

## 濟州在來馬의 血中 progesterone濃度測定에 의한 妊娠診斷에 관한 研究

張德支 · 梁奇千\* · 金重桂\* · 康炳奎\*\* · 崔漢善\*\* · 孫彰好\*\*

濟州專門大學 · 濟州大學校 農科大學\* · 全南大學校 獸醫科大學\*\*

(1991. 8. 7 접수)

### Studies on the plasma progesterone concentrations for pregnancy diagnosis in Che-ju native mare

Deuk-Jee Chang, Ki-Chun Yang\*, Jung-Kye Kim\*, Byong-Kyu Kang\*\*, Han-Sun Choi\*\*,  
Chang-Ho Son\*\*

*Che-ju Vocational Junior College, College of Agriculture, Cheju National University\* and  
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University\*\**

(Received Aug 7, 1991)

**Abstract:** Plasma progesterone concentrations were measured from 97 Che-ju native mares throughout the estrous cycle, Day 20 to 23, 5 to 7 months of pregnancy, and gestation period (1 to 7 months) using the radioimmunoassay techniques for pregnancy diagnosis.

Plasma progesterone concentrations during the estrous cycle were the lowest (<1.0ng/ml) at estrus, remained high from 9 to 18 days (3.7~7.6ng/ml) and drastically decreased thereafter to reach minimal concentrations at the next estrus. Plasma progesterone concentrations at Day 21 to 24 were a significantly different between in pregnant mares (>5.7ng/ml) and in non-pregnant mares (<1.0ng/ml).

The accuracy of the pregnancy diagnosis based on plasma progesterone concentrations at Day 20 to 23 was 86.7% for positive and 100% for negative, whereas on 5 to 7 months was 66.7% for positive and 71.0% for negative, respectively.

Plasma progesterone concentrations during the gestation period(1 to 7 months) increased after 1 month of pregnancy, with peak concentrations(>8.0ng/ml) occurring between 60 to 100 days of pregnancy, and decreased below 1.7ng/ml after 6 months of pregnancy.

**Key words:** progesterone, estrous cycle, pregnancy diagnosis, Che-ju native mare.

### 서 론

濟州在來馬는 天然記念物(제347호)로 지정된 이래 競馬 및 乘馬 등의 레저스포츠와 관광자원으로 활용됨에 따라 馬匹의 수요가 증대되고 飼育規模가 확대되어서 繁殖效率의 증진이 축산농가에 중요한 문제로 대두되고 있는 실정이다.

家畜의 卵巢 hormone는 주로 RIA(Radioimmuno-

assay)法을 이용하여 血液, 乳汁 및 糞便中에서 측정하는데, 이는 주로 性成熟 時期, 發情週期, 妊娠診斷 및 卵巢疾患에 의한 繁殖障礙診斷과 治療效果의 判定 등에 응용되고 있다.<sup>1-4</sup>

말에 있어서 妊娠期間동안에는 많은 量의 estrogens와 progesterone이 黃體 및 胎盤에서 분비되어 尿 또는 糞便中으로 배설되며<sup>5,6</sup> 따라서 혈액 및 우유중에서 estrogens나 progesterone을 측정하여 妊娠診斷에 이용

하고 있고<sup>7-9</sup> 또한 최근에는 試料의 채취가 용이한 糞便中에서 estrogens을 측정하여 妊娠診斷에 이용하고 있는 실정이다.<sup>6,10</sup>

말에서 早期妊娠診斷을 위한 血液 및 乳汁中 progesterone濃度の 測定時期는 發情 18~19일에 試料를 채취하는 것이 가장 적절한 時期라고 보고하고 있다.<sup>9,11</sup> 妊娠診斷의 判定기준과 정확성에 대하여 Vries와 Holst<sup>12</sup>는 排卵後 18일경에 血中 progesterone濃도가 2.0 ng/ml 이상을 妊娠馬로 判定했을 때 正確性은 妊娠 78.3%, 非妊娠 100%라고 발표했으나, Busch 등<sup>13</sup>은 發情 21일경에 血中 progesterone濃도가 0.5~0.8ng/ml에서도 妊娠馬가 있어 妊娠正確性은 68.0%라고 보고하여 보고자간에 다소의 차이를 나타내고 있다.

