

血中 Progesterone 水準 測定에 의한 濟州在來馬의 早期 妊娠診斷 應用에 관한 研究

張德支·金重桂*
濟州專門大學

Studies on the Progesterone Level for Early Pregnancy Diagnosis of Cheju Native Mares

D. J. Chang and J. K. Kim*

Cheju Junior College

SUMMARY

Plasma progesterone concentrations were measured by using radioimmunoassay for early diagnosis of pregnancy in Cheju-native mares. A total of 226 pony mares were examined for pregnancy during breeding and non breeding seasons. Plasma progesterone levels 20~23 days after the onset of oestrus were $4.67 \pm 0.67 \text{ ng/ml}$ and $0.55 \pm 0.04 \text{ ng/ml}$ for mares becoming pregnant and not pregnant after the estrus, respectively, and there was a significant differences ($p < 0.01$) between the two groups.

Progesterone concentration of pregnant mares gradually increased in 30 days and reached a peak (10.3 ng/ml) during the third month of gestation. However, the concentration decreased to the base line (1.1 ng/ml) at 7 months and gradually increased again as foaling approached (2.1 ng/ml).

Early diagnosis for pregnancy of Cheju mares by progesterone level at 20~23 days after onset of oestrus was 88% accurate when 4.6 ng/ml was used to classify mares as pregnancy and below 1.3 ng/ml was used to determine nonpregnant mares. However, the accuracy of the diagnosis was improved to 96% when a progesterone level of above 2 ng/ml was used to classify mares for pregnancy.

Diagnosis for pregnancy was 69.6% accurate when mares were classified as pregnancy by horse owners during breeding season.

The progesterone levels of pregnant and non-pregnant mares during non-breeding season varied greatly between individual animals, Plasma progesterone levels of pregnant animals ranged from 3.5 ng/ml to above 6.2 ng/ml whereas similar values were observed in non-pregnant animals.

Radioimmunoassay techniques can be applied for the early pregnant diagnosis of Cheju native mares when progesterone levels are measured during the early gestation period (18~23 days after onset of oestrus). However, progesterone concentration of mares in non-breeding season is considered unsuitable as a indicator of pregnant diagnosis.

(Key word : mare, pregnant diagnosis, radioimmunoassay, progesterone, plasma)

* 濟州大學校 農科大學(College of Agriculture, Cheju National University)

濟州 在來馬는 근간에 이르러 競馬 및 乘馬의 이용 등에 따라 말의 수효는 급격히 증가되는 한편 1995년 12월말 도내에서 飼育되고 있는 마필수는 3000여두에 불과하여 제주마의 증식을 위한 繁殖效率의 향상은 무엇보다 중요한 과제로 대두되고 있다. 그러나 제주마의 繁殖成績은 극히 저조하여 평균 60.9%(金과 張, 1988)에 이르고 있으며 在來馬 번식율은 더욱 저하되고 있는 실정에 놓여 있다.

Radioimmunoassay는 家畜繁殖生理의 연구를 위한 수단으로 광범위하게 이용되어 각종 內分泌 hormone의 측정을 위해 이용되고 있으며, 가축의 경우 血漿과 유즙의 progesterone수준을 측정하여 妊娠早期診斷, 黃體의 기능, 受精適期の 판단 등에 활용되고 있으며 卵巢疾患에 의한 繁殖障礙 가축의 발견 수단으로 응용되고 있다(Stabenfeldt 등, 1972; Heap 등, 1973; Lamming과 Bulman, 1976).

말의 hormone 측정에서 Gunther 등(1978)은 progesterone 농도는 유즙과 혈장 사이에 차이가 없었으며 progesterone 수준 측정으로 早期 妊娠診斷과 異常發情의 감별을 보고한 바 있다. 또한 Gunther 등(1980)은 정확한 早期妊娠診斷을 위해 혈장 progesterone의 측정시기는 발정 종료 18~19일이 가장 적절하다고 보고하였다. Progesterone 수준에 따른 早期妊娠鑑定에서 Vries와 Holst(1983)는 배란 후 18일에 혈장 progesterone농도가 2ng/ml 이상의 것을 임신으로 判定했을 때 正確度는 임신이 78%, 비임신이 100%였다고 한 반면, Busch 등(1986)에 대한 正確度는 68%라고 보고한 바 있다.

