

## 말의 정액 형태에 따른 운동성과 인공수정 임신율에 영향을 미치는 요인

박용수<sup>1,\*</sup>, 조길재<sup>2</sup>

<sup>1</sup>경상북도축산기술연구소, <sup>2</sup>경북대학교 수의과대학

### Factors affecting on the Motility of Semen and the Pregnancy Rate of Artificial Insemination in Equine

Yong-Soo Park<sup>1,\*</sup> and Gil-Jae Cho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gyoengbuk Livestock Research Institute, Yeungju 750-871, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

#### ABSTRACT

Research in the area of equine artificial insemination (AI) has led to its increased application in field trials. However, procedures for equine semen collection, cooling and freezing of semen and artificial insemination need further improvement. In experiment 1, we investigated the percentage of total motility (TM) and progressive motility (PM) of sperms at after-collection, cooled-diluted, cooled-transported or frozen-thawed semen. In experiment 2, mares were inseminated with either cooled-diluted, cooled-transported or frozen-thawed semen. In experiment 3, we examined the effect of buffer (skim-milk extender), which was infused into the uterus at the time of AI with frozen-thawed semen. In experiment 4, we compared AI pregnancy rates for mares ovulating spontaneously versus after treatment with hCG. In experiment 1, the average percentage of TM was decreased from 75.3% to 14.4% at the stage of after-collection to frozen-thawed semen ( $p < 0.05$ ). The average percentage of PM was 58.2% and 59.6% at after-collection and cooled-diluted, but it was significantly increased 71.7% after frozen-thawed ( $p < 0.05$ ). In experiment 2, the pregnancy rates after AI using cooled-diluted, cooled-transported and frozen-thawed semen were 60%, 50% and 37.5%, respectively, and similar among treatments. In experiment 3, the pregnancy rate of mares infused with buffer at AI was 40% which was higher than that with no buffer (10%). In experiment 4, the pregnancy rates of mares were similar between ovulated spontaneously (25%) and ovulated with hCG (50%). The results suggest that equine semen that has been cooled-diluted, cooled-transported or frozen can be successfully used to establish AI, pregnancy and foal production. Also, the pregnancy rates after AI can be increased by infusing buffer into the uterus at AI or by inducing ovulation with hCG, but further study is need.

(Key words : equine, semen, cooling, freezing, artificial insemination)

#### 서론

세계적으로 말 정액의 동결 및 인공수정이 증가하고 있으며, 인공수정으로 태어난 말의 등록도 증가하고 있다. 말에서 인공수정은 씨수말 운반 비용의 감소, 정액의 장기 보관, 적기 인공수정, 생식기 질병 전파 차단 등의 장점이 있으나, 낮은 임신율, 노동력 증가 및 정형화된 프로토콜의 부재 등이 문제점이다(Samper, 2008).

인공수정을 위한 정액은 냉장 또는 동결 정액의 형태로 이용되고 있다. 정액 채취 시 원정액의 품질과 채취 방법, 원심분리 방법, 냉장 속도와 시간, 포장 재료 및 씨수말 등이 정자의 품질에

영향을 미치는 것으로 알려지고 있고(Amann와 Pickett, 1987; Ecot 등, 2000), 정액의 동결 보존을 위한 희석액 조성 및 동결 체계에 대한 연구도 보고되었다(Martin 등, 1979; Cristanelli 등, 1984).

냉장 정액은 4℃에서 24~48시간 동안 사용이 가능하고, 동결정액은 동결용해 후 정자의 활력이 낮아지지만 편리성 때문에 사용이 증가되고 있다(Backman 등, 2004). 하지만 인공수정에서 발정주기 1회의 임신율이 냉장 정액은 39~65%이고 동결정액은 32~73%로서 조건에 따라 변이가 심하고, 자연종부보다 낮은 경향이다(Loomis, 2001; Vidament, 2005). 말 인공수정 임신율에는 정자 보존용 희석액의 조성, 인공수정 시간, 주입 위치와 방법, 씨수말의 선발, 배란 시기, 정자수, 암

\* This research was supported by Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

\* Correspondence : E-mail : dvmpys@korea.kr

말의 관리, 전진 운동성 정자의 농도 등이 영향을 미치며(Loomis, 2001; Colenbrander 등, 2003; Vidament, 2005; Metcalf, 2007), 특히 동결정액의 품질 기준, 인공수정에 대한 정형화된 프로토콜 및 암말의 번식 관리에 대한 연구가 필요하다(Loomis, 2001; Samper, 2009). 한편, 국내에서는 말의 인공수정에 대한 시도는 있었으나, 정자의 동결 및 인공수정에 관한 기본 자료 및 기술의 확립이 미흡한 상태이다(Park 등, 2008).

