

닭 精자의 形態와 染色性 調査

郭 守 東

慶尙大學校 農科大學 獸醫學科

(1987.1.28 接受)

Studies on the Morphology and Stainability of Chicken Spermatozoa

Soo-dong Kwak

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongsang National University

(Received January 28th, 1987)

Abstract: The present studies were designed to investigate the morphology and stainability of the chicken spermatozoa. Semen samples were collected by abdominal massage from 10 cocks of Arbor Acres strain (egg breed) and 10 cocks of white Cornish strain (meat breed). The semen samples were diluted with Sarker's solution and were washed. Some of the semen smear slides were stained with seven differential stain methods and was compared with one another by light microscope. In addition to the staining already compared, the length of heads, middle pieces and tails of 400 spermatozoa of two chicken breed was measured with micrometer.

The results obtained from these studies were as follows:

1. Eosin stain appeared to give good results than hematoxylin, pre-treated protease and eosin or hematoxylin stain, pre-treated protease and hematoxylin-eosin stain, carbol-fuchsin stain and Giemsa 9 technique in differential staining of spermatozoal three portions and pre-treated protease and eosin stain appeared as good staining methods for middle piece of spermatozoa.

2. The average length of chicken spermatozoa was $90.4 \pm 4.0 \mu\text{m}$, and the average length of the head, middle piece and tail of spermatozoa was $13.0 \pm 0.5 \mu\text{m}$, $3.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ and $73.6 \pm 3.8 \mu\text{m}$ respectively.

3. The average length of spermatozoa of Arbor Acres strain was $89.2 \pm 5.0 \mu\text{m}$ and the average length of the head, middle piece and tail of spermatozoa was $12.9 \pm 0.5 \mu\text{m}$, $3.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ and $72.5 \pm 4.7 \mu\text{m}$ respectively. The average length of spermatozoa of white Cornish was $91.6 \pm 3.0 \mu\text{m}$ and the average length of the head, middle piece and tail of spermatozoa was $13.1 \pm 0.5 \mu\text{m}$, $3.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ and $74.7 \pm 2.8 \mu\text{m}$ respectively.

緒 論

家畜의 人工授精은 技術적으로 많은 발전이 이루어져 家畜品種改良에 공헌한 바가 크나, 精자의 희석, 보존, 운반과정 중에서 많은 損傷을 입는다. (Phillip 등, 1974; Brown과 Graham, 1971; 鄭場龍과 任京淳, 1979; 任京淳과 鄭場龍, 1978). 그러므로 精液의 희석, 보존,

운반 등의 과정 중에도 精자의 形態, 運動性 등의 변화상은 수시로 관찰할 필요가 있고 原精液에서도 精자의 形態와 運動性 등을 확인함으로써 精液의 질적 수준을 규정할 수 있어 種畜選定에 주요한 자료가 될 것이다 (Marini와 Goodman, 1969). 國內에서도 家畜의 精液 保存과 人工授精에 대하여 많이 研究된 바 있으며 (金明哲, 1984; 任京淳, 1984; 鄭場龍과 任京淳, 1979, 19

78; 尹昌鉉 등, 1977; 金善煥 등, 1976a, 1976b) 닭의 人工授精에 관하여도 많이 研究된 바 있다(李在根 등, 1980, 1978; 李在根, 1973, 1970a, 1970b, 1968a, 1968b).

精子的 頭部形態는 卵圓形이 보통이나, 흰쥐와 닭은 頭部 앞쪽이 뾰족하면서 細長한 圓柱狀이다. 그리고 공통적으로 精子頭部는 짧고 中片部는 圓柱狀이며 尾部는 실갈이 길다(Swenson, 1977; Marquez와 Ogasawa, 1975; Hodges, 1974; Bernstein과 Teichman, 1972; 鄭吉生 등, 1983). 精子的 形態에 대하여는 光學顯微鏡的 내지는 電子顯微鏡的으로 많이 관찰하여 보고된 바 있을 뿐 아니라(裴大植과 金鍾旭, 1985, 1984; 裴大植 등, 1979; 裴大植, 1977), 精子的 生死區別을 위한 연구가 많이 이루어진 바 있다(Bilgili와 Renden, 1984; Clarke 등, 1984; Dott와 Foster, 1972; Friars와 Chatterjee, 1969; Wilson 등, 1969; 金永洪, 1980, 1978).

