

한우 체외 수정란의 배반포 단계, 체외 배양 일령 및 등급이 산자의 생산에 미치는 영향

박용수 · 김소섭¹ · 김동환² · 박흠대^{2*}
경상북도축산기술연구소

Effects of the *In Vitro* Produced Hanwoo Blastocyst Stage, *In Vitro* Culture Day and Blastocyst Grade on the Production of Calves

Y. S. Park, S. S. Kim¹, D. H. Kim² and H. D. Park^{2*}

Kyongbuk Livestock Research Institute

SUMMARY

This study examined the effects of the *in vitro* produced (IVP) Hanwoo blastocyst stage (blastocyst, expanded blastocyst and hatched blastocyst), *in vitro* culture day (7, 8, and 9) and blastocyst grade (1, 2 and 3) on the pregnancy rate, gestation length, birth weight, the incidence of dystocia and twinning rate after embryo transfer (ET). The pregnancy and abortion rates were significantly higher in the blastocyst (B) stage (64.4%) and in the hatched blastocyst (HB) stage (21.4%), respectively, than in those of the other developmental stages ($p < 0.05$). The pregnancy rate of Day 7 embryos (49.0%) was significantly higher than those of Days 8 and 9 embryos (36.4 and 15.4%), but the abortion rates were similar (0 to 10.7%). There were no significant differences in the pregnancy (41.4 to 42.5%) and abortion (9.3 to 16.5%) rates among the three grades of embryos. There were no significant differences in gestation length, birth weight and the incidence of dystocia among the three development stages, but the twinning rate was significantly higher in the HB stage ($p < 0.05$). The pregnancy rate, the incidence rate of dystocia and twinning rate were similar among the three different culture days, however birth weight was significantly heavier in calves from Day 9 embryos than in those from Days 7 and 8 embryos. The mean gestation length of grades 1 and 2 embryos (278.5 and 276.1 days) were significantly longer than that of grade 3 ($p < 0.05$), but birth weight, the incidence of dystocia and twinning rate did not significantly differ. The mean gestation length in single calves was significantly longer than that in twin calves (278.5 vs. 272.5 days, $p < 0.05$). In addition, the mean birth weight in single calves was significantly greater than that in twin calves (29.6 vs. 22.3 kg, $p < 0.05$). Finally, the sex ratios and mean mortality rates between single and twin calves were similar.

(Key words : bovine, embryo, pregnancy, calving)

* 본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

¹ 주식회사 엠트랜(Emtran)

² 대구대학교 식품생명공학부(Division of Life Food and Biotech, Daegu University)

* Correspondence : E-mail : humdai@daegu.ac.kr

서 론

우리나라의 한우 산업은 자급율이 낮고, 생산비가 높고, 특히 급격한 가격의 등락이 국제 경쟁력을 약화시키는 요인이다. 소 번식 방법의 하나인 체외 수정란을 이용하여 한우 송아지를 생산한다면 농가의 송아지 생산비 감소를 유도하므로 대외 경쟁력을 향상시킬 수 있을 것이다. 그러나 최근 국내에서 많은 수의 체외 수정란이 이식되고 있으나 체외 수정란의 선발 방법 즉, 발생 단계, 일자 및 등급에 대한 기준이 없고, 결과물인 송아지의 생산성 부분까지는 연구된 것이 없었다.

수정란 이식에서 임신율은 수정란의 품질, 대리모의 조건 및 시술자의 기술력에 많은 영향을 받는다. 지난 10여 년 동안에 체외 수정란의 임신율이 평균 30% 정도였고(Peterson과 Lee, 2003), 특히 동결성(Hasler, 2001), 이식 수량(Numabe 등, 2000), 배반포의 등급(Hasler, 2001; Linder와 Wright, 1983), 발생 단계(황 등, 2004; Wright, 1981), 발생 일령(Hasler, 2001) 등이 임신에 영향을 미친다고 하였다. 체외 수정란이 이식된 대리모의 유산율은 9~47%로서(Schmidt 등, 1996) 인공 수정과 체내 수정란의 4~8%보다 높고(Hasler 등, 1987), 송아지의 체중, 임신 기간, 난산 및 기형이 증가하였다(Kruip와 den Dass, 1997). 특히 육우에서 생산성 향상을 목적으로 쌍자 생산을 위해서 여러 가지 방법이 연구되었으나, 높은 유산과 사산 그리고 생후 송아지의 낮은 생존율과 같은 문제가 있었다(Suzuki 등, 1989).

