

돼지에서 PMSG와 PG600[®]의 과배란 처치 효과

김대영[†] · 현상환 · 이갑상 · 김혜수 · 염수청* · 한병우** · 이강남 · 이은송*** · 이병천 · 황우석
서울대학교 수의과대학

Superovulation Treatment with PMSG and PG600[®] in Prepubertal Gilts

D. Y. Kim[†], S. H. Hyun, G. S. Lee, H. S. Kim, S. C. Yeom*,

B. W. Han**, K. N. Lee, E. S. Lee***, B. C. Lee and W. S. Hwang

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Republic of Korea

SUMMARY

The objective of this study was to compare different superovulation treatments using PMSG or PG600[®] and to determine the optimal time of oocyte recovery after hCG administration. A total of 90 prepubertal Yorkshire x Landrace gilts crossed with Duroc, 6~7 months old and 100~120 kg of body weight, were used. PMSG (1,500 IU/head) or 5~7.5 ml of PG600[®] (400 IU of PMSG and 200 IU of hCG) were administered subcutaneously, and then 1,000 IU of hCG were administered intramuscularly at 72 hours after PMSG or PG600[®] injection. At various time of 44, 46, 48 and 50 hours after hCG injection, superovulated gilts were slaughtered in a local abattoir. Ovaries together with oviducts were excised from the body immediately after slaughtered and transported to laboratory in 39°C saline. Ovaries were examined for the number of corpus hemorrhagicum and unovulated follicles present in the surface of ovary. The unovulated follicles were categorized into small (1~3 mm in diameter) and large (4~8 mm) groups according to their diameter. Oocytes were recovered by flushing both oviducts with micropipette tip (1~100 μ l) attached to a 10-ml disposable syringe.

The number of CH on ovary and recovered oocytes at 46, 48 and 50 hr after hCG injection in PG600[®] treated groups were significantly higher than the other group. Group of hCG 50 hr among PMSG treated groups had a greater number of CH and recovered oocytes ($P < 0.05$). The number of CH on ovary and recovered oocytes at 50 hr after hCG injection in 1½ vial (7.5 ml) of PG600[®] treated groups was significantly higher than 1 vial (5 ml) of PG600[®] treated group ($P < 0.05$).

In conclusions, considering a number of corpus hemorrhagicum and recovered oocytes after superovulation in gilts, effective time of oocyte recovery by treatment with PMSG and hCG was post-hCG 50 hr and with PG600[®] plus hCG was post-hCG 46, 48 and 50 hr. Also, administration of 1½ vial (7.5 ml) of PG600[®] treated group had a great number of CH and recovered oocytes.

(Key words : superovulation, PMSG, PG600, corpus hemorrhagicum, pig)

*대상농장 주식회사 (Daesang Lab Co., LTD)

**선진브릿지랩 주식회사 (Sunjin Bridge Lab Co., LTD)

***강원대학교 수의학과 (Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University)

[†]Correspondence

서 론

돼지에서 과배란 처치는 자돈수를 늘리기 위한 목적과 배란시기를 예측, 조절하여 교배 및 인공수정의 적기를 결정함으로써 수태율을 향상시킬 수 있다는 측면에서 돼지의 생산성 향상에 기여하였다(Dziuk 등, 1962; Baker 등, 1968). 성선자극호르몬 투여에 의한 난포의 성숙과 배란유도에 있어서 Tanabe 등(1949)이 PMSG의 단독 주사 방법을 실시하였고, 이후 Tanabe 등(1949)과 Hunter(1964)는 과배란 처치 후 돼지에서의 임신율 변화 여부를 조사하였다. 돼지에서 발정 유도과 발정동기화에 관한 연구로서 Ulberg 등(1951)은 발정시기를 조절하기 위해 progesterone을 매일 투여하여 발정과 배란을 억제하였고, Dziuk 등(1962)은 progesterone의 경구투여와 hCG의 처치를 혼용하는 방법을 사용하였다. Gibson 등(1963)은 PMSG와 hCG 처치 후 교배하였을 때 임신 25일경의 평균 산자수가 증가된 것을 확인하였으며, Day 등(1967)은 발정주기 17일에 PMSG 1,200 IU를 처치한 후 발정주기 20일째에 500 IU의 hCG를 처치함으로써 과배란을 유도할 수 있다고 보고하였다. 이후 Dziuk 등(1966), Day 등(1967), Baker 등(1968), Pope 등(1972), Martin 등(1996) Poulin 등(1997) 및 Besenfelder 등(1997)은 PMSG와 hCG 처치에 의한 돼지의 배란유도에 대해 보고하였으며, Hazeleger 등(2000)은 PMSG 처치량에 따른 회수된 수정란의 배발육을 비교하였고 이후 체내 이식하였을 때의 생존율을 조사하였다.

