

# 山羊精液冷凍保存之研究<sup>(1)</sup>

章嘉潔<sup>(2)(4)</sup> 吳昇陽<sup>(2)</sup> 沈朋志<sup>(3)</sup>

收件日期：96年5月4日；接受日期：96年11月20日

## 摘要

本試驗之目的在探討適合山羊精液冷凍保存之最佳條件。採用 6 頭成熟阿爾拜因公羊，以假陰道法採取新鮮精液，並分別以脫脂乳粉 (Skimmed-milk ; SKM) 及 Tris-葡萄糖-檸檬酸-蛋黃 (Tris-glucose-citric acid-yolk ; TCG) 兩種精液稀釋液稀釋，稀釋最終濃度為  $5 \times 10^8 \text{ cell / mL}$ 。比較 SKM 及 TCG 兩種精液稀釋液，在冷凍前、解凍後之精液性狀，項目包括精子存活率、精子活力、精子頭帽完整性。其次以保存後性狀較佳之精液進行人工授精試驗，並調查產仔率、產仔數、每頭母羊之平均產仔數。試驗結果顯示，山羊精液以 TCG 稀釋液稀釋，在冷凍解凍後 120 分鐘之精子活力及存活率，均較使用 SKM 稀釋液組呈顯著改善 ( $P < 0.05$ )。在精子頭帽完整性方面，以 TCG 稀釋液稀釋後之精液經冷凍解凍後也較使用 SKM 稀釋液組顯著改善 ( $P < 0.05$ )。在另一試驗，公羊精液分別以 SKM 稀釋液與 TCG 稀釋液稀釋，並製作冷凍精液，再進行人工授精，結果顯示二組之產仔率分別為 33.3% 與 60.0% ( $P < 0.05$ )，產仔數分別為 10 與 30 頭，每頭母羊之平均產仔數分別為 1.25 與 2.5 頭 ( $P < 0.05$ )，均以 TCG 稀釋液組較 SKM 組為高 ( $P < 0.05$ )。

關鍵詞：山羊、精液、冷凍保存。

## 緒言

冷凍精液具有長期保存及運輸方便之優點，然而冷凍精液在精子存活率、活力，甚至受胎率等方面，仍較新鮮精液為低。山羊精液冷凍稀釋液之種類繁多 (Memon and Ott, 1981 ; Chemineau *et al.*, 1991)，然而在實用上仍以 SKM 及 TCG 兩種精液稀釋液較為普遍。在山羊精液稀釋液中使用含蛋黃之稀釋液會與精液中之酵素作用造成精子損害。據 Iritani and Nishikawa (1961, 1963) 之研究，山羊精漿中含有分泌自尿道球腺 (bulbourethral gland) 之蛋黃凝集因子-磷酸解脂酵素 (phospholipase)，會分解蛋黃中的卵磷脂 (lecithin) 產生游離脂肪酸與溶血卵磷脂 (lysolecithin)，而有害於精子之存活。Memon *et al.* (1985) 及 Salamon and Maxwell (1995) 使用脫脂乳粉於精液冷

---

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1409號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所台東畜繁殖場。

(3) 國立屏東科技大學畜產系。

(4) 通訊作者，E-mail: janices@mail.tlri.gov.tw。

凍保存之稀釋液，並認為脫脂乳成分是山羊精液最有效的稀釋液 (Leboeuf *et al.*, 2003)。然而以牛乳或牛乳為基礎之稀釋液，精子受精能力大約僅能保持12-24小時 (Memon *et al.*, 1985)。脫脂乳可保持精子受精能力之機制至目前為止仍不清楚。惟其中乳粉成分之乳蛋白在低溫環境中具有安定精子細胞膜之作用，而在冷卻或冷凍時則可保護精子抗冷休克 (Leboeuf *et al.*, 1998)。然在山羊精液內含尿道球腺分泌物 (bulbourethral gland secretion; BUS) 中，有研究純化出含一種 60-kDa 尿道球腺糖蛋白脂肪酶 (bulbourethral gland secretion glycoprotein 60 lipase; BUSgp60)，會造成脫脂乳粉中三酸甘油酯 (triglycerides) 分解，進而影響精液品質，使精子活力衰退、頭帽損傷及精子死亡 (Pellicer, 1995, 1996)。

