

豚精液의 液狀 및 凍結保存에 關한 研究.

Ⅲ. 保存液이 液狀精液의 精子生存性과 受胎率에 미치는 影響과 稀釋方法과 容器가 凍結精液의 生存性에 미치는 影響

任 京 淳·鄭 場 龍

嶺南大學校 農畜產大學

Studies on the Liquid and Freezing storage of Boar Semen

Ⅲ. Effects of Dilutor on Livability and Fertility of Liquid Semen and Effects of Dilution and Vessel on Livability of Frozen Semen

Kyung Soon Im and Chang Yong Chung

College of Agriculture and Animal Science, Yeung Nam University

Summary

A, B and C dilutors were used to make Ka (A plus B (1 : 1)) and Na (B plus C (1 : 1)) dilutors in this experiment. Three aliquots of semen were respectively diluted 1 : 1 and 1 : 2 (semen: dilutor) with Ka, Na and C dilutors and stored at 5°C for 7 days in order to study their livability during storage. Fertility was checked for the diluted semen with Ka, Na and C dilutors. Whole semen and extended semen with Na dilutors with and without DMSO were cold shocked at various temperatures for 10 min. Effects of different 1st and 2nd dilution with A, B, C and Na dilutors and of vessels on freezability of spermatozoa were investigated.

1. Extended semen 1 : 2 with Na and C dilutors showed highest live sperm index during storage for 7 days at 5°C.

2. The components of Na dilutor per 100ml were skim milk 2.5g, trisaminomethane 0.54g, citric acid 0.265g, glucose 2.835g, fructose 1.5g, sodium lauryl sulfate, 0.08g, penicillin 0.06g, streptomycin 0.075g, and egg yolk 10ml.

3. Fertility of diluted semen was higher than that of whole semen. Ka dilutor showed higher fertility than Na and C dilutors, and there was no difference in the fertility between Na and C dilutors.

4. Na dilutor with DMSO showed slightly higher livability than Na dilutor without DMSO during storage for 7 days at 5°C.

5. Cold shock at 10°C for 10 min. decreased greatly the sperm livability of whole semen but not of extended semen with Na dilutor. Addition of DMSO to Na dilutor has no effect in prevention of cold shock.

6. The extended semen with C. C dilutor (1st and 2nd dilution with C and C dilutor) showed higher post-thawing sperm livability than A.A and Na. B dilutors. Na. B dilution showed higher post-thawing sperm livability than A.A dilution. There was no difference in the post-thawing livability between semen in 1ml straw and 10ml aluminium package.

I. 結 論

豚精液을 凍結保存코저하는 施圖가 상당한 成功을 거두고 있으나(Paouignon 및 Bussier 1977, Richter 1976, Korban 1977, Kononov 1978) 아직도 凍結精液을 돼지의 人工授精에 實用化하지 못하고 있다. 한편 豚精液의 液狀保存을 위하여 여러가지 保存液이 製造되고 있으나(Kim 1977, Paouignon 및 Dacheux 1977, Pursel 1972, Bhattacharya 1977) 값이 싸고 精子의 運動이 良好하며 低溫衝擊에 對한 低抗性이 높고 人工授精에 實際使用하여 受胎率이 높은 保存液이 製造되어야 할 것이다. Seltregren(1959) Hoffman(1961) Barder(1966) 등은 豚精液 凍結保存液으로 葡萄糖과 글리세린을 添加한 卵黃緩衝液과 脫脂粉乳液을 使用하였으며, Pursel(1969) 등은 trisaminomethane, 枸橼酸, 乳糖, 果糖 卵黃 및 글리세롤을 使用하였다.

本實驗에서는 任 및 鄭(1978)의 트리스卵黃緩衝液(A保存液)과 脫脂粉乳液(B保存液) 및 廣野(1976) 등의 트리스卵黃緩衝液(C保存液)을 使用하여 가保存液(A+B(1:1))과 나保存液(B+C(1:1))을 製造하여 이들 保存液의 稀釋精液에 對한 精子의 保存性, 低溫衝擊의 防止效果 및 受胎率을 檢討하였으며 稀釋方法과 精液容器가 凍結融解精子의 生存性에 미치는 影響도 檢討하였다.

II. 材料 및 方法

1. 供試精液

Landrace 1頭, Hampshire 1頭 計 2頭의 種牡豚으로부터 手壓法에 依하여 採取하였다.

