

濟州馬의 繁殖過程에 있어서 血中Steroid Hormone水準變化에 관한 研究 III. PGF₂α處理에 의한 無發情 濟州馬의 治療效果

張德支·梁奇千*·金重桂*·徐文鉉**

濟州專門大學·濟州大學校 農科大學*·濟州道畜產事業所**

(1990. 3. 24 접수)

Studies on the Blood Steroid Hormone Levels during the Reproductive Stage in Cheju Pony Mares III. Therapeutic effect of prostaglandin F₂α on anestrus in Cheju pony mares

Deog-gi Chang, Ki-chum Yang*, Jung-kye Kim, Moon-hean Suh**
Cheju Vocational Junior College, Cheju National University*
Cheju Provincial Development Center**

(Received Mar 24, 1990)

Abstract: The effects of PGF₂α on the conception rate and the plasma levels of estradiol-17β and progesterone of anestrus Cheju mares were investigated at the breeding and non-breeding seasons.

The results obtained from this studies are as follows;

1. The durations of the estrus and diestrus after PGF₂α treatment persisted shorter than control cycle ($p < 0.05$), but ovulation time was fast.
2. The levels of estradiol-17β and progesterone before PGF₂α treatment showed 103.8pg/ml, 8.0ng/ml in breeding season and 72.8pg/ml, 4.7ng/ml in non-breeding season, respectively.
3. The levels of estradiol-17β rose to 115.4~154.0pg/ml, and 90.8~127.0pg/ml from 2nd to 6th day after the treatment of PGF₂α, in breeding and non-breeding seasons, respectively, while progesterone level dropped to 1ng/ml with the sign of estrus and at 8th day rose in breeding season ($p < 0.05$).
4. Of thirty anestrus mares investigated for PGF₂α administration, 87.5% showed estrus on an average of 3.8 days after treatment and the conception rate was 62.5% in breeding season, but the estrus and conception rates dropped 40%, and 20% in non-breeding season, respectively.

Key words: anestrus Cheju mares, estradiol-17β, progesterone, breeding season, conception rate.

I. 緒 論

Prostaglandin F₂α(以下 PGF₂α)는 哺乳動物에 있어서 黃體를 急激히 退行시켜 發情發現을 誘導하는 호르몬과 같은 性質을 가진 物質로 알려져있다.¹⁻⁴

말의 卵巢機能은 日照時間의 길이, 環境溫度, 氣候 등에 影響을 받으므로 繁殖現狀이 季節에 따라 다르게 나타나고 있다. 즉 發情에 대하여 Al-Murrani와 Rashod⁵에 의하면 Arab種은 季節에 따라 3.7~70.5%,

Van Niekerk⁶는 53~100%가 發現되었으며 分娩率에 있어서 Cunnigham 등⁷은 品種 飼育管理에 따라 56.2~73%였다고 發表하였다. 그리고 말의 繁殖障害 發生率은 40%以上이나 永久的 障害는 比較的 적으며 卵巢機能不全에 의한 障害는 繁殖季節에 治療하면 80%가 恢復되었다고 하였다.⁸⁻¹⁰

繁殖障害 治療에 관해서 Johnson 등¹¹은 PGF₂α를 處理하는 것이 黃體가 退行되기 전에 FSH 上昇과 progesterone減少로 卵巢發育에 더 效果的이며 Gn-RH處

* 이 論文은 1988年度 韓國學術振興財團의 研究助成費에 의하여 研究되었음.

리는 FSH, LH, progesterone의上昇을 일으킨다고 하였다. 또한 Berwy-Johnes와 Irvine¹²은 無發情, 永久黃體 및 未經産馬에 PGF_{2α}處理를 한후 74%의 發情이 誘起되었으며 處理前 progesterone濃度는 2ng/ml以上이었으나 處理後 4日頃에 0.5ng/ml로 떨어졌다고 報告하고 있다.

