

거세비육돈에서 성선스테로이드호르몬이 성장효율, 도체 특성 및 혈중  
Insulin-like Growth Factor(IGF)-I 및 IGF-Binding Protein-3 농도에 미치는 영향

이철영, 하승호, 이희포, 백규흠, 진상근, 손시환, 박만종

진주산업대학교 동물생명산업 지역협력연구센터

**Effects of Gonadal Steroid Hormones on Growth Efficiency, Carcass Characteristics and Circulating Concentrations of Insulin-like Growth Factor(IGF)-I and IGF-binding Protein-3 in Finishing Barrows**

Lee, C.Y., S.H. Ha, H.P. Lee, K.H. Baik, S.K. Jin, S.H. Sohn and M.J. Park

Regional Animal Industry Research Center, Jinju National University

**ABSTRACT**

In boars, unlike the cases in males of other species, gonadal hormones suppress voluntary feed intake. For this reason, barrows, compared with gilts or boars, eat too much feed resulting in excessive fat deposition. Two experiments were performed in the present study to investigate the effects of implantation of Revalor H[Experiment(Exp.) I; 140mg trenbolone acetate(a synthetic androgen) + 14mg estradiol-17 $\beta$ (E<sub>2</sub> $\beta$ )] and Compudose(Exp. II; 24mg E<sub>2</sub> $\beta$ ) on growth efficiency, carcass characteristics and circulating concentrations of IGF-I and IGF-binding protein-3(IGFBP-3). In Exp. I, sixty-four cross-bred finishing barrows weighing approximately 60kg were randomly divided into eight pens under a 2[control vs Revalor implant]  $\times$  2[ad libitum vs 80% ad libitum feeding]  $\times$  2[control(103% NRC-recommended level) vs low-energy(87% NRC recommendation) diet] arrangement of treatments. In Exp. II, effects of Compudose were studied using 80 finishing barrows(10 animals/pen). In both Exps., all the animals were slaughtered at 100- to 110-kg body weight. Both Revalor and Compudose implants caused a decrease in feed intake and backfat thickness without affecting major physicochemical characteristics of the carcass and an increase in circulating IGF-I concentration. Moreover, Revalor implant exhibited greater effects than restricted feeding, low-energy diet, or Compudose in these variables. In addition, Revalor implantation suppressed weight gain, but enhanced the feed efficiency without exhibiting any interaction with the diet or feeding. In summary, results suggest that 1) both androgen and estrogen suppress voluntary feed intake and backfat deposition and enhance IGF-I secretion and 2) these effects of the gonadal steroid hormones in growth are likely to be mediated, in part, by IGF-I in finishing barrows.

Key words) *Pig, Growth, Steroid hormone, Feed intake, IGF*

## I. 서 론

수퇘지는 암퇘지에 비해 성장률과 사료효율이 높으나 수퇘지 고기 특유의 응취(boar-taints)를 내기 때문에 암퇘지보다 돈육으로서의 가치가 낮다(김 등, 1996). 수퇘지의 응취는 주로 정소에서 분비되어 지방조직에 축적되는 androstenone이 원인물질임이 알려져 있다. 응취의 원인 물질이 androgen이기 때문에 수퇘지의 응취는 정소 발육이 활발해 질수록 즉 생체중이 커질수록 더 커진다.

거세돈은 정소가 제거되었으므로 도축 후에 발생할 수 있는 응취 문제는 제거될 수 있으나 비육기간 중에는 암퇘지나 수퇘지에 비해 자발적인 사료섭취량이 지나치게 증가하여 새로운 문제점을 야기시킨다. 이러한 원인은 돼지에서는 타 동물과는 달리 성선스테로이드호르몬이 시상하부에 작용하여 자발적인 에너지 섭취를 제한하는 작용이 있는데, 거세돈은 정소가 제거되었기 때문에 성선스테로이드호르몬에 의한 사료섭취 제한 효과가 제거되기 때문에 알려져 있다. 이러한 결과로서 거세돈은 수퇘지나 암퇘지에 비해 지방 침적이 과다해지고, 사료효율도 낮아지며, 무엇보다도 암퇘지에 비해 도체등급이 낮아지는 문제점이 발생하게 된다.

