

혈중 Progesterone 수준 측정에 의한 제주마의 조기 임신진단에 관한 연구

김중계 · 정창조 · 장덕지*

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

Jung-Kye Kim, Chang-Cho Choung, and Deuk-Jee Chang

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 difference ($p < 0.01$) 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 (1.11 ng/ml) at 7 months and gradually increased again as foaling approached (5.9 ng/ml).

Early pregnant diagnosis 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 pregnant diagnosis was improved to 96% when a progesterone level of above 2 ng/ml was used to classify mares as pregnancy.

Pregnant diagnosis was 69.6% accurate when mares were classified as pregnancy

* 제주전문대학 교수

(본 연구는 제주대학교 부설 방사능이용연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었다)

by horse owners during breeding season.

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

Radioimmunoassay techniques can be applied for 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.

서 론

제주 재래마는 근간에 이르러 경마 및 승마의 이용 등에 따라 말의 수요는 급격히 증가되는 한편 1990년 6월말 현재 도내에서 사육되고 있는 마필수는 2000여두에 불과하여 제주마의 증식을 위한 번식효율의 향상은 무엇보다 중요한 과제로 대두되고 있다. 그러나 제주마의 번식성적은 극히 저조하여 평균 60.9% (김 과 장, 1988)에 이르고 있으며 재래마 가격의 저하에 따라 번식율은 더욱 저하되고 있는 실정에 놓여 있다.

Radioimmunoassay는 가축번식생리의 연구를 위한 수단으로 광범위하게 이용되어 각종 내분비 hormone의 측정을 위해 이용되고 있으며 가축의 경우 혈장과 유즙의 progesterone 수준을 측정하여 임신 조기진단, 황체의 기능, 수정적기의 판단 등에 활용되고 있으며 난소질환에 의한 번식장애 가축의 발견 수단으로 응용되고 있다(Stabelfeldt 등, 1972; Heap 등, 1973; Lammin g과 Bulman, 1976).

말의 hormone 측정에서 Gunther 등(1978)은 progesterone 농도는 유즙과 혈장 사이에 차이가 없었으며 progesterone 수준 측정으로 조기 임신진단과 이상발정의 감별을 보고한 바 있다. 또한 Gunther 등(1980)은 정확한 조기임신진단을 위해 혈장 progesterone의 측정시기는 발정 종료 18-19일이 가장 적절하다고 보고하였다. progesterone 수준에 따른 조기임신감정에서 Vries와 Holst (19836)는 배란 후 18일에 혈장 progesterone농도가 2ng/ml 이상의 것을 임신으로 판정했을 때 정확도는 임신이 78%, 비임신이 100%였다고 한 반면, Busch 등에 대한 정확도는 68%라고 보고한 바 있다.

제주마에 대한 성성숙과 번식성적조사에서 장(1990)은 혈장내 progesterone 수준을 측정하였으며, RIA(Radioimmunoassay)에 의한 조기 임신감정에 대한 가능성을 제시한 바 있으나 제주마의 번식율 향상을 위한 조기임신진단을 위한 RIA는 이제까지 시도된 바 없다.

본 연구는 제주마의 발정기 및 임신기간

의 progesterone 수준을 규명하고 이를 이용한 조기임신진단 기준을 정립시켜 제주마의 번식을 향상을 위한 기초자료를 제공시키고자 수행하였다.

재료 및 방법

1) 공시마

제주도내에서 사육중인 경산 및 미경산 재래마 226두를 대상으로 조사하였다. 발정기간중의 progesterone 수준을 조사하기 위하여 12두를 공시하였으며, 조기임신진단을 위해 50두의 자연교배 완료마를 이용 발정 후 21-23일에 혈장 progesterone 수준을 측정하였다. 아울러 농가에서 사육중인 번식마의 임신진단을 위해 158두를 대상으로 조사하였으며 임신 여부는 측주를 통해 확인하였다.

