

乳牛의 繁殖過程에 따른 乳汁中の 性호르몬 水準 變化에 關한 研究

金 相 根 · 李 在 根*

忠南大學校 農科大學, 高麗大學校 農科大學

Studies on the Changes of Sex Hormone Concentrations in Milk during the Reproductive Stages of Dairy Cows

Kim, S. K and J. K. Lee

College of Agriculture, Chungnam National University

SUMMARY

The study was carried out to find out the changes of the sex hormone levels in the milk of Holstein cows during the reproductive stages such as the estrous cycle, pregnancy and periparturient period. The FSH, LH, estradiol-17 β and progesterone from the milk samples were assayed by radioimmunoassay methods.

The results of this study were summarized as follows:

1. The levels of progesterone and estradiol-17 β were similar among inter-quarters, but they were higher in after milking than before milking times, with no statistical significance.
2. The milk progesterone levels during the estrous cycles reached a peak mean level of $3.55 \pm 0.26 \text{ ng/ml}$ at 15 days after estrus and they did not show any differences among the length of estrous cycles. The estradiol-17 β levels during the estrous cycles showed a peak level of $36.40 \pm 2.38 \text{ pg/ml}$ at estrus, and decreased ($17.20 \pm 0.46 \text{ pg/ml}$ to $18.65 \pm 1.26 \text{ pg/ml}$) at luteal phase.
3. The FSH levels during the estrous cycles ranged from $2.25 \pm 0.23 \text{ mIU/ml}$ to $4.35 \pm 0.24 \text{ mIU/ml}$ showing significant changes. The LH levels during the estrous cycles gradually increased and remained a peak level of $10.90 \pm 0.36 \text{ mIU/ml}$ from 20 to 25 days after estrus.
4. The progesterone levels during the pregnancy were decreased from 30 to 60 days after artificial insemination, and thereafter continuously increased until 240 days. The estradiol-17 β levels during the pregnancy were $24.56 \pm 1.19 \text{ pg/ml}$ at day 30 after artificial insemination, and increased rapidly until 180 days. The levels were again decreased by $26.17 \pm 3.03 \text{ pg/ml}$ until 210 days and markedly increased by $68.00 \pm 8.70 \text{ pg/ml}$ until 240 days.
5. The prolactin levels during the pregnancy were $31.27 \pm 2.31 \text{ ng/ml}$ and $42.60 \pm 2.37 \text{ ng/ml}$ at day 150 and 240 after artificial insemination respectively. The LH levels during the pregnancy reached a peak of $27.47 \pm 7.90 \text{ mIU/ml}$ at day 30 after artificial insemination, and thereafter gradually decreased.
6. The progesterone levels during the periparturient period reached a peak of $4.61 \pm 0.34 \text{ ng/ml}$ at day 3 prepartum, and thereafter gradually decreased, and showed $2.05 \pm 0.60 \text{ ng/ml}$ at day 7 postpartum. The estradiol-17 β levels during the periparturient period showed high level from $207.23 \pm 6.04 \text{ pg/ml}$ at day 1 prepartum to $239.90 \pm 13.90 \text{ pg/ml}$ at day 2 prepartum, and thereafter began to decline and reached $51.87 \pm 1.72 \text{ pg/ml}$ at by 7 postpartum.

*College of Agriculture, Korea University

7. The prolactin levels during the periparturient period showed relatively higher level at the time of parturition. The LH levels during the periparturient period ranged from $6.32 \pm 0.32 \text{ mIU/ml}$ to $13.90 \pm 1.37 \text{ mIU/ml}$ showing significant changes.

8. The progesterone levels ($4.6 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$) of the pregnant cows were significantly higher than those ($1.84 \pm 1.4 \text{ ng/ml}$) of nonpregnant cows. The cows of artificial insemination from 61 to 90 days after parturition showed higher progesterone levels.

9. During 20 to 25 days after artificial insemination, the accuracy of pregnancy diagnosis from milk progesterone levels were 94.4% for nonpregnant cows ($< 2.3 \text{ ng/ml}$), and 75.0% for pregnant cows ($\geq 3.2 \text{ ng/ml}$). The average overall accuracy of pregnancy prediction for nonpregnant and pregnant cows 83.3%.

10. The results obtained this study suggest that the understanding of the endocrinological mechanisms by means of milk hormone analysis during the estrous cycle, pregnancy and parturition would give the basic information needed for increasing efficiency of reproduction. This study would not only provide an accurate method of the early pregnancy diagnosis by milk progesterone levels but also contribute to the research of providing the method of detecting of FSH levels in milk, which was difficult in blood serum.

I. 緒 論

乳牛의 繁殖効率을 增進시키기 위해서는 分娩間隔의 短縮, 受精卵移植, 雙胎分娩 및 繁殖障害의 豫防과 治療에 關한 새로운 技術의 開發이 切實히 要請되고 있다. 이러한 問題를 解決하는데는 주로 內分泌의 方法에 依存하여야 할 것이며, 이를 위해서는 于先 正常乳牛의 全 繁殖過程에 따른 各種 体内 호르몬의 水準을 究明하는 것이 매우 重要한 課題라 하겠다. 따라서 各種 호르몬의, 体内 濃度를 動的으로 測定하기 위하여 bioassay, chromatography, radioisotope dilution method 등과 같은 여러 方法을 試圖하였으나 滿足할 만한 結果를 얻지 못하고 있던 중, Berson과 Yalow(1964)에 의하여 免疫學의 原理를 利用한 radioimmunoassay法이 開發됨에 따라 이 分野의 研究가 活氣를 띠게 되었으며, 이어 Heap 등(1973)이 牛乳를 抽出 또는 純粹化 處理過程을 거치지 않고 直接 radioimmunoassay法으로 호르몬을 測定하는 法을 開發함으로써 血液에서보다 더욱 容易하게 分析이 可能하게 되어 乳汁內 호르몬 測定法을 많이 活用하게 되었다.

繁殖過程에 따른 乳汁內의 호르몬水準에 關하여는 多角的으로 檢討가 이루어지고는 있지만, 現在까지는 steroid 호르몬에 대한 研究가 主從을 이루고 있어서 發情週期, 妊娠初期 및 末期, 分娩前後 등의 繁殖過程에 따른 progesterone과 estradiol-17 β 의 水準變化를 究명한 研究는 있으나 FSH나 LH와 같은 peptide 호르몬에 關한 研究는 거의 없는 實情이다. 또한, 이들의 研究結果를 綜合해 보면 報告者間에 그 論旨가 一致되지 않은 點이 많을 뿐만 아니라 大部分의 研究가 繁殖過程中的의 一部分에 대하여 特定호르몬의 水準을 究명한 單篇의 結果들로서 全 繁殖過程에 따른 各種 性호르몬의 水準을 究明하여 綜合的으로 比較檢討한 研究는 별로 찾아 볼 수 없는 實情이다.

이에, 著者는 乳牛의 繁殖過程에 따른 性호르몬의 濃度變化를 究明하므로써 乳牛의 繁殖効率을 增大시키는데 必要한 基礎資料를 提供하고자 發情, 妊娠 및 分娩 등의 繁殖過程에 따른 乳汁內의 progesterone, estradiol-17 β , FSH, LH 및

prolactin의 濃度를 radioimmunoassay로 測定하여 綜合的으로 比較 檢討하였기 그 結果를 報告하는 바이다.

II. 研究史

本 研究와 關聯된 여러 研究報告를 發情週期, 妊娠期間, 分娩 및 妊娠診斷 등으로 分類 整理하여 살펴보면 다음과 같다.

1. 發情週期

乳牛의 乳汁內 progesterone 水準은 Heap 등(1973)에 의하여, 牛乳를 抽出 또는 純粹化 處理過程을 거치지 않고 直接 radioimmunoassay法으로 測定하는 方法이 開發됨으로서 血清에서 測定하는 것보다 매우 容易하여 乳汁內 호르몬測定法을 많이 活用하게 되었다. 이들은 이 方法에 依해서 發情後 9~10日의 progesterone濃度가 3.82 \pm 0.76ng/ml로 가장 높았다고 하였으며, Dobsen 등(1972, 1975)은 乳汁內의 progesterone의 水準이 發精期에는 3.0ng/ml이었으나, 黃體期에는 10.0ng/ml로 매우 높았다고 報告하였다. Progesterone의 乳汁內 水準과 血漿水準을 比較해 보면, Wishart等(1975)은 乳汁內의 progesterone水準變化는 血清과 거의 같다고 하였고, Dobsen과 Fitzpatrick(1976)은 乳汁과 血漿水準間에는 $r=0.88$ 로서 高度의 相關關係가 있었으며, 發情과 黃體期때의 水準은 各各 3~4 ng/ml와 10~14ng/ml이었으나 乳汁內에서 多少 높았다고 報告하였다. 한편, Hoffmann等(1976)은 乳脂肪內 progesterone水準은 發情期에 0.2ng/ml로서 乳脂肪을 試料로 使用할 때가 全乳를 使用할 때보다 正確度가 높다고 하였으며, Pope等(1976)은 乳汁內 脂肪含量에 따라 水準의 差가 있다고 하였으나, Pennington等(1976)은 乳脂肪量 또는 搾乳狀態가 호르몬水準에 크게 影響하지 않는다고 報告하였다. 그러나, Pope等(1976)은 全乳와 無脂乳中 progesterone水準은 發情期에 0.86ng/ml와 0.14ng/ml, 黃體期에는 10.4ng/ml와 1.86ng/ml로서 커다란 差異가 있다고 하였으며, 全乳와 血清水準間에는 高度의 相關($r=0.91$)關係가 있다고 하였다. McCaugh等(1979)은 脫脂乳中 progesterone水準은 發情期에 0.19 ± 0.03 ng/ml,

授精 21~22일은 $2.16 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ 이었다고 하며, Bulman等(1979)은 全乳의 progesterone 水準이 3 ng/ml 일때 54%의 乳牛에서 發情이 왔으며, 受胎牛의 水準은 $5.6 \pm 1.18 \text{ ng/ml}$, 不受胎牛에서는 $4.35 \pm 2.22 \text{ ng/ml}$ 였다고 報告하였다.

發情週期中 estrogen 水準에 대하여 Mellin과 Erb(1966)는 個體間에 變異가 클 뿐만 아니라, 報告者들 간에도 差異가 많아 一貫性이 지 量的으로 表示할 수는 없다고 하였다. 그러나, Wettemann等(1972)은 發情 0.5日前에 9.70 pg/ml 로 最高值에 이르렀고, 發情後 2~11日에는 平均 3.69 pg/ml 이었다고 報告하였고, Smith等(1975)은 發情前日에 $11.0 \pm 1.3 \text{ pg/ml}$ 로 最高值를 나타냈다고 하며, Seren과 Bolelli(1977)는 發情 24~28時間 前부터 增加하여 發情日에는 $9.6 \pm 1.61 \text{ pg/ml}$ 로 最高值를 나타냈다고 報告하였다. 한편, Christensen等(1971)은 LH가 最高值에 이르기 24時間 前에 estrogen은 $176 \pm 3.16 \text{ pg/ml}$ 로 最高值에 이르렀고, 發情後 5~6日에는 $141 \pm 4.4 \text{ pg/ml}$, 그以後는 $98 \pm 13.1 \text{ pg/ml}$ 로 減少되었다고 報告하였다. 또한, Monk等(1974)은 乳牛의 乳汁, 血漿 및 尿中の estrone과 estradiol-17 β 水準을 調査하였는 바, 血漿中 estradiol-17 β 水準은 乳汁水準과 큰 差가 없었으나, 乳汁의 平均 estrone 水準은 血漿의 4倍가 되며, 分娩前의 乳汁의 總 estrogen 水準(estrone + estradiol)은 1 ng/ml 를 凌駕했다고 報告하였다.