2. 保存液

A保存液 : trisaminomethane(tris) 3.028g, citric acid 1.780g, glucose 0.3g, fructose 0.3g, glycine 0.1g, EDTA(2Na) 0.2g, catalase 0.02g, streptomycin 0.1g, penicillin 0.08g, 및 卵黃 20ml을 蒸溜水로 100ml되게 溶解한것, B保存液 : 脫脂粉乳 5g, glucose 3g, fructose 3g, streptomycin 0.1g 및 penicillin 0.08g을 蒸溜水로 100ml되게 溶解한것, C保存液 : tris 1.08g, citric acid 0.53g, glucose 2.67g, sodium lauryl sulfate 0.16g, streptomycin 0.05g, penicillin 0.04g 및 卵黃 20ml을 蒸溜水로 100ml되게 溶解한 것, 가保存液(Ka dilutor) : A와 B 保存液을 1:1로 混合한 것 나保存液(Na dilutor) : B와 C 保存液을 1:1로 混合한 것.

3. 液狀精液

原精液을 가·나 및 C保存液으로 各各 1:1과 1:2로 稀釋하여 5°C에서 7日間 保存하였으며 受胎試驗用 液狀精液은 精液의 濃도에 따라 1:1 혹은 1:2로 稀釋하였다.

4. 凍結精液

A 및 가保存液의 稀釋精液 : 濃厚原精液을 室溫에서 等量의 A 및 가保存液으로 徐徐히 各各 混合한 後 5°C까지 6분에 1°C씩 冷却하고 다시 氯化세를 7%를 含有한 A 및 B保存液 1/2量으로 各各 徐徐히 2次 稀釋하였다. 2次稀釋精液을 스트로우에 1ml, 알미나용봉투에 10ml씩 分注하고 氯化세를 첨가 4時間後 液體室素上面 4~5cm에서 10分間 靜置하여 豫備冷却을 實施한 後 -196°C의 液體室素에 浸漬하였다. C保存液의 稀釋精液 : 濃厚原精液을 1,500rpm에 10分間 遠心分離하여 精漿을 除去하고 沈澱精子에 C稀釋液을 徐徐히 加하여 原精液과 等量으로 하였다. 以後 過程은 A 및 가保存液의 稀釋精液과 같게 하였으며 2次稀釋은 氯化세를 2%를 含有한 C保存液으로 하였다. 凍結精液의 融解와 精子의 活力檢査는 前報(任 및 鄭, 1978)에 準하였다.

5. 液狀精液의 受胎率調查

1978年 7月 28일부터 1978年 9月 6일까지 大邱畜産 協同組合의 種牡豚으로부터 採取한 原精液을 가, 나 및 C保存液으로 1:1 혹은 1:2로 稀釋하여 農家가 飼育하는 發情牝豚에 1回 60ml을 人工授精하였으며 授精 40~60日後 無發情한 牝豚을 受胎한 것으로 하였다.

6. 低溫衝擊

原精液과 DMSO(Dimethylsulfoxide) 0 및 2%를 各各 含有한 나保存液의 稀釋精液을 15°, 10°, 5° 및 0°C의 물에 10分間 浸漬하여 低溫衝擊을 加한 後 38°C에서 30分間 靜置하여 精子活力을 檢査하였다.

III. 結果 및 考察

1. 保存液과 稀釋比率이 5°C에 7日間 保存한 精子의 生存性에 미치는 影響

가, 나 및 C保存液으로 原精液을 1:1과 1:2로 稀釋하여 5°C에 7日間 保存한 精子의 生存指數는 Table 1과 같다. 保存 7일에 있어서 精子의 生存指數는 1:1과 1:2의 稀釋의 경우 가保存液 35 및 36, 나保存液 46 및 56, C保存液 42 및 52로 어느 稀釋比率에 있어서도 나 및 C의 稀釋精液이 가의 稀釋精液보다 높았

Table 1. Effects of dilutor and dilution rate on live sperm index during storage for 7days at 5°C (n=5)

Dilutor	Ka		Na		C	
	1:1 ⁽¹⁾	1:2	1:1	1:2	1:1	1:2
After dilution	92 ⁽²⁾	93	94	94	94	94
1	87	87	91	91	92	92
2	76	78	84	84	74	75
3	67	71	74	75	73	72
4	64	61	66	67	68	70
5	56	58	56	65	64	70
6	41	42	52	60	50	57
7	35	36	46	56	42	52