本研究將採集所得精液，於冷凍前、解凍後等階段分別添加不同稀釋液，並評估對精液品質之影響，以探討較合適的冷凍精液稀釋液，同時實施母羊人工授精，期藉此尋求山羊精液冷凍保存之最佳條件。

## 材料與方法

### I. 精液之收集與處理

採用 6 頭年齡約 4 至 5 歲之阿爾拜因公羊，以假陰道法採取新鮮精液。採集之精液經鏡檢總存活精子數及活力之後，使用精液洗滌液離心洗滌二次，第一次加入總精液量 10 倍洗滌液混合，以  $500\times g$  離心 (約 1500 rpm) 10 分鐘後，經去除上層懸浮液後，再以上述同樣方法離心洗滌一次。之後分別以 SKM 及 TCG 兩種精液冷凍稀釋液進行等量稀釋，並使最終稀釋精液每毫升含有  $5\times 10^8$  個精子濃度。然後將稀釋精液置於  $4^{\circ}\text{C}$  平衡 2 小時，再裝填於 0.25 毫升的麥管中並予封口。將已封口之麥管分別放置液態氮液面上層約 16 公分處  $-80^{\circ}\text{C}$ 、2分鐘，約 4 公分處  $-110^{\circ}\text{C}$ 、3分鐘，然後再將麥管移入液態氮桶下方，以完成冷凍步驟。

### II. 實驗設計

比較 SKM 及 TCG 兩種精液冷凍稀釋液，比較冷凍前、解凍後靜置  $37^{\circ}\text{C}$ ，5 分鐘、解凍後靜置  $37^{\circ}\text{C}$ ，120 分鐘之精液性狀，項目包括：精子存活率、活力，而精子頭帽之完整性之評估則於解凍後檢查，並以性狀最佳之精液進行人工授精試驗，同時調查母羊之產仔率、產仔數、平均每頭母羊之產仔數。

### III. 精液性狀評估

精液解凍時，將麥管自液態氮儲存桶中取出，立即投入  $37^{\circ}\text{C}$  溫水中解凍 30 秒，並於顯微鏡下評估解凍後精子之存活率與活力，以瞭解個別公羊精子之耐凍性。精子活力之檢測，取新鮮精液一小滴放置於預熱  $37^{\circ}\text{C}$  之清潔載玻片上，並於 100 倍之顯微鏡下鏡檢精子之泳動波 (wave motion)，而精子活力等級之判定參考 Ax *et al.* (2000) 之方法，其範圍為 0-5。精子存活率之評估方式，取原精液製成抹片以 eosin-nigrosin 染劑進行染色，再快速風乾後置於 400 倍顯微鏡下鏡檢，若染成紅色者即代表死精子。每一抹片計算 200 隻精子，並以活精子數除以總精子數，即為精子之存活率。

### IV. 精子頭帽完整性評估

精子頭帽完整性之評估使用螢光素異硫氰酸鹽結合花生凝集素 Fluorescein isothiocyanate-conjugated peanut agglutinin (FITC-PNA)，其步驟依據 Fazeli *et al.* (1997) 之方法稍作修正，即取

精液樣品 30  $\mu$ L 塗抹於載玻片上，經空氣乾燥後，以甲醇固定 10 分鐘。取 30  $\mu$ L 含 FITC-PNA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 之 PBS 溶液，滴置於載玻片上，再移於可控制濕度之 37°C 培養箱內靜置 30 分鐘後，再以 PBS 沖洗，並經空氣乾燥後使用 5  $\mu$ L 的 Antifade 溶液 (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR) 封片，此溶液可有效保持螢光效果。精子頭帽完整性評估使用光學螢光顯微鏡 (1000 $\times$ ，油鏡)，激發波長 480 nm、射出波長 530 nm，隨機取數個視野至少計數 100 個細胞，且每一樣品重覆計算六次。在顯微鏡下觀察山羊精細胞頭帽染色，其判讀方式如下：(1)精細胞頭帽顯現完整密集明亮螢光，顯示頭帽完整；(2)精細胞頭帽顯現部份螢光，顯示頭帽部分受損；(3)精細胞頭帽未顯現沒有螢光，顯示頭帽之細胞膜及頭帽外層完全受損。

