

液狀 및 凍結保存된 韓國在來山羊 精자의 運動性 및 尖體形態에 關한 研究

黃德洙 · 梁文韓 · 李揆丞 · 朴昌植

忠南大學校 農科大學

Study on Motility and Acrosome Morphology of Fresh and Deep-frozen Korean Native Goat Spermatozoa

Hwang, D. S., M. H. Yang, K. S. Lee and C. S. Park
College of Agriculture, Chungnam National University

Summary

This study was carried out to investigate the general semen characteristics of the Korean native goat and the effect of temperature, incubation time, dilution rate, freezing rate and glycerol concentration on motility and NAR (normal apical ridge) acrosome of fresh and frozen Korean native goat spermatozoa.

1. Average semen volume per ejaculate, motility, concentration and pH of fresh Korean native goat spermatozoa were 0.91 ± 0.09 ml, $94.5 \pm 0.47\%$, $26.17 \times 10^8 \pm 1.68/\text{ml}$ and 6.63 ± 0.18 , respectively.
2. Motility and NAR acrosome of fresh spermatozoa during incubation were higher at 22°C than at 5°C or 37°C ($P < .01$).
3. Motility and NAR acrosome of spermatozoa diluted 1:4 during incubation were higher at 22°C than at 5°C or 37°C ($P < .01$).
4. Motility and NAR acrosome of spermatozoa during incubation were higher for samples diluted 1:1, 1:2, or 1:4 than for samples diluted 1:6 ($P < .01$).
5. Motility and NAR acrosome of post-thaw spermatozoa were higher at freezing rate of $12^\circ\text{C}/\text{min}$ than at freezing rate of $1^\circ\text{C}/\text{min}$ or $24^\circ\text{C}/\text{min}$ when glycerol concentration was 9% ($P < .01$).

I. 緒 論

韓國在來山羊은 우리나라 固有의 在來家畜으로 옛부터 農家에서 飼育되어 주로 藥用이나 補身劑로 많이 利用되어 왔으나 같은 草食家畜인 乳牛나 肉牛에 比하여 經濟的 生産性이 낮기 때문에 增殖과 改良을 위한 研究가 뒤지고 있다.

그러나 最近 우리나라의 經濟成長과 더불어 補身劑로의 需要가 增加될 뿐만 아니라 學問研究의 實驗動物로 많이 利用되고 있어 앞으로 韓國在來山羊의 增殖과 改良을 위한 研究가 切實히 要求되고 있다.

家畜改良은 優秀한 種牡畜을 利用한 人工授精을 通하여 그 效果를 期待할 수 있는 바, 韓國在來山羊의 改良도 優秀한 種牡山羊을 通한 人工授精으로 이룩할 수 있을 것이다.

지금까지 韓國在來種牡山羊에 關한 繁殖生理分野의 研究들을 살펴보면 精巢 biopsy에 의한 造精機能과 發達狀態에 關한 朴과 李(1972)의 報告, 精巢 biopsy와 여름철 氣溫이 種牡山羊의 精液性狀에 미치는 影響에 關한 朴等(1972)의 報告, 一般的 精液性狀에 關한 姜과 鄭(1976)의 報告, 發育에 따른 精巢上體管의 組織 및 組織化學的 變化에 關한 李等(1987)의 報告가 있었다.

外國에서 특히 유럽의 여러나라들에서는 乳山羊에 대한 人工授精이 實施되고 있는 바, 여러 稀釋緩衝液을 利用한 凍結-融解精液의 受精能力에 關하여 Corteel (1973, 1977), Bonfert (1974) 그리고 Fougner (1979)의 報告가 있었다. Angora山羊의 液狀 및 凍結精液의 受精能力에 關하여는 Moore와 Eppleston (1979), Van der Westhuysen 등(1980) 그리고 Ritar 와 Salamon (1983)의 報告가 稀釋緩衝液에 關하여는 Salamon과 Ritar (1982)의 報告가 있었다.

緬羊의 凍結精液 利用에 關하여는 Entwistle과 Martin(1972), Visser와 Salamon(1973, 1974), Watson과 Martin (1973, 1975), Colas(1975) 그리고 Fiser와 Fairful(1986)의 報告가 있었다.

