

한우에 있어서 혈청 Progesterone 농도 측정에 의한 조기임신진단

백광수 · 성환후 · 오성종 · 양보석 · 이명식 · 정진관

축산기술연구소

Pregnancy Diagnosis of Hanwoo(Korean Native Cattle) by Serum Progesterone Concentration during Early Gestation

Baek, K. S., H. H. Seong, S. J. Oh, B. S. Yang, M. S. Lee and J. K. Jung

National Animal Research Institute

SUMMARY

Serum progesterone concentrations of pregnant and non-pregnant Hanwoo were compared to evaluate the possibility of early pregnancy prediction. Twenty five female Hanwoo were divided into two groups. Eighteen heads were injected with 980 μ g tiaprost trometamol salt (Iliren[®]:PGF_{2 α} analogue) for estrous synchronization and fifteen heads of them were inseminated artificially and seven heads were non-treated. Blood samples were collected from the jugular vein before PGF_{2 α} injection and on day 0, 18, 21 after estrous induction. Pregnancy of cattle was confirmed by rectal palpation after 60 days of artificial insemination. The serum progesterone concentrations at heat showed no significant differences between pregnant and non-pregnant while on day 18 and 21 after estrous induction showed significant differences($p < 0.05$).

The accuracy of pregnancy diagnosis on day 18 and 21 after estrous induction was 85.7 and 71.4% respectively while that of non-pregnancy were 71.4 and 100.0% respectively.

I. 서 론

최근 한우 사육규모의 증대와 함께 번식우의 다두사육농가도 증가되고 있다. 다두사육화에 따라 합리적인 번식우 관리를 목적으로 발정동기화에 대한 관심이 높아지고 있으며 일부 다두사육농장에서는 발정동기화로 생력화 및 사양관리 합리화를 도모하고 있다. 발정동기화는 PGF_{2 α} 제제가 자주 이용되고 있는데 발정주기 9일에서 13일 사이에 주사하여 발정을 유기시키거나 (Dobson 등, 1975) 발정주기를 모르는 개체의 경우는 11일간격으로 2회 투여하는 방법이 많이 이용되며 (Burfening 등, 1978) 최근에는 PRID와 병행하여 발정유기를 손쉽게 조절하는 방법이 이용되고 있다 (Tjondronegoro 등, 1987). 한편 progesterone은

임신우나 비임신우에 있어 번식기능을 평가하는데 이용되는 중요한 번식호르몬으로서 조기임신진단, 번식장애우의 원인 규명, 난소기능 상태의 확인 등에 널리 응용되고 있다 (Wishart 등, 1975; Meiseteling과 Dailey, 1987). 특히 progesterone 농도측정에 의한 조기임신진단은 분석시에 다소 번거로움은 있으나 높은 적중율이 확인되어 소의 임신여부를 조기에 진단하는 방법으로써 널리 이용되고 있다 (Holdsworth 등, 1980; Perere1 등, 1986). 그러나 그 적중률에 있어서는 연구자간에 많은 이견이 있으며 분석방법에 따라서도 많은 차이를 보이고 있는 실정이다 (Robertson과 Sarda, 1971; Seguin 등, 1973; Singh과 Puthiyandy, 1980; Tadashi 등, 1986). 따라서 본 연구는 PGF_{2 α} 처리에 의해 발정동기화된 한우에 인공수정을 실시한 후 18일째와 21일째의 혈액을 이용하여 혈청

progesterone 농도를 측정함으로써 조기 임신진단에 대한 적용 및 그 실용가능성을 검토하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 발정동기화 유기 및 공시축 선정

축산기술연구소(수원)에서 사육 중인 한우 성빈우에 대해 직장검사를 실시하여 황체에 있는 소 18두에 발정을 유도하기 위해 980 μ g tiaprost trometamol salt (Iliren[®], Hoechst Veteriner, GmbH Germany)를 5ml씩 근육주사하였고, 투여 후 42~72시간 진후에 발정이 발현된 15두에 대해 인공수정을 실시하였다. 임신된 12두중 7두를 실험구로 하였고, 발정동기화 및 인공수정을 시키지 않고 정상 발정주기가 반복되는 7두를 대조구로 하여 총 14두를 공시하였다.