(1) Semen: Dilutor (2) Live sperm index

으며 나와 C保存液間에는 差別 認定할 수 없었다. 가保存液은 稀釋比率 1:1과 1:2間에 差가 없었으나 나 및 C保存液은 1:2가 1:1보다 높았다. 70以上の 生存指數를 보여주는 保存期間은 1:1과 1:2의 稀釋의 경우 가保存液은 2日과 3日, 나保存液은 3日과 3日 C保存液은 3日과 3日로 C保存液의 1:2稀釋이 어느處理보다 길었다. 따라서 稀釋精液을 5日以上 保存하여 使用할 경우는 C保存液의 1:2稀釋精液을 使用하는 것이 좋겠으나 3日以內 保存할 경우는 가保存液의 1:2稀釋精液과 나 및 C保存液의 1:1과 1:2稀釋精液 어느 것이나 使用할 수 있다. 나保存液의 組成은 100ml當 脫脂粉乳 2.5g, trisaminomethane 0.54g, citric acid 0.265g, glucose 2.835g, fructose 1.5g, sodium lauryl sulfate 0.08g, penicillin 0.06g, streptomycin 0.075g, 卵黃 10ml로 한 나保存液은 脫脂粉乳含量이 B保存液의 1/2量, 卵黃含量이 A와 C保存液의 1/2量 tris 및 citric acid 含量이 A保存液의 1/6量 C保存液의 1/2量이고 組成이 單純하고 廉價로 製造할 수 있는 特徵을 갖고 있다. 따라서 保存 3日以內의 경우는 나保存液의 1:2稀釋精液을 使用하는 것이 바람직하다. Ool(1976)은 豚精液을 IVT(Illini Variable Temperature) 保存液으로 稀釋하여 保存했을 때 前進精子比率은 採取 1日에 59, 2日에 44, 3日에 35%였다고 報告하였으며 Baritiau(1976) 등은 4%의 濃厚精液을 IVT 및 BL-1保存液으로 稀釋하여 15°C에 5日間 保存하였을 때 保存 4日間에 있어서 運動精子의 比率이 BL-1보다 IVT가 더 빨리 減少하였다고 報告하였다.

2. 가, 나 및 C保存液의 稀釋精液과 原精液의 受胎率

가, 나 및 C保存液의 稀釋精液과 原精液의 受胎率은 Table. 2와 같다. 가, 나 및 C保存液의 稀釋精液과

Table 2. Conception rate of extended semen with Ka, Na, and C dilutors and whole semen.

Dilutor	Ka	Na	C	Whole semen
No inseminated	20	22	22	21
No returned	6	9	9	11
Coception rate(%)	70	59	59	48

原精液의 受胎率은 70, 59, 59 및 48%로 가保存液의 稀釋精液이 가장 높았으며 나와 C保存液間에는 差가 없었고 原精液은 가장 낮았다. 本實驗結果로 稀釋精液의 受胎率은 原精液보다 훨씬 높다는 것이 立證되었다.

Senegacnik(1972)는 EDTA를 含有한 保存液의 稀釋精液을 15~18°C에 保存하고 發情牝豚의 1發情期에 2回授精한 受胎率이 85.4%였다고 報告하여 本實驗의 受胎率보다 훨씬 높으나 이는 1發情期에 2回 授精에 依한 成績이며 實驗條件의 相異等을 考慮할 때 本實驗結果와 直接比較하기는 어렵다. Bariteau(1977) 등은 IVT와 BL-1保存液의 稀釋精液을 臍腔과 陰에 35 및 100ml씩 分注하여 15°C에 保存하여 受胎實驗을 實施하였는데 IVT保存液에서는 60.6~70.3%, BL-1保存液에서는 63.4~75.5% 分娩率을 얻었다. 本受胎試驗은 一般農家의 牝豚을 對象으로한 野外實驗이고 保存液當의 授精頭數가 20頭内外의 적은 頭數이어서 受胎率의 信賴度를 높이기 爲하여도 企業養豚場을 對象으로 多頭授精實驗이 이루어져야 할 것이다.