2) 채혈

발정주기중의 hormone의 변화를 조사하기 위해 발정후 0-2, 5-7, 10-12, 15-17과 20-23일에 동일마로부터 혈액을 채혈하였고 조기임신감별을 위해 50두의 말을 이용 발정 후 20-23일간에 각각 1회씩 채혈하였다. 농가에서 사육중인 번식마의 임신감정을 위해 158두에 대해 번식계절과 비번식계절에 각각 1회씩 채혈, progesterone 측정에 이용하였다. 혈액은 경정맥으로부터 채혈하였으며 EDTA vial에 보존, 3000 r. p. m. 에서 10분간 원심분리 후 혈장은 hormone 측정시까지 -20°C 에서 보존하였다.

3) 혈장 progesterone 측정

Progesterone은 TIA kit (Coat-A-coat Progesterone kit, American Diagnosis)를 이용하여 측정하였다. 0, 0.1, 0.5, 2.0, 10, 20 그리고 40ng/ml 의 progesterone이 들어 있는 standard solution과 실온에서 자연응해한 혈장을 anti-progesterone coated tube에 각각 $100\mu\text{l}$ 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 방사능을 측정하였다.

결과 및 고찰

발정주기 기간 중 임신마와 비임신마의 혈장 progesterone 수준은 Table 1과 같다.

발정기(0-2일)의 progesterone 수준은 임신 및 비임신마 모두에서 1ng/ml 이하였으나 황체성장기(5-7일)에는 각각 2.74ng/ml , 2.55ng/ml 로 증가하였으며 황체성장 및 유지기까지 임신 및 비임신마 모두 증가하고 있었다. 그러나 15-17일에 이르러 progesterone 수준은 임신 및 비임신마에서 모두 감소되었으며 황체 퇴행기인 20-23일에는 임신마 4.67ng/ml 인데 비해 비임신마는 0.55ng/ml 로서 임신마와 비임신마의 progesterone 수준은 유의적인 ($p < 0.01$) 차이를 나타내었다. 이와 같은 결과는 발정기의 progesterone 수준을 발정기 3.7ng/ml , 휴지기 10.

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

7ng/ml이라고 보고한 Bodylev 등(1986)의 결과와는 차이를 나타내었으나, Nett(1976)의 발정기 1ng/ml, 발정휴지기에는 4-10ng/ml로 증가한 후 20일에는 급격히 감소하였다는 결과와는 유사한 경향을 나타내고 있었다. 임신마의 경우 Terblance와 Maree(1981)는 progesterone 수준이 배란 후 21일

에 5-9ng/ml이라고 보고하였으며, Sato 등(1975)은 배란후 21-25일에 4.8-5.9ng/ml로서 발정 휴지기에 비해 수준이 낮았다고 보고하여 본 실험결과와 유사하였다.

혈장 progesterone 수준과 직장검사를 통한 임신여부에 대한 결과는 Table 2에 제시하였다.

Table 2. Plasma progesterone concentration in pregnant and non-pregnant mares 20-23 days which diagnosed by rectal palpation on 35-40 days after onset of oestrus.

Results of rectal palpation	No. of mares	Ranges of progesterone concentration for pregnancy test (ng/ml)		
		1.3	1.4-4.5	4.6
		N. P	Doubtfull	P
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

발정주기중 황체퇴행기 (발정후 20-23일)에 있는 제주마 50두를 임의로 선정, 혈중 progesterone을 측정하고 발정후 35-40일에 직장점사를 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/ml 이하였다. 따라서 신뢰한계에 의한 임신판정의 정확도는 50두중 44두의 임신여부가 확정되어 progesterone 수준에 의한 조기임신판정의 정확도는 88%로 추정되었다.

Progesterone 수준에 의한 임신진단의 정확도에 대하여 Tomasquard와 Benjia minsen (1977)은 개량마의 경우 종부 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 임신마로 판정하였을 때 정확도는 99%라고한 보고와 본 실험결과는 유사한 경향을 나타내고 있었다. 따라서 progesterone 수준을 2ng/ml 이상을 임신으로 판정할 경우 정확도는 96%가 되며 제주마의 조기 임신판정을 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.