본 연구는 말 정액의 채취, 회석 및 동결 상태에 따른 정자의 운동성 및 정액의 상태, 회석제의 첨가와 배란 유도가 인공수정 임신율에 미치는 효과를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 회석 및 동결 완충액

정액의 회석액은 EZ mix-in-CST<sup>®</sup>(EZ; ARS, Chino, CA, USA)을 사용하였고, 정자의 동결에는 EZ mix-in-LE<sup>®</sup>(LE; ARS, Chino, CA, USA)을 이용하였다.

### 2. 정액 채취, 냉장, 동결

정액 채취는 한국마사회 장수목장에서 사육 중인 씨수말(아랍종, 7세) 1두를 이용하였다. 씨수말은 충분히 시정한 후 발정기 씨암말에 승가를 허용하였다. 정액은 CSU type artificial vagina(ARS, Chino, CA, USA)에 필터가 장착된 채취병을 부착하여 채취하였다. 채취한 정액은 즉시 EZ mix-in-CST<sup>®</sup> 회석액으로 상온에서 정액과 1:1(v:v)로 회석, Equitainer(Hamilton Research, MA, USA)에 옮겨 5°C로 냉장하였다. 정액동결은 회석정액을 50 ml 원심분리관에 40 ml씩을 넣고 400 g×10분간 원심분리하여 seminal plasma 및 부유액을 제거하고, 하층의 정자괴를 회수하였다. EZ mix-in-LE<sup>®</sup> 회석액으로 회석하여 최종 정자수를 100×10<sup>6</sup>/ml로 조정한 후 5°C에서 90분간 냉각하여 냉장 상태를 유지하면서 정액을 0.5 ml 스트로우(FHK, Japan)에 충전한 다음 액체질소 증기(-165±5°C)에서 10분간 예비 동결한 후 액체질소에 침지하였다.

### 3. Total Motile (TM)과 Progressive Motile (PM) 측정

냉장 또는 동결 정액을 37°C 수조에서 1분간 담근 후 잘 혼합한 정액 10 ul를 counting chamber에 넣고 CASA system(Spermvision, Minitube, Germany)상에서 3회 측정하여 TM과 PM을 측정하였다.

### 4. 인공 수정 및 임신 진단

인공 수정은 발정 징후를 나타내는 씨암말을 12시간 간격으로 난소의 크기를 측정하였다. 냉장-회석 및 냉장-운반 정액은 발정 후 난포가 4 cm에 도달하였을 때 24시간 간격으로 2회 인공수정을 하였다. 동결-용해 정액은 난포가 4 cm 이상임을

확인한 후 실험목적에 따라 24시간 간격 2회 또는 24시간과 40시간째에 각각 4스트로우의 정액을 용해하여 암말 자궁각에 중간 부위에 주입하였다. 임신 진단은 초음파(Honda, Japan)를 이용하여 수정 후 15일 및 40일에 확인하였다(Fig. 1).

## 5. 실험 설계

### 1) TM과 PM 측정

아랍 종의 씨수말의 정액을 채취하여 채취 직후(After collection), 냉장-회석(cooled-diluted), 냉장-운반(cooled-transported; 4 시간 운반) 및 동결-용해(frozen-thawed) 정액의 정자수 및 TM과 PM을 측정하였다.

### 2) 정액의 상태에 따른 임신율

냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액으로 암말에 인공수정하여 임신율을 조사하였다. 인공수정은 2009년 5~7월에 실시하였다.

### 3) 동결정액에 회석액 첨가 효과

동결-용해 정액으로 인공수정 과정에서 대조군은 난포 4 cm 확인 후 24시간 간격 2회 인공수정을 하였고, 실험군은 정액 주입 직후 EZ mix-in-CST<sup>®</sup> 회석액 10 ml를 추가 주입하였다. 인공수정은 2010년 4~7월에 실시하였다.

