2	7
			R	13	0		5	
	208	13	L	6	0	16	4	11
			R	10	0		7	
	215	16	L	14	0	24	11	20
			R	10	0		9	
311	16	L	18	0	33	7	12	
		R	15	0		5		
312	17	L	20	0	38	9	17	
		R	18	0		9		
$\bar{X} \pm \text{SEM}$						24.4+2.7	12.2+1.4	

* Estrous cycle of bitches before induction of estrus.
CL: corpus luteum, L: left ovary, R: right ovary

였으며 약제처리시 犬의 性周期 상태의 분류 및 배란 유무의 관정에 응용하였다.

卵巢反應의 調査: 발정발현 후 11일에서 18일 사이에 전신마취하에서 정중선 절개에 의하여 開腹術을 실시하였다. 卵巢 및 子宮을 노출시켜 卵巢囊을 절개한 후 卵巢의 상태 특히 排卵點, 黃體形成, 卵胞의 존재를 검사하였다.

受精卵의 回收 및 鑒檢: 卵子는 子宮角灌流法으로 회수하였으며, 灌流液으로는 非動化처리된 개의 혈청 10%를 첨가한 PBS(Dulbecco's phosphate-buffered saline solution, pH: 7.3)를 한쪽 子宮角을 관류하는데 20ml씩 사용하였다. 卵의 검사로는 회수한 灌流液이 든 시험관을 37°C 부란기에서 15~30분간 정지한 다음 해부현미경 10배에서 卵子를 채취하여 回收卵의

Table 4. Induction of estus with PMSG and HCG (treatment B) and subsequent fertility in anestrus bitches

Bitch No.	Treatment to onset interval(days)			Duration(days)		Pregnancy	Litter size
	Vulval swelling	Vaginal bleeding	Male acceptance	Proestrus	Estrus		
301	4	9	11	2	5	—	
303	6	4	11	7	2	+	2
304	5	9	13	4	3	—	
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	5.0±0.6	7.3±1.7	11.7±0.7	4.3±1.5	3.3±0.9		

형태를 50~100배에서 검사하였다.

結 果

處理 A의 發情誘起 效果: 약제처리후 임상적 발정 증상의 발현개시일과 발정기의 기간, 혈중 progesterone 値와 난소구조물의 존재에 의거한 배란 유무에 관한 것을 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 약제처리 개시일로 부터 陰唇腫大는 3.8±0.2일로 나타났으며, 發情出血을 지표로 한 發情前期 개시일은 10.2±1.4일, 수캐에 대한 교배 허용을 지표로 한 발정기 개시일은 17.7±1.5일에 나타났다. 배란은 혈중 progesterone 値가 낮은 수준을 나타내고 卵巢에 구조물이 없는 것으로 보아 인정되지 않았다.

處理 B의 發情誘起 效果: 가. 약제처리시 犬의 性周 期 상태에 따른 발정발현, 발정지속일수 및 배란: 未經 産犬, 發情後期 및 無發情期 犬으로 구분하여 약제처리 후 임상적 발정증상의 발현 개시일과 발정기의 기간, 혈중 progesterone 値와 난소구조물의 존재에 의거한 배란 유무에 관한 것을 비교 검토한 결과는 Table 2 와 같다. 약제처리 개시일로 부터 陰唇腫大는 5.6± 0.5일, 發情前期 개시일은 5.0±0.6일, 發情期 개시일 은 12.2±0.2일에 나타났으며 발정전기와 발정기의 기 간은 각각 6.1±0.7일, 14.1±1.4일이었다. 未經産犬 에서는 陰唇腫大의 개시일이 6.3±0.7일로 전체 5.6± 0.5일에 비하여 늦게 나타났으며 발정개시일도 14.3± 1.9일로 전체 12.2±0.2일에 비하여 늦게 나타난 반면 發情前期의 기간은 9.0±1.5일로 전체 6.1±0.7일보다 길게 나타났다. 한편 發情後期 犬에서는 발정기의 기 간이 22.0±1.2일로 전체 14.1±1.4일보다 현저히 긴 양상을 보였으며 無發情期 犬의 경우 발정기의 기간이 11.9±1.4일로 未經産犬 및 發情後期 犬에 비하여 짧 게 나타났다.