發情週期中 乳汁內의 FSH 및 LH 水準에 대한 報告는 찾아 볼 수 없었으나, 血漿內 FSH 水準에 대해서는 Hackett等(1969), LH 水準에 대해서는 Desjardins等(1968)과 Wettemann等(1973)의 報告가 있을 따름이다.

2. 妊娠期間

乳牛의 妊娠期間中 乳汁內 progesterone 水準에 대하여, Laing과 Heap(1971)는 非妊娠의 黃體期에서는 $3.82 \pm 0.76 \text{ ng/ml}$ ($1.44 \sim 6.05 \text{ ng/ml}$) 이었으나, 妊娠 35~85日에는 $18.55 \pm 2.20 \text{ ng/ml}$ 로서 最高值에 이른다 고 하였으며, Thorburn과 Schneider(1972)는 妊娠初期에는 $2.5 \sim 3.5 \text{ ng/ml}$ 로서 發情週期の 黃體期와 비슷하였고 妊娠 8日부터 60日까지는 거의 一定한 水準을 나타냈다고 하였으며, Wettemann과 Hafs(1973)는 妊娠 18日頃에 最高值에 이르렀고 그後 漸次 減少하다가 35日頃에는 $11.3 \pm 1.6 \text{ ng/ml}$ 로 다시 增加된다고 報

告하였다. 한편, Robertson等(1974)은 妊娠期間中은 $10 \sim 12 \text{ ng/ml}$ 로 一定水準을 維持하다가 分娩이 가까와 질수록 減少하였다고 하며, Ginther等(1976)은 全妊娠期間에 걸쳐 血漿(3.3 ng/ml)에서 보다 乳汁中(14.1 ng/ml)에서 상당히 높은 水準을 나타냈으며 ($P < 0.05$), 特히 乳汁中の 水準은 搾乳前(8.0 ng/ml)보다 搾乳後(23.2 ng/ml)의 水準이 훨씬 높았다고 報告하였다.

妊娠期間中 乳汁內 estrogen의 水準은, 妊娠初期에는 낮으나, 妊娠 160~170日 부터는 서서히 增加하기 始作하여 分娩期에 가까워지면 最高值에 達한다고 하였고(Turner, 1957), Wettemann과 Hafs(1973)는 妊娠 4日頃에는 $8.4 \pm 0.6 \text{ pg/ml}$ 이었는데 妊娠 7日~75日은 $6.2 \pm 0.5 \sim 8.6 \pm 1.3 \text{ pg/ml}$ 이었다고 報告하였다. 한편 Seren과 Bolelli(1977)는 妊娠 3個月 間은 $3.0 \sim 7.2 \text{ pg/ml}$ 로 거의 一定한 水準을 維持하나, 妊娠 4個月以後부터 estrone과 estradiol-17 β 水準이 增加하기 始作하여 9個月頃에는 各各 574.4 pg/ml 와 228.2 pg/ml 이었다고 報告하였다.

妊娠期間中 乳汁內 prolactin 水準에 대하여, Wettemann과 Hafs(1973)는 全妊娠期間 동안에 $7 \pm 3 \sim 56 \pm 14 \text{ ng/ml}$ 를 나타냈으나, 妊娠 75日 동안은 큰 變化가 없다고 하였으며, Delouis等(1980)은 妊娠 4個月 間은 낮은 水準을 維持하다가, 分娩 1週前 및 分娩時에는 最高值에 達했다고 報告하였다.

妊娠期間中 乳汁內 LH 水準에 대하여, Wettemann等(1973)은 授精後 2日부터 11日사이의 LH 水準은 非妊娠牛에서 $1.2 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$, 妊娠牛에서 $1.0 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ 로 非妊娠牛에서 약간 높았다고 하며 妊娠牛에서 LH 水準이 減少하는 것은 下垂體에 대한 progesterone의 negative feedback이 增加하기 때문이라고 報告하였다(Gomes等, 1965: 星, 1968)

3. 分娩

乳牛의 分娩中 乳汁內 progesterone의 水準에 대하여, Smith等(1973)은 分娩 2日 前에는 $7.6 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$ 에서 分娩 1日 前에는 $3.0 \pm 0.7 \text{ ng/ml}$ 로 떨어졌고, 分娩時에는 $0.6 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ 까지 減少했다고 하였으며, Welschen等(1973)은 分娩 72時間 前에는 $6.4 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$, 48時間 前은 $6.0 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$, 24時間 前은 3.6 ng/ml , 分娩時에는 $1.6 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ 로 漸次 減少하는 變化를 나타냈

다고 報告하였다. 한편 分娩前後의 血漿內 progesterone 水準에 대하여, Robertson (1972)의 報告에 依하면, 妊娠初期에는 發情週期の 黄体期와 같은 水準을 나타내다가 妊娠中期에서 後期에 걸쳐 分娩前日까지는 漸次로 減少한다고 하였고, 分娩後 첫 發情期까지는 0.5ng/ml 以下를 維持했다고 報告하였다.

分娩中 乳汁內 estrogen의 水準에 대하여, Smith等 (1973)은 分娩 26日前부터 分娩 5日前까지는, 32±6pg/ml에서 150±24pg/ml으로 直線的인 增加를 나타내어, 分娩 2~1.5日前에는 295±53pg/ml로 最高值를 나타내다가 分娩1週日後에는 52±12pg/ml까지 減少하였고 分娩後 9日에는 14±1.0pg/ml까지 減少하였다고 하며, Turner (1957)는 初乳內 estrogen分泌는 部分的으로 妊娠末期에 이루어지며, 이는 分娩前에는 乳房內에 貯藏되어 있다가 分娩과 함께 初乳內에 分泌된다고 報告하였다. 한편, Bailes等 (1978)은 馬乳中 progesterone濃度는 分娩後 25~30日の 낮은 水準을 除外하고는 分娩後 50日까지 22.5 ng/ml以上을 維持하였다고 報告하였다.

分娩中 乳汁內 prolactin의 水準에 대하여, Oxender等 (1972)은 出産時에 101ng/ml에서 出産 2日後는 42ng/ml로 減少했다고 하였으며, Muduuli等 (1979)은 prolactin水準은 日長의 變化와 一致($r=0.58$, $p<0.05$)한다고 하였고, Davis等 (1978)은 不規則하게 放出된다고 報告하였다. 한편, 分娩中 乳汁內 LH水準에 대한 報告는 찾아볼 수 없었으나, 血漿內 LH水準에 대해서는 Wettemann等 (1973)과 Peters等 (1981)의 報告가 있을 따름이다.

4. 妊娠診斷

妊娠에 따른 乳汁中 호르몬水準을 測定하여 妊娠與否를 診斷하는 方法이 報告되었는데, Günzler等 (1975)은 授精後 19~23日에 測定한 乳汁中 progesterone 水準이 2 ng/ml 以下는 非妊娠, 11ng/ml 以上은 妊娠으로 規定하여 6週後에 直腸檢査를 實施하여 比較한 結果, 非妊娠牛는 100%, 妊娠牛는 79.5%의 適中率을 나타냈다고 하였고, Heap等 (1977)은 授精後 24日에 測定한 progesterone의 水準은 非妊娠牛와 妊娠牛에서 各各 4.2±0.92ng/ml과 7.5±0.52ng/ml이었으며, 6.4 ng/ml를 基準한 妊娠診斷의 正確度는 各各 100%와 82%로서 역시 非妊娠牛에서 正確度가 높았다

고 報告하였다. 한편 Hoffmann等 (1976)은 授精後 20日에 測定한 水準에서 2 ng/ml 以下를 非妊娠牛, 11ng/ml 以上을 妊娠牛로 規定했을 때의 正確度는 各各 100%와 78%였다고 하였으며, Pennington等 (1977)은 授精後 21日の 水準이 11ng/ml 以上이면 妊娠, 8~11ng/ml이면 疑問, 8 ng/ml 以下이면 非妊娠으로 區分한 妊娠診斷 正確度는 非妊娠牛 및 妊娠牛에서 各各 98%와 73%였다고 報告하였다. 이 외에도 이들과 類似한 報告(Dobsen과 Fitzpatrick, 1976; Singh等, 1980; 鄭等, 1980)는 많다. 한편, 分析試料의 差異에 따른 妊娠診斷에 대하여, Bishop等 (1977) 및 Booth와 Holdworth (1977)는 授精後 21日の 全乳를 分析한 結果, 非妊娠牛에서 95~100%, 妊娠牛에서 90%의 妊娠診斷 正確度를 나타냈다고 하였으며, Pope等 (1977)은 授精後 22~25日の 血漿, 全乳 및 脫脂乳를 分析한 結果, 脫脂乳에서 가장 높은 正確度를 나타냈다고 報告하였다.

III. 試驗材料 및 方法

1. 供試動物 및 飼育方法

供試動物은 農村振興廳 畜産試驗場에서 飼育中인 Holstein種 乳牛로서 飼育管理方法은 N. R. C. 飼養標準에 依據 配合된 飼料로서 飼育하였다.

2. 試驗設計

各 試驗마다 處理別로 3反覆으로 完全 任意配置法에 準하여 設計하였으며 試驗別 供試頭數 및 測定한 호르몬은 Table 1과 같다.

3. 試驗方法

1) 試料의 採取方法 및 時期

(1) 試料의 採取方法

供試牛로 부터 搾乳된 試料乳는 搾乳即時 搾乳罐의 中央部에서 20ml를 取하여 牛乳保存劑(potassium dichromate) 1錠이 들어있는 25ml의 試驗管에 넣고 保存劑가 完全히 溶解된 것을 確認한 後, 密封하여 分析할 때까지 -20°C에 冷凍 保存하였다.

(2) 試料의 採取時期

① 乳區別 및 搾乳時間

乳區別로 搾乳前과 搾乳後로 나누어 發情日과 授精後 21~22日에 搾乳하였다.

② 發情週期

Table 1. Experimental design

Trials	No. of cows	Hormone assayed
Inter-quarters and milking time	10	Progesterone, estradiol-17 β
Estrous cycle	10	Progesterone, estradiol-17 β , prolactin, LH
Gestation period	5	Progesterone, estradiol-17 β , prolactin, LH
Parturition period	5	Progesterone, estradiol-17 β , prolactin, LH
Pregnancy diagnosis	42	Progesterone

發情이 確認된 날로부터 0, 3, 5, 8, 10, 13, 15, 20~25일에 걸쳐 採乳하였으며, 이때까지 發情이 없는 個體는 發情이 올때까지 採乳하였다.

③ 妊娠期間

授精後 30日 間隔으로 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240日까지 採乳하였다.

④ 分娩前後

分娩豫定 3日前부터 分娩後 7日까지 毎日 採乳하였다.

⑤ 妊娠診斷

妊娠診斷을 위해 授精日과 授精後 20~25일에 各各 採乳하였다.