거세돈의 과다 지방침적을 방지하는 방법으로는 크게 에너지 섭취량을 제한하는 방법과 외부적으로 지방침적을 억제하는 호르몬 제제를 투여하는 방법이 시도되었다(Kim 등, 2005). 에너지 섭취량을 제한하는 첫 번째 방법으로는 사료섭취량을 제한하는 방법 즉 제한급여법이 잘 알려져 있다. 이 방법은 거세돈의 과다 지방침적을 억제하여 도체 품질과 사료효율을 향상시킬 수는 있으나, 무제한급여에 비해 상당량의 추가 노동력이 요구되기 때문에 실제 양돈 농가에서는 널리 이용되지 못하고 있는 실정이다. 에너지 섭취량을 제한하는 차선의 방법으로는 저에너지사료를 급여함으로써 총 에너지섭취량을 제한하는 방법이 알려져 있는데, 이 방법은 제한급여 방법보다 에너지 제한 효과는 작으나 추가 노동력을 요구하지 않기 때문에 쉽게 현장에 적용할 수 있는 이점이 있다.

거세돈의 과다한 지방 침적을 억제할 수 있는 호르몬제제로는 성장호르몬,  $\beta$ -adrenergic agonists(BBA) 및 anabolic steroid implants를 들을 수 있다(Kim 등, 2005). 성장호르몬 주사제는 비육돈의 지방침적을 억제하고 성장률을 높이는 효과도 있으나 매일 주사해야 성장 촉진 효과가 있기 때문에 사실상 실용성이 거의 없고, 합성 BBA의 지방침적 억제 효과는 잘 증명되어 지금까지 개발된 여러 BBAs 중 ractopamine은 FDA의 승인을 받아 미국의 많은 양돈농가에서 사용되고 있다. Anabolic steroids는 크게 androgen 계와 estrogen 계로 구분될 수 있는데 이들 steroids의 implants 제제는 주로 비육우에서 그 효과와 안전성이 입증되어 이들 중 testosterone, estradiol과 같은 천연 steroids 및 합성 androgen인 trenbolone과 곰팡이로부터 추출된 zeranol과 같은 estrogen 등은 FDA의 승인 하에 주로 미국에서 널리 쓰이고 있으나 돼지에서의 효과 실험은 단지 제한된 결과만이 보고되었다. 따라서 본 연구의 실험 I에서는 2[제한급여 대비 무제한 급여]  $\times$  2[저에너지 대비 정상에너지(대조) 사료]  $\times$  2[Revalor H(trenbolone acetate + estradiol) implant 대비 no implant] 'factorial' 사양시험을 수행하여 이들 처리인자가 거세비육돈의 성장효율, 도체특성 및 혈중 IGF-I 및 IGFBP-3 농도에 미치는 효과를 조사하였고, 실험 II에서는 estradiol만을 implantation 하였을 때의 효과를 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물 사양

[실험 I]. 2[사양 무제한급여 대비 80% 무제한급여] × 2[사료 정상(대조) 대비 저에너지 사료] × 2[control 대비 Revalor implant] ‘factorial’ 실험설계 하에 생체중 약 50kg의 104±7일령된 Landrace × Yorkshire × Duroc 교잡종 거세비육돈 64두를 8돈방(8두/돈방)에 완전임의배치하고 2주 동안 실험사료(Table 1) 및 환경에 적응시킨 다음 실험 당일 생체중을 측정하고 4돈방의 공시돈에는 어깨 부위와 접하는 한 쪽 귀의 하단부에 Revalor H(Hoechst-Roussel, Warren, NJ, USA; 140mg trenbolone acetate + 14mg estradiol-17 $\beta$ )를 implantation 하였다. 제한급여구 돈방의 돼지에 대해서는 동일 사료 및 동일 implant 처리구 (control 혹은 treat) 돈방 돼지의 전 주 동안의 일당 평균사료섭취량의 80%를 매일 계량하여 급여하였고, 일당 사료급여량은 1주일 단위로 조정하였다. 저에너지 사료와 대조 사료는 각각 비육돈에 대한 NRC(1998) 권장 가소화에너지 수준의 87%와 103%를 함유하도록 제조하였다.