濟州馬에 대한 성성숙과 繁殖成績조사에서 장(1990)은 혈장내 progesterone 수준을 측정하였으며, RIA(radioimmunoassay)에 의한 早期 妊娠鑑定에 대한 가능성을 제시한 바 있으나 제주마의 번식을 향상을 위한 早期妊娠診斷을 위한 RIA는 이제까지 시도된 바 없다.

본 연구는 濟州馬의 發情期 및 妊娠期間의 progesterone 수준을 규명하고 이를 이용한 조기임신 진단 기준을 정립시켜 濟州馬의 繁殖率 향상을 위한 기초자료를 제공시키고자 수행하였다.

1. 供試馬

제주도내에서 사육중인 경산 및 미경산 在來馬 226두를 대상으로 조사하였다. 발정기간중의 progesterone 수준을 조사하기 위하여 12두를 공시하였으며, 早期妊娠診斷을 위해 50두의 자연교배 완료마를 이용 發情후 21~23일에 혈장 progesterone 수준을 측정하였다. 아울러 농가에서 사육중인 繁殖馬의 妊娠診斷을 위해 158두를 대상으로 조사하였으며 임신 여부는 추위를 통해 확인하였다.

2. 採血

發情週期중의 hormone의 변화를 조사하기 위해 발정후 0~2, 5~7, 10~12, 15~17과 20~23일에 동일마로부터 혈액을 채혈하였고 早期妊娠감별을 위해 50두의 말을 이용 발정후 20~23일간에 각각 1회씩 채혈하였다. 농가에서 사육중인 번식마의 妊娠鑑定을 위해 158두에 대해 繁殖季節과 非繁殖季節에 각각 1회씩 채혈, progesterone 측정에 이용하였다. 혈액은 頸靜脈으로부터 채혈하였으며 EDTA vial에 보존, 3000 rpm 에서 10분간 원심분리 후 血漿은 hormone 측정시까지 -20℃에서 보존하였다.

3. 血漿 progesterone 측정

Progesterone은 TIA kit (Coat-a-coat Progesterone kit, American Diagnosis)를 이용하여測定하였다. 0, 0.1, 0.5, 2.0, 10, 20 그리고 40ng/ml의 progesterone이 들어 있는 standard solution과 실온에서 자연응해한 혈장을 anti-progesterone coated tube에 각각 100 μ l로 분주하였으며 각 tube에 buffered 125-I progesterone 용액을 첨가하고 vortex mixer로 균일하게 혼합하였다. 시료는 실온에서 3시간 정치한 후 내용물을 완전히 제거하고 건조시킨 후 Gammacounter(Berthold)에 의해 放射能을 계측하였다.

結果 및 考察

발정주기 기간 중 妊娠馬와 非妊娠馬의 혈장 progesterone 수준은 Table 1과 같다.

發情期(0~2일)의 progesterone 수준은 妊娠 및 非妊娠馬 모두에서 1ng/ml 이하였으나 黃體成長期(5~7일)에는 각각 2.74ng/ml, 2.55ng/ml로 증가하였으며 黃體成長 및 유지기까지 임신 및 비임신마 모두 증가하고 있었다. 그러나 15~17일에 이르러 progesterone 수준은 妊娠 및 非妊娠馬에서 모두 감소되었으며 황체 퇴행기인 20~23일에는 임신마 4.67ng/ml인데 비해 비임신마는 0.55ng/ml로서 임신마와 비임신마의 progesterone 수준은 유의적인 ($p < 0.01$) 차이를 나타내었다. 이와 같은 결과는 발정기의 progesterone 수준을 發情期 3.7ng/ml, 휴지기 10.7ng/ml이라고 보고한 Bodylev 등 (1986)의 결과와는 차이를 나타내었으나, Nett(1976)의 發情期 1ng/ml, 발정휴지기에는 4

~10ng/ml로 증가한 후 20일에는 급격히 감소하였다는 결과와는 유사한 경향을 나타내고 있었다. 妊娠馬의 경우, Terblance와 Maree(1981)는 progesterone 수준이 배란 후 21일에 5~9ng/ml이라고 보고하였으며, Sato 등 (1975)은 排卵후 21~25일에 4.8~5.9ng/ml로서 발정 휴지기에 비해 수준이 낮았다고 보고하여 본 실험결과와 유사하였다.

혈장 progesterone 수준과 直腸檢査를 통한 임신 여부에 대한 결과는 Table 2에 제시하였다.

