

체외수정란에서 유래한 송아지의 생존에 미치는 각종 요인들

박 용 수[†] · 박 흠 대¹
경상북도 축산기술연구소

Effects of Various Factors on Viability of Calves Derived from Embryos Produced *In Vitro*

Y. S. Park[†] and H. D. Park¹

Kyongbuk Livestock Research Institute

SUMMARY

This study was conducted to investigate the effects of various factors such as recipient parity, delivery season, offspring number, pregnancy period, delivery type, midwifery type and dystocia, on the viability of calves derived from embryos produced *in vitro*. There was no difference in the abnormality of calves among treatments (0~25%, respectively). The incidence of a disease was significantly higher in delivered by multiparous (40%) than nulliparous (9.9%), in eutocia than dystocia group, in delivered on spring (20.4%) and winter (22.7%) than summer (4.3%) and autumn (0%), in single offspring (18.4%) than twin offsprings (6.7%), and in eutocia group (17%) than dystocia (2.7%), respectively ($p<0.05$). The rate of mortality was significantly higher when transferred into nulliparous (22.3%) than multiparous(0%), when were delivered within 270 day (53.3%) than over 270 day (14.3~16.1%), when were dystocia (41.7%) than eutocia (14.1%) group, when were induced delivery (44.4%) than self-delivery (18.1%), when were non-midwifery (34%) than midwifery (10.8%), and when delayed midwifery (31.6%) than earlier midwifery (11.5%), respectively ($p<0.05$). The present study suggested that the proper treatment of parturition may be increased the viability of calves derived from *in vitro*.

(Key words : calves, viability, recipient parity, delivery, pregnancy)

서 론

한우의 개체 증식과 젖소 농가의 생산성 향상을 위해서 체외수정란 이식을 이용한 산업화를 추구하고 있다. 지금까지 실험실에서 수정란의 생산성 향상과 시술자의 이식 수태율 향상 연구를 통해서 안정적인 수정란의 생산과 이식이 가능하게 되었으나, 산업화의 궁극적인 목적인 송아지 생산과 생

존율에는 해결해야할 여러 가지 문제점이 있다. 특히 태아의 기형에 의한 분만 장애 및 송아지의 질병과 생존율 향상에 관한 연구가 부족할 실정이다.

체외 수정란의 문제점 중에서 하나인 송아지의 기형(Agca 등, 1998)은 인공수정과 체내 수정란이 2% 이하인 것에 비하여 체외 수정란은 3.2~5.2%로서 높은 수준이다(Kruij 등, 1997; Leeuw 등, 1998). 한편 체외 수정란에서 유래한 송아지에서

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

¹ 대구대학교 식품생명공학부(Division of Life Food and Biotech, Daegu University)

[†] Correspondence : E-mail : pys0112@chollian.net

사지 기형과 마비, 척추 이상, 소뇌 형성 부전 및 다발성 근괴사증과 같은 기형이 복도되었다(Kruij 등, 1997; Leeuw 등, 1998; Schmidt 등, 1996). 또한 Neospora caninum 및 Bovine viral diarrhoea virus의 감염에 의해서도 기형이 발생하였다(Bjorkman 등, 1996, 2000; Kovacs 등, 2003).

체의 수정란 유래 송아지의 폐사율이 16~50% (Behboodi 등, 1995; Hasler 등, 1995)로서, 체내 수정란 유래 송아지의 9%(King 등, 1985)보다 높은 수준이고, 국내에서도 체외 수정란에서 유래한 송아지의 폐사율이 체내 수정란의 것에 비하여 높았다(박, 2004). 한편 폐사의 유형별로는 사산(Schmidt 등, 1996) 및 분만 사고(Numabe 등, 2000)에 관한 보고가 있으나, 질병에 의한 폐사율은 보고가 거의 없었다.

본 연구는 체외 수정란에서 유래한 한우 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 각종 요인들을 분석하여 체외 수정란에서 유래한 송아지의 생존율을 향상시키고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 배양액

본 연구에 사용된 배양액 중 난소로부터 난포란의 세척 및 회수용은 25mM HEPES와 3mg/ml BSA(Sigma, A6003)가 첨가된 Hepes-TALP 용액, 체외 성숙용은 0.2mg/ml pyruvate(Sigma, P3662), 1 μ g/ml FSH(Sigma, F8174), 10 μ g/ml LH(Sigma, L9773) 및 10% FBS(Sigma, F0643)가 첨가된 TCM-199(Gibco, 12340-030) 용액, 체외 수정용은 6mg/ml BSA와 10 μ g/ml heparin(Sigma, H3149)이 첨가된 TALP 용액, 체외 배양용은 3mg/ml BSA 또는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액을 각각 이용하였다. 그리고 실험에 제공되는 배양액의 미세 소적은 mineral oil(Sigma, M8410)을 도포하여 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 최소한 4시간 이상 평형을 하였다.