2. 혈청채취 및 보관

시험구의 채혈을 PGH_{2 α} 처리직전, 인공수정시, 인공수정 후 18일째 및 21일째에 진공 채혈관을 사용하여 경정맥에서 10ml를 채혈하였고, 채취된 혈액은 실온에서 3시간 이상 정치한 후 2,500rpm에서 15분간 원심분리하였으며 상층액인 혈청을 분리하여 호르몬 분석에 사용할 때까지 -20 $^{\circ}$ C에서 냉동보관하였다. 대조구의 채혈은 자연발정일, 발정 후 18일째 및 21일째 시험구와 동일한 시간에 실시하였고 처리 및 보관 방법은 시험구에 준하여 실시하였다.

3. 임신진단

시험구는 인공수정 후 60~70일째에 숙련된 인공수정사를 통해 직장검사를 하여 임신여부를 확인하였다.

4. 혈청 progesterone 농도의 측정

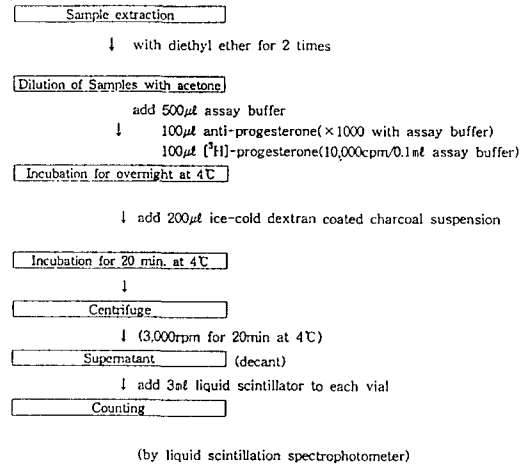


Fig. 1. Radio-Immuno Assay (RIA) Procedure.

Progesterone 농도분석은 Takahashi 등(1978)의 방법을 수정한 방사선동위원소 면역측정법 (Radioimmunoassay:RIA)을 이용하였다. 사용된 Anti-Rabbit-Progesterone은 동경대학 수의생리학교실에서 제공받았으며 ³H-Progesterone (Amersham Life Science, USA)은 구입하여 사용하였다. standard로서 50pg부터 3,200pg까지 이용하여 분석하였다. 구체적인 분석방법은 Fig. 1과 같다.

5. 통계분석

본 실험의 결과는 SAS통계 package를 이용하여 분석하였으며 유의성 검정은 Student-t test를 이용하여 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. PGF_{2 α} 처리에 의한 발정동기화 효과

Table 1. Effects estrous synchronization on pregnancy rate in Hanwoo

	Synchronization			
	Treated	Responded	Insemination	Pregnancy
Heads	18	15	15	12
%		83.3	100.0	66.7 ^a 80.0 ^b

a: C/A b: C/B

발정동기화 성적은 Table 1에서 보는 바와 같이 발정동기화 처리된 18두 중 15두(83.3%)가 발정이 발현되었고 이 중 12두가 수태되어 전체 처리두수의 66.7%, 인공수정실시두수의 80.0% 수태율을 나타내었다. 10~13일 간격으로 2회 투여하면 1차 투여에서 약 61~63%가 반응을 보이고 무반응인 나머지 공시축도 11~12일 동안에는 자연스럽게 황체에 들어가게 되므로 2차 투여에서는 거의 반응을 보이게 되는데 (Hafs와 Manns, 1975) 본 시험에서는 직장감사를 통해 황체를 확인하고 투여를 하였기 때문에 높은 반응을 보인 것으로 사료된다. Roche(1974)는 PGF_{2α} 처리에 따른 발정발현율이 72.7~90.9%였고 전체처리두수의 수태율이 54.6~63.6%였으며 인공수정실시두수의 수태율이 70.0~75.9%였다고하여 본 연구결과와 유사한 경향치를 나타내었다.