### 4) 배란 유도

동결-용해 정액으로 인공수정 과정에서 대조군은 난포 4cm 확인 후 24시간 간격 2회 인공수정을 하였고, 실험군은 난포의 크기가 4cm 확인 후 hCG 4,000 IU를 근육주사하여 배란을 유도하였고, 인공수정은 주사 후 24 및 40시간째에 2회 하였다. 인공수정은 2010년 4~7월에 실시하였다.

## 6. 통계 처리

TM과 PM은 Mean±SE로 나타냈으며, 각각의 평균에 대한 통계학적 분석은 SAS package를 이용하여 분산 분석 후 Duncan's 다중 검정을, 임신율은  $\chi^2$ -test를 실시하였다.  $p < 0.05$  수

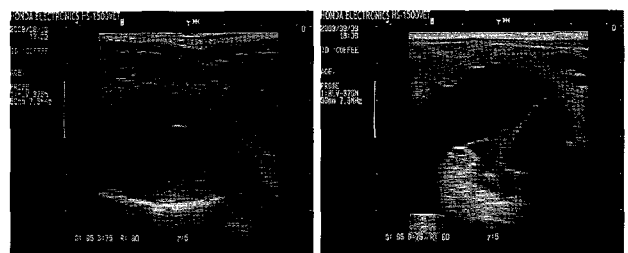


Fig. 1. Pictures of embryo and fetus development at day 15 (left) and 40 (right) of pregnancy with frozen-thawed equine semen.

준에서 유의차를 검정하였다.

결 과

씨수말 정액의 형태에 따른 정자수, TM 및 PM을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 총 정자수가 채취 직후에는 평균  $216.9 \times 10^6$  /ml였고, 회석 후에는  $105.3 \times 10^6 \sim 106.4 \times 10^6$  /ml이었다. TM 비율은 정액 채취, 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 상태에서 평균 75.3%, 61.4%, 54.6% 및 14.4%로 낮아졌다( $p < 0.05$ ). PM 비율은 채취 직후 및 냉장-회석 상태에서 평균 58.2% 및 59.6%로 차이가 없고, 냉장-운반 상태에서 평균 52.0%로 낮아졌으나( $p < 0.05$ ), 동결-용해 상태에서는 71.7%로 높아졌다( $p < 0.05$ ).

암말의 인공수정에 사용한 정액의 형태에 따른 임신율을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액의 임신율이 각각 60%, 50% 및 37.5%로서 냉장-회석 정액이 높은 경향이였다.

말 동결-용해 정액의 인공수정에서 정액 주입 직후 암말의 자궁에 회석제를 추가로 주입한 결과는 Table 3과 같다. 회석제 미주입군에서는 임신율이 10%였고, 추가 주입군에서는 40%로 높았으나, 유의차는 인정되지 않았다.

Table 1. Number of spermatozoa, total motile and progressively motile of different types in equine semen

Semen types	Number of spermatozoa ( $\times 10^6$ /ml)	TM* (%)	PM** (%)
After collection	216.9 $\pm$ 8.0	75.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	58.2 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
Cooled-diluted	106.4 $\pm$ 4.0	61.4 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>	59.6 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
Cooled-transported	104.6 $\pm$ 3.9	54.6 $\pm$ 1.3 <sup>c</sup>	52.0 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>
Frozen-thawed	105.3 $\pm$ 4.6	14.4 $\pm$ 1.5 <sup>d</sup>	71.7 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Values with different superscript were significantly different ( $p < 0.05$ ).

\* Total motility; Live spermatozoa/Total spermatozoa.

\*\* Progressive motility; Progressive spermatozoa/Number of TM spermatozoa.

Table 2. Pregnancy rates of mares inseminated with cooled-diluted, cooled-transported or frozen-thawed semen

Semen types	Heads	Pregnancy	%
Cooled-diluted	10	6	60
Cooled-transported	8	4	50
Frozen-thawed	8	3	37.5

Table 3. Pregnancy rates of mare inseminated using frozen-thawed semen supplemented with or without preservation buffer into uterus

Buffer	Heads	Pregnancy	%
Without	10	1	10
With	10	4	40

말의 동결-용해 정액의 인공수정에서 발정기 암말에 hCG 투여가 임신율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 발정 암말에서 자연 배란된 경우 임신율이 25%였으나, hCG로 배란을 유도한 경우는 임신율이 50%로 높았으나, 유의차는 없었다.

