

未經産豚에 대한 호르몬處理가 過排卵 및 卵子發達에 미치는 影響

張源敬 · 朴濶基 · 李明植 · 朴修奉 · 李章炯 · 朴容潤 · 李勳澤* · 鄭吉生*

農村振興廳 畜産技術研究所

Effects of Hormone Treatment on Superovulation and Embryonic Development in the Gilts

Chang, W. K., J. K. Park, M. S. Lee, S. B. Park, J. H. Lee,

Y. Y. Park, H. T. Lee* and K. S. Chung*

National Livestock Research Institute, R. D. A.

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate effects of hormonal treatments on corpus lutea, follicles and development stage of embryos for enhancing the production efficiency of *in vivo* porcine embryos suitable to introduce of foreign genes. Hundred and twenty gilts were allocated to 6 experimental group in different combinations of hormones PG 600, PMSG, hCG and altrenogest. When gilts were treated with chorionic gonadotrophin 200 IU and serum gonadotrophin 200 IU (PG 600), altrenogest, serum gonadotrophin (PMSG) 1,000 IU, and chorionic gonadotrophin (hCG) 750 IU (PAPh), the numbers of corpus luteum (30.4) were significantly higher than those of other treatment groups ($P < 0.05$). The numbers of corpus luteum from ovary in either right (9.1) or left (10.1) side was not significantly changed with hormone treatments. Number of follicles in control was 20.7, which was higher than those of hormonal treatment groups. The average numbers of 1, 2, 4 and 8 cell staged embryos were 8.1, 1.4, 1.6 and 1.0 in control, but the numbers of 1-cell stage in PAPh treatment group was 24.2, which was significantly higher than those of treatment groups ($P < 0.05$). Therefore, these data indicated that hormonal treatment, especially PAPh, enhanced the developments of follicles, corpus lutea and embryos and increased the collection rate of the 1-cell stage embryos to introduce of foreign genes.

I. 서 론

현재까지 형질전환동물의 생산에 있어서 가장 효과적으로 이용된 유전자는 포유동물의 성장관련유전자들이며, 이러한 유전자를 이용하여 성장과 관련된 유

전적 개량 기술이 돼지(Bryan 등, 1988; Ebert 등, 1990; Miller 등, 1989; Pinkert 등, 1994; Pursel 등, 1992)와 면양(Hammer 등, 1985, 1986; Murray 등, 1989; Rexroad 등, 1989)등에서 개발되어 지고 있다.

한편 Dziuk 등(1964), Hancock 등(1962)과 Vin-

* 건국대학교 동물자원연구센터(Kon-Kuk University, Animal Resources Research Center)

cent 등(1964)에 의해 돼지 수정란이식이 최초로 보고된 이래 다수의 연구자에 의해 이 분야에 관한 연구가 진행되었다. 그리고 1980년대에 들어와 Davis 등(1985)과 Cameron 등(1989)에 의해 비로소 돼지 수정란이식 기술은 소와 동일한 수준으로 진전되었고, 이후 유전자 도입에 의한 형질전환돼지의 생산을 위한 노력은 돼지 수정란이식 기술의 눈부신 발전을 가져왔다.

그러나 현재 유전자가 도입된 수정란을 이식했을 때의 형질전환돼지 생산율은 0.31~1.73%로 저조한 편이며(Pursel 등, 1990), 이는 *in-vivo* 수정란의 공급은 원활치 못하고, *in vitro* 난자는 수태율이 낮아 급후의 성과를 성급히 낙관하기는 어려운 실정이다.