3. 나保存液의 DMSO添加가 精子의 生存性에 미치는 影響

DMSO를 0 및 2% 含有한 나保存液의 稀釋精液을 5°C에 7日間 保存한 精子의 生存指數는 Table 3과 같다. 稀釋直後, 保存 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7日의 精子生存指數는 DMSO 0%의 경우는 83, 86, 73, 68, 49, 47, 39 및 28이며 DMSO 2%의 경우는 각각 83, 83, 78, 73, 55, 51, 48 및 34로 保存 7日間에 있어서 DMSO添加區가 無添加區에 比하여 약간 높았다. 글리세롤은 豚精子의 生存性和 受胎에 有害하다고 報告(Polge 1956, Iida 1964, King 1966, 金 1972, Bower 1973)된 以來 冷害防止物質로 豚精液保存液에 글리세롤 代身 DMSO의 添加를 施圖(Kojima 1967, 金 1972)하고 있다.

Kojima(1967)와 Bamba(1972)는 豚精液凍結用 保存液

Table 3. Additional effect of DMSO in Na dilutor on live sperm index during storage for 7 days at 5°C (n=2)

Storage period(days) DMSO(%)	After dilution	1	2	3	4	5	6	7
0	83	80	73	68	49	47	39	28
2	83	83	78	73	55	51	48	34

에 DMSO 및 글리세롤을 單獨 및 併用으로 添加했을 때 豚精자의 生存性은 글리세롤 單用보다는 떨어졌다고 報告하였다. 豚精液의 保存適溫은 15°C內外로 되고 있으나 本實驗에서는 5°C保存을 施圖하였으며 이로 인한 生存性의 低下를 防止할 目的으로 DMSO를 保存液에 添加하였으나 뚜렷한 效果를 얻지 못했다.

4. 低溫衝擊이 原精液, DMSO添加 및 無添加의 나 稀釋精液의 生存性에 미치는 影響

15°, 10°, 5° 및 0°C의 各溫度에서 10分間 低溫衝擊을 加한 原精液과 DMSO添加 및 無添加한 나 稀釋精液의 精子生存指數는 Table 4. 와 같다. 室溫, 15°, 10°,

Table 4. Live sperm index of whole semen and extended semen in Na dilutor with and without DMSO cold shocked at 15, 10, 5 and 0°C for 10min. (n=5)

	Room temp. 25°C	Cold shocked for 10min. at			
		15°C	10°C	5°C	0°C
Whole semen	88	75	48.5	11.2	2.9
Extended semen	DMSO 0%	92	91	57.8	25.7
	DMSO 2%	92	91	55.5	21.4

5° 및 0°C에 低溫衝擊을 받은 精子의 生存指數는 原精液의 경우 88, 75, 48.5, 11.2 및 2.9로 10°C 衝擊에 依하여 生存指數가 急激히 減少하기 始作하여 5°C 및 0°C에서는 상당히 낮은 生存指數를 보여 주었다. 한편 나 稀釋精液의 DMSO 0%는 各衝擊溫度에서 精子生存指數는 92, 91, 91, 57.8 및 25.7, DMSO 2%는 92, 91, 85, 55.5 및 21.4로 兩稀釋精液 같이 10°C에서는 거의 低溫衝擊을 받지 않았으나 5°C에서는 衝擊을 받기 始作하여 0°C에서는 상당히 衝擊을 받았다. 10°C以下의 低溫衝擊의 경우 精子의 生存指數는 原精液이 稀釋精液보다 현저히 낮았으며 DMSO 0%와 2%間에는 거의 差를 認定할 수 없었다. 따라서 本實驗結果 나 保存液의 稀釋精液은 10°C의 急激한 低溫衝擊에서는 精

子生存性에 別影響을 받지 않으나 原精液은 많은 影響을 받으며 나 保存液에 DMSO添加는 精子의 低溫衝擊을 防止하는데 있어서 別效果가 없으며 비록 나 保存液의 稀釋精液이라도 5°C以下의 低溫衝擊에서는 精子가 많은 衝擊을 받아 生存性이 현저히 低下한다는 것이 알려졌다. King(1966)은 돼지의 稀釋精液을 5°C로 冷却했을 경우 冷却하는 時間과 關係없이 精子는 活力의 25%를 상실하며 冷却되는 동안 保存液이 精子를 充分히 保護하지 못한다고 指摘하였다. 本實驗結果에서 보는바와 같이 5°C衝擊은 稀釋精液에게도 많은 衝擊을 가져오므로 稀釋精液이라도 5°C以下의 低溫衝擊은 避하도록 할 것이며 5°C로 冷却할 때는 徐徐히 冷却토록 各別한 注意를 기울여야 할 것이다.