2) 乳汁中 Hormone의 Radioimmunoassay

(1) Peptide Hormone의 Radioimmunoassay

乳汁中 호르몬의 radioimmunoassay法은 Heap等(1973)의 方法을 利用하였는데, peptide hormone의 測定方法은 Fig. 1과 같은 flow sheet의 過程에 따라 測定하였다. 即, 試料乳 100 μ l, tracer solution 100 μ l과 antiserum 100 μ l(NSB tubes는 除外), 그리고 buffer P 400 μ l를 添加하여 總量이 700 μ l이 되게 하였는데, antiserum의 濃度는 FSH 1 : 2,800,000, LH 1 : 1,750,000, prolactin 1 : 400,000이 되도록 하였다. 混合液을 vortex mixer로 攪拌시킨 後 4°C에서 48時間 incubation시켰다. 이때 standard curve를 얻기 위하여 各各의 standard series도 同一한 條件下에서 incubation시켰다.

second antibody를 1 : 26이 되도록 稀釋하기 위하여 10ml의 assay buffer P에 0.4ml의 second antibody를 添加하였고, 各各의 tube에 second antibody solution 100 μ l씩을 添加한 後 測定 tube 들을 vortex mixer로 섞은後, 4°C에서 18~30時間 incubation시킨 다음 遠心分離器에서 最少限45分間 1,500g의 速度로 遠沈시켜서 γ -counter로 bound form을 測定하였다.

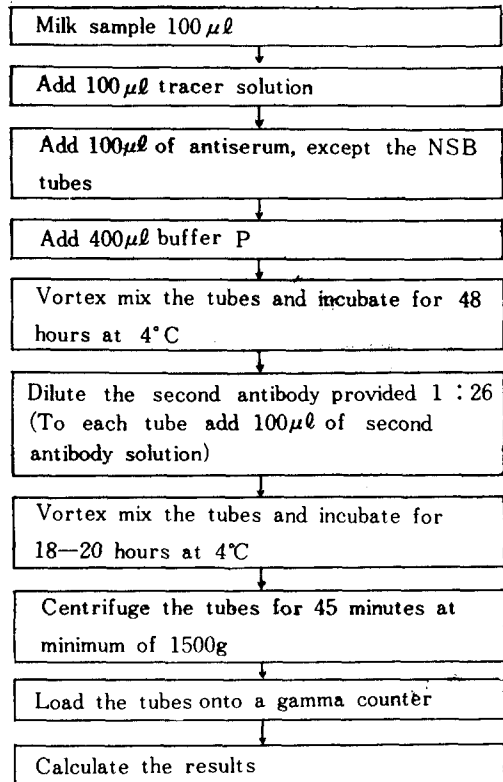


Fig. 1. Flow sheet for radioimmunoassay of peptide hormones.

(2) 性 Steroid Hormone의 Radioimmunoassay

性 steroid 호르몬의 測定은 Fig. 2와 같은 flow sheet에 따라 測定하였다. 即, steroids의 抽出 效率을 알기 위하여 牛乳에 1 μ Ci의 3 H-estradiol-17 β 와 3 H-progesterone을 添加하여 vortex mixer로 混合한 後 다시 diethylether 10ml를 添加하여 다시 세차게 攪拌한 다음 15分間 室溫에 放置하여 ether로 抽出시켰으며, dry ice acetone box에 넣어 얼린後, ether層은 glass vial에 옮겨 50°C

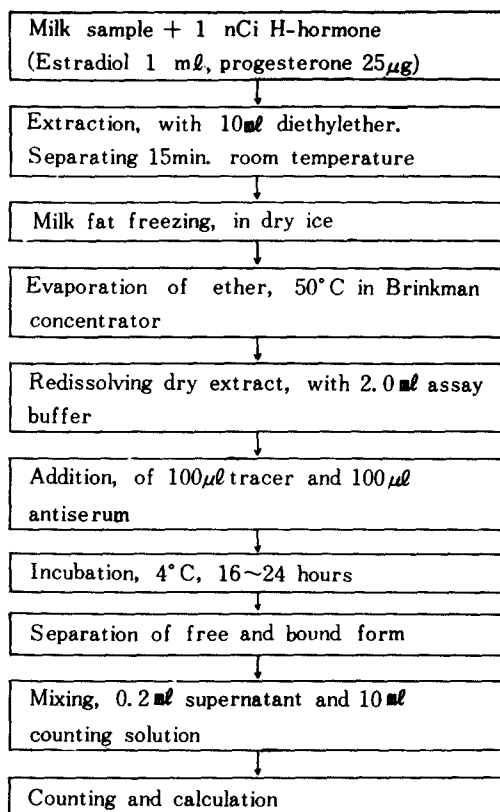


Fig. 2. Flow sheet for radioimmunoassay of sex steroid hormones.

로 固定한 Brinkman SC/48S concentrator에 넣어 ether로 蒸發시키고, 남은 dry extract를 2ml의 assay buffer로 再溶解시켜 抽出效率 檢査時 反復測定을 위하여 0.5ml씩 2 tube로 만든 다음 tracer 100 µl와 antiserum 100 µl를 添加하여 總量이 700 µl가 되게 하고, antiserum의 濃도가 estradiol-17β는 1 : 56,000, progesterone은 1 : 70,000이 되도록 하였다. 混合液을 vortex mixer로 攪拌시킨 後, 4°C에서 16~24時間 incubation 시켰다. 이때 standard curve를 얻기 위하여 各各의 standard series도 同一條件下에서 incubation 시켰다. Free form과 bound form을 分離하기 위하여 dextran coated charcoal suspension을 0.2ml 添加하여 完全히 攪拌한 後에 4°C에서 15分間 放置한 다음 4°C로 調節된 遠心分離器로 5分間 500g의 速度로 遠沈시켰다. 上層液을 scintillation vial에 옮기고, scintillation fluid 10ml를 添加하여 잘 혼합한 다음 1時間 以上 安定化시

키고, counter (Packard, Tricrab scintillation spectrometer, model 2450)로 bound form을 測定하였다.

IV. 試驗結果 및 考察

1. 乳區間 및 搾乳時間別 progesterone 및 estradiol-17β의 水準

發情期 및 授精 21~22日에 各乳區로부터 搾乳前과 後로 나누어 採乳한 乳汁內 progesterone 및 estradiol-17β의 水準은 Table 2 에서 보는 바와 같이, 發情期 및 授精 21~22日의 搾乳前後別 乳汁內 progesterone水準의 範圍는 $0.7 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ ~ $1.0 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ 와 $1.4 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ ~ $1.8 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$, $0.8 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ ~ $1.1 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ 와 $1.5 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ ~ $1.8 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ 이었으며, 또한, 이期間의 estradiol-17β 水準의 範圍는 $32.5 \pm 6.3 \text{ pg/ml}$ ~ $38.2 \pm 4.2 \text{ pg/ml}$ 와 $34.2 \pm 3.2 \text{ pg/ml}$ ~ $38.2 \pm 3.2 \text{ pg/ml}$, $34.7 \pm 3.6 \text{ pg/ml}$ ~ $38.6 \pm 5.1 \text{ pg/ml}$ 와 $36.8 \pm 2.4 \text{ pg/ml}$ ~ $42.3 \pm 5.2 \text{ pg/ml}$ 이었다. 搾乳前後의 各乳區別 progesterone 및 estradiol-17β水準은 약간의 增減의 幅은 있었으나, 搾乳時間別 및 乳區間的 有意한 差는 認定되지 않았다.

以上の 結果는 McCaughey와 Gorden (1979)의 $0.19 \pm 0.03 \text{ ng/ml}$ 와 $2.16 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ 水準과 比較했을 때 상당히 낮은 水準이었다. 또한, 乳脂肪量 및 搾乳狀態가 호르몬水準에 크나 影響하지 않는다는 Pennington 등 (1976)의 報告와는 一致되는 結果였으나, 搾乳前 (8.0 ng/ml)이 搾乳後 (23.2 ng/ml)의 水準보다 훨씬 낮았다고 한 Ginther 등 (1974)의 報告와는 差異가 있었다.

2. 發情週期中의 乳汁內 호르몬 水準

1) 發情週期の progesterone 水準

發情週期中의 乳汁內 progesterone水準을 調査하기 위하여, 非妊娠牛 10頭를 發情週期の 長短에 따라 區分하여 發情日로부터 다음 發情日까지 3日 間隔으로 採乳하여 測定한 progesterone의 水準은 Table 3 과 Fig. 3에서 보는 바와 같이, 發情週期가 짧은 것과 긴 것이 各各 $3.4 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ 와 $3.7 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ 로서 가장 높은 水準이었고, 發情當일이 各各 $0.6 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ 와 $0.9 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ 로서 가장 낮은 水準이었다. 發情週期가 짧은 것과 긴 것을 平均해 볼때도 역시 發情當일에 $0.75 \pm$

Table 2. Comparison of progesterone and estradiol -17β levels of inter-quarters and sampling time.

	Type of sampling time							
	Before milking				After milking			
	Right fore	Right hind	Left fore	Left hind	Right fore	Right hind	Left fore	Left hind
Progesterone (ng/ml)								
Oestrus	0.8±0.2*	1.0±0.3	0.9±0.2	0.7±0.3	0.8±0.3	1.1±0.2	0.9±0.2	0.9±0.1
21~22 days	1.7±0.3	1.5±0.1	1.4±0.1	1.8±0.1	1.6±0.1	1.8±0.3	1.5±0.1	1.6±0.1
Estradiol -17β (pg/ml)								
Oestrus	34.6±2.4*	38.2±4.2	32.5±6.3	34.8±4.0	34.7±3.6	37.2±5.2	36.8±3.7	38.6±5.1
21~22 days	34.2±3.2	37.6±3.5	36.4±2.8	38.2±3.2	38.2±2.6	39.6±4.4	42.3±5.2	36.8±2.4

*: Mean±Standard error.

Table 3. Progesterone levels in milk during the estrous cycle. (Unit : ng/ml)

Days after estrus	No. of cows	Length of estrous cycle		Mean
		19~21	22~25	
0	10	0.6±0.1	0.9±0.3	0.75±0.18*
3	10	0.9±0.2	1.0±0.3	0.95±0.27
5	10	1.3±0.3	1.2±0.4	1.25±0.34
8	10	1.2±0.1	1.4±0.3	1.30±0.25
10	10	1.4±0.3	1.5±0.2	1.45±0.32
13	10	2.8±0.2	2.5±0.4	2.65±0.34
15	10	3.4±0.2	3.7±0.4	3.55±0.26
20~25	10	1.0±0.3	1.1±0.1	1.05±0.29

*: Mean±Standard error.

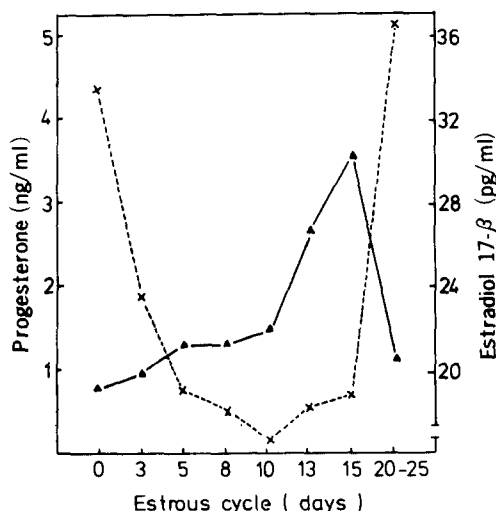


Fig. 3. Mean progesterone (▲—▲) and estradiol $17-\beta$ (x---x) levels in milk during the estrous cycle.

0.18ng/ml로서 가장 낮은水準이었고 그後 漸次增加되어 發情 13~15日에는 $2.65\pm 0.34\text{ng/ml}$ ~ $3.55\pm 0.26\text{ng/ml}$ 으로 높은水準을 나타내다가 그後로는 急激히 感少하였다.