최근 호르몬을 이용하여 외래유전자주입에 적당한 난자를 생산하기 위한 연구가 진행되고 있다. 그러나 돼지에서 progesterone 이나 progesterone 유도체를 장기간 투여하는 방법은 별 효과가 없다. 돼지는 호르몬 투여량에 대한 반응이 대단히 민감하기 때문에 적정수준이 아니면 난소낭종 (ovarian cyst)의 발생률도 높으며 처리후 수정율의 감소, 자돈의 기형발생 등이 일어난다. 그러나 합성 progesterone인 altrenogest (Ru-2267 혹은 allyltrenbolone)는 이러한 위험성이 없는 호르몬제이며 (Webel과 Day, 1982), Oxolven (SA-45249; Zerobin 등, 1977)도 유사한 기능이 있다. 돼지에 있어 progestagen의 이용방법은 Webel (1976)에 의해 발표되었으며, 경구투여용 progestagen제인 altrenogest (Webel과 Day, 1982)와 Oxolven (Zerobin, 1977)는 만족할만한 결과를 초래한다. 즉, altrenogest 15~20 mg을 사료에 혼합하여 공급하면 혈중 estradiol 농도는 처리기간 동안 낮게 유지되며 altrenogest 중단 후 혈중 수준이 증가하기 시작하여 3~4일 후 최대에 도달한다 (Redmer와 Day, 1981). 미경산돈의 경우 발정주기의 전 기간중 어느 때나 발정을 동기화하기 위해서는 최소한 14일간의 호르몬을 투여할 필요가 있다 (Stevenson과 Davis, 1981). Webel(1978)은 altrenogest를 처리한 미경산돈에서 발정이 오지 않는 것은 미경산돈이 아직 춘기발동기에 이르지 않아 불활성난소를 가지고 있기 때문이라고 보고했지만, 춘기발동기 이전의 미경산돈에게 PMSG (pregnant mare's serum gonadotrophin)와 hCG (human chorionic gonadotro-

phin)를 단 한 번 주사해서 발정과 배란을 유기했다는 보고도 있다 (Guthrie, 1976). Britt 등(1989)은 5.5~7.5개월령의 춘기발동기전 미경산돈에게 PG 600을 주사한 결과 발정율은 72.9%에 이르렀다고 보고하였다. 성숙한 돼지의 발정은 400 IU의 PMSG와 200 IU의 hCG 혼합물인 PG 600 (Intervet International, Boxmeer, Netherlands) 단독처리에 의해 발정을 유기할 수 있으나, PMSG 또는 PG 600을 투여한 돼지는 때때로 비정상 배란을 보이므로 난자의 생존율이 낮은 원인이 되기도 한다 (Dziuk와 Gehlbach, 1970).

돼지에 있어서 PGF_{2α}의 황체퇴행효과는 발정주기 11~12일 이전에는 매우 낮고, 발정주기 12~15일에 한해서만 효과가 있기 때문에, 발정주기의 정확한 검색없이 돈군의 발정주기를 동기화시키기 위하여 동제제를 투여하면 효과가 없다 (Guthrie와 Polge, 1976). 이와 같이 돼지의 발정유기 및 동기화를 위한 방법은 다수 연구되었으나 효과적인 방법이 아직 제시되어 있지 않다.

이에 본 연구는 성장관련 유전자를 이용한 고급육 생산용 돼지의 개발에 필요한 기반 기술로서 외인성 호르몬처리 방법이 유전자 미세주입용 체내 수정란의 대량생산에 미치는 영향을 검토코자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

도축장에서 채취한 돼지난소를 이용하여 체외수정용 난포란을 채취하여 이용하였고, 수정란 채란 및 이식돈은 축산기술연구소에서 생산된 6~8개월령 Landrace 미경산돈을 사용하였으며 체중은 110~130 kg 정도였다.

2. 과배란 처리

첫번째 그룹은 발정주기 12일부터 14일 사이에 altrenogest (Regumate[®] porcine, Roussel Uclaf, France)를 매일 두당 사료 3kg에 20mg을 혼합하여 9일간 급여하였으며, 24시간 후에 PMSG (Intervet International, B.V. Boxmeer, Holland) 1,000 IU를 근육주사 한 다음, 72시간째에 750 IU의 hCG (Intervet International, B.V. Boxmeer, Holl-

and를 근육주사하여 과배란을 유도하였다. 두번째 그룹은 첫번째 그룹과 호르몬 처리 방법은 동일하나 PMSG를 1,500 IU로 증가시켰다. 세번째 그룹은 PG 600 (Intervet International, B.V. Boxmeer, Holland)을 발정주기와 관계없이 1vial(5 ml)을 근육주사한 후, 10일 후에 altrenogest를 매일 두당 사료 3 kg에 20 mg을 혼합하여 5일간 급여하였으며, 최종급여 24시간 후에 PMSG 1,000 IU를 근육주사한 다음, 다시 72시간 후에 hCG 750 IU를 근육주사하였다. 그리고 네번째 그룹은 발정주기와 관계없이 PG 600 1 vial을 근육주사한 후 16일째에 PMSG 1,000 IU와 19일째에 hCG 750 IU를 근육주사하여 과배란을 유도하였다.