5. 保存液 1·2次稀釋方法 및 精液容器가 凍結精液의 生存性에 미치는 影響

A, 나 및 C 保存液의 1次稀釋精液을 글리세롤을 含有한 A, B 및 C 保存液으로 各各 2次稀釋한 後 스트로우에 1ml 및 알미늄봉투에 10ml을 各各分注하여 凍結融解한 精子의 生存指數는 Table 5와 같다. 스트

Table 5. Effects of dilutor, dilution method and vessel on post-thawing sperm livability (n=5)

1st dilutor	Ka		Na		C	
2nd dilutor	A ⁽¹⁾		B		C	
Vessel	Straw	Alu. pac. ⁽²⁾	Straw	Alu. pac.	Straw	Alu. pac.
1st dilution	84.0	84.0	91.0	91.0	92.0	92.0
2nd dilution	69.5	69.5	89.0	89.0	90.0	90.0
Post-thawing	2.8	3.2	9.7	10.8	22.1	21.7

(1) Second dilutor with glycerol.

(2) Aluminium Package.

로 및 알미늄봉투 容器에서 凍結融解한 精子의 生存指數는 1次 및 2次稀釋을 A 및 A液으로 한 稀釋精液(A·A)에서 2.8 및 3.2였으며 같은 方法으로 나, B에서 9.7 및 10.8, C·C에서 22.1 및 21.7로 C·C의 稀釋精液이 가장 높았고 A·A가 가장 낮았으며 3種의 稀釋精液 모두 스트로우와 알미늄봉투間에 差異를 認定할 수 없었다. 發情牝豚에 凍結精液으로 人工授精을 實施할 경우 最低 1회에 30~60ml의 精液이 注入되어야 하므로 1ml 스트로우는 30~60個를 融解해야 하는 問題點이 있으나 알미늄봉투는 最大 30ml까지 分注할 수 있으며 10ml을 分注하더라도 3~6個의 融解로서 1回 注入量을 確保할 수 있는 利點이 있다. 融解後 精子의 生存指數에 있어서 알미늄봉투와 스트로우間에 差異가

없다는 본實驗結果는 알미니움봉투의 利用可能性을 示唆해 주고 있다. 加藤(1976) 및 廣野(1976)도 돼지의 凍結精液에서 스트로우와 알미니움 봉투를 比較하였는데 알미니움봉투가 스트로우보다 融解後 精子生存性이 良好하였다고 報告하고 있다. 番場(1973)는 클리세올 最終濃度を 1.5%로 卵黃果糖液으로 稀釋한 豚精液을 알미니움봉투에 5ml 分注하여 드라이아이스 위에서 凍結한 精子의 活力은 平均 30.7이었다고 報告하였다. 原島(1974)는 여러가지 糖을 含有한 트리스卵黃液으로 稀釋한 豚精液을 알미니움봉투에 4ml 分注하여 凍結한 精液 30ml를 發情牝豚에 人工授精하여 一例에 不過하지만 숫놈 5頭 암놈 4두 死産 2頭 計 11頭의 仔豚을 分娩하였다고 報告하였다. 알미니움봉투에 分注하는 精液의 量을 番場(1973)은 5ml, 原島(1974)는 4ml로 하였는데 本實驗에서는 10ml로 하여 스트로우에서와 같은 成績을 얻고 있다. Waide(1975)는 알미니움봉투에 分注하여 凍結한 精液으로 經産豚 8頭, 未産豚 12頭에 授精하여 87.5와 58.3%의 受胎率과 平均 10.2와 5.8頭의 産仔數를 分娩하였다고 報告하여 알미니움봉투에 依한 受胎可能性을 보여주었다. 最近 Pursel(1975)等 Osinowo(1976)等, Wilmut(1977)等, Moore(1977)等은 錠劑化凍結精液에 依한 돼지의 受胎成績을 報告하였다

IV. 摘 要

本實驗에서는 A, B 및 C 保存液으로 가保存液(A+B (1:1)) 및 나保存液(B+C(1:1))을 製造하여 가, 나 및 C 保存液의 稀釋精液의 生存性과 受胎에 미치는 影響을 檢討하고 다시 나保存液에 DMSO添加가 稀釋精液의 低溫衝擊防止 效果에 미치는 影響을 檢討하였다. 또한 A, B, C 및 나保存液으로 稀釋方法과 精液容器가 凍結融解精子의 生存性에 미치는 影響도 檢討하였다.