本 研究는 無發情 濟州馬에 PGF_{2α}를 處理하여 發情 誘起에 의한 受胎率向上 및 治療時期設定등 獸醫臨床에 應用하기 위한 基礎資料를 提供하기 위하여 實施하였다.

II. 材料 및 方法

供試動物: 體高가 125cm以下인 濟州馬로서 臨床·直腸檢査에 의하여 生殖器에 異狀이 없으며 黃體가 있는 無發情 濟州馬 30頭와 正常發情馬 5頭를 供試하였다.

發情誘起: PGF_{2α}는 人工合成製劑인 lutalyse(U.S. A; 美國)를 1回 5~10mg를 筋肉注射(day 0)하고 1~14日間 1日 1~2回 種牡馬의 乘駕狀態와 發情症狀 및 直腸檢査를 1~2日 間隔으로 實施하여 發情狀態를 調査하였다.^{13,14}

血液採取: PGF_{2α}處理後 2日 間隔으로 靜靜맥에서 EDTA가 들어있는 병에 3ml를 採血한후 1時間以內에 3,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 血漿을 分析時까지 -20°C에 保存하였다.

호르몬測定: estradiol-17β의 測定은 immuchem estradiol-17β(E₂) Kit (ICN Biomedicals, INC. Diagnostics Division East University Drive, Carson, CA U.S.A)를 使用하여 direct 125-I-estradiol-17β radioimmunoassay方法에 準하여 實施하였다. 즉 血漿 100μl씩과 同量의 estradiol-17β standard(0, 10, 30, 100, 300, 1,000 그리고 3,000pg/ml)를 anti-estradiol-17β coated tubes에 넣고 total tubes에 1.0ml의 125-I-estradiol-17β를 加한 후 부드럽게 진탕하여 37°C에서 90分間

incubation시킨후 tube속의 모든 液體를 除去하여 60초간 gamma-counter에서 counting하였다.

Progesterone測定은 immuchem progesterone kit(Division of ICN Biomedicals, INC. East University Drive Carson CA U.S.A)를 使用하여 direct-125-I-progesterone radioimmunoassay方法에 準하여 實施하였다. 즉 血漿 100μl씩과 同量 progesterone standard (0, 0.15, 0.5, 1.0, 5, 20 그리고 80ng/ml)를 anti-progesterone coated tubes에 넣고 total tubes에 1.0ml의 125-I-progesterone를 加한후 부드럽게 진탕하여 37°C에서 120分間 incubation시켜서 tube속의 모든 液體를 除去한후 60초간 gamma-counter에서 counting하였다.

受胎率 調査: 種牡馬와 交配後 30~40日에 直腸檢査와 N-R法에 의하여 受胎與否를 調査하였다.

III. 結 果

發情誘起와 progesterone 水準變化: PGF_{2α}處理區가 正常發情馬보다 發情持續日數, 休止期, 排卵日이 앞났으며, 發情誘起는 10mg處理區가 處理後 3.3日에, 排卵은 7.0日에 일어나 5mg處理區보다 若干 빠른 傾向이었다(Table 1). 그리고 血漿內 progesterone水準은 處理區에서 2日後에 1.0ng/ml以下로 떨어졌으며 4日以內에 發情이 發現되었다(Fig. 1).

Progesterone 水準은 發情發現後 8~10日에는 正常發情에서 1.9~3.6ng/ml, 處理區에서는 2.1~5.0ng/ml로 多少 增加되었다.