본 연구는 2003년부터 2004년까지 2년간 수행한 800여건의 수정란 이식과 106건의 분만을 분석하여, 이식에 제공하는 배반포의 발생 단계, 일령 및 품질이 대리모의 임신과 유산에 미치는 효과를 분석하였고, 임신한 대리모의 분만 이력을 조사하여 임신 기간, 생시 체중, 난산 및 쌍자율을 조사하였다. 또한 분만한 송아지를 쌍자와 단자로 구분하여 임신 기간, 생시 체중, 성비 및 폐사율을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 배양액

난소로부터 난포란의 회수 및 세척용은 25 mM

HEPES와 3 mg/ml BSA(Sigma, A6003)가 첨가된 Hepes-TALP 용액, 체외 성숙용은 0.2 mg/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 6 mg/ml BSA와 10 μ g/ml heparin (Sigma, H3149)이 첨가된 TALP 용액, 체외 배양용은 3 mg/ml BSA 또는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액을 각각 이용하였다. 그리고 실험에 제공되는 배양액의 미세 소적은 mineral oil(Sigma, M8410)을 도포하여 39°C, 5% CO₂ 배양기에서 최소한 4시간 이상 평형을 하였다.

2. 난포란의 회수 및 체외 성숙

도축 한우에서 난소를 적출하여 25 μ g/ml gentamycin(Sigma, G1264)이 첨가된 0.9% 생리식염수(30~33°C)가 들어있는 보온병에 담아 2~3시간에 실험실로 운반하였다. 난소는 penicillin G(Sigma, P3032)가 첨가된 생리식염수로 3~4회 세척하여, 18G 주사침이 부착된 10 ml 주사기를 이용하여 직경 2~8 mm의 가시난포로부터 난포란을 회수하였다. 회수된 난포란은 실체 현미경하에서 난구 세포의 부착 상태가 치밀한 것만을 선별하여, 50 μ l의 체외 성숙용 배지에 15개 난포란을 옮겨 22시간 동안 39°C, 5% CO₂ 배양기에 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다.

3. 체외 수정

한우 동결 정액 1개를 실온에서 10초간, 37°C의 항온 수조에서 용해하여 2 ml 90% percoll(Sigma, P4937) 위에 놓고, 700 g에서 20분간 원심 분리 후 정자괴를 회수하였다. 정자괴는 2 ml의 신선 체외 수정용액으로 350 g에서 10분간 원심 분리함으로써 정자를 세척하였다. 정자 농도를 25×10^6 sperms/ml가 되도록 조절하여, 15개씩의 난포란이 함유되어 있는 46 μ l의 체외 수정 용액에 heparin 2 μ l와 정자 2 μ l를 각각 첨가하여(최종 정자 농도 1×10^6 sperms/ml) 39°C, 5% CO₂ 배양기에 20시간 동안 배양함으로써 체외 수정을 유도하였다.

4. 체외 배양

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

5. 배반포의 이식

대리모는 경상북도 남부 지역의 젓소 사육 농가에서 사육중인 홀스타인을 이용하였다. 수정란 이식은 준비된 한우 배반포를 이식기(MVE, France)에 장착하여 황체가 존재하는 자궁각에 이식하였다. 대리모의 발정은 자연 또는 PGF_{2a} 2회 투여로 유도하였다.

6. 배반포

1) 발생 단계

배양 7일 또는 8일째의 배반포를 blastocyst(B), Expanded Blastocyst(ExB) 및 Hatched Blastocyst(HB)로 구분하여 각각 2개씩을 이식하였다.

2) 발생 일령

체의 배양 7일, 8일 또는 9일째의 ExB 단계의 배반포 2개씩을 이식하였다.

3) 등급

배양 7일령인 배반포의 등급을 Linder와 Wright (1983)의 기준에 의하여 grade 1, 2 및 3로 분류하였고, 각 등급의 배반포 2개씩을 이식하였다.

