

재래 칩소의 정액 특성 및 인공수정에 의한 송아지 모색 분포

박연수[†] · 황환섭 · 유재원 · 김남욱

강원도 축산기술연구센터

Characteristics of Semen and Coat Color Distribution of Offsprings Produced by AI in Korean Native Striped Cattle (*Bos namadicus Falconer*, Chikso)

Yeon-Soo Park[†], Hwan-Sub Hwang, Jae-Won Yoo and Nam-Wook Kim

Gangwon Livestock Research Center, Hoengseong 250-831, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to examine the characteristics of fresh and frozen semen, proliferating efficiency by AI, and the coat color of offsprings in Korean Native Striped Cattle (*Bos namadicus Falconer*, Chikso). Semen were collected from 6 heads of tiger-coated male Chikso. *In vitro* fertilization (IVF) was conducted with frozen-thawed semen and *in vitro* matured Korean native brown cattle (general Hanwoo) oocytes. Total 18 heads of Hanwoo and Chikso were inseminated using Chikso semen. Coat colors of total 40 offsprings produced by AI were evaluated. The characteristics of the fresh and frozen-thawed Chikso semen did not differ among individuals. *In vitro* fertilization rate of Chikso semen was not different from that of general Hanwoo semen. However, developmental rate to the blastocyst stage of IVF embryos was higher in Chikso semen (25.9%) than in general Hanwoo semen ($p < 0.05$). There was no difference in conception rate after AI between Chikso and general Hanwoo. The coat colors of offsprings varied, only 42.5% (17/40 heads) of offsprings had tiger coat color. Furthermore, only 55% of offsprings produced from the tiger-coated recipients had tiger coat color. This result shows that proliferation of Chikso by AI is possible, but further research approaches may be needed to enhance the productivity of tiger-coated Chikso.

(Key words : Korean native striped cattle, Semen characteristics, AI, Coat color)

요 약

본 연구는 인공수정 기법을 이용한 칩소의 증식효율을 검토하고자 칩소 종모우의 정액을 채취하여 종모우별 정액성상, 동결융해 후 정액의 특성, 수태율 평가를 위한 체외수정 및 인공수정 후 수태율과 송아지의 모색 분포 등에 대하여 검토하였다. 정액은 호반모를 가진 수컷 6두에서 채취하였으며, 동결 융해 후 체외수정을 실시하였다. 총 18두의 칩소 및 일반 한우 암컷에 인공수정 후 수태율을 확인하였고, 생산된 40두의 송아지를 대상으로 모색을 분석하였다. 칩소 정액의 동결 전 일반 성상은 개체 간에 차이가 없었으며, 동결 후의 생존율과 활력에서도 개체별 차이가 없었다. 체외수정에 의한 수정 능 분석 결과, 수정율에는 차이가 없었으나 배반포 발육율이 일반 한우에 비하여 칩소 정액 체외수정 시 25.9%로 유의하게 높았다($p < 0.05$). 인공수정 후 임신율에는 일반 한우와 칩소 간에 차이가 없었다. 칩소 정액의 인공수정 후 태어난 송아지의 모색 표현형은 40두의 송아지 중 호반모(Tiger)가 17두(42.5%)로, 황흑모, 흑황모, 흑모 및 황모에 비하여 높았으나 전체적으로 낮은 발현율을 나타내었다. 또한 호반모 암컷에 인공수정한 경우에도 55%의 송아지만 호반모로 발현되었다. 이상의 결과는 인공수정에 의한 칩소의 증식이 가능하나 호반모 칩소의 발현 빈도를 높이기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

서 론

한우 중에는 칩소(호반우), 흑우, 풀소 등 현재는 이름조차 듣기 힘든 소들이 있었으나, 본격적인 한우의 육종 개량이 시작되면서 순수 한우 혈통 보전을 명분으로 피