以上에서 살펴본 바와 같이 外國에서는 種牡山羊이나 緬羊의 液狀精液이나 凍結精液을 利用하여 人工授精을 實施하므로써 앞으로 山羊이나 緬羊의 集團을 改良하고 좀더 合理的이고 經濟的인 管理를하려는 研究가 進行되고 있다.

그러나 우리나라에서는 아직도 韓國在來山羊을 人工授精을 利用하여 改良하려는 研究는 전혀없는 實情인 바, 本 研究는 韓國在來山羊의 一般의인 精液性狀을 調査하고 液狀精液 및 凍結精液의 製造方法을 開發하므로써 韓國在來山羊의 改良에 寄與하고자 實施하였다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗動物

實驗動物은 忠南大學校 農科大學 畜産學科 動物飼育場에서 飼育하고 있는 18~24個月令의 韓國在來種牡山羊 4頭를 使用하였으며, 飼養管理는 NRC 飼養標準에 맞추어 實施하였다.

2. 精液採取

精液採取는 人工臍을 利用하여 3日間隔으로 一定하게 午前 10~11時 사이에 實施하였다.

3. 精子運動性 및 尖体形態의 評價

精子運動性은 稀釋緩衝液으로 200倍로 稀釋하여 슬라이드 위에 0.01ml를 떨어뜨리고 카버·그라스

로 덮은 후 37°C의 슬라이드 加溫裝置가 附着된 顯微鏡下에서 400×로 調査하였다(實驗 1~5).

尖體形態는 Pursel等(1972)의 方法에 따라 NAR(normal apical ridge), DAR(damaged apical ridge), MAR(missing apical ridge) 그리고 LAC(loose acrosomal cap)로 區分한 后(Fig 1~4) NAR形態만을 表示하였다. 固定液으로는 2% glutaraldehyde solution을 使用하였으며, 原精液: 固定液의 稀釋比率은



Figure 1. Normal apical ridge(NAR)

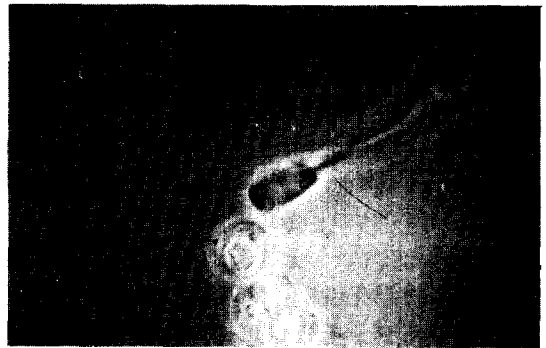


Figure 2. Damaged apical ridge(DAR)

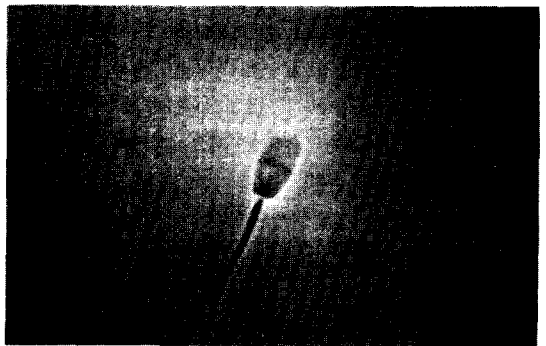


Figure 3. Missing apical ridge(MAR)



Figure 4. Loose acrosomal cap (LAC)

Figure 1 to 4.

Phase-contrast micrographs of fixed Korean native goat spermatozoa classified according to acrosome morphology. All figures 1500X.

1 : 200으로 하였다. 尖體形態의 評價는 位相差顯微鏡(Olympus Photomicrographic, Japan)으로 한 슬라이드 위에 두개의 sample을 떨어 뜨리고 카버·그라스를 덮은 후 각각 100개의 尖體를 觀察하여 平均하였다(實驗 1 ~ 5).

5. 實驗方法

實驗 1 은 1ml이 100等分된 pipette를 使用하여 精液量을 pH Meter (TOA Electronic LTD, Japan)를 使用하여 pH를, Salisbury等(1961)의 血球計算器法을 利用하여 精子濃度를 測定하였다.

實驗 2 는 原精液을 採取直后 5°C, 22°C 및 37°C에 保存하고 培養時間을 0.5時間, 3時間 및 6時間으로 하여 精子運動性과 尖體形態를 評價하였다.