#### V. 人工授精試驗

進行人工授精之試驗母羊，年齡約 2 至 5 歲，平均肥瘦度評分為 3 (1=瘦弱, 5=肥胖)，總頭數為 44 隻。精液之處理參考 Evans and Maxwell (1987) 之方法，即冷凍精液取出後放入 37°C 溫水中 30 秒解凍，解凍後之冷凍精液裝置於人工授精槍內，而存活率低於 60%，畸形率高於 20%，或精子活動力太差的精液，均不宜做人工授精使用。人工授精之步驟，參考 Chemineau *et al.* (1991) 及 Leboeuf (2000) 之方法，即將人工授精槍伸入陰道對準子宮頸口，使授精槍前端到達子宮體的位置，然後將精液緩慢 (約 3 至 5 秒的時間) 注入子宮體的位置，然後取出人工授精槍及開腔器。

#### VI. 統計分析

試驗所得資料利用 SAS (statistical analysis system, SAS 9.1, 2005) 進行統計分析，並以 *t*-Test 比較兩組觀察值之平均值差異。

## 結果與討論

本試驗以 SKM 及 TCG 兩種精液冷凍稀釋液與精液進行等量稀釋冷凍，而二種冷凍稀釋液之成分如表 1。調查冷凍前、解凍後 37°C 靜置 5 分鐘與 120 分鐘之精液性狀，項目包括精子存活率與活力。試驗結果如表 2，即山羊精液使用 SKM 稀釋液稀釋，精子在冷凍前、解凍後 5 分鐘及解凍後 120 分鐘後之活力分別為  $4.8 \pm 0.41$ 、 $3.9 \pm 1.62$ 、 $2.0 \pm 0.84$ ；而山羊精液以 TCG 稀釋液稀釋後，精子在冷凍前、解凍後 5 分鐘、解凍後 120 分鐘後之活力則分別為  $4.7 \pm 0.45$ 、 $4.5 \pm 1.35$ 、 $3.4 \pm 1.05$ 。表 3 為山羊精液以 SKM 或 TCG 稀釋液稀釋後精子存活率變化。由表中可見山羊之精液以 SKM 稀釋液稀釋後，在冷凍前、解凍後 5 分鐘、解凍後 120 分鐘之精子存活率分別為  $81.3 \pm 5.50$ 、 $65.0 \pm 7.82$ 、 $27.3 \pm 6.98$ ；而山羊精液以 TCG 稀釋液稀釋後之精子活率在冷凍前、解凍後 5 分鐘、解凍後 120 分鐘則分別為  $82.7 \pm 4.42$ 、 $76.0 \pm 9.22$ 、 $42.3 \pm 6.60$ 。因此山羊精液以 TCG 稀釋液稀釋，並經冷凍與解凍後 120 分鐘，在精子活力與存活率方面均較使用 SKM 稀釋液者為高，且二者在統計上呈顯著差異 ( $P < 0.05$ )；可見 TCG 精液稀釋液對山羊精子之冷凍保存效果為佳，此與公羊精液使用蛋黃稀釋液可維持較高活力 (Azawi *et al.*, 1993) 之報告一致。TCG 稀釋液之成分中含蛋黃，而蛋黃內之卵磷脂可保護精子免受冷休克之傷害 (Blackshaw, 1954)，故可降低精子受到之損害 (Jones and Martin, 1973)。TCG 稀釋液配方另一重要成分 Tris (hydroxymethyl aminomethane) 亦證實可延長精子之冷凍保存時間，其原理乃藉由創造一穩定緩衝區，中和精子所產生的乳酸，以避免酸鹼值大幅變化 (Salamon and Ritar, 1982)。據楊等 (1999) 之試驗結果，顯示公羊精液分別以脫脂乳稀釋液與含 20% 蛋黃稀釋液稀釋，而冷凍-解凍後之精液性狀以脫脂乳稀釋液組極顯著優於蛋黃稀釋液組，而另有研究發現山羊精液以類似蛋黃稀釋液稀釋，而解凍後之精子活力優於使用脫