모색, 비경 등 고유 황색 계통에서 흑비경(나 등, 1986), 흑모, 백반 등 이모색이 출현되면 실격우로 도태되거나 한우로서 혈통등록을 할 수 없어 농가로부터 사육이 기피되어 왔다. 이 중 칩소(*Bos namadicus Falconer*, Chikso)만이 현재까지 명맥을 유지하고 있으며, 최근에는 재래 가축의 보전 및 복원사업이 추진되면서 칩소의 세포 유

[†] Corresponding author : Phone: +82-33-345-5167, E-mail: 0208pys@naver.com

전적 특성 연구가 이루어지고 있다(손 등, 2000; 이 등, 2000; 이 등, 2002).

최소의 혈통보존 및 증식을 위하여 인공수정 방법이 일반적으로 활용되고 있다. 최소 정액의 생산은 일반적으로 최소 종모우를 보유하고 있는 기관 등에서 간이 동결법에 의해 동결정액을 동결한 후 인공수정에 이용하고 있다. 현재 인공수정 기술이 최소의 주된 증식기술로 활용되고 있으나, 호반모를 가진 종모우의 정액을 이용한 인공수정이라 할지라도 태어나는 후대의 모색이 부모의 모색과 같은 최소(호반모)의 형태가 아닌 전신 흑모, 부분 흑모, 6흑(눈, 입, 비경 주위, 꼬리 끝, 발, 귀) 등으로 나타나거나 또는 일반 갈색 한우의 모색을 띄고 태어나 순수 한우와 구별조차 어려울 정도로 출현되고 있다. 이는 최소 모색유전 및 혈통이 고정되어 있지 않으며 한우의 모색 유전에서 변형이 이루어지거나 개체가 지니고 있는 유전인자의 복합적인 영향에 의하여 자손의 모색이 어미의 모색과 일치하지 않는 것으로 추측되고 있다.

한편, 최소의 인공수정에 의한 혈통보존과 증식에 관한 연구가 아직은 체계화되지 않고 있는 실정이다. 이는 최소를 보유하고 있는 농가가 소규모이거나 기관에서 보유하고 있는 최소의 수도 많지 않기 때문에 체계적인 연구가 쉽지 않기 때문으로 판단된다. 그러다 보니 인공수정에 의해 생산되는 최소 송아지의 모색에 관한 상세한 연구 결과도 도출되어 있지 않은 실정이다. 재래 최소의 혈통보존과 증식을 위해서는 무엇보다도 최소 종모우의 정액성상, 동결정액의 특성, 수정능력 및 인공수정에 의해 생산되는 후대의 모색 분포 등과 같은 기초적인 자료의 확보가 선행되어야 한다.

따라서 본 연구는 인공수정 기법을 이용한 최소의 증식효율을 검토하고자 최소 종모우의 정액을 채취하여 종모우별 정액성상, 동결융해 후 정액의 특성, 수태율 평가를 위한 체외수정 및 인공수정 후 수태율과 송아지의 모색 분포 등에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

공시축 및 실험기간

실험축은 강원도 축산기술연구센터에서 사육중인 외모상 피모색이 호반모(황색과 흑색의 줄무늬)가 뚜렷한 최소 수컷 6두(평균 2세)와 암컷 12두를 활용하였다. 암컷의 경우는 실험기간 중 1~3회 인공수정에 활용하여 총 18두의 암컷 최소를 인공수정에 공시하였다.