근래에 들어 돼지는 인간유용물질의 생산 및 대체장기 개발의 대상동물로 주목을 받고 있으며, Li 등(2000)은 PMSG와 hCG를 이용한 과배란 처치로 *in vivo* 유래의 난자를 생산하여 핵이식 과정을 통한 복제돼지의 생산에 이용하였다. PMSG와 hCG의 합제인 PG600[®]을 이용한 과배란을 유도는 Estienne 등(1998), Holtz 등(1999) 및 Shimatsu 등(2000)이 수행한 바 있으며, Shimatsu 등(2000)은 형질전환동물의 생산에 이용될 수 있는 miniature pig의 과배란 처치에 PG600[®]을 이용하였다. 이처럼 성선 자극 호르몬의 역할은 발정 동기화 및 과

배란 처치에 있어서 양질의 체내 성숙 난자 및 수정란을 다수 생산할 수 있는 중요한 방법으로 이용되고 있으나, 호르몬의 종류 및 투여량에 따른 과배란 반응은 다양하게 나타나고 있다. 돼지에서는 정상적으로 10~25개의 난자가 배란되어 다른 산업동물에 비해 과배란 처치의 필요성이 절실하게 요구되지는 않으나 핵이식 및 형질전환동물 생산을 위한 성숙난자확보가 필요하게 됨에 따라 과배란 유기의 중요성이 대두되어 왔다(Garcia, 2000).

최근의 인간 대체장기를 위한 형질전환동물의 생산에 있어, 복제 돼지의 가능성에 대한 연구로, Machaty 등(1998)은 돼지의 경우 체외 수정란 생산이 저조하며 그 원인으로 적합하지 않은 체외 성숙 체계를 지적하였으며, 또한 체내에서 성숙된 난자와 비교해 볼 때 체외에서 성숙, 수정된 수정란의 발육능이 현저히 낮다고 보고하였다. Onishi 등(2000)은 핵이식 실험에서 공여란으로 과배란 처치 후의 체내 성숙난자만을 사용하여 복제 돼지를 생산하였다. 따라서, 다수의 체내 성숙 난자를 안정적으로 확보하기 위한 과배란 처치와 관련된 여러 요인들의 검토는 핵이식 및 체외수정, 배양 실험의 실용화를 위해 중요한 과제라 하겠다.

이에 본 실험에서는 체내에서 성숙된 난자를 얻기 위한 방법으로 미경산돈에 PMSG 또는 PG600[®]을 hCG와 병용 투여하여 과배란 처치 효과를 비교하고 각각 호르몬제의 적절한 투여량과 투여 후 체내 성숙난자의 효과적인 회수시간을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 90두의 생후 6~7개월, 체중 100~120 Kg의 3원 교잡 미성숙돈 (Yorkshire-Landrace × Duroc)으로 과배란 처치 후 발정징후를 보이는 개체만을 선발하여 실험에 이용하였다.