약제처리후 5일에서 20일 사이의 혈중 progesterone 値의 상승과 난소 구조물 특히 황체의 확인에 의하여

17두중 9두에서의 배란이 인정되었다. 한편 실험견 중 3두(No. 201, 212, 214)는 난소 구조물은 존재하였으나 혈중 progesterone 値가 낮은 수준을 나타내어 배란 이 일어나지 않는 것으로 하였다(Table 2, Table 3).

나. 發情誘起犬의 性周 期에 따른 난소반응과 卵회수 성적: 處理 B에서 약제처리시 犬의 성주기상태 즉 未 經産犬, 發情後期 및 無發情期 犬으로 구분하여 난소 반응 특히 황체의 존재와 회수된 卵의 수를 나타낸 결 과는 Table 3과 같다. 난소반응 특히 황체형성은 未經 産犬 3두중 1두에서, 發情後期 犬 3두중 2두에서 인정 되었으나 無發情期 犬에서는 11두 모두가 황체를 형성 하였다. 未經産犬, 發情後期 犬에서는 황체형성이 인 정된 경우에도 卵이 회수되지 않은 반면 無發情期 犬 에서는 11두중 2두를 제외한 9두에서 평균 12.2±1.4 개의 卵이 회수되었다.

다. 發情誘起에서 分娩까지의 결과를 본 無發情期 犬 에서의 임상적 발정증상, 발정기간, 受胎, 分娩: 處理 B로 발정을 유지시켜 開腹하지 않고 분만까지의 과정 을 관찰한 無發情期 犬의 3두중 1두가 수태되어 仔犬 2두를 분만하였다(Table 4).

考 察

人工的 發情誘起犬에서는 發情前期의 기간이 보고 자^{3,9-13}에 따라 4~16일로 다양한데 이를 Chaffaux 등¹³ 은 犬의 내분비 생리가 특이하고 性周 期 상태의 차이가 커서 실험결과가 보고자에 따라 다르다고 하였다. 본 실험 處理 A에서의 發情前期 및 發情期の 기간은 7.5± 1.1일과 13.5±3.4일이었으며(Table 1), 處理 B에서는 각각 6.1±0.7일과 14.1±1.4일이었는데(Table 2) 이를 自然發情 犬에서의 보고^{23,29-32}와 비교하여 보면 發情 前期는 짧은 반면 發情期는 긴 편이었다. 한편 PMSG 와 HCG를 사용하여 발정을 유지시킨 Thun 등¹⁰은 발 정개시일이 12.3±0.3일로서 본 실험 處理 B의 12.2 ±0.2일과 거의 일치하는 결과를 보였다(Table 2).

Takeishi 등¹⁴은 無發情期 犬 7두에 estrone(총량 300~3,000 μ g), PMSG(200~400IU)와 HCG(1,000MU)를 투여한 결과 6두가 임신되어 그 중 5두가 정상 仔犬을 분만하였다고 보고한 바 있는데 본 실험의 處理 A의 경우 陰脛腫大, 發情出血, 교배허용 등 외부적 發情症狀는 6두 전부가 발현되었으나, 혈중 progesterone치가 自然發情 때³³⁻³⁵ 보다 낮은 수준을 나타내고 난소에 구조물이 없는 것으로 보아 배란은 수반하지 않았다. 이는 호르몬 즉 estrone 처리를 시작했을 때의 實驗犬의 性周期 상태가 대부분 發情後期 및 無發情前期에 해당되었기 때문이라 사료된다.

Thun 등¹⁰과 Chaffaux 등¹³은 호르몬 투여시 性周期 상태에 따라 PMSG와 HCG 處理에 대한 발정유기효과는 차이를 나타낼 뿐만 아니라 같은 성주기 상태하에서도 그 투여용량에 따라 발정유기효과가 다르게 나타난다고 하였다. Archbald 등¹¹은 PMSG의 경우 피하 주사한 것보다 근육 주사하여 좋은 성적을 얻었다고 하였는데 타보고자^{3, 10-13}의 결과와 본 실험의 전례에서 발정을 발현한 성적과 일치하였다.