2. 난포란의 회수 및 체외성숙

도축 한우에서 난소를 적출하여 25 μ g/ml gentamycin(Sigma, G1264)이 첨가된 0.9% 생리식염수(30~33 $^{\circ}$ C)가 들어있는 보온병에 담아 2~3시간에

실험실로 운반하였다. 수집된 난소는 penicillin G (Sigma, P3032)가 첨가된 생리식염수로 3~4회 세척하여, 18G 주사침이 부착된 10ml 주사기를 이용하여 직경 2~8mm의 가시난포로부터 난포란을 회수하였다. 회수된 난포란은 실제현미경하에서 난구세포의 부착상태가 치밀한 것만을 선별하여, 50 μ l의 체외 성숙용 배지에 15개 난포란을 옮겨 22시간 동안 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다.

3. 체외수정

한우 동결정액 1개를 실온에서 10초간, 37 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 30초간 처리하여 용해한 후 90% percoll(Sigma, P4937) 2ml 용액이 담겨져 있는 15ml 원심분리관(Corning, 430052)에 조심스럽게 넣은 후 700g에서 20분간 원심분리 후 하층부의 정자 과만을 회수하여, 2ml의 신선 체외수정 용액으로 350g에서 다시 10분간 원심 분리함으로써 정자를 세척하였다. 그리고 정자 농도는 25 \times 10⁶ sperms/ml가 되도록 조절하여, 15개씩의 난포란이 함유되어져 있는 46 μ l의 체외 수정 용액에 heparin 2 μ l와 정자 2 μ l를 각각 첨가하여(최종 정자농도 1 \times 10⁶ sperms/ml) 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에 20시간 동안 배양함으로써 체외 수정을 유도하였다.

4. 체외 배양

체의 수정 후 실제 현미경하에서 형태적으로 정상이라고 판단된 수정란만을 회수하여, 15개씩의 수정란(배양 1일)을 3mg/ml BSA가 첨가된 CR1aa 용액 20 μ l에 넣고, 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, 배양 3일째와 5일째에는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액으로 교환하여 배양하였다.

5. 배반포의 이식

수란우는 2003년 3월부터 2004년 3월까지 경상북도 경산, 영천, 성주, 달성, 청도, 칠곡, 대구 및 상주 지역의 젖소 사육 농가에서 사육중인 홀스타인을 이용하였다. 수정란 이식은 준비된 한우 배반포(2개/straw)를 비외과적 이식기(MVE, France)에 장착하여 황체가 존재하는 자궁각에 이식하였다.

6. 기형, 질병 및 폐사율 조사

1) 기형

출생 직후 신생축의 신체 검사에서 임상적으로 현저한 기능 장애나 이상이 있는 경우를 기형으로 판정하였다.

2) 질병

분만 후 24시간 이후 식체, 하리 및 호흡기 계통의 이상으로 1회 이상 치료를 요하는 경우를 질병이 발생한 것으로 하였다.

3) 폐사율

분만 후 60일령 이전에 사산, 분만 이상 및 질병에 의한 폐사를 모두 포함하였다.

7. 통계처리

실험 결과에 대한 통계학적 분석은 χ^2 -test를 이용하였고, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

체외 수정란을 이식한 수란우의 산차가 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 1과 같다. 수란우의 산차에 따른 기형율은 비슷한 경향이었다(4.1 및 0.0%). 그러나

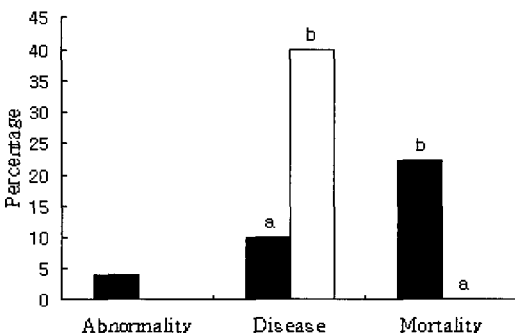


Fig. 1. Effects of recipient parity on the abnormality, disease and viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos (■ Nulliparous, □ Multiparous).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

질병 발생율은 경산우에서 유래한 송아지가 40.0%로서 미경산우의 9.9%보다 높았으나, 폐사율은 오히려 미경산우가 22.3%로서 경산우의 0%보다 높았고 유의차가 인정되었다($p < 0.05$).