1. 5°C 保存 7日間의 精子生存指數는 나 및 C 保存液의 1:2稀釋精液이 가장 높았다.

2. 나保存液의 組成은 100ml當 脫脂粉乳 2.5g, tri-saminomethane 0.54g, citric acid 0.265g, glucose 2.835g, fructose 1.5g, sodium lauryl sulfate 0.08g, penicillin 0.06g, streptomycin 0.075g, 卵黃 10ml가 된다.

3. 稀釋精液의 受胎率은 原精液보다 훨씬 높았으며 가保存液이 나 및 C 保存液보다 높았고 나와 C 保存液間에는 差異가 없었다.

4. 5°C, 7日保存한 나稀釋精液의 生存性은 DMSO 添加區가 無添加區보다 약간 높았다.

5. 나保存液의 稀釋精液은 10°C 10分間의 低溫衝擊

에서는 精子生存性에 별影響을 받지 않으나 原精液은 많은 影響을 받으며 나保存液에 DMSO添加는 精子의 低溫衝擊防止에 별效果가 없었다.

6. 凍結融解한 精子의 生存指數는 C·C稀釋精液이 A·A 및 나, B稀釋精液보다 높았으며 나, B는 A·A稀釋精液보다 높았다. 또한 1ml의 스트로우와 10ml의 알미니움봉투間에는 差異를 認定한 수 없었다.

本實驗의 受胎實驗을 實施함에 있어서 人工授精 및 受胎調査에 直接 手苦하여 주신 大邱畜産協同組合의 人工授精師 仝재식, 이도영 金홍식 서진동 氏에게 깊은 謝意를 表하며 本實驗 遂行에 있어서 始終 助力 하여준 林泰虎 學生에게도 感謝의 뜻을 表한다.

引用 文獻

1. Bamba, K. I. Iida and Y. Kojima. 1972. Studies on deep freezing of boar semen. K. Combined use of glycerol and DMSO for the preservation of boar spermatozoa. Jap. J. Animal Reprod., 18(1): 34~36.
2. 番場公雄, 飯田勲. 1973. 豚凍結精液의 保存溫度가 融解後의 精子活力에及ぼす影響. 凍結精液研究會報, 40: 9~10.
3. Barder, H. 1966. Investigation of the effect of different rate of cooling in the deep freezing of boar semen on the motility of the spermatozoa. A.B.A. 34: 235.
4. Bariteau, F., J. Bussiere and M. Covrot. 1977. Artificial insemination in the pig. Technical improvements and recent results. France J. Recherche Porcine.: H-14.
5. Bhattacharya, M. K., G. J. King. 1977. A note on the effect of caproic acid extender on storage and fertility of boar semen stored at ambient temperatures. Indian J. Animal Sci., 44(10): 807~809.
6. Bower, R. E., B. G. Crabo, M.M. Pace and E. F. Graham. 1972. Effect of dilution and glycerol on the release of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) from boar spermatozoa.
7. Graha, E. F., A. H. J. Rajamanan, M. K. L. Schmehl, M. Maki-Lawrila and R. E. Bower. 1971. Fertility studies with Frozen boar spermatozoa. A. I. Digest, 19(6): 6.
8. 原島昇昱, 森山則男, 上坂建, 劍持計夫. 1974. 豚凍結精液による 1受胎分娩例について. 凍結精液研究會報, 42: 14~15.

