

발정동기화 처리한 홀스타인 처녀소의 수태율 향상을 위한 비타민 ADE 또는 미네랄의 투여 효과

이승진 · 신상태[†]

충남대학교 수의과대학

Effects of Vitamin ADE or Mineral Supplement on Conception Rates of Estrus Synchronized Holstein Heifers

Seung-Jin Lee and Sang Tae Shin[†]

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the effects of vitamin or mineral supplements on the conception rates of dairy heifers when replacing the last injection of GnRH with hCG in ovsynch protocol (experiment 1) and also to investigate whether the estrus synchronization treatment in the heifer stage affects the conception rates after 1st parturition (experiment 2).

In experiment 1, 50 heifers were randomly assigned into 3 groups: 20 heifers each in groups 1 and 2, and 10 in group 3. All three groups were treated with an intramuscular injection of GnRH on day 0 (day 0 = the day of program start), PGF_{2α} on day 7 and hCG on day 9, and were inseminated on day 10, 12~16h after hCG injection. In group 1 (vitamin group), the heifers were treated with an intramuscular injection of 5 ml of vitamin-ADE 500[®], and group 2 (mineral group) was treated twice with an intramuscular injection of 30 ml of mineral supplement-LAPTOVET[®] on a one-week interval beginning on the day of hormone treatment (day 0 and day 7 respectively). Group 3 (control) was treated only with hormones. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography through a rectal probe. First service conception rates (FSCR) and average services per conception (ASPC) were recorded for all subjects. Of the total 50 heifers, 6 (2 in group 1, 3 in group 2, and 1 in group 3) heifers were eliminated due to accidents during experiment 1. FSCRs were 58.8% (10/17), 66.7% (12/18) and 44.4% (4/9) in groups 1, 2 and 3, respectively. ASPCs were 1.53±0.72, 1.27±0.59 and 1.63±0.74 in groups 1, 2 and 3, respectively. Although there were no significant difference between the groups, relatively good results (higher FSCR and lower ASPC) were obtained in both group 1 and 2.

In experiment 2, 11 primiparous cows from group 2 of experiment 1 in heifer stage which had been treated both with the hormones for estrus synchronizing and mineral supplements (ES group), and 12 primiparous cows treated only with minerals (non-ES group) were compared to examine the effects of estrus synchronization program on conception rates after 1st parturition. Following the examination, postpartum ASPCs were 1.55±0.82 and 2.17±1.47 in ES group and non-ES group, respectively. The postpartum average days open (ADO) were 116±56 and 197±93 in ES group and non-ES group, respectively. Although there were no significant difference between the two groups, desirable results (lower ASPC and shorter ADO) were found in ES group after 1st parturition.

In conclusion, experiment 1 indicates that vitamin or mineral supplement with ovsynch protocol may have some positive effect on FSCR and ASPC of dairy heifers, and in experiment 2, ES program in heifer stage had a positive effect on ASPC and ADO following 1st parturition.

(Key words: estrus synchronization, vitamin, mineral, conception rates, dairy heifer)

[†] Correspondence: Sang Tae Shin
Tel: +82-42-821-6782
E-mail address: stshin@cnu.ac.kr

서 론

번식관리는 젖소의 생산성을 결정하는 매우 중요한 요소로서 그 시발점은 발정발견이라 할 수 있다 과거 사육형태가 소규모였을 때에는 발정발견이 비교적 용이하였으나 최근 대규모 사육에 따른 발정발견 실수의 증가로 인해 많은 경제적 손실이 야기되고 있다(Allan et al., 1993; 김 등, 2006). 대형 젖소 목장에서 소의 발정 발견율은 50% 전, 후로 보고되고 있으며(Peralta et al., 2004; Galon, 2010), 분만간격의 지연으로 인한 경제적 손실을 방지하기 위해 prostaglandin(PG), gonadotropin releasing hormone(GnRH), human chorionic gonadotropin(hCG) 또는 estrogen 등의 호르몬을 처리를 하거나, 다른 제제(종합비타민, 미네랄, 이스트컬처 등)의 투여에 의해 분만 간격 단축, 수태율 향상, 분만시기 조절 원하는 시기에 착유량 조절 등의 장기적인 계획을 세울 수 있는 방법이 연구되고 있다(Coyan et al., 2003; 김 등, 2006; Carvalho et al., 2007; Burns et al., 2008).

