

## 정액의 액상보존이 닭의 정액성상 및 수정율에 미치는 영향

김학규<sup>1</sup> · 나재천<sup>1</sup> · 최철환<sup>1</sup> · 장병귀<sup>1</sup> · 상병돈<sup>1</sup> · 이상진<sup>1</sup> · 한만희<sup>2</sup> · 박창식<sup>3</sup> · 이규승<sup>3</sup>  
축산기술연구소 가금과<sup>1</sup>, 남원지소<sup>2</sup>, 충남대학교 축산학과<sup>3</sup>

### Effects of Liquid Rooster Sperm on Reproductive Ability in Chicken

H. K. Kim<sup>1</sup>, J. C. Na<sup>1</sup>, C. H. Choi<sup>1</sup>, B. G. Jang<sup>1</sup>, B. D. Sang<sup>1</sup>, S. J. Lee<sup>1</sup>, M. H. Han<sup>2</sup>, C. S. Park<sup>3</sup> and K. S. Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Division of Poultry, National Livestock Research Institute, Gyesan-dong, Yusung-Gu, Daejeon 305-365, South Korea

<sup>2</sup>Namwon Branch, National Livestock Research Institute, Unbong-eup, Namwon, Jonbook 590-832, South Korea

<sup>3</sup>Department of Animal Science, Chungnam National University, Gung-dong, Yusung-Gu, Daejeon 305-764, South Korea

**ABSTRACT** : This study was conducted to investigate the effects of liquid rooster semen on reproductive ability in chicken. Raw and diluted semens were stored at 5°C cold temperature for 6, 30, and 54 hours after semen collection. There was no statistically difference in sperm motility throughout the 6 hours period of storage among raw semen and diluted semen groups with skim milk glucose solution (SM), egg yolk glucose solution (EY), and saline. But there was decrease in those throughout the period of 30 and 54 hours of storage. Sperm motility and normal sperm for the period of 30 and 54 hours of storage were significantly better in SM and EY diluted groups ( $P < 0.05$ ). Fertilization rates of rooster semen diluted with SM were 90.77, 87.70, and 59.46% for 6, 30, and 54 hours stored groups, respectively, those proved to be higher in SM-diluted group than other groups.

(Key words : liquid sperm, motility, fertilization rates of rooster semen)

## 서 론

닭의 인공수정 기술은 케이지에서 사육하는 실용육계 및 산란계 농장에서 활용되고 있으며, 닭의 인공수정시 수정률을 개선하기 위해서는 수탉을 적절히 관리하여 활력이 높은 양질의 정액이 생산되어야 하며, 또한 정액을 최적의 상태로 보존하면서 정상적인 산란과정에 있는 암탉에게 주입해 주어야만 높은 수정율을 얻을 수 있다.

현재 대부분이 원정액 상태로 인공수정하기 때문에 소량 주입에 따른 어려움이 있고(Warren과 Gish, 1943; Garren과 Shaffner, 1952; Wilcox, 1958), 보존시간이 짧아서 인공수정하는 시간이 지체되거나, 특히 여름철에는 정자의 정액성상이 빠르게 저하되어 수정률이 낮아지는 문제점이 있다(Bajpai와 Brown, 1964; Clarke 등, 1982; Bilgili 등, 1987), 그러나 정액을 희석하여 사용하면 인공수정시 1회 주입량을 증가시켜 시술이 용이하고, 정액을 보존하는 동안 정자

의 활력과 수정능력 등에 손상을 주지 않고 일정기간 보존할 수 있다.