체외 수정란을 이식한 수란우의 분만 계절이 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 2와 같다. 기형율은 봄, 여름, 가을 및 겨울에 태어난 송아지가 각각 5.6, 4.3, 0 및 0%로서 유사한 경향이었다. 질병 발생율은 봄과 겨울(20.4 및 22.7%)이 여름 및 가을의 4.3 및 0%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 폐사율은 봄, 여름, 가을 및 겨울이 각각 25.9, 17, 15.4 및 13.6%로서 비슷하였다.

체외 수정란이 이식된 수란우의 태아 산자수가 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. 단태와 쌍태 송아지의 기형율은 3.9 및 3.3%로서 비슷하였다. 질병 발생율은 단태가 18.4%로서 쌍태의 6.7%에 비하여 유의하게 높았다($p < 0.05$). 폐사율은 단태가 14.5%로서 쌍태의 26.7%보다 낮은 경향이었으나 유의차는 인정되지 않았다.

체외 수정란을 이식한 수란우의 임신기간이 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 4와 같다. 기형율은 임신 기간에 따라 1.1~13.3%, 질병 발생율도 11.8~17.9%로서 유사한 경향이었다. 그러나 폐사율은 270일

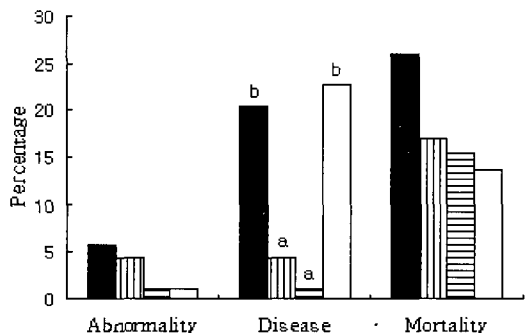


Fig. 2. Effects of delivery season on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos (■ spring, ▨ summer, ▩ autumn, □ winter).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

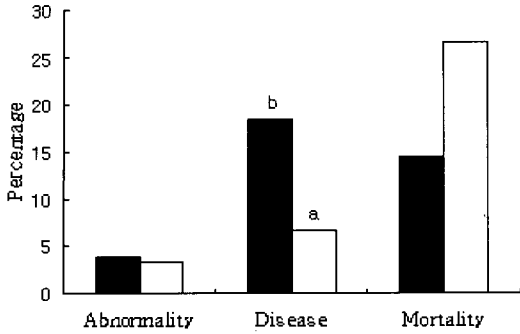


Fig. 3. Effects of offspring number on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ single, □ twins).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

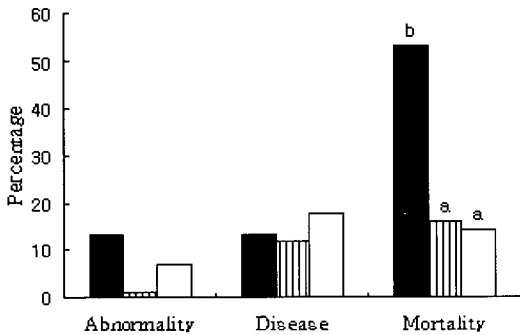


Fig. 4. Effects of pregnancy period on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ ≤ 270, ▨ 271~281, □ ≥ 282).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

령 미만이 53.3%로서 271~281일령 및 282일령 이상의 16.1% 및 14.3%에 비하여 유의하게 높았다.

체의 수정란을 이식한 수란우의 분만 형태가 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 5와 같다. 기형율이 정상 분만 및 난산에서 각각 2 및 8.3%로서 비슷한 경향이였다. 그러나 질병 발생율은 정상 분만이 17% (17/85두)로서 난산의 2.7%(1/21)보다 유의하게 높았으나, 폐사율은 오히려 난산이 41.7%(15/21두)로서 정상 분만의 14.1%(12/85)보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).