7. 임신 및 유산 검정

한우 수정란을 이식한 후 60일에 직장 검사로 임신을 판정하였다. 임신이 확인된 수란우가 재발정 및 태아 또는 태반의 배출이 확인된 경우에 직장검사를 다시 실시하여 태아의 존재 유무와 자궁 변화의 소견을 기초로 유산을 판정하였다.

8. 분만

대리모의 임신 기간은 이식 일을 0일로 하여 분만일까지로 하였다. 생시 체중은 생후 1시간 이내

에 체중이 측정된 것만을 사용하였다. 난산은 외부의 조력(2인 이상)과 수의사가 태아 정복을 실시한 경우로 하였다.

9. 통계 처리

실험 결과 중에서 임신, 유산, 난산, 쌍자, 성비 및 폐사율에 대한 통계학적 분석은 χ^2 -test를 이용하였다. 임신 기간과 체중에 대한 통계학적 분석은 SAS package를 이용하여 분산 분석을 실시하였고, 군 간의 유의성은 Duncan's 다중 검정을 이용하였다. 유의성 검정은 $p < 0.05$ 수준에서 하였다.

결 과

체의 수정란의 발생 단계, 일령 및 등급이 이식 후 대리모의 임신과 유산에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 발생 단계는 472두, 발생 일령은 511두 및 등급은 658두에서 조사하였다. 발생 단계에 따른 임신율은 B 단계가 64.4%로서 ExB 및 HB 단계의 각각 42.2 및 39.3%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 유산율은 HB 단계가 21.4%로서 높은 경향이었고 ExB 단계의 9.3%와는 유의차가 인정되었다($p < 0.05$). 분만율은 ExB 단계가 90.7%로서 B 단계(84.2%)와는 유사하였으나, HB 단계(78.6%)보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 발생 일령에 따른 임신율은 7일령의 임신율이 49.0%로서 가장 높았고, 특히 발생 일령이 높아질수록 임신율이 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). 유산율은 7일령이 10.7%로서 높았으나 8일 및 9일령의 유산율과 유의차는 없었다. 분만율은 9일령이 100%로서 7일령의 89.3%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 한편 등급에 따른 임신율은 41.4~42.5%, 유산율은 9.3~16.5%, 분만율은 83.5~90.7%로서 비슷한 경향이였다. 임신한 대리모 중에서 분만 기록과 송아지의 이력을 조사할 수 있었던 개체(대리모 106두, 송아지 136두)들에 대한 분석 결과는 Table 2 및 3에서 보는 바와 같다.

체의 수정란의 발생 단계, 일령 및 등급이 송아지의 임신기간, 체중, 난산율 및 쌍자율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 발생 단계에 따른 임신 기간은 평균 274.5~276.9일로서 유

사한 경향이였다. 송아지의 체중은 HB 단계에서 유래한 송아지의 체중이 평균 29.8 kg으로 무거웠

Table 1. Effects of the development stage, culture day and grade of *in vitro* produced Hanwoo blastocysts on the pregnancy and abortion rates

Classifications	No. of transfers	Pregnancy (%)	Abortion (%)	Parturition (%)
Development stage				
Blastocyst	59	38 (64.4) ^a	6 (15.8) ^{ab}	32 (84.2) ^{ab}
Expanded Blastocyst	306	129 (42.2) ^b	12 (9.3) ^b	117 (90.7) ^a
Hatched Blastocyst	107	42 (39.3) ^b	9 (21.4) ^a	33 (78.6) ^b
Culture day				
7	210	103 (49.0) ^a	11 (10.7)	92 (89.3) ^a
8	236	86 (36.4) ^b	3 (3.5)	83 (96.5) ^{ab}
9	65	10 (15.4) ^c	0 (0.0)	10 (100.0) ^b
Grade				
1	228	97 (42.5)	9 (9.3)	88 (90.7)
2	239	100 (41.8)	11 (11.0)	89 (89.0)
3	191	79 (41.4)	13 (16.5)	66 (83.5)

^{a-c} Different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2. Effects of the development stage, culture day and grade of *in vitro* produced Hanwoo blastocysts on the gestation length, birth weight, dystocia and twins

