

豚精液の保存に関する研究

—豚精液の低温保存試験—

加藤巳之吉・秋永達雄・荒岡昭司・島田直吉

Studies on Preservation of Boar Semen

— Experiments on 6°C preservation of boar semen —

Minokichi KATO, Tatsuo AKINAGA, Shoji ARAOKA and
Naokichi SIMADA

(要旨)

従来の保存液では保存日数が2日間と短かく、廃棄の量が多いので、精液を有効に利用するため農林水産省畜産試験場で開発された6~7°C保存の低温保存用希釈液M-12及びM-14による保存と授精の試験を実施した。

M-12とM-14の普通希釈(2~3倍)の保存試験ではポリザノンの保存成績と比べて約3日長く、受胎率も良い成績が得られたが、M-12とM-14の比較ではM-14がやゝ良かった。

M-14希釈液の3倍、4倍、5倍希釈精液の比較では、4倍希釈すると保存性がやゝ落ちる傾向にあったが、平均活力では充分使用可能なものであり、受胎率の差もなかった。しかし5倍希釈精液の5日保存は活力の低下もあり、バラツキも大きくなっていることから、現状の保存技術で5日保存を行なうためには、4倍希釈が限度と考えられる。

まえがき

人工授精が豚の改良促進に効果的なことは衆知の事実であるが、その普及率は約10%内外と言われており、種雄豚の飼養は技術的、経済的に大きな負担となるにもかかわらず人工授精普及率が低いのは、精液の保存技術にも原因があると考えられるので低温保存用希釈液を使用して、本試験を実施した。

試験材料及び方法

試験期間：昭和50年4月から昭和56年3月。

供試豚：揚げい養種雄豚および、揚げい養種雌豚並びに民間種雌豚。

希釈液の調製：希釈液は、それぞれA、B、Cの区別があり滅菌蒸溜水200ml中に溶解する量は表1の量とした。調製は秤量したA:Bを300ml容量の三角コル

ペンに入れ、200mlの蒸溜水を加えて5~10分程度沸騰し、溶解を確認する。次に湯煎温湯が70°Cに下ってから秤量したCを加70~75°Cの範囲で約10分間湯煎し完全溶解させた後十分冷却し、ペニシリンカリウム20万単位、硫酸ストレプトマイシン0.1gを添加して調整を終る。

pH調整：希釈液は、7.30±0.05となる様に3.0%トリスアミノメタン液：または5.2%クエン酸液で調整した後使用した。なお使用する希釈液は調整後3日保存までとし冷蔵庫に保存し、使用時には必ずpH調整を行なった。

精液採取：採取時には細菌落下を防ぐため皮膚被毛を清拭し、包皮及びペニスを生理的食塩水で洗滌した後、ペニスを握る手の温度に注意しながら約30°Cに保温された採取ビンに、70~100mlの分離採取を行なった。

精液の希釈：採取精液は30°Cの恒温槽の中に浸しておいた希釈液と同温条件の中で保存し、必要な検査を行っ

た後、静かに混合し、希釀を行なった。

精液の保存：希釀時に使用した微温湯をアイスジャーに注入し、その中に希釀精液の入った三角コルベットを入れて6℃の低温恒温器で保存し、48時間かけて徐々に6~7℃に温度を降下させた。活力検査は毎日行なうが、その際には精液を静かに振って精子の沈殿を防いだ。精子は長い日数授精能力を保持するものもあるが、試験設定は5日保存までとし、精子活力70%以上のものを授精試験に供用した。

精液の注入：精子数は1ml中1億以上とし1回の注入量は50mlで、1発情1~2回授精した。また発情が長びく場合には3回授精も実施した。

調査項目：M-12、及びM-14希釀液による2~3倍希釀の保存性並びに受胎性。M-14希釀液の3倍、4倍、5倍精液の保存性と受胎性。40ml注入の受精試験。

表1 希釀液の調製

希釀液	A	B	C
M-12	3.50 g	2.58 g	4.20 g
M-14	3.50	2.88	4.00

試験結果と考察

1. M-12並びにM-14希釀液の保存試験と受胎試験。試験は大型4品種を使用し通常行なわれている2~3倍の希釀倍率で実施した。

(1) 希釀液別保存成績

表2に示すとおり、平均値では殆ど差はないが、M-12希釀液の活力にはバラツキがやゝ大きかった。

表2 希釀液別保存成績

希釀液	例 数	保 存 日 数				
		1 日	2 日	3 日	4 日	5 日
M-12	81	75±3.2 ⁺⁺	75±3.0 ⁺⁺	74±3.0 ⁺⁺	73±2.8 ⁺⁺	72±3.0 ⁺⁺
M-14	80	76±2.8	75±2.4	74±2.4	73±2.6	72±3.0

(2) 希釀液別受胎成績

M-12液が25頭、M-14液が13頭と授精した結果は、表3のとおり有意差は認められなかった。
(u = 0.2510 n.s.)