닭 정액을 희석하여 5°C 내외의 온도에서 몇 시간 혹은 몇 일간 보존하는 상태인 액상보존에 대한 최초의 연구보고는 Schindler 등(1955)으로서 채취한 정액을 Ringer's액, Locke's액, whole milk 및 yolk phosphate buffer에 희석하여 4, 10 및 41°C에 2, 4 및 6시간 보존하였을 때에 Ringer's액, Locke's액 및 whole milk를 이용한 희석액은 4°C에서 4시간 보존하여 90%의 수정능력을 얻었고, yolk phosphate buffer로는 40%의 낮은 수정율을 나타내었다고 하였다. Polge(1955)는 milk 혹은 소량의 albumen이 함유된 glucose citrate액으로 닭 정액을 24시간 보존하여 50%의 수정율을 보였다고 하였다(Van Wambeke, 1967). Lake와 McIndoe(1959)는 닭 정액의 화학적 분석을 통하여 정장의 비단백태 질소화합물의 80%가 glutamic acid과 creatine이며, glutamic acid는 정액의 삼투압을 유지하는 중요한 역할을 한다고 하였으며, Lake (1960)는 수

\* To whom correspondence should be addressed :hkkim@rda.go.kr

닭의 정관에 있는 물질과 같은 화학적 특성을 함유하는 희석액은 무기이온과 glutamic acid의 농도는 정장과 비슷해야 하고, fructose는 에너지원으로 첨가되어야 하며, pH는 7.0을 유지해야 한다고 하였다. 이와 같이 조성된 희석액으로 정자를 24시간 보존하였을 때 64%의 수정율을 얻었고, 48시간 보존하였을 경우 47%의 수정율을 얻었다고 하였다. Sexton과 Fewlass(1978) 및 Van Wambeke 등(1967)은 닭 정액을 희석하여 0℃에서 24시간 동안 보존한 후, 1회 주입정자수를  $1 \times 10^8$ 으로 하여 인공수정을 하였을 때 수정능력이 저하되지 않았다고 보고하였다. Sexton과 Fewlass(1978)는 BPSE 희석액으로 5℃에서 24시간 액상보존하였을 때 수정율은 50~60%였다고 하였고, BPSE보존액 조성물의 상호작용에 대하여 연구하였다. 이외에도 닭 정액의 보존 및 인공수정을 위하여 많은 연구가 수행되었다(Bootwalla와 Miles, 1992; Surai와 Wishart, 1996).

이와 같이 희석액을 사용하여 인공수정의 비용을 낮추고 수탉의 번식효율을 증진시키기 위한 정액 희석액의 발달은 단순히 생리식염수를 사용하는 것으로부터 시작되었으나 현재는 에너지, 완충작용 및 삼투압이 조정된 희석액들이 사용되고, 정액을 5℃에서 유지보존하는 액상보존 기술이 외국에서는 상업적 이용이 가능한 단계로 발전하였다(Sexton, 1983).

국내에서는 닭 정액의 액상보존에 필요한 보존액 개발 및 이에 대한 연구가 미흡한 실정에 있다. 닭 정액의 단기보존을 위한 희석제를 개발하여 정액을 이동식 배양기에 보관하여 원거리까지 이동할 수 있다면, 닭에서 인공수정의 편의성이 향상되고, 정액의 확대보급을 통한 수탉의 이용효율이 높아져 수탉의 사육비를 절감할 수 있다고 본다. 따라서 본 연구는 인공수정시 정액의 단기보존용 희석제의 개발로 정자의 생존기간, 수정능력 등을 연장시킴으로서 닭 정액의 확대 이용을 기하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시축

공시축은 적갈색 및 황갈색 계통의 재래닭을 정액채취용 수탉으로 사용하였으며, 인공수정용 암탉은 백색산란계를 공시하였다.

### 2. 정액채취 및 희석액

#### 1) 정액채취

정액채취는 맛사지 정액채취법(Burrows와 Quinn, 1935;

1937)의 변형인 횡취법(side collection)으로 주당 1~2회 실시하였으며, 깨끗한 정액만 5, 10 및 15ml의 눈금이 있는 채취관에 혼합 채취하였다.