발정을 최대한 빨리 발견하고 적기에 수정하는 것은 젖소 번식관리의 핵심이다. 하지만 밀사, 환기불량, 축사바닥불량, 혹서기 등과 같은 적절치 못한 사육환경 농장주의 부주의에 의한 발정 미발견, 신체지수(body condition score, BCS) 불량, 발정의 문제를 야기하는 전신적 질병 및 해부학적 요인 등으로 인한 미약발정, 둔성발정 등으로 인해 발정관찰은 실질적으로 어려움이 많다. 따라서 호르몬 투여를 통해 인위적으로 발정을 유도한 후 인공수정하는 방법의 필요성이 야기되었으며 이에 대한 많은 연구가 보고되었다(Coyan et al., 2003; 김 등, 2006; Carvalho et al., 2007; Burns et al., 2008; Fallah Rad and Ajam, 2008).

현재 일반적으로 많이 사용되고 있는 발정 유도는 난포의 성숙이나 황체의 퇴행을 통한 방법으로서 인공수정이나 수정란 이식의 실시 시기 예측을 가능케 하고 발정탐지에 필요한 시간과 비용을 감소시켜주는 장점이 있다(Thatcher et al., 2004). 근래 낙농가에서 주로 사용되는 발정동기화 방법인 Ovsynch protocol은 0일째 GnRH, 7일째 PGF_{2α}, 9일째 GnRH 투여, 그리고 마지막 GnRH 투여 후 12~16시간 후에 인공수정을 실시하는 것이다(Coyan et al., 2003; Thatcher et al., 2004; 김 등, 2006; Burns et al., 2008). Carvalho 등(2007)은 이 protocol을 변형하여 9일째 GnRH 투여 대신에 hCG를 투여하였을 때 수태율이 46.8%(44/94)에서 50.8%(60/118)로 증가되었다고 하였으며, hCG를 투여하는 것이 GnRH 투여에 비해 혈중 P₄농도를 증가시킴으로써 모체의 임신인식 개선을 통해 태아의 발달에 긍정적인 영향을 미친다고 하였다.

발정 유도 후 인공수정 시 수태율을 높이기 위한 방법으로 여러 가지 약품이나 첨가물의 투여가 시도되었다. 비타민 제

제는 수태율과 관련된 주요 첨가물 중의 하나로써(George et al., 1971; Harrison et al., 1984; Allan et al., 1993; Daugherty et al., 2002), George 등(1971)은 비타민 D₃를 매주 경구 투여했을 때 대조군에 비해 분만 후 첫 발정 재귀가 16일, 재임신은 37일 단축되었다고 하였다. 또 다른 중요한 약물 중 하나는 미네랄 제제로써, 미네랄은 신체기능의 넓은 범위에 쓰이며 면역, 대사, 번식기능에 관련된 중요한 효소 체계의 구성요소로서 수태율에도 많은 영향을 미친다(Ward et al., 1971; Ingraham et al., 1987; Olson et al., 1999; Muchlenbein et al., 2001; Daugherty et al., 2002; Vanegas et al., 2004).

본 실험은 착유우 우사와 육성우 우사가 멀리 떨어져 있어 육성우의 발정발견이 어려운 한 농가에서 발정을 유도한 처녀소의 인공수정 시 수태율을 증가시키기 위한 비타민 및 미네랄 제제의 효용성을 알아보기 위해 실시되었다. 실험을 위해 Carvalho 등(2007)의 modified Ovsynch protocol로 발정동기화를 유도한 각각의 우군에 비타민 ADE 또는 미네랄 제제를 비경구적인 방법으로 투여한 후, 초회 수정 수태율과 수태당 평균 수정횟수를 조사하였으며 추가적으로 발정동기화법에 의한 호르몬 처리군과 발정동기화를 실시하지 않은 호르몬 비처리군과의 초산 후 수태당 평균 수정횟수와 평균 공태일수의 비교를 통해 처녀소 시기에 발정동기화를 위한 호르몬 처치가 초산 후 다음 수태에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 1

충남 논산에 위치한 한 목장에서 사육 중인 14~17개월령 홀스타인 처녀소 50두를 대상으로 본 실험을 실시하였다. 이 소들은 free stall barn에서 사육되었으며 total mixed ration(한울타리 육성우[®], 대한민국)을 급여하였다. BCS가 정상 범위 내인 3~4이고 초음파 검진 결과 난소 및 자궁에 이상이 없는 개체만을 선별하였다.