한편 卵巢反應을 검사하기 위해서는 犬에서는 卵巢가 특이하게 卵巢囊에 싸여 있으므로 卵巢囊을 절개한 후 卵巢를 노출시켜야 관찰이 가능하고¹⁷ 開腹時에 육안적으로 黃體數의 관찰이 어려운 상태이어서 타보고자^{11, 36} 들은 黃體數와 回收卵數에 따른 排卵率 및 卵回收率을 측정하지 않았으나, 본 실험에서는 Table 3에서 보는 바와 같이 黃體數와 回收된 卵자의 數가 대체적으로 비례함을 볼 수 있었다.

Nakao 등³은 誘起發情에 있어서 임신되지 않은 예에서는 黃體期가 自然發情의 것에 비하여 현저히 짧아 發情誘起에서의 낮은 受胎率은 黃體機能異常이라고 추정하고 있는데, 본 실험의 경우 Table 2 및 Table 3에서 보는 바와 같이 실험견중 3두(No. 201, 212, 214)는 황체는 존재한 반면 혈중 progesterone值的 현저한 증가가 없고 난자의 회수가 없는 것으로 보아 배란되지 않은 것으로 확인되었다. 康 등¹⁸은 본 실험과 동일한 발정유기 방법에서 임상적 발정증상 및 질세포 소견을 중심으로 한 인공적 발정의 유기는 발정유기때의 性周期에 관계없이 인정되었다고 하였으며, Evans³⁸은 호르몬제의 투여에 의하여 발정만을 유기하는 것은 性周期의 상태에 구분없이 되나 수태를 위해서는 발정 후 4개월 이상 경과한 경우에서만 기대할 수 있다고

하였다. 또한 약제처리시 犬의 性周期 상태 즉 未經產犬, 發情後期 및 無發情期 犬 등을 알고 발정유기시킨 연구보고^{3, 12, 13}에서도 無發情期 犬에서 난소반응 및 수태율에 좋은 결과를 보였다. 이는 본 실험에서 未經產犬, 發情後期犬의 경우 임상적 발정증상은 발현되었으나 난소반응의 성적이 낮고 배란을 수반하지 않은 반면 無發情期 犬에서는 난소반응이 모두에서 확인되었고 11두중 9두에서 평균 12.2개의 卵을 회수한 성적과 일치하는 결과를 보였다.

본 실험에서 얻어진 성적을 종합하여 보면 임상적 발정징후 즉 음순증대, 발정출혈, 교배허용 등은 실험견 성주기의 상태에 구분없이 유기되었으나 난소반응 및 난회수 성적, progesterone 수준 등을 비교 검토한 바 誘起發情에서 배란을 기대하기 위해서는 호르몬 투여시 실험견의 성주기 상태가 발정이 있는 다음 최소한 4개월 또는 그 이상 경과한 것을 대상으로 하여야 될 것으로 사료된다.

結 論

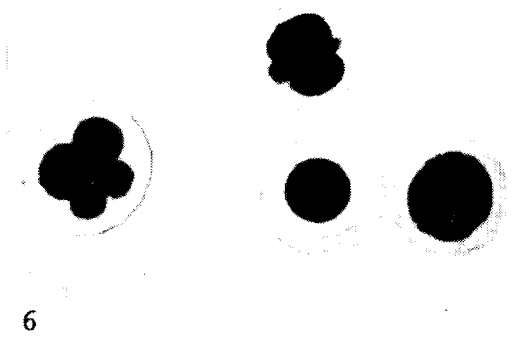
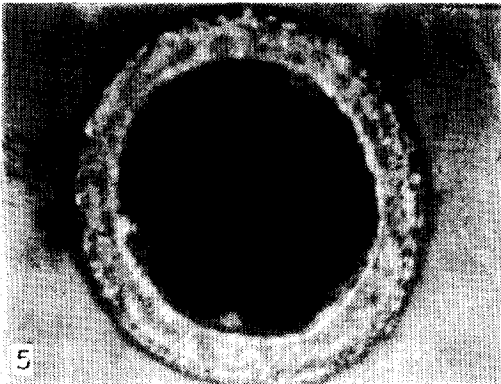
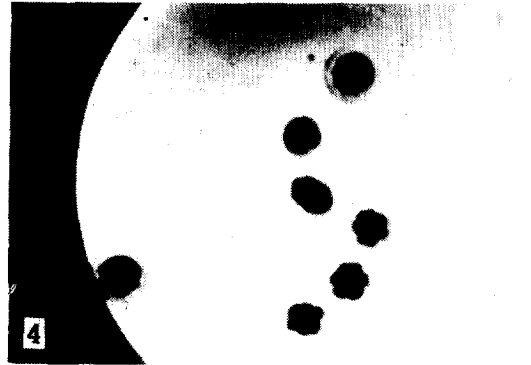
未經產犬, 發情後期 및 無發情期 犬을 대상으로 PG-F₂ α , estrone, estradiol-17 β , PMSG, HCG를 투여하여 發情을 誘起시킨 處理 A와 PMSG, HCG를 투여하여 發情을 誘起시킨 處理 B에서 發情發現 및 卵巢反應, 受精卵 및 受胎 성적을 검토한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 處理 A에서는 供試動物 6두 모두가 estrone 처리개시 후 17.7 \pm 1.5일에 交配를 허용하였으나 卵巢反應은 인정되지 아니하였다.