고 찰

말의 정액은 미주 및 유럽에서는 냉장(5℃) 상태로 24~48 시간 동안 또는 동결정액 형태로 운반·사용되고 있다. 인공수정을 위한 정액의 품질에는 씨수말, 채취 방법, 회석액의 조성, 냉장 속도, 포장 재료 및 seminal plasma 제거를 위한 원심 분리 등이 영향을 미치고(Amann와 Pickett, 1987; Ecot 등, 2000), 정상 형태 60% 이상과 PM 60% 이상의 정액이 효과적이지만 동결정액에 대한 기준은 없다(Hafez와 Hafez, 2000; Metcalf, 2007; Samper, 2009). Vidament(2005)는 씨수말에서 동결-용해 정자의 평균 운동성과 전진운동성에 대하여, Crockett 등(2001)은 냉장-보관 시간의 경과와 동결-용해 정자의 TM과 PM 경향을 보고하였고, 국내에서도 Park 등(2008)이 냉장-회석 시간의 경과에 따른 정자의 TM과 PM의 경향을 보고하였다. 본 연구에서 TM은 채취 직후부터 동결-용해 상태까지 단계별로 낮아지는 경향이였으나, PM은 동결-용해 상태에서 오히려 높아졌다(Table 1). 이러한 원인은 정액동결 처리 과정의 원심 분리로 인하여 정상 정자의 회수율이 높아졌기 때문인 것으로 생각된다(Vidament 등, 2000). 한편, 동결-용해 정자의 운동성과 임신율에는 차이가 없었다는 보고에 근거하여 본 연구에서 생산된 동결정액을 인공수정에 활용하였다(Vidament, 2005).

말의 임신율이 자연종부는 80~90%이고, 인공수정은 임신율의 차이가 심하여 냉장-회석 정액(cooled-diluted)은 70~80%,

Table 4. Effect of timed insemination with hCG or natural estrus on pregnancy rate of mare

Estrus types	Heads	Pregnancy	%
Natural	8	2	25
hCG	8	4	50

냉장-운반 정액(cooled-transported)은 60~70% 및 동결-용해 정액은 32~73%로 보고되고 있다(Loomis, 2001; Vidament, 2005; Nielsen 등, 2008). 한편, 인공수정 임신율에는 씨암말의 나이, 분만 회수, 사양 관리, 자궁내막 검사, 발정 유도, 발정 상태, 주입하는 정자수 및 수정 전 자궁 상태 등이 영향을 미치고(Vidament 등, 1997; Nielsen 등, 2008), 씨수말은 동결정액의 품질뿐만 아니라 임신율에도 영향을 미친다고 하였다(Müller, 1987; Vidament, 2005). 본 연구에서 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액의 임신율이 각각 60%, 50% 및 37.5%로서(Table 2), 이전의 보고와 비교하여 낮은 수준으로 국내에서 말 인공수정의 활성화를 위해서는 임신율 향상을 위한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

말의 자연종부시 1회 사정량이 30~150 ml이지만, 냉장-운반 정액의 주입량은 20 ml, 동결-용해 정액의 주입량은 2 ml 정도로 자연종부에 비하여 인공수정에는 소량의 정액이 주입된다. 인공수정 시 총  $200 \times 10^6 \sim 400 \times 10^6$ 개의 정자가 주입되면 임신율을 안정적으로 유지할 수 있지만, 동결정액은  $25 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ 개의 정자를 주입하고 있다(Palmer와 Magistrini, 1992; Vidament 등, 1997; Woods 등, 2000). 본 연구에서 동결정액을 활용한 말의 인공수정에 주입하는 정액의 부피를 증가시키기 위하여 희석액을 추가적으로 주입한 결과 임신율이 높아졌다(Table 3).