발정동기화를 실시할 목적으로 실험동물 50두를 임의로 3개의 그룹(그룹1-비타민 투여군-20두, 그룹2-미네랄 투여군-20두 및 그룹3-대조군-10두)으로 나누었다. 3개의 그룹 모두 0일째(0일 = 실험시작일) 저녁 6시경 GnRH(고도렐[®], 유니바이오테크, 대한민국, 본제 1 ml당 고나도렐린 50 µg)를 2 ml 근육 주사하였고, 7일째 저녁 6시경 PGF_{2α}(이리렌[®], 이화팜텍, 대한민국, 본제 1ml당 클로프로스테네롤 라세믹 아이소머 92 µg)를 2 ml 근육 주사하였으며 9일째 저녁 6시경 hCG(대성H.C.G.주사[®], 대성미생물연구소, 대한민국, 1 ml당 휴먼 융모성 성선자극호르몬, 1,000 IU)를 5 ml 근육 주사한 후, 10일째 오전 9시에서 11시 사이에 동결정액을 이용하여 발정발현

여부와 상관없이 일괄적으로 인공수정 시켰다 이와 동시에, 그룹 1에는 비타민제(ADE 500[®], Produlab Pharma B.V, 네델란드, 본제 1 ml 당 비타민A 500,000 IU, 비타민D 75,000 IU 및 비타민 E 50 IU 함유)를 5 ml씩 0일째와 7일째에 2회 근육 주사하였으며 그룹 2에는 미네랄제(LAPTOVET[®], Bela Pharm GmbH, 독일, 1 ml 당 글리세로인산 칼슘 20 mg, 글리세로인산 철 50 mg, 글리세로인산 마그네슘 40 mg, 글리세로인산염 10 mg, 글루콘산염 코발트 0.2 mg 및 엽화망간 1.4 mg 함유)를 30 ml씩 0일째와 7일째에 2회 근육주사하였다. 대조군인 그룹 3에는 어떤 약물도 투여하지 않았다 이들 처녀 소 중 6마리(비타민 투여군 3두, 미네랄 투여군 2두 및 대조군 1두)는 실험도중 사고로 인해 도태되었으므로 최종 실험두수는 44두였다. 임신진단은 수정 후 35일~50일 사이에 직장초음파검사로 실시하였으며 각 개체의 초회 수정 수태율, 수태당 평균수정 횟수를 검사하였다.

실험 2

처녀우 시기에서의 발정동기화 처리가 초산 후의 수태율에 영향을 미치는 지를 알아보기 위해 실험1에서 발정동기화 처리 후 임신 및 분만이 확인된 미네랄 투여군중에서 11마리를 ES(estrus synchronized, 이하 ES)군으로, 그리고 동일목장에서 사육중인 소 중 ES군과 비슷한 시기에 동량의 미네랄을 투여하였으나 발정동기화 처리는 하지 않았던 초산우 12마리를 non-ES군으로 선정하였다 이후 ES군과 non-ES군의 수태당 평균 수정횟수와 초산 후의 평균 공태기간을 각각 비교 조사하였다.

통계처리

데이터는 SPSS 프로그램(IBM Statistics Desktop V20.0.1, 미국)을 사용해 분석하였으며 실험 1의 세 그룹간 수태당 평균 수정횟수의 유의성을 확인하기 위하여 일원배치분산분석 방법(One-way ANOVA)을 사용하였고, 실험두수가 적은 관계로 비모수 검정인 Kruskal-Wallis test로 유의성을 판정하였다. 실험 2의 호르몬 처리군과 비처리군 간의 수태당 평균 수정횟수와 공태일수의 유의성을 확인하기 위하여 독립-t-test를 사용하였으며, Mann-Whitney U test로 유의성을 검정하였다.