2. 處理 B에서는 供試動物 17두 모두가 PMSG 처리개시 후 12.2 \pm 0.2일에 交配를 허용하였고 17두중 14두에서 卵巢反應이 확인되었으며 그중 9두에서 卵자가 회수되었다.

3. 處理 B에서 卵巢反應 및 卵回收 성적을 비교 검토하였던 바 未經產犬에서는 3두중 1두, 發情後期 犬에서는 3두중 2두에서 그리고 無發情期 犬에서는 11두 모두에서 黃體가 인정되었으며 그중 9두에서 평균 12.2 \pm 1.4개의 卵자가 회수되었다.

4. 處理 B에서 開腹하지 않고 分娩 성적을 관찰하였던 無發情期 犬의 3두중 1두가 受胎되어 仔犬 2頭를 분만하였다.



Legends for figures

- Fig 1.** Canine ovaries with corpora lutea in treatment B.
Fig 2. Canine ovary without functional structure in treatment A.
Fig 3. Cross section of canine ovaries with corpora lutea.
Fig 4. Canine embryos recovered from treatment B. $\times 50$
Fig 5. Morula recovered from a bitch in treatment B. $\times 400$
Fig 6. Degenerated ova recovered from a bitch in treatment B. $\times 100$

参 考 文 献

1. Shille VM, Stabenfeldt GH. Clinical reproductive physiology in dogs. In: Morrow DA, ed. *Current Therapy in Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1980;571~574.
2. 武石昌敬. 雌犬の性周期に伴う生殖器変化. 家畜繁殖誌 1982;28:6~11.
3. Nakao T, Aoto Y, Fukushiima S, et al. Induction of estrus in bitches with exogenous gonadotrophins, and pregnancy rate and blood progesterone profiles. *Jpn J Vet Sci* 1985;47(1):17~24.
4. Heap W. The sexual season of mammals and the relationship of "pro-estrus" to menstruation. Part I. *Quart J Micro Sci* 1900;44:1.
5. Britt JH. Induction and synchronization of ovulation. In: Hafez ESE, ed. *Reproduction in Farm animals*. 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987;507~516.
6. Hafez ESE. Embryo transfer. IVF and genetic engineering. In: Hafez ESE, ed. *Reproduction in Farm animals*. 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987;528~570.
7. Kinney GM. *Embryo collection and transfer in the dog*. MS. Thesis, Texas: Texas A & M University, 1979.
3. Kinney GM, Pennycook JW, Schriver MD, et al. Surgical collection and transfer of canine embryo. *Biol Reprod Suppl* 1979;1. 20. 96A.
9. Takeishi M, Akai R, Tsunekane T, et al. Studies the reproduction in the dog. A trial of ova transplation in dogs. *Jpn J Anim Reprod* 1980;26:151~153.
10. Thun R, Watson P, Jackson GL. Induction of estrus and ovulation in the bitch, using exogenous gonadotropins. *Am J Vet Res* 1977;38:483~486.
11. Archbald SF, Baker BA, Cloonyy LL, et al. A surgical method for collecting canine embryos after induction of estrus and ovulation with exogenous gonadotropins. *Vet Med Small Anim Clin* 1980;22~238.
12. Wright PJ. The induction of estrus and ovulation in the bitch using pregnant mare serum gonadotropins. *Australian Vet J* 1980;56:137~140.
13. Chaffaux S, Locci D, Pontois M, et al. Induction of ovarian activity in anestrus beagle bitches. *Br Vet J* 1984;140:191~195.
14. Takeish. M, Yukio K, Takashi M, et al. Studies on reproduction in the dog. XI. Induction of estrus by hormonal treatment and results of the following insemination. *Jpn J Anim Rep* 1976;22:71~76.