임신마의 혈중 progesterone 수준은 임신중의 유우의 progesterone 수준과 차이를

나타내고 있으며(Fig. 1. 참조), 제주마의 경우 임신초기에 7.79-10.31ng/ml였으나 임신기간이 경과되면서 5개월부터는 progesterone 수준이 점차 낮아지고 임신 7개월령에 이르러서는 1.11ng/ml로 최저치를 나타내고 있었다. 그러나 임신말기인 11개월에 5.09ng/ml로 다소 증가되는 경향을 나타내었다. Holtan 등(1975)은 개량마에서 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 임신전기간에 걸쳐 progesterone 수준은 큰 변화없이 유지되었으며 혈중 progesterone 농도 역시 말에 비해 높게 나타나 있었다. 이와 같은 결과는 젖소의 임신기간중 progesterone 수준을 11.2-16.4ng/ml로 보고한 Randel과 Erb (1971)의 보고와 유사하였으나 제주마의 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 임신판정은 직장점사, 분뇨 중의 estrogen 수준을 측정 보완하고 있다(Lorin 등, 1986).

제주마 사육농가를 대상으로 조사된 임신마와 비임신마의 혈중 progesterone 수준과 임신감정의 결과는 Table 3에 소개하였다.

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)					
		< 1.3		1.4-4.5		> 4.6	
		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

총 106두의 농가 사육 번식마 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 분포를 나타내었다. 5세 이상의 번식마 중 임신으로 간주되고 있는 빈마 5두의 progesterone 수준은 1.4ng/ml 이상이 4두, 1.3ng/ml 이하가 1두로서 progesterone 수준 1.4ng/ml 이상을 임신으로 판정한다면(Table 1. 참조) 농가에서 추정된 임신마 23두 중 16두만이 임신으로 판정될 수 있어 정확도는 69.6%로 비교적 낮은 수치였다.

비임신 추정마의 혈중 progesterone 수준을 기초로 볼 때 1.3ng/ml 이하인 번식마는

52두(49.1%)였으며 대부분 황체 퇴행기로 추정되며 1.4ng/ml의 번식마 38두(35.8%)는 번식계절에 황체성장기 내지는 유지기에 있었던 말들로서 난소활동이 활발해진 결과로 생각된다. 김 과 장(1988)이 제주마의 몸철 발정율이 45.2%라고한 보고와 본 실험에서의 혈중 progesterone 수준과를 비교해 보면 제주마의 발정과 임신은 4.5월과 초여름인 6.7월까지도 계속되며 다음해 4-5월에 집중적으로 분만이 이루어지고 있음을 알 수 있다.

비번식계절에 있어서 임신마와 비임신마의 혈중 progesterone 수준과 다음해 분만확인에 따른 임신진단 성적은 Table 4와 같다.

조사대상 번식마 52두 중 다음해 분만이 확인된 제주마는 21두였으며 나머지 31두는 비임신마였다. 임신마의 progesterone 수준은 평균 7.45ng/ml인 반면 비임신마는 2.35ng/ml였으나 임신마와 비임신마의 progesterone

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

P < 0.05

terone 수준은 개체에 따라 큰 차이를 나타내고 있었다. 임신마의 경우 6.2ng/ml 이상은 12두, 3.6-6.1ng/ml은 1두 및 3.5ng/ml 이하가 8두로서 이들 모두가 다음에 분만하였으나 비임신마의 경우도 progesterone 수준은 6.2-3.5ng/ml의 범위에 있어 비번식기간의 혈중 progesterone 수준 측정으로 임신판정의 정확도는 63.4%에 불과하였다. 이와 같은 현상은 임신중기부터 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 Sale 등(1975), Seren 등(1981)이 보고한 임신 3개월에서 10-15ng/ml까지 상승하고 그후 2ng/ml로 감소되었다는 결과는 본 실험에서 임신마의 progesterone 수준을 뒷받침하고 있다. 비임신마의 높은 progesterone 수준은 발정의 발현(30%)과 그밖의 난소활동 등에 의한 결과로 추정된다.