체의 수정란을 이식한 수란우의 분만 유도 방법이 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는

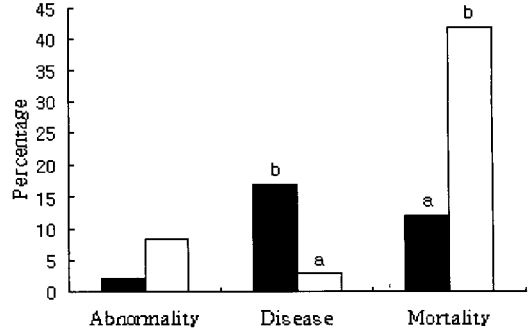


Fig. 5. Effects of delivery type on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ eutocia, □ dystocia).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

효과를 검토한 결과는 Fig. 6과 같다. 기형율은 자연 분만이 2.4%였고 유도 분만은 22.2%로서 유도 분만이 높은 경향이였으나 유의차는 인정되지 않았다. 질병 발생율은 13.4 및 11.1%로서 유사한 경향이였다. 한편 폐사율은 유도 분만의 것이 44.4%로서 자연 분만의 18.1%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).

체의 수정란을 이식한 수란우의 분만 형태가 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 7과 같다. 기형율은 미처치 및 견인 군에서 각각 5.7 및 2.4%, 질병 발생율은 18.9 및 9.6%로서 유사한 경향이였다. 그러나 폐사율은 미처치군이 34%로서 견인군의 10.8%와 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

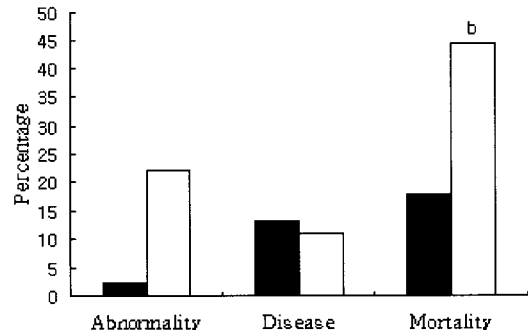


Fig. 6. Effects of induced delivery type on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ Self-delivery, □ PGF₂α).

^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

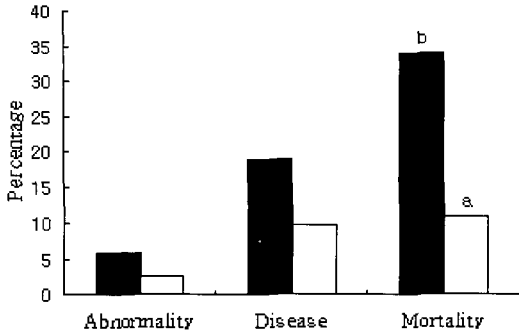


Fig. 7. Effects of midwifery type on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ Non treatment, □ Traction).
^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p<0.05$).

체외 수정란을 이식한 수란우의 분만 처치 시기가 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 8과 같다. 대조군인 적기 처치군과 지연 처치군의 기형율과 질병 발생율이 각각 2.6, 9% 및 5.3, 19.3%로서 비슷하였다. 그러나 폐사율은 지연 처치군이 31.6%로서 적기 처치군의 11.5%에 비하여 유의하게 높았다($p<0.05$).

체외 수정란을 이식한 수란우의 난산 처치 방법이 태어난 송아지의 기형, 질병 및 생존에 미치는 효과를 검토한 결과는 Fig. 9와 같다. 기형율, 질병 발생율 및 폐사율이 수기적인 정복군은 각각 6.9, 3.4 및 48.3%였고, 제왕절개 군에서는 25, 0 및 25%로서 비슷한 경향이였다.

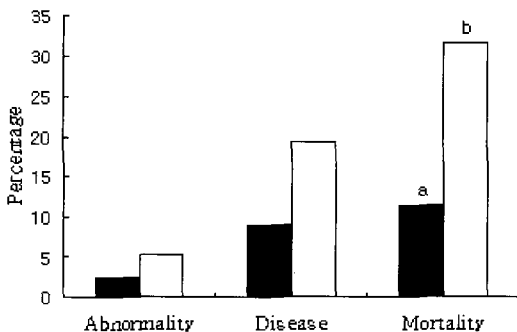


Fig. 8. Effects of midwifery time on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ optimum, □ delayed).
^{a,b} Values in the same columns with different superscripts were significantly different($p<0.05$).