動物精子的 길이는 동물에 따라서 차이가 많으나 50~100 μ m 정도라고 알려져 있으나 닭의 精子 길이와 頭部의 形態는 일정하지 않고 다양한 것으로 알려져 있다(Swenson, 1977; Marquez와 Ogasawa, 1975; Hodges, 1974; 鄭吉生 등, 1983). 또한 닭 精子 기형은 頭部와 尾部形態의 이상으로 구별하고 있으며 尾部 길이에 대하여는 短小形外는 尾部折斷形만을 기형으로 규정하고 있다(鄭吉生 등, 1983).

본인은 닭精子的 染色性을 비교 조사하였으며 2個 품종 닭의 精子 부위별 길이를 측정하였던 바 그 結果를 보고코자 한다.

材料 및 方法

供試種鷄는 慶南道種畜場에서 사육하는 6個月齡의 산란용 種鷄인 Arbor Acres 10首(體重 3kg 정도)와 개인 種畜場에서 사육중인 6.5個月齡의 Broiler용 種鷄인 백색 Cornish 10首(體重 4.1~5.0kg 내외)를 합하여 總 20首의 수탉을 腹部 massage法으로 個體別로 精液을 작은 tube에 채취한 후 20分 이내에 실험에 사용하거나 ice-box에 넣었다가 2시간 이내에 실험에 사용하였다. 調査方法으로는 먼저 Sarker(1984)의 精子 세척액을 原精液量에 20倍 정도를 加하여 2,000~3,000rpm으로 10分間 원심분리한 후 上層液은 버리고 다시 原精液量에 20倍 정도가 되도록 세척액을 가하여 잘 혼합시켜 희석한 精液을 만들었다. 다음 精子的 形態를 잘 관찰할 수 있고 精子 각 부위 길이 측정을 목적으로 各部位가 잘 구분되는 染色法을 알기 위하여 위 희석精液 1~2滴을 slide glass위에 떨어뜨린 후에 다음과

같은 방법으로 染色液을 加하여 2~3cm정도 넓게 퍼서 혼합한 후 染色하였다. 즉 (1) slide glass 위에 희석精液을 취한다음 水溶性 eosin液 1~2滴을 加하여 2분간 染色, (2) Harris's hematoxylin液 1~2滴을 加하여 2분간 染色, (3) protease(Sigma製)를 5mg정도 加하여 室溫에서 10分간 방치한 후 Harris's hematoxylin液 1~2滴을 加하여 2分간 염색, (4) (3)에서와 같이 protease로 처리한 후 eosin液으로 2分간 染色, (5) (3)의 hematoxylin으로 染色한 후에 다시 eosin液으로 2分간 染色하였다. 한편 희석精液 1~2滴을 slide glass에 도말건조하여 methanol-acetic(3:1)液으로 고정한 후 chromatin 染色法인 carbol-fuchsin 염색과 Giemsa 9 염색법(Raphael, 1976)으로 染色한 후에 세척하였다.

精子길이 측정은 slide glass와 Hausser's haemocytometer 위에 精液 1~2滴을 놓은 후에 精子 부위별 구별이 가장 잘되는 染色方法으로 확인된 eosin염색 방법으로 染色한 후 光學顯微鏡으로 보아 精子形態가 가능한 곧은 길이로 染色되고 적당한 밀도로 배치된 3~4 개 부위를 선택하여 사진촬영하고 현상한 후 種鷄 1首당 精子數 20個의 길이를 측정하였다. 寫眞內 거리는 haemocytometer의 赤血球 측정부위에 나타난 눈금간의 거리(50 μ m)와 비교 환산하여 精자의 各部位를 頭部, 中片部, 尾部로 區分하여 각 부위 길이를 측정하거나 slide glass에 도말해서 染色된 精子를 接眼 micrometer가 장치된 顯微鏡으로 직접 측정하였다.