Classifications	No	Gestation length (day)	Birth weight (kg)	Dystocia (%)	Twins (%)
Development stage					
Blastocyst	19	276.9±3.2	26.8±2.4	15.8	15.8 ^a
Expanded Blastocyst	41	275.8±2.4	25.7±1.3	17.1	24.4 ^{ab}
Hatched Blastocyst	25	274.5±3.4	29.8±3.2	36.0	44.0 ^b
Culture day					
7	31	276.2±2.7	25.2±1.7 ^b	12.9	16.1
8	21	275.6±3.2	26.2±1.2 ^b	9.5	23.8
9	3	277.7±3.5	35.3±2.9 ^a	33.3	0.0
Grade					
1	11	278.5±3.2 ^a	24.9±1.6	18.2	18.2
2	91	276.1±2.6 ^a	26.7±1.3	12.0	26.4
3	4	273.7±3.3 ^b	28.5±3.7	50.0	50.0

^{a,b} Different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. The gestation length, birth weight, sex ratio and mortality of single or twin calves produced by transfer of *in vitro* produced Hanwoo blastocysts

Number	No. of recipients	No. of offspring	Gestation length (day)	Birth weight (kg)	Sex ratio (M:F)	Mortality (%)
Single	76	76	278.5±3.6 ^b	29.6±2.6 ^b	1.6(47:29)	11(14.5)
Twins	30	60	272.5±2.2 ^a	22.3±2.0 ^a	0.9(28:32)	16(26.7)

^{a,b} Different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

고, 난산율도 36%로서 높은 경향이었으나 유의차는 인정되지 않았다. 한편 쌍자율은 HB 단계가 44%로서 B 단계의 15.8%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 발생 일령에 따른 임신 기간은 평균 275.6~277.7일로서 비슷하였다. 송아지의 체중은 9일령의 것이 평균 35.5 kg으로서 7일령 및 8일령의 평균 25.2 및 26.2 kg보다 유의하게 무거웠다($p < 0.05$). 난산율은 9일령의 것이 33.3%, 쌍자율은 8일령의 것이 23.8%로서 높은 경향이었으나 유의차는 없었다. 등급에 따른 임신기간은 1등 및 2등급이 평균 278.5 및 276.1일로서 3등급의 평균 273.7일에 비하여 유의하게 길었다($p < 0.05$). 그러나 체중, 난산율 및 쌍자율은 차이가 없었다.

체외 수정란에서 유래한 송아지가 단자 또는 쌍자 분만에 따른 임신 기간, 체중, 성비 및 폐사율을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 단자 분만 76건과 쌍자 분만 30건을 분석하였고, 분만된 송아지는 단자 76두와 쌍자 60두로서 총 136두였다. 임신기간은 단자가 평균 278.5일로서 쌍자의 평균 272.5일보다 유의하게 길었다($p < 0.05$). 생시 체중도 단자가 평균 29.6 kg으로서 쌍자의 평균 22.3 kg에 비하여 유의하게 무거웠다($p < 0.05$). 한편 성비는 단자의 수컷 비율이 높았으나 유의차는 없었다. 그리고 생후 30일령의 폐사율은 쌍자가 26.7%로서 단자에 비하여 높은 경향이었으나 유의차는 인정되지 않았다.

고 찰

미성숙 난자를 체외에서 성숙, 수정 및 배양하여 대리모에 이식하여 송아지를 생산하는 방법은 여러 연구자들에 의해서 발전되어 왔고, 국내에서

도 1990년대 후반부터 산업화를 시도하고 있으나 주로 실험실에서 수정란의 생산에 관련된 연구가 대부분으로 실제 현장에서 체외 수정란의 이식 및 산자에 관한 보고는 거의 없는 실정이다. 본 연구는 체외 수정란의 현장 적용 측면을 중심으로, 한우 체외 수정란의 발생 단계, 일자 및 등급이 젓소 대리모에 이식 후 임신과 유산, 분만과 관련된 임신기간, 생시체중, 난산 및 쌍자율을 조사하였다. 또한 단자 및 쌍자 분만에 따른 임신기간, 생시체중, 성비 및 폐사율을 분석하였다.