發情週期中 黃體退行期 (발정후 20~23일)에 있는 제주마 50두를 임의로 선정, 혈중 progesterone 을 측정하고 발정후 35~40일에 直腸檢査를 시행 임신감정을 한 결과 임신마의 경우 progesterone 수준은 4.6ng/ml 이상이 24두(80%), 1.4~4.5ng/ml이 5두(16.7%), 1.3ng/ml이 1두였다. 그러나 비임신마의 경우는 모두 1.3ng/ml이하였다. 따라서 신뢰한계에 의한 妊娠判定의 정확도는 50두중 44두의 임신 여부가 확정되어 progesterone 수준에 의한 早期妊娠判定의 정확도는 88%로 추정되었다.

Table 1. Plasma progesterone levels in pregnant and non-pregnant Cheju native mares during oestrus cycle

Days of oestrus cycle	Progesterone levels (ng/ml)			
	n.	Pregnancy	n.	Non-Pregnancy
0 ~ 2	8	0.25±0.07	5	0.36±0.08
5 ~ 7	8	2.74±0.41	5	2.55±1.54
10 ~ 12	8	7.89±1.08	5	8.59±1.42
15 ~ 17	8	7.11±1.24	5	7.71±1.48
20 ~ 23	8	4.67±0.67**	5	0.55±0.44**

** P<0.01

Table 2. Plasma progesterone concentration in pregnant and non-pregnant mares 20~30days which diagnosed by rectal palpation on 35~45days after onset of oestrus

Results of rectal palpation	No. of mares	Ranges of progesterone concentration for pregnant test (ng/ml)		
		1.3	1.4~4.5	4.6
Pregnancy(%)	30	1 (3.3)	5 (16.5)	24 (80)
Non-pregnancy(%)	20	20 (100)	—	—
Total	50	21	5	24

P : pregnancy, N,P : non-pregnancy

Progesterone 수준에 의한 妊娠診斷의 정확도에 대하여 Tomasquard와 Benjaminsen(1977)은 개량마의 경우 중부 후 21일에 94%, Lorin 등(1988)은 배란후 17~19일에 84.6%라고 한 보고와 본 실험결과와는 다소 차이가 있었다. 그러나 Elmere 등(1988)은 배란후 18~19일에 progesterone 수준이 2ng/ml 이상을 妊娠馬로 판정하였을 때 정확도는 99%라고 한 보고와 본 실험결과는 유사한 경향을 나타내고 있다. 따라서 progesterone 수준을 2ng/ml 이상을 妊娠으로 판정할 경우 정확도는 96%가 되며 제주마의 초기 妊娠判定을 위해 이 수치가 적용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 임신판정의 정확도를 높이기 위한 방안으로서 교배후 10일 간격으로 2회 혈중 progesterone 수준을 측정하는 것이 판정의 정확도를 더욱 높일 수 있을 것으로 생각된다.

妊娠馬의 혈중 progesterone 수준은 임신중의 유우의 progesterone 수준과 차이를 나타내고 있으며 (Fig. 1 참조), 濟州馬의 경우 임신초기에 7.79~10.31ng/ml였으나 임신기간이 경과되면서 5개월부터는 progesterone 수준이 점차 낮아지고 임신 7개월령에 이르러서는 1.11ng/ml로 최저치를 나타내고 있다. 그러나 임신말기인 11개월에 2.09ng/ml로 다소 증가되는 경향을 나타내었다. Holtan 등(1975)은 改良馬에서 progesterone 수준이 임신 28일에 4.8ng/ml로 되었다. 2개월에 15.2ng/ml, 6~10개월에는 1~2ng/ml, 11개월에는 4.4ng/ml라고 발표하여 본 실험결과를 뒷받침하고 있다.

이에 반해 유우의 경우 妊娠全期間에 걸쳐 progesterone 수준은 큰 변화없이 유지되었으며 혈중 progesterone 농도 역시 말에 비해 높게 나타나 있었다. 이와 같은 결과는 젖소의 妊娠期間중 pro-

gesterone 수준을 11.2~16.4ng/ml로 보고한 Randel과 Erb(1971)의 보고와 유사하였으나, 濟州馬의 경우와는 progesterone 수준에 큰 차이를 보이고 있었다. 이와 같은 경향을 토대로 볼 때 젖소의 경우 progesterone 수준에 따라 조기임신진단과 임신기간 중에 임신확인이 가능할 것으로 보이나 말의 경우는 임신중반기의 progesterone 수준의 저하로 이 기간 중의 妊娠判定은 直腸檢査, 분뇨 중의 estrogen 수준을 측정 보완하고 있다(Lorin 등, 1986).