結 果

產卵鷄 6個月齡 Arbor Acres와 肉用鷄 6.5個月齡 백색 Cornish의 種鷄 각각 10首의 精液을 채취하여 희석 세척한 후에 닭精子 각 부위 구별과 길이 측정에 적합한 染色法을 알기 위하여 몇가지 方法으로 시도하였던 바 eosin만으로 염색한 경우(Figs. 1, 2)는 acrosome과 中片部는 다소 진하게 염색되고 그外 부위인 頭部와 尾部는 연하게 染色되어 精子部位 구별과 길이 측정에 적합하였다. Hematoxylin만으로 염색한 경우는 頭部와 尾部는 染色성이 미약하였고 中片部는 다소 진하게 染色되었으나 部位別 구별과 길이 측정이 용이하지 않았으며, protease로 處理한 후 hematoxylin으로 염색한 경우(Fig. 3)는 精子 全頭部와 中片部까지 진하게 染色되어 頭部와 中片部 구별이 용이하지 않았고 尾部染色은 불량하였으며, 여기에 eosin染色을 추가한 경우에는 더욱 濃染되어 全길이 측정은 용이하였으나 部位別 측정이나 구별이 곤란하였다. 그러나 protease로 處理한 후 eosin만으로 染色한 경우 中片部가 가장 뚜렷하게 染色되었다(Fig. 4). 그리고 carbol-

Table 1. The Average Length of Arbor Acres Spermatozoa

Chicken No.	Spermatozoa length (μm)			
	Head	Middle piece	Tail	Total
1	13.4	3.8	77.3	94.5
2	13.6	3.7	75.7	93.0
3	12.7	3.9	70.0	86.6
4	12.5	3.4	63.5	79.4
5	12.2	3.6	71.6	87.4
6	12.9	3.7	78.8	95.4
7	12.3	3.8	74.1	90.2
8	13.4	3.6	68.0	85.0
9	13.2	3.8	76.2	93.2
10	12.6	4.2	70.2	87.0
Mean \pm SE	12.9 \pm 0.5	3.8 \pm 0.2	72.5 \pm 4.7	89.2 \pm 5.0
%/Total length	14.5	4.2	81.3	100

Table 2. The Average Length of White Cornish Spermatozoa

Chicken No.	Spermatozoa length (μm)			
	Head	Middle piece	Tail	Total
1	13.0	4.1	80.5	97.6
2	14.1	3.8	76.7	94.6
3	12.9	3.8	73.2	89.9
4	12.9	3.7	73.1	89.7
5	12.6	3.7	71.9	88.2
6	12.9	3.8	76.4	93.1
7	13.0	4.0	74.0	91.0
8	13.2	3.6	70.8	87.6
9	12.6	4.1	75.4	92.1
10	13.6	3.8	75.0	92.1
Mean \pm SE	13.1 \pm 0.5	3.8 \pm 0.2	74.7 \pm 2.8	91.6 \pm 3.0
%/Total length	14.3	4.2	81.5	100

fuchsin 염색이나 Giemsa 9 염색에는 염색이 잘되지 않아 頭部, 中片部 등의 구별이 곤란하였고 核chromatin 분포의 관찰도 용이하지 않았다.

産卵鷄 Arbor Acres의 種鷄 10首와 肉用鷄 백색 Cornish 10首에서 각각의 채취한 精液을 희석 세척하고 도말표본을 만들어서 eosin染色한 후 각 개체당 정상 精子로 인정되는 精子數 20個씩 즉 2개 품종의 種鷄 총 20首에서 400個 精子를 頭部, 中片部, 尾部의 각 길이와 精子의 全長이를 측정하였던 바 측정된 精子중에서 가장 긴 것은 128 μm 였고, 길이에 대한 기형기준치가 없기 때문에 너무 짧은 것은 측정하지 않았으나 측정된