實驗 3 은 原精液과 Salamon과 Ritar(1982)의 Tris-glucose diluent [Tris-(hydroxymethyl) aminomethane 375mM, Glucose 41.625mM, Citric acid 124 mM] 와를 採取直后溫度 30°C 前後에서 1 : 4로 稀釋한 后 5°C, 22°C 및 37°C에 保存하고, 培養時間을 0.5時間, 3時間 및 6時間으로 하여 精子運動性과 尖體形態를 評價하였다.

實驗 4 는 原精液과 Tri-glucose diluent를 採取直后 溫度인 30°C 前後에서 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4 및 1 : 6으로 稀釋한 后 22°C에 保存하고 培養時間을 0.5時間, 3時間, 6時間, 9時間 및 24時間으로 하여 精子運動性과 尖體形態를 評價하였다.

實驗 5 는 原精液과 一次稀釋緩衝液(Tris-glucose diluent + 4% egg yolk)를 30°C 前後에서 1 : 2로 稀釋하였다. 一次稀釋液은 5°C 冷藏室에서 2時間 保存后 같은 5°C의 2次稀釋緩衝液(Tris-glucose diluent + 4% egg yolk + glycerol)으로 稀釋하여 最終稀釋倍率이 1 : 4가 되도록 하였다. 最終 그리세올濃度는 各各 3%, 6% 및 9%였다. 最終稀釋이 끝난 精液은 0.5ml의 plastic straw에 分注 및 封印되었다. 이때 精子濃度는 $5 \sim 6 \times 10^8$ /ml 이었으며, 그리세올 平衡時間은 5°C에서 6時間으로 하였다. 凍結는 自動細胞凍結機(R-204 Cell Freezer, Planer Products, England)로 實施하였는 바, 5°C에서 -5°C까지는 4°C/min의 速度로 冷却되었으며, -5°C에서 3時間 靜置하여 植水(seeding)하였으며, -80°C까지 1°C/min, 12°C/min 및 24°C/min의 凍結速度로 凍結한 后 液體窒素에 沈清하여 保管하였다. 液體窒素桶에 2日間 保管后 37°C의 水槽에서 10秒間 融解하였다. 融解后 22°C에 保存하고, 培養時間을 0.5時間 및 2時間으로 하여 精子運動性과 尖體形態를 評價하였다.

III. 結果 및 考察

實驗 1 의 結果는 Table 1에 나타난 바와 같다. 1回射出精液量은 0.91ml, 精子運動性은 94.5%, 精子濃度는 26.18×10^8 /ml, 그리고 pH는 6.63으로 成山羊에 대한 精液性狀을 報告한 Knoblauch(1962), Wilkins(1963), Bonfert(1968), Tewari等(1968), 그리고 Shhni와 Roy(1969)의 結果와 잘 一致하고 있었다. 한편, 韓國在來山羊에 대한 精液性狀을 報告한 朴과 李(1972), 朴等(1972) 그리고 姜과 鄭(1976)의 結果와 比較하여 불배 精液量과 精子濃度를 除

Table 1. Semen characteristics of Korean native goat (experiment 1)

Method of semen collection	Volume (ml)	Motility (%)	Sperm concentration (10^8 /ml)	pH
Artificial vagina	0.91 ± 0.09 ^a	94.5 ± 0.47 ^a	26.17 ± 1.68 ^a	6.63 ± 0.18 ^a

a Values are mean ± S. E. for 12 ejaculates in 4 Korean native goats.

外하고는 비슷한 成績을 보였다. 本 實驗의 精液量과 精子濃도가 높은 것은 電氣刺戟法이 아닌 人工腔法으로 精液을 採取한 原因뿐만 아니라 個體, 飼養管理, 精液採取技術에 의한 差異로 思料된다.

2. 原精液의 保存溫度가 精子運動性 및 尖體形態에 미치는 影響

實驗 2의 結果는 Table 2에 나타난 바와 같다. 精子運動性은 22°C 保存의 경우 0.5時間, 3時間 및 6時間 培養時 各各 94%, 64% 및 48%로 모두 5°C나 37°C 保存의 경우 보다 높게 나타났으며 正常尖體의 比率도 22°C 保存의 경우 0.5時間, 3時間 및 6時間 培養時 各各 92%, 81% 및 71%로 모두 5°C나 37°C 保存의 경우 보다 높게 나타났다($p < .01$).
Table 2.