횡취법에 의한 채취과정은 수탉을 케이지에서 꺼내어 두 다리를 오른손으로 함께 잡은 후 왼손으로 복부를 가볍게 맛사지한 다음 왼쪽 겨드랑이에 수탉을 끼우고 두다리를 왼손으로 바꾸어 잡아 마치 정액을 짜 내듯이 어느 정도 힘을 가하며 앞으로 잡아 뽑았다. 오른손의 엄지와 검지는 총배설강 좌우에 대고 2~3회 정도 가볍게 자극을 주고 총배설강을 반전시켜 사정을 유도하였으며, 정액 채취관으로 정액을 채취하여 시험에 사용하였다.

### 2) 희석액

정액의 액상보존용 희석액의 선발을 위하여 공시된 skim milk glucose액 및 egg yolk glucose액의 조성은 Table 1과 같이 하였다.

희석정액의 정액성상 및 수정능력을 시험하기 위하여 Table 1의 skim milk glucose액 및 egg yolk glucose액과 saline 등을 이용하였다. 희석액은 5℃ 냉장보관하였다가 사용하기 30분전 실온(20~25℃)에 미리 꺼내 놓았으며, 채취된 정액은 실온에 10분 이상 방치하여 실온에 이르게 한 다음, 정액과 희석액의 온도가 동일하였을 때에  $0.1 \times 10^8$ /ml 이상의 정자농도가 되도록 1~5배 희석하였다. 희석이 완료된 정액은 5~15ml의 정액관에 나누어 담아 5℃ 냉장고에 보관하면 서 성장검사 및 인공수정을 실시하였다.

### 3. 정액성상검사

**Table 1.** Composition of diluents for storing rooster semen in liquid

Ingredients	Skim milk glucose	Egg yolk glucose
Skim milk	10g	
Glucose	1.0g	
5% Glucose		80ml
Potassium sodium tartarate	0.5g	
Sodium citrate dihydrate		1.0g
Sodium bicarbonate		0.1g
Egg yolk		20ml
D.W.	100ml	

정자의 운동성(sperm motility)은 정액을 skim milk glucose액으로 500배로 희석한 다음 200배의 위상차현미경(Nikon phase contrast-2, 1.25, Japan)에 연결된 TV 모니터(SV-125D HS, SAMSUNG)상에서 총정자수 중 운동성이 있는 정자의 비율을 산출하였다.

생존율(viability)은 nigrosin-eosin 염색법(박 등, 1989)으로 염색한 후 도말표본을 만들어 염색이 되지 않은 생존정자의 비율을 산출하였다(Bilgili 등, 1985; Cooper, 1969; Cooper와 lowell, 1957; Rowell과 Cooper, 1960).

원정액 및 액상정액의 기형율(abnormality)은 nigrosin-eosin으로 염색한 후 도말·고정하여 400배율의 위상차현미경(Nikon phase contrast-2, 1.25, Japan)으로 검정하였다.

4. 시험방법

Skim milk glucose액 및 egg yolk glucose액과 saline의 3종류 보존액으로 희석된 정액을 6, 30 및 54시간 냉장보관 후 회 주입시 0.1ml의 정액을 4천만 이상의 정자가 포함되도록 하였으며, 암탉의 수술은 한 처리당 3반복, 반복당 10~20수를 배치하였다.

5. 인공수정 및 수정률 조사

인공수정은 오후에 1주일에 2회 실시하였다. 2회 실시 후 하루가 지난 다음부터 10일간 종란을 수집하였으며, 수집된 종란은 훈증소독을 거쳐 종란 보관실에 저장하였다. 종란 보관실의 온도는 11~18℃를 유지하였으며, 습도는 80%, 최대보관기간은 2주일을 초과하지 않도록 하였다. 입란 후 10일째 검란등을 이용하여 수정율 및 발육중지율을 조사하였으며, 21일째 부화율을 조사하였다. 부화시작 후 10일 후에 검란하여 수정율을 조사하였다.