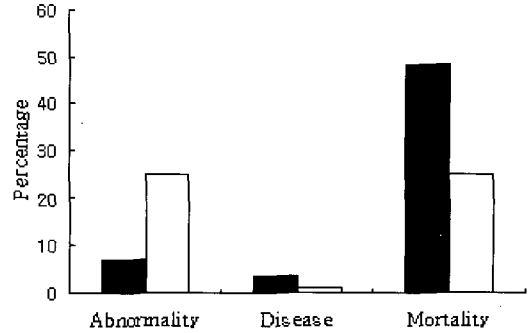


Fig. 9. Effects of treatment techniques for dystocia on the viability of offsprings produced from Korean Native Cow embryos(■ correction, □ caesarean-section).

고 찰

본 연구는 체외 수정란에서 유래한 한우 송아지의 생존에 미치는 각종 요인들을 분석하여 체외 수정란을 이용한 수정란이식과 송아지 생산의 효율성을 향상시키고자 실시하였다.

체외 수정란을 이용한 산업화의 문제점 중에서도 하나가 송아지 기형이다(Agca 등, 1998). 인공수정과 체내 수정란의 기형율이 0.7~2.2%인 것에 비하여 체외 수정란은 3.2~5.2%로서 높은 수준이었다(Kruip 등, 1997; Leeuw 등, 1998). 특히 양막수종의 발생율은 체외 수정란을 이식한 수란우가 인공수정에 비하여 약 37.5배 높았다(Sloss 등, 1980; Hasler 등, 1995). 체외 수정란에서 유래한 송아지에 발생한 기형에는 사지 기형과 마비(Kruip 등, 1997), 척추 이상(Leeuw 등, 1998) 및 소뇌 형성 부전과 다발성 근괴사증(Schmidt 등, 1996)이 보고되었다. 한편 복제 수정란에서 유래한 송아지는 심장이상, 관절과 사지 이상 및 거대 장기의 발생 빈도가 높았다(Brown 등, 1996; Garry 등, 1996). 이상과 같은 선천적인 기형에 더하여 Neospora caninum(Bjorkman 등, 1996, 2000) 및 Bovine viral diarrhea virus(Kovacs 등, 2003)의 감염에 의한 기형도 보고되었다. 본 연구에서는 체외 수정란에서 유래한 송아지의 기형율이 평균 3.7%였고 수란우의 산차, 계절, 쌍태 및 분만의 형태, 시기와 처치법에 따른 차이가 없었다. 기형의 형태는 대부분이 사지 관절의

굴곡 및 사지의 단축이었다. 그러나 인공수정의 기형율(1% 미만)에 비해서는 높은 수준이었다. 송아지의 기형은 미경산우에서만 발생하였으며(Fig. 1), 수란우는 분만이 조기 유도되어 임신기간이 단축되었다(Fig. 4), 또한 정상 분만이 어려워 대부분에서 유도 분만이 시도되었고(Fig. 6), 제왕 절개의 비율이 높았다(Fig. 9).

출생 직후 송아지는 외부 병원에 쉽게 노출되고, 특히 감마글로불린이 결핍되어 외부 병원에 높은 감수성을 가지고 있으며, 체외 수정란에서 유래한 송아지의 면역 글로불린 농도가 낮은 수준이다(Schmidt 등, 1996). Rodak 등(1982)과 Crouch 등(2001)은 면역 글로불린의 농도를 증가시키기 위해서는 송아지에 초유가 반드시 급여되어야 한다고 하였다. 본 연구에서 송아지 질병 발생율이 13.2%였고, 질병 발생 경향은 주로 사양 관리 측면에서 젖소에서 태어난 한우 송아지의 관리 방법의 실수로 인한 식체, 설사 등의 소화기 질병이 많이 유발되었다(미발표). 경산우에서 분만된 송아지의 질병 발생율이 높은 것은 의외의 결과로 정확한 원인은 알 수 없으나 미경산우에 비하여 경산우가 유방염에 걸릴 확률이 높고 유방염에 걸린 우유의 급여가 원인인 것으로 생각된다. 분만 형태에 따른 질병 발생 양태는 정상 분만이 난산에 비하여 유의하게 높은 질병 발생율이었다. 계절적으로는 겨울과 봄에 분만한 송아지의 질병 발생율이 높았으며, 외기 온도의 저하로 인한 송아지의 체온 저하가 스트레스로 작용한 것으로 생각된다. 그러나 산자수에서는 의외로 단태인 경우의 질병 발생율이 유의하게 높았다. 따라서 태어난 송아지의 생존율을 높이기 위해서는 수정란 이식시 수정란의 품질과 이식 기법뿐만 아니라, 수란우의 사양 관리 측면인 환경(추위)과 유질(유방염) 관리 및 송아지 생리에 대한 주의 깊은 관찰이 필요하다.

