

한우 체외 수정란이 이식된 수란우에 백신 투여 시기가 임신과 송아지의 생존에 미치는 영향

박용수 · 김소섭¹ · 장미진² · 박흠대^{2*}
경상북도축산기술연구소

Effect of Timing of Vaccination on the Pregnancy Rate of Recipients and the Viability of Calves Derived from *In Vitro* Produced Hanwoo Embryos

Y. S. Park, S. S. Kim¹, M. J. Jang² and H. D. Park^{2*}

Kyongbuk Livestock Research Institute

SUMMARY

The present study was conducted to investigate the effects of time of vaccination in recipients on the pregnancy rate and the viability of calves derived from embryos produced *in vitro*. In experiment 1, control group was non-vaccinated, group 1-1 received vaccine (Pfizer, Exton, PA, USA) during 0~4 weeks and group 1-2 received vaccine during 4~8 weeks before embryo transfer. The pregnancy rates in the control (42.6%) and group 1-2 (45.3%) were significantly higher ($p<0.05$) than that in the group 1-1 (32.6%). However, the abortion rates were similar among groups (4.9 to 13.5%). In experiment 2, the recipients received embryos produced *in vitro* were non-vaccinated (control) or vaccinated. Vaccine was injected during 0~4 weeks (group 2-1) and 4~8 weeks (group 2-2) before parturition. The incidence of a disease in calves was significantly higher in the control (22.4%) than in other vaccinated groups (2.2% and 3.1%, $p<0.05$). The mortality of calves in the control is 27.6%, which was significantly higher than that of group 2-1 and group 2-2 (11.1% and 7.8%).

(Key words : bovine, embryo transfer, vaccination, pregnancy, mortality)

서 론

지난 20여 년간 수정란의 체외 발생에 관한 연구로 고품질의 체외 수정란을 안정적으로 생산할 수 있게 되었고, 국내에서도 연구자에 따른 차이가 있으나 배반포 발생율이 23.5~32%로 보고되었다 (임 등, 2004; 박 등, 2002). 또한 국내에서 한우 체

외 수정란의 이식은 주로 젖소를 대리모로 하여 이루어지고 있고, 임신율은 27.2~70.6%로서 보고자에 따라 변이가 심하다(김 등, 2005; 황 등, 2004).

젖소에서 우유 생산성의 향상은 번식 효율의 저하를 초래하고 있다. 국내에서 대부분의 한우 체외 수정란이 젖소에 이식되므로 젖소의 생산성은 수

* 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

정란 이식 후 임신율에도 간접적으로 영향을 미치는 것으로 생각된다. 특히 농가에 따라 임신율이 35.7%에서 78.4%로서 농가에서 수란우의 관리가 중요하다고 하였다(김 등, 2005). 한편 체외 수정란을 이용한 산업화는 임신율뿐만 아니라 조기 태아사, 높은 유사산 및 송아지 폐사로 인하여 경제성이 의문시 되고 있다. 수정란 이식의 경제성 제고를 위하여 체외 수정란이 이식된 대리모의 유산율과 송아지의 폐사율을 극대화하기 위해서는, 우수한 수란우의 선발이 반드시 선행되어야 하며 몇 가지 유산과 관련되는 전염성 질환 및 송아지 질병의 주요 원인인 바이러스성 질병을 예방하는 것이 반드시 필요하다.

수정란 이식 송아지의 폐사율은 체외 수정란이 체내 수정란에 비하여 높다(Greve 등, 1993). 체외 수정란의 높은 폐사율은 체외 발생 체계의 부적합(Avery 등, 1995), 체외 수정란 자체의 낮은 생존력(Jonker, 2004) 및 송아지의 선천적 면역 결핍증(Schmidt 등, 1996)이 원인이라고 하였으나, 폐사 원인에 관한 총괄적인 분석은 없었다. 한편 이 등(2004)은 수정란 이식에서 생산된 송아지의 폐사 유형이 일반 송아지의 것과 유사할 것이라고 하였다. 국내에서 일반 한우 송아지의 질병 발생율은 90.3%이고, 이 중에서 소화기 질병이 54.1%, 소화기와 호흡기 혼합 감염이 21.6% 및 호흡기 질병이 14.5% 순으로 발생하고 있다(권 등, 2000). 질병의 감염원으로는 rotavirus, coronavirus, *E. coli* 및 bovine viral diarrhoea virus(BVDV) 등이 있으며(Kovacs 등, 2003; Stordeura 등, 2000; Selim 등, 1995), 여러 종류의 감염원이 한 가지 혹은 그 이상의 병원체와 복합 감염된다(Moon 등, 1978). 특히 BVDV 감염이 모체에서는 높은 유산율, 사산, 태아 흡수 및 미이라 변성을, 태어난 송아지에서는 선천성 기형, 면역 체계의 이상 및 성장 저하를 초래한다(Kovács 등, 2003).