精子 중 가장 짧은 것은 56 μm 이었다. 이들 2個 品種 鷄 精子의 全長이 平均은 90.4 \pm 4.0 μm 였고 精子 各 部位별로는 頭部 13.0 \pm 0.5 μm , 中片部 3.8 μm \pm 0.2 μm , 尾部 73.6 \pm 3.8 μm 였으며, 精子의 全長이(100%)에서 部位별 길이의 비율은 頭部 14.4%, 中片部 4.2%, 尾部 81.4%이었다. 鷄 品種別로는 Table 1과 같이 産卵鷄 Arbor Acres 種鷄의 精子 平均 長이는 89.2 \pm 5.0 μm 였고 한 精子의 各 部位별로는 頭部 12.9 \pm 0.5 μm , 中片部 3.8 \pm 0.2 μm , 尾部 72.5 \pm 4.7 μm 이었으며, Table 2와 같이 肉用鷄 백색 Cornish 種鷄의 精子 平均 長이는 91.6 \pm 3.0 μm 이었고, 精子의 各 部位別로는 頭部

13.1±0.5μm, 中片部 3.8±0.2μm, 尾部 74.7±2.8μm 이었다.

考 察

精자의 生死鑑別을 위한 染色法으로는 nigrosin-eosin 染色法이 적합하다고 많은 研究者들에 의하여 報告된 바 있다(Bilgili와 Renden, 1984; Clarke, 1984; Dott와 Foster, 1972; Friars와 Chatterjee, 1969; Wilson 등, 1969; 金永洪, 1980, 1978). 本 調査에서는 이와 같은 eosin染色에 hematoxylin染色을 加함으로써 核染色質이 염색되어 頭部形態를 용이하게 관찰할 수 있을 것으로 생각되어 몇가지 방법을 시도하였으나 如意치 않았었다. Schoenfeld (1981 a, b)이 精子形態 구별을 위하여 hematoxylin-eosin染色을 시도한 바 있고, Osinowo (1982)은 formaldehyde로 처리한 精子를 eosin으로 염색하였으나 Berthelsen(1981)은 eosin液으로 精子를 生體染色한 결과 형태관찰용으로 가치가 있다고 하였다. 그러나 精子部位 구별이나 길이 측정에 대하여는 비교 조사한 바 없다. 本 調査에서 실시한 eosin染色法은 精子部位 구별이나 길이 측정에 적합하였고, hematoxylin만의 染色으로는 頭部和 尾部的 染色성이 약하여 各部位의 구별이 곤란하였다. 이는 動物의 精子는 細胞膜이 두터워서 染色이 약하였던 것으로 생각된다. 따라서 動物精자의 細胞膜을 제거하기 위하여 Bhattacharya와 Gunther(1978)가 시행한 細胞膜 消化除去 방법에 따라 protease로서 處理한 후 hematoxylin으로 染色한 결과, 核染色은 잘되었으나 中片部도 같이 染色되어 部位 구별에는 eosin염색에서 보다 불량하였다. 따라서 精子形態를 관찰하기 위한 기초염색은 간편한 eosin染色이 유용할 것으로 생각되었고, 中片部는 protease로 處理한 후 eosin染色을 하면 뚜렷하게 染色됨을 확인할 수 있었다.

닭精子 길이는 最長 120μm에서 最短 84.7μm로서 報告者에 따라 차이가 많으나 本 調査에서는 각 10首씩 산란계와 육용계 2個 品種의 평균 精子 길이를 조사하였던 바 각각 89.2±5.0μm와 91.6±3.0μm로서 이미 報告된 Swenson(1977)의 110μm와 鄭吉生(1983)의 120μm 보다는 훨씬 짧았고, Marquez와 Ogasawa(1975)의 84.7μm 보다는 긴편으로 중간정도 길이였다. 本 조사에서도 하나의 精子가 가장 긴 것은 128μm였으며, 측정된 精子中 가장 짧은 것은 56μm되는 것도 있어, 精子別 길이 차이가 많았음을 알 수 있었다. 이와같이