Effect of temperature on motility and NAR acrosomes of fresh Korean native goat spermatozoa (experiment 2)

Treatment (°C)	Motility (%) ^a			NAR (%) ^a		
	0.5h	3h	6h	0.5h	3h	6h
5	66 ^a	28 ^a	23 ^c	45 ^a	40 ^a	32 ^c
22	94 ^b	64 ^b	48 ^b	92 ^b	81 ^b	71 ^b
37	86 ^c	50 ^c	25 ^c	75 ^c	69 ^c	32 ^c
SEM	1.54	1.71	1.45	1.85	1.90	2.01

a Values are least squares means, n=12.
SEM is pooled standard error.
bcd Means in the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.1$).

모든 保存溫度別 培養時間에 따른 精子運動性과 正常尖體의 比率은 3時間 以後부터 급격히 낮아지는 傾向을 보였다($p < .01$). 이와같이 5°C 保存時 精子運動性이 낮은 것은 갑자기 射出精液의 溫度를 0~15°C로 내릴 경우 低溫衝擊으로 精子運動性이 낮아진다는 Blackshaw (1954), Blackshaw와 Salisbury (1957), Mann과 Lutwak-Mann (1955), Mager (1955) Pursel 등 (1972)의 報告와 잘 一致하고 있으며, 低溫衝擊을 받으면 正常尖體의 比率이 낮아진다는 Hancock (1952, 1957), Walton (1957), Pursel 등 (1972)의 報告와도 잘 一致하고 있다.

3. 稀釋精液의 保存溫度가 精子運動性 및 尖體形態에 미치는 影響

實驗 3의 結果는 Table 3에 나타난 바와 같다. 精子運動性은 22°C 保存의 경우 0.5時間, 3時間 및 6時間 培養時 各各 93%, 83% 및 57%로 모두 5°C나 37°C 保存의 경우 보다 높게 나타났으며 ($p < .01$), 正常尖體의 比率도 22°C 保存의 경우 0.5時間, 3時間 및 6時間 培養時 各各 95%, 83% 및 72%로 모두 5°C나 37°C 保存의 경우 보다 높게 나타났다 ($p < .01$). 以上の 結果를 實驗 2의 原精液의 保存溫度와 比較해 볼때 Tris-glucose diluent로는 低溫衝擊으로 부터 精子를 保護할 수 없었으며, 22°C 保存의 경우 精子運動性과 正常尖體의 比率은 3時間 培養時까지 큰 變化를 觀察할 수 없었다.

Table 3. Effect of temperature on motility and NAR acrosomes of diluted Korean native goat spermatozoa (experiment 3)

Treatment (°C)	Motility (%) ^a			NAR (%) ^a		
	0.5h	3h	6h	0.5h	3h	6h
5	32 ^a	33 ^a	34 ^c	41 ^a	45 ^a	43 ^c
22	93 ^b	83 ^b	57 ^b	95 ^b	83 ^b	72 ^b
37	71 ^c	61 ^c	34 ^c	79 ^c	72 ^c	42 ^c
SEM	2.59	2.31	2.47	2.81	2.09	2.78

a Values are least squares means, n=12
SEM is pooled standard error.
bed Means in the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.1$).

4. 稀釋倍率이 精子運動性 및 尖體形態에 미치는 影響

實驗 4의 結果는 Table 4에 나타난 바와 같다. 精子運動性은 稀釋倍率이 1 : 6인 경우 0.5時間, 3時間, 6時間 및 9時間 培養時 各各 68%, 60%, 51% 및 23%로 모두 稀釋倍率이 1 : 1, 1 : 2, 및 1 : 4인 경우 보다 낮게 나타났으며 ($p < .01$), 24時間 培養時는 거의 精子運動性이 停止되어 稀釋倍率間에 差異가 없었다. 正常尖體의 比率은 稀釋倍率이 1 : 6인 경우 0.5時間, 3時間, 6時間, 9時

Table 4 . Effect of dilution rate on motility and NAR acrosomes of Korean native goat spermatozoa at 22°C (experiment 4)

Dilution rate (Semen:diluent)	Motility (%) ^a					NAR (%) ^a				
	0.5h	3h	6h	9h	24h	0.5h	3h	6h	9h	44h
1 : 1	86 ^b	72 ^b	60 ^b	32 ^b	3	83 ^b	72 ^b	72 ^b	71 ^b	62 ^b
1 : 2	89 ^b	75 ^b	61 ^b	32 ^b	4	86 ^b	80 ^b	73 ^b	70 ^b	63 ^b
1 : 4	87 ^b	76 ^b	59 ^b	33 ^b	3	86 ^b	81 ^b	71 ^b	70 ^b	65 ^b
1 : 6	68 ^c	60 ^c	51 ^c	35 ^b	3	72 ^c	65 ^c	58 ^c	53 ^c	50 ^c
SEM	2.12	2.58	2.37	2.41	0.95	2.51	2.63	2.99	2.78	2.25

a Values are least squares means, n=12.