9. 廣釋森, 加藤征史郎, 入谷明. 1976. 豚凍結精液の融解過程における各種温度での時間的経過が精子の運動性ならびに頭帽の形態に及ぼす影響. 凍結精液研究會報, 50 : 8~11.
10. Hoffman, H. H. 1961. Experiments in the cold storage of boar semen. ABA, 29 : 81.
11. Iida, J. 1964. Effect of glycerol on the oxygen uptake and metabolic utilization by boar spermatozoa. F. Agr. Shizuoka Univ., 14 : 11.
12. 任京淳, 鄭場龍. 1978. 豚精液의 凍結保存에 關한 研究 I. 保存液의 造成 및 凍結條件이 融解後 豚精子의 生存性에 미치는 影響. 韓畜誌, 20(6) : 586~591.
13. 加藤征史郎, 井上陽一, 廣野森, 入谷明, 西川義正. 1976. 凍結豚精子の運動性および頭帽の形態に及ぼす融解方法の影響. 凍結精液研究會報, 48 : 15.
14. 김중제, 서국성, 신원집, 설동섭, 이용빈. 1972. 돼지의 냉동정액 제조과정에서 정액성상과 수태에 미치는 영향. 축시연보, : 74~103.
15. Sun Hwan Kim, Kyeong Ju Kim, Hee Kyoo Park. 1977. Studies on the preservation of boar semen IV. Studies on the improved diluent for liquid boar semen. Korean J. Animal Sci., 19(4) : 267~274.
16. King, G. J., and J. W. Macpherson. 1966. Boar semen studies. I. Laboratory evaluation of processing phases. Can. J. Comp. Med and Vet. Sci., 30(12) : 332~335.
17. King, G. J. and J. W. Macpherson. 1966. The effect of glycerol on fertility of liquid boar semen. A.I. Digest, 14 : 6~7.
18. Kojima, Y., I. Iida., Bamba and S. Kobayashi. 1967. IV. Additional effects of DMSO as a protective agent. Jap. J. Animal Reprod, 13 : 149.
19. Kon nov, V. P., V. Y. Chernykh and A. T. Narizhnii. 1978. The resistance of boar spermatozoa to deep freezing in relation to vitamin E content of the ration. Shivotnovodstvo, 1 : 49~51.
20. Korban, N., L. Moroz and I. Shapiey. 1977. Methods of freezing boar semen. Svinovodstvo, 12 : 29.
21. Moore, H. D. M. and K.G. Hibbitt. 1977. Fertility of boar spermatozoa after freezing in the absence of seminal vesicular proteins. J. Reprod Fert., 50 : 349~352.
22. Ool., S. K. H. 1975. Further studies on the preservation of boar semen in Illini variable Temperature (TVT) diluent. Kajian Veterinal, 7(1) : 27~30.
23. Osinowo, O. and S. Salman. 1976. Fertility test of frozen boar semen. Aust. J. Biol. Sci., 29 : 335~9.
24. Paouignon, M., J. Bussiere, F. Bariteau and M. Courat. 1977. Practical use of frozen boar semen. Journees Recherche porcine, : 19~21.
25. Paouignon, M., J. L. Dacheux and M. Courot. 1977. Effect of different thawing solutions on the fertility of boar spermatozoa. Journees Recherche Porcine, : 15~18.
26. Polge, C. 1956. Artificial insemination in pigs. Vet. Res., 68 : 62
27. Pursel, U. G., L. A. Johnson and R. J. Gerrits. 1969. Fertility test of boar spermatozoa frozen by pellet method. A.B.A., : 368.
28. Pursel, U. G. and L. A. Johnson. 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. J. Animal Sci., 40(1) : 99~102.
29. Pursel, U. G., L. A. Johnson and L.L. Schuman. 1972. Loss of boar sperm Fertilizing capacity associated with altered acrosome morphology during in vitro storage. Proc. VII. Int Congr. Anim. Reprod. A. I. : 1595.
30. Richer, L., P. Westendorf and H. Treu. 1976. Deep freezing of boar semen: Laboratory findings and insemination results with "Hulsenberger Pailletten" technique. In proceedings International Pig Veterinary Society International Congress. Ames une: 22-24.
31. Seneganik, J. and G. Bajt. 1972. On the suitability of some dilutors for boar semen. Proc VII. Int. Congr. Anim, Reprod. A. I. : 1586.
32. Setlergren, I. 1959. Deep freezing of boar's semen to -79°C . A.B.A., 27 : 439.
33. Waide, Y. 1975. Fertility and survival of frozen boar spermatozoa stored in aluminium Packaging container. JARO, 9(2) : 115~119.
34. Wilmot, I. and C. Polge, 1977. The low temperature preservation of boar spermatozoa. 3. The fertility capacity of frozen and thawed boar semen. Cryobiology, 14 : 483~491.