濟州馬 사육농가를 대상으로 조사된 妊娠馬와 비임신마의 혈중 progesterone 수준과 妊娠鑑定의 결과는 Table 3에 소개하였다.

총 106두의 농가 사육 繁殖馬 중 24개월령의 빈마는 41두였으며 그중 임신으로 농가가 판정한 것은 불과 3두에 지나지 않았으나 progesterone 수준은 4.6ng/ml 이상이 1두, 1.4~4.5ng/ml이 1두였으며 1.3ng/ml 이하가 1두였다. 그러나 3~4세의 번식마 45두 중 임신으로 간주되고 있는 말은 15두로서 4.5ng/ml 이상(8두), 1.4~4.5ng/ml(2두), 1.3ng/ml 이하(1두)의 分布를 나타내었다. 5세 이상의 繁殖馬 중 妊娠으로 간주되고 있는 牝馬 5두의 progesterone 수준은 1.4ng/ml 이상이 4두, 1.3ng/ml 이하가 1두로서 progesterone 수준 1.4ng/ml 이상을 妊娠으로 判定한다면 (Table 1. 참조) 농가에서 추정한 妊娠馬 23두 중 16두만이 妊娠으로 판정될 수 있어 정확도는 69.6%로 비교적 낮은 수치였다.

非妊娠 추정마의 혈중 progesterone 수준을 기초로 볼 때 1.3ng/ml 이하인 繁殖馬는 52두(40.1%)였으며 대부분 黃體 退行期로 추정되며 1.4ng/ml의 번식마 38두(35.8%)는 번식계절에 황체성장기

Table 3. Plasma progesterone levels presumed pregnant period of Cheju native mares which were classified as pregnant mares by horse owner

Ages (year)	No. of mares	Ranges of progesterone concentration (ng/ml)					
		P	N	P	N	P	N
2	41	1	26	1	5	1	7
2~4	47	5	12	2	5	8	15
over 5	18	1	7	2	4	2	2
Total	106	7	45	5	14	11	24

P : pregnancy N: non-pregnancy

Table 4. Plasma progesterone levels in pregnant or non-pregnant mares confirmed by following foaling

Results of foaling	Mean±S.E	Mean±S.E	Progesterone concentration ranges for pregnant test (ng/ml)		
			<3.5	3.6~6.1	>6.2
Foaling (%)	21	7.54±1.18	8 (38.1)	1 (4.8)	12 (57.1)
Empty (%)	31	2.35±0.67	22 (71.0)	3 (9.7)	6 (19.4)
Total	52	4.90±0.63	30	4	18

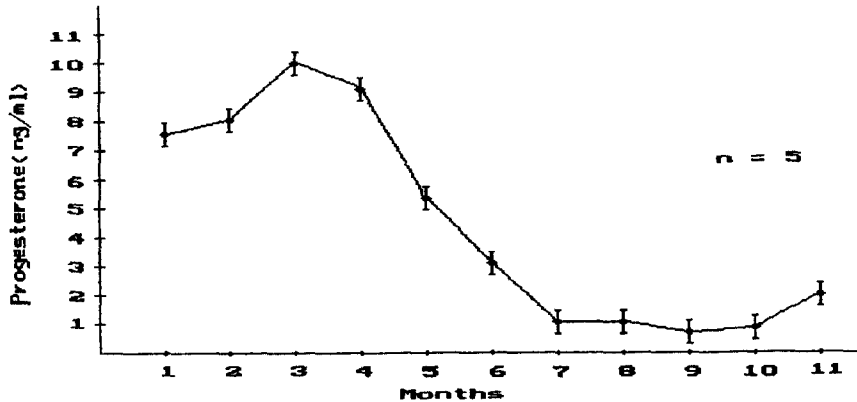


Fig. 1. Concentration of mean plasma progesterone in 5 pregnant mares from pregnancy to 11 months.