정액채취 및 검사

최소 후보종모우는 정액채취 전 축사 내에서 코링작업을 통하여 보정하였고 발정증상을 보인 의빈축을 활용한 승가훈련을 3~4개월 정도 적응시켰다. 정액의 채취는 인공질법을 이용하였는데, 인공질(NFA40, FHK, Japan)에 고무내피와 누두부, 정액채취관 및 햇벌을 차단하는 커버를 장착한 후 40°C 온수로 채워 K-Y jelly cream과 압력을 적절히 조절하여 승가한 후보종모우의 생식기에 끼워 정액을 채취하였다. 채취한 정액은 즉시 실험실로 운송하여 정액량, 농도, 색깔 및 냄새 등 정액의 일반적인 성상

을 육안적 검사로 실시하고, 위상차현미경(BX50, Olympus, Japan)과 컴퓨터로 연결된 이미지 분석장치(DP70, Olympus)에서 Counting Chamber Makler (Sefi-Medical Instruments Ltd., Israel)를 이용하여 생존율, 기형율, 활력을 조사하였다.

동결액의 제조

정자의 동결에 이용한 동결액은 Triladyl(Mini Tub, Germany)을 기본용액으로 사용하였다. Triladyl 완충액의 제조는 750 ml의 초순수(HPLC Reagent, J.T. Baker, USA)에 250 ml의 triladyl을 38°C에서 2시간 동안 stirrer/hot plate로 교반하여 1차 용액을 제조하였다. 제조된 1차 용액 100 ml에 난황 25 ml를 첨가하여 교반하여 2차 용액을 제조하고 0.8 µm 필터로 여과하여 동결 때까지 냉장보관하면서 사용하였다.

정액동결 및 융해 후 검사

채취한 정액을 동은 동량의 2차 완충용액으로 혼합한 후 정자 계산관으로 정자수를 검사하여 5×10^7 이 되도록 2차 완충액을 추가 첨가하였다. Straw는 스트로프린트(SF-200, FHK)로 개체번호, 제조년월일 등을 인쇄하여 5°C에 보관하였다. 혼합된 정액을 삼각 플라스크에 넣어 BOD incubator (4°C)에서 2시간 동안 1차 냉각을 하였다. 냉각된 정액을 Straw filling & sealing machine(AS-070, FHK)을 이용하여 straw에 충전하여 초음파로 봉입하고 100 스트로 용량의 스트로 랙에 정렬하여 액체질소(-80~-85°C) 상단 약 5 cm에서 30분 이상 예비 동결을 한 후 액체질소에 침전하여 동결보존하였다.

동결보존 중인 동결정액을 정액용해기(AI-CT, CITO, USA)를 사용하여 35°C 온수에서 융해한 후 straw에 물을 종이타월로 깨끗이 제거하고 straw 전용 커터를 사용하여 절단하였다. 슬라이드그라스와 커버글라스를 정액가온기(HT400, Mini Tub)에 올려 38°C로 가온하여 동결 융해한 정액성상을 위상차현미경(BX50, Olympus)과 컴퓨터로 연결된 이미지 분석장치(DP70, Olympus)로 생존율, 기형율, 활력 등을 분석하였다.

체외수정능 검사

도축된 일반 한우의 난소에서 직경 2~7 mm의 난포로부터 난포란을 흡인 채취하여 3% FBS와 10 µl/ml antibiotic antimycotic (Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA) 이 첨가된 PBS(Gibco-BRL) 배양액으로 3~4회 세척한 후 TCM-199(Gibco-BRL)에 5% FBS와 10 µl/ml antibiotic antimycotic 및 2 µl/ml gentamicin solution(Sigma, St. Louis, MO, USA)이 함유된 체외성숙 배양액으로 4~5회 세척하면서 난구세포의 부착상태가 치밀한 것만을 선별하여 실험에 제공하였다. 회수된 난포란은 φ60 mm 배양 접시(Corning)에 mineral oil(Sigma)로 피복된 50 µl의 체외성숙용 배지에 15개씩의 난포란을 옮겨 39°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 체외성숙시켰다.