15. Drost M. Embryo transfer in dogs and cats. In: Roberts SJ, ed. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases. Theriogenology*. 1986;938~939.
16. 武石昌敬. イスの受精卵(胚)移植技術. 臨床獣醫 1985;3:64~68.
17. Kreamer DC, Bowen MJ. Embryo transfer in laboratory animals. In: Morrow DA, ed. *Current therapy in Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1986;73~78.
18. 康炳奎, 崔漢善, 羅鎮洙 等. 人工的發情誘起犬の腔細胞像에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 1988;28:203~211.
19. 武石昌敬, 柳田美俊, 常包正. イスの繁殖に關する 研究. 3. 陰唇部 斷徑の變化による 排卵時期の 診斷について. 獸畜報 1974;623:21~27.
20. Schutte AP. Canine vaginal cytology I. Technique and cytological morphology. *J Small Anim Pract* 1967;8:301~306.
21. Schutte AP. Canine vaginal cytology II. Cyclic changes. *J Small Anim Pract* 1967;8:307~311.
22. Schutte AP. Canine vaginal cytology. III. Compilation and evaluation of cellular indices. *J Small Anim Pract* 1967;8:313~317.
23. Christie DW, Bailey JB, Bell ET. Classification of cell types in vaginal smears during the canine oestrous cycle. *Br Vet J* 1972;128:301~309.
24. Newberry WE, Gier HT. Determination of breeding time in bitch from vaginal smear. *Vet Med* 1952;47:390~392.
25. Schutte AP. Practical aspects of A.I. in dogs II: Insemination of the bitch. *JS Afr Vet Med Ass* 1965;36:349~354.
26. Dore MA. The value of vaginal smears in

- determining ovulation and optimum breeding time in the bitch. *Irish Vet J* 1978;54~60.
27. Dreier HK. Bestimmung des deckzeitpunktes bei der Hündin. *Kleintierpraxis*. 1978;23:263~268.
 28. Choi HS, Bamberg E, Mostl E, et al. Progesterone, 17 α -hydroxyprogesterone, androgens and oestrogens in bovine ovarian cysts. *Ani Rep Sci* 1982;5:175~179.
 29. Bell ET, Bailey JB, Christie DW. Studies on vaginal cytology during the canine oestrous cycle. *Res Vat Sci* 1973;14:173~179.
 30. Tsutsui T. Studies on the reproduction in the dog. III. Observation of vaginal smear in estrous cycle. *Jpn J Anim Reprod* 1975;21:37~42.
 31. Tsutsui T. Studies on the reproduction in the dog. *Jpn J Anim Reprod* 1977;23:41~46.
 32. 筒井敏彦. 犬の排卵と受精可能期間. *家畜繁殖誌* 1982;28:18~21.
 33. Concannon PW, Powers ME, Holder W. et al. Pregnancy and parturition in the bitch. *Biol Reprod* 1977;16:517~526.
 34. Concannon P, Hansel W, McEntee K. Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with pre-ovulatory luteinization in the bitch. *Biol Reprod* 1977;17:601~613.
 35. Smith MS, McDonald LE. Serum levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle, pseudopregnancy and pregnancy in the dog. *Endocrinology*. 1974;94:404~412.
 36. Sokolowski JH. Normal events of gestation in the bitch and methods of pregnancy diagnosis. In: Morrow DA, ed. *Current therapy in Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1980; 590~594.
 37. Evans LE. Induction of estrus in the bitch. In: Morrow DA, ed. *Current therapy in Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1980; 618~620.