3. 교배 및 관리

hCG 투여후 매일 09시와 18시에 2회씩 육안적 관찰을 실시하였으며 발정 초기증상이 나타난 종빈돈에 한하여 성성숙된 수퇘지를 접촉시켜 최초 수퇘지 허용시 1회 자연교배를 실시하였고, 1회 자연교배 후 24시간 후에 2회 교배를 실시하였다. 2회 교배 후 종빈돈은 개체사육을 실시하였으며 수술시까지 사료를 절식시키고 물은 자유롭게 섭취할 수 있게 관리를 실시하였다. 종빈돈의 사료는 DE 3,300 kcal 및 CP 14%인 임신돈 사료를 1일 3kg씩 급여하였고 기타 성분은 NRC 사양표준에 준하였다.

4. 외과적 수술 및 수정란 회수

마취제로는 hypnodil (Janssen, Belgium) 0.5 ml/10 kg를 이정맥에 주사하여 1차 마취를 실시하였고, 그 후 미경산돈은 가연성 흡입마취제인 halotane (일성신약) 3~5%를 산소 (600~1,000 ml/min) 순환 마취시스템에 연결하여 마취상태를 유지시켰다. 마취가 유지되는 동안 복부를 절개하여 난관과 자궁을 꺼낸 다음, 16gauge 투관주사바늘을 자궁-난관 접속 부위에 투관한 후, 0.1%의 BSA (Sigma, USA)와 100 IU의 penicillin 및 100 µg의 streptomycin이 함유된 25ml의 PBS (Difco Lab., USA)를 사용하여 난관을 역관류시킴으로써 난자를 회수하였다. 관류액은 멸균시험튜브를 이용하여 수집하였고, 37℃가 유지되는 보온병을 이용하여 실험실로 운반한 후 실체현미경을 이용하여 수정란을 회수하였다.

난자는 최초 교배후 48~56시간에 복부절개에 의해 좌우 난소별로 난포수와 배란된 황체수를 조사하였고, 회수된 난자수와 난자의 발달상태를 조사하였다. 회수된 난자는 미수정란, 1세포, 2세포, 4세포, 8세포와 퇴행난자로 분류하였다.

5. 통계분석

본 실험에서 얻어진 결과의 통계분석은 농촌진흥청 보유 전자계산기에서 활용중인 통계분석 프로그램인 CRD (완전임의배치 분산분석)에 의하여 요인별로 통계처리를 실시하였다 (김, 1986).

III. 결과 및 고찰

1. 호르몬 처리가 황체수 및 난포수에 미치는 영향

돼지의 과배란을 유도하기 위하여 공시돈을 6그룹 (대조구, Altrenogest, PG, PPh, PAPH, Ph)으로 나누어 호르몬 처리를 실시하였던 바, 황체수 및 난포수는 Table 1에서 보는 바와 같다. 즉, 총 평균 황체수는 19.2개였고 좌측 및 우측 황체수는 각각 10.1개 및 9.1개로 호르몬 처리시 좌측 및 우측간의 황체수는 차이가 없었으나, PAPH, PPh, PG 및 Altrenogest를 처리하였을 때 황체수는 각각 30.4, 22.2, 19.1 및 16.4개로 번식관련 호르몬처리에 의해 배란성 황체수가 증가하였으며 PAPH처리시 다른 처리보다 유의하게 ($P < 0.05$) 증가하였다. 한편 대조군에 있어서 포상난포수는 20.7개로 성숙 또는 배란 직전의 포상난포수가 호르몬 처리군에 비해서 많았다. PG 및 Ph주사 후 6일 이내에 채란했을 때는 배란성 포상난포수가 없었으나, 호르몬 투여기간이 긴 altrenogest, PPh 및 PAPH처리군에서는 포상난포가 있었는데, 이는 성선 호르몬 투여로 인하여 배란성 난포의 일시적 과열이 일어나지만 장기간 외인성 호르몬을 투여하면 발정주기 중에 난포가 지속적으로 성숙하기 때문인 것으로 생각된다.