繁殖季節과 非繁殖季節의 호르몬水準變化: PGF_{2α}處理에 의한 estradiol-17β水準은 Table 2과 Fig 2에서 나타낸 바와 같이 繁殖季節에 103.6pg/ml이었던 것이 處理後 2~6日에는 115.4~154.7pg/ml로 上昇되면서 全頭數가 發情이 發現되었으나 非繁殖季節에는 72.8pg/ml이었던 것이 2~6日에는 90.8~127.0pg/ml로 若干 上昇되어서 2頭(40%)에서만 發情症狀이 나타났다. 그

Table 1. Estrus and ovulation after PGF_{2α} in muscular injection to Cheju mares

Item	Estrus cycle (days) ^a		
	Control	Muscular PGF _{2α} (5mg)	Muscular PGF _{2α} (10mg)
Interval between			
(a) PGF _{2α} and estrus	—	3.6±1.0 ^b	3.3±1.2 ^b
(b) PGF _{2α} and ovulation	—	7.6±1.2 ^c	7.0±1.5 ^b
(c) Ovulation and end estrus	1.2±0.5 ^b	1.4±0.2 ^c	1.8±0.5 ^b
Duration of estrus	5.8±2.6 ^b	5.1±2.1 ^b	5.7±2.4 ^b
Diestrus Period	15.5±2.4 ^c	12.6±1.2 ^c	13.7±1.2 ^c

a: Estrus cycle was estimated at 24hr previous to time first detected, b: 5, c: 3.

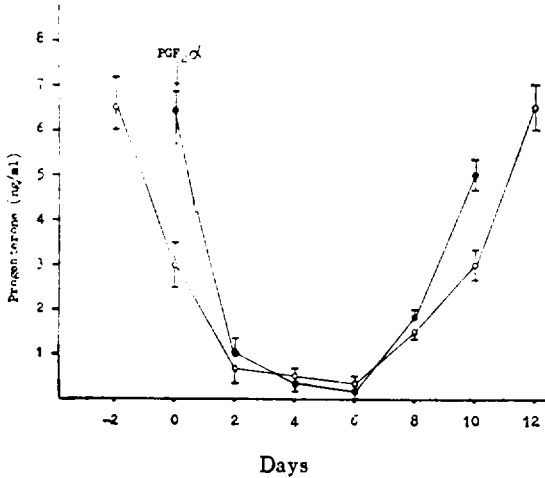


Fig 1. Blood plasma progesterone during control estrus cycle (○—○) and PGF₂α(10mg; ●—●) in Cheju mares.

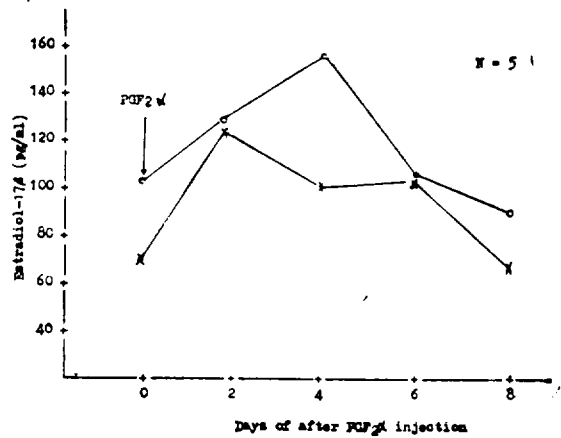


Fig 2. Changes in plasma estradiol-17β levels after PGF₂α injection to anestrus Cheju pony mares between seasonal (○—○) and non seasonal breeding(x—x).

Table 2. The influence of plasma estradiol-17β in anestrus Cheju mares after the injection of PGF₂α between seasonal and nonseasonal breeding

Day after treatment	No. of mares	Estradiol-17β(pg/ml)	
		Breeding season	Nonbreeding season
0	5	103.6±29.16*	72.8±27.56
2	5	129.0±40.57	127.0±47.16
4	5	154.7±78.01	90.8±56.27
6	5	115.4±46.37	104.6±53.22
8	5	91.9±25.23	68.4±13.72

*Mean±SD.

