

脫脂山羊乳가 牛精子保存에 미치는 影響

李 孝 宗

吳 壽 珏

서울大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

家畜人工授精이 실시된 초기에는 소의 精液을 희석하기 위하여 生理的 等張液인 4~6% 葡萄糖液, 0.7~0.9% 食鹽水, Ringer 溶液 및 기타 生理的 溶液들이 稀釋液으로서 널리 사용되어 왔지만 精子的 보존성이 불량하였다고 한다¹⁰.

Phillips 및 Lardy¹⁰는 1940년에 磷酸鹽에 卵黃을 첨가함으로써 精液의 장기보존이 가능하다고 제창한바 있었는데 이후부터 牛精液의 稀釋液에 관한 여러가지 연구가 활발히 진행되어 왔다.

그 후 여러 학자들은 果糖, 葡萄糖 및 glycine을 緩衝液이나 卵黃에 첨가하여 精子的 활력을 유지하고 精液의 보존성을 높임으로써 受胎率을 향상시키는 효과를 가져왔다^{5,11,12}.

한편 Thacker 및 Almquist¹³는 牛乳를 92°C에서 10분간 가열처리한 후 牛精液 稀釋液으로 사용하였던바 卵黃-枸橼酸 나트륨 稀釋液보다 牛精子的 生存率 및 受胎率이 좋았다고 보고하였다.

Jacquet 및 Cassou⁷는 실용성 및 경제성을 고려하여 통조림한 脫脂牛乳를 사용하기도 하였다.

그 후 많은 학자들이 牛乳에 卵黃 및 葡萄糖을 첨가하여 稀釋液을 개발하여 왔으나^{6,7} 著者들은 현재까지 牛精液 稀釋液으로서 脫脂山羊乳를 사용하였다는 報文에 접한 바 없었으므로 脫脂山羊乳가 牛精子的 보존에 어떠한 영향을 미치는 가에 대하여 새로운 의문과 흥미를 느끼게 되었으며 液狀精液의 稀釋液으로 개발할 경우 5% 葡萄糖液 및 卵黃의 최적첨가농도를 추적하였으며 冷凍精液의 稀釋液으로 개발할 경우 glycerol의 최적첨가농도를 추적하였다.

材料 및 方法

供試精液 : 농협중앙회 가축개발사업소에서 사육중인

번식장애가 없는 건강한 種牡牛 10두(한우, Holstein 종, Angus 종 및 Charolais 종)를 선택하여 이들로부터 채취한 精液을 사용하였다. 原液은 活力이 卍이상이고 生存率이 80% 이상이며, 畸型率이 5% 이하인 것만을 供試精液으로 사용하였다.

供試山羊乳 : 농촌진흥청 축산시험장에서 사육하고있는 Saanen 종 山羊들 중 3~5세의 건강하고 임신한 山羊을 선택하여 두었다가 분담 후 10일이 지나 착유한 乳汁을 脫脂하여 무균이 있는 플라스크에 넣어 92°C에서 10분간 가열처리하여 냉수로 냉각시킨 후 5°C 냉장고에 저장하였다가 사용하였다.

5% 葡萄糖溶液 및 卵黃의 添加 : 液狀精液에서 脫脂山羊乳에 5% 葡萄糖溶液 및 卵黃의 添加濃도가 牛精子的 生存率에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 第1表와 같이 試驗設計하였던 바 모두 60개의 處理區가 설정되었고 對照區는 국제적으로 공인되어 있는 2.9% 枸橼酸 나트륨 溶液에 卵黃이 4:1로 첨가된 卵黃-枸橼酸 나트륨 稀釋液(이하 卵枸液)으로 하였다. 그리고 각 處理區와 對照區에는 ml 당 streptomycin 1 mg 과 penicillin 1,000 IU를 첨가하였다². 原液 稀釋은 35°C에서 處理液 ml 당 精子數 2,000만의 비율로 稀釋한 후 시간당 6°C씩 하강하도록 냉각시켜 5°C의 냉장고에 보존하면서 稀釋 후 4시간, 24시간, 3일, 5일 및 7일만에 牛精子的 生存率을 검사하였다.