3. 통계분석

본 시험의 성적은 SAS package program(2000)를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 처리간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test를 이용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 정액성상

1)정자운동성

Table 2에서 보는 바와 같이, 정액채취후 6시간 냉장 보존

한 정자의 운동성은 원정액, skim milk glucose액, egg yolk glucose액 및 saline에서 98.30~95.17%으로 원정액 및 희석정액 간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나, 30시간 보존에서는 skim milk glucose액과 egg yolk glucose액에서 높았으며, 원정액과 saline에서 낮은 경향이었다(P<0.05). skim milk glucose액과 egg yolk glucose액은 정액채취 후 54시간까지 보존하여도 정자 운동성이 크게 떨어지지 않았으나, 원정액과 saline는 대체적으로 냉장보관 30시간 이후에는 정자운동성이 떨어졌다. 이상의 결과는 Bilgili 등(1987)이 보고한 바와 같이 정자 사멸율은 정액채취 후 4시간 동안은 일정하게 유지되었으나, 24시간에서 48시간 보존시는 원정액보다 희석정액에서 정자생존율이 높았다는 결과와 같은 경향을 나타냈다.

2) 정자 기형율

Table 3에서 보는 바와 같이, 정액채취 후 6시간 냉장 보존한 정자의 기형율은 원정액, skim milk glucose액, egg yolk glucose액 및 saline에서 6.67~9.67%으로 원정액 및 희석정액 간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나, 30 및 54시간 보존에서는 egg yolk glucose액에서 각각 9.00 및 15.67%, skim milk glucose액에서 10.00 및 12.33%으로 낮은 수준의 기형율을 나타냈으며(P<0.05), 원정액은 각각 35.33% 및 35.00%, saline은 각각 33.00 및 66.00%으로 높은 수준을 보였다. 목이 굵은 기형정자수는 정액 보존시간이 경과함에 따라 희석배율의 증가에 따라 증가하며, 수정율은 목이 굵은 기형 정자수의 발생빈도가 높아짐에 따라 떨어진다(Saeki, 1960)는 보고와 같이, 원정액과 saline은 대체적으로 냉장보

Table 2. Sperm motility of fresh rooster semen diluted with skim milk glucose, egg yolk glucose and Saline for 6, 30 and 54 hours (5°C) after semen collection

Time (hours)	Raw semen <sup>1</sup> , %	Raw semen diluted 4 fold with <sup>1</sup> , %		
		Skim milk glucose	Egg yolk glucose	Saline
6	95.97±1.54 <sup>a</sup>	97.80±0.32 <sup>a</sup>	98.30±0.47	95.17±2.89 <sup>a</sup>
30	82.37±5.50 <sup>ab,y</sup>	96.83±0.44 <sup>ab,x</sup>	96.20±0.8 <sup>2,x</sup>	82.90±5.20 <sup>b,y</sup>
54	76.13±8.20 <sup>b</sup>	94.93±0.96 <sup>b</sup>	90.77±4.90	78.03±7.75 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Means±SE.

<sup>a,b</sup> Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

<sup>x,y</sup> Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

**Table 3.** Sperm abnormality of fresh rooster semen diluted with skim milk glucose, egg yolk glucose and saline for 6, 30 and 54 hours (5°C) after semen collection

Time (hours)	Raw semen <sup>1</sup> , %	Raw semen diluted 4 fold with <sup>1</sup> , %		
		Skim milk glucose	Egg yolk glucose	Saline
6	9.00±1.53 <sup>b</sup>	8.00±1.00 <sup>b</sup>	6.67±0.88 <sup>b</sup>	9.67±1.45 <sup>c</sup>
30	35.33±2.40 <sup>ax</sup>	10.00±1.73 <sup>aby</sup>	9.00±1.53 <sup>by</sup>	33.00±2.52 <sup>bx</sup>
54	35.00±4.73 <sup>ax</sup>	12.33±1.76 <sup>az</sup>	15.67±1.20 <sup>az</sup>	66.00±3.00 <sup>ax</sup>

<sup>1</sup> Means±SE.<sup>a,b,c</sup> Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).<sup>x,y,z</sup> Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

관 30시간부터는 정자기형율이 크게 증가되는 경향을 보였다. 그러나 skim milk glucose액 및 egg yolk glucose액으로 희석한 정액은 Saeki(1960)의 보고와는 다르게 30시간까지 기형율에 별다른 변화가 없었다.