Table 3. The influence of plasma progesterone in anestrus Cheju pony mares after the injection of PGF₂α between seasonal and nonseasonal breeding

Day after treatment	No. of mares	Progesterone(ng/ml)	
		Breeding season	Nonbreeding season
0	5	8.00±5.61	4.80±3.50
2	5	0.63±0.58	0.78±0.64
4	5	0.11±0.09	0.31±0.50
6	5	0.15±0.17	0.30±0.51
8	5	2.09±3.07	0.08±0.09

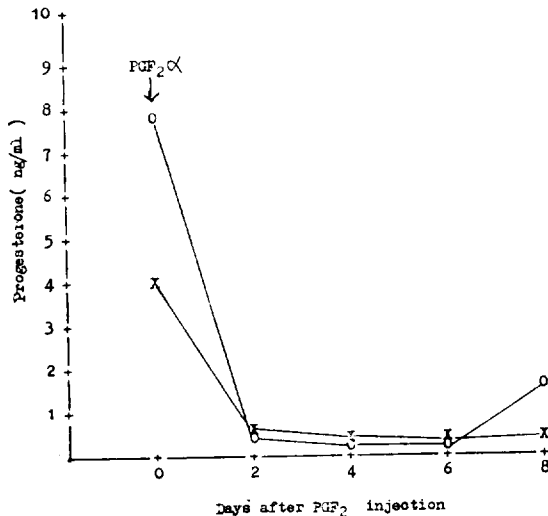
*Mean±SD.

리고 progesterone水準은 Table 3, Fig 3에 提示된 바와 같이 繁殖季節과 非繁殖季節에 있어서 處理前 8.0ng/ml, 4.8ng/ml이었던 것이 處理後 2~6日에는

季節에 관계없이 1ng/ml以下로 떨어진 發情期水準이었으나 8日에는 繁殖季節에서 2.1ng/ml로上昇한 반면, 非繁殖季節에는 거의 變化가 없었다.

Table 4. The effects of the injection of PGF₂ α to induce estrus in anestrus Cheju pony mares

Dose of treatment (mg)	Season	No. of mares	No. of estrus mares(%)	Day to the onset of estrus	No. of conception (%)
5	Breeding	9	5(55.5)	3.6 \pm 1.01*	3(33.3)
10	"	16	14(87.5)	3.9 \pm 1.51	10(62.5)
10	Non-breeding	5	2(40)	4.0 \pm 1.40	1(20.0)
Total		30	21(70.0)	3.8 \pm 1.31	14(46.7)

**Fig 3.** Changes in plasma progesterone levels after PGF₂ α injection to anestrus Cheju pony mares between seasonal (o—o) and non seasonal breeding(x—x).

發情發現率과 受胎率: PGF₂ α 를 處理한後 繁殖季節과 非繁殖季節에 따른 發情發現率과 受胎率을 調査한 結果는 Table 4에 나타난 바와 같다.

繁殖季節에 PGF₂ α 5mg處理區에서는 發情發現率 55.5%, 受胎率 33.3%였으나, 10mg處理時 發情發現率 87.5%, 受胎率 62.5%인 반면, 非繁殖季節에 있어서는 發情發現率 40%, 受胎率 20%로 큰 差異를 보여 주었다.

IV. 考 索

말의 發情週期 및 無發情馬에 PGF₂ α 를 處理한 여러 研究^{2,4,15-21}와 無發情 濟州馬에 PGF₂ α 5~10mg를 筋肉注射한 成績을 比較해 보면 處理後 發情誘起日은 3.3~3.6日로 Shepherd등¹⁶의 5.0日과는 若干의 差異를 보인 반면, Berwyn-Jones와 Irvine¹²의 4日以內 發情率 74%, Mitchell등¹⁷ 3.5日과는 一致하였다. 發情持續日數는 5.1~5.7日로 Oliveria등¹⁸의 5.8~6.9日보다는

짧았으나 Stabenfeld등²⁰과 Vanniasingham등²¹이 報告한 4.7~7.7日의 範圍內에 속하였으며, 發情休止期는 12.6~13.7日로 Vivo등¹⁵ 16.9日였다는 報告와 큰 差異를 보이고 있으나, Stabenfeld등²⁰의 12.4日과 Huges등²² 12.6日과는 비슷하였다. 그러나 對照區와 有意性 ($p < 0.05$)을 나타낸 것은 發情持續日數의 短縮 및 排卵日이 빠른 데에 基因한 것으로 生覺된다. 排卵日은 發情終了前 1.4~1.8日로 正常發情馬보다 빠른 傾向이 있으며 Noden등²³의 治療 成績과 類似하였다.