Glycerol의 添加 : 冷凍精液에서 glycerol의 添加濃도가 牛精子的 回生率에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 液狀·精液試驗에서 가장 성적이 우수하였던 第23 處理區와 같은 비율로 脫脂山羊乳에 5% 葡萄糖溶液 및 卵黃을 添加한 후 30°C에서 稀釋液 매 ml 당 精子數 4,000만의 비율로 牛精液 原液을 희석 첨가하고 시간당 6°C씩 하강하도록 냉각시켜 5°C에 이른 다음 여기에 glycerol을 加하여 농도가 1~9 및 10 ml/100 ml 인 10종의 희석액을 만들었다. 이 희석액의 조제는 glycerol이 함유되지 않은 희석액에 glycerol의 함량이 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 및 20 ml/100 ml 인 희석액을 同

量 첨가하여 혼합되 4회로 나누어 15分 간격으로 첨가하였다. 對照區는 卵拘液 대 glycerol의 比가 46 : 4가 되게 하였다. 이상에서 만들어진 각 處理區와 對照區에는 稀釋液 매 ml 당 streptomycin 1 mg 과 penicillin 1,000 IU 를 첨가하였다.

平衡時間은 6시간으로 하였다. 각 處理區와 對照區는 액체질소 탱크에서 5분간 豫備冷凍한 후 액체질소 탱크에 24시간 보존하였다가 다시 꺼내어 40°C 에서 2분간에 걸쳐 응해시킨 다음 牛精子의 回生率을 鏡檢하였다.

融解後의 保存 : 앞의 試驗에서 融解된 각 處理區와 對照區를 5°C에 보존하면서 融解後 10분, 24시간, 3일 및 5일만에 각각 그 生存率을 檢査하였다.

檢査方法 : 직접 현미경 檢査법으로 牛精子의 生存率을 檢査하였다. 精子 檢査시에 현미경, 슬라이드 글라스 및 커버 글라스는 38°C 내외로 유지하면서 鏡檢하였다. 牛精子의 生存率은 시야(150×)에 나타난 精子 100개 중에서 정상적인 활동을 보이는 精子數를 레아터 백분율로 나타내었고 5회 반복하여 그 平均치를 기록하였다.

結 果

液狀精液에서의 生存率 : 脫脂山羊乳에 5% 葡萄糖溶液 및 卵黃이 여러가지 比率로 첨가된 稀釋液이 5°C에서 牛精子의 生存率에 미치는 영향을 7일간 5회에 걸쳐 稀釋後 4시간, 24시간, 3일, 5일 및 7일만에 檢査한 결과는 第1表에 표시한 바와 같다.

성적이 가장 우수하였던 區는 第23處理區로서 7일간의 平均生存率이 68%이었고 다음으로 우수하였던 區는 第13處理區로서 그 平均生存率은 66%이었으며 그 다음은 第14處理區와 第22處理區, 第24處理區와 第33處理區의 順이었으며 성적이 가장 불량하였던 區는 對照區로서 그 平均生存率은 38%에 지나지 않았다. 고로 5% 葡萄糖溶液의 最適 添加比는 脫脂山羊乳 80에 5% 葡萄糖溶液 20이었고 添加比가 이보다 낮아지거나 높아질수록 生存率은 저하되어 갔다. 卵黃의 最適 添加比는 脫脂山羊乳 97에 卵黃 3이었고 添加比가 이보다 낮아지거나 높아질수록 生存率은 저하되어 갔다. 보존일수별 牛精子의 生存率을 보면 稀釋後 4시간만에 는 각 處理區와 對照區에서 平均生存率의 차가 근소하였으나 보존일수가 길어짐에 따라 각 處理區와 對照區사이에는 현저한 차가 있었다. 각 處理區와 對照區間 및 保存日數間에는 각각 고도의 유의성이 인정되었고($p <$

0.01) 卵黃의 添加比와 保存日數間에는 고도의 交互作用이 있었다($p < 0.01$).