이러한 傾向은 黄体期에서 3.82ng/ml 라고 한 Laing과 Heap (1971)의 報告와, $2.6\sim 3.8\text{ng/ml}$ 水準이라고 한 鄭等 (1980)의 結果와는 매우 類似하였으나, 發情期和 黄体期에서 各各 3.0ng/ml 와 10.0ng/ml 라고 한 Dobsen等 (1975)의 報告와, $3\sim 4\text{ng/ml}$ 와 $10\sim 14\text{ng/ml}$ 라고 한 Dobsen과 Fitzpatrick (1976)의 報告에 比하여는 매우 낮은水準이었다. 또한, 發情週期中 乳汁內 progesterone水準이 最高水準을 나타내는 時期에 關하여 Dobsen等 (1975)은 14日, Wettemann等 (1972)은 11日, 鄭等 (1980)은 15日이라고 하였는데 이들의 結果는 本試驗의 結果와 大体로 類似한 傾向이라고 보여진다. 또한, 本試驗에서

Table 4. Estradiol -17 β levels in milk during the estrous cycle. (Unit : pg/ml)

Days after estrus	No. of cows	Length of estrous cycle		Mean
		19~21	22~25	
0	10	34.2 \pm 4.6	32.6 \pm 8.2	33.40 \pm 1.62*
3	10	24.6 \pm 4.6	22.6 \pm 2.6	23.60 \pm 1.84
5	10	20.1 \pm 3.4	17.9 \pm 0.6	19.00 \pm 2.12
8	10	19.2 \pm 1.6	17.0 \pm 2.8	18.10 \pm 0.87
10	10	18.2 \pm 0.7	16.2 \pm 1.0	17.20 \pm 0.46
13	10	18.7 \pm 1.2	17.4 \pm 2.8	18.05 \pm 1.12
15	10	18.4 \pm 1.2	18.9 \pm 2.3	18.65 \pm 1.26
20~25	10	38.2 \pm 0.9	34.6 \pm 3.5	36.40 \pm 2.38

* : Mean \pm Standard error.

Table 5. FSH levels in milk during the estrous cycle. (Unit : mIU/ml)

Days after estrus	No. of cows	Length of estrous cycle		Mean
		19~21	22~25	
0	10	4.4 \pm 0.2	4.3 \pm 0.1	4.35 \pm 0.24*
3	10	3.8 \pm 0.2	3.6 \pm 0.2	3.70 \pm 0.21
5	10	3.1 \pm 0.1	4.0 \pm 0.3	3.55 \pm 0.32
8	10	2.5 \pm 0.2	3.6 \pm 0.1	3.05 \pm 0.12
10	10	3.3 \pm 0.3	2.2 \pm 0.1	2.75 \pm 0.24
13	10	3.4 \pm 0.2	4.1 \pm 0.3	3.75 \pm 0.36
15	10	2.2 \pm 0.2	2.8 \pm 0.4	2.25 \pm 0.23
20~25	10	2.6 \pm 0.1	2.2 \pm 0.3	2.40 \pm 0.34

* : Mean \pm Standard error.

progesterone 水準이 發情後 13~15일에 最高에 達했다가 그 後로는 急激히 減少하였는데, 이 結果는 Robertson (1972)과 Wettemann等 (1972)의 報告와 같이, 發情後 13~15일에 最大에 達했던 黄体가 17~20日頃에 退化를 始作하고 아울러 卵胞가 發育되면서 estrogen의 分泌가 增加되는데 基因한 結果라고 考察된다.

2) 發情週期の estradiol-17 β 水準

發情週期中의 乳汁內 estradiol-17 β 水準을 發情日로부터 3日間隔으로 測定하였던바, 그 結果는 Table 4 및 Fig. 3과 같다. 即, 發情日의 平均水準은 33.40 \pm 1.62pg/ml로 매우 높았으며, 發情後 10日까지는 漸次的으로 減少하였고, 그 後로는 增加하여 다음 發情直前인 20~25日에서는 36.40 \pm 2.38pg/ml로 急増하였다. 그리고, 發情週期の 長短에 따른 estradiol-17 β 水準의 差異는 認定되지 않았다.

이와 같은 結果는, 發情週期中의 estradiol - 17 β 水準은 發情前日에서 發情當日 사이에 最高値를 나타낸다는 Wettemann等 (1972), Smith等 (1975), Seren과 Bolelli (1977), Welschen等 (1975) 및 鄭等 (1980)의 報告와 거의 一致되는 傾向이었다. 그리고, 本 試驗에서의 estradiol-17 β 의 水準은 다른 研究報告 (Laing과 Heap, 1971; Smith等, 1975; 鄭等, 1980)와 類似한 水準이므로 乳汁內 호르몬 分析에 있어 別 誤差없이 測定되었음을 確認할 수 있었으나, 乳汁內 estradiol-17 β 의 水準과 血漿水準과는 類似하다고 報告한 Monk等 (1974)의 結果와는 差異가 있었다. 또한, Christensen等 (1971)은 肉牛에서 LH가 最高値에 이르기 24時間前에 estrogen의 水準은 176 \pm 3.16pg/ml로 最高値에 이르렀으며, 發情後 5~6日에는 141 \pm 4.4pg/ml이었고 그 後로는 漸次的으로 低下되었다고 報告하였는데, 이는 本 試驗의 結果와 호르몬의 絕對水準은 比較할 수 없지만 變化傾向

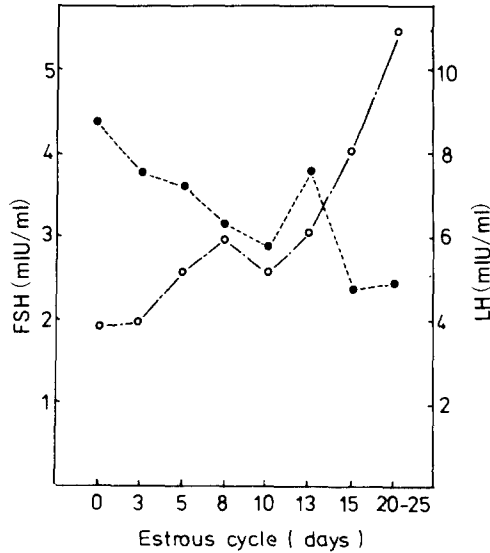


Fig. 4. Mean FSH (●-----●) and LH (○-----○) levels in milk during the estrous cycle.

에서는 많은合せ點을 發見할 수 있었다.

3) 發情週期の FSH 水準

發情週期中의 乳汁內 FSH의 水準을 調査하기 위하여, 非妊娠牛 10頭를 發情週期の 長短에 따라 區分하여 發情日로부터 다음 發情日까지 3日間隔으로 測定한 FSH의 水準은 Table 5 및 Fig. 4에서 보는 바와 같이, 發情日에는 4.35 ± 0.24 mIU/ml, 發情 5日은 3.55 ± 0.32 mIU/ml, 發情 10日은 2.75 ± 0.24 mIU/ml으로 減少하다가 發情 13日에는 3.75 ± 0.36 mIU/ml으로 약간 增加하였고, 그

以後는 減少하기 始作하여 發情 20~25日에는 2.40 ± 0.34 mIU/ml까지 減少하였다. 發情週期中의 FSH의 水準은 2.40 ± 0.34 mIU/ml~ 4.35 ± 0.24 mIU/ml의 範圍내에 있었고, 發情 20~25日의 FSH 水準은 發情日에 比하여 볼 때 절반에 가까운 水準이었다.

發情週期中 乳汁內 FSH의 水準에 대한 報告는 없으나, 血漿水準에 관하여, Desjardins와 Hafs(1968)는 發情日의 FSH 水準은 1.06 ± 0.31 ng/ml, 發情 5日은 0.98 ± 0.12 ng/ml, 發情 10日은 1.03 ± 0.21 ng/ml, 發情 15日은 0.65 ± 0.03 ng/ml, 發情 18~21日은 0.76 ± 0.09 ng/ml로서 약간의 減少傾向을 나타냈다고 하는데 이러한 減少傾向은 本試驗結果와 거의 一致되는 傾向이었으나 FSH의 絶對水準에서는 커난 差異가 認定되었다. 또한, FSH는 卵巢의 卵胞를 刺戟하여 顆粒細胞層의 增殖을 誘發하며 더 나아가 estrogen의 分泌를 促進시키는 作用을 가지고 있는데(Zemjanis, 1962), 이와같은 FSH의 生理的 作用과 本試驗에서의 estradiol-17β 水準의 變化를 連關시켜 볼 때 本試驗의 FSH 水準의 變化는 理論에 符合되는 結果라고 考察된다.

4) 發情週期の LH 水準

發情週期中 乳汁內 LH 水準을 調査하기 위하여, 發情日로부터 다음 發情日까지 3日間隔으로 測定한 乳汁內 LH 水準은 Table 6 및 Fig. 4에서 보는 바와 같이, 發情日에 3.85 ± 0.42 mIU/ml, 5日에는 5.15 ± 0.32 mIU/ml, 10日에 5.05 ± 0.21 mIU/ml, 15日에 8.00 ± 0.25 mIU/ml, 20~25日에 10.90 ± 0.36 mIU/ml로서 다음 發情日이 가까워질수록 漸次 增加하는 傾向을 나타냈다. 發情週期中 乳

Table 6. LH levels in milk during the estrous cycle. (Unit: mIU/ml)

Days after estrus	No. of cows	Length of estrous cycle		Mean
		19~21	22~25	
0	10	4.2 ± 0.2	3.5 ± 0.6	3.85 ± 0.42*
3	10	3.8 ± 0.1	4.2 ± 0.3	4.00 ± 0.17
5	10	4.7 ± 0.5	5.6 ± 0.1	5.15 ± 0.32
8	10	5.8 ± 0.2	6.2 ± 0.3	6.00 ± 0.26
10	10	4.8 ± 0.2	5.3 ± 0.3	5.05 ± 0.21
13	10	5.6 ± 0.1	6.5 ± 0.3	6.05 ± 0.34
15	10	7.8 ± 0.4	8.2 ± 0.2	8.00 ± 0.25
20~25	10	9.4 ± 0.3	12.4 ± 0.4	10.90 ± 0.36

* : Mean ± Standard error.

Table 7. Progesterone levels in milk during the gestation period. (Unit : ng/ml)

Days of gestation	No. of cows	Ranges	Mean
30	5	6.5~ 6.7	6.57±0.67*
60	5	3.6~ 3.8	3.67±0.62
90	5	5.3~10.6	5.40±1.75
120	5	5.5~ 8.3	6.07±1.12
150	5	6.7~ 9.6	6.97±0.86
180	5	4.4~ 4.8	7.56±0.12
210	5	5.8~ 7.6	6.42±0.58
240	5	6.2~ 9.8	9.14±1.20

*: Mean±Standard error.

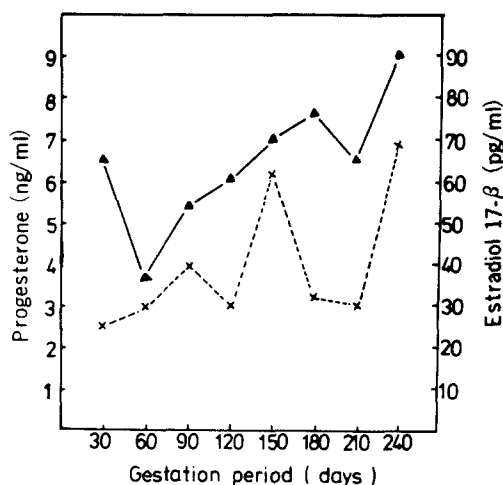


Fig. 5. Mean progesterone (▲—▲) and estradiol 17-β (x-----x) levels in milk during the gestation period.