한편 체외 수정란은 체내 수정란에 비하여 낮은 품질로 인하여 수태율이 낮고, 사산율이 증가하였다(Greve 등, 1993). 이는 수정란 생산 단계에서의 배양 조건에 따른 차이라고 하였다(Avery 등, 1995; Farin 등, 1995). 한편 송아지에서 발생하는 사고와 관련된 원인에는 태아의 과체중(Kruij 등, 1997), 기형(Garry 등, 1996), 태반 결함(Jonker, 2004), 태

아의 혈중 glucose와 fructose 농도 저하(Mellor 등, 2004), 산자수(Sakaguchi 등, 2002), 선천적인 면역 결핍증(Schmidt 등, 1996), 양막수종(Heyman 등, 1994) 및 난산이며(Meyer 등, 2001b), 특히 체외수정란 유래 송아지의 과체중이 많고 난산으로 인한 높은 폐사율을 보고하였다(Agca 등, 1998).

체외수정란 유래 송아지의 폐사율이 16~50%(Behboodi 등, 1995; Hasler 등, 1995)이었고, 체내 수정란 유래 송아지는 9%(King 등, 1985)로서 낮은 수준이었다. 국내에서는 박(2004)이 체내, 체외 및 복제 수정란에서 유래한 송아지의 폐사율이 0, 14.3 및 60%라고 하였다. 한편 송아지의 폐사율에는 대부분의 연구에서 사산, 분만 사고 및 질병에 의한 폐사를 모두 포함하였다. 사산율은 체외 수정란이 14%(Schmidt 등, 1996)로서 인공수정의 7%와 체내 수정란의 2%에 비하여 아주 높은 수준이었다(Pedersen, 1991). 분만 사고는 체내 및 체외수정란이 각각 5.1 및 10.1%(Numabe 등, 2000)이었다. 그러나 질병에 의한 폐사율은 보고가 없었다. 본 연구에서 생후 6개월령까지 총 폐사율은 19.9%였고, 이 중에서 사산과 분만 사고는 11.8%였고, 질병에 의한 폐사는 8.1%였다. 폐사축에 대한 개별 진단(미발표)에서 흉막염, 패혈증, 복막염 및 관절염을 확인하였다. 미경산우, 임신기간 270일 미만, 난산, 유도 분만, 분만 보조 없는 경우 및 분만 처치 지연시 폐사율이 높았다. 즉 미경산우, 난산 및 분만 유도, 처치와 보조에서 송아지 생존율이 낮은 것은 분만 사고가 높았기 때문이다. 임신 기간 270일 미만인 경우는 기형인 송아지(13.3%)가 많았기 때문이다. 한편 질병 발생율과 관련이 있는 계절에 따른 폐사율은 비슷한 수준이어서, 질병으로 인한 폐사는 송아지의 생존과 관련성이 낮은 것으로 생각된다.