이 결과는 닭 정액을 적정하게 조성된 희석액으로 보존할 때에는 정액성상에 큰 변화가 없이 장시간 보존할 수 있음을 보여 주었다.

## 2. 수정율

Table 4에서 보는 바와 같이, 정액채취 후 6시간 냉장 보존한 정자의 수정율은 원정액, skim milk glucose액 및

**Table 4.** Fertilization rates of fresh rooster semen diluted with skim milk glucose, egg yolk glucose and saline for 6, 30 and 54 hours (5°C) after semen collection

Time (hours)	Raw semen <sup>1</sup> , %	Raw semen diluted 4 fold with <sup>1</sup> , %		
		skim milk glucose	Egg yolk glucose	Saline
6	78.57±6.55 <sup>ax</sup>	90.77±5.20 <sup>ax</sup>	27.25±6.45 <sup>y</sup>	91.13±0.80 <sup>x</sup>
30	13.66±3.37 <sup>bz</sup>	87.70±2.01 <sup>ax</sup>	23.82±1.90 <sup>y</sup>	0.00±0.00
54	0.00±0.00	59.46±10.51 <sup>bx</sup>	21.72±7.93 <sup>y</sup>	0.00±0.00

<sup>1</sup> Means±SE.<sup>a,b,c</sup> Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).<sup>x,y,z</sup> Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

생리식염수에서 각각 78.57, 90.77 및 91.33%로 높았으며, egg yolk glucose액에서는 27.25%로 가장 낮았다(P<0.05). 30시간 보존에서도 skim milk glucose액에서는 87.70%를 나타내었으나, 원정액 및 egg yolk glucose액에서 각각 13.66 및 23.82%로 낮았고(P<0.05), saline은 0.00%로 수정란이 없었다. 54시간 냉장보존시에 skim milk glucose 희석정액의 수정율은 59.46%로 높은 수치를 나타냈으며(P<0.05), egg yolk glucose액에서도 21.72%를 보였으나, 원정액과 saline은 모두 0%로 수정란이 발생되지 않았다.

수정율은 정자활력(McDaniel과 Craig, 1962)과 운동성 및 생존정자수(Cooper와 Rowell, 1958)와 높은 상관관계가 있다고 보고된 바 있다. Phillip 등(1974)은 수정율은 액상정액의 보관시간과 상관관계가 있다고 하였으며, Sexton(1977)은 희석된 정액은 5°C에서 보존했을 때가 25°C에서 보존했을 때 보다 적은 정자수로도 수정율은 높일 수 있었다고 보고하였고, Blesbois와 Reviers(1992)는 BPSE 희석액으로 1:1로 희석하여 4°C에서 24시간 보존했을 때 가끔 정자의 수정능력이 향상되었다고 하였다.

닭 정액을 5°C에서 6시간 희석보존하였을 때 수정율은 75%였다(Clarke 등, 1982)는 보고와, 24시간 동안 냉장보관 시 50~60%의 수정 능력을 유지할 수 있었다(Sexton과 Fewlass, 1978)는 보고에 비하여 본 연구결과는 높은 수정율을 나타냈으나, Ashizawa 등(1976)의 TCC(Tissue Cultured Cells)에서 수탉 정자의 생존율을 2~4일 유지할 수 있었으며, 수정율이 89~91%였다는 보고와 비슷한 결과를 나타냈다. 이상의 결과를 종합하여 보면 skim milk glucose액은 다른 희석액에 비하여 비교적 정자의 보존성 및 번식능력이 우수하게 나타났다. 따라서 본 연구결과는 닭 액상정액 인공수정 분야에서 널리 산업적 이용이 가능하다고 판단된다.