형질전환 돼지를 생산하기 위한 과배란 처리는 공란돈으로부터 많은 난자의 회수와 배란시기의 동기화 등 두가지 장점이 있다. (Martin, 1989; Pinkert, 1987). Signoret 등(1972), Pope 등(1989)과 Holtz와 Schlieper (1991)는 발정개시와 배란시기 사이에는 시간적인 차이가 있다고 보고하였고, Pope 등

Table 1. No. of corpus lutea and follicles in pigs with different hormone treatments

Treatment*	No. of corpus luteum			No. of follicles		
	Left	Right	Total	Left	Right	Total
Control	8.1	6.5	14.6 ^a	5.7	15.0	20.7
Altrenogest	7.9	8.5	16.4 ^{ab}	1.5	6.8	8.3
PG	9.3	9.8	19.1 ^b	—	—	—
PPh	11.1	11.1	22.2 ^{bc}	5.0	6.7	11.7
PAPh	15.8	14.6	30.4 ^d	3.0	—	3.0
Ph	8.5	4.2	12.7 ^a	—	—	—
Mean	10.1	9.1	19.2	2.2	8.0	10.2

* Control : Natural estrus, PG : PMSG 400 IU+hCG 200 IU, PPh : PG 600+PMSG 1000 IU+hCG 750 IU, PAPh : PG 600+altrenogest+PMSG 1000 IU+hCG 750 IU, Ph : PMSG 1000+hCG 750 IU. Means in the same column with different superscript are different ($P<0.05$).

(1989), Didion 등(1990), Martin 등(1990), Xie 등(1990)은 배란시기와 배발달 사이에는 상관관계가 높다고 보고하였다. 그러나 자연배란에 비해 호르몬 처리시 배란의 동기화가 이루어지며 전황기 단계의 초기 난자 회수율이 높다고 하였다 (Dziuk와 Baker, 1972; Pope 등, 1989).

한편 성성숙된 미경산돈의 과배란을 유도하기 위해서는 번식호르몬 처리가 유효하여 (Hunter, 1964, 1966; Day 등, 1965, 1967) PMSG는 발정주기 15~16일 사이에 황체를 퇴행시키는 효과가 있고, 72~98 시간후의 hCG 처리는 배란을 유도한다고 하였으며 (Hammer 등, 1985; Pope 등, 1989), Kaufmann과 Holtz (1982), Holtz 등(1991)은 PMSG/hCG 처리는 20개 이상의 배란을 일으키며, 호르몬 수준이 증가할수록 배란수가 많아진다고 하여 본 연구결과와 일치하였다.

또한, 돼지의 자연배란은 발정 후 30~34시간 사이에 시작되고 (Singnoret 등, 1986; Pope 등, 1989) 배란이 끝날 때까지의 시간은 최소한 3~6.5시간이 소요되며 (Burger, 1952; Betteridge와 Raeside, 1962), 대부분의 돼지에서 발정후 30~36시간 사이에 배란이 시작되나, 발정후 34시간째에는 배란이 완료된 개체도 있는 반면 배란이 일어나지 않은 개체도 있다 (Hunter, 1964, 1966; Pope 등, 1989). 그러므로 돼지에 있어서는 발정동기화 처리없이 배란동기화나 배발달 시기가 같은 초기배의 생산은 어렵다 (Pope 등, 1977; Didion 등, 1990; Martin 등, 1990; Xie 등,

1990). 이러한 연구결과는 돼지의 발정, 배란 및 초기 배발달 등은 시간적으로 변이가 많다는 것을 의미하며, 본 연구결과는 호르몬처리에 의해 과배란유기 및 배란의 동기화가 가능하다는 것을 보여준다.

2. 호르몬 처리가 배발달에 미치는 영향

Table 2는 호르몬 처리 후 배란된 난자의 배발달 단계를 보여주고 있다. 대조군의 경우 1세포기, 2세포기, 4세포기 및 8세포기 난자의 두당 평균수는 각각 8.1, 1.4, 1.6 및 1.0개였으나, PAPh 처리군의 경우 1세포기 난자가 24.2±16.7개로 초기배의 발달단계가 동기화된 난자회수율이 대조군보다 유의하게 높았으며, ($P<0.05$) 다른 호르몬 처리군에서도 1세포기의 난자 회수율이 대조군보다 개선되는 결과를 보였다.