[실험 II]. 생체중 약 60kg의 거세비육돈 80두를 실험 I에서와 같이 돈방당 10두씩 8돈방에 완전임의배치하고 2주 동안 실험사료(Table 1)와 환경에 적응시킨 다음 실험 당일 4돈방의 공시돈에는 Compudose (24mg estradiol-17 $\beta$ ; Elanco, Indianapolis, IN, USA)를 implantation하였다. 실험 II는 실험 I에서와는 달리 모든 공시돈이 단일 사료를 무제한 급여 받았다.

### 2. 출하 및 배최장근 시료 채취

각각의 실험에서 공시돈의 생체중이 100~110kg에 도달하였을 때 4회에 걸쳐 부경양돈 축산물공판장에 출하하여 도축하고 24시간 냉장 후 11~12 늑골부와 마지막 늑골부위에서 등지방두께를 측정하여 평균값을 계산하고 105kg(실험 I) 혹은 110kg(실험 II) 생체중 기준으로 평균치를 보정하였다(NSIF, 1997). 근육의 이화학적 특성을 분석하기 위하여 실험 I에서는 모든 공시돈의 배최장근 시료를 채취하였고 실험 II에서는 2 & 3번째 출하된 공시돈(총 60두)의 시료를 채취하였다. 근육의 CIE(1978) 명도(lightness; L\*)는 11~12 늑골 부위 단면에서 측정하였고 육즙삼출율 및 pH는 Joo 등(1999)이 기술한 바와 같이 표준 방법으로 분석하였다. 수분, 단백질 및 조지방 함량은 각각 AOAC(1990) 방법에 따라 냉동건조, Kjeldahl 법 및 Soxhlet 추출법으로 분석하였다.

### 3. 호르몬 분석

혈액 시료는 실험 개시일을 포함하여 3주 간격으로 경정맥으로부터 채취하여 4 °C에서 12~24시간 응고시킨 다음 혈청을 수거하고 microfuge tubes에 분주하여 분석할 때까지 20°C에 보관하였다. IGF-I 농도는 상업용 항혈청(Groep, Adelaide, Australia)을 이용하여 radioimmunoassay(RIA) 방법으로 정량하였다(Lee 등, 1991). IGF RIA에서 항원과 항체간의 immunoreaction을 방해하는 것으로 알려진 혈중 IGF-binding proteins(IGFBPs)는 acid

Sep-Pak procedure(Lee 등, 1991; 실험 I) 혹은 acid-ethanol extraction procedure(Daughaday 등, 1980; Lee 등, 1990; 실험 II)의 전처리 방법으로 제거하였다. IGFBP-3 농도는 본 실험 실에서 준비한 돼지 IGFBP-3 항혈청을 이용한 RIA(이와 정, 2000) 방법으로 정량하였다.

Table 1. Composition of experimental diets(as-fed basis) fed to growing pigs

Item	Exp. I		Exp. II
	Control	Low-energy	
<b>Ingredient, %</b>			
Corn	62.68	30.48	70.50
Wheat	5.38	13.44	—
Wheat mill run	—	35.00	—
Rice bran(13% fat)	3.00	3.00	—
Soybean meal(44% CP)	17.76	9.64	—
Limestone	0.48	0.88	0.48
Rapeseed meal	2.00	2.00	—
Dicalcium phosphate	1.80	1.62	—
Tricalcium phosphate	—	—	1.80
Salt	0.30	0.30	0.30
Vitamin premix	0.30	0.30	0.30
Mineral premix	0.26	0.26	0.30
Tallow	3.04	—	0.50
Molasses	3.00	3.00	3.00
Lysine-HCl	—	0.08	0.02
<b>Calculated chemical composition</b>			
DE, Mcal/kg	3.50	2.95	3.40
Crude protein, %	15.0	15.0	16.00
Crude fat, %	6.2	3.2	3.59
Crude fiber, %	3.4	5.2	3.28
Crude ash, %	5.0	5.9	4.85
Ca, %	0.85	0.98	0.85
P, %	0.67	0.83	0.75