한우 보증 종모우 정액과 최소의 동결정액 각각 1개씩을 37°C의 수조에서 20초간 처리하여 융해하였다. 융해된 정액 500 µl를 6 ml의 정자세척용 BO액(Brackett와 Oliphant, 1975)과 함께 15 ml 원심분리관에 넣고 485 xg로 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하는 방법으로 세척하

였다. 세척 후 체외수정용 BO액(세척용 BO액 + 10 µg/ml BSA)을 1~2 ml 첨가하여 정자수를 측정하고 25×10⁶ sperm/ml 농도로 조절하여 100 µl 소적을 만들고 mineral oil로 피복하여 5% CO₂ 배양기에서 전 배양을 실시하였다.

체외성숙 후 난구세포가 확장된 난포란을 체외수정용 배지로 2회 세척하였다. 체외수정은 mineral oil로 피복된 46 µl의 체외수정용 배지에 15개씩의 난포란을 넣고, 10 µg/ml로 조성된 heparin 용액 2 µl와 체외수정용 정자 2 µl를 각각 첨가하여(최종 정자농도 1×10⁶ sperm/ml) 39°C, 5% CO₂ 배양기에 20시간 동안 배양함으로써 체외수정을 유도하였다.

체외수정란의 체외배양은 TCM-199에 5% FCS와 2 µl/ml gentamycin solution이 함유된 배양액 내에서 난구세포와 공동배양하였다. 난자의 배양 중 매 24시간 간격으로 배양접시를 손끝으로 가볍게 쳐주는 방법으로 난자를 난구세포로부터 분리시켰다. 매 48시간마다 수정란의 발육단계를 검사하고 배양액의 1/2을 신선 배양액으로 교체해 주고, 수정 후 7~9일 동안 배반포의 발생 여부 및 확장 배반포기로의 발달을 조사하였다.

인공수정 및 임신감정

최소 번식우의 인공수정은 자연발정을 이용하였고 발정이 발견된 번식우에 1회 인공수정하였으며 재발정시 재 인공수정을 실시하였고 인공수정 후 60~90일 사이에 직장검사를 통하여 수태 여부를 확인하였다.

최소 송아지 모색 표현형 조사

분만된 송아지는 모색판정이 어렵고 성장 발육하면서 표현형이 변화되어 6개월령 이상 되었을 때 판정하였으며, 색깔의 분포를 기준으로 호반모(Tiger coat), 부분 흑모, 일반 황색한우 등으로 구분하여 모색을 조사하였다.

통계처리

실험의 결과는 SAS(Statistical Analysis System)의 GLM (Generalized Linear Model)을 이용하여 통계분석을 실시하였고, 모든 처리평균 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결 과

최소 정액의 일반성상

최소 후보종모우 정액을 채취하여 정액의 육안적 검사와 현미경적 검사를 실시한 결과, 모든 개체에서 색깔은 유백색이고 냄새는 울취로 조사되었다. 정액 채취량은 3.6~6.5 ml(평균 4.4 ml)의 성적을 보였으며, 농도는 4.1~10.0×10⁶/ml(평균 7.0)의 범위로 양호한 성적을 보였다. 생존율은 47.9~72.6%(평균 64.2%)로 정액성상에는 이상이 없었고, 기형율은 6.5~17.5%(평균 12.2%)였으며 활력은 전체적으로 매우 양호한 95.0~98.5%(평균 96.5%)를 보였다(Table 1).

동결융해 후 정자의 성상

동결융해 후 정자의 현미경적 검사를 통하여 생존율, 기형율, 활력 등을 조사하였다(Table 2). 정자의 생존율은 54.5~58.4%로 평균 56.35%로 나타났으며, 기형율은 7.2~8.8%로 평균 7.9%, 활력은 85.0~93.6%로 평균 89.0%로 나타났다.