본 연구는 체외 수정란의 현장 적용 측면에서 체외 수정란이 이식될 대리모와 체외 수정란으로 임신된 대리모에 있어서 백신 투여가 임신율과 생산된 송아지의 생존에 미치는 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 미성숙 난자의 회수 및 체외 성숙

도축 한우에서 난소를 적출하여 25 μ g/ml gentamycin(Sigma, G1264)이 첨가된 0.9 % 생리식염수(30~33 $^{\circ}$ C)가 들어있는 보온병에 담아 2~3 시간에 실험실로 운반하였다. 수집된 난소는 penicillin G(Sigma, P3032)가 첨가된 생리 식염수로 세척하였고, 직경 2~8 mm의 가시난포로부터 난포란을 회수하였다. 회수된 난포란은 실체 현미경하에서 난구세포의 부착상태가 치밀한 것만을 선별하여, 50 μ l의 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) 용액에 15 개 난포란을 옮겨 22 시간 동안 39 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂ 배양기에 배양함으로써 체외 성숙을 유도하였다.

2. 체외 수정

한우 동결 정액(KPN 369) 1 스트로를 실온에서 10초간, 37 $^{\circ}$ C의 항온 수조에서 30초간 처리하여 용해한 후 90% percoll(Sigma, P4937) 2 ml 용액에 담겨져 있는 15 ml 원심 분리관(Corning, 430052)에 조심스럽게 넣은 후 700 g에서 20분간 원심분리 후 하층부의 정자 괴편을 회수하여, 2 ml의 6 mg/ml BSA와 10 μ g/ml heparin(Sigma, H3149)이 첨가된 TALP 용액으로 350 g에서 10분간 원심분리함으로써 정자를 세척하였다. 그리고 정자 농도는 25×10^6 sperms/ml가 되도록 조절하여, 15 개씩의 난포란이 함유되어져 있는 46 μ l의 TALP 용액에 heparin 2 μ l와 정자 2 μ l를 각각 첨가하여(최종 정자 농도 1×10^6 sperms/ml) 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에 20시간 동안 체외 수정을 유도하였다.

3. 체외 배양

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

4. 배반포의 이식

대리모는 경상북도 남부 지역의 젓소 사육 농가에서 사육중인 홀스타인 미경산우를 이용하였다. 수정란 이식은 발생 7일 또는 8일째의 배반포 2개를 황체가 존재하는 자궁각에 이식하였다.

5. 실험 설계 및 백신 투여

백신은 Infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine virus diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus 및 parainfluenza 3 virus 백신이 혼합된 Cattle Master 4(Pfizer, Exton, PA, USA)를 사용하였다.

1) 실험 1 : 체외 수정란을 이식할 것으로 선발된 대리모에 대조군은 백신 투여를 하지 않았다. Group 1-1은 이식 전 0~4주에 2회 투여하였고, group 1-2는 이식 전 4~8주에 2회 투여하였다.

2) 실험 2 : 체외 수정란을 이식하여 임신한 대리모에 대조군은 백신 투여를 하지 않았다. Group 2-1은 분만 예정일 0~4주에 2회 투여하였고, group 2-2는 분만 예정일 4~8주에 2회 투여하였다.

6. 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 자궁변화의 소견을 기초로 유산을 판정하였다.

7. 폐사의 원인 분석

1) 사산(Stillbirth)

임신한 수란우로부터 태어나는 송아지가 분만 도중 또는 직후에 폐사한 것을 사산으로 판정하였다.

2) 난산(Dystocia)

태위, 태향 또는 거대 태아 등의 원인으로 수의 사에 의한 정복 또는 2인 이상의 조력으로 분만할 경우를 난산으로 하였다.

3) 기형(Abnormality)

출생 직후 송아지의 신체 검사에서 임상적인 현저한 기능 장애 또는 특징이 있는 경우를 기형으로 판정하였다.

4) 질병(Disease)

분만 후 24시간이 경과된 송아지가 질병에 이환되어 2회 이상 치료하였으나 폐사한 것을 질병에 의한 폐사로 판정하였다. 질병은 생후 60일까지 조사하였다.