SEM is pooled standard error.

bc Means in the same column with different superscripts differ significantly (p<0.1)

間 및 24時間 培養時 各各 72%, 65%, 58%, 53% 및 50%로 모두 稀釋倍率在 1 : 1, 1 : 2 및 1 : 4 인 경우 보다 낮게 나타났다 (p<.01). 모든 稀釋倍率에서 培養時間에 따른 精子運動性은 3時間 以後 急激히 낮아지는 傾向이었으나 正常尖體의 比率는 比較的 서서히 낮아지는 傾向을 보였다. 以上の 結果를 綿羊精子의 生存率이 稀釋液構成成分, 稀釋方法, 稀釋倍率에 따라 差異가 있다는 Salamon 과 Ritar (1982)의 報告와는 正確히 比較할 수 없었으나, Tris-glucose diluent를 使用하는 경우 4倍의 稀釋倍率까지는 精子運動性과 正常尖體의 比率에 影響을 미치지 않는 것으로 思料된다.

5. 凍結速度 및 그리세올濃度가 精子運動性 및 尖體形態에 미치는 影響

實驗 5의 結果는 Table 5에 나타난 바와 같다. 凍結速度에 따른 精子運動性을 살펴보면 12°C/min의 凍結速度에서는 融解后 0.5時間, 2時間 培養時 各各 30%, 23%로 1°C/min나 24°C/min의 凍結速度 보다 높았으며 (p<.01), 正常尖體의 比率도 精子運動性의 結果와 같은 傾向을 나타내었다 (p<.01). 以上の 結果는 稀釋液의 構成成分 및 凍結速度가 精子運動性 및 正常尖體의 比率에 影響을 준다는 Jones (1969), Senger 等 (1983) 그리고 Fiser와 Fairful (1986) 등의 報告와는 잘 一致하였으나 큰 影響을 미치지 않는다는 Watson과 Martin (1975), Robbins 等 (1976)의 報告와는 差異가 있었다.

그리세올濃度에 따른 精子運動性을 살펴보면 1°C

Table 5. Effect of freezing rate and glycerol concentration on post-thaw sperm motility and NAR acrosomes in 0.5ml straw (experiment 5)

Freezing rate (°C/min)	Glycerol Concentration (%)	Motility (%) ^a		NAR (%) ^a	
		0.5h	2h	0.5h	2h
1	3	15 ^e	11 ^e	19 ^e	8 ^e
	6	30 ^d	25 ^d	35 ^d	21 ^d
	9	31 ^d	24 ^d	34 ^d	20 ^d
	X	25 ^c	20 ^c	29 ^c	16 ^c
12	3	19 ^f	14 ^f	22 ^f	11 ^f
	6	31 ^e	25 ^e	37 ^e	20 ^e
	9	39 ^d	31 ^d	42 ^d	25 ^d
	X	30 ^b	23 ^b	34 ^b	19 ^b
24	3	15 ^f	11 ^f	17 ^f	9 ^f
	6	27 ^e	22 ^e	31 ^e	18 ^e
	9	32 ^d	26 ^d	37 ^d	21 ^d
	X	25 ^c	19 ^c	28 ^c	15 ^c

a Values are least squares means, N=12 or 36 (X). Straws were thawed by submersion in a 37°C Water bath for 10sec.

bc Means (only s were compared) in the same column with different superscripts differ significantly (p<0.1).

def

Means in the same column within the freezing rate with different superscripts differ significantly (p<0.1).