최소 동결정액의 체외수정능

Table 2. Characteristics of frozen-thawed semen from Chikso sires

ID no.	Existence viability (%)	Abnormality (%)	Motility (%)
34-5-4	54.5	7.2	85.0
3-6	56.4	8.3	93.6
86	57.3	8.1	89.3
3-1-3	56.3	7.5	85.2
3	58.4	7.6	90.1
2	55.2	8.8	90.5
Average	56.4	7.9	89.0

Table 1. Characteristics of fresh semen from Chikso sires

ID no.	Coat color	Age (year)	Semen volume (ml)	Concentration (×10 ⁶ /ml)	Existence viability (%)	Abnormality (%)	Motility (%)
34-5-4	Tiger	2	4.1	5.2	63.6	15.0	98.5
3-6	Tiger	2	4.7	5.7	63.4	6.5	95.3
86	Tiger	2	6.5	4.1	62.2	10.0	95.7
3-1-3	Tiger	2	3.6	4.4	47.9	17.5	96.2
3	Tiger	2	5.1	9.3	69.3	11.0	95.0
2	Tiger	2	4.0	10.0	72.6	10.5	98.1
Average			4.4	7.0	64.2	12.2	96.5

최소 정액의 수정율을 조기에 판정하기 위하여 체외수정을 실시한 결과는 Table 3과 같다. 수정 후 분할율은 한우 보증종모우 및 최소 후보종모우에서 각각 71.3% 및 71.8%로서 비슷하였으나, 배반포 발달율은 각각 13.0 및 25.9%로서, 최소 후보종모우 정액이 유의하게 높았다($p < 0.05$).

최소 등결정액의 인공수정

인공수정에 따른 수태율을 검토한 결과, 최소의 1회 수정에 의한 수태율은 88.9%로 일반 한우의 69.4%에 비하여 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 그러나 2회까지 수정의 경우를 포함한 수태 성적은 일반 한우와 최소 모두에서 95.3%와 100.0%로 차이가 없었다(Table 4).

최소 송아지의 모색

태어난 최소 송아지의 모색 표현을 분석한 결과, 분만된 40두의 송아지 중 호반모(Tiger) 17두(42.5%), 황흑모(Brownblack, 황모우세) 9두(20.5%), 흑황모(Blackbrown, 흑모우세) 5두(12.5%), 흑모(Black) 5두(12.5%) 및 황모(Brown) 4두(10.0%)로 조사되었으며, 호반모와 비호반모의 비율은 42.5 : 57.5로 나타났다(Table 5).

최소 모색 유전 표현형 조사

최소 종빈우의 모색별로 인공수정 후 태어난 송아지의 모색을 성별에 따라 조사한 결과, 호반모 암소에 인공수정 후 태어난 산자의 모색은 수송아지 6두 중 호반 2, 황흑 1, 흑황 1, 흑색 2 두이고, 암송아지는 14두 중 호반 9, 황흑 2, 황색 3두로 조사되어, 수컷(33.3%)보다는 암컷(64.3%)에서 호반모 출현율이 높았다(Table 6). 황흑모 암소의 경우 생산된 수송아지 5두 중 호반 1, 흑황 1, 흑색 2, 황색 1두가, 암송아지 9두 중 호반 2, 황흑 4, 흑황 3두로 조사되어, 호반형에 비하여 비호반형 산자의 생산비율이 높았다. 흑황모 암소는 수송아지 2두 중 호반 1, 흑색 1두이고 암송아지 1두는 호반형으로 조사되었다. 한편 황색모(일반 한우)에 최소 정액을 수정한 결과 암송아지 3두가 호반 1, 황흑 2두로 조사되었다.

고 찰

인공수정에 사용되는 정액의 채취는 주로 인공질(artificial vagina)을 이용하고 종모우에 이상이 있을 경우에는 전기자극을 이용하여 정액을 채취한다(Herman 등, 1994). 그러나 전기자극으로 채취한 정액은 인공질로 채취한 것에 비하여 정액량과 정자 생존율 등에서 정액 질

Table 3. Development of *in vitro* fertilized bovine embryos

Bulls [*]	No. of oocytes	No. (%) of embryos developed to		
		2-Cell	8-Cell	Blastocyst
General Hanwoo	115	82 (71.3)	54 (47.0)	15 (13.0) ^a
Chikso	85	61 (71.8)	44 (51.8)	22 (25.9) ^b

^{a,b} Values with different superscripts are significantly differ ($p < 0.05$).