脂乳蛋黃稀釋液配方 (Chauhan and Anand 1990)。Santiago-Moreno et (2006) 之研究結果，顯示使用 TCG-6% 蛋黃之稀釋液較 TCG-20% 蛋黃之稀釋液，其冷凍精液解凍後之人工受精的受胎率為佳。目前以蛋黃添加於山羊精液冷凍稀釋液之相關研究，蛋黃之濃度自 1.5 至 50% 不等 (Salamon and Maxwell, 1995)，而本試驗使用 2.5% 蛋黃稀釋液做為精液冷凍保存，獲得極佳之精液性狀表現。

表 1. 山羊精液冷凍稀釋液之組成

Table 1. The composition of semen extenders for goats

Components ( 100 ml )	SKM	TCG
Egg yolk (%)		2.5
Sodium citrate (g)		
Glucose (g)		0.625
Skim milk (g)	10	
Glucose anhydrate (g)	0.194	
Tris (tris (hydroxymethyl) aminomethane) (g)		3.786
Citric acid monohydrate (g)		2.172
Crystalline penicillin (IU/ml)	50	50
Streptomycin sulphate (g/ml)	50	50

TCG formula from Evans and Maxwell, 1987.

SKM formula from Corteel, 1974.

表 2. 不同精液冷凍稀釋液對精子活力之影響

Table 2. Effects of different semen extenders on goat sperm motility

Extenders	Before freezing	5 min post-thawing	120 min post-thawing
SKM	4.8±0.41	3.9±1.62	2.0±0.84 <sup>a</sup>
TCG	4.7±0.45	4.5±1.35	3.4±1.05 <sup>b</sup>

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

SKM = Skimmed-milk extender; TCG= Egg yolk-tris-glucose extender.

表 3. 不同精液稀釋液對山羊精子存活率之影響

Table 3. Effects of different semen extenders on goat sperm viability

Extenders	Before freezing	5 min post-thawing	120 min post-thawing
SKM	81.3±5.50	65.0±7.82	27.3±6.98 <sup>a</sup>
TCG	82.7±4.42	76.0±9.22	42.3±6.60 <sup>b</sup>

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

SKM = Skimmed-milk extender; TCG= Egg yolk-tris-glucose extender.

由於精子頭帽內含有許多能促進與卵子結合之酵素，而頭帽完整的精子與生育率具有高度的相關性 (Saacke, 1972)；尤其是精液在冷凍-解凍過程中，常造成相當程度之冷休克之損害，故以頭帽完整性做為家畜精液品質之分析項目，以分辨冷凍精液品質良窳 (Quinn and White, 1966; Graham and Pace, 1967; Pursel *et al.*, 1968)。經由顯微鏡觀察，可了解精細胞膜與頭帽在冷凍解凍後之受損情形，結果如表 4，山羊精液以 TCG 冷凍稀釋液稀釋與冷凍解凍後，評估精子頭帽之完整性，顯示頭帽受損數較使用 SKM 稀釋液組為少，且二者在統計呈顯著差異 ( $P < 0.05$ )。

表 4. 不同精液稀釋液於冷凍解凍後山羊精子頭帽評估

Table 4. Effects of different semen extenders on acrosome status of the frozen-thawed goat spermatozoa

Extenders	Intact acrosome (%)	Partially damaged acrosome (%)	Damaged acrosome (%)
SKM	70.3 ± 7.10	10.8 ± 6.46	18.8 ± 3.12 <sup>a</sup>
TCG	79.5 ± 5.89	9.2 ± 2.59	11.2 ± 3.57 <sup>b</sup>

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

SKM = Skimmed-milk extender; TCG= Egg yolk-tris-glucose extender.

精液性狀檢查為評估生育力之一重要指標，然評斷冷凍精液之最可信方式是直接進行人工授精，再觀察是否成功懷孕，因此後續之實驗使用 SKM 稀釋液與 TCG 稀釋液分別製作冷凍精液，並行探討母羊對人工授精之影響。試驗結果顯示，以 SKM 稀釋液與 TCG 稀釋液製作之冷凍精液，在母羊實施人工授精之結果如表 5；其中產仔率分別為 33.3% 與 60.0% ( $P < 0.05$ )，產仔數分別為 10 與 30 頭，而每頭母羊之平均產仔數則分別為 1.25 與 2.5 ( $P < 0.05$ )，二組呈顯著差異。因此使用 TCG 稀釋液製作之冷凍精液，不論產仔率、產仔數及每頭母羊之平均產仔數均高於脫脂乳稀釋液。Salvador *et al.* (2005) 使用類似 TCG 之蛋黃稀釋液製作冷凍精液，經人工授精後之受胎率為 48-59%，而本試驗結果以 TCG 稀釋液製作冷凍精液，並實施母羊之人工授精，結果產仔率為 60.0%，有一致之結果。