Vincent 등(1964)은 자연상태에서 1차 수정후 46~65시간째에는 1세포기의 수정란수가 많았으며, Pursel 등(1981), Krealing 등(1981), Webel과 Day(1982) 및 Davis 등(1985)은 altrenogest 및 성선히르몬으로 발정주기 및 수정란 발달동기화가 가능했다고 보고하였다. 한편 Martin 등(1990)은 2차 인공수정실시 후 48시간 째에 채란하면 60시간 째보다 채란율이 높다고 했으며, 60시간 째에는 3~8세포기 난자가 46%였다고 했고, 자연상태에서 배란된 난자는 발정개시 후 48~60시간 이내에 최초분할이 일어나며, 호르몬 처리에 의한 배발달의 동기화는 최초분할 전에 가능하다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서 제시한 호르몬 처리법은 배란의

Table 2. Number of embryos collected from gilts with different hormone treatments

Treatment*	Mean of embryo collected per gilt	Mean of embryos developed to			
		1-cell	2-cell	4-cell	8-cell
Control	11.4	8.1± 6.9 ^a	1.4	1.6	0.1
APh1000	9.3	4.0± 4.2 ^a	3.0	1.0	—
APh1500	15.0	12.0± 1.4 ^b	2.0	0.5	—
PAPh	27.0	24.2± 16.7 ^c	—	—	—
PPh	19.0	4.8± 5.5 ^a	9.0	4.2	—

* Control : Natural estrus, APh 1000 : Altrenogest + PMSG 1000 IU + hCG 750 IU, APh 1500 : Altrenogest + PMSG 1500 IU + hCG 750 IU, PAPh : PG600 + altrenogest + PMSG 1000 IU + hCG 750 IU, PPh : PG600 + PMSG 1000 IU + hCG 750 IU. Means in the same column with different superscript are different ($P<0.05$).

동기화 및 수정란 발달의 동기화를 가능하게 하며 형질전환 돼지 생산을 위한 초기배의 채란 효율을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 적 요

본 연구는 성장관련 유전자의 도입에 적합한 체내수정란의 생산효율을 제고하고 호르몬처리 방법별 황체수, 난포수 및 배발달상태를 검토하기 위하여 미경산돈 120두를 공시하여 PG600, PMSG, hCG 및 Altrenogest를 6개 조합으로 처리하였던 바, 그 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 돼지의 과배란을 유도하기 위하여 PG 600, Altrenogest, PMSG 1000 IU 및 hCG 750 IU (PAPh) 처리했을 때의 황체수는 30.4개로서 타 처리군에 비하여 유의적으로 많았으나 ($P<0.05$), 호르몬 처리시 좌측 및 우측 난소의 황체수는 각각 10.1개 및 9.1개로서 양자 사이에는 차이가 없었다.
2. 돼지의 난포수를 조사한 결과, 대조군에서는 평균 20.7개로 호르몬 처리구의 난포수보다 유의하게 높았다.
3. 호르몬처리 후 회수된 난자의 발달상태는 대조군에서 1, 2, 4 및 8세포기 수정란의 난자수가 두당 각각 8.1, 1.4, 1.6 및 1.0개였으나, PAPh처리시는 1세포기 난자수가 24.2개로서 호르몬처리에 의해 발달이 동기화된 난자의 비율이 대조군보다 유의하게 높았다 ($P<0.05$).

이상의 연구결과를 종합하여 생각할 때 번식관련호르몬은 난포육, 황체수 및 난자의 발달상태에 영향을 미치며, 호르몬처리, 특히, PAPh에 의해 외래유전자주입이 가능한 1세포기 난자생산율을 증대시킬 수 있을 것으로 생각된다.

V. 인용문헌

1. Betteridge, K. J. and J. I. Raeside. 1962. Observation of the ovary by peritoneal cannulation in pigs. *Res. Vet. Sci.*, 3:390-398.
2. Bryan, K. A., J. M. Hammond, S. Canning, J. Mondschein, D. E. Carbaugh, A. M. Clark and D. R. Hagen. 1988. Reproduction and growth responses of gilts to exogenous porcine pituitary growth hormone. *J. Anim. Sci.*, 67:196-205.
3. Burger, J. F. 1952. Sex physiology of pigs. *Underspoort J. Vet. Res.*, 25:22-131(Supp. 1).
4. Cameron, R. D. A., M. Durack, R. Forgarty, D. K. H. Putra and J. McVeigh. 1989. Practical experience with commercial embryo transfer in pig. *Aust. Vet. J.*, 66:314-317.
5. Davis, D. L., J. S. Stevenson and W. E. Schmidt. 1985. Scheduled breeding of gilts after estrus synchronization with altrenogest. *J. Anim. Sci.*, 60:599-602.