2. 발정동기화 유기전 혈청 progesterone농도가 임신에 미치는 영향

발정동기화를 유기하여 인공수정을 실시한 12두 중 임신이 된 7두와 임신이 안된 3두에 대하여 PGF_{2α} 처리전 혈청 progesterone 농도를 측정하였던 바, 그 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 처리 후 인공수정을 실시하여 임신으로 확인된 개체의 경우 평균 4.64±1.31ng/ml였고, 비임신으로 확인된 개체의 경우 평균 2.37±0.64ng/ml로써 임신된 개체와 비임신된 개체간에 유의적인 차이 (P<0.05)를 나타내었으나 인공수정시킬 시점에서는 공히 1.77ng/ml로써 임신된 개체와 비임신된 개체간에 유의적인 차이가 없었다. 이와 같이 정상적인 발정정후의 발현과 배란을 위해서는 estradiol은 물론 발정을 전후하여 progesterone이 일정수준까지 증가할 필요가 있고(Hansel과 Snook, 1970; Robertson, 1969) 배란 전의 progesterone 농도는 그 자체만으로도 수태율에 영향을 미칠 수 있게 된다 (Larson과 Ball, 1992). Folman 등 (1990)은 발정이 유기된 개체에 대하여 인공수정을 실시하였던 바 임신된 암소의 경우가 임신이 안된 암소에 비해 발정전 황체기 동안의 혈청 progesterone 수준이 더 높게 나타났다고 하였고 또한 인공수정 4~7일전의 혈청 progesterone 농도가 대부분의 임신우에서는 5ng/ml 이상이었고 대부분의 비임신우에서는 5ng/ml 이하였다고 하였는데(Folman 등, 1973) 이는 본 시

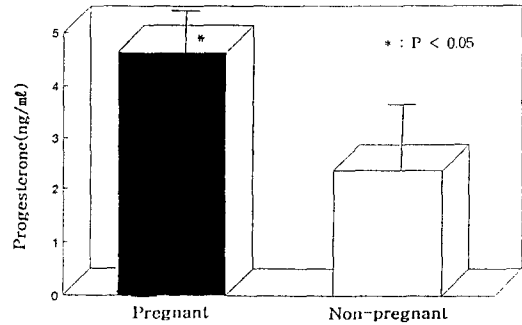


Fig. 2. Serum progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant Hanwoo beef after PGF_{2α} injection.

험결과에서도 나타난 바와 같이 인공수정 전 발정주기 중의 혈청 progesterone 농도가 적어도 4.0ng/ml 이상일 때에 임신으로 이어질 가능성이 높다는 것을 시사해 주는 것이라고 사료된다.

3. 혈청 progesterone 농도 변화와 임신과의 관계

인공수정시와 인공수정 후 18일째 및 21일째의 혈청 progesterone 농도 변화는 Table 2에 나타난 것과 같다. 인공수정시에는 임신우와 비임신우가 공히 1.77ng/ml으로써 차이가 없었고, 인공수정 후 18일째에는 임신우의 경우가 4.78±0.54ng/ml, 비임신우의 경우가 3.16±0.67ng/ml, 21일째에는 각각 3.68±0.36ng/ml, 1.53±0.27ng/ml이었다. 임신우나 비임신우 공히 18일째보다 21일째에 혈청 progesterone 농도가 떨어지는 양상을 나타내었는데, 이는 비임신우의 경우 21일째에 발정이 재귀되어 발정시의 수준인 1.77ng/ml 이하를 나타낸 것으로 사료된다. 임신우의 경우는 본 시험에서 21일 이후 계속하여 혈청 progesterone 농도를 측정하지 못하였으나 많은 보고자들(Tadashi 등, 1986; Ginther 등, 1976; Henricks 등, 1971)의 보고로 미루어 보아 인공수정 후 18일째부터 일시적으로 감소되다가 그 후 다시 상승될 가능성이 높은 것으로 사료된다. 임신우에서 이처럼 인공수정 후 21일째에 혈청 progesterone 수준이 일시적으로 떨어지는 현상에 대하여 그 기전을 밝힌 보고서는 많지 않으나 Wettemann과 Hafs(1973)는 발정일

Table 2. The serum progesterone concentration on day 0, 18 and 21 after A.I. in pregnant and non-pregnant Hanwoo

	Progesterone concentration(ng/ml)		
	Day 0 ³	Day 18	Day 21
Pregnant ¹	1.77±0.32 ¹⁾	4.78±0.54 ^a	3.68±0.36 ^a
Non-pregnant ²	1.77±0.20	3.16±0.67 ^b	1.53±0.27 ^b

¹ Serum progesterone concentration of ≥ 3.0 ng/ml

² Serum progesterone concentration of < 3.0 ng/ml

³ The day of heat

¹⁾ Mean±S.E.