6시간 보존된 희석정액의 초기 발육중지율은 Table 5에서 보는 바와 같이, 원정액, skim milk glucose액 및 egg yolk glucose액에서 각각 10.95, 12.68 및 9.16%로 낮았으나, 생리식염수에서는 21.57%로 가장 높은 수치를 나타냈다(P<0.05). 30시간 보존에서 원정액에서는 3.87%를 나타냈으나, skim milk glucose액과 egg yolk glucose액에서는 각각 12.97 및 12.61%로 비슷한 수치를 보였고, 54시간 보존에서도 skim milk glucose액과 egg yolk glucose액은 각각 19.53 및 16.18%로 비슷한 결과를 나타냈다. saline은 다른 희석액에 비하여 초기 발육중지율이 높은 것으로 나타난 바, 닭의 액상정액용 희석액으로 사용할 때 고려할 필요가 있는 것으로 사료된다. 이상의 결과는

**Table 5.** Early dead eggs (%) after insemination with fresh rooster semen diluted with skim milk glucose, egg yolk glucose and saline for 6, 30 and 54 hours (5°C) after semen collection

Time (hours)	Raw semen <sup>1</sup> , %	Raw semen diluted 4 fold with <sup>1</sup> , %		
		Skim milk glucose	Egg yolk glucose	Saline
6	10.95±3.91 <sup>a,xy</sup>	12.68±2.14 <sup>xy</sup>	9.16± 1.60 <sup>y</sup>	21.57±4.10 <sup>x</sup>
30	3.87±0.95 <sup>b,y</sup>	12.97±4.32 <sup>x</sup>	12.61± 2.52 <sup>x</sup>	0.00±0.00
54	0.00±0.00	19.53±4.27	16.18±10.65	0.00±0.00

<sup>1</sup> Means±SE.

<sup>a,b,c</sup> Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

<sup>x,y,z</sup> Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

정액 및 희석배율에 의하여 부화율은 영향을 받지 않는다(Wilcox, 1958; Sexton 등, 1978)는 보고와는 다소 다른 결과를 나타냈다.

## 적 요

정액의 액상보존이 닭의 번식능력에 미치는 영향을 구명하기 위하여 계통이 분명한 재래닭을 정액 채취용 수탉으로 사용하였으며 인공수정용 암탉으로는 백색산란계를 사용하였다. 닭 정액을 채취 희석하여 5°C 냉장온도에서 6, 30, 54 시간 보존하며 정액정상 검사와 함께 인공수정을 하였을 때, 원정액과 skim milk glucose액, egg yolk glucose액 및 saline에 희석된 정액의 정자운동성은 냉장보관 6시간에는 처리간에 유의적인 차이가 없었으나, 냉장보관 30 및 54시간에는 저하되는 경향이였다 그러나 skim milk glucose액과 egg yolk glucose액의 정자운동성과 정상정자율은 30 및 54시간 냉장보존을 하여도 원정액이나 saline액보다 현저히 높았으며 (P<0.05), 수정율에 있어서는 6, 30 및 54시간 냉장보존된 skim milk glucose 희석정액에서 90.77, 87.70 및 59.46%를 나타내어 다른 시험구보다 현저하게 우수한 결과를 보였다.(P<0.05). 따라서 본 연구결과 skim milk glucose액은 닭의 액상정액 인공수정시 산업적 이용이 가능하다고 판단된다. (색인어 : 닭 액상정액, 정자운동성, 수정율)

## 인용문헌

Ashizawa K, Nishiyama H, Nagase T 1976 Effects of oviductal cell on the survival and fertilizing ability of fowl spermatozoa. J Reprod Fertil 47:305-311.

Bajpai PK, Brown KI 1964 The effect of different temperatures on the metabolic activity, morphology and fertilizing capacity of turkey semen. Poultry Sci 43:1501-1508.