내지는 유지기에 있었던 말들로서 卵巢活動이 활발해진 결과로 생각된다. 김과장(1988)이 제주마의 봄철 發情率이 45.2%라고 한 보고와 본 실험에서의 혈중 progesterone 수준과를 비교해 보면 濟州馬의 發情과 妊娠은 4, 5월과 초여름인 6, 7월까지도 계속되며 다음해 4~5월에 집중적으로 分娩이 이루어지고 있음을 알 수 있다.

비번식 계절에 있어서 妊娠馬와 非妊娠馬의 혈중 progesterone 수준과 다음해 분만 확인에 따른 妊娠診斷 성적은 Table 4와 같다.

조사대상 繁殖馬 52두 중 다음해 分娩이 확인된 濟州馬는 21두였으며 나머지 31두는 비임신마였다. 妊娠馬의 progesterone 수준은 평균 7.45ng/ml인 반면 비임신마는 2.34ng/ml였으나 妊娠馬와 非妊娠馬의 progesterone 수준은 개체에 따라 큰 차이를 나타내고 있었다. 妊娠馬의 경우, 6.2ng/ml 이상은 12두, 3.6~6.1ng/ml은 1두 및 3.5ng/ml 이하가 8두로서 이들 모두가 다음에 分娩하였으나 비

임신마의 경우도 progesterone 수준은 6.2~3.5ng/ml의 범위에 있어 비번식기간의 혈중 progesterone 수준이 점차 감소되는 (Fig. 1 참조)데에도 기인되는 것으로 보여지며 임신 3개월까지 progesterone 수준이 7.5~20.0ng/ml였으나 그후 감소하여 3~3ng/ml로 된다는 Ganini 등(1980)의 보고와는 다소 차이를 보였으나, Sate 등(1975), Seren 등 (1981)이 보고한 임신 3개월에서 10~15ng/ml까지 상승하고 그후 2ng/ml로 減少되었다는 결과는 본 실험에서 임신마의 progesterone 수준을 뒷받침하고 있다. 非妊娠馬의 높은 progesterone 수준은 발정의 발현(30%)과 그밖의 卵巢活動 등에 의한 결과로 추정된다.

언어진 결과를 토대로 濟州馬의 早期妊娠診斷을 위해서는 發情後 20~23일(교배후 2~20일)에 혈중 progesterone 수준을 측정 妊娠을 판정하는 것이 正確度を 높일 수 있는 방법이 될 것으로 보여진다. 아울러 말의 妊娠率 향상을 위한 效率的인 繁殖技

術 개발에 관한 연구가 요구된다.

摘 要

Radioimmunoassay 기법을 이용하여 濟州 在來馬의 早期診斷方法을 규명하기 위해 血中 progesterone을 측정하였다. 총 226두의 妊娠 및 非妊娠馬를 번식계절과 비번식 계절에 걸쳐 조사하였다. 發情開始後 20~23일의 평균 血中 progesterone 수준은 임신마가 $4.67+0.67\text{ng/ml}$, 非妊娠馬는 $0.55+0.04\text{ng/ml}$ 로 有意的($p<0.01$)인 차이를 나타내었다.

妊娠全期間 중의 血中 progesterone 수준은 임신기간이 진행됨에 따라 증가하여 임신 3개월에 최고 (10.3ng/ml)에 달하였으나 그후 점차 감소되어 임신 7개월에는 최저수치 (1.11ng/ml)를 나타내었고 그후 다시 증가하고 있었다.

發情開始後 20~23일의 血中 progesterone 수준을 중심으로 妊娠診斷을 했을 때 4.6ng/ml 이상을 임신으로, 1.3ng/ml 을 非妊娠으로 판정한 경우 正確度는 88%였으며 2.0ng/ml 을 임신으로 하였을 때에는 96%로 正確度는 개선되었다. 繁殖季節에서 제주마 사육농가가 추정한 임신마와 血中 progesterone 수준에 의한 妊娠判정의 正確도는 69.6%에 불과하였다.

비번식계절에 있어서 妊娠馬와 非妊娠馬의 血中 progesterone 수준은 개체에 따라 큰 폭의 변이를 보이고 있으며 妊娠馬는 $3.5\sim 6.2\text{ng/ml}$ 범위인데 반하여 비임신마의 progesterone 수준도 그와 큰 差異를 보이고 있지 않았다.

濟州在來馬의 早期妊娠診斷을 위해 radioimmunoassay 기술은 임신초기(발정개시後 20~23일)의 progesterone 수준을 측정함으로써 응용할 수 있으나 비번식계절의 progesterone 수준은 妊娠診斷의 방법으로 응용하는데에는 正確度가 떨어지는 것으로 보여진다.