^{a,b} P<0.05

부터 11일까지 혈청 progesterone 농도가 급속하게 증가하다가 18일째에 정점을 이룬 후 22일째까지 일시적으로 떨어지는 현상에 대해 태아의 분비물이 임신 20~22일경에 황체퇴행을 억제하기 때문이라고 하여 본 시험의 결과와 유사한 경향을 보였으나 이러한 현상이 나타나지 않는 보고(Tadashi 등, 1986; Ginther 등, 1976; Henricks 등, 1971)도 다수 있어 차후 이에 대한 검토가 좀 더 수행되어야 할 것으로 사료된다.

4. 임신진단 적중율

인공수정 후 18일째 및 21일째의 혈청 progesterone 농도 양상은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 혈청 progesterone 농도 3.0ng/ml이 임신우와 비임신우를 구분하는데 적합한 기준점이 되고 있음을 말하여 주는 것이라고 사료된다. 따라서 본 시험에서는 혈청 progesterone 농도 3.0ng/ml을 기준으로 설정하여 3.0ng/ml 이상인 경우를 임신, 미만인 경우를 비임신으로 진단하였던 바, 그 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 임신양성반응에 대한 적중율은 인공수정 후 18일째가 85.7% 21일째가 71.4%로 임신양성반응에 대한 적중율은 인공수정 후 18일째가 높게 나타났고 임신음성반응에 대한 적중율은 인공수정 후 18일째가 71.4%, 21일째가 100.0%로 임신음성반응에 대한 적중율은 21일째가 높은 것으로 나타났다. 혈청 progesterone 농도에 의한 임신진단으로써 Robertson과 Sarda(1971)는 인공수정 후 11~24일경 비임신우와 임신우에 대한 임신진단 정확성이 각각 94% 및 88%였다고 하였고 Seguin 등(1973)은 22일째 2.5ng/ml

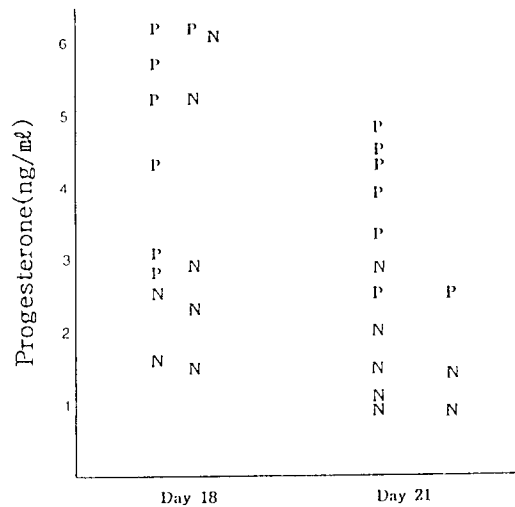


Fig. 3. Serum progesterone concentrations in pregnant(P) and non-pregnant(N) cattle considered the present study.

을 기준한 결과 91%의 정확성을, Wishart 등(1975)은 20~23일에 3.0ng/ml 기준에서 비임신의 경우 89.9%의 정확성을, Pope 등(1976)은 비임신우에서 95~100%의 정확성을, Robertson과 Sarda(1971)는 인공수정 후 20일~24일 사이에 88~100%의 임신진단 정확성을 보고하였고 Shemesh 등(1973)도 인공수정 후 19일과 22일째에 2.5ng/ml을 기준하여 임신우의 경우 85% 및 비임신우의 경우 100%의 높은 정확성을 보고하였다. 조기임신진단에 사용된 혈청 progesterone 농도 기준의 범위는 상기의 보고에서도 보

Table 3. Accuracy of pregnant prediction from serum progesterone concentrations at 18 and 21 days after A.I.