* General Hanwoo, *Bos taurus Coreanae*; Chikso, *Bos namadicus Falconer*.

Table 4. Conception rates of Hanwoo and Chikso by artificial insemination (AI)

Strain [*]	No. of cows	No. of AI (%)		
		1	2	≥ 3
General Hanwoo	85	59(69.4) ^a	22(25.9)	4(4.7)
Chikso	18	16(88.9) ^b	2(11.1)	-

^{a,b} Values with different superscripts are significantly differ ($p < 0.05$).

* General Hanwoo, *Bos taurus Coreanae*; Chikso, *Bos namadicus Falconer*.

Table 5. Coat color of Chikso offsprings

Total no. of calf [*]	Coat color (%) ^{**}				
	Tiger	Brownblack	Blackbrown	Black	Brown
40	17(42.5)	9(20.5)	5(12.5)	5(12.5)	4(10.0)

* Total calves produced from 18 Chikso cows for 3 years.

** Brownblack, brown with small portion of black; Blackbrown, black with small portion of brown.

Table 6. Coat color of Chikso offsprings following mother's coat color*

Coat color of cows	Sex of offsprings	Coat color(%)				
		Tiger	Brownblack	Blackbrown	Black	Brown
Tiger	Male	2	1	1	2	-
	Female	9	2	-	-	3
Brownblack	Male	1	-	1	2	1
	Female	2	4	3	-	-
Blackbrown	Male	1	-	-	1	-
	Female	1	-	-	-	-
Brown	Male	-	-	-	-	-
	Female	1	2	-	-	-
Total	Male	4(10.0)	1(2.5)	2(5.0)	5(12.5)	1(2.5)
	Female	13(32.5)	8(20.0)	3(7.5)	-	3(7.5)

* Brownblack, brown with small portion of black; Blackbrown, black with small portion of brown.

의 평가가 낮다.

정액 희석액은 정자의 생존성에 유효함과 동시에 증량의 목적에 부합하여야 한다. 희석액에는 에너지원, 보호교질, 전해질, 비전해질, 항생물질 또는 특수첨가물 등이 첨가된다(Chaveiro 등, 2006). 에너지원으로는 당류(Woelders 등, 1997, 1998)를, 저온 충격을 예방하기 위해서는 난황(Arriola와 Foote, 1987) 등을 이용한다. 정자의 희석을 위한 많은 연구에서 널리 이용하는 것은 난황구연산 완충액(egg yolk citrate buffer extender)이다(Chaveiro 등, 2006). 각종 희석액에 의한 정액의 희석 배율은 그 종류에 따라 정액량 및 활력에 기초하여 결정한다. 본 연구에서는 시판용인 Tryladyl을 기초로 제작하였는데, 주위 환경에 크게 영향을 안 받으면서 안정된 동결 성적을 나타냈다.

정액의 품질을 분석하기 위한 정자의 현미경적 평가나 화학적 진단만으로 정액의 수정능을 예지하기에는 다소 부족하다. 따라서 정자의 수정능을 쉽고 빠르고 정확하게 평가할 수 있는 방법이 요구되어 왔다. 정자가 투명대를 제거한 햄스터 난자내로 침투하는 성질을 이용하여 정자의 수정을 평가하는 방법이 이용되고 있다(Jeyendran 등, 1986). 본 연구에서는 보다 간편한 방법으로 각 실험실에서 많은 연구를 하고 있는 체외수정을 이용하였다. 그 결과 한우 정액을 이용한 경우, 보다 최소 후보종모우 정액을 이용하였을 때 배반포 발달율이 유의하게 높았다. 다만 체외수정법은 각 개체의 일반적인 수정능력은 측정이 가능하지만 인공수정 후 임신율과는 차이가 있었다.