#### 4. 통계분석

실험 I과 실험 II 공히 사료섭취량과 사료효율은 돈방을 실험단위(experimental unit)로 하고 그 외 모든 변수는 공시돈을 실험단위로 하여 주효과(main effects; 실험 I에서는 사양, 사료 및 implant; 실험 II에서는 implant)와 주효과 간의 상호작용의 유무를 검정하였다. 실험 I과 실험 II의 결과는 각각 SAS(SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA)의 GLM procedure 와 t-test를 이용하여 분석하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 실험 I: 제한급여, 저에너지사료 및 Revalor implant의 효과

실험 I의 모든 결과는 Table 2에 제시되었다. 일당증체량은 제한급여 및 Revalor implantation에 의해 비슷한 수준으로 낮아졌으나( $P<0.01$ ) 저에너지 사료 급여에 의해서는 유의적인 영향을 받지 않았다. 일당사료섭취량은 제한급여에 의해서는 의도된 수준(20%) 만큼 낮아졌고( $21\%; P<0.01$ ), 저에너지 사료 급여구는 대조사료 급여구보다 약 15% 높았으며( $P<0.05$ ), Revalor implantation 구는 control 구에 비해 무려 24%( $P<0.01$ )나 낮았다. 그럼에도 불구하고 사료효율은 Revalor implantation 구가 control 구보다 높았고( $P<0.05$ ) 저에너지 사료 급여구는 대조사료 급여구보다 낮았다( $P<0.01$ ). 105-kg 생체중 기준으로 보정된 등지방두께는 저에너지사료 급여구 및 Revalor implantation 구가 각각 그 대조구에 비해 현저히 낮았으나( $P<0.01$ ) 제한급여에 의해서는 유의적인 영향을 받지 않았다. 이상의 결과를 종합하면 Revalor implant 제제는 자발적인 사료 섭취를 억제하는 효과가 크나 지방침적을 억제함으로써 사료효율을 증진시키는 효과를 나타낸다. 그러나 사진으로 제시하지는 않았으나 Revalor가 implantation 되었던 거세 공시돈은 Revalor에 함유된 용성호르몬(trenbolone)에 의해 승가행위를 포함한 용성행위 발현은 물론 외부생식기 발달이 현저하여 도축장에서 수퇘지로 오페되는 등 바람직하지 않은 효과가 나타나 Revalor implant 제제를 현장에 적용하기에는 부적합한 것으로 판명되었다.

Table 2. Effects of restricted feeding, low-energy diet and Revalor H implantation on growth performance, muscle characteristics and serum IGF-I and IGFBP-3 concentrations in finishing barrows: Exp. I

Item	Feed restriction		Diet DE (% NRC)		Implant		SE
	0%	20%	103	87	Cont	Treat	
<b>Growth performance</b>							
Initial wt, kg	59.5	58.9	59.9	58.5	59.0	59.4	1.3
Final wt, kg	109.7	102.3**	107.1	104.9	107.5	104.5	101
ADG, kg	0.84	0.70**	0.81	0.76	0.84	0.72**	0.02
ADFI, kg	3.14	2.48**	2.62	3.00**	3.19	2.43**	0.09
Gain:feed	0.28	0.29	0.31	0.25**	0.27	0.30*	0.01
Backfat, mm	18.5	17.2	19.2	16.4**	19.2	16.5	0.7
<b>Physicochemical characteristics of longissimus muscle</b>							
CIE* (lightness)	47.8	50.36	49.9	48.5	49.7	48.7	1.0
Drip loss, %	3.64	3.87	3.62	3.89	3.88	3.63	0.37
pH	5.52	5.65*	5.62	5.55	5.51	5.66*	0.04
Moisture, %	73.8	74.1	73.9	74.0	73.5	74.4*	0.2
Fat, %	3.11	2.78	3.01	2.88	3.08	2.79	0.17
<b>Serum hormone concentration</b>							
IGF-I, ng/ml	213	200	210	202	187	226*	7
IGFBP-3, µg/ml	3.3	3.1	3.2	3.2	3.2	3.3	0.7

\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ .

배최장근의 CIE L\*(lightness; 명도), 육즙삼출율 및 pH는 모든 실험구에서 RFN (reddish-pink, firm and non-exudative; Joo 등, 1999) 정상육 수치를 나타내었고 처리요인(제한급여, 저에너지 사료 급여 및 anabolic implantation)에 의해서도 의미 있을 만큼 변하지 않았다. pH의 경우는 Revalor implantation에 의해 0.15 unit 증가하여 1% 수준의 유의성을 나타내기는 하였으나 이는 단순히 수학적인 유의성이었을 뿐 생리화학적 혹은 도체 품질상 영향을 미칠 수 있는 효과로 볼 수는 없었다.

혈청의 IGF-I 농도는 Revalor implantation에 의해 증가하였으나( $P<0.05$ ) 제한 급여나 저에너지 사료 급여에 의해서는 영향을 받지 않았고, IGFBP-3 농도는 어느 처리요인에 의해서도 변하지 않았다.

## 2. 실험 II: Compudose implant(estradiol)의 효과

실험 I에서 Revalor H에 함유된 trenbolone이 바람직하지 않은 웅성형질 발현 효과를 나타냈기 때문에 실험 II에서는 estrogen(Compudose)만을 implantation하여도 estrogen + androgen 합제(Revalor H)와 유사한 효과가 있는지의 여부를 조사하기 위해 Compudose implantation 효과 실험을 수행하여 그 결과를 Table 3에 제시하였다. 일당증체량은 Compudose implantation에 의해 다소 낮아지는 경향을 보였으나 대조구와의 유의차는 없었고, 일당사료섭취량은 11% 낮아졌으나( $P<0.01$ ) 실험 I의 Revalor implantation 효과(24%) 보다는 낮았다. 사료효율은 Compudose implantation에 의해 영향을 받지 않았으나 등지방 두께는 Revalor H를 implantation 했을 때와 비슷한 수준으로 낮아졌다( $P<0.01$ ).

Table 3. Effects of Compudose implantation on growth efficiency, muscle characteristics and serum hormones in finishing barrows: Exp. II

Item	Control	Implanted
Growth performance		
Initial wt, kg	71.0±1.1	71.3±1.2
Final wt, kg	108.2±1.0	106.6±1.1
ADG, kg	0.83±0.03	0.77±0.02
ADFI, kg	2.71±0.06	2.40±0.05**
Gain:feed	0.28±0.01	0.29±0.00
Backfat, mm	21.7±0.8	18.0±0.9**
Physicochemical characteristics of longissimus muscle		
CIE L* (lightness)	44.2±0.7	44.5±0.6
Drip loss, %	4.9±0.4	4.9±0.4 pH
pH	5.38±0.03	5.42±0.04
Moisture, %	74.4±0.1	74.8±0.1* Fat, %
Fat, %	2.49±0.17	2.67±0.16
Protein, %	21.4±0.5	20.5±0.4
Serum hormone concentration		
IGF-I, ng/ml	219±10	247±10*
IGFBP-3, µg/ml	4.0±0.2	4.2±0.2

\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ .

배최장근의 이화학적 특성 또한 Revalor H를 implantation 했을 때와 같이 Compudose implantation에 의해 변하지 않았고, 단지 수분 함량이 implant 구에서 다소 높았으나(0.4%;  $P<0.05$ ) 지방 함량은 두 실험구간 차이가 없었다.

혈중 IGF-I 농도는 Compudose implantation에 의해 증가하였으나( $P<0.05$ ) IGFBP-3 농도는 변하지 않았다.

이상 실험 I과 실험 II의 결과는 수퇘지에서 androgen과 estrogen은 공히 자발적인 사료 섭취와 등지방 침적을 억제함으로써 사료효율을 증진시키는 효과가 있고 내분비적으로는 IGF-I 분비를 증가시키는 효과가 있음을 시사한다. 따라서 본 연구결과는 또한 성선스테로이드호르몬이 성장에 미치는 효과의 일부는 IGF-I를 통해 매개될 가능성이 있음을 시사한다.