參考文獻

Bobylev IF, Garevich VA, Kosikov AI and Gribakina LV. 1986. Progesterone concentration in blood serum of mare. Anim. Breed. Ab-

stra., 52(2):85.

Bush WD, Schuster and Birkelbach E. 1986. Blood progesterone concentration in mares during oestrus and early pregnancy. Anim. Breed. Abstra., 54(19):754.

Elmire RG, Kloppe LH, Varnor DO and Meyers PJ. 1988. Clinical application for progesterone assays in equine practice. Vet. Med., 183(3):297-298.

Gunther JD, Foley CW, Gaverick HA and Plotka ED. 1980. Comparison of milk and blood plasma progesterone concentration in cycling and pregnant mares. J. Anim. Sci., 51(5):1131-1135.

Gunther JD, Foley CW and Plotka ED. 1978. Pattern of milk and blood plasma progesterone concentrations in cycling and pregnant mares. J. Anim. Sci., 46(Suppl):369

Gauvain R, Bono G, Tamanini C and Bariozzar S. 1980. Hormone variation related to the puerperium and subsequent pregnancy in mare. Anim. Breed. Abstra., 48(4):252.

Heap RB, Gwyn M, Laing JA and Waltern DE. 1973. Pregnancy diagnosis in cows: Changes in milk progesterone concentration during the estrus cycle and pregnancy measured by rapid radioimmunoassay. J. Agr. Sci., 81:151.

Holtan DW, Nett TM and Estergeen UL. 1975. Plasma progestagens in pregnant mare. J. Reprod. Fert. Sypl., 23:419-424.

Kolskui A and Buelanski A. 1980. Seasonal fluctuation of the plasma progesterone level in mares with similar ovarian morphology. Anim. Breed. Abstra., 48(10):773.

Lorin D, Mostl E, Choi HS, Schemehlik O and Arbeiter K. 1986. Pregnancy diagnosis in the mare : diagnot : Value and time of application of various direct and indirect methods. Anim. Breed. Abstra., 54(10):832.

Lamming GE and Bulchman DC. 1976. The use of milk progesterone radioimmunoassay in

- the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br. Vet. J.*, 132:507-517
- Nett TM, Plckett BW, Siedel GE and Voss JL. 1976. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrus cycle and early pregnancy in mares. *Biol. Reprod.*, 14(4):412-415.
- Parmer E, Thimonier J and Lemon M. 1974. Early pregnancy diagnosis in the mare by estimation of the level of progesterone in the peripheral blood. *Livestock Prod. Sci.*, 1:197
- Randel RO and Erb RE. 1971. Reproductive steroids in the bovine. VI. Changes and interrelations from 0 to 260 day of pregnancy. *J. Anim. Sci.*, 33(1):115-123.
- Serem E, Tamanini C, Gaia R and Bono G. 1981. Concentration of progesterone 17-hydroxy progesterone in the plasma of mares during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.*, 63(3):443-448.
- Sato K, Minyake M, Yoshikawa T and Kambegawa K. 1975. Alternations of serum progesterone level in pregnant and non-pregnant mares. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 21(3):113-115.
- Stabenfeldt GH, Hughes JP and Evans JW. 1972. Ovarian activity during the estrus cycle of the mare. *Endocrin.*, 90:1379-1384.
- Tomasgard G and Benjaminsen E. 1979. Plasma progesterone in mares exhibiting estrus during early pregnancy. *Anim. Breed. Abstra.*, 45(7):323.
- Terblanche HM and Maree L. 1981. Plasma progesterone levels in mares during the oestrus cycle and pregnancy. *J. S. A. Vet. ASS.*, 52(3):181-185.
- Vries PJ and Holst W. 1983. Value of measuring blood plasma progesterone around 18days after ovulation for pregnancy diagnosis in the mares. *Anim. Breed. Abstra.*, 51(9):667.
- 金重桂, 張德支. 1988. 濟州馬의 繁殖狀況과 繁殖障害原因에 關한 研究. *農試論文集*, 31:373-387.
- 張德支. 1990. 濟州馬에 關한 研究 :VI. 濟州馬의 生成熟過程에 있어서 體型과 血中 Steroid hormone 水準 變化에 關한 研究. *濟專大 論文集*, 11:365-376.