2. 호르몬 처치

과배란 처치를 위해서 미경산돈 40두에는 1두당 PMSG(대성미생물, 한국) 1,500 IU를 투여하였

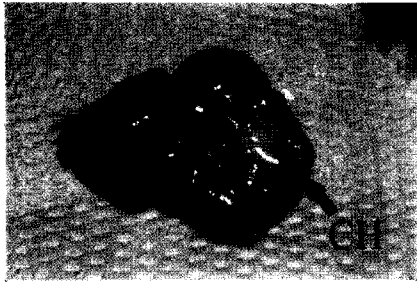


Fig. 1. An ovary from a superovulated gilt. The gilt was treated with PG600[®] and hCG. The arrow indicates a CH(corpus hemorrhagicum).

고 40두는 PMSG 400 IU와 hCG 200 IU의 합제인 PG600[®] (Intervet, Boxmeer, Netherland)을 5 ml(1 vial)를, 10두는 7.5 ml(1.5 vial, PMSG 600 IU + hCG 300 IU)를 피하 주사하였다. PMSG 또는 PG 600[®] 투여 후 72시간에 hCG(대성미생물, 한국) 1,000 IU를 근육 주사하였다.

3. 과배란 반응의 관찰 및 난자의 회수

실험동물을 도축한 후 난관체에 덮인 난소와 난관을 절제하여 39°C 멸균 생리식염수가 든 50 ml 튜브에 담아 실험실로 운반하였다. 채취한 난소는 형태학적 성상을 기초로 1~3 mm의 작은 난포강을 가진 것과 4~8 mm의 난포강이 큰 것으로 각기 나누어 난소 표면에 존재하는 난포수를 기록하였으며, 배란된 난자수를 산정하기 위하여 배란 후 형성된 적체의 수를 기록하였다.

난관으로부터 난자를 회수하기 위하여 난소와 난관을 분리한 후 난관에 부착되어 있는 난관간막을 제거하여 난관을 일직선이 되게 하였다. 관류액으로는 hepes-buffered TCM199을 이용하였으며, 10 ml 일회용주사기에 100 μ l pippete tip을 연결하고 난관체에 위치하는 난관 개구부에 tip을 삽입하여 관류하였다. 관류액은 5 ml 이상 주입하였으며 회수된 액을 실험현미경 하에서 검경하여 난자를 회수하였다.

4. 통계학적 분석

적체의 수, 난포의 수 및 회수된 난자의 수에 대한 호르몬 처치효과는 SAS 통계프로그램의 ANOVA test를 시행하여 유의성을 검정하였다.

결 과

PMSG 투여 후 72시간에 hCG를 투여하고 hCG 투여 44, 46, 48 및 50시간째에 난소 및 난관을 회수하여 난소에 존재하는 적체의 수, 난포의 수 및 난관을 관류하여 얻은 난자의 수를 비교한 결과는 Table 1에서와 같다. 난소의 표면에 존재하는 적체의 수는 관류시간에 따라 8.1 ± 4.0 , 8.5 ± 3.8 , 9.0 ± 2.1 및 13.9 ± 1.6 개로 조사되어 hCG 투여 50시간째 회수한 군이 44, 46 및 48시간에 회수한 군에 비해 유의적으로 높은 적체 수를 나타내었다($P < 0.05$). 또한 44시간에 회수한 군 중 1두는 과배란 처치 후 발정이 유도되지 않았으며 적체를 보이지 않았다.

배란되지 않은 난포수에 관한 조사에서, 소난포(직경 1~3 mm)의 수는 44, 46, 48 및 50시간째에 각각 40.0 ± 6.8 , 34.0 ± 5.6 , 32.4 ± 4.4 및 17.9 ± 4.9 개로 나타나 44시간 조사시에 다른 군에서보다 유의적으로 높은 결과를 보였으며($P < 0.05$), 46 및 48시간의 경우도 50시간 보다 높은 결과를 보였다. 대난포의 경우에는 50시간에 조사한 결과가 다른 군에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였다($P < 0.05$).

난관을 관류하여 회수된 난자의 수는 hCG 투여 44, 46, 48 및 50시간째에 각각 7.2 ± 1.3 , 7.9 ± 1.1 , 8.3 ± 1.2 및 12.5 ± 7.0 개로 나타나 hCG 투여 후 50시간째가 회수되는 난자의 수가 다른 군에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였었다($P < 0.05$).