임신율에 영향을 미치는 요인들 중에서 배란과 인공수정 시간의 관계가 매우 중요하다(Metcalf, 2007). 정자의 생존 시간을 고려하여 냉장 정액은 배란전 48시간 이내, 동결정액은 배란 전후 6 또는 12시간에 인공수정을 권장하고 있다(Sieme 등, 2003; Bedford-Guaus, 2007). 정확한 배란시점을 판단하기 위하여 6~12시간 간격으로 직장검사 또는 초음파 검사를 하여 난포의 크기를 측정해야 하지만, 많은 노동력과 시간이 소요되므로 호르몬에 의한 배란시기 조절법의 활용이 증가되고 있다(Metcalf, 2007). 발정기 암말은 난포의 성장주기에 따라서 hCG 또는 deslorelin 투여 후 36~42시간에 배란되는 비율이 94%이다(Samper, 2008). 한편, 동결정액의 인공수정에는 정자수, 수정 회수 및 시간에 따른 차이는 있으나, 배란유도를 이용하여 46~67%의 임신율이 보고되었다(Morris 등, 2003; Barbacini 등, 2005; Metcalf, 2005; Hemberg 등, 2006). 본 연구에서 배란 유도를 통하여 임신율이 향상되어(Table 4) 향후 동결정액을 이용한 말의 인공수정에 활용도가 높을 것으로 생각된다.

한편, 씨수말의 망아지 생산율이 번식 방법에 따라 자연종부는 56~64%, 냉장 및 동결정액으로 인공수정은 45~72%로서 정액 형태와 수정 방법에 따른 차이는 없었고(Vidament, 2005), 본 연구를 통하여 국내 최초로 냉장-회석 정액, 냉장-운반 정액 및 동결-용해 정액을 이용한 인공수정으로 망아지 생산에 성공하였다(Fig. 2).

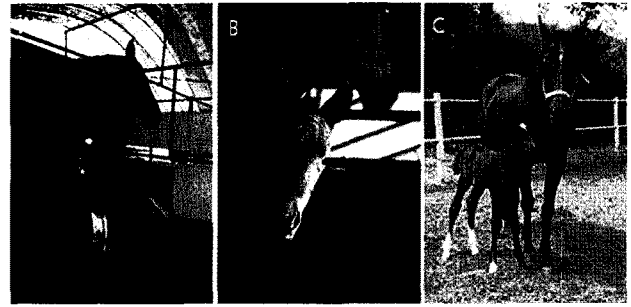


Fig. 2. Pictures of foal produce by artificial insemination using cooled-diluted (A), cooled-transported (B) or frozen-thawed (C) equine semen.

## 결론

말의 인공수정 연구에 대한 현장 적용 시험이 증가하고 있으나, 정액 채취, 냉장 및 동결 그리고 인공수정은 기술 확립이 미흡한 상태이다. 본 연구에서 실험 1은 정자의 total motility(TM)과 progressive motility(PM)을 채취 직후, 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액 단계에서 측정하였다. 실험 2는 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액의 인공수정 후 임신율을 조사하였다. 실험 3과 4는 동결-용해 정액의 인공수정에서 희석액의 추가 첨가 및 배란 유도가 임신율에 미치는 효과를 조사하였다. TM 비율은 채취-직후, 냉장-회석 및 동결과정을 거치면서 평균 75.3%에서 14.4%로 낮아졌다( $p < 0.05$ ). PM 비율은 채취-직후 및 냉장-회석은 평균 58.2~59.6%로 비슷하였으며, 냉장-운반 단계에서는 낮아졌으나, 동결-용해 단계에서는 71.7%로 높아졌다( $p < 0.05$ ). 인공수정 임신율이 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해 정액에서 각각 60%, 50% 및 37.5%였다. 동결-용해 정액의 인공수정에서 희석액의 미첨가 및 첨가는 임신율이 각각 10% 및 40%였고, 자연 배란 및 배란 유도 임신율은 각각 25% 및 50%였다. 본 연구에서 국내 최초로 말의 냉장-회석, 냉장-운반 및 동결-용해를 이용하여 인공수정과 임신 및 망아지 생산에 성공하였다. 동결정액 인공수정 과정에 희석액의 추가 첨가 또는 hCG를 이용한 배란 유도로 임신율을 향상시킬 수 있었으나, 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- Amann RP and Pickett BW. 1987. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.* 7:145-173.
- Backman T, Bruemmer JE, Graham JK and Squires EL. 2004. Pregnancy rates of mares inseminated with semen cooled for 18 hours and then frozen. *J. Anim. Sci.* 82:690-694.