/min의凍結速度에서는融解后0.5時間,2時間培養時 모두6%나9%의그리세올濃度の경우가3%의그리세올濃度の경우보다높았으며($p < .01$),正常尖體의比率도精子運動性의結果와같은傾向을 나타내었다($p < .01$). 12°C/min나24°C/min의凍結速度에서는融解后0.5時間,2時間培養時 모두9%의그리세올濃度の경우가精子運動性和正常尖體의比率이제일높았으며,6%그리세올濃度の경우가그다음으로높았고,3%그리세올濃度の경우가제일낮았다($p < .01$). 以上の結果는緬羊의스트로凍結精液製造時凍結速度1°C/min나12°C/min의경우最適그리세올濃도가7.5%라는Watson과Martin(1975)의報告나凍結速度10°C/min에서부터100°C/min까지의경우最適그리세올濃도가4~6%라는Fiser와Fairful(1986)의報告보다약간높았다.

지금까지結果를綜合해보면凍結速度는12°C/min,그리세올濃度는9%로凍結精液을製造했을경우精子運動性和正常尖體의比率이가장높았다.

IV. 摘要

本研究는韓國在來山羊의一般的精液性狀을調査하고溫度,培養時間,稀釋倍率,凍結速度및그리세올濃도가液狀및凍結精子의運動性이나正常尖體의比率에미치는影響을究明하기위하여實施한바,그얻어진結果는다음과같다.

1. 韓國在來山羊精자의平均1회射出精液量은 0.91 ± 0.09 ml,運動性은 $94.5 \pm 0.47\%$,精子濃度는 $26.18 \times 10^8 \pm 1.68$ /ml,그리고pH는 6.63 ± 0.18 이었다.

2. 原精液의精子運動性和正常尖體의比率은5°C나37°C에서의培養時보다22°C에서의培養時가더높았다($p < .01$).

3. 原精液을1:4로稀釋했을경우精子運動性和正常尖體의比率은5°C나37°C에서의培養時보다22°C에서의培養時가더높았다($p < .01$).

4. 原精液의稀釋倍率및培養時間에따른精子運動性和正常尖體의比率은原精液:稀釋緩衝液의比率이1:1,1:2및1:4의경우가1:6의경우보다더높았다($p < .01$).

5. 融解后精子運動性和正常尖體의比率은그리세올濃도가9%일때12°C/min의凍結速度로凍結

한경우가1°C/min나24°C/min의凍結速度로凍結한경우보다더높았다($p < .01$).

V. 引用文献

1. Blackshaw, A.W. 1954. The prevention of temperature shock of bull and ram semen. *Aust. J. Biol. Sci.* 7:573.
2. Blackshaw, A.W. and C.W. Salisbury. 1957. Factors influencing metabolic activity of bull spermatozoa. II. Cold shock and its prevention. *J. Dairy Sci.* 40:1099.
3. Bonfert, A. 1968. Die Bedeutung der Spermaqualität für das Dinfieren von Ziegenbocksperma. VI Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif., Paris, Vol. II. 1613-1614.
4. Bonfert, A. 1974. Die Kunstliche Besamung bei der Ziege. In 'kunstliche Besamung und Ei-transplantation bei Tier und Mensch'. (Ed. S. K. Paufler.) Vol. 1. pp.125-35. (M. and H. Schaper: Hanover.).
5. Colas, G. 1975. Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep frozen ram semen. *J. Reprod. Fertil.* 42:277.
6. Corteel, J.M. 1973. L'insemination artificielle caprine: bases physiologiques, e'tat actuel et perspectives d'avenir. *World Rev. Anim. Prod.* 9(1):73.
7. Corteel, J.M. 1977. Production, storage and artificial insemination of goat semen. In 'Management of Reproduction in Sheep and Goats'. Symposium, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, July 24-25, 1977, pp.41-57.
8. Entwistle, K.W. and I.C.A. Martin. 1972. Effects of composition of diluent, method of addition of glycerol, freezing rate, and storage temperature on the revival of ram