결 과

실험 1

젖소 미경산 처녀우 50두를 3개의 군(그룹 1-비타민 투여군 20두, 그룹 2-미네랄 투여군 20두 및 그룹 3-대조군 10두)으로 나누어 발정동기화 처리를 하여 인공수정을 시킨 후 초

회 수정 수태율 및 수태당 평균 수정횟수를 조사하였다 실험이 진행되는 도중에 사고로 인하여 총 6두의 소가 도태되었으며, 나머지 44두(그룹 1- 17두, 그룹 2- 18두 및 그룹 3- 9두)로 실험한 결과는 Table 1에서와 같다.

초회 수정 수태율은 미네랄 투여군에서 (66.7%) 가장 높았으며, 비타민 투여군(58.8%)에서도 대조군(44.4%)에서보다 높았다. 또한 수태당 평균 수정횟수에서는 미네랄 투여군에서 1.27±0.59로 가장 적었으며 비타민 투여군(1.53±0.27)이 대조군(1.63±0.74)에 비해 적게 나타나 초회 수정 수태율의 성적과 그 순서가 일치되었다(Table 1). 그러나 초회 수정 수태율 및 수태당 평균 수정횟수의 군 간 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

실험 2

처녀소에 발정을 유도하기 위한 호르몬처리가 초산 후 다음 수태에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 1의 그룹 2에 속했던 11마리의 초산우(ES군)와, 동일한 시기에 미네랄 처리만 동일하게 받았던 초산우(non-ES군) 12마리에서 조사한 초산 후의 수태당 평균 수정횟수 및 평균 공태일수는 Table 2에서와 같다.

즉, 발정동기화 처리한 그룹(ES군)의 초산 후 수태당 평균 수정횟수는 1.55±0.82로써 호르몬 처리를 하지 않은 그룹(non-ES군)의 2.17±1.47보다 적었으며, 초산 후 평균 공태일수에 있어서도 각각 116±56일과 197±93일로써 발정동기화시켰던 그룹에서 적게 나왔다. 비록 통계적인 유의차는 없었으나 이러한 결과를 통해 처녀소 시기의 발정동기화 처리가 초산 후의 번식에 나쁜 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있었다.

고 찰

홀스타인 처녀소에 GnRH-PGF_{2α}-hCG 투여에 의한 발정동기화 처리와 동시에 비타민제 또는 미네랄제를 투여한 각각의 군을 대조군과 비교함으로써 이들이 수태율에 미치는 영향에 관해 조사하였다. 추가적으로 발정동기화에 의한 호르몬 처리군과 호르몬 비처리군의 초산 후 수태 당 수정횟수, 공태일수 등을 조사, 비교함으로써 처녀소에서의 발정동기화를 위한 호르몬처리가 초산 후 다음 수태에 영향을 미치는 지 여부를 검토하였다.

Muehlenbein 등(2001)은 처녀소에서 식이성 미네랄제제의 급여는 첫 발정기간을 감소시키며 수태율을 증가시킨다고 하였으나, Olson 등(1999)은 권장된 양 이상의 급여는 번식행동의 감소를 초래한다고 하였다. 식이성 미네랄제제 급여의 가장 큰 단점 중의 하나는 다른 영양소와의 상호작용 때문에 적절히 흡수되지 못한다는 것이므로 비경구적인 투여를 통해

이를 극복할 수 있다. 비경구적 투여의 대표적인 예가 분만 전 젖소에 vitamin E와 셀레늄 제제를 주사하는 것으로 투여에 따른 반응은 수태율 및 임신율의 증가 공태 기간 감소, 난소낭종과 태반정체 발생을 감소 등이다(Harrison et al., 1984; Graham, 1991). 그러나 Daugherty 등(2002)은 미네랄 주사제를 교잡품종우의 한 그룹에 투여했을 때 공태 기간과 수태율에서 큰 차이를 보이지 않았다고 하였다 Ingraham 등(1987)과 Allan 등(1993)은 체내 미네랄 부족군에서는 미네랄 제제의 투여 시, 번식행동 개선, 수태율 증가, 첫 발정까지의 일수 감소, 공태일수 감소 등이 나타났다고 보고하였으나 Vanegas 등(2004)은 체내 미네랄이 충분한 군에서는 미네랄의 1회 투여 시 초회 수정 임신에는 큰 영향이 없었으며 2회 투여 시 오히려 첫 수정에서 낮은 수태율을 보이는 것으로 나타났다고 하였다.