冷凍精液에서의 回生率 : 液狀精液에서 生存率이 가장 높았던 第23處理區에 glycerol을 1~10%까지 첨가하여 액체질소로 냉동시킨 후 응해시켜 그 回生率을 檢査한 결과는 第1圖과 같다.

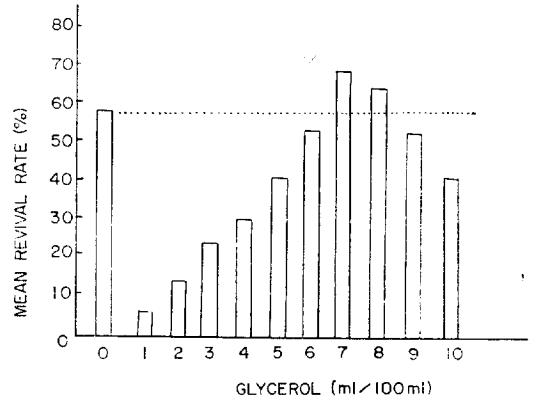


Fig. 1. Effects of glycerol levels on the revival rate of bull spermatozoa in skimmed goat milk.

回生率이 가장 우수하였던 것은 glycerol이 7 ml/100 ml 첨가된 處理區이었고 glycerol 添加比가 그보다 낮아 지거나 높아질수록 回生率은 저하되어 갔다. 각 處理區와 對照區의 성적을 Duncan의 新多重檢定 결과

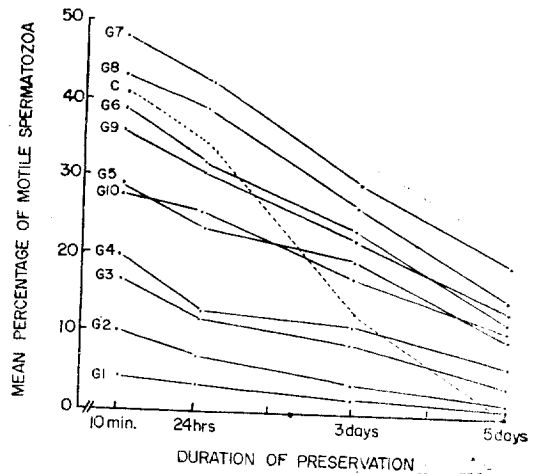


Fig. 2. Effects of glycerol levels on preservation of bull spermatozoa in skimmed goat milk after thawing. (Numerals with G represent the percentage of glycerol. C is control group).

Table 1. Comparison of Survival Rates of Bull Spermatozoa Stored at 5°C for 7 Days in Skimmed Goat Milk with Various Ratio of 5% Dextrose Solution. and Egg Yolk (continued)

Treatment No.	Ratio of Dilution			Duration after Dilution				
	Skimmed Goat Milk	5% Dextrose Soln.	Egg Yolk	4Hours	24Hours	3Days	5Days	7Days
1	99	0	1	72	60	56	43	20
2	98	0	2	74	68	59	56	34
3	97	0	3	76	70	61	53	40
4	96	0	4	77	70	64	54	33
5	95	0	5	75	70	59	51	33
6	94	0	6	74	67	63	53	36
7	93	0	7	72	68	60	53	30
8	92	0	8	72	67	58	48	25
9	91	0	9	71	63	55	41	30
10	90	0	10	71	63	52	31	28
11	89	10	1	74	67	63	45	24
12	88	10	2	76	71	65	58	41
13	87	10	3	78	72	68	61	50
14	86	10	4	77	74	67	62	45
15	85	10	5	75	72	63	58	41
16	84	10	6	75	71	61	57	39
17	83	10	7	73	71	61	55	37
18	82	10	8	72	67	59	56	31
19	81	10	9	71	66	55	39	30
20	80	10	10	71	63	54	39	30
21	79	20	1	77	68	65	50	28
22	78	20	2	77	72	66	62	48
23	77	20	3	78	75	68	64	54
24	76	20	4	77	73	65	58	45
25	75	20	5	75	71	62	58	39
26	74	20	6	74	70	61	57	41
27	73	20	7	72	69	59	57	38
28	72	20	8	72	67	57	46	35
29	71	20	9	71	66	56	43	32
30	70	20	10	69	64	51	40	34
31	69	30	1	75	67	63	55	22
32	68	30	2	77	68	63	61	47
33	67	30	3	76	73	63	60	49
34	66	30	4	77	71	61	57	48
35	65	30	5	76	70	60	58	43
36	64	30	6	73	68	59	56	43
37	63	30	7	72	68	57	56	39
38	62	30	8	71	67	56	45	31
39	61	30	9	71	67	53	43	32
40	60	30	10	69	63	47	39	33
41	59	40	1	73	67	60	56	27
42	58	40	2	76	68	61	57	42
43	57	40	3	76	68	61	60	48