PG600 투여 후 72시간째 hCG를 투여한 후 적체의 수, 난포의 수 및 난관을 관류하여 얻은 난자의 수를 비교한 결과(Table 2)에서 hCG 투여 후 46시간에 관찰한 결과는 8.3 ± 3.6 으로 hCG 투여 후 46, 48 및 50시간째 적체의 수 각각 13.9 ± 1.6 , 14.4 ± 1.3 및 14.5 ± 1.3 개보다 유의적으로 적었다($P < 0.05$). 회수된 시간에 따른 난포의 크기를 비교해 볼 때, 대난포의 수는 평균 19.5 ± 3.4 , 8.4 ± 1.8 , 4.8 ± 2.7 및 2.5 ± 1.3 개로 44시간에 다른군에 비해 유의적으로 높은 수를 보였으며($P < 0.05$), 소난포의 경우에도 유사한 양상을 나타냈다.

회수된 난자의 수는 44, 46, 48 및 50시간째 각각 8.0 ± 1.0 , 12.9 ± 2.4 , 13.1 ± 1.6 및 14.4 ± 5.2 개로

Table 1. Recovery of oocytes from prepubertal gilts, were flushed in post-hCG 44, 46, 48 and 50 hr treated with hCG after PMSG

Treatment	post-hCG (hours)	No. of recipient	No. of CH (range)	No. of follicles (range)		No. of oocytes recovered (range)
				1~3 mm	4~8 mm	
PMSG+hCG	44	10	8.1±4.0 ^a (0~13)	40.0±6.8 ^a (31~50)	14.6±7.7 ^a (2~26)	7.2±1.3 ^a (5~9)
	46	10	8.5±3.8 ^a (1~13)	34.0±5.6 ^b (27~41)	15.5±6.1 ^a (6~26)	7.9±1.1 ^a (6~9)
	48	10	9.0±2.1 ^a (5~10)	32.4±4.4 ^b (28~39)	17.1±5.2 ^{ab} (10~23)	8.3±1.2 ^a (7~10)
	50	10	13.9±1.6 ^b (6~31)	17.9±4.9 ^c (11~26)	8.6±2.1 ^c (5~11)	12.5±7.0 ^b (6~30)

^{a,b,c} Different superscripts within columns denote significant differences (P<0.05)

CH : Corpus haemorrhagica

Table 2. Recovery of oocytes from prepubertal gilts, were flushed in post-hCG 44, 46, 48 and 50 hr, treated with hCG after PG600[®]

Treatment	post-hCG (hours)	No. of recipient	No. of CH (range)	No. of follicles (range)		No. of oocytes recovered (range)
				1~3 mm	4~8 mm	
PG600 [®] + hCG	44	10	8.3±3.6 ^a (2~13)	35.7±5.6 ^a (29~46)	19.5±3.4 ^a (15~26)	8.0±1.0 ^a (7~10)
	46	10	13.9±1.6 ^b (9~18)	7.2±8.3 ^b (8~31)	8.4±1.8 ^b (5~11)	12.9±2.4 ^b (9~16)
	48	10	14.4±1.3 ^b (10~31)	16.4±7.8 ^b (4~31)	4.8±2.7 ^{bc} (0~9)	13.1±1.6 ^b (8~16)
	50	10	14.5±1.3 ^b (6~31)	18.0±5.2 ^b (10~24)	2.5±1.3 ^{bc} (0~4)	14.4±5.2 ^b (6~30)

^{a,b,c} Different superscripts within columns denote significant differences (P<0.05)

CH : Corpus haemorrhagica

조사되어 44시간에 회수한 군이 다른 군에 비해 유의적으로 낮은 결과를 보였다(P<0.05).