PGF₂ α 10mg를 處理한 후 estradiol-17 β 水準變化는 2~4日에 繁殖季節 129.0~154.7pg/ml, 非繁殖季節 90.8~127.0pg/ml로 上昇되었으나 그 以後에는 漸次 減少하였다(Table 2, Fig 2).

말의 發情週期에 있어서 Pattison등²⁴은 休止期에 14~20pg/ml였던 것이 發情期와 排卵前 3日에 5~6倍로 上昇한다는 報告와 Nelson등²⁵은 PGF₂ α 處理後 正常發情馬는 47.8pg/ml, 鈍性發情馬 34.6pg/ml 水準이었다는 報告와는 差異를 보여 주고 있으나, Kienholz등²⁶은 여름철에 發情期인 말에서는 平均 200pg/ml, 無發情期인 말은 50~90pg/ml의 範圍로 個體에 따라 큰 差異가 있었다는 報告와는 一致하였다.

發情期 및 處理後 progesterone 水準變化는 對照區에서 發情前 2日에 3.45ng/ml이던 것이 1ng/ml以下로 떨어진 반면, 處理區(10mg)는 6.42ng/ml水準이 急激히 1ng/ml 以下로 減少되면서 發情이 發現되었으며 處理後 8日에는 對照區와 處理區에서 1.98~2.11ng/ml로 上昇됨을 볼 수 있었다(Fig 1). 發情期에 있어서 Nett등²⁷은 發情休止期인 5~14日에 4~10ng/ml이던 것이 發情期에서 1ng/ml以下로 떨어졌다는 發表와 類似했으나 Bobilev등²⁸의 發情期 3.7ng/ml, 休止期 10.7ng/ml와는 差異를 보여주고 있는 반면, Anand등²⁹의 發情期 1~5日에 0.03~0.05ng/ml, 17日에 1.26ng/ml Lotzmer-Jentges등³⁰의 發情期에 0.5ng/ml以下였다고 報告한 것과 同一하였다.

PGF₂ α 處理後 繁殖季節과 非繁殖季節에 있어서 다같이 急激히 減少된 1ng/ml以下水準으로 發情期와 같았

으나 8日에는 繁殖季節에 2.09ng/ml로 上昇한 반면, 非繁殖季節에는 거의 變化가 없었다. 그리고 Olson 등³¹에 의하면 Progesterone水準이 7.7ng/ml인 無發情馬에 處理한 結果 1~2日에 1.2~1.6ng/ml으로 떨어졌다는 發表와 Miyake 등³²은 處理後 3日째 1ng/ml以下로 떨어져 2~5日에 發情發現이 되었다는 報告와는 거의 類似했으며 한편, Noden 등³³의 處理後 2日頃에 1ng/ml以下로 떨어져 排卵日까지 持續되었다는 報告와는 一致하였다(Fig 3).

處理後 發情發現과 受胎率에 관해서는 繁殖季節과 非繁殖季節 間에 多少 差異를 보여 주고 있다(Table 4).

繁殖季節에 10mg處理區에서 發情率 87.5%, 受胎率 62.5%의 成績은 Vivo Rodriguez 등¹⁵의 4~5月에 處理한 結果 處理後 2~4日에 發情率 69.2%, 受胎率은 36.6%였으나, 2~3月에 處理한 結果는 發情率 72.7%, 受胎率 63.6%였다는 報告와 類似한 반면, Douglas와 Ginther²는 10mg處理時 10日以內 發情率이 100%, 5mg에서는 發情率 78%였다고 報告한 것과는 큰 差異를 보여주고 있다. 그리고 Berwy-Jones와 Irvine¹²은 繁殖障害馬인 無發情, 永久黃體, 未經產馬에서 發情誘起率이 74%였다는 報告보다 效果가 良好한 것은 無發情인 經產馬를 대상으로 繁殖季節에 處理한 結果라고 史料된다.