본 연구는 濟州在來馬에서 血中 progesterone濃度測定에 의한 早期妊娠診斷의 可能性을 檢討하기 위하여 發情을 確認한 후 이어서 自然交配를 시킨 말을 대상으로 發情周期中, 發情 20~23일 및 妊娠 5~7개월 때에 각각 血中 progesterone濃도를 測定하였으며 또한 임신기간, 즉 1~7개월의 임신기간중에도 血中 progesterone濃도를 측정하였다.

### 재료 및 방법

**供試馬:** 濟州地域에서 天然記念馬로 등록된 馬匹과 濟州道內 승마장 및 농가에서 사육하는 體高가 105~125cm 사이의 濟州在來馬 97두를 대상으로 1990년 4월부터 1990년 11월까지 방목기간중에 실시하였다.

**發情 및 妊娠確認:** 發情 및 排卵의 확인은 Ginther 등<sup>14</sup>, Hughes<sup>15</sup> 및 Zemjanis<sup>16</sup>의 기술에 따라 臨床的 發情症狀, 腔檢査 및 直腸檢査 등의 소견을 종합하여 확인하였으며 發情開始日을 Day 0로 하였다. 妊娠鑑定은 발정 후 60일(早期妊娠診斷)과 妊娠 5~7개월(妊娠中期)에 Zemjanis<sup>17</sup>의 방법에 따라 直腸檢査로 실시하였으며 최종적인 임신확인 은 분만결과로 확인하였다.

**採血 및 血中 progesterone濃度測定:** 採혈은 발정

주기중에는 3일 간격으로 9회, 발정 20~23일과 妊娠 5~7개월에 각 1회, 그리고 임신기간동안(妊娠 1~7개월)에도 매일 1회씩 실시하였다. 靜靜맥에서 採혈한 EDTA 처리 혈액은 1시간 이내에 원심(3,000rpm, 10분)하여 血漿을 분리한 후 분석할 때까지 -20°C에서 보관하였으며, 血中 progesterone濃度の 測定은 Choi 등<sup>18</sup>의 방법에 준하여 RIA로 실시하였다.

**血中 Progesterone濃도에 의한 妊娠診斷:** Vries와 Holst<sup>12</sup>의 기술에 따라서 血中 Progesterone濃도가 2.0 ng/ml 이하는 非妊娠으로, 2.0ng/ml 이상은 妊娠으로 判定하였다.

### 결 과

**發情週期中的 血中 progesterone濃度變化:** 발정주기중의 血中 progesterone濃度變化를 妊娠馬 8두와 非妊娠馬 7두로 구분하여 비교, 검토한 결과는 Fig 1과 같다. 발정 0~3일에 血中 progesterone濃도는 妊娠馬와 非妊娠馬 모두 1.0ng/ml 이하였으나, 9~18일에는

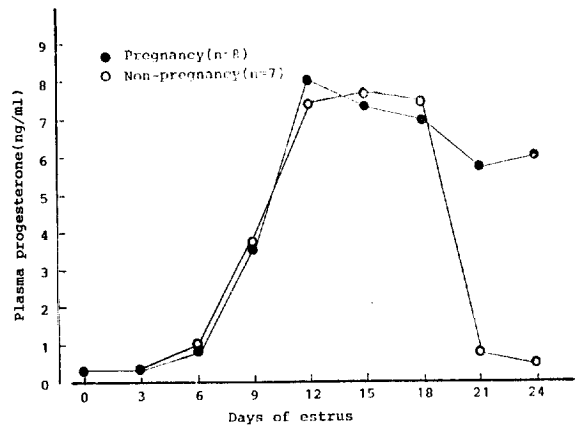


Fig 1. Plasma progesterone concentrations of estrous cycle in Che-ju native mare. Day 0 is the onset day of estrus.

Table 1. Diagnosis of pregnancy from plasma progesterone concentrations at Day 20~23 of estrus in Che-ju native mares

Diagnosis based on plasma progesterone	No. of mares	Pregnancy <sup>c</sup>		Non-pregnancy <sup>c</sup>	
		No.	Accuracy(%)	No.	Accuracy(%)
Pregnancy <sup>a</sup>	15	13	86.7	—	—
Non-pregnancy <sup>b</sup>	10	—	—	10	100

a: Plasma progesterone concentration of  $\geq 2$ ng/ml.

b: Plasma progesterone concentration of  $< 2$ ng/ml.

c: Diagnosed by non-return method and rectal palpation at Day 60.