6. Day, B. N., D. E. Longnecker, S. C. Jaffey, E. W. Gibson and J. F. Lasley. 1965. Fertility in swine following superovulation. *J. Anim. Sci.*, 21:697-699.
7. Day, B. N., S. L. Oxenreider, A. B. Waite and J. F. Lasley. 1967. Use of gonadotrophins to synchronize estrus in swine. *J. Anim. Sci.*, 24:1075-1079.
8. Didion, B. A., M. J. Martin and C. L. Markert. 1990. Characterization of fertilization and early embryonic development of naturally ovulated pig ova. *Theriogenology*, 33:284 (Abstract).
9. Dziuk P. J., C. Polge and L. E. Rowson. 1964. Intra-uterine migration and mixing of embryos in swine following egg transfer. *J. Anim. Sci.*, 23:37-42.
10. Dziuk, P. J. and G. D. Gehlbach. 1970. Induction of ovulation and fertilization in the immature gilt. *J. Anim. Sci.*, 19:410-413.
11. Dziuk, P. J. and R. D. Baker. 1972. Induction and control ovulation in swine. *J. Anim. Sci.*, 21:697-699.
12. Ebert, K. M., T. E. Smith, F. C. Buonomo, E. W. Overstrom and M. J. Low. 1990. Porcine growth hormone gene expression from viral promoters in transgenic swine. *Anim. Biotechnol.*, 1:145-159.
13. Guthrie, H. D. and C. Polge. 1976. Luteal function and Destrus in gilts treated with a synthetic analogue of prostaglandin F-2 α (ICI 79,939) at various time during the oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.*, 48:423-425.
14. Hammer, R. E., V. G. Pursel, C. E. Jr. Rexroad, R. J. Wall, D. J. Bolt, K. M. Ebert, R. D. Palmiter and R. L. Brinster. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature*, 315:680-683.
15. Hammer, R. E., V. G. Pursel, C. E. Jr. Rexroad, R. J. Wall, D. J. Bolt, R. D. Palmiter and R. L. Brinster. 1986. Genetic engineering of mammalian embryos. *J. Anim. Sci.*, 63:269-278.
16. Hancock, J. L. and G. J. R. Hovell. 1962. Egg transfer in the sow. *J. Reprod. Fertil.*, 4:195-200.
17. Holtz, W and B. Schlieper. 1991. Unsatisfactory results with the transfer of embryos from gilts superovulated with PMSG and hCG. *Theriogenology*, 35:1237-1249.
18. Hunter, R. H. F. 1964. Superovulation and fertility in the pig. *Anim. Prod.*, 6:189-194.
19. Hunter, R. H. F. 1966. The effect of superovulation of fertilization and embryonic survival in the pig. *Anim. Prod.*, 8:457-465.
20. Kaufmann, F. V. and W. Holtz. 1982. Induction of ovulation in gonadotrophin-treated gilts with synthetic gonadotrophin releasing hormone. *Theriogenology*, 17:141-157.
21. Kraeling, R. R., P. J. Dziuk, V. G. Pursel, G. B. Rampacek and S. K. Webel. 1981. Synchronization of estrus with allyl trenbolone (RU-2267). *J. Anim. Sci.*, 52:831-835.
22. Martin, M. J., B. A. Didion and C. L. Markert. 1989. Effect of gonadotrophin administration on estrus synchronization and ovulation rate following induced abortion in swine. *Theriogenology*, 32:929-937.
23. Martin, M. J., B. A. Didion and C. L. Markert. 1990. Characterization of fertilization and early embryonic development of naturally ovulated pig ova. *Theriogenology*, 33:284.
24. Miller, K. F., V. G. Pursel, R. E. Hammer, C. A. Pinkert, R.D. Plamiter and R. L. Brinster. 1989. Expression of human or bovine growth hormone metallothionein-1 promoter in transgenic swine alters the secretion of porcine growth hormone and insuline-like growth factor-I. *J. Endocrinol.*, 120:481-488.
25. Murry, J. D., C. D. Nancarrow, J. T. Mar-