그러므로 濟州馬에 있어서 繁殖季節(放牧時期)인 4~12月에 無發情·隔年繁殖馬(해거리)에 PGF_{2α} 10mg를 處理하면 副作用으로 發汗, 痠痛症狀은 一過性으로 나타나어 輕微하였으며 그 治療效果가 良好하므로 繁殖障害馬에 應用하면 馬繁殖率向上에 寄與할 것으로 史料되었다.

V. 結 論

濟州道內에서 飼育되고 있는 濟州馬中 無發情馬 30頭에 PGF_{2α}를 繁殖季節과 非繁殖季節에 各各 處理한 다음 2日 間隔으로 血液을 採取하여 RIA法으로 estradiol-17β와 progesterone水準을 測定한 結果와 受胎 效果를 要約하면 다음과 같다.

1. 無發情馬에 PGF_{2α}處理時 正常發情馬보다 發情持續日數, 休止期(p<0.05)가 短縮되었으며 排卵日은 若干 빠른 傾向이었다.

2. PGF_{2α}處理前 estradiol-17β, progesterone의 濃度는 繁殖季節에 103.6pg/ml, 8.0ng/ml 非繁殖季節에 72.8pg/ml, 4.8ng/ml였다.

3. 處理後 2~6日에는 estradiol-17β 水準이 繁殖季節에 115.4~154.7pg/ml, 非繁殖季節 90.8~127.0pg/ml으로 上昇한 반면 progesterone은 季節에 관계없이

1ng/ml以下로 떨어지면서 發情發現이 되었으며 8日에는 繁殖季節에만 上昇하였다(p<0.05).

4. PGF_{2α}處理後 發情誘起日은 3.8日있으며 10mg處理時 發情率과 受胎率은 繁殖季節에 87.5%, 62.5% 非繁殖季節 40%, 20%로 큰 差異를 보여주었다.

VI. 參考文獻

1. McCracken JA, Glew FH, Scaramuzzi RJ, Corpus luteum regression induced by Prostaglandin F_{2α}. *J Clin Endocrinol Metabol* 1970;30:544.
2. Douglas RH, Ginther OJ. Effects of prostaglandin F_{2α} on length of diestrus in mares. *Prostaglandin* 1972;2:265.
3. Liggins GC, Grieves SA, Kendall SZ, et al. The physiological roles of progesterone, estradiol-17β and prostaglandin F_{2α} in the control of ovine parturition. *J Reprod Fert Suppl* 1972;65:85.
4. Hafs HD, Louis TM, Noden PA, et al. Control of the estrus cycle with prostaglandin F_{2α} in cattle and horses. *J Anim Sci* 1974;37 (Suppl 1):10.
5. Al-Murrani, WK, Rashod AJA. Some aspects of fertility in Arabian horses in Iraq. *Anim Breed Abstra* 1983;56:422.
6. Van Niekerk CH. Pattern of the estrus cycle of mares: II. The duration of the estrus period. *J Afr Vet Med Ass* 1967;38:295-307.
7. Cunningham EP, Alwna S, Bad AN, et al. High levels of infertility in horses. *Farm and Food Res* 1980;11:41-43.
8. Day FI. Sterility in the mare associated with irregularities of the oestrus cycle. *Vet Res* 1939; 51:111-112.
9. Day FI. Some observation on the causes of infertility in horse-breeding. *Vet Res* 1939;51: 581-587.
10. Burkhardt J. Some clinical problems of horse breeding. *Vet Res* 1948;66:243-248.
11. Johnson AL, Becker SE, Roma ML. Effects of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α} on corpus luteum function and timing of the subsequent ovulation in the mare. *J Reprod Fert* 1972;83:545-551.
12. Berwyn-Jones MD, Irvine CHG. Introduction of luteolysis and oestrus in mares with a synthetic