배 발생 단계에 따른 임신율은 배반포 단계가 상실배 단계에 비하여 높았으나(황 등, 2004; Hasler 등, 1987), 상실배가 높다는 보고(Dochi 등, 1998)와 차이가 없다는 보고도 있다(박 등, 2005). 발생 7일째의 배가 8일 및 9일의 배에 비하여 임신율이 높았으나(박 등, 2005; Hasler 등, 1995), Suzuki 등(1991)은 8일째가 7일째보다 높았다. 배의 등급은 good 등급 이상 또는 grade 1 등급 배의 임신율이 대체로 높은 경향이었으나(Hasler 2001; Farin과 Farin, 1995), 차이가 없다는 보고도 있다(박 등, 2005; Spell 등, 2001; Linder와 Wright, 1983). 본 연구에서는 배 발생 단계로는 배반포, 발생 일령으로는 7일째의 임신율이 높은 경향이었으나, 등급에 따른 차이는 없었다. 이와 같이 발생 7일령 및 배반포 단계가 임신율이 높은 원인은 다른 시기의 것에 비하여 많은 세포수를 가지고 있기 때문인 것으로 생각된다(Park 등, 2005). 특히 Hasler(2001)는 이식에 제공하는 배반포의 품질 평가는 형태적인 등급의 평가보다는 발생 단계의 평가가 더 정확하다고 하였다.

소에서 유산율은 인공수정이 5% 미만, 체내 수정란이 8% 미만인 것에 비하여 체외 수정란은 20

~30%로서 아주 높은 수준이었다(박, 2004; Sakaguchi 등, 2002). 그러나 Numabe 등(2001)은 7.6 ~ 10.8%로서 체내와 체외 수정란이 비슷하였다. 체외 수정란의 낮은 임신율은 connexine 43(Wrenzycki 등, 1996), cell number(Park 등, 2005), 비정상 chromosomes 증가(Iwasaki, 1992) 및 적은 태반 분엽 수(Bavister 등, 1983)가 원인이라고 하였고, 특히 체외 수정란은 조기배 사멸의 가능성이 높다(McEvoy 등, 1995). 국내에서도 박 등(2005)은 HB 단계와 8·9일째 배반포를 이식한 경우의 유산율이 높은 경향이라고 하였다. 그러나 본 연구에서는 배 발생 일령과 등급에 따른 유산율의 차이는 없었으나, 배 발생 단계에 따른 차이는 확인 할 수 있었다.

각종 수정란을 이식하여 임신된 대리모의 임신 기간은 수정란의 종류(Numabe 등, 2001), 태아의 종(Guilbault 등, 1990) 및 임신한 태아의 수(Sakaguchi 등, 2002)에 따라 차이가 있다. 본 연구에서는 발생 단계와 일령에 따른 임신기간의 차이는 없었으나, 배 등급이 낮을수록 임신기간이 짧았다. 또한 쌍자 분만에서 짧은 임신기간(Table 3)은 Sakaguchi 등(2002)의 보고와 유사한 경향이었다.

송아지의 체중은 체외 수정란에서 유래한 것이 체내 수정란에서 유래한 것보다 무거웠다(Farin과 Farin, 1995). 체외 수정란은 임신율이 낮을 뿐만 아니라 산자의 과도한 체중(large offspring syndrome)이 문제라고 하였다(Wrenzycki 등, 2004). 한편 화우 체외 수정란 유래 송아지의 체중이 평균 31 kg으로 체내 수정란의 평균 27.2 kg에 비하여 무거웠으나(Numabe 등, 2001), 한우에서도 체외 수정란 유래의 송아지가 무거웠으나 유의적인 차이가 없었다(박, 2004). 본 연구에서는 배 발생 단계와 등급에 따른 송아지의 체중이 유사한 경향이었다. 그러나 발생 9일째의 배에서 유래한 송아지의 체중은 발생 7일 및 8일째에서 유래한 송아지의 것에 비하여 무거웠다.