調査者에 따른 길이 차이는 도말염색된 많은 精子 中에서 측정대상 精子의 선정여하에 따른 차이와 측정의 오차도 있을 것으로 생각된다. 그리고 頭部和 中片部는 길이가 짧은데도 조사자별로 차이가 있는 것은 顯微鏡 接眼微測計로서 측정할 때 頭部和 中片部는 거의 모두가 弓形이므로 측정에 따른 오차도 있는 것으로 간주할 수 있었다. 本 조사는 주로 haematocytometer 눈금위에 직접 도말염색하여 사진촬영하고 눈금을 기준으로 길이를 측정하였으므로 정확한 方法일 것으로 생각된다.

닭精자의 폭은 頭部和 中片部가 Swenson(1977), Hodges(1974) 및 鄭吉生(1983) 등이 0.5μm라고 하였으며, 本 조사에서도 0.5μm 정도였다. 精子의 部位別 길이비율에 대하여는 Hodges(1974)는 頭部를 中片部の 3배 길이이고 尾部는 頭部の 7배정도 길이이라고 하였다. 本 조사에서는 총평균의 精子 길이(100%)에서 頭部는 14.4%, 中片部는 4.2%, 尾部는 81.4% 비율의 길이를 점유하였다.

結 論

産卵鷄 Arbor Acres와 肉用鷄 백색 Cornish 種鷄 각각 10首씩의 精液을 채취하여 회석 세척한 후 그 일부를 몇가지 染色法으로 精子의 染色性を 조사하는 한편, 위 種鷄의 정액에 eosin染色을 실시한 후 각 種鷄 首당 정자수 20개씩, 總 정자수 400個의 精子頭部, 中片部, 尾部의 길이를 측정하였던 바 그 결과는 다음과 같다.

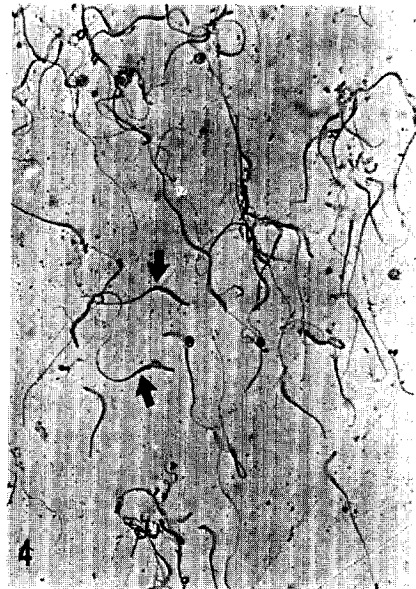
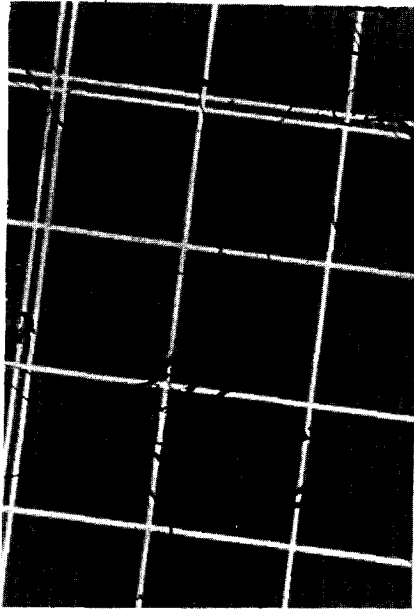
1. 精子部位別 구별과 길이 측정을 위하여 eosin, hematoxylin, protease 처리 후 hematoxylin 또는 eosin, protease 처리 후 hematoxylin과 eosin, carbol-fuchsin 그리고 Giemsa 등의 染色性を 비교한 바 eosin染色이 가장 우수하였고, protease 처리 후 eosin染色은 中片部가 가장 명확히 染色되었다.

2. 2個 品種의 닭精子 平均 길이는 90.4±4.0μm였고 精子 部位別로는 頭部 13.0±0.5μm 片部 3.8±0.2μm, 尾部 73.6±3.8μm였다.