본 실험의 결과는 비타민 ADE 투여 또는 미네랄의 투여로 인해 수태율의 증가와 공태기간의 감소 등의 효과가 확인되어 이들 투여로 인한 긍정적 효과를 나타내었다는 상기의 여

러 보고들(Harrison et al., 1984; Ingraham et al., 1987; Graham et al., 1991; Allan et al., 1993; Olson et al., 1999; Muchlenbein et al., 2001)과 일치된 경향을 보였으나 실험에 앞서 대상동물들의 체내 미네랄이나 비타민의 농도를 미리 확인하지 못했으므로 이러한 결과가 이들의 투여로 인한 직접적인 효과라고 단정 지을 수는 없었다. 또한, 비록 특정 목장의 우군에서만 실험이 진행되었으므로 사육환경 영양상태 등은 비슷한 조건에서 진행되었다고 말할 수 있으나 계절적인 영향, 개체별 BCS차이, 사육환경, 영양상태가 다른 축군과의 객관적인 비교를 위해서는 보다 다양한 축군에서의 연구도 추가적으로 필요하다고 생각된다

결론

실험 1에서는 변형된 발정동기화 방법인 GnRH-PGF_{2α}-hCG 처리 후 비타민 ADE 또는 미네랄 제제의 투여가 수태에 미치

Table 1. Effects of vitamin ADE or mineral supplement with ovsynch(OVS) protocol on first service conception rates and services per conception of dairy heifers.

	Group 1 ^a (vitamin)	Group 2 ^b (mineral)	Group 3 ^c (control)
First service conception rates* (No. of pregnant/No. of heifers**)	58.8% (10/17)	66.7% (12/18)	44.4% (4/9)
Services per conception* (Average±standard deviation)	1.53±0.27	1.27±0.59	1.63±0.74

a. Estrus synchronized with modified OVS protocol and supplemented with vitamin ADE (5 ml of ADE 500[®]) twice with one-week interval on day 0 and day 7. Day 0; the day of program start.

b. Estrus synchronized with modified OVS protocol and supplemented with mineral (30 ml of LAPTOVET[®]) twice with one-week interval on day 0 and day 7.

c. Estrus synchronized with modified OVS protocol without supplementation.

* No significant difference within a row.

** Of the total of 50 heifers, 6 (2 in group 1, 3 in group 2 and 1 in group 3) heifers were eliminated due to accidents during the experiment.

Table 2. Effects of the estrus synchronization (ES) program on artificial insemination services per conception and days open after first parturition in dairy cows.

	ES group (No. of cows)	non-ES group (No. of cows)
Postpartum average services per conception* (Average±standard deviation)	1.55±0.82 (11)	2.17±1.47 (12)
Postpartum days open* (Average±standard deviation)	116±56 (11)	197±93 (12)

* No significant difference within a row.

는 영향에 대해 조사하였다 충남 논산에 소재하는 한 목장에서 사육하는 젖소 미경산우 50두(최종 44두)에 발정동기화를 목적으로 GnRH를 투여한 후 7일 후에 PGF_{2α}를 투여하고, 2일 후에 hCG를 투여하였으며, 발정유무에 관계없이 hCG 투여한 다음 날 일괄적으로 인공수정을 실시하였다 실험동물을 3그룹으로 나누어 그룹 1에는 비타민 ADE를, 그룹 2에는 미네랄제제를 발정동기화 처리 시점에서 일주일간격으로 2회 투여하였으며, 그룹 3은 대조군으로서 아무런 처치를 하지 않았다. 초회 수정 수태율은 그룹 1에서 58.8%, 그룹 2에서 66.7%, 그룹 3에서 44.4%로 나타났으며, 수태당 평균수정횟수는 그룹별로 각각 1.53±0.72, 1.27±0.59, 1.63±0.74으로 나타났다. 이러한 결과는 비록 통계적인 유의차는 나타나지 않았으나, 미네랄이나 비타민 제제의 투여가 처녀소의 수태율 증진에 도움이 될 것으로 추정된다