PG600[®]의 투여량에 따른 적체의 수와 난관을 관류하여 얻은 *in vivo* 유래 난자의 회수에 관해 조사하였다(Table 3). PG600[®] 5 ml를 투여한 군에서는 평균 적체 수가 14.5±1.3개였고, 회수된 난자의 수는 평균 14.4±5.2개로 조사되었으며, 7.5 ml(1½ vial)를 투여한 군에서 평균 19.5±8.9개의 적체와 평균 15.4±8.7개의 난자가 회수되어 적체

의 수 및 회수된 난자수에 있어 7.5 ml 투여군이 유의적으로 높은 결과를 보였다(P<0.05).

고 찰

과배란 처치는 돈군 관리를 위한 발정동기화나 인공수정 적기 결정에 유용하게 이용되어 왔으나 근래에는 핵이식 복제동물 및 형질전환 동물 생산을 위한 수핵난자로서 *in vivo* 유래의 난자의 우수

Table 3. Induction of superovulation of prepubertal gilts, were flushed in post-hCG 50 hr, were administrated with 5 ml and 7.5 ml of PG600[®]

Dose* (ml)	No. of recipient	No. of CH (range)	No. of recovered oocytes(range)
5	10	14.5±1.3 ^a (6~31)	14.4±5.2 ^a (6~30)
7.5	10	19.5±8.9 ^b (9~40)	15.4±8.7 ^b (6~36)

* 5 ml of PG600[®] contains 400 IU PMSG and 200 IU hCG

7.5 ml of PG600[®] contains 600 IU PMSG and 300 IU hCG

^{a,b} Different superscripts within columns denote significant differences (P<0.05)

성이 주장되어(Machty 등, 1998; Wang 등, 1998; Jolliff 등, 1997) 이에 대한 연구가 진행되어 왔다. 본 실험에서는 *in vivo* 유래 성숙난자를 생산하기 위한 효율적인 호르몬 처리 방법으로 PMSG와 PG600[®]을 이용하여 난소 표면에서 관찰할 수 있는 적체의 수, 난포의 수 및 회수되는 난자의 수를 비교 검토한 결과 PMSG 처리군에서는 50시간에 난자를 회수하는 것이 이전에 회수하는 것보다 유의적으로 높은 결과를 얻을 수 있었다(P<0.05). 배란 유도에 관한 PMSG의 연구에서 Tanabe 등(1949), Dziuk 등(1966)은 PMSG와 hCG의 처리로 모든 발정주기에 걸쳐 배란을 유도할 수 있다고 보고하였고, Hunter(1964)는 PMSG가 발정 전기에 투여된 경우 대부분의 처리군에서 투여 후 3~4일에 발정을 보여 수정이 가능하다고 하였다. 또한, Dziuk와 Baker(1962)는 hCG 처리로 배란시기를 적절히 조절할 수 있으며 난소에 충분히 성숙한 난포가 존재하거나 발정 발현 전에 hCG가 투여된다면 배란은 투여 후 40~42시간째 일어난다고 보고하였다. 이 밖에도 Martin 등(1996)은 PMSG 1,000 IU와 hCG 1,000 IU를 사용하여 배란유도에 이용한 바 있다.

PMSG를 투여한 위의 실험에서 PMSG의 투여량이 500 IU보다 많을 때 과배란이 일어나며 PMSG의 용량이 증가함에 따라 배란되는 난자의 수가 증가한다고 보고하여(Baker 등, 1968) PMSG

투여량은 실험동물의 성주기, 발육정도 및 기타 요인에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

본 실험에서의 과배란 처리 방법은 발정 주기 17일경에 PMSG 1,200 IU를 투여한 뒤 3일 후 hCG 500IU를 투여한 Day 등(1967)의 방법과 유사한 방법을 이용하였으며 미성숙 돼지에 PMSG 1,500 IU와 hCG 1,000 IU를 투여하여 과배란을 유도하였다.