Table 1. Comparison of Survival Rates of Bull Spermatozoa Stored at 5°C for 7 Days in Skimmed Goat Milk with Various Ratio of 5% Dextrose Solution and Egg Yolk (concluded).

Treatment No.	Ratio of Dilution			Duration after Dilution				
	Skimmed Goat Milk	5% Dextrose Soln.	Egg Yolk	4Hours	24Hours	3Days	5Days	7Days
44	56	40	4	77	70	61	55	38
45	55	40	5	75	68	61	56	43
46	54	40	6	70	67	60	58	40
47	53	40	7	77	68	57	53	38
48	52	40	8	71	67	56	48	33
49	51	40	9	71	63	53	37	32
50	50	40	10	65	62	48	35	30
51	49	50	1	73	66	59	56	28
52	48	50	2	74	69	59	56	43
53	47	50	3	76	70	58	57	42
54	46	50	4	75	63	60	54	43
55	45	50	5	75	68	58	53	37
56	44	50	6	72	66	58	53	38
57	43	50	7	71	66	54	50	36
58	42	50	8	70	66	52	40	31
59	41	50	9	69	65	52	37	30
60	40	50	10	66	62	49	33	24
Control	29% Sodium Citate Soln. 4 : Egg Yolk 1			76	62	39	8	6

glycerol이 7 ml/100 ml 첨가된 處理區와 8 ml/100 ml 첨가된 處理區間에는 유의성이 없었으나 이 두 處理區는 다른 處理區 및 對照區와 비교하여 고도의 유의성을 나타내었다($p < 0.01$).

冷凍精液에서 融解後 生存率: 앞의 試驗에서의 處理區와 對照區를 융해 후 10분, 24시간, 3일 및 5일만에 각각 나누어 검사한 牛精자의 平均生存率은 第 2圖에 표시한 바와 같다.

保存성이 가장 우수하였던 것은 glycerol이 7% 첨가된 處理區이었고 對照區인 卵拘液에 비하여 월등히 좋았다. Glycerol의 添加比가 이보다 낮아지거나 높아질수록 그 保存성이 불량하여졌으며 回生率과 관련이 깊었다. 각 處理區의 平均生存率을 分散分析하였던 결과 glycerol의 添加比에 따라 고도의 유의성이 있었다($p < 0.01$). 보존일수별 平均生存率도 역시 고도의 유의성이 있었다($p < 0.01$).

考 察

Mann⁸⁾은 1946년에 精자의 에너지 대사에 있어서 에너지원이 될 수 있는 물질은 精淸의 果糖임을 알아내

었고 그 후 Van Tienhoven 등¹⁴⁾은 葡萄糖도 좋은 에너지원이 된다고 하였다.