#### IV. 요 약

수퇘지에서는 타 종의 수컷에서와는 달리 성선호르몬이 자발적인 사료섭취를 억제한다. 따라서 거세 돼지는 수퇘지나 암퇘지에 비해 사료섭취량이 과다하여 과비해지는 경향이 있다. 본 연구에서는 교잡종 거세비육돈에서 Revalor H[실험 I; 140mg trenbolone acetate (합성 androgen) + 14mg estradiol-17 $\beta$ (E<sub>2</sub> $\beta$ )] 및 Compudose[실험 II; 24mg E<sub>2</sub> $\beta$ ]를 implantation 했을 때 성장효율, 도체특성 및 혈중 IGF-I 및 IGF-binding protein-3(IGFBP-3) 농도에 미치는 영향을 조사하고자 2회의 사양실험(I & II)를 수행하였다. 실험 I에서는 생체중 약 60kg의 교잡종 거세비육돈 64두를 8돈방에 완전임의 배치하여 2[implant; 처리 대비 무처리] × 2[사양; 무제한급여 대비 80% 무제한급여] × 2[사료; 대조(NRC 권장 수준의 103%) 대비 저에너지(87% NRC 권장량) 사료] 'factorial' 사양시험을 수행하였고, 실험 II에서는 80두의 거세비육돈(10두/돈방)을 이용하여 implant의 효과 유무를 조사하였다. 실험 I과 II에서 모든 공시돈은 생체중 100~110kg 시 도축되었다. Revalor H와 Compudose implant 제제는 공히 사료섭취량과 등지방두께를 저하시키고, 도체의 주요 이화학적 특성에는 영향을 미치지 않고 혈중 IGF-I 농도를 증가시켰다. 또한 이들 측정항목에서 Revalor H implant는 제한사양, 저에너지 사료, 혹은 Compudose 이상의 효과를 나타내었고, 증체를 억제하였으나 사료효율은 증진시켰으며, 후자(사양, 사료)와의 상호작용은 나타나지 않았다. 이상의 결과는 거세비육돈에서 1) androgen과 estrogen은 공히 자발적인 사료섭취와 등지방 침적을 억제하고 IGF-I 분비를 증가시키며, 2) 성선스테로이드호르몬의 이 같은 성장에 미치는 효과의 일부는 IGF-I를 통해 매개될 수도 있음을 시사한다.

#### V. 참고문헌

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
2. CIE. 1978. Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. Supplement no. 2 to CIE Publication No. 15 (E-1.3.1) 1971/(TC-1-3). Commission Internationale de l'Eclairage, Paris, France.

3. Daughaday, W. H., Mariz, I. K. and Blethen, S. L. 1980. Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding site: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol-extracted serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51:781-788.
4. Joo, S. T., Kauffman, R. G., Kim, B. C. and Park, G. B. 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci.* 52:291-297.
5. Kim, Y. S., Kim, S. W., Weaver, M. A. and Lee, C. Y. 2005. Increasing the pig market weight: world trends, expected consequences and practical considerations. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18:590-600.
6. Lee, C. Y., Bazer, F. W., Etherton, T. D. and Simmen, F. A. 1991. Ontogeny of insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) and IGF-binding proteins in porcine serum during fetal and postnatal development. *Endocrinology* 128:2336-2344.
7. Lee, C. Y., Henricks, D. M., Skelley, G. C. and Grimes, L. W. 1990. Growth and hormonal response of intact and castrate male cattle to trenbolone acetate and estradiol. *J. Anim. Sci.* 68:2682-2689.
8. NRC. 1988. Nutrient Requirements of Swine. 10th ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
9. NSIF. 1997. Guidelines for Uniform Swine Improvement Programs. On-farm Programs. National Swine Improvement Federation, Raleigh, NC, USA.
10. 김은숙, 박우문, 유익종. 1996. 수퇘지 응취 판별기술 개발. *한축지* 38:85-93. 11. 이철영, 정정수. 2000. 암퇘지와 거세돼지의 성장발달에 따른 혈중 insulin-like growth factor-I(IGF-I)과 IGF-binding protein-3(IGFBP-3)의 농도 양상: 돼지 IGFBP-3 정제, IGFBP-3 및 IGF-I RIAs 개발과 이용. *동물자원과학회지* 42:817-826.