효과적인 과배란 처리를 위해 PMSG를 증량시켜 배란되는 난자의 수를 증가시킬 수 있으나 난자의 질, 수정과 초기 배발육에는 나쁜 영향을 줄 수 있다는 결과가 소에서 보고되어 있으나(Greve 등, 1995) 돼지에 관한 연구에서는 자세한 보문을 접할 수 없어 직접 비교할 수는 없었다. 돼지의 경우 개체별 차이는 있지만 대부분의 경우 PMSG의 용량을 증가시킴에 따라 배란되는 난자의 수는 증가하였으며(Baker 등, 1954; Day 등, 1967; Polge 등, 1968; Pope 등, 1972) 본 실험에서 적용된 PMSG 투여량 1,500 IU는 예비 실험결과를 통해 결정된 용량으로 미경산돈에서 효과적인 과잉배란 반응을 유도할 수 있었다.

PMSG와 hCG를 이용한 과배란 처리 후 수란각의 관류를 통한 *in vivo* 유래 난자의 회수는 일반적으로 hCG 투여 후 40~44시간째 수행되었다(Li 등, 2000). 이는 hCG 단독 투여 후 대략 40시간째 배란이 시작된다는 Tanabe 등(1949), Dziuk 등(1962)의 이론을 뒷받침하여 수행되었으며 본 실험의 설계도 위의 연구를 기초로 하였다. 또한 PG 600[®] 투여 후 121~145시간째 개복술을 실시하여 수란각에서 난자를 회수한 Shimatsu 등(2000)의 연구에서는 121, 122 시간째 회수한 난자의 수가 141, 142 및 145시간째 회수된 난자의 수보다 높게 조사되어 본 실험에서는 최초 PMSG, PG600[®] 투여 후 72시간 뒤 hCG를 투여하고 이후 44, 46, 48 및 50시간 후로 나누어 가장 효과적인 난자회수 시간을 조사하였다.

본 실험의 결과 성성숙 이전의 돼지를 이용한 경우 호르몬의 종류에 따라 다른 결과를 보여 PMSG 처리군에서는 50시간(최초 PMSG 투여 후 122시간째)이 그리고 PG600[®] 처리군에서는 46시간 이후(최초 PG600[®] 투여 후 116시간 이후)에

다 많은 난자를 회수할 수 있었다. PMSG와 PG-600[®] 처리군 모두 투여 50시간째 가장 많은 수의 적체와 난자를 회수할 수 있었으며 이는 Shimatsu 등(2000)의 견해와도 일치하였다.

잔류 소난포(직경 1~3 mm)와 대난포(직경 4~8 mm)의 수를 비교해 볼 때 적체의 수가 많을수록 잔류난포의 수는 감소하였고 대난포에 비해 소난포의 수가 다소 높게 조사되었다. 이는 Holtz 등(1991)은 PG600[®]을 증량할수록 잔류 난포의 수가 증가한다고 보고에서와 같이 투여된 성선 자극 호르몬제의 양이 과량이거나 과배란 처치 시간에 따른 난포수 증가인지는 알 수 없었다.

PG600[®]의 투여량에 따른 적체의 수와 난관을 관류하여 얻은 *in vivo* 유래 난자의 회수에 관한 조사에서는 PG600[®] 7.5 ml(1½ vial)를 투여한 군에서는 평균 적체 수가 19.5±8.9개였고, 회수된 난자의 수는 평균 15.4±58.7개로 조사되었다. 이는 PG600[®]의 용량에 따른 성공적인 발정 유도과 배란을 위한 적정 투여량을 연구한 Holtz 등(1991), Shimatsu 등(2000)의 견해와는 일치하였다. Holtz 등(1991)은 PG600[®]을 증량할수록 잔류 난포의 수가 증가한다고 보고하였고 본 연구에서도 이와 유사한 결과를 보였으나 회수되는 난자의 수는 PG600[®]을 증량할수록 증가하는 결과를 보임으로써 최대의 과배란 효과를 얻을 수 있는 PG600[®]의 투여량에 관해서는 앞으로 더욱 다양한 연구가 필요할 것이다.