Thacker 및 Almquist¹³⁾는 1953년에 牛乳를 92°C에서 10분간 가열처리하면 精자에 유해한 영향을 미치는 lactenin이라는 효소를 파괴할 수 있으며 또한 lactose가 가수분해되어 葡萄糖과 galactose로 변하여 精자에 좋은 에너지원이 된다고 하였다. 본질적으로 山羊乳가 가지고 있는 구성성분은 젖소의 젖의 구성성분과 약간씩 다른 점이 있으나 개략적으로 구성요소는 동일하기 때문에 山羊乳를 92°C에서 10분간 가열처리함으로써 얻어지는 성분은 우유에 못지 않게 牛精자에 대해서 좋은 에너지원이 되었으리라 믿어졌던 것이다⁹⁾.

卵黃은 精자의 에너지원이 될 뿐만이 아니라 緩衝劑 및 cold shock의 防止劑로서 널리 사용되어 왔다⁴⁾. Hendrikse 및 Joling⁹⁾은 脫脂牛乳에 卵黃을 5 ml/100 ml 첨가함으로써 牛精자의 活力이 가장 좋았다고 하였으나, 脫脂山羊乳에서는 卵黃이 3 ml/100 ml 첨가되었을 때 牛精자의 生存率이 가장 높았다. 이러한 차이는 脫脂牛乳와 脫脂山羊乳의 화학적인 성분의 차이에서 오는 결과가 아닌가 생각된다.

冷凍精液에서는 精液稀釋液에 抗凍劑로서 glycerol:

이 널리 첨가되었다. Almquist⁹⁾는 glycerol 이 脫脂牛乳에 10 ml/100 ml 이상 첨가될 경우에는 冷凍性이 좋지 못하다고 하였다. 또한 Steinbach 및 Foote¹²⁾는 脫脂牛乳에 첨가된 glycerol 의 이상적인 농도는 9 ml/100 ml 이하라고 주장한 바 있었다. 저자들의 실험에서는 脫脂山羊乳에는 glycerol 이 7 ml/100 ml 첨가되었을 때 牛精子的 回生率이 가장 높았는데 이 결과는 현재 脫脂牛乳 稀釋液에 첨가하는 glycerol 의 첨가율인 7~8 ml/100 ml 와 동일한 농도였으며 Steinbach 및 Foote¹²⁾의 주장을 뒷받침해 주기도 한다. 가장 牛精子的 回生率이 높았던 glycerol 이 7 ml/100 ml 첨가된 處理區와 다음으로 牛精子的 回生率이 높았던 glycerol 이 8 ml/100 ml 첨가된 處理區를 Duncan의 新多重檢定을 실시하였던 결과는 유의성이 없었으나 경제성을 고려하면 glycerol 의 첨가율은 7 ml/100 ml 가 더욱 적합하고 卵枸液보다는 월등히 牛精子的 保存性이 우수하였다.

Albright 등¹⁾은 精子的 대사를 조절하기 위하여 稀釋液에 glycerol 을 첨가하여 精子的 活力과 수명을 연장시킬 수 있다고 하였다. 第2圖에서 보는 바와 같이 보존일수가 길어짐에 따라 용해 후 각 處理區의 glycerol 농도가 牛精子的 生存率에 미치는 영향은 용해 후 回生率에 영향을 준 glycerol 의 농도 순으로 변하였다. 그러나 對照區인 卵枸液에서는 용해 10분 후 牛精子的 平均生存率이 41%로서 성적이 세번째로 좋았으나 보존일수가 길어짐에 따라 牛精子的 平均生存率은 현저히 감소하였으며 보존 5일째에는 牛精자가 모두 사멸하여 生存率이 가장 낮았다.

上記한 분석을 통하여 卵枸液을 牛精液의 稀釋液으로 사용하였을 때보다 牛精자의 生存率이나 回生率이 유의성 있게 높다는 것을 보아도 脫脂山羊乳가 소의 液狀精液이나 冷凍精液의 稀釋液으로서 가치가 높은 것으로 사료된다.