가) 위장관 계통(gastrointestinal) : 식체, 수양성 하리 및 혈변 등의 증상 후 폐사

나) 호흡기 계통 (respiratory) : 기침, 화농성 콧물 및 이상 폐포음 등의 증상 후 폐사

다) 원인 불명 (unknown) : 특별한 증상을 동반하지 않고 폐사

8. 통계 처리

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

결 과

1. 백신의 투여가 임신과 유산에 미치는 영향

한우 체외 수정란의 이식 전 수란우에 백신 투여 시기가 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 1과 같다. 대조군인 미투여군과 4~8주째 투여군의 임신율이 각각 42.4 및 45.9%로서 0~4주째 투여군의 31.5%에 비하여 유의하게 높았다($p < 0.05$). 한편 유산율은 대조군이 4.9%로서

Table 1. Effect of timing of vaccination in recipients before embryo transfer on the pregnancy rate

Treatment	No. of recipients transferred	No. (%) of pregnant recipients	No. (%) of aborted recipients
Control	144	61 (42.4) ^b	3 (4.9)
Group 1-1 ¹	165	52 (31.5) ^a	7 (13.5)
Group 1-2 ²	479	220 (45.9) ^b	28 (12.7)

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

¹ Group 1-1 : vaccine injected from 0 to 4 week before embryo transfer.

² Group 1-2 : vaccine injected from 4 to 8 week before embryo transfer.

처리군의 각각 12.3 및 13.5%보다 낮았으나 유의차는 인정되지 않았다.

2. 백신의 투여가 송아지의 질병 발생과 폐사에 미치는 영향

체외 수정란을 이식하여 임신한 대리모에 백신 투여 시기가 송아지의 질병 발생과 폐사에 미치는 효과를 검토한 결과는 Table 2와 같다. 조사된 송아지는 대조군이 58두, group 2-1이 45두 및 group 2-2가 64두이다. 질병 발생율은 백신을 투여하지 않은 대조군이 22.4%로서 투여한 group 2-1과 group 2-2에 비하여 유의하게 높았다($p < 0.05$). 또한 폐사율도 대조군이 27.6%로서 group 2-1 및 group 2-2군의 11.1 및 7.8%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$)

폐사된 송아지를 원인별로 분석한 결과는 Table 3과 같다. 총 26두의 송아지가 폐사하였다. 폐사한 송아지의 원인은 사산이 15.4%, 난산 30.8%, 기형

3.8% 및 질병 50.0%였다. 질병으로 폐사한 송아지에서는 위장관 질병이 46.2%, 호흡기 질병이 7.6%였고 나머지 46.2%는 원인 불명이었다.

고 찰

본 연구에서는 수정란 이식을 위해 선발된 대리모에 이식 전 백신의 투여 시기가 임신과 유산에 미치는 효과를 조사하였고, 임신한 대리모의 분만 예정일 전에 백신의 투여가 송아지의 질병과 생존에 미치는 효과를 검토하였다. 수정란 이식의 성공률을 향상시키기 위하여 수정란, 시술자의 기술 및 대리모와 사양 환경에 관한 연구가 있었다. 수란우 측면에서는 주로 발정(Walton 등, 1986; Nelson과 Nelson, 1985), 이식 위치(Boland 등, 1976), 호르몬 수준(Sreenan과 Diskin, 1987), 영양 상태(Broadbent 등, 1991) 및 산차(Sreenan과 Diskin, 1989) 등이 보고되었다. 그러나 각종 질병 예방을 위하여 보편화되어 있는 백신에 관한 보고가 없었다. 본 연구에서 수정란 이식을 위해서 선발된 대리모는 이식 전 0~4주에 백신을 하는 것이 오히려 임신율에 유해하게 작용하였다. 대리모는 백신 완료에서부터 적어도 4주 이상 경과한 후 수정란 이식을 해야 할 것이다.