이상의 결과에서 볼 때 성성숙 전의 돼지에 있어 *in vivo* 유래 난자를 얻기 위한 가장 좋은 방법은 PMSG 또는 PG600[®] 투여 후 72시간째 hCG를 투여하고, PMSG를 투여한 경우에는 hCG 투여 후 50시간째, PG600의 경우는 hCG 투여 46시간 이후에 난자를 회수하는 것이 가장 효과적인 방법이며, 또한 PG600[®] 투여량을 증가시킬 경우 더욱 많은 난자를 회수할 수 있을 것이다.

적 요

체내에서 성숙된 난자를 효과적으로 확보하기 위해 성선자극호르몬제의 투여와 난관관류시간에 난자의 회수 결과는 다음과 같다. 성성숙 전의 마

경산돈이 있어 *in vivo* 유래의 난자를 얻기 위해서는 PMSG 혹은 PG600[®] 투여 후 72시간째 hCG를 투여하고, PMSG를 투여한 경우에는 hCG 투여 후 50시간째에, PG600의 경우는 hCG 투여 46시간 이후에 유의적으로 높은 결과를 얻을 수 있었다 ($p<0.05$). 또한 hCG와 PMSG의 합제인 PG600[®]은 투여용량에 따라 배란된 난자 수가 비례하여 증가하였다. 이상의 결과로 보아 사용하는 호르몬제의 종류에 따라 난자의 회수시간이 결정되어야 하며, 충분한 난자를 얻기 위해서는 다양한 용량의 호르몬제에 대한 결과를 바탕으로 과배란 처치 및 난자의 회수가 실시되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Baker LN, Ulberg LC, Grummer RH and Casida LE. 1954. Inhibition of heat by progesterone and its effect on subsequent fertility in gilts. *J. Anim. Sci.*, 13:648-657.
- Baker RD and Coggins EG. 1968. Control of ovulation rate and fertilization in prepubertal gilts. *J. Anim. Sci.*, 27:1607-1610.
- Besenfelder U, Modl J, Muller M and Brem G. 1997. Endoscopic embryo collection and embryo transfer into the oviduct and the uterus of pigs. *Theriogenology*, 47:1051-1060.
- Blichfeldt T and Almlid T. 1982. The relationship between ovulation rate and embryonic survival in gilts. *Theriogenology*, 18:615-620.
- Bolamba D and Sirard MA. 2000. Ovulation and follicular growth in gonadotropin-treated gilts followed by *in vitro* fertilization and development of their oocytes. *Theriogenology*, 53:1421-1437.
- Casida LE. 1935. Prepuberal development of the pig ovary and its relation to stimulation with gonadotropic hormones. *Anat. Rec.*, 61:389-391.
- Day BN, Longenecker DE, Jaffe SC, Gibson EW and Lasley JF. 1967. Fertility of swine following superovulation. *J. Anim. Sci.*, 26:777-780.
- De Rensis F, Allegri M and Seidel GE. 1999.