Days after AI ^a	No. of cows examined	Diagnosed pregnant ^b			Diagnosed non-pregnant ^c		
		No.	Correct No.	Accuracy (%)	No.	Correct No.	Accuracy (%)
18	14	7	6	85.7	7	5	71.4
21	14	7	5	71.4	7	7	100.0

^a AI: Artificial insemination

^b Serum progesterone concentration of ≥ 3.0 ng/ml

^c Serum progesterone concentration of < 3.0 ng/ml

는 바와 같이 2.5~3.0ng/ml로써 본 시험에서 설정한 3.0ng/ml로써 본 시험에서 설정한 3.0ng/ml과 비슷한 수준이었다. 또한 유즙 중 progesterone 농도에 의한 임신진단으로써 Singh과 Puthiyandy(1980)는 인공수정 후 20~40일에 7.0ng/ml을 기준으로 하였을 때 임신양성진단의 정확도가 65.5~83.3%, 임신 음성진단의 정확도가 100.0%였다고 보고하였고 Tadashi 등(1986)은 인공수정 후 21~24일에 5.0ng/ml을 기준하여 임신양성진단의 정확도 80.6~82.6%, 임신 음성진단의 정확도 100.0%를 보고하였으며 Penington 등(1976)은 3.0ng/ml이하의 소에서는 98%가 불임이었다고 18.5ng/ml수준에서는 78%가 임신으로서 평균 86%의 정확도에 있어 다소 차이를 보이고 있기는 하나 혈청 progesterone 농도 기준치의 차이는 실험방법 및 사용된 시료의 종류(혈청 및 유즙)에서 기인되는 차이라고 사료되고 임신진단 정확성에 있어서는 상기의 보고에서도 보는 바와 같이 본 시험과 유사한 경향을 나타내었다. 특히 인공수정후 21일째에 임신진단의 정확성이 가장 높게 나타났는데 이러한 결과는 몇몇 보고(Pope 등, 1976; Penington 등, 1976)와도 일치되는 경향이 있다. 한편 Progesterone농도 측정에 의한 임신양성진단율이 100%가 안되는 원인에 대해서는 발정주기의 장단(Laing 등, 1980; Nakao 등, 1983), 조기배사망과 난소 및 자궁의 병적 상태(Shemesh, 등, 1973; Eastman, 1979; Laing 등, 1980)등이 지적되고 있다.

IV. 적 요

본 연구는 발정동기화된 한우에 있어서 혈청 pro-

gesterone 농도에 의한 조기임신진단 가능성을 검토하기 위해 실시되었다. 채혈은 시험구의 경우 PGF_{2α} 처리직전, 인공수정시 그리고 인공수정 후 18일째 및 21일째에 실시하여 호르몬분석(RIA)에 이용하였다. 시험구는 인공수정 후 60~70일 사이에 직장검사를 통하여 임신확인을 하였다. 발정시 임신우와 비임신우의 혈청 progesterone 농도는 각각 1.77 ± 0.32 및 1.77 ± 0.20 ng/ml이었으며 발정주기 18일째는 각각 4.78 ± 0.54 및 3.16 ± 0.67 ng/ml, 21일째는 각각 3.68 ± 0.36 및 1.53 ± 0.27 ng/ml이었다. 혈청 progesterone 농도 3.0ng/ml을 기준으로 임신진단을 하였던 바, 18일째는 임신진단양성반응 및 임신진단음성반응에 대한 정확도가 85.7% 및 71.4%였고 21일째는 각각 71.4% 및 100.0%였다. 이와 같은 결과로 볼 때 인공수정 후 21일경에 혈청 progesterone농도를 이용함으로써 임신진단 가능성을 높일 수 있다고 사료된다.

V. 인용문헌

- Burfening, P. J., D. C. Anderson, R. A. Kinkie, J. Williams and R. L. Friedrich. 1978. Synchronization of estrus with PGF_{2α} in beef cattle. J Anim. Sci. 47(5):999-1003.
- Dobson, H., M. J. Cooper and B. J. A. Furr. 1975. Synchronization of Oestrus with I. C. I. 79,939, an analogue of PGF_{2α}, and associated changes in plasma progesterone, Oestradiol-17β and LH in heifers. J. Reprod. Fert. 42:141-144.