乳汁內 LH水準의 範圍는 $3.85 \pm 0.42 \text{ mIU/ml} \sim 10.90 \pm 0.36 \text{ mIU/ml}$ 로서 發情日의 水準에 比해 20~25日은 約 2.7倍나 增加된 水準이었다.

發情週期中 乳汁內 LH水準에 대한 報告는 없다. 그러나, 血漿水準에 대하여 Desjardins 와 Hafs (1968)는 未經產牛에 있어서 LH水準은 發情後 첫날 $1.06 \pm 0.27 \text{ ng/ml}$ 이던 것이 漸次 增加하여 18~21日에는 $8.70 \pm 1.39 \text{ ng/ml}$ 를 나타냈다고 하는데, 이 結果는 血漿水準이기 때문에 本 試驗 結果와 絶對水準에서는 약간의 差異가 認定되지만, 發情日로부터 時日이 經過할수록 增加하는 變化傾向은 一致하였다. 그리고, Wettemann 等

(1973)은 發情週期中의 LH水準은 發情期에 $8.2 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$ 로서 非發情期의 $5.4 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$ 에 比하여 越等히 높은 水準을 나타낸다고 報告하였다. 이와같은 結果는 發情當日의 LH의 水準에 比하여 發情週期가 經過됨에 따라 增加되는 本 試驗의 結果와는 커다란 差異가 認定되는데, 이는 發情週期를 區分하는 時期의 差異 또는 LH의 分泌方法이 틀리는데서 오는 것인지 좀더 究明하여야 할 것으로 判斷된다. 한편, 本 試驗에서 排卵直前인 發情 20~25日에 LH水準이 急増한 것은 所謂 LH-surge가 誘發되는 것이라고 보여지며, 이에 依하여 卵胞의 完熟 및 排卵이 支配된다고 生覺된다.

3. 妊娠期間中 乳汁內 호르몬 水準

1) 妊娠期間의 progesterone 水準

授精後 30日부터 240日까지 30日間隔으로 採乳한 乳汁內 progesterone水準은 Table 7 및 Fig. 5에서 보는 바와 같이 妊娠30日에 $6.57 \pm 0.67 \text{ ng/ml}$ 이었으나 妊娠 60日은 $3.67 \pm 0.62 \text{ ng/ml}$ 로 減少하였고 그後 增加하기 始作하여 妊娠 240日은 $9.14 \pm 1.20 \text{ ng/ml}$ 까지 增加하였다. 이와같이, 妊娠期間이 經過함에 따라 progesterone水準은 尙 당히 增加하였으며, 妊娠末期에 가까워질수록 個體間에 水準의 差異가 심했다.

이러한 結果는 Wettemann과 Hafs (1973), Robertson 等 (1974)의 報告와 잘 一致하였으나, 全 妊娠期間에 걸쳐 progesterone水準은 血漿 (3.3 ng/ml)에서 보다 乳汁 (14.1 ng/ml)中에서 높은 水準을 나타냈다고 하였는데 本 試驗結果와는 水準의 差가 있었다. 한편, 妊娠期間이 經過할수록 增加하다가 分娩이 가까워왔을때 減少하였다

Table 8. Estradiol-17 β levels in milk during the gestation period. (Unit : pg/ml)

Days of gestation	No. of cows	Ranges	Mean
30	5	22.6 ~ 26.7	24.56 \pm 1.19*
60	5	26.2 ~ 30.6	28.40 \pm 1.27
90	5	18.4 ~ 22.4	20.43 \pm 2.00
120	5	38.5 ~ 40.5	39.60 \pm 0.59
150	5	42.4 ~ 48.5	45.70 \pm 1.78
180	5	46.4 ~ 54.1	50.30 \pm 2.22
210	5	20.2 ~ 30.1	26.17 \pm 3.03
240	5	52.6 ~ 82.7	68.00 \pm 8.70

* : Mean \pm Standard error.

는 Laing과 Heap(1971) 및 Robertson等(1974)의 報告와 關聯지어 볼때는 本 試驗에서 妊娠末期의 progesterone水準을 測定하지 못하여 正確히 比較할 수는 없지만 根本的인 變化傾向은 어느 程度 一致하는 것으로 考察된다. 妊娠期間中 progesterone은 初期에는 着床된 胎胚의 生存에 必須의이며 子宮의 妊娠維持 및 胚의 子宮內 受容에 重要な 役割을 할 뿐만 아니라 子宮의 運動을 抑制하며 子宮內 mucin, glycogen 및 脂肪代謝를 促進하고 子宮組織의 細胞分化에도 關與하는 作用을 가지고 있는 바(Swenson, 1977), 本 試驗에서의 progesterone水準은 이와 같은 生理的 作用을 維持하는데 適合하게 分泌되어진 結果라고도 보여진다.

2) 妊娠期間의 estradiol-17 β 水準

妊娠期間의 estradiol-17 β 水準을 調査하기 위하여 妊娠 30일부터 240일까지 30日 間隔으로 測定한 乳汁內 estradiol-17 β 水準은 Table 8 및 Fig. 5에서 보는 바와 같이, 授精後 30日에는 24.56 \pm 1.19pg/ml에서 60日에는 28.40 \pm 1.27pg/ml로 增加하였으나, 90日에는 20.43 \pm 2.00pg/ml로 減少하였고, 그 後로는 急激히 增加하여 180日에는 50.30 \pm 2.22pg/ml에 達하였으며, 210日에는 26.17 \pm 3.03pg/ml로 急減하였다가 240日에는 68.00 \pm 8.70pg/ml로 急增하였다.

乳牛는 比較的 妊娠期間이 길기 때문에 全妊娠期間을 통한 乳汁中の estrogen水準을 調査한 研究는 거의 없으나, 血液中の estradiol-17 β 水準을 妊娠初期와 末期로 나누어 調査報告한 것은 多數 있었다(Smith等, 1973; Mollett等, 1976; Erb等, 1976; 申, 1978). 本 試驗의 結果는, Wettemann

과 Hafs(1973) 및 Smith等(1973)의 妊娠 7日과 75日 사이에 estradiol-17 β 水準은 12.6 \pm 2.4~18.6 \pm 1.3pg/ml라고 한것보다 比較的 높은水準이었다. 한편, Smith等(1973)은 分娩 26日前에는 32 \pm 6 pg/ml이던 것이 分娩 5日前은 150 \pm 24pg/ml로 增加한다고 報告하였는데, 本 試驗에서는 供試牛가 乳牛인 까닭에 240日 以後에는 乾乳期間이므로 採乳가 不可能하여 妊娠末期 即 分娩前은 確認할 수 없었다. 妊娠期間中 estrogen은 胎盤에서 progesterone과 함께 分泌되어 妊娠이 經過함에 따른 子宮의 增殖變化에 關與하며, 子宮內 脂肪合成, O₂消費增加 등의 代謝에 關與하여, 妊娠末期에는 progesterone과 協同하여 子宮筋肉의 oxytocin에 대한 感受性を 높여 子宮收縮에 關與한다고 알려져 있다(Zemjanis, 1962).

3) 妊娠期間의 prolactin水準

授精後 妊娠 30일부터 240일까지 30日 間隔으로 採乳한 乳汁內 prolactin水準을 測定한 바 그 結果는 Table 9 및 Fig. 6에서 보는 바와 같이, 妊娠 30日에는 23.56 \pm 2.00ng/ml에서 妊娠 60日에는 14.37 \pm 1.50ng/ml로 減少하여 120日까지 繼續 維持되어 오다 妊娠 150日에는 31.27 \pm 2.31 ng/ml로 增加하였다. 그 後 妊娠 180日에는 16.87 \pm 1.12ng/ml로 減少하여 210日까지 繼續되다가 妊娠 240日에는 42.60 \pm 2.37ng/ml로 急增하였다.

全 妊娠期間에 걸친 乳汁內 prolactin水準을 調査한 報告는 없으나, 本 試驗結果는 Oxender等(1972)의 妊娠 260日에 61ng/ml, 出產時에 101ng/ml, 出產 2日後는 42ng/ml로서 妊娠末期에 急增한다고 한 報告와 比較할 때 妊娠末期에 急

Table 9. Prolactin levels in milk during the gestation period. (Unit : ng/ml)

Days of gestation	No. of cows	Ranges	Mean
30	5	20.3~27.2	23.56±2.00*
60	5	11.4~16.2	14.37±1.50
90	5	14.2~27.1	19.93±3.80
120	5	13.2~15.7	14.37±0.73
150	5	27.9~35.7	31.27±2.31
180	5	14.8~18.6	16.87±1.12
210	5	11.7~15.9	14.33±1.32
240	5	38.5~46.7	42.60±2.37

* : Mean± Standard error.

Table 10. LH levels in milk during the gestation period. (Unit : mIU/ml)

Days of gestation	No. of cows	Ranges	Mean
30	5	12.0~38.0	27.47±7.90*
60	5	7.9~31.0	22.47±7.32
90	5	11.5~15.7	13.58±1.21
120	5	7.6~12.3	10.30±1.40
150	5	5.5~11.7	8.73±1.80
180	5	14.9~19.5	17.13±1.33
210	5	11.0~12.3	11.10±0.67
240	5	12.2~13.5	12.83±0.38

* : Mean± Standard error.

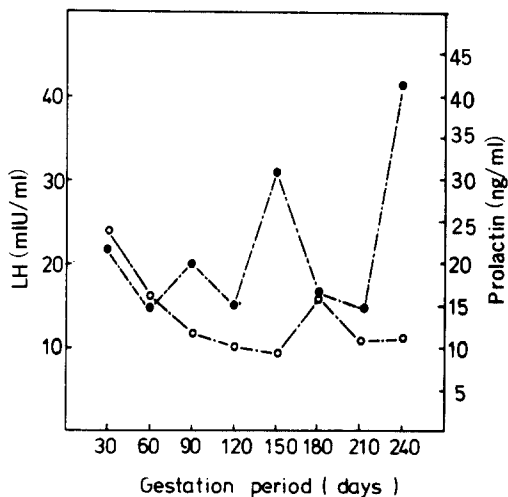


Fig. 6. Mean prolactin (●—●) and LH (○—○) levels in milk during the gestation period.

증하는 점에서는 일치하였다. 이와 같이 妊娠期間이 經過함에 따라 prolactin 水準이 增加하는 것은, 分娩直前에는 estrogen 濃도가 急増하여 estrogen에 progesterone 比率이 破壞되어 estrogen에 대한 抑制作用이 없어지므로 estrogen이 下垂體를 刺戟하여 prolactin 分泌를 促進하여 漸次的으로 增加하게 되는 것으로 考察된다.

4) 妊娠期間의 LH 水準

妊娠期間中 LH 水準을 調査하기 위하여 授精後 30日부터 240日까지 30日 間隔으로 採乳한 乳汁內 LH 濃度를 測定하였는바 그 結果는 Table 10 및 Fig. 6 에서 보는 바와 같이, 授精後 30日의 LH 水準은 27.47±7.90mIU/ml에서 妊娠 150日까지 8.73±1.80mIU/ml로 減少하였고, 妊娠 180日은 17.13±1.33mIU/ml로 增加하였다가 다시 240日까지 減少하여서 妊娠初期에는 比較的 높은 水準을 나타냈지만 妊娠期間이 經過할수록 大體로

Table 11. Progesterone levels in milk during the periparturient period. (Unit : ng/ml)

No. of days to farrowing	No. of cows	Ranges	Mean
-3	5	4.0 ~ 5.2	4.61 ± 0.34*
-2	5	3.6 ~ 4.6	4.03 ± 0.22
-1	5	2.3 ~ 3.0	2.75 ± 0.27
0	5	0.8 ~ 0.9	0.81 ± 0.24
1	5	3.6 ~ 3.9	3.78 ± 0.17
2	5	3.0 ~ 3.3	2.91 ± 0.18
3	5	1.9 ~ 2.3	2.13 ± 0.12
4	5	1.8 ~ 2.8	2.26 ± 0.27
5	5	1.8 ~ 1.9	1.81 ± 0.03
6	5	1.8 ~ 2.5	2.04 ± 0.24
7	5	1.1 ~ 3.1	2.05 ± 0.60

* : Mean + Standard error.