- Estrus synchronization and fertility in post-partum dairy cattle after administration of human chorionic gonadotropin(HCG) and prostaglandin F_{2α} analog. *Theriogenology*, 52:259-269.
- Dziuk PJ and Baker RD. 1962. Induction and control of ovulation in swine. *J. Anim. Sci.*, 21:697-699.
- Dziuk PJ and Gehlbach GD. 1966. Induction of ovulation and fertilization in the immature gilt. *J. Anim. Sci.*, 25:410-413.
- Estienne MJ and Hartsock TG. 1998. Effect of exogenous gonadotrophins on the weaning-to-estrus interval in sows. *Theriogenology*, 49: 823-828.
- Garcia A. 2000. The current status of embryo transfer in pigs. *International Embryo Transfer Society*, Feature article 12-18.
- Hazeleger W, Bouwman EG, Noordhuizen JPTM and Kemp B. 2000. Effect of superovulation induction on embryonic development on day 5 and subsequent development and survival after nonsurgical embryo transfer in pigs. *Theriogenology*, 53:1063-1070.
- Holtz W and Schlieper B. 1991. Unsatisfactory results with the transfer of embryos from gilts superovulated with PMSG and hCG. *Theriogenology*, 35:1237-1249.
- Holtz W, Schmidt-Baulain R, Welp C and Wallenhorst CK. 1999. Effect of insemination of estrus-induced prepuberal gilts on ensuing reproductive performance and body weight. *Anim. Reprod. Sci.*, 57:177-183.
- Hunter RHF. 1964. Superovulation and fertility in the pig. *Anim. Prod.*, 6:189-194.
- Hunter RHF. 1966. The effect of superovulation on fertilization and embryonic survival in the pig. *Anim. Prod.*, 8:457-465.
- Hunter MG and Picton HM. 1995. Effect of hCG administration at the onset of oestrus on early embryo survival and development in Meishan gilts. *Anim. Reprod. Sci.*, 38:231-238.
- Jolliff WJ and Prather RS. 1997. Parthenogenetic development of *in vitro*-matured, *in vivo*-cultured porcine oocytes beyond blastocyst. *Biol. Reprod.*, 56:544-548.
- Li GP, Tan JH, Sun QY, Meng QG, Yue KZ, Sun XS, Li ZY, Wang HB and Xu LB. 2000. Cloned piglets after nuclear transplantation of embryonic blastomeres into porcine oocytes matured *in vivo*. *Cloning*, 2:45-52.
- Longenecker DE and Day BN. 1968. Fertility level of sows superovulated at post-weaning estrus. *J. Anim. Sci.*, 27:709-711.
- Machaty Z, Day BN and Prather RS. 1998. Development of early porcine embryos *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Reprod.*, 59:451-455.
- Martin MJ, Houtz J, Adams C, Thomas D, Freeman B, Keirns J and Cottrill F. 1996. Effect of pronuclear DNA microinjection on the development of porcine ova in utero. *Theriogenology*, 46:695-701.
- Miller AT, Picton HM and Hunter MG. 1999. Suppression of ovarian activity in the gilt and reversal by exogenous gonadotrophin administration. *Anim. Reprod. Sci.*, 54:179-193.
- Onishi A, Iwamoto M, Akita T, Mikawa S, Takeda K, Awata T, Hanada and Perry ACF. 2000. Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei. *Science*, 289:1188-1190.
- Polge C, Day BN and Groves TW. 1968. Synchronization of ovulation and artificial insemination in pigs. *Vet. Rec.*, 83:136-142.
- Poulin S, Laforest JP, Fortier MA, Perras E and Sirard MA. 1997. Effects of conditioned media on porcine embryos at different stages of development. *Theriogenology*, 47:1337-1345.
- Pope CE, Christenson RK, Zimmerman-Pope VA and Day BN. 1972. Effect of number of embryos on embryonic survival in recipient gilts. *J. Anim. Sci.*, 35:805-808.
- Shimatsu Y, Uchida M, Niki R and Imai H. 2000. Induction of superovulation and recovery of

- fertilized oocytes in prepubertal miniature pigs after treatment with PG600. *Theriogenology*, 53:1013-1022.
- Tanabe TY, Warnuck AC, Casida LE and Grummer RH. 1949. The effects of gonadotrophins administered to sows and gilts during different stages of the estrual cycle. *J. Anim. Sci.*, 8:550.
- Ulberg LC, Grummer RH and Casida LE. 1951. The effects of progesterone upon ovarian function in gilts. *J. Anim. Sci.*, 10:665-671.
- Wang WH, Abeydeera LR, Prather RS and Day BN. 1998. Morphologic comparison of ovulated and *in vitro*-matured porcine oocytes, with particular reference to polyspermy after *in vitro* fertilization. *Mol. Reprod. Dev.*, 49:308-316.
- Wollenberg C, Wentz I, Blum B and Holtz W. 1990. Survival of pig embryos flushed from the reproductive tract immediately or two hours after slaughter of donors. *J. Anim. Sci.*, 68: 2023-2026.
-
- (접수일: 2000. 11. 22 / 채택일: 2000. 12. 21)