3. 닭 品種別 精子의 平均 길이는, 産卵鷄 Arbor Acres 種鷄가 89.2±5.0μm였고, 部位別로는 頭部 12.9±0.5μm, 中片部 3.8±0.2μm, 尾部 72.5±4.7μm였고, 肉用鷄 백색 Cornish 種鷄의 精子 길이는 91.6±3.0μm였고 部位別로는 頭部 13.1±0.5μm, 中片部 3.8±0.2μm, 尾部 74.7±2.8μm였다.

Legends for Figures

- Fig. 1.** Chicken semen smear on hematocytometer was stained with eosin. $\times 125$.
Fig. 2. Chicken spermatozoa on slide glass were stained with eosin. $\times 125$.
Fig. 3. Chicken spermatozoa on slide glass were pre-treated with protease and stained with hematoxylin. $\times 125$.
Fig. 4. Chicken spermatozoa on slide glass were pre-treated with protease and stained with eosin $\times 125$.



參 考 文 獻

- Bernstein, M.H. and Teichman, R.J. (1972) Regional differentiation in the heads of spermatozoa of rabbit, man and bull. *Am. J. Anat.*, 133: 165~178.
- Berthelsen, J.G. (1981) Vital staining of spermatozoa performed by the patient. *Fert. Steril.* 35: 86~87.
- Bhattacharya, B.C. and Gunther, A.H. (1978) Phenotype of mammalian spermatozoa in relation to genetic content. *Indian J. of Exp. Biol.* 14:610~611.
- Bilgili, S.F. and Renden, J.A. (1984) Fluorometric determination of avian sperm viability and concentration. *Poultry Sci.*, 63:2275~2277.
- Brown, K.I. and Graham, E.F. (1971) Effect of some cryophylactic agents on turkey spermatozoa. *Poultry Sci.*, 50:832~835.
- Clarke, R.N., Bakst, M.R. and Ottinger, M.A. (1984) Morphological change in chicken and turkey spermatozoa incubated under various conditions. *Poultry Sci.*, 63:801~805.
- Dott, H.M. and Foster, G.C. (1972) A technique for studying of the morphology of mammalian spermatozoa which are eosinophilic in a differential "live/dead" stain. *J. Reprod. Fert.*, 29:443~445.
- Friars, G.W. and Chatterjee, S. (1969) Effects of semen collection and storage temperature on sperm viability and fertility in turkey. *Poultry Sci.*, 48:1434~1437.
- Hodges, R.D. (1974) *The histology of the fowl.* Academic Press, London, pp.306~315.
- Marini, P.J. and Goodman, B.L. (1969) Semen characteristics as influenced by selection for divergent growth rate in chicken. *Poultry Sci.*, 48:859~865.
- Marquez, B.J. and Ogasawa, F.X. (1975) Scanning electron microscope studies of turkey semen. *Poultry Sci.*, 54:1139~1143.
- Osinow, O.A. (1982) Motility and eosin uptake of formaldehyde-treated ram spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 65:389~394.
- Phillip, L.E., Buckland, R.B. and Bernon, D.E. (1974) A note on the relationship between the fertility of fresh semen and that effect of storage on duration and percent fertility. *Poultry Sci.*, 53:2216~2218.
- Raphael, S.S. (1976) *Lynch's medical laboratory technology.* 3rd ed. Saunders Co., Philadelphia, pp. 1427, 1441.
- Sarker, S. (1984) Motility, expression of surface antigen, and X and Y human sperm separation in *in vitro* fertilization medium. *Fertil. Steril.* 42:899~905.
- Schoenfeld, C.Y. (1981a) A new staining technique for the rapid determination of sperm morphology. *Fertil. Steril.*, 35:243~244.
- Schoenfeld, C.Y. (1981b) A new staining technique for the rapid determination of the morphologic characteristics of sperm. *Fertil. Steril.* 36: 408~410.
- Swenson, M.J. (1977) *Dukes' physiology of domestic animals.* 7th ed. Comstock P.A., Ithaca and London, pp.835~839.
- Wilson, H.R., Warnick, A.C. and Gutierrez, J.H. (1969) Differentiation of live from dead spermatozoa in cock semen. *Poultry Sci.*, 48:714~717.
- 金明哲 (1984) 高活力牛 精子的 選擇的 分離에 관한 研究. *大韓獸醫學會誌*, 24:245~266.
- 金善煥, 朴喜圭, 金敬珠 (1976a) 第 I 報: 돼지 精液 保存液의 物理化學的 性狀에 관한 研究. *韓畜誌*, 18:101~109.
- 金善煥, 金敬珠, 朴喜圭, 李在根 (1976b) 第 II 報: 各種 稀釋液이 豚精液 保存性에 미치는 영향. *韓畜誌*, 18:392~396.
- 金永洪 (1980) 닭精子的 生死鑑別을 위한 生體染色法에 관한 研究. *大韓獸醫師會誌*, 16:25~28.
- 金永洪, 張仁浩 (1978) 닭精子的 生死鑑別法에 관한 研究. *慶北大論文集*, 26:643~649.
- 裴大植 (1977) 精子的 微細構造와 그 運動機構. *韓國家畜繁殖研究會報*, 1:40~51.
- 裴大植, 金鍾旭 (1979) 韓牛精子的 微細構造에 관한 研究. *韓畜誌*, 2:535~542.
- 裴大植, 金鍾旭 (1984) 韓牛의 精子完成에 관한 電子顯微鏡의 研究. *韓國家畜繁殖研究會報*, 8:70~78.
- 裴大植, 金鍾旭 (1985) 韓國山羊의 精子完成에 관한