출생 직후 송아지는 외부 병원체에 쉽게 노출되고, 특히 감마글로불린이 결핍되어 외부 병원체에 높은 감수성을 가지고 있으며, 체외 수정란에서 유래한 송아지의 면역글로불린 농도가 낮다(Schmidt 등, 1996). 일반 한우 송아지의 폐사 원인은 주로 소화기 및 호흡기 계통의 질병이 원인이고, 특히 BVD(bovine virus diarrhea) 바이러스는 번식우에서는 저임신율과 유산을 일으키며(Fray 등, 2000), 임신 45일에 BVD 바이러스에 감염된 소가 발정 재귀에는 영향을 미치지 않았지만 BVD 바이러스에 감염된 소는 임신 중기에서 유산율이 유의하게

Table 2. Effects of vaccination in recipients before parturition on the viability of Hanwoo calves derived from *in vitro* fertilization

Treatment	No. of calves	No. (%) of diseased calves	No. (%) of dead calves
Control	58	13 (22.4) ^a	16 (27.6) ^a
Group 2-1 ¹	45	1 (2.2) ^b	5 (11.1) ^b
Group 2-2 ²	64	2 (3.1) ^b	5 (7.8) ^b

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

¹ Group 2-1 : vaccine injected from 0 to 4 week before parturition.

² Group 2-2 : vaccine injected from 4 to 8 week before parturition.

Table 3. Distribution of the number of dead calves according to the disease type

Total	Stillbirth (%)	Dystocia (%)	Abnormality (%)	Diseases (%)			
				Total	Gastrointestinal	Respiratory	Unknown
26	4 (15.4)	8 (30.8)	1 (3.8)	13 (50.0)	6 (46.2)	1 (7.6)	6 (46.2)

증가하고 임신 후반기에는 관찰되지 않는다고 하였다(Rüfenacht 등, 2001). 또한 1회 백신한 미경산우는 BVD 바이러스 감염시 증상이 더 심하고 바이러스에 의한 폐사와 유산이 있다(Kovács 등, 2003)고 하였다. 본 연구에서 백신 처치한 대리모에서 분만한 송아지의 폐사율이 낮은 것은 백신 투여시기에 관계없이 송아지의 질병 발생의 예방에 효과가 있는 것으로 생각된다.

한편 체외 수정란 유래 송아지의 폐사율은 16~50%(Behboodi 등, 1995; Hasler 등, 1995)이었고, 체내 수정란 유래 송아지는 9%(King 등, 1985)로서 낮은 수준이었다. 한편 국내에서도 체외 수정란에서 유래한 태아의 손실이 많다고 하지만 실제 보고에서는 체내 유래 수정란과 유의한 차이는 보이지 않고 있다(박, 2004). 신생 송아지의 질병 발생 유형이 소화기 질병이 54.1%로 가장 높고, 호흡기 14.5% 및 소화기와 호흡기 혼합 감염이 21.6%였다(권 등, 2000a). 폐사율은 질병 발생 대비 47.0%의 높은 폐사율이었고, 유형별로는 소화기 질병 31.4%, 소화기와 호흡기 혼합 감염 14.5% 및 호흡기 질병 1.1%였다(권 등, 2000a). 젖소에서 소화기 질병의 발병율이 28.7%로서 가장 높았다(권 등, 2000b). 한편 체외 수정란 유래의 태아에서 조기 태아사, 유조사산 및 송아지 폐사의 원인은 일반적인 소에서의 원인과 동일할 것이므로, 일반소에서 송아지 폐사의 중요 원인인 바이러스성 질병을 예방한다면 체외 수정란 유래의 송아지의 생산성도 향상될 것이라고 하였다(이 등, 2004). 이러한 목적으로 수정란 이식으로 임신한 대리모에 백신 처치는 분명히 필요할 것으로 생각된다.

본 연구의 결과에서 수정란 이식에 제공하는 대리모는 수정란이 이식되기 4주 이전에 백신이 완료되어야 임신율을 제고할 수 있고, 임신한 대리모는 분만 전에 백신을 하면 송아지의 생존율을 높일 수 있을 것이다.

적 요

본 연구에서는 수정란 이식을 위해 선발된 대리모에 이식 전 백신의 투여 시기가 임신과 유산에 미치는 효과와, 임신한 대리모의 분만 예정일 전에

백신의 투여가 송아지의 질병과 생존에 미치는 효과를 검토하였다. 실험 1에서는 한우 체외 수정란의 이식에 선발된 대리모의 백신 투여 시기가 임신과 유산에 미치는 영향을 검토하였다. 이식 전 0~4주째 백신 투여시 임신율이 31.5%로서 대조군 및 4~8주 투여군의 42.4 및 45.9%에 비하여 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 유산율은 대조군과 처리군에서 4.9~13.5%로서 유사한 경향이었다. 실험 2에서는 체외 수정란을 이식하여 임신한 대리모에 백신 투여 시기가 송아지의 질병과 폐사에 미치는 효과를 검토하였다. 질병 발생율은 백신을 투여하지 않은 대조군이 22.4%로서 백신을 투여한 처리군의 2.2~3.1%보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 폐사율도 대조군이 27.6%로서 처리군의 11.1 및 7.8%와 유의차가 인정되었다($p < 0.05$). 폐사한 송아지의 원인은 사산이 15.4%, 난산 30.8%, 기형 3.8% 및 질병 50.0%였고, 질병으로 폐사한 송아지에서는 위장관 질병이 46.2%, 호흡기 질병이 7.6%였고 원인 불명이 46.2%였다.