結 論

牛精液 稀釋液으로서 92°C에서 10분간 가열처리된 脫脂山羊乳가 牛精子 보존에 미치는 영향을 알아보기 위하여 脫脂山羊乳 : 5% 葡萄糖溶液 : 卵黃의 比를 여러 가지로 바꾸어 희석액을 조제하여 牛精液을 稀釋한 후 5°C에 보존하면서 7일간 5회에 걸쳐 牛精자의 生存率을 검사하였다. 한편 前記한 試驗에서 가장 성적이 좋았던 稀釋液(脫脂山羊乳 : 5% 葡萄糖溶液 : 卵黃의 比가 77 : 20 : 3입)에 여러가지 比率로 glycerol 을 첨가하여 이 희석액에 牛精液을 희석한 후 액체질소 탱크

에서 냉동시킨 다음 용해시켜 牛精자의 回生率을 검사하였다. 용해된 稀釋液들은 다시 5°C에 보존하면서 5일간 4회에 걸쳐 牛精자의 生存率을 검사하였다.

이 試驗에서 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 5°C에 보존하였던 稀釋液들 중에서는 脫脂山羊乳 77.5% 葡萄糖溶液 20, 卵黃 3의 比率로 이루어진 稀釋液에서 牛精자의 生存率이 가장 높았고 卵黃—2.9% 枸橼酸 나트륨(1 : 4) 稀釋液에서의 牛精자의 生存率보다도 有意的으로 높았다($p < 0.05$).

2. 액체질소 탱크에서 냉동하였던 稀釋液들 중에서는 脫脂山羊乳 77.5% 葡萄糖溶液 20, 卵黃 3의 比率로 이루어진 稀釋液에 glycerol 이 7 ml/100 ml 첨가되었을 경우 용해 후 牛精자의 回生率이 가장 높았고 glycerol 이 8 ml/100 ml 함유된 卵黃—2.9% 枸橼酸 나트륨(1 : 4) 稀釋液에서의 牛精자의 回生率보다도 有意的으로 높았다($p < 0.01$).

3. 용해 후 5°C에서 보존하였던 稀釋液들 중에서는 역시 脫脂山羊乳 77.5% 葡萄糖溶液 20, 卵黃 3의 比率로 이루어진 稀釋液에 glycerol 이 7 ml/100 ml 첨가되었을 경우 牛精자의 生存率이 가장 높았고 glycerol 이 8 ml/100 ml 함유된 卵黃—2.9% 枸橼酸 나트륨(1 : 4) 稀釋液에서의 牛精자의 生存率보다도 有意的으로 높았다($p < 0.01$).

參 考 文 獻

1. Albright, J.L., Erb, R.E. and Ehlers, M.H.: Influence of yolk-citrate, yolk-glycine, whole milk and skim milk extenders containing glycerol on motility of bovine sperm of 37 and 5°C. J. Dairy Sci. (1960) 39 : 250.
2. Almquist, J.O., Glantz, P.J. and Shaffer, H.S.: The effect of a combination of penicilin and streptomycin upon the livability and bacterial content of bovine semen. J. Dairy Sci. (1949) 32 : 183.
3. Almquist, J.O.: Diluents for bovine semen. XI. Effect of glycerol on fertility and motility of spermatozoa in homogenized milk and skim milk. J. Dairy Sci. (1963) 46 : 911.
4. Blackshaw, A.W. and Salisbury, G.W.: Factors influencing metabolic activity of bull spermatozoa. II. Cold-shock and its prevention. J. Dairy Sci. (1957) 40 : 1099.