얻어진 결과를 토대로 제주마의 조기임신 진단을 위해서는 발정후 20-23일(교배후 2-20일)에 혈중 progesterone 수준을 측정 임신을 판정하는 것이 정확도를 높일 수 있는 방법이 될 것으로 보여진다. 아울러 말의 임신을 향상을 위한 효율적인 번식기술 개발에 관한 연구가 요구된다.

적 요

Radioimmunoassy 기법을 이용하여 제주재래마의 조기진단방법을 규명하기 위해 혈중 progesterone을 측정하였다. 총 226두의 임신 및 비임신마를 번식계절과 비번식 계절에 걸쳐 조사하였다. 발정개시후 20-23일의 평균 혈중 progesterone 수준은 임신마가 4.67+0.67ng/ml, 비임신마는 0.55+0.04ng/ml로 유의적인(p < 0.01) 차이를 나타내었다.

임신전기간 중의 혈중 progesterone 수준은 임신기간이 진행됨에 따라 증가하여 임

신 3개월에 최고(10.3ng/ml)에 달하였으나 그후 점차 감소되어 임신 7개월에는 최저 수치 (1.11ng/ml)를 나타내었고 그후 다시 증가하고 있었다.

발정개시후 20-23일의 혈중 progesterone 수준을 중심으로 임신진단을 했을 때 4.6ng/ml 이상을 임신으로, 1.3ng/ml을 비임신으로 판정한 경우 정확도는 88%였으며 2.0ng/ml을 임신으로 하였을 때에는 96%로 정확도는 개선되었다. 번식계절에서 제주마 사육농가가 추정한 임신마와 혈중 progesterone 수준에 의한 임신판정의 정확도는 69.6%에 불과하였다.

비번식계절에 있어서 임신마와 비임신마의 혈중 progesterone 수준은 개체에 따라 큰 폭의 변이를 보이고 있으며 임신마는 3.5-6.2ng/ml 범위인데 반하여 비임신마의 progesterone 수준도 그와 큰 차이를 보이고 있지 않았다.

제주재래마의 조기임신진단을 위해 radioimmunoassay 기술은 임신초기(발정개시후 20-23일)의 progesterone 수준을 측정함으로써 응용할 수 있으나 비번식계절의 progesterone 수준은 임신진단의 방법으로 응용하는데에는 정확도가 떨어지는 것으로 보여진다.

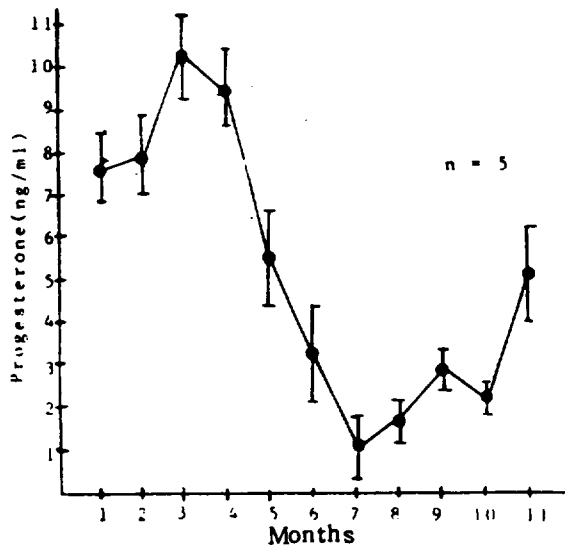


Fig. 1. Concentration of mean plasma progesterone in 5 pregnant mares from pregnancy to 11 months.