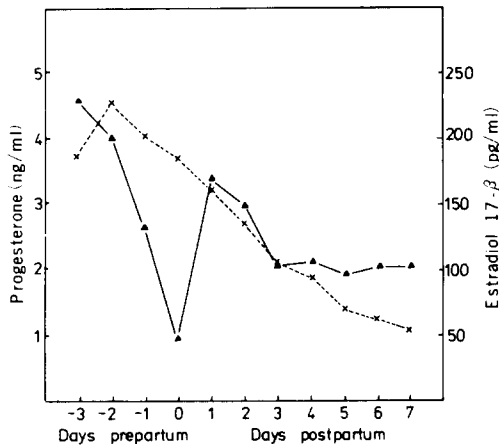


Fig. 7. Mean progesterone (▲—▲) and estradiol-17β (×-----×) levels in milk during the periparturient period.

減少하는 傾向을 나타냈다.

妊娠期間中の 血漿 LH 水準에 대해서, Wettemann 等 (1973)은 妊娠 18日에서 75日 사이의 LH 水準은 甚한 變化를 나타내지 않았다고 하며, 단지 授精後 2日~12日 사이의 血漿 平均 LH 水準은 非妊娠牛에서 1.2 ± 0.1ng/ml로 妊娠牛의 1.0 ± 0.1ng/ml보다 약간 높았다고 하였는데, 妊娠初期에 LH 水準이 높은 本 試驗結果와 一致하였다. 이렇게, 妊娠期間中の LH 水準이 減少하는 것은 下垂体에서 progesterone의 feedback이 增加하기 때문이라고 하였다 (Henricks 等, 1971).

4. 分娩前後의 乳汁内 호르몬 水準

1) 分娩前後의 progesterone 水準

分娩前後의 progesterone 水準을 調査하기 위하여 分娩 3日前부터 分娩後 7日까지 毎日 採乳한 乳汁内 progesterone 水準은 Table 11 및 Fig. 7에서 보는 바와 같이, 分娩前 3日은 4.61 ± 0.34ng/ml의 水準이었으나 分娩이 가까워질수록 progesterone의 水準은 減少하는 傾向을 나타내어 分娩日에는 0.81 ± 0.24ng/ml로 最低値를 나타냈다.

이러한 結果들은 progesterone의 水準이 分娩 48時間 前부터 急激히 減少하여 分娩日에 最低水準을 나타낸다는 Robertson (1972), Smith 等 (1973) 및 Welch 等 (1973)의 報告와 잘 一致하였다. 또한, 本 試驗에 있어서 分娩日의 0.81 ± 0.24 ng/ml 水準은 Welch 等 (1973)의 1.6 ± 0.3ng/ml 보다는 낮은 水準이었고, Smith 等 (1973), Claire 等 (1978)의 0.6 ± 0.9ng/ml 보다는 높은 水準이었으나 커다란 差異는 아니라고 생각된다.

2) 分娩前後의 estradiol-17β 水準

分娩 3日前부터 分娩後 7日까지 1日 間隔으로 採乳한 乳汁内 estradiol-17β 水準을 測定하였는바 그 結果는 Table 12 및 Fig. 7에서 보는 바와 같이, 分娩 3日前的 estradiol-17β의 水準은 185.10 ± 6.07pg/ml이었는데, 分娩 2日前은 239.90 ± 13.90pg/ml로 急激히 增加하였으나 分娩과 더불어 急激히 減少하여 分娩 7日後에는 51.87 ± 1.72pg/ml를 나타냈을 뿐이다. 한편, 分娩前的

Table 12. Estradiol-17 β levels in milk during the periparturient period. (Unit : pg/ml)

No. of days to farrowing	No. of cows	Ranges	Mean
- 3	5	176.2~196.7	185.10 \pm 6.07*
- 2	5	232.7~246.1	239.90 \pm 13.90
- 1	5	198.7~218.9	207.23 \pm 6.04
0	5	178.6~192.4	185.73 \pm 3.99
1	5	152.4~168.7	161.23 \pm 4.75
2	5	138.2~152.8	145.30 \pm 6.45
3	5	98.7~114.5	105.24 \pm 4.76
4	5	82.8~ 94.6	88.70 \pm 3.49
5	5	62.4~ 74.5	68.52 \pm 3.49
6	5	58.3~ 66.7	62.45 \pm 2.43
7	5	48.7~ 54.6	51.87 \pm 1.72

* : Mean \pm Standard error.

Table 13. Prolactin levels in milk during the periparturient period. (Unit : ng/ml)

No. of days to farrowing	No. of cows	Ranges	Mean
- 3	5	30.7~36.9	33.23 \pm 1.87*
- 2	5	32.2~76.9	52.20 \pm 13.12
- 1	5	32.4~38.3	35.07 \pm 1.77
0	5	40.7~47.5	43.80 \pm 1.98
1	5	52.3~58.5	55.76 \pm 1.83
2	5	32.3~39.4	36.43 \pm 2.13
3	5	24.6~27.8	25.87 \pm 0.98
4	5	19.5~24.6	21.68 \pm 1.52
5	5	16.6~17.2	16.90 \pm 0.17
6	5	12.9~14.7	13.93 \pm 0.54
7	5	9.2~10.9	10.17 \pm 0.50

* : Mean \pm Standard error.

높은 estradiol-17 β 의水準은分娩과 더불어減少하기始作하여漸次減少傾向을 나타낸 것이特異한變化였다.

이와 같은結果는, estradiol-17 β 의水準은分娩前에 높은水準을 보이다가分娩과 더불어急激히減少한다는 Henricks 等(1971)과 Smith 等(1973)의報告와一致하는傾向이었다. 이러한傾向에 대해 Turner(1957)는乳牛의初乳內estrogen分泌는 주로妊娠末期에 이루어지며, 이는分娩前에는乳房內에貯藏되어 있다가分娩과 함께初乳에分泌되기 때문이라고 하였다.

3) 分娩前後의 prolactin 水準

分娩 3日前부터分娩後 7日까지 사이의乳汁內 prolactin水準은 Table 13 및 Fig. 8에서 보는 바와 같이,分娩이 가까워질수록 prolactin水準은增加하는傾向을 나타내어分娩前 3日에는 33.23 \pm 1.87ng/ml이던 것이,漸次增加하여分娩日에는 43.80 \pm 1.98ng/ml,分娩後 1日은 55.76 \pm 1.83ng/ml로 매우 높은水準을 나타냈으나, 그後로는漸次減少하여分娩後 7日은 10.17 \pm 0.50ng/ml水準을 나타냈다.

以上の結果는, Oxender 等(1972)의 出産時에

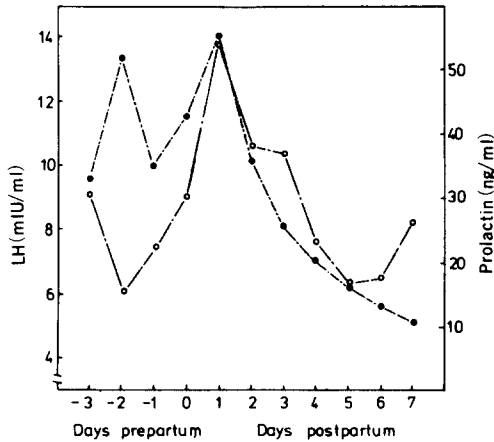


Fig. 8. Mean prolactin (●—●) and LH (□—□) levels in milk during the periparturient period.

101ng/ml, 出産 2日後는 42ng/ml水準보다 약간 낮은水準이었으나 變化傾向은 類似하였다. 이러한 호르몬의水準差異는 供試家畜의 年齡, 季節, 營養 등에 依한 것으로 생각된다. 한편, Muduuli 등 (1979)은 prolactin水準은 日長의 變化와 一致 ($r=0.58, p<0.05$)한다고 하였으며, Davis 등 (1978)은 prolactin水準은 不規則하게 放出된다고 하였는데, 分娩前後의 prolactin水準의 變化는 分娩期에 일어나는 急激한 内分泌 機能의 變調에 따른 反應이라고 考察된다.

4) 分娩前後의 LH水準

分娩前後의 乳汁內 LH水準은 Table 14 및 Fig.

8에서 보는 바와 같이, 分娩 2日前부터 增加하기 始作하여 分娩 1日後에는 最高水準을 나타냈는데 이때의水準은 各各 $6.17 \pm 0.86 \text{ mIU/ml}$ 와 $13.90 \pm 1.37 \text{ mIU/ml}$ 이었다. 그後부터 漸次 減少하여 分娩 6日後는 $6.53 \pm 0.69 \text{ mIU/ml}$, 分娩 7日後는 $8.23 \pm 0.38 \text{ mIU/ml}$ 를 나타냈다. 한편, 分娩前後의 平均 LH水準의 範圍는 $6.17 \pm 0.86 \text{ mIU/ml} \sim 13.90 \pm 1.37 \text{ mIU/ml}$ 로서 最高와 最低의 差는 約 2倍 程度였다.

分娩前後의 乳汁內 LH水準에 대한 報告는 찾아볼 수 없었으나, 다만, 血漿內 LH水準에 대하여 Peters 등 (1981)은 分娩前에는 $0.67 \pm 0.05 \text{ ng/ml}$ 로 가장 낮았고, 分娩 5日後는 $0.80 \pm 0.25 \text{ ng/ml}$ 로 增加하였다고 하여 本試驗의 結果와는 상당한 差異가 認定되었으며, 分娩前後의 높은水準을 報告한 Wettemann 등 (1973)의 報告와는 比較的 合致되는 傾向이었다.

5. 乳汁內的 progesterone水準에 의한 妊娠診斷

1) 妊娠牛 및 非妊娠牛의 progesterone水準
妊娠 및 非妊娠牛의 乳汁內 progesterone水準을 測定하여 妊娠診斷에 應用코져, 授精後 直腸 檢査에 의해 確認된 妊娠牛 24頭와 非妊娠牛 18頭に 대하여 授精後 21.8日과 24.2日에 乳汁內 progesterone水準을 調査한 結果는 Table 15와 같다. 妊娠牛와 非妊娠牛의 全体 平均水準은 各各 $4.6 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$ 와 $1.8 \pm 1.4 \text{ ng/ml}$ 로서 이들간

Table 14. LH levels in milk during the periparturient period. (Unit: mIU/ml)

No. of days to farrowing	No. of cows	Ranges	Mean
-3	5	8.7~9.2	$9.13 \pm 0.23^*$
-2	5	4.8~8.0	6.17 ± 0.86
-1	5	5.7~8.8	7.40 ± 0.91
0	5	7.2~10.6	9.10 ± 1.00
1	5	12.1~16.6	13.90 ± 1.37
2	5	10.2~11.3	10.64 ± 0.33
3	5	9.4~11.0	10.40 ± 0.50
4	5	5.2~9.8	7.57 ± 1.33
5	5	5.7~6.8	6.32 ± 0.32
6	5	5.0~7.9	6.53 ± 0.69
7	5	8.0~8.5	8.23 ± 0.38

* : Mean \pm Standard error.