따라서 본 연구의 결과로부터 수정란 이식의 산업화를 위한 송아지 생존율 향상을 위해서는 수정란 이식에 제공하는 수정란의 품질과 이식 기법뿐만 아니라, 수란우의 사양관리 측면인 환경(추위)과 유질(유방염)관리 및 송아지 생리에 대한 주의 깊은 관찰이 필요하며, 특히 수란우의 적절한 분만 처치가 반드시 수반되어야 할 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 체외수정란에서 유래한 한우 송아지의 생존에 미치는 각종 요인들에 대하여 분석하여 체외수정란을 이용한 수정란 이식과 송아지의 효율성을 향상시키고자 실시하였다. 분만된 송아지의 기형율은 전 시험군에서 비슷한 경향이었다(0~25%). 질병 발생율은 임신 기간, 분만 유도, 분만 처치 방법과 형태 및 난산 처리 방법에 따른 차이가 없었다. 그러나 경산우(40%)가 미경산우(9.9%), 봄과 겨울(20.4 및 22.7%)이 여름과 가을(4.3 및 0%), 단태(18.4%)가 쌍태(6.7%) 및 정상 분만(17%) 이 난산(2.7%)에 비하여 질병 발생율이 유의하게 높았다($p < 0.05$). 한편 폐사율은 분만 계절, 산자 수 및 난산 처치법에 따른 차이가 없었다. 하지만 미경산우(22.3%)가 경산우(0%), 임신기간 270일 미만(53.3%)이 271일 이상(14.3~16.1%), 난산군(41.7%) 이 정상군(14.1%), 유도분만군(44.4%)이 정상군(18.1%), 분만 미처치군(34%)이 처치군(10.8%) 및 분만 처치 지연군(31.6%)이 정상군(11.5%)에 비하여 폐사율이 유의하게 높았다($p < 0.05$). 본 연구를 통하여 체외수정란이 이식된 수란우의 분만이 적절하게 통제되어야만 송아지의 생존율을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Agca Y, Monson RL, Northey DL, Mazni AO, Schaefer DM and Rutledge JJ. 1998. Transfer of fresh and cryopreserved IVP bovine embryos: Normal calving, birth weight and gestation lengths. *Theriogenology*, 50:147-162.
- Behboodi E, Anderson GB, Bondurant RH, Cargih SL, Kreuscher BR, Medrano JF and Murray JD. 1995. Birth of large calves that developed from *in vitro* derived bovine embryos. *Theriogenology*, 44:227-232.
- Björkman C, Alenus S, Emanuelsson ULF and Ugglå A. 2000. *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet. J.*, 159:201-206.
- Björkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl J and Ugglå A. 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J.A.V.M.A.*, 208:1441-1444.
- Brown BW and Radziewicz T. 1996. *In vitro* production of sheep embryos and growth rates of resultant lambs. *Proc. of 13th Int. Congr. Anim. Reprod. Sydney Australia*, 3:P22-16.
- Crouch CF, Oliver S, Hearle DC, Buckley A, Chapman AJ and Francis MJ. 2001. Lactogenic immunity following vaccination of cattle with bovine coronavirus, *Vaccine*, 19:189-196.
- 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.
- Garry FB, Adams R, McCann JP and Odde KG. 1996. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning. *Theriogenology*, 45:141-152.
- Greve T, Avery B and Callesen H. 1993. Viability of *in-vivo* and *in-vitro* produced bovine embryos. *Reprod. Domestic Anim.*, 28:164-169.
- Hasler 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.
- Heyman Y, Chesne P, Thudard JM, Lebourhis D, Marchal J and Nibart M. 1994. Birth of cloned calves after nuclear transfer from sexed embryos. 10th Reunion, A.E.T.A.I. *Abst.*, pp.180.
- Jonker FH. 2004. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. *Anim. Reprod. Sci.*, 82:415-430.
- King KK, Seidel Jr GE and Efsden RP. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rates and characteristics of cysts. *J. Anim. Sci.*, 61: 747-762.
- Govács F, Magyar T, Rinehart C, Elbers K, Schlesinger K and Ohnesorge WC. 2003. The live

- attenuated bovine viral diarrhea virus components of a multi-valent vaccine confer protection against fetal infection. *Vet. Microbiol.*, 96: 117-131.
- Kruip TAM and den Daas JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology*, 47:43-52.
- Mellor DJ and Stafford KJ. 2004. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. *Vet. J.*, 168:118-133.
- Meyer CL, Berger PJ, Koehler KJ, Thompson JR and Sattler CG. 2001. Phenotypic trends in incidence of stillbirth for Holstein in the United States. *J. Dairy Sci.*, 84:515-523.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese black calves by transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *Theriogenology*, 54:1409-1420.
- Pedersen J. 1991. A survey of multibirths in 1985~1989 in the Danish dairy breeds. *Analysesektionen, Landskontoret for kvsege*, 1991.
- Rodak L, Babiuk LA and Acres SD. 1982. Radio-immunological(RIA) and enzymimmunological (ELISA) detection of coronavirus antibodies in bovine serum and lacteal secretions. *J. Clin. Microbiol.*, 16:34-40.
- Sakaguchi M, Geshi M, Hamano S, Yonai M and Nagai T. 2002. Embryonic and calving losses in bovine mixed-breed twins induced by transfer of *in vitro*-produced embryos to bred recipients, *Anim. Reprod. Sci.*, 72:209-221.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sullon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology*, 46: 527-539.
- 박용수. 2004. 한우 체내, 체외 및 복제 수정란이 이식된 수란우의 임신과 분만 및 산자의 생존. *한국수정란이식학회지*, 19:239-244.

(접수일: 2005. 5. 15 / 채택일: 2005. 6. 23)