**Table 2.** Diagnosis of pregnancy from plasma progesterone concentrations on 5~7 months after estrus in Che-ju native mares

Diagnosis based on plasma progesterone	No. of mares	Pregnancy <sup>c</sup>		Non-pregnancy <sup>c</sup>	
		No.	Accuracy(%)	No.	Accuracy(%)
Pregnancy <sup>a</sup>	21	14	66.7	—	—
Non-pregnancy <sup>b</sup>	31	—	—	22	71.0

a: Plasma progesterone concentration of  $\geq 2\text{ng/ml}$ .  
 b: Plasma progesterone concentration of  $< 2\text{ng/ml}$ .  
 c: Diagnosed by rectal palpation and foaling.

妊娠馬 3.5~8.0ng/ml, 非妊娠馬 3.7~7.6ng/ml로 양군에 있어서 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다( $p > 0.001$ ). 그러나 발정 21일에는 妊娠馬 5.7ng/ml, 非妊娠馬 0.8ng/ml로 유의성 있는 차이가 인정되었다( $p < 0.001$ ).

發情 20~23일에 血中 progesterone濃度測定에 의한 早期妊娠診斷: Table 1에서 보는바와 같이 발정이 발현된 후 자연교배를 시킨 25두를 대상으로 發情 20~23일 사이에 1회 血中 progesterone濃度を 측정 한 결과, 15두는 血中 progesterone濃도가 2.0ng/ml 이상으로 높게 나타나 妊娠으로 판정되었으며, 나머지 10두는 2.0ng/ml 이하로 나타나 非妊娠으로 판정되었다. 그러나 검사두수 25두에 대한 60일후의 直腸檢査에 의한 임신감정의 결과는 妊娠 13두, 非妊娠 10두로 판정되었다. 이와같이 血中 progesterone濃度測定에 의한 妊娠診斷의 正確성은 妊娠陽性診斷率 86.7%(13/15), 妊娠陰性診斷率 100%(10/10)를 나타내었다.

妊娠 5~7개월에 血中 progesterone濃度測定에 의한 妊娠診斷: 봄철에 발정이 발현된 후 자연교배를 시킨 제주 개래마 52두를 대상으로 교배 후 가을철, 즉 妊娠 5~7개월에 血中 progesterone濃도를 측정하여 妊娠診斷의 가능성을 검토하였다. 血中 progesterone

濃度 2.0ng/ml을 기준으로 하여 妊娠有無를 판정하였을 때 妊娠 21두, 非妊娠 31두로 나타났으며, 直腸檢査 및 최종적인 分娩實態의 確認에 의해서는 妊娠 14두, 非妊娠 22두로 나타났다. 그래서 血中 progesterone濃度測定에 의한 妊娠診斷의 正確성은 妊娠陽性診斷率 66.7%(14/21), 妊娠陰性診斷率 71.0%(22/31)로 나타났다.

妊娠期間中 血中 progesterone濃度變化: 妊娠馬 5두를 대상으로 妊娠 1개월부터 7개월까지의 血中 progesterone濃도를 조사해 보았던 바, Table 3에서 보는바와 같이 妊娠 1~4개월까지의 progesterone농도는 7.9~8.5ng/ml이었으나 妊娠 6개월부터는 1.7ng/ml 이하로 감소하였다.

## 고 찰

최근 Radioimmunoassay와 Enzymeimmunoassay를 이용하여 각종 동물에서 hormone濃도의 측정은 內分泌器官의 生理的 機能을 파악할 수 있을 뿐만 아니라 疾病의 診斷, 治療 및 생산성 향상 등에 널리 이용되고 있는 실정이다.<sup>1-4</sup> 그러나 우리나라 在來種인 濟州 在來馬에 대한 內分泌學的인 측면에서의 검토는 드문 실정인바 본 연구는 정상 성주기중의 血中 progesterone濃도를 파악하고 이어서 이를 妊娠診斷에 이용하고자 실시하였다.