5. Flipse, R. I. and Almquist, J.O.: Metabolism of bovine semen. II. Qualitative anaerobic catabolism of glucose-C by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* (1956) 39 : 782.
6. Hendrikse, J. and Joling, K. F.: Insemination with semen diluted with a mixture of skim milk and egg yolk. *Animal Breed. Abst.*(1958) 26 : 758.
7. Jacquet, J. and Cassou, R.: New work with skim milk as a basis for the dilution and preservation of bull semen. *Animal Breed. Abst.* (1952) 20 : 346.
8. Mann, T.: Studies on the metabolism of semen. 3. Fructose as a normal constituent of seminal plasma site of formation and function of fructose in semen. *Animal Breed. Abst.* (1946) 17 : 304.
9. Parkash, S. and Jenness, R.: The composition and characteristics of goats' milk; A review. *Dairy Sci. Abst.* (1968) 30 : 67.
10. Phillips, P.H. and Lardy, H.A.: A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull sperm. *Animal Breed. Abst.* (1940) 8 : 369.
11. Phillipse, P.H. and Spitzer, R.R.: A synthetic pabulum for the preservation of bull semen. *Animal Breed. Abst.* (1946) 17 : 33.
12. Steinbach, J. and Foote, R.H.: Post-thaw survival of bovine spermatozoa frozen by different methods in buffered-yolk and skim milk extenders. *J. Dairy Sci.* (1964) 57 : 909.
13. Thacker, D.L. and Almquist, J.D.: Diluters for bovine semen I. Fertility and motility of ovine spermatozoa in boiled milk. *J. Dairy Sci.*(1953) 36 : 173.
14. Van Tienhoven, A., Salisbury, G.W., Van Demark, N.L. and Hansen, R.C.: The preferential utilization by bull spermatozoa of glucose as compared to fructose. *J. Dairy Sci.* (1962) 35 : 637.
15. 李台現: 實驗生物統計學. 文運堂, 서울 (1967) p. 35, 75, 87, 219, 237.
16. 西川義正, 內藤元男: 家畜人工授精教本. 養賢堂, 東京 (1961) p. 56.

Effects of Skimmed Goat Milk as a Semen Extender on Preservation of Bull Spermatozoa

Hyo Jong Lee, D.V.M., M.S. and Soo Kak Oh, D.V.M., Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, College of Ariculture, Seoul National University

Abstract

Skimmed goat milk heated at 92°C for 10 minutes was used as a basal extender for bull semen. The extenders for liquid semen were prepared by adding simultaneously at various ratio of 5% dextrose solution and egg yolk to skimmed goat milk. After bull semen was diluted with the extenders at the rate of 20 million spermatozoa per ml of the extenders. The extenders were stored at 5°C and the survival rates of spermatozoa were examined at 4 and 24 hours, and 3, 5 and 7 days after dilution.

The extenders for frozen semen were prepared by addng various ratlo of glycerol to skimmed goat milk containing 20 parts of 5% dextrose solution and 3 parts of egg yolk to 77 parts of skimmed goat milk. After bull semen was diluted with the extenders at the rate of 40 million spermatozoa per ml of the extenders, the extenders were frozen in liquid nitrogen tank. The frozen extenders were thawed at 40°C for 2 minutes, and the revival rates of the

spermatozoa in the extenders were examined. These thawed extenders were stored at 5°C and the survival rates of the spermatozoa were examined at 10 minutes and 24 hours and 3 and 5 days after thawing.

The results obtained were as follows:

1. Among the extenders stored at 5°C, the survival rate of the sperm was the highest in the extender including 20 parts of 5% dextrose solution and 3 parts of egg yolk to 77 parts of skimmed goat milk, and the survival rate was significantly higher than that of the spermatozoa in egg yolk-2.9% sodium citrate (1:4) extender. ($p < 0.05$)

2. Among the extenders frozen in liquid nitrogen tank, the revival rate of the spermatozoa was the highest in the extender containing 7ml of glycerol per 100ml of the extender which consisted of 77 parts of skimmed goat milk, 20 parts of 5% dextrose solution and 3 parts of egg yolk, and the revival rate was significantly higher than that of the spermatozoa in egg yolk-2.9% sodium citrate (1:4) extender containing 8ml of glycerol per 100ml of the extender ($p < 0.01$).

3. Among the extenders stored at 5°C after thawing, the survival rate of the spermatozoa was the highest in the extender containing 7ml of glycerol per 100ml of extender which consisted of 77 parts of skimmed goat milk, 20 parts of 5% dextrose solution and 3 parts of egg yolk, and the survival rate was significantly higher than that of the spermatozoa in egg yolk-2.9% sodium citrate (1:4) extender containing 8ml of glycerol per 100ml of the extender ($p < 0.01$).