참고문헌

- Bobylev. I.F., V.A. Garevich, A.I. Kosikov and L.V. Gribakina. 1986. Progesterone concentration in blood serum of mare. Anim. Breed. Abstra., 52(2) : 85.
- Bush, W., D. Schuster and E. Birkelbach. 1986. Blood progesterone concentration in mares during oestrus and early pregnancy. Anim. Breed. Abstra., 54(19) : 754.
- Elmere, R.G., L.H. Kloppe, D.O. Varnor and P.J. Meyers. 1988. Clinical application for progesterone assays in equine practice. Vet. Med., 183(3) : 297-298.
- Gunther, J.D., C.W. Foley, H.A. Gaverick and E.D. Plotka. 1980. Comparison of milk and blood plasma progesterone concentration in cycling and pregnant mares. J. Anim. Sci., 51(5) : 1131-1135.
- Gunther, J.D., C.W. Foley, E.D. Plotka. 1978. Pattern of milk and blood plasma progesterone concentrations in cycling and pregnant mares. J. Anim. Sci., 46(Suppl) : 369.
- Gauain, R., G. Bono, C. Tamanini and S. Barlozzar. 1980. Hormone variation related to the puerperium and subsequent pregnancy in mare. Anim. Breed. Abstra., 48(4) : 252.
- Heap, R.B., M. Gwyn, J.A. Laing and D.E. Waltern. 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, D.W., T.M. Nett and U.L. Estergeen. 1975. Plasma progestagens in pregnant mare. J. Reprod. Fert., Sypl. 23 : 419-424.
- 張德支. 1990. 濟州馬에 관한 연구 VI. 濟州馬의 性成熟過程에 있어서 體型和 血中 Steroid hormone 水準 變化에 관한 연구. 濟專大論文集. 11 : 365-376.
- 金重桂·張德支. 1988. 濟州馬의 繁殖狀況과 繁殖障害原因에 관한 연구. 農試論文集. 31 : 373-387.
- Kolskui, A. and A. Buelanski. 1980. Seasonal fluctuation of the plasma progesterone level in mares with similar ovarian morphology. Anim. Breed. Abstra., 48(10) : 773.
- Lorin. D., E. Mostl., H.S. Choi, O. Schemehlik and K. Arbeiter. 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, G. E. and D.C. Bulchman. 1976. The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br. Vet. J.*, 132: 507-517.
- Nett. T.M., B.W. Pickett, G.E. Siedel and J.L. Voss. 1976. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrus cycle and early pregnancy in mares. *Biol. Reprod.*, 14(4): 412-415.
- Parmer, E., J. Thimonier and M. Lemon. 1974. Early pregnancy diagnosis in the mare by estimation of the level of progesterone in the peripjheral blood, *Livestodk prod. Sci.*, 1: 197.
- Randel, R.O. and R.E. Erb. 1971. Reproductive steroids in the bovine. VI. Changes and interrelations from 0 to 260 day of pregnancy. *J. Anim. Sci.*, 33(1): 115-123.
- Seren, E., C. Tamanini, R. Gaiain and G. Bono. 1981. Concentration of progesterone 17 α -hydroxy progesterone in the plasma of mares during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.*, 63(3): 443-448.
- Sato, K., M. Minyake, T. Yoshikawa and K. Kambegawa. 1975. Alternations of serum progesterone level in pregnant and non-pregnant mares. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 21(3): 113-115.
- Stabenfeldt, G.H., J.P. Hughes and J.W. Evans. 1972. Ovarian activity during the estrus cycle of the mare. *Endocrin.*, 90: 1379-1384.
- Tomasqard, G. and E. Benjaminsen. 1979. Plasma progesterone in mares exhibiting estrus during early pregnancy. *Anim. Breed. Abstra.*, 45(7): 323.
- Terblanche, H.M. and L. Maree. 1981. Plasma progesterone levels in mares during the oestrus cycle and pregnancy. *J. S. A. vet. Ass.*, 52(3): 181-185.
- Vries, P.J. and W. Holst. 1983. Value of measurig blood plasma progesterone around 18days after ovulation for pregnancy diagnosis in the mares. *Anim. Breed. Abstra.*, 51(9): 667.