- 電子顯微鏡的研究. 韓國家畜繁殖研究會報, 9: 46~56.
- 尹昌鉉, 崔尙龍, 慎鍾旭 (1977) 在來山羊 精液의 保存에 관한 研究. I. 原精液과 稀釋精液의 關係. 慶尙大學 畜産振興研究所報, 5:1~6.
- 李在根 (1968a) 닭의 人工注精時刻이 受精에 미치는 영향. I. 深臙注精에 관한 研究. 韓畜誌, 9: 1~39.
- 李在根 (1968b) 닭의 人工注精時刻이 受精에 미치는 영향. II. 淺臙注精에 관한 研究. 제 1 보. 韓畜誌, 9:95~105.
- 李在根 (1970a) 닭의 人工注精時刻이 受精에 미치는 영향. II. 淺臙注精에 관한 研究. 제 2 보. 韓畜誌, 12:1~10.
- 李在根 (1973) 닭의 人工注精時刻이 受精에 미치는 영향. II. 淺臙注精에 관한 研究. 제 3 보. 韓畜誌, 15:10~19.
- 李在根 (1970b) 닭의 人工수정. 韓畜誌, 12:146~148.
- 李在根, 宋海範, 鄭船富 (1978) 닭의 人工授精에 있어서 適正注入 精子數 및 注入間隔에 관한 研究. 韓畜誌, 20:66~71.
- 李在根, 宋海範 (1980) 닭의 人工授精에 있어서 適正注入 精液量에 관한 研究. 韓畜誌, 22:93~99.
- 任京淳 (1983) 돼지 凍結精液의 製造와 利用. 韓國家畜繁殖研究會報, 7:27~40.
- 任京淳, 鄭場龍 (1978) 豚精液의 凍結保存에 관한 研究. I. 保存液의 組成 및 凍結條件이 融解後 豚精子의 生存性에 미치는 影響. 韓畜誌, 20: 586~591.
- 鄭場龍, 任京淳 (1979) 豚精液의 凍結保存에 관한 研究. II. 凍結融解가 精子頭帽의 形態 및 受胎에 미치는 影響. 韓畜誌, 21:333~338.
- 정길생, 정영채, 이규승, 김창근, 임경순, 김재근, 박충생 (1983) 家畜繁殖學. 先進文化社, pp.140~145, pp.395~418.