濟州在來馬의 正常 性周期中の 血中 progesterone濃도는 Fig 1에서 보는 바와 같이 發情期에는 1.0ng/ml 이하로 매우 낮은치를 보이다가 그 후 점진적으로 증가하여 발정 9일부터 18일 사이에는 3.7~7.6ng/ml로 높게 유지되었으며, 이어서 21일에는 1.0ng/ml 이하로 감소하였다. 이는 Holtan 등<sup>19</sup>, Nett 등<sup>20</sup> 및 Hyland<sup>21</sup>가 發情期에는 progesterone농도가 1.0ng/ml 이하의 낮은 수준이나 黃體期에는 2.0~10.0ng/ml로 상승한다는 보고와 일치하였으며 또한 Patrica 등<sup>22</sup>과 Asha 등<sup>23</sup>이 妊娠이 되지 않은 경우에는 발정 20일경

**Table 3.** Plasma progesterone concentrations during gestation period in Che-ju native mares

Months of gestation	No. of mares	Progesterone (ng/ml) Mean $\pm$ S.E.M.
1	5	7.9 $\pm$ 1.9
2	5	8.5 $\pm$ 1.6
3	5	8.3 $\pm$ 1.7
4	5	7.9 $\pm$ 1.4
5	5	4.6 $\pm$ 1.6
6	5	1.7 $\pm$ 1.3
7	5	1.1 $\pm$ 1.3

에 progesterone 농도가 매우 낮다는 보고와도 일치하였다.

한편 發情 21일에서 24일 사이의 血中 progesterone 濃度는 Fig 1에서 보는 바와 같이 妊娠馬는 5.7ng/ml 이상으로 높게 나타난 반면, 非妊娠馬에는 1.0ng/ml 이하로 매우 낮게 나타나 유의성 있는 차이가 인정되었다( $p < 0.001$ ). 이는 Gunther 등<sup>9</sup>이 발정 21일째의 progesterone 농도는 妊娠馬 3.0ng/ml 이상, 非妊娠馬 1.0ng/ml 이하라고 하였으며, Terblanche와 Maree<sup>24</sup>는 배란후 21일에 妊娠馬 5.09ng/ml, 그리고 Sato 등<sup>7,25</sup>은 발정 21~25일에 妊娠馬 4.8~5.8ng/ml라는 보고와도 일치하였다.

말에 있어서 progesterone 濃度測定에 의한 妊娠診斷의 檢査時期는 非妊娠馬의 경우 progesterone 농도가 1.0ng/ml 이하로 감소하고, 妊娠馬의 경우 progesterone 농도가 2.0ng/ml 이상으로 높게 지속되는 교배후 19~25일 사이에 일반적으로 실시되고 있다.<sup>9,11,24,25</sup> 따라서 본 실험에서도 발정 20~23일에 血中 progesterone 濃度를 測定하여 早期妊娠診斷을 실시해 보았던 바, Table 1에서 보는바와 같이 검사두수 25두중 15두가 妊娠으로 판정되었으며, 10두는 非妊娠으로 판정되었다. 그러나 검사두수 25두에 대한 발정 60일째에 直腸檢査에 의한 妊娠診斷의 결과는 妊娠 13두, 非妊娠 10두로 나타났다. 이와같이 血中 progesterone 濃度測定에 의한 早期妊娠診斷의 正確性은 妊娠陽性診斷率 86.7%, 妊娠陰性診斷率 100%로 나타났다. 이는 Vries와 Holst<sup>12</sup>가 배란후 18일에 血中 progesterone 濃度 2.0ng/ml 이상을 妊娠으로 판정하였을 때 妊娠 78.3%, 非妊娠 100%라 하였으며, Tomsgard와 Benjaminsen<sup>26</sup>은 交配後 3주제에 7.4n/ml 이상을 妊娠으로 하였을 때 妊娠 94.0%, 그리고 Elemere 등<sup>27</sup>이 妊娠 18~19일에 2.0ng/ml 이상을 妊娠으로 하였을 때 妊娠 90.0%라는 결과와 유사하였다. 한편 妊娠 5개월에서 7개월 사이에 血中 progesterone 濃度測定에 의한 妊娠診斷의 正確性은 妊娠 66.7%, 非妊娠 71.0%로 나타나 위의 보고들 보다는 다소 낮았다(Table 2).

妊娠期間, 즉 妊娠 1개월부터 7개월까지의 血中 progesterone 濃度의 變化를 妊娠馬 5두를 대상으로 조사해 보았던 바, Table 3에서 보는바와 같이 妊娠 1개월부터 증가하기 시작하여 妊娠 2~3개월에는 8.0ng/ml 이상으로 최고치에 이르렀으며 이후 妊娠 6개월부터는 1.7ng/ml 이하로 감소하였다. 이는 Hyland<sup>21</sup>, Gaiani 등<sup>28</sup> 및 Seren 등<sup>29</sup>이 말의 임신기간중 血中 progesterone 濃度는 妊娠後 증가하기 시작하여 妊娠 60~120일에 최고치를 이루다가 妊娠 6개월 이후부터

는 감소한다는 결과와 일치하였다. 한편 Table 2에서 보는바와 같이 妊娠 5~7개월에 血中 progesterone 濃度測定에 의한 妊娠診斷의 正確性이 66.7%로 낮았던 결과가 바로 이를 반증해 주는 것이 아닌가 생각된다.