Table 15. Milk progesterone levels in pregnant and non-pregnant cows classified by various physiological condition. (Unit : ng/ml)

Condition	Pregnant	Non-pregnant
No. of cows	24	18
Total mean	4.6±0.8*	1.8±1.4*
Milk yield		
<5,000kg	4.2±0.6	1.8±0.8
≥5,000kg	4.9±1.2	1.6±0.6
Calving		
< 4 th	4.7±0.8	1.8±0.9
≥ 5 th	3.6±1.3	2.1±0.6
Days from calving to 1st estrus		
<60days	3.8±0.4	1.9±0.9
≥61days	4.1±1.2*	1.8±0.8
Days from calving to conception		
<60days	4.8±1.0	
61~90days	6.4±2.2*	
Frequency of artificial insemination to conception		
1 st	4.8±0.7	
≥2 nd	4.2±0.5	
Days from artificial insemination to return of estrus		
<60days		1.6±0.9
61~90 days		1.9±1.2

* : Mean±Standard error.

* : P < 0.05.

에는 큰 차이가 있었다. 乳量, 産次 및 授精回數에 따른 progesterone水準은 顯著한 차이가 認定되지 않았으나, 初發情까지의 期間에 있어서는 61日 以後에서, 分娩後 受胎까지의 期間에서는 61~90日에서 다른 期間보다 越等히 높은 水準을 나타냈다. 또한, 産次에 있어서는 1~3産의 乳牛에서 大体로 높은 水準을 나타냈으나 統計的인 有意性은 認定되지 않았다.

이러한 水準은 Laing과 Heap(1971), Heap 等(1973) 및 鄭 等(1980)이 報告한 妊娠牛와 非妊娠牛의 乳汁内 progesterone水準인 6.05±2.20 ng/ml와 1.44±0.76ng/ml, 7.5±0.52ng/ml 와 4.2±0.92ng/ml 및 4.2±0.5ng/ml와 1.6±0.9 ng/ml와 비슷한 結果였으며, 特히 妊娠牛에서 非妊娠牛보다 顯著히 높은 水準을 나타냈다는 報

告와는 一致하였다.

2) 妊娠診斷의 正確度

Progesterone水準을 妊娠診斷에 應用코져, 授精後 20~25日에 測定한 乳汁内 progesterone水準은 Table 15에서 보는 바와 같이, 妊娠牛와 非妊娠牛의 平均水準은 各各 4.6±0.8ng/ml, 1.8±1.4ng/ml이었다. 乳汁内 progesterone水準에 따른 妊娠與否를 結定하는 限界水準은 妊娠牛는 3.2ng/ml 以上, 非妊娠牛에서는 2.3ng/ml 以下水準이었다. 이때 乳汁内 progesterone水準에 根據한 妊娠診斷 結果를 直腸檢査 結果와 比較하였으며, 供試牛 42頭에 대한 妊娠與否를 妊娠牛와 非妊娠牛의 限界水準과 比較分類한 바 그 結果는 Table 16과 같다. 卽, 妊娠으로 規定한 3.2ng/ml 以上에 屬하는 乳牛는 18頭였으나,

Table 16. Classification of 42 cows as pregnant or non-pregnant from progesterone levels in milk and rectal palpation at 60-90 days.

Result of rectal palpation		Limit level of pregnancy test (ng/ml)*			Total
		<2.3	2.3~3.1	≥3.2	
		Non-pregnant	Doubtful	Pregnant	
Pregnant	No. of cows	2	4	18	24
	%	(8.3)	(16.7)	(75.0)*	(100)
Non-pregnant	No. of cows	17		1	18
	%	(94.4)*		(5.6)	(100)
Total	No. of cows	19	4	19	42

* : Percentage of agreement between hormone level and rectal palpation result.

* : $P < 0.05$.

直腸檢査 結果 24頭가 妊娠으로 確定되었으므로 75.0%의 妊娠診斷正確도를 얻을 수 있었으며, 非妊娠으로 規定한 2.3ng/ml 以下水準에 屬하는 乳牛는 17頭였으나 直腸檢査 結果 18頭가 非妊娠으로 診斷되었으므로 94.4%의 非妊娠診斷正確도를 얻을 수 있었다. 한편, 妊娠牛 및 非妊娠牛를 包含한 總 42頭中 35頭가 乳汁中 progesterone水準에 依해 妊娠이 確定되었으며, 이때 實施한 直腸檢査 結果도 이것과 一致하여 83.3%의 正確도를 얻을 수 있었다.

妊娠牛에서는 妊娠期間이 經過됨에 따라 妊娠黃體가 發達함으로 体内 progesterone水準이 높아지고, 非妊娠牛에서는 黃體가 退化하여 卵胞가 發育하게 됨으로 体内 progesterone水準이 낮아지므로 이러한 progesterone水準의 增減變化를 利用하여 妊娠與否를 診斷하려는 研究가 많이 遂行되어 왔다 (Günzler 等, 1975; Heap 等, 1976; Hoffmann 等, 1976; Pennington 等, 1977; 鄭 等, 1980). 本 試驗結果는 Günzler 等(1975), Hoffmann 等(1976), Pennington 等(1970) 및 鄭 等(1980)이 各各 2 ng/ml, 6.4ng/ml, 2 ng/ml, 3.0ng/ml 以下를 非妊娠牛로 看做했을때 94~100%의 正確도를 나타냈다는 結果보다는 多少 떨어지는 成績이었으나, 妊娠牛에서 보다 非妊娠牛의 診斷成績이 더욱 正確하다고 報告한 點과는 一致하였다. 또한, 그 原因에 대해서는 報告된 바 없으나, 産次, 授精回數, 初發情까지의 期間 및 分娩後 受胎까지의 期間 等의 要因들이 多少 關與된 것으로 考察된다. 한편, 乳汁内 progesterone水準을 利用한 妊娠診斷 方法이 早期妊娠診斷法으로서 比較的 勸獎할 만한 正確한 方法으로 思

料된다.

V. 摘 要

繁殖過程에 따른 乳汁内 性호르몬의 水準變化를 究明하고자, Holstein乳牛 42頭로부터 發情週期, 妊娠期間, 分娩前後, 乳區間 및 搾乳時間別로 採乳한 乳汁内 progesterone, estradiol-17 β , FSH, LH 및 prolactin水準을 radioimmunoassay로 測定하여 比較 檢討하였던 바 그 結果는 다음과 같다.

1. 乳區間 및 搾乳時間別 progesterone 및 estradiol-17 β 水準은, 乳區間에는 別 差異가 없었고, 搾乳後가 搾乳前보다 약간의 增加를 나타냈으나 有意差는 認定되지 않았다.

2. 發情週期中의 progesterone水準은 發情 15日에 3.55 \pm 0.26ng/ml로서 가장 높았으나, 發情週期の 長短에 따른 水準의 差는 없었으며, estradiol-17 β 水準은 發情日에 36.40 \pm 2.38pg/ml로서 最高値를 나타냈으며, 黃體期에는 17.20 \pm 0.46pg/ml~18.65 \pm 1.26pg/ml로서 低下된 水準이었다.

3. 發情週期中의 FSH水準은 2.25 \pm 0.23mIU/ml~4.35 \pm 0.24mIU/ml로 큰 變異를 나타냈고, LH水準은 發情期가 가까워질수록 增加하여 發情 20~25日에 10.90 \pm 0.36mIU/ml로서 最高値를 나타냈다.

4. 妊娠期間中の progesterone水準은 授精後 30日에서 60日까지는 減少하였으나, 그 後 240日까지 繼續하여 增加하였으며, estradiol-17 β 水準은 授精後 30日에는 24.56 \pm 1.19pg/ml이었으나,

180일까지는 增加傾向을 나타내었고, 210일에서는 $26.17 \pm 3.03 \text{ pg/ml}$ 로 急減하였으며, 240일에는 $68.00 \pm 8.70 \text{ pg/ml}$ 까지 急增하였다.

5. 妊娠期間中の prolactin水準은 授精後 150일과 240일에 各各 $31.27 \pm 2.31 \text{ ng/ml}$, $42.60 \pm 2.37 \text{ ng/ml}$ 로서 最高値를 나타냈고, LH水準은 授精後 30일에 $27.47 \pm 7.90 \text{ mIU/ml}$ 로 最高値를 나타냈는데 妊娠期間이 經過할수록 漸次 減少하였다.

6. 分娩前後의 progesterone 및 estradiol- 17β 水準은 分娩 2·3日 前에 各各 $4.61 \pm 0.34 \text{ ng/ml}$ 와 $239.90 \pm 13.90 \text{ pg/ml}$ 로서 最高値를 나타냈으나, 그 後 減少하여 分娩後 7日에는 各各 $2.05 \pm 0.60 \text{ ng/ml}$ 와 $51.87 \pm 1.72 \text{ pg/ml}$ 水準이었다.

7. 分娩前後의 prolactin水準은 分娩日 前後에 比較的 높은 水準을 나타냈으며, LH水準은 $6.32 \pm 0.32 \text{ mIU/ml} \sim 13.90 \pm 1.37 \text{ mIU/ml}$ 의 範圍로 심한 變化를 나타냈다.

8. 授精後 20~25日에서의 妊娠牛의 progesterone水準은 $4.6 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$ 로서 非妊娠牛의 $1.8 \pm 1.4 \text{ ng/ml}$ 水準보다 越等히 높았으며, 分娩後 受胎까지의 期間이 61~90日인 乳牛에서 더욱 높은 水準을 나타냈다.

9. 授精後 20~25日의 乳汁內 progesterone水準에 의한 妊娠診斷에서 2.3 ng/ml 以下를 非妊娠牛, 3.2 ng/ml 以上을 妊娠牛로 했을때 妊娠診斷 正確度는 94.4%와 75.0%로서 非妊娠牛에서 正確性이 더욱 높았으며, 妊娠 및 非妊娠牛에 대한 全體의 平均 正確度는 83.3%였다.

10. 本 研究의 結果로서 乳牛의 發情週期, 妊娠 및 分娩 等의 全 繁殖過程에 따른 內分泌의 機轉을 簡便한 乳汁內 호르몬 分析方法에 의하여 綜合的으로 究明하므로써 乳牛의 繁殖效率을 增大시키는데 必要한 基礎資料를 提供함은 勿論, 乳汁內의 progesterone分析에 依하여 正確한 早期 妊娠診斷方法을 確立하였을 뿐만 아니라 乳牛에서는 血清에서의 分析이 極히 어려운 FSH를 乳汁에서 檢出할 수 있는 方法을 確立하므로써 앞으로의 生殖生理 研究에 크게 寄與할 것으로 期待된다.