- shall, I. G. Hazelton and K. A. Ward. 1989. The production of transgenic Merino sheep by microinjection of ovine metallothionein ovine growth hormone fusion genes. *Reprod. Fertil. Dev.*, 1:147 (Abstract).
26. Pinkert, C. A., V. G. Pursel, K. F. Muller, R. D. Palmiter and R. L. Brinster. 1987. Production of transgenic pigs harboring growth hormone (MTbGH) or growth hormone releasing factor (MThGRF) genes. *J. Anim. Sci.*, 65:260 (Suppl.).
27. Pinkert, C. A., E. T. J. Galbreath, C. W. Yang and L. J. Striker. 1994. Liver, renal and subcutaneous histopathology in PEP-CK-bGH transgenic pigs. *Transgenic-Res.*, 3:401-405.
28. Pope, C. E. and B. N. Day. 1977. Transfer of preimplantation pig embryos following *in vitro* culture for 24 or 48 hours. *J. Anim. Sci.*, 44:1036-1040.
29. Pope, W. F., M. H. Wilde and S. Xie. 1989. Effect of electrocautery of nonovulated day 1 follicles on subsequent morphological variation among day 11 porcine embryos. *Biol. Reprod.*, 39:882-887.
30. Pursel, V. G., D. O. Elliot, C. W. Newman and R. B. Staigmiller. 1981. Synchronization of estrus in gilts with allyl trenbolone: Fecundity after natural service and insemination with frozen semen. *J. Anim. Sci.*, 52:130-133.
31. Pursel, V. G., D. J. Bolt, K. F. Miller, C. A. Pinkert, R. E. Hammer, R. D. Palmiter and R. L. Brinster. 1990. Expression and performance in transgenic swine. *J. Reprod. Fertil.*, 40:235-245 (Suppl.).
32. Pursel, V. G., P. Sutrave, R. J. Wall, A. M. Kelly and S. H. Hughes. 1992. Transfer of cSKI gene into swine to enhance muscle development. *Theriogenology*, 37:278. (Abstract)
33. Redmer, D. A. and B. N. Day. 1981. Ovarian activity and hormonal patterns in gilts fed allyl trenbolone. *J. Anim. Sci.*, 53:1089-1094.
34. Rexroad, C. E. Jr., R. E. Hammer, D. J. Bolt, K. E. Mayo, L. A. Frohman, R. D. Palmiter and R. L. Brinster. 1989. Production of transgenic sheep with growth-regulating genes. *Mol. Reprod. Dev.*, 1:164-169.
35. Signoret, J. P., F. du Mesnil du Buisson and P. Mauleon. 1972. Effect of mating on the onset and duration of ovulation in the sow. *J. Reprod. Fertil.*, 31:327-330.
36. Stevenson, J. S., N. M. Cox. and J. H. Britton. 1981. Role of the ovary in controlling LH, FSH, and prolactin secretion during and after lactation in pigs. *Biol. Reprod.*, 24:341-353.
37. Vincent, C. K., O. W. Robison and L. C. Ulberg. 1964. A technique for reciprocal embryo transfer in swine. *J. Anim. Sci.*, 23:1084-1088.
38. Webel, S. K. 1976. Estrus control in swine a progestogen. *J. Anim. Sci.*, 42:1358.
39. Webel, S. K. 1978. Ovulation control in the pig. *In*: "Control of ovulation." (Crighton, D. B., N. B. Haynes, G. R. Foxcroft and G. E. Lamming, eds.). *Proc. Easter School Agr. Sci.*, Univ. of Nottingham, Butterworths, London. pp. 421-434.
40. Webel, S. K and B. N. Day. 1982. The control of ovulation, *In*: "Control of Pig Reproduction." (Cole, D. J. A. and G. R. Foxcroft, eds.) Butterworths Scitific, London. pp. 197-210.
41. Xie, S., D. M. Broermann, K. P. Nephew, M. D. Bishop and W. F. Pope. 1990a. Relationships between oocyte maturation and fertilization on zygote diversity in swine. *J. Anim. Sci.*, 68:2027-2033.
42. Xie, S., D. M. Broermann, K. P. Nephew, J. S. Ottobre and W. F. Pope 1990b. Changes

- in follicular endocrinology during maturation of porcine oocytes. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 7:75- 82.
43. Zerobin, K., Z. Schutze and P. Mayer, 1977. A new progestin (Sa 45.249) for cycle control in pigs. *Theriogenology*, 8:379.
44. 김승재. 1986. 농사시험연구를 위한 통계적 방법. 농촌진흥청. pp. 145-202.