이상에서와 같이 韓國 濟州在來馬에서 發情 20~23일 사이에 血中 progesterone 濃度測定에 의한 早期妊娠診斷의 可能性이 시사되었다. 그러나 Sato 등<sup>7</sup>은 血中 total estrogens와 progesterone의 比率이 非妊娠馬에서는 현저한 변화를 보인 반면 妊娠馬에서는 항상 1.0 이하로 나타나 이들의 比率測定이 妊娠診斷法中の 하나임을 제시하였으며, Choi 등<sup>6</sup>은 糞便中에서 estrogens를 測定하여 임신 110일에 88%, 임신 150일에 100%의 診斷正確性을 나타내었다고 보고한 바 있다. 또한 Tumer와 Kirkpatrick<sup>30</sup>은 野生馬와 길드러진 말(domestic mares)에서 발정기와 발정후지기에 luteinizing hormone(LH), estrogens 및 progestins를 조사해 보았던 바, estrogens와 progestins는 두 종류의 말에서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으나 그러나 발정기때 LH는 농도 및 최고치의 도달시기가 서로 다르다고 보고하였다. 따라서 앞으로는 濟州在來馬에서도 妊娠時期別에 따르는 estrogens의 분비상태를 파악함으로써 estrogens測定에 의한 妊娠診斷法의 개발과, 아울러 性周期中 LH의 분비상태를 파악함으로써 LH와 Day O와의 관계도 정확하게 규명되어야 할 것으로 사료된다.

## 결론

濟州在來馬 97두를 대상으로 發情周期, 發情 20~23일, 妊娠 5~7個月 및 妊娠期間(妊娠 1~7個月)중에 血中 progesterone 濃度를 測定하여 妊娠診斷의 可能性을 검토하였다.

正常 性周期의 血中 progesterone 濃度는 發情期에 1.0ng/ml 이하로 매우 낮은치를 보이다가 발정 9일부터 18일 사이에 3.7~7.6ng/ml로 높게 유지되었으며 이후 다시 다음 發情期인 1.0ng/ml 이하로 감소하였다. 한편 발정 21~24일 사이의 血中 progesterone 濃度는 妊娠馬 5.7ng/ml 이상, 非妊娠馬 1.0ng/ml 이하로 나타나 유의성 있는 차이가 인정되었다( $p < 0.001$ ).

發情 20~23일에 血中 progesterone 濃度測定에 의한 妊娠診斷의 正確性은 妊娠陽性診斷率 86.7%, 妊娠陰性診斷率 100%이었으며, 妊娠 5~7개월에는 妊娠陽性診斷率 66.7%, 妊娠陰性診斷率 71.0%로 나타났다.

妊娠 1개월부터 7개월까지의 血中 progesterone 濃度의 變化는 妊娠 1개월부터 증가하기 시작하여 妊娠 2~3개월에 최고치인 8.0ng/ml 이상을 보이다가 妊娠 6개월 이후부터는 1.7ng/ml 이하로 감소하였다.