실험 2에서는 처녀소에서 호르몬 투여를 통한 발정동기화 처치가 초산 후의 수태율에 어떤 영향이 있는지를 조사하였다 발정동기화 처리군은 비처리군에 비해 초산 후 수태당 평균 수정횟수가 상대적으로 적었으며(1.55±0.82 대 2.17±1.47), 평균 공태 기간도 각각 116±56일, 197±93일로 발정동기화 처리군이 비처리군에 비해 짧았으므로 처녀소에서 발정동기화 처리가 분만 후의 수태율에 부정적인 영향을 미치지 않았다

사 사

이 연구는 충남대학교 학술연구비에 의해 지원되었음

REFERENCES

- Allan CL, Hemingway RG and Parkins JJ. 1993. Improved reproductive performance in cattle dosed with trace element/vitamin boluses. *Vet. Rec.* 132:463-464.
- Burns MG, Buttrey BS, Dobbins CA, Martel CA, Olson KC, Lamb GC and Stevenson JS. 2008. Evaluation of human chorionic gonadotropin as a replacement for gonadotropin-releasing hormone in ovulation-synchronization protocols before fixed timed artificial insemination in beef cattle. *J. Ani. Sci.* 86:2539-2548.
- Carvalho NAT, Nichi M, Henriquez CEP, Oliveira CA and Baruselli PS. 2007. Use of human chorionic gonadotropin (hCG) for fixed-time artificial insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod.* 4:98-102.
- Coyan K, Ataman MB, Erdem H, Kaya A and Kasikci G. 2003. Synchronization of estrus in cows using double PGF_{2α}, GnRH-PGF_{2α} and hCG-PGF_{2α} combination. *Revue Med. Vet.* 154:91-96.
- Daugherty SR, Carstens GE, Herd DB, Barling KS and Randel RD. 2004. Effects of prenatal and prebreeding trace mineral/vitamin E injections on calf health and reproductive performance of beef cows. *Beef Cattle Research in Texas A&M University* 15:39-43.
- Fallah Rad AH and Ajam G. 2008. Application of ovsynch-CIDR vs 2 consecutive injections of PGF_{2α}, 14 days apart in dairy holstein cows and comparison of reproductive parameters, plasma and milk E2 and P4 concentrations. *J. Anim. Vet. Adv.* 7:312-315.
- Galon N. 2010. The use of pedometry for estrus detection in dairy cows in Israel. *J. Reprod. Dev.* 56(Suppl):S48-52. Review.
- George W, Marion GB, Campbell CW and Dunham JR. 1971. Influences of calcium intake and vitamin D supplementation on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 51:204-206.
- Graham TW. Trace element deficiencies in cattle. 1991. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 7:153-215.
- Harrison JH, Hancock DD and Conrad HR. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67:123-132.
- Ingraham RH, Kappel LC, Morgan EB and Srikandakumar A. 1987. Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *J. Dairy Sci.* 70:167-180.
- Muehlenbein EL, Brink DR, Deutscher GH, Carlson MP and Johnson AB. 2001. Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. *J. Anim. Sci.* 79:1650-1659.
- Olson PA, Brink DR, Hickok DT, Carlson MP, Schneider NR, Deutscher GH, Adams DC, Colburn DJ and Johnson A. 1999. Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. *J. Anim. Sci.* 77:522-532.
- Peralta OA, Pearson RE and Nebel RL. 2004. Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. *Anim. Reprod. Sci.* 87:59-72.
- Thatcher WW. Management strategies to maximize pregnancy rates in dairy cattle. 2004. *Proceedings 2004 Florida Dairy Reproduction Road Show* 10-21.

- Vanegas JA, Reynolds J and Atwill ER. 2004. Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3665-3671.
- Ward G, Marion GB, Campbell CW and Dunham JR. 1971. Influences of calcium intake and vitamin D supplementation on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 51:204-206.
- 김일화, 김의형, 서국현, 강현구. 2006. PGF_{2α} 투여에 의한 젖소의 발정동기화 처리시 발정발현 및 수태에 영향을 미치는 요인. *J. Vet. Clin.* 23:453-457.

Received August 19 2016, Revised September 01, 2016,
Accepted September 14, 2016