육우 산업에 있어서 쌍태 유기법은 이용 가능성이 높으며, 비교적 집중적으로 관리되고 있는 비육 농장에서 쌍태 육우 생산으로 수입이 증가되었다(Rose와 Wilton, 1991). 한편 체외 수정란 이식 후 쌍자율에는 이식에 제공하는 수정란의 수가 중요

한 요인이고(Schmidt 등, 1996), 특히 2개의 수정란을 이식하여 각각 생존한다고 가정할 때 쌍태율은 50%라고 하였다(Penny 등, 1995; Vasques 등, 1995). 화우의 신선란을 홀스타인에 2개씩 이식하는 것이 쌍자 생산에 효과적이고, 분만율이 40% 이상 되어야 이용 가능성이 있다고 하였다(Numabe 등, 2000). 본 연구에서 수정란의 조건에 따른 쌍태율은 약 16%에서 50%로 다양하였다. 특히 발생 단계 중에서 HB 단계가 임신율은 낮았으나, 쌍자율은 높은 경향이었다.

Davis 등(1988) 및 Sakaguchi 등(2002)은 쌍자의 임신기간이 단자보다 5~8일이 짧았다고 하였으며, 본 연구에서 쌍자의 임신기간이 단자에 비하여 평균 6일 정도 단축되었다. 쌍자 생산시 체중은 단자보다 10~20% 정도 가벼우며, 수란우의 나이, 영양상태, 종모우의 영향 및 수란우의 사양관리에 따라 달라질 수 있다고 하였다(Bellows 등, 1974). 본 연구의 결과에서도 쌍자와 단자 분만을 비교하면 단자가 임신기간 및 생시 체중이 높았고, 특히 생후 30일령의 생존율이 높았다.

이상의 결과에서 이식에 제공하는 체외 수정란의 품질은 등급보다는 발생 일령과 단계를 고려하여 선발하는 것이 좋을 것이며, 한우 쌍자의 생산은 여러 가지 문제가 있으나 총 산자수와 생존에 따른 경제적 이익을 고려한다면 충분히 권장할 방법이라고 생각된다.

적 요

본 연구는 수정란이식의 현장 적용 측면을 중심으로, 한우 체외 수정란의 발생 단계, 일자 및 등급이 젖소 대리모에 이식 후 임신과 유산, 분만과 관련된 임신기간, 생시체중, 난산 및 쌍자율을 조사하였다. 또한 단자 및 쌍자 분만에 따른 임신기간, 생시체중, 성비 및 폐사율을 분석하였다. 발생 단계에 따른 임신율은 배반포 단계(64.4%), 유산율은 부화 배반포(HB) 단계(21.4%)가 유의하게 높았다($p < 0.05$). 발생 일령에 따른 임신율은 7일령 배가 49.0%로서 8일 및 9일령의 36.4 및 15.4%보다 유의하게 높았으나($p < 0.05$), 유산율은 0~10.7%로 비슷한 경향이었다. 등급에 따른 임신율은 41.4~

42.5%, 유산율은 9.3~16.5%로서 차이가 없었다. 발생 단계에 따른 임신기간, 송아지의 체중 및 난산율은 비슷한 경향이었으나, 쌍자율은 HB 단계가 44%로서 배반포 단계의 15.8%보다 유의하게 높았다($p<0.05$). 발생 일령에 따른 임신 기간, 난산율 및 쌍자율은 차이가 없었으나, 송아지의 체중은 9일령의 것이 평균 35.5 kg으로서 7일령 및 8일령의 평균 25.2 및 26.2kg보다 유의하게 무거웠다($p<0.05$). 등급에 따른 임신 기간은 1등 및 2등급이 평균 278.5 및 276.1일로서 3등급의 평균 273.7일에 비하여 유의하게 길었으나($p<0.05$), 체중, 난산율 및 쌍자율은 차이가 없었다. 분만한 송아지의 개체 수에 따른 임신기간은 단자가 평균 278.5일로서 쌍자의 평균 272.5일보다 유의하게 길었다($p<0.05$). 생시 체중도 단자가 평균 29.6 kg으로서 쌍자의 평균 22.3kg에 비하여 유의하게 무거웠으나($p<0.05$), 성비와 폐사율은 유사한 경향이였다.