- spermatozoa after deep freezing. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:379.
9. Fiser, P.S. and R.W. Fairfull. 1986. Combined effects of glycerol concentration, cooling velocity, and osmolality of skim milk diluents on cryopreservation of ram spermatozoa. *Theriogenology*. 25(3):473.
 10. Fougner, J.A. 1979. The intrauterine insemination in the goat with frozen sperms. There years in practical use. *Zuchthygiene (Berl.)* 14:104.
 11. Hancock, J.L. 1952. The morphology of bull spermatozoa. *J. Exp. Biol.* 29:445.
 12. Hancock, J.L. 1957. The morphology of boar spermatozoa. *J. Roy. Micro. Soc.* 76:84.
 13. Jones, R.C. 1969. Influence of diluents and processing times after ejaculation on the survival of deep-frozen ram spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.* 22:995.
 14. Knoblauch, H. 1962. Investigations on goat ejaculates. *Animal Breeding Abstr.* 31:1309.
 15. Mann, T. and C. Lutwak-Mann. 1955. Biochemical changes underlying the phenomenon of cold shock in spermatozoa. *Arch. Sci. Biol.* 39:578.
 16. Mayer, D.T. 1955. The Chemistry and certain aspects of the metabolic activities of mammalian spermatozoa. *Mich. State Univ. Cent. Sympos. Reprod. Infertil.* 45.
 17. Moore, N.W. and J. Epplston. 1979. The control of oestrus, ovulation and fertility in relation to artificial insemination in the Angora goat. *Aust. J. Agric. Res.* 30:965.
 18. Pursel, V.G., L.A. Johnson and G.B. Rampacek, 1972. Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *J. Anim. Sci.* 34(2):278.
 19. Ritar, A.J. and S. Salamon. 1983. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 36:49.
 20. Robbins, R.K., R.G. Saacke and P.T. Chandler. 1976. Influence of freeze rate, thaw rate and glycerol level on acrosomal retention and survival of bovine spermatozoa frozen in French straws. *J. Anim. Sci.* 42:145.
 21. Sahni, K.L. and A. Roy. 1969. Influence of season on semen quality of rams and effects of dilutors and dilutions on in vitro preservation. *Animal Breeding Abstr.*, 38:2682.
 22. Salamon, S. and A.J. Ritar. 1982. Deep freezing of Angora goat semen: effects of diluent composition, method and rate of dilution on survival of spermatozon. *Aust. J. Biol. Sci.* 35:295.
 23. Salisbury, G.W. and N.L. Vandemark. 1961. *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.* W.H. Freeman & Company. p.239.
 24. Senger, P.L., J.R. Mitchell and J.O. Almquist. 1983. Influence of cooling rates and extenders upon post-thaw viability of bovine spermatozoa packaged in .25-and .5-ml French straws. *J. Anim. Sci.* 56(6):1261.
 25. Tewari, S.B., R.P. Sharma and A. Roy. 1968. Effect of frequency of semen collection on seminal attributes and fertility in goat. *Animal Breeding Abstr.*, 38:544.
 26. Van der Westhuysen, J.M., D. Wentzel, K.S. Viljoen and P.G. Loubser. 1980. Conception rates of Angora ewes inseminated with deep-frozen semen. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 10:237.
 27. Visser, D. and D. Salamon. 1973. Fertility of ram spermatozoa frozen in a Tris-based diluent. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:513.
 28. Visser, D. and S. Salamon. 1974. Fertility following inseminations with frozen-thawed

- reconcentrated and unconcentrated ram semen. *Aust. J. Biol. Sci.* 27:423.
29. Walton, A. 1957. Cold shock of spermatozoa. *Proc. R. Soc.* B147-508.
30. Watson, P.F. and I.C.A. Martin. 1973. The response of ram spermatozoa to preparations of egg yolk in semen diluents during storage at 5°C and -196°C. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:927.
31. Watson, P.F. and I.C.A. Martin. 1975. The influence of some fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5°C. *Aust. J. Biol. Sic.* 28:145.
32. Wilkins, J.H. 1963. Preliminary observations on the semen of goat. *Animal Breeding Abstr.*, 32:2157.
33. 姜錫元·鄭吉生. 1976. 韓國在來山羊의 精液性狀에 關한 研究. *韓國畜産學會誌.* 18(2):117
34. 朴燕鎮·朴忠生·李用斌. 1972. 정소 Biopsy 와 여름철 기온이 재래산양의 정액성상과 정소조직에 미치는 영향. *韓國畜産學會誌.* 14:251
35. 朴忠生·李用斌. 1972. 性成熟期를 통한 在來山羊의 精巢 Biopsy 에 關한 研究. *韓國畜産學會誌.* 14:1.
36. 李成鎬·金昌根·鄭英彩·李載洪·李芳煥. 1987. 韓國在來山羊 精巢上體管의 發育에 따른 組織 및 組織化學的 變化. *韓國家畜繁殖學會誌.* 11(3):189.