3. Eastman, S. A. K. 1979. Methods of improving the accuracy of positive results from milk progesterone pregnancy tests. *Br. Vet. J.* 135:489-490.
4. Folman, Y., M. Rosenberg, Z. Herz and M. Davidson. 1973. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *J. Reprod. Fert.* 34:367-278.
5. Folman, Y., M. Kaim, Z. Herz and M. Rosenberg. 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J. Dairy Sci.* 73:2817-2825.
6. Ginther, O. J., L. C. Nuti, M. C. Garcia and B. C. Wentworth. 1976. Factors affecting progesterone concentration in cow's milk and dairy products. *J. Anim. Sci.* 42(1):155-159.
7. Hafs, H. D. and J. G. Manns. 1975. Onset of Oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with Prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Anim. Prod.*, 21:13-20.
8. Hansel, W. and R. B. Snook. 1970. Pituitary ovarian relationships in the cow. *J. Dairy Sci.* 53(7):945-961.
9. Henricks, D. M., D. R. Lamond, J. R. Hill and J. F. Dicky. 1971. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J. Anim. Sci.* 33(2):450-454.
10. Holdsworth, R. J., 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.
11. Laing, J. A., H. A. Gibbs and S. A. K. Eastman. 1980. A herd test for pregnancy in cattle based on progesterone levels in milk. *Br. Vet. J.* 136:413-415.
12. Larson, L. L. and P. T. H. Ball. 1992. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology* 38:255-267.
13. Meisterling, E. M. and R.A. Dailey. 1987. Use of concentrations of progesterone and estradiol-17 β in milk in monitoring postpartum ovarian function in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70:2154-2161.
14. Nakao, T., A. Sugihashi, K. Kawata, N. Saga and N. Tsunoda. 1983. Milk progesterone levels in cows with normal or prolonged estrous cycles, referenced to an early pregnancy diagnosis. *Japan J. vet. Sci.* 45:495-499.
15. Penington, J. A., S. L. Spahr and J. R. Lodge. 1976. Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Br. Vet. J.* 132:487-498.
16. Perera, B. M. A. O., N. Pathiraja, S. A. Abeywardene, M. X. J. Motha and H. Abeygunwardena. 1980. Early pregnancy diagnosis in buffalo from plasma progesterone concentrations. *Vet. Rec.* 106:104-106.
17. Pope, G. S., I. Majzlik, P. J. 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.
18. Robertson, H. A. 1969. The endogenous control of oestrus and ovulation in sheep, cattle and swine. *Witams horm.* 27:91-130.
19. Robertson, H. A. and I. R. Sarda. 1971. A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe and sow. *J. Endocrinol.* 49:407.
20. Rochem, J. F. 1974. Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin $F_{2\alpha}$. *J. Reprod. Fert.* 37:135-138.
21. Seguin, B. E., J. N. Stellflug, T. E. Kiser and W. D. Oxenedr. 1973. Pregnancy diag-

- nosis by progesterone in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 41:377.
22. Shemesh, M., N. Ayalon and H. R. Linedr. 1973. Early pregnancy diagnosis based upon plasma progesterone levels in the cow and ewe. *J. Anim. Sci.* 36(4):726-729.
 23. Singh, A and R. Puthiyandy. 1980. Estimation of progesterone in buffalo milk and its application to pregnancy diagnosis. *J. Reprod. Fert.* 59:89-93.
 24. Tadashi, Y., K. Ida, K. Sasaki, Y. Minato and S. Yoshida. 1986. Measurement of progesterone in whole cow milk with a solid phase ELA kit.-Examination of conditions for sample collection and application to early pregnancy diagnosis. *Japan, J. Anim. Reprod.* 32(2):63-68.
 25. Takahashi, M., K. Shiota and Y. Suzuki. 1978. Programming mechanism of luteinizing hormone in the determination of the lifespan of the rat corpus luteum. *Endocrinology* 102:494-498.
 26. Tjondronegoro, S., P. Williamson, G. J. Sawyer and S. Atkinson. 1987. Effects of progesterone intravaginal devices on synchronization of estrus in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70:2162-2167.
 27. Wettemann, R. P. and H. D. Hafs. 1973. LH, Prolactin, estradiol and progesterone in bovine blood serum during early pregnancy. *J. Anim. Sci.* 36(1):51-56.
 28. Wishart, D. F., V. A. Head and C. E. Horth. 1975. Early pregnancy diagnosis in cattle. *Vet. Rec.* 96:34.