참고문헌

- Bavister BD, Leibfried ML and Lieberman G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. Biol. Reprod., 28:235-247.
- Bellows RA, Short RE, Wiltbank NH and Pahnish OF. 1974. Multiple births and artificial rearing of calves. J. Anim. Sci., 30:1030 (abstr).
- Davis ME, Harvey WR, Bishop MD and Gearheat WW. 1988. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: Embryo survival rate, gestation length, birth weight and weaning weight of calves. J. Anim. Sci., 67:301-310.
- Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Yoshida N, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A, Tominaga K, Oda Y, Nakashima T and Inohae S. 1998. Direct transfer of bovine embryos frozen thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. Theriogenology, 49: 1051-1058.
- 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.
- Guilbault LA, Roy GL, Beckers JF and Dufour JJ. 1990. Influence of breed of fetus on pre-parturient endocrine responses and subsequent milk production of Ayrshire dams. J. Dairy Sci., 73: 2766-2773.
- Hasler JF. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle, Theriogenology, 56:1401-1415.
- 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.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-recipient interaction on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. Theriogenology, 27:139-169.
- Iwasaki S. 1992. Studies on cytogenetic and morphological assessment of bovine embryos fertilized *in vitro*. Jpn. J. Anim. Reprod., 38:109-119.
- Kruip TAM and den Dass JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy and offspring. Theriogenology, 47:43-52.
- Linder GM and Wright RW Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. Theriogenology, 20:407-416.
- McEvoy JD, Mayne CS and McCaughey WJ. 1995. Production of twin calves with *in vitro* fertilised embryos: effects on the reproductive performance of dairy cows. Vet. Rec., 136:627-632.
- 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.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T.

2001. Birth weight and gestation length of Japanese black calves following transfer of embryos produced *in vitro* with or without co-culture. *J. Vet. Med. Sci.*, 63:515-519.
- Park YS, Kim SS, Kim JM, Park HD and Byun MD. 2005. The effects of duration of *in vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent development, quality and transfer of embryos. *Theriogenology*, 64:123-134.
- Penny CD, Lowman BG, Scott NA, Scott PR, Voelkel S and Davies DAR. 1995. Management aspects of induced twinning in beef suckler cows using *in vitro* fertilized embryos. *Vet. Rec.*, 136: 506-510.
- Peterson AJ and Lee RSF. 2003. Improving successful pregnancies after embryo transfer. *Theriogenology*, 59:687-697.
- Rose EP and Wilton JW. 1991. Productivity and profitability of twin births in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 69:3085-3093.
- 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.
- 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*, 56:287-297.
- Suzuki T, Sakai Y, Ishida A, Matsuda S, Miura H and Itoh H. 1989. Induction of twinning in cross-bred by ipsilateral frozen embryo transfer. *Theriogenology*, 31:917-925.
- Suzuki T, Yamamoto M, Coe M, Nishikata Y, Okamoto K and Tsukihara T. 1991. Effect of media on fertilization and development rates of *in vitro* fertilized embryos, and of age and freezing of embryos on pregnancy rates. *Theriogenology*, 35:278 (abstr).
- Vasques MI, Horta AEM, Marques CC, Sasser RG and Humblot P. 1995. Levels of bPSPB throughout single and twin pregnancies after AI or transfer of IVM/IVF cattle embryos. *Anim. Reprod. Sci.*, 38:279-289.
- Wrenzycki C, Hermann D, Carnwath JW, Niemann. 1996. Expression of the gap junction gene connexin 43(Cx 43) in preimplantation bovine embryos derived *in vitro* or *in vivo*. *J. Reprod. Fertil.*, 108:17-24.
- Wright JM. 1981. Non-Surgical embryo transfer in cattle: embryo-recipient interactions. *Theriogenology*, 15:43-55.
- 박용수. 2004. 한우 체내, 체외 및 복제 수정란이 이식된 수란우의 임신과 분만 및 산자의 생존. *한국수정란이식학회지*, 19:239-244.
- 박용수, 김소섭, 박흠대, 박현정, 김재명. 2005. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 수정란측 요인. *한국수정란이식학회지*, 20:89-95.
- 황환섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙, 체외 수정란의 수정란이식에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 19:1-10.

(접수일: 2006. 11. 20 / 채택일: 2006. 12. 8)