- Barbacini S, Loomis P and Squires EL. 2005. The effect of sperm number and frequency of insemination on pregnancy rates of mares inseminated with frozen-thawed spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 89:203-235.
- Bedford-Guaus SJ. 2007. Transported stallion semen and breeding mares with cooled or frozen-thawed semen. *Clin. Tech. Equine Pract.* 6:239-248.
- Colenbrander B, Gadella BM and Stout TAE. 2003. The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility. *Reprod. Domest. Anim.* 38:305-311.
- Cristanelli MJ, Squires EL, Amann RP and Pickett BW. 1984. Fertility of stallion semen processed, frozen and thawed by a new procedure. *Theriogenology* 22:39-45.
- Crockett EC, Graham JK, Bruemmer JE and Squires EL. 2001. Effect of cooling of equine spermatozoa before freezing on post-thaw motility: preliminary results. *Theriogenology* 55:793-803.
- Ecot P, Vidament M, de Mornac A, Perigault K, Clement F and Palmer E. 2000. Freezing of stallion semen: interactions among cooling treatments, semen extenders and stallions. *J. Reprod. Fertil.* 56:141-150.
- Hafez ESE and Hafez B. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed, Lippincott Williams & Wilkins, Maryland, pp. 382-385.
- Hemberg E, Lundeheim N and Einarsson S. 2006. Successful timing of ovulation using deslorelin (Ovuplant) is labour-saving in mares aimed for single AI with frozen semen. *Reprod. Domest. Anim.* 41:535-537.
- Loomis PR. 2001. The equine frozen semen industry. *Anim. Reprod. Sci.* 68:191-200.
- Martin JC, Klug E and Gunzel AR. 1979. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)* 27:47-51.
- Metcalfe ES. 2005. Optimizing pregnancy rates using frozen-thawed equine semen. *Anim. Reprod. Sci.* 89:297-299.
- Metcalfe ES. 2007. The efficient use of equine cryopreserved semen. *Theriogenology* 68:423-428.
- Morris LH, Tiplady C and Allen WR. 2003. Pregnancy rates in mares after a single fixed time hysteroscopic insemination of low numbers of frozen-thawed spermatozoa onto the uterotubal junction. *Equine Vet. J.* 35:197-201.
- Müller Z. 1987. Practicalities of insemination of mares with deep-frozen semen. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)* 35:121-125.
- Nielsen JM, Kofoed Bock TS and Ersbøll AK. 2008. Factors associated with fertility in horse in a Danish equine practice after artificial insemination with frozen-thawed semen. *Anim. Reprod. Sci.* 107:336-337 (Abst.).
- Palmer E and Magistrini M. 1992. Automated analysis of stallion semen post-thaw motility. *Acta Vet. Scand. (Suppl.)* 88:137-152.
- Park YS, Park HD, Jang YS and Cho GJ. 2008. Factors affecting on the motility and fertility of frozen-thawed stallion semen. *J. Emb. Trans.* 23:161-166.
- Samper JC. 2008. Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology* 70:445-447.
- Samper JC. 2009. *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. 2nd ed, Saunders, Missouri, pp. 175-183.
- Sieme H, Schafer T, Stout TA, Klug E and Waberski D. 2003. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology* 60:1153-1164.
- Vidament M, Dupere AM, Julienne P, Evain A, Noue P and Palmer E. 1997. Equine frozen semen: freezability and fertility field results. *Theriogenology* 48:907-917.
- Vidament M, Ecot P, Noue P, Bourgeois C, Magistrini M and Palmer E. 2000. Centrifugation and addition of glycerol at 22°C instead of 4°C improve post-thaw motility and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology* 54:907-919.
- Vidament M. 2005. French field results (1985-2005) on factors affecting fertility of frozen stallion semen. *Anim. Reprod. Sci.* 89:115-136.
- Woods J, Rigby S, Brinsko S, Stephens R, Varner D and Blanchard T. 2000. Effect of intrauterine treatment with prostaglandin E<sub>2</sub> prior to insemination of mares in the uterine horn or body. *Theriogenology* 53:1827-1836.

---

(접수: 2011. 2. 22 / 심사: 2011. 2. 23 / 채택: 2011. 3. 2)