表 5. 不同精液稀釋液之冷凍精液人工授精之比較

Table 5. Comparisons of different extenders in goats artificially inseminated with frozen semen

Extenders	No. of goats	Kidding rate	No. of Kids	Average litter size (kids/doe kidding)
SKM	24	33.3(8/24) <sup>a</sup>	10(6 ♀ 4 ♂)	1.25(10/8) <sup>a</sup>
TCG	20	60.0(12/20) <sup>b</sup>	30(18 ♀ 12 ♂)	2.5(30/12) <sup>b</sup>

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

SKM = Skimmed-milk extender; TCG= Egg yolk-tris-glucose extender.

過去以 SKM 稀釋液製作山羊之冷凍精液，因受孕率未能有效提升，故有必要發展一種較高效能之精液冷凍技術予以取代。以往國內畜牧業之發展一直以豬、家禽與乳牛為主，而山羊並非主要之經濟家畜，因此長久以來對於山羊精液冷凍保存之研究工作相形較少。由本試驗之結果顯示，以



TCG 冷凍稀釋液製作山羊精液冷凍解凍後，無論精子之活力與存活率均較顯著使用 SKM 冷凍稀釋液者為佳，因此可應用於山羊精液之冷凍保存與人工授精。

## 誌謝

本試驗承農委會科技計劃 (93農科-3.1.3-畜-L17) 經費補助，使本試驗得以順利進行，並承台東種畜繁殖場場長陳坤照添購儀器設備，試驗期間並承台東種畜繁殖場陳威成及張溪泉主任提供試驗羊隻及協助飼養管理，謹此一併誌謝。

## 參考文獻

- 楊鎮榮、黃政齊、謝明江。1999。稀釋與冷凍處理過程對山羊冷凍精液解凍、後存活率與活力之影響。畜產研究 32:267-277。
- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. love, D. D. Varner, B. Hafez and M. E. Bellin. 2000. Semen evaluation. in: Reproduction in farm animals. eds. Hafez, E. S. E. and B. Hafez. Lippincott Williams& Willkins, South Carolina, USA. pp. 365-375.
- Azawi, O. I., A. L. Dahash and F. T. Juma. 1993. Effect of different diluents on Shami goat semen. Small. Rumin. Res. 9:347-352.
- Blackshaw, A.W. 1954. The prevention of temperature shock of bull and ram semen. Aust. J. biol. Sci. 7:573-582.
- Chauhan, M. S. and S. R. Anand.1990. Effect of egg yolk lipids on the freezing of goat semen. Theriogenology 34:1003-1013.
- Chemineau, P., Y. Cognie, Y. Guerin, P. Orgeur and J. C. Vallet. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO, United Nations, Rome. pp. 103-183.
- Evans, G. and W. M. C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats. Butterworths, Sydney. P.127.
- Fazeli, A. W. J. Hage, F. P. Cheng, W. F. Voorhout, A. Marks, M. M. Bevers and B. Colenbrander. 1997. Acrosome-intact boar spermatozoa initiate binding to the homologous zona pellucida *in vitro*. Biol. Reprod. 56:430-438.
- Graham, E. F. and M. M. Pace. 1967. Some biochemical changes in spermatozoa due to freezing. Cryobiology 4:75-84.
- Iritani, A. and Y. Nishikawa. 1961. Studies on the egg-yolk coagulating factors in goat semen: II Properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation. In: Proc. Silver Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto University. pp. 97-104.
- Iritani, A. and Y. Nishikawa. 1963. Studies on the egg-yolk coagulating enzyme in goat semen: IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme. Jpn. J. Anim. Reprod. 8:113-117.
- Jones, R. C. and I. C. Martin. 1973. The effects of dilution, egg yolk and cooling to 5 degrees C on the ultrastructure of ram spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 35:311-320.
- Leboeuf, B., E. Manfredi, P. Boue, A. Piacere, G. Brice, G. Baril, C. Broqua, P. Humblot and M. Terqui. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. Livestock Product. Sci. 55:193-203.
- Leboeuf, B., B. Restall and S. Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial

- insemination. Anim. Reprod. Sci. 62:113-141.
- Leboeuf B., P. Guillaouet, F. Batellier, D. Bernelas, J. L. Bonne, Y. Forgerit, G. Renaud and M. Magistrini. 2003. Effect of native phosphocaseinate on the *in vitro* preservation of fresh semen. Theriogenology 60:867-77.
- Memon, M. A. and R. S. Ott. 1981. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. World. Rev. Anim. Prod. 17:19-26.
- Memon, M. A., K. N. Bretzlaff and M. S. Ott. 1985. Effect of washing on motility and acrosome morphology of frozen-thawed goat spermatozoa. Am. J. Vet. Res. 46:473-475.
- Pellicer, M. T. 1995. Purificacion y caracterizacion del componente de la secrecion bulbouretral de macho cabrio implicado en el deterioro de la calida de los espermatozoides diluidos en leche. In: tesina de Licenciatura. Universidad de Murcia, 200.
- Pellicer, M.T. 1996. Conservacion del semen caprino. Interraccion entre la secrecion bulbouretral y el diluyente leche : identificacion y mecanismo de accion de los componentes implicados en el deterioro espermatico. These Doctorat, Universidad de Murcia, 200.
- Pursel, V. G., I. A. Johnson and P. J. Gerrits. 1968. Glutamic oxaloacetic transaminase and lactic dehydrogenase activities of boar spermatozoa and seminal plasma. J. Reprod. Fertil. 18:176-177.
- Quinn, P. G. and I. G. White. 1966. The effect of cold shock and deep-freezing in the concentration of major cations in spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 12:263-270.
- Saacke, R. G. 1972. Semen quality tests and their relationship to fertility. NAAB Proc 4 th Tech. Conf. Anim. Reprod. Artif. Insem. pp. 17.
- Santiago-Morenoet, J., A. Toldano-Diaz, A. Pulido-Pastor, J. Dorado, A. Gomez-Brunet and A. Lopez-sebastian. 2006. Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish Ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. Theriogenology 66:1219-1226.
- Salamon, S. and A. J. Ritar. 1982. Deep freezing of Angora goat semen: effects of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa. Aust. J. Biol. Sci. 35:295-303.
- Salamon, S. and W. M. C. Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen. I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. Anim. Reprod. Sci. 37:185-249.
- Salvador, I., J. Yaniz, M. P. Viudes-de-Castro, E. A. Gomez and M. A. Silvestre. 2006. Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5°C. Theriogenology 66:974-981.
- SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. 2005. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

# Study on the cryopreservation of goat semen <sup>(1)</sup>

Chia-Chieh Chang<sup>(2)(4)</sup> Sheng-Yang Wu<sup>(2)</sup> Perng-Chih Shen<sup>(3)</sup>

Received : May 4, 2007 ; Accepted : Nov. 20, 2007

## Abstract

This experiment was conducted to investigate the essential factors for the optimal freezing of goat semen. Semen collected from six Alpine bucks by an artificial vagina were diluted with either Skimmed-milk extender (SKM) or Tris-glucose-citric acid-yolk (TCG) extender which was brought to  $5 \times 10^8$  cell/mL in the final concentration. SKM and TCG extenders for sperm cryopreservation were evaluated. The percentage of live sperm, motility and the acrosomal integrity of spermatozoa before freezing and post-thawing were recorded. The pregnancy rates, the number of fetuses and the fecundity rate (fetus/pregnant doe) were used to compare different specimens of frozen semen for artificial insemination. The use of semen diluted with TCG extender after thawing for 120 minutes showed that the sperm motility, the live sperm survival percentage and the acrosome integrity percentage were significantly ( $P < 0.05$ ) higher than those of the SKM extender. Additional research was conducted to evaluate the effects of artificial insemination. The result showed that there was significant difference ( $P < 0.05$ ) on the kidding rate, the number of kids and the average litter size after using semens diluted by SKM exteuder and TCG extender.

Key words : Goat, Semen, Cryopreservation.

---

(1) Contribution No. 1409 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Taitung Animal Propagation Station COA-LRI, Taitung, 954, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung 912, Taiwan, R.O.C.

(4) Corresponding author, E-mail: janices@mail.tlri.gov.tw.