參 考 文 獻

1. Arnstadt, K. I. and W. F. Cleere. 1981. Enzyme-immunoassay for determination of progesterone in milk from cows. J. Reprod. Fert., 62:173-180.
2. Bailes, G. and R. J. Holdworth. 1978. Progestagens in mare's milk. Br. Vet. J., 134: 214-216.
3. Berson, S. A. and R. S. Yallow. 1964. The hormones, In pincus, G., K. V. Thimann, and E. B. Astwood (eds.), Vol IV, Academic Press, New York.
4. Bishop, C. A., C. P. Bond and C. Roberts. 1977. Early diagnosis of nonpregnancy in cattle: The first eighteen months of a commercial service. A. B. A., 45(1):47.
5. Booth, J. M. and R. J. Holdworth. 1977. The establishment and operation of a central laboratory of pregnancy testing in cows. A. B. A., 45(1):47.
6. Bulman, D. C. and G. E. Lamming. 1979. The use of milk progesterone analysis in the study of oestrus detection, herd fertility and embryonic motility in dairy cows. Br. Vet. J., 135:559-567.
7. Chang, C. H., T. Gimenz and D. M. Henricks. 1981. Modulation of reproductive hormones by suckling and exogenous gonadal hormones in young beef cows postpartum. J. of Reprod. Ferti., 63:31-38.
8. Christensen, D. S., J. N. Wiltbank and M. L. Hopwood. 1971. Blood hormone levels during the bovine estrous cycle. J. Anim. Sci., 33:251.
9. 鄭英彩, 金昌根. 1980. 소의 多頭分娩에 關한 研究. II. 牛乳의 Hormone分析法에 의한 소의 早期妊娠診斷에 關한 研究. 韓國畜產學會誌. 22(1):7-15.
10. Claire Bulman, D. and G. E. Lamming. 1978. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. J. Reprod. Fert., 54:447-458.
11. Davis, S. L., D. L. Ohlson, J. Klindt and M. S. Anfinson. 1978. Episodic patterns of prolactin and thyrotropin secretion in rams and wethers: Influence of testosterone and diethylstilbestrol. J. Anim. Sci. 46: 1724.
12. Delouis, C., J. Djane., L. M. Houdebine and M. Terqui. 1980. Relation between hormones and mammary gland function. J. Dairy Sci., 63:1492-1513.

13. Desjardins and H. D. Hafs. 1968 . Levels of pituitary FSH and LH in heifers from birth through puberty. *J. of Anim. Sci.*, 27 :472 - 477.
14. Dobsen, H., C. Hopkinson and W. R. Ward. 1972 . Progesterone, 17- β oestradiol and luteinizing hormone in bovine peripheral plasma in relation to ovulation. *J. Endocrinol.*, 55. XV.
15. Dobsen, H., S. E. Midmer and R. J. Fitzpatrick. 1975 . Relationship between progesterone concentrations in milk and plasma during the bovine oestrus cycle. *Vet. Rec.*, 96 :222 - 223 .
16. Dobson, H., S. E. Midmer and R. J. Fitzpatrick . 1975 . Relationship between progesterone concentrations in milk and plasma during the bovine oestrus cycle. *A. B. A.*, 43 (7) 339.
17. Dobson, H. and R. J. Fitzpatrick. 1976 . Clinical application of the progesterone in milk test. *Br. Vet. J.*, 132:538 - 542.
18. Erb, R. E., E. L. Monk, T. A. Mollet, P. V. Malven and C. J. Callahan. 1976 . Estrogen, progesterone, prolactin and other changes associated with bovine lactation induced with estradiol-17 β and progesterone. *J. of Anim. Sci.*, 42 (3) : 644 - 653.
19. Erb, R. F., R. D. Randel and C. J. Callahan. 1971 . Female sex steroid changes during the reproductive cycle. *J. Anim. Sci.*, 32. Suppl., 1 :80.
20. Ginther, O. J., Nuti, B. C. Wentworth and W. J. Tyler. 1974 . Progesterone concentration in milk and blood during pregnancy in cows. *Proc. Exp. Biol. MED.*, 146 :354.
21. Ginther, O. J., Nuti, L. C. Garcia, B. C. Wentworth and W. J. Tyler. 1976 . Factors affecting progesterone concentration in cow's milk and dairy products. *J. of Anim. Sci.*, 155 - 159.
22. Gomes, W. R. and R. E. Erb. 1965. Progesterone in bovine reproduction (Review). *J. of Anim. Sci.*, 48 : 314 - 330.
23. Günzler, O., L. Korndofen, H. Lohff, R. Hamburger and B. Hoffman. 1975 . Practical experience with the estimation of progesterone in the milk for determining the fertility status of cows. *A. B. A.*, 43(10):524.
24. Günzler, O. E. Rattenberger and A. Goralch. 1979 . Milk progesterone determination as applied to the conformation of oestrus, the detection of cycling and as an aid to veterinarian and biotechnical measures in cows. *Br. Vet. J.*, 135 - 549.
25. Hackett, A. J. and H. D. Hafs. 1969 . Pituitary and hypothalamic endocrine changes during the bovine estrous cycle. *J. Anim. Sci.*, 28:531.
26. Heap, R. B., M. Gwyn, J. A. Laing and D. E. Walters. 1973 . Pregnancy diagnosis in cows; Change in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunity. *J. Agr. Sci.*, 81:151.
27. Heap, R. B., R. J. Holdsworth, T. E. Gadsby, J. A. Laing and D. E. Watters. 1976 . Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentration. *A. B. A.*, 45 (1) : 49.
28. Henricks, D. M., D. R., Lamond, J. R. Hill and J. E. Dicky. 1971 . Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J. of Anim. Sci.*, 32 (2) :450 - 454.
29. Hoffmann, B. R., Hamburger, O. Günzler, L. Korndorfer and H. Lohoff. 1974 . Determination of progesterone in milk applied for pregnancy diagnosis in the cow. *Theriogenology*, 2:21.
30. Hoffmann, B., O. Günzler, R., Hamburger and W. Schmidt. 1976 . Milk progesterone as a parameter for fertility control in cattle; Methodological approaches and present status of application in Germany. *Br. Vet.*, 132: 469 - 476.
31. Holdsworth R. J., M. Booth, G. A. M. Sharman and E. A. S. Rattray. 1980 . Measurement of progesterone levels in whole and fore-milk from dairy cows. *Br. Vet. J.*, 136:546 - 554.

32. 星修三, 山内壳. 1968. 家畜臨床繁殖學. 三訂版. 朝倉書店. 東京, 114.
33. Laing, J. A. and R. B. Heap. 1971. The concentration of progesterone in the milk of cows during the reproductive cycle. *Br. Vet. J.*, 127:19.
34. McCaughey, W. J. and F. J. Gordon. 1979. Milk progesterone assay; A comparison of inter-quarter and sampling time variation. *Br. Vet.*, 135:512-518.
35. Mellin, J. N. and R. E. Erb. 1966. Estrogen metabolism and excretion during the bovine estrous cycle. *Steroids*, 7:589.
36. Mollett, T. A., R. E. Erb, E. L. Monk and P. V. Malven. 1976. Changes in estrogen, progesterone, prolactin and lactation traits associated with injection of estradiol-17 β and progesterone into lactating cows. *J. of Anim. Sci.*, 42(3):655-663.
37. Monk, E. L., R. E. Erb and T. A. Mollett. 1974. Relationships between immunoreactive estrone and estradiol in milk, blood and urine of dairy cows. *J. of Dairy Sci.*, 58:34-40.
38. Muduuli, D. S., L. M. Sanford, W. M. Palmer and B. Howland. 1979. Secretary patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. *J. of Anim. Sci.*, 49(2):543-553.
39. Oxender, W. D., H. D. Hafs and L. A. Edgerton. 1972. Serum growth hormone, LH and prolactin in the pregnant cow. *J. of Anim. Sci.*, 35(1):51-55.
40. Oxender, W. D., H. D. Hafs and W. G. Ingalls. 1972. Serum growth hormone, LH and prolactin the bovine fetus and neonate. *J. of Anim. Sci.*, 35(1):56-61.
41. Pennington, J. A., S. L. Spahr and J. R. Lodge. 1976. Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Br. Vet. J.*, 132:496.
42. Pennington, J. A., S. L. Spahr and J. R. Lodge. 1977. Pregnancy diagnosis in dairy cattle by progesterone concentration in milk. *A. B. A.*, 45(3):176.
43. Peters, A. R., G. E. Lamming and M. W. Fisher. 1981. A comparison of plasma LH concentrations in milked and sucking post-partum cows. *J. Reprod. Fert.*, 62:567-573.
44. Pope, G. S., I. Majzlik, P. S. H. Ball and J. D. Leaver. 1976. Use of progesterone concentration in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle. *Br. Vet. J.*, 132:497-506.
45. Pope, G. S., I. Majzlik, P. J. H. Ball and J. D. Leaver. 1977. Use of progesterone concentrations in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle. *A. B. A.*, 45(1):50.
46. Robertson, H. A. 1972. Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the estrous cycle, pregnancy at the parturition and post-partum. *Can. J. Anim. Sci.*, 52:645-658.
47. Robertson, H. A. and G. T. King. 1974. Plasma concentrations of progesterone oestrone, oestradiol-17 β and oestrone sulphate in the pig at implantation, during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fert.*, 40:133-141.
48. Seren, E. and G. Bolelli. 1977. Peripheral plasma levels of estrone, estradiol-17 β , estradiol-17 α and estradiol in the bovine during estrous cycle and pregnancy. *A. B. A.*, 45(7):377.
49. 申源執. 1978. 韓牛의 繁殖過程에 있어서 血清中 progesterone 및 estrogen 水準의 變化에 關한 研究. 韓國畜產學會誌, 20(1):1-41.
50. Singh, A. and R. Puthiyandy. 1980. Estimation of progesterone in buffalo milk and its application to pregnancy diagnosis. *J. Reprod. Fert.*, 59:89-93.
51. Smith, V. G., L. A. Edgerton, H. D. Hafs and E. M. Convey. 1973. Blood serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy, parturition and early lactation. *J. Anim.*, 36:391.
52. Smith, J. F., R. J. Fairclough, E. Payne and L. A. Peterson. 1975. Plasma hormone levels in the cow. I. Changes in pro-

- gesterone and oestrogen during the normal estrous cycle. N. Z. J. Agr. Res., 18 : 123.
53. Smith, M. S., M. E. Freeman and J. D. Neill.1975 . The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat.; Prolactin, gonadotrophin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. Endocrinol., 96(1) 219-226.
 54. Swenson, M. J. 1977 : Duke's physiology of domestic animals. 774-779.
 55. Thorburn, G. D. and W. Schneider. 1972 . The progesterone concentration in the plasma of the estrous cycle and pregnancy. J. Endocrinol., 52:23-26.
 56. Turner, C. W.. 1957 . Estrogen content of colostrum and milk of dairy cattle. J. Anim. Sci., 23:630-641.
 57. Welch, H. A., H. A. Tucker, W. D. Oxender, S. Porteus and K. T. Kirton.1973 . Plasma prostaglandin at parturition in cows. J. Anim. Sci., 41(1):386.
 58. Welschen, R., P. Osman, J. Dullaart, W. J. DE. Greef, J. T. Uilenbroek and F. H. DE. Jong.1975 . Levels of FSH, LH, oestradiol-17 β and progesterone and follicular growth in the pseudopregnant rat. A. B. A., 43(8):423.
 59. Wettemann, R. P., H. D. Hafs, L. A. Edgerton and L. V. Swanson.1972 . Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine estrous cycle. J. of Anim. Sci., 34(6):1020-1024.
 - 60 . Wettemann, R. P. and H. D. Hafs.1973 . LH, prolactin, estradiol and progesterone in bovine blood serum during early pregnancy. J. of Anim. Sci., 36(1):51-56.
 61. Wishart, D. F., V. A. Head and C. E. Horth. 1975 . Early pregnancy diagnosis in cattle. Vet. Rec., 96:34.
 62. Zemjanis, R..1962 . Diagnostic and therapeutic technique in animal reproduction. Baltimore, Williams and Wilkins.