Bilgili SF, Renden JA, Sexton KJ 1985 The influence of staining techniques and examiners on evaluation of the morphology of fowl spermatozoa. Poultry Sci 64:2358-2361.

Bilgili SF, Sexton KJ, Renden JA 1987 Fluorometry of poultry semen: Influence of dilution and storage on chicken spermatozoal viability and fertility. Poultry Sci 66:2032-2035.

Blesbois E, Reviers MD 1992 Effects of different fractions of seminal plasma on the fertilizing ability of fowl spermatozoa stored *in vitro*. J Reprod Fert 95:263-268.

Bootwalla SM, Miles RD 1992 Development of diluents for domestic fowl semen. World's Poult Sci J 48:121-128.

Burrows WH, Quinn JP 1935 A method of obtaining spermatozoa from the domestic fowl. Poultry Sci 14:251- 254.

Burrows WH, Quinn JP 1937 The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poultry Sci 16:19-24.

Clarke RN, Sexton TJ, Ottinger MA 1982 Effects of holding temperature and storage time on respiratory rate, motility, and fertility of chicken and turkey semen. Poultry Sci 61:1912-1917.

Cooper DM, Rowell JG 1957 Laboratory prediction of the fertilizing capacity of cock semen. Poultry Sci 36:284-285.

Cooper DM, Rowell JG 1958 Relations between fertility, embryonic Survival and some semen characteristics in the chicken. Poultry Sci 37:699-707.

Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1-42.

Garren HW, Shaffner CS 1952 The effect of temperature and time of storage on the fertilizing capacity of undiluted fowl semen. Poultry Sci 31:137-145.

Lake PE 1960 Studies on the dilution and storage of fowl semen. J Reprod Fertil 1:30-35.

Lake PE, McIndoe WM 1959 The glutamic acid and creatine content of plasma. Biochemical Journal 17:303-306.

- McDaniel GR, Craig JV 1962 Predicting male fertilizing capacity in high and low fertility strains of chickens. Poultry Sci 41:866-869.
- Phillip LE, Buckland RB, Bernon DE 1974 A note on the relationship between the fertility of fresh semen and that stored varying lengths of time, and the effect of storage on duration and percent fertility. Poultry Sci 53:2216-2218.
- Rowell JG, Cooper DM 1960 Some effects of Diluting cock semen. Poultry Sci 39:1381-1389.
- Saeki Y 1960 Crooked-necked spermatozoa in relation to low fertility in the artificial insemination of fowl. Poultry Sci 39:1354-1361.
- Schindler H, Weinstein S, Moses E, Gabriel I 1955 The effect of various diluents and storage times on the fertilizing capacity of cock semen. Poultry Science 34:1113-1117.
- Sexton TJ 1977 A new poultry semen extender. 1. Effect of extension on the fertility of chicken semen. Poultry Sci 56:1443-1446.
- Sexton TJ 1978 A new poultry semen extender. 3. Effect of storage conditions on the fertilizing capacity of chicken semen stored at 5°C. Poultry Sci 57:285-289.
- Sexton TJ 1983 Maximizing the utilization of the male breeder: a review. Poultry Sci 62:1700-1710
- Sexton TJ, Fewlass TA 1978 A new Poultry semen extender 2. Effect of the diluent components on the fertilizing capacity of chicken semen stored at 5°C. Poultry Sci 57:277-284.
- Surai PF, Wishart GJ 1996 Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. World's Poult Sci J 52:27-43.
- Van Wambeke VF 1967 Storage of fowl spermatozoa. 1. Preliminary results with new diluents. Jr Reprod and Fertil 13:571-575.
- Warren DC, Gish CL 1943 The value of artificial insemination in poultry breeding work. Poultry Sci 22:108-117.
- Wilcox FH 1958 The Effect of dilution and concentration of chicken semen on fertility. Poultry Sci 37:1357-1362.
- 박향균, 김영목외, 1989. 가축번식학. 향문사. p. 422.