- prostaglandin analogue (ICI 85008). *NJ Vet J* 1974;22:107-110.
13. Ginther OJ, Whitmore HL, Squires EL. Characteristics of estrus, diestrus, and ovulation in mares and effects of season and nursing. *Am J Vet* 1972;33:1935~1939.
 14. Evans MJ, Irvine CHG. Serum concentration of FSH, LH and progesterone during the estrus cycle and early pregnancy in the mare. *J Reprod Fert Suppl* 1975;23:193-200.
 15. Vivo Rodriguez R, Aguera CS, Dieguez FH, et al. Control of estrus by mares of PGF_{2α} in the mare. *Anim Breed Abstra* 1985;53:850.
 16. Shepherd GE, Cooper MJ, Allen WR. The use of synthetic prostaglandin analogue to induce oestrus in mares. *Aus Vet J* 1976;52:345-348.
 17. Michell D, Gannes R, Sugden EA. Prostaglandin F_{2α} treatment of cyclic dysfunction in mares. *Can Vet J* 1976;17:301-307.
 18. Oliveria FRAPED, Carvalho RTLED, Augusto AC, et al. Length of fertile oestrus in Breton Mangalarga mares. *Anim Breed Abstra* 1980;48:424.
 19. Vivo R, Santisteban R, Tover P, et al. Plasma progesterone values in Spanish and Arab mares during the reproductive cycle. *Archivos de Zoootenia* 1986;35:59-67.
 20. Stabenfeldt GH, Hughes JP, Evans JW. Ovarian activity during oestrus cycle of the mare. *Endocr* 1972;90:1379-1384.
 21. Vanniasingham JK, Jainudeen MR, Sharifunddin W, et al. Reproductive efficiency of mares at the national stud farm. *Anim Breed Abstra* 1986;54:272.
 22. Hughes, JP, Stabenfeldt GH, Evans JW. Estrus cycle and ovulation in the mare. *JAVMA* 1972;161:1368-1374.
 23. Noden PA, Oxenden DN, Hafs HD. Estrus, ovulation, progesterone and luteinizing hormone after prostaglandin F_{2α} in mares(37765). *Pro Sco Exam Bio Med* 1974;145-150.
 24. Pattison ML, Ohen CL, King SL. Determination of LH and estradiol-17β surge with reference to the time of ovulation in mares. *Biol Reprod* 1972;7:136.
 25. Nelson EM, Kiefer BL, Roser JF, et al. Serum estradiol-17β concentration during prostaglandin treatment in the mare. *Theriogenology* 1985;23:241-262.
 26. Kienholz M, Glockmer G, Heidemann S. Importance of estradiol-17β for fertility in mares. *Anim Breed Abstra* 1986;54:541.
 27. Nett TM, Pickett BW, Squires EL. Effects of equimate (ICI-81008) on levels of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and progesterone during the estrus cycle of the mare. *J Anim Sci* 1979;48:69-75.
 28. Bobylev IF, Garevich VA, Kosikov AI, et al. Progesterone concentration in blood serum of mare. *Anim Breed Abstra* 1986;54:85.
 29. Anand AS, Wentworth BC, Plotca ED, et al. Blood LH and progesterone levels during the estrus cycle of the mare. *Sci Biol J* 1977;3:409-412.
 30. Lotzemer-Jentyes K, Enberges H, Sommer H. Progesterone concentration in blood plasma of mares during the cycle in early pregnancy and at foal resorption. *Anim Breed Abstra* 1980;48:586.
 31. Olson HH, Hausler CH, Jackson DQ, et al. Effects of prostaglandin on estrus cycles behavior and blood progesterone levels of American Saddlebred mares. *Theriogenology* 1978;9:409-416.
 32. Miyake M, Sato K, Yoshikawa J, et al. Synchronization of estrus in mare following intramuscular injection of prostaglandin F₂. *Jpn J Anim Reprod* 1976;24:154-159.