## 참 고 문 헌

1. Stabenfeldt GH, Hughes JP, Evans TW. Ovarian activity during the estrous cycle of the mare. *Endocrinology* 1971;90:1379~1384.
2. Heap RB, Gwyn M, Laing JA, et al. Pregnancy diagnosis in cows: Changes in milk progesterone concentrations during the estrous cycle and pregnancy measured by rapid radioimmunoassay. *J Agr Sci* 1973;81:151.
3. 康炳奎, 崔漢善, 李政吉 等. 韓牛의 繁殖效率增進에 관한 研究. —發情周期 및 妊娠初期의 progesterone濃度變化— 大韓獸醫學會誌 1984;24:122~125.
4. 康炳奎, 崔漢善, 李政吉 等. 韓牛의 繁殖效率增進에 관한 研究. —Progesterone濃度測定에 의한 早期妊娠診斷. 大韓獸醫學會誌 1990;30:249~253.
5. Cuboni E. Neuere Hinweise zur Ausführung der Trächtigkeitdiagnose bei der Stute. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1958;71:108~110.
6. Choi HS, Möstl E, Bamberg E. Confirmation of pregnancy in mares by enzymeimmunoassay of oestrogens in faeces. *Zbl Vet Med* 1985;32:760~763.
7. Sato K, Miyake M, Yoshikawa T, et al. Studies on serum oestrogen and progesterone levels during the oestrous cycle and early pregnancy in mares. *Equine Vet J* 1977;9:57~60.
8. Terqui M, Palmer E. Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. *J Reprod Fert Suppl* 1979;27:441~446.
9. Gunther JD, Foley CW, Gaverick HA, et al. Comparison of milk and plasma progesterone concentrations in cycling and pregnant mares. *J Anim Sci* 1980;51:1131~1138.
10. Bamberg E, Choi HS, Möstl E, et al. Enzymatic determination of unconjugated oestrogens in faeces for pregnancy diagnosis in mares. *Equine Vet J* 1984;16:537~539.
11. Gunther JD, Foley CW, Plotka ED. Pattern of milk and blood plasma progesterone concentrations in cycling and pregnant mares. *Anim Breed Abstra* 1978;48:252.
12. Vries PJ, Holst W. Value of measuring blood plasma progesterone around 18 days after ovulation for pregnancy diagnosis in the mares. *Anim Breed Abstra* 1983;51:667.
13. Busch W, Schuster D, Birkelbach E. Blood progesterone concentration in mares during oestrus and early pregnancy. *Anim Breed Abstra* 1986;54:754.
14. Ginther OJ, Whitmore HL, Squires EL. Characteristics of estrus, diestrus and effects of season and nursing. *Anim J Vet Res* 1972;33:1935~1939.
15. Hughes JD. Clinical examination and abnormalities in the mare. In Morrow DA, ed. *Current theraphy in the theriogenology*. 1st ed. Philadelphia: WB Sanders Co, 1980;706~721.
16. Zemjanis R. Examination of the nonpregnant mare. *Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction*. 1st ed. Williams and Wilkins Co, 1962;115-123.
17. Zemjanis R. Rectal examination general comments pregnancy diagnosis. *Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction*. 1st ed. Williams and Wilkins Co, 1962;101-113.
18. Choi HS, Kang BK, Lee CG, et al. Studies on the improvement of reproductive efficiency in Korean native cows. —Development of radioimmunoassay for progesterone— *Korean J Vet Res* 1990;30:171~175.
19. Holtan DW, Nett TM, Estergeen UL. Plasma progesterones in pregnant, post-partum and cycling mares. *J Anim Sci* 1975;40:251~260.
20. Nett TM, Pickett BW, Sidel GE, et al. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle and early pregnancy in mare. *Biol Reprod* 1976;14:412~415.
21. Hyland JH. Reproductive endocrinology: Its role in fertility and infertility in the horse. *Bri Vet J* 1990;146:1~16.
22. Patrica A, Oxender WD, Hafs HD. The cycle of oestrus ovulation and plasma levels of hormone in the mare. *J Reprod Fert* 1975;23:189~192.
23. Asha A, Sardeshpande PD, Mantri MB. Level of serum progesterone and estradiol-17 $\beta$  during estrous cycle in mares. *J Anim Sci* 1985;55:524~526.

24. Terblanche HM, Maree L. Plasma progesterone levels in mares during the oestrous cycle and pregnancy. *Afri Vet Aso* 1981;52:181~185.
25. Sato K, Miyake M, Yoshikawa T, et al. Alteration of serum progesterone level in pregnant and non-pregnant mares. *Jap J Anim Reprod* 1975;21:113~115.
26. Tomasgard G, Benjaminsen E. Plasma progesterone in mares exhibiting estrus during early pregnancy. *Anim Breed Abstra* 1977;45:323.
27. Elemere RG, Kloppe LH, Varnor DO, et al. Clinical application for progesterone assays in equine practice. *Vet Med* 1988;183:297~298.
28. Gaiani R, Bono G, Tamanini C, et al. Hormone variation related to the puerperium and subsequent pregnancy in the mare. *Anim Breed Abstra* 1980;48:252.
29. Seren E, Tamanini C, Gaiani R, et al. Concentrations of progesterone, 17 $\alpha$ -hydroxy progesterone and 20 $\alpha$ -hydroxy progesterone in the plasma of mares during pregnancy and at parturition. *J Reprod Fert* 1981;63:443-448.
30. Tumer JW, Kirkpatrick JF. Hormones and reproduction in feral horses. *J Equine Vet Sci* 1986;6:250-258.