참고문헌

- Avery B and Greve T. 1995. Apparent abnormalities of *in vitro* produced bovine embryos. Proc. XX X Int. Symp. SIPZ., 171-183.
- Behboodi E, Anderson GB, Bondurant RH, Cargill SL, Kreuzer BR, Medrano JF and Murray JD. 1995. Birth of large calves that developed from *in vitro* derived bovine embryos. Theriogenology, 44:227-232.
- Boland MP, Crosby TF and Gordon I. 1976. Birth of twin calves following a simple transcervical non-surgical egg transfer technique. Vet. Rec., 99:274-275.
- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DF. 1991. Recipient management and embryo transfer. Theriogenology, 35:125-139.
- Fray MD, Paton DJ and Alenius S. 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. Anim. Reprod. Sci., 60/61:615-627.

- Greve T, Avery B and Callesen H. 1993. Viability of *in-vivo* and *in-vitro* produced bovine embryos. *Reprod. Dom. 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.
- 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.
- Kovács 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.
- Moon HW, McClurkin AW and Isaacson RE. 1978. Pathogenic relationships of rotavirus, *Escherichia coli*, and other agents in mixed infections in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173:577-583.
- Nelson LD and Nelson CF. 1985. Effect of estrus detection and corpus luteum development on pregnancy rates in bovine embryo recipients. *Theriogenology*, 23:212 (abstr.).
- Rüfenacht J, Schaller P, Audige L, Knutti B, Kúpfér U and Peterhans E. 2001. The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of swiss dairy cattle. *Theriogenology*, 56:199-210.
- 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.
- Selim SA, Cullor JS and Oelsner IE. 1995. Passive immunotherapy in neonatal calves-I. Safety and potency of a J5 *Escherichia coli* hyperimmune plasma in neonatal calves. *Vaccine*, 13:1449-1453.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27:99-113.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1989. Effect of unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fertil.*, 87:657-664.
- Stordeur P, China B, Charlier G, Roels S and Mainil J. 2002. Clinical signs, reproduction of attaching/effacing lesions, and enterocyte invasion after oral inoculation of an O118 enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in neonatal calve. *Microbes and Infection*, 2:17-24.
- Walton JS, Martineau NA and Stubbings RB. 1986. Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipient: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. *Theriogenology*, 26:837-845.
- 권오덕, 최경성, 이승욱, 정환, 이주목. 2000a. 한우 신생송아지의 질병 발생에 관한 조사연구. 한국임상수의학회지, 17:93-101.
- 권오덕, 김남수, 채준석, 박명규, 김민석, 유제춘, 이주목. 2000b. 젖소 신생송아지의 질병 발생에 관한 조사연구. 한국임상수의학회지, 17:102-108.
- 김용준, 김희천, 서세현, 정구남, 김용수, 이해리, 신동수, 조성우, 김수희. 2005. 한우 및 젖소에서 체외 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과. 한국수정란이식학회지, 20:79-87.
- 박용수. 2004. 한우 체내, 체외 및 복제 수정란 이식된 수란우의 임신과 분만 및 산자의 생존. 한국수정란이식학회지, 19:239-244.
- 박흡대, 박향, 이상진, 김재명. 2002. 아미노산과 FBS의 첨가가 한우 난자의 체외발달에 미치는 영향. 한국수정란이식학회지, 17:211-218.
- 이병천, 김대용, 장구, 조종기, 김재훈, 김민규, 강성근, 황우석. 2004. 수정란 이식에 의한 유사산 발생원인과 예방대책. 한국수정란이식학회지, 19(부록) :23-35.
- 임여정, 김진희, 송해범, 정연길. 2004. Serum-free

medium에서 배양한 한우 배의 내동성과 이식.
한국수정란이식학회지, 19:133-145.

황환섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태,
김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙, 체외 수

정란의 수정란 이식에 관한 연구. 한국수정란
이식학회지, 19:1-10.

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