최소 정액을 이용한 인공수정의 결과는 비록 호반모의 최소 정액을 이용하여 호반모의 암소에 인공수정한 경우에도 호반모 산자의 출현율이 55%로 낮았다. 이와 같은 결과는 비록 수소 및 암소의 모색 표현형이 호반모라 할 지라도 유전적으로 완전한 호반모 형질을 가지고 있다고 볼 수 없거나, 피모색의 유전인자에 있어서 최소가 열성인자인 것으로 판단된다. 이는 최소 순수계통을 확보한다고 하더라도 번식을 통하여 모색이 호반무늬로 표현될 확

률이 떨어질 수 있음을 시사한다. 다만, 본 연구에서 사용된 호반모 최소의 경우 유전적으로 순수혈통인지 명확하지 않기 때문에 본 연구에서 도출된 결과만으로 최소의 모색유전을 평가하기는 어려울 것으로 사료된다. 따라서 현재의 상황에서는 오랜 시간을 두고 인공수정을 통한 누진교배로 순수혈통에 가까운 최소를 선발해가는 일이 무엇보다 중요할 것으로 판단된다.

인용문헌

1. Arriola J, Foote RH (1987): Glycerolation and thawing effects on bull spermatozoa frozen in detergent-treated egg yolk and whole egg extenders. J Dairy Sci 70:1664-1670.
2. Brackett BG, Oliphant G (1975): Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. Biol Reprod 12:260-274.
3. Chaveiro A, Machado L, Frijters A, Engel B, Woelders H (2005): Improvement of parameters of freezing medium and freezing protocol for bull sperm using two osmotic supports. Theriogenology 65:1875-1890, 2006.
4. Herman HA, Mitchell JR, Doak GA (1994): The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle. Interstate Pub Ins Danville, Illinois. pp 45-55.
5. Jeyendran RS, Schrader SM, van der Ven HH, Burg J, Reid D, Perez-Pelaez M, Al-Hasani S, Zaneveld LJ (1986): Association of the *in-vitro* fertilizing capacity of human spermatozoa with sperm morphology as assessed by three classification systems. Hum Reprod 1:305-308.
6. Woelders H, Malva AP (1998): How important is the

- cooling rate in cryopreservation of (bull) semen, and what is its relation to thawing rate and glycerol concentration. *Reprod Dom Anim* 33:299-305.
7. Woelders H, Matthijs A, Engel B (1997): Effects of trehalose and sucrose, osmolality of the freezing medium and cooling rate on viability and intactness of bull sperm after freezing and thawing. *Cryobiology* 35:93-105.
 8. 나승환, 정창화, 정연후, 김내수, 백동훈 (1986): 한우 질적 형질의 유전적인 특성과 산육생산성과의 관계. *고령지농업시험장 연구보고서* 198-200.
 9. 손시환, 이철영, 김두환, 박구부, 이정규, 신철교, 정희식, 관석준, 박명규, 천민성, 백철승, 고영두 (2000) 최소의 염색체 양상과 핵형 분석. *동물자원과학회지* 42: 1-8.
 10. 이성수, 양영훈, 강승률, 오운용, 양보석, 고서봉, 오성중, 김규일 (2000): 한우, 제주재래흑우, 흑모화우와 갈모화우에서의 MSH receptor (MC1R) 유전자의 유전자형 및 빈도비교. *동물자원과학회지* 42:253-260.
 11. 이성수, 양영훈, 강승률, 오운용, 양보석, 고서봉, 오성중, 김규일 (2002): 최소와 비경흑색 한우의 Melanocortin Receptor1 (MCR1) 유전자형 분석. *동물자원과학회지* 44:23-30.
(접수일자: 2007. 2. 11 / 채택일자: 2007. 3. 8)