(3) 希釀液別産子数

授精後分娩したのはM-12が15頭、M-14が10頭で平均産子数が8.9頭と9.6頭でM-14液がやゝ多く、経産、未経産ともこの傾向にあった。

2. M-14による4倍希釀の精液保存性と受胎性

(1) 4倍希釀精液の保存成績

70~100mlに分離採取した精液を約4倍に希釀し135例の保存試験を実施した結果、5日保存の成績は授精に使用出来るものであったが、保存の日数が長くなるに従って、普通希釀(2~3倍)と比較してバラツキの多い傾向が認められた。

表3 希釀液別受胎成績

希釀液	授精頭数	受胎頭数	受胎率
M-12	25頭	18頭	72%
M-14	13	10	77

表4 希釀液別産子数

希釀液	分娩頭数	合計産子数	平均産子数
M-12	15頭	133頭	8.9頭
M-14	10	96	9.6

表5 4倍希釀精液の保存成績

希釀液	例 数	保 存 日 数				
		1 日	2 日	3 日	4 日	5 日
M-14	135	75±2.7 ⁺⁺	74±2.4 ⁺⁺	72±2.9 ⁺⁺	71±3.4 ⁺⁺	70±4.6 ⁺⁺

(2) 4倍希釈精液の受胎性

授精試験は一発情期に50mlづゝ1~2回の注入で17頭に授精したが、その内13頭の受胎が確認された。また保存日数別受胎成績では特に差が認められなかった。

(3) 4倍希釈精液の産子成績

平均の産子数は、経産豚4頭の平均で10.5頭、未経産豚9頭の平均で8.2頭であった。

3. M-14希釈液による5倍希釈の保存性と受胎性。

(1) 5倍希釈精液の保存性

保存試験の結果は、5日目保存になると活力低下がみられ、バラツキも大きくなる傾向にあった。

表6 4倍希釈精液の受胎成績

希釈液	授精頭数	受胎頭数	受胎率
M-14	17頭	13頭	76%

表7 4倍希釈精液の産子数

産歴	分娩腹数	合計産子数	平均産子数
経産豚	4頭	42頭	10.5頭
未経産豚	9	74	8.2

表8 5倍希釈精液の保存成績

希釈液	例数	保存日数				
		1日	2日	3日	4日	5日
M-14	92	75±2.5 [#]	74±2.6 ^H	72±2.5 [#]	70±4.3 [#]	68±6.0 [#]

(2) 5倍希釈精液の受胎性

授精試験は14頭の内13頭が受胎したが、精液の保存日数は短かいものが多く、最長保存日数は4日で、5日保存の精液はなかった。

(3) 5倍希釈精液の産子成績

受胎した13頭の内12頭が分娩し、平均産子数で経産豚が9.4頭、未経産豚が11.5頭の成績を得た。この現象は未経産の母豚が何れも10頭以上生産したのに経産豚は17頭生産したものがある一方6~8頭と産子数の少ないものが、4頭もいたことによるものと考えられる。

保存日数別精液の産子数は、分娩母豚12頭の内、11頭が0~2日保存精液であり、従って保存日数と産子数との関係については一定の傾向はつかめなかった。

また、1ml中の精子数と産子数との関係については、1.6~2.0億と2.0~2.9億に区別した場合、後者の方がやや産子数が多い傾向が認められた。(表11)

4. M-14希釈液の希釈倍率別試験成績

(1) 希釈倍率別精液の保存性

表12に示すとおり、倍率が高くなるに従って、保存成績の低下する傾向にあり、特に4~5日保存になるとバラツキが大きく、1%水準で有意差が認められた。

表9 5倍希釈精液の受胎成績

希釈液	授精頭数	受胎頭数	受胎率
M-14	14頭	13頭	93%

表10 5倍希釈精液の産子数

産歴	分娩腹数	産子総数	平均産子数
経産豚	8頭	75頭	9.4頭
未経産豚	4	46	11.5

表11 5倍希釈の精子数別産子数

精子数(億/ml)	分娩頭数	産子総数	平均産子数
1.6以上~2.0以下	4頭	38頭	9.5頭
2.0 " ~2.9 "	8	83	10.4

表12 希釀倍率別精液の保存成績

希釀倍率	例 数	保 存 日 数				
		1 日	2 日	3 日	4 日	5 日
3.0±0.6	80	7.6±2.8 ⁺⁺	7.5±2.4 ⁺⁺	7.4±2.4 ⁺⁺	7.3 ^a ±2.6 ⁺⁺	7.2 ^a ±3.0 ⁺⁺
4.2±0.2	135	7.5±2.7	7.4±2.4	7.2±2.9	7.1 ^b ±2.9	7.0 ^b ±4.6
5.0±0.0	92	7.5±2.5	7.4±2.6	7.2±2.5	7.8±4.3	6.8±6.0

異なるアルファベット間に有意差あり ($P < 0.01$)

(2) 希釀倍率別受胎成績

各希釀倍率ごとの受胎成績を比較した場合、3倍、4倍の精液と比べ保存性の落ちる5倍希釀精液の受胎率が良くなっているが、これは短かい保存日数(0~2日)で授精されたものが殆どであった為と考えられる。この結果から高希釀精液も活力の良い精子が、1ml中1億以上存在すれば受胎率が変わらないものと推察される。

なお3倍、4倍、5倍の授精頭数について、保存日数別受胎率をみると、表14に示すとおりで、特に顕著な傾向は認められなかった。

表13 希釀倍率別受胎成績

希釀倍率	授精頭数	受胎頭数	受胎率
3.0±0.6	13頭	10頭	77%
4.2±0.2	17	13	76
5.0±0.0	14	13	93

表14 保存日数別受胎率

保存日数	0~1日	1~2	2~3	3~4	4~5	平均受胎率	受胎数/授精数
受胎率	100%	80	63	100	67	82%	36/44

また、1ml中の精子数と受胎率の関係は、統計的有意差は認められなかったが、精子数が多くなると受胎率が上昇する傾向がみられた。

(3) 希釀倍率別産子成績

希釀倍率別の産子数を、経産、未経産に分けて調査した結果では、5倍希釀の精液で未経産豚の産子数が多くなっているが、各倍率を合計した、経産、

未経産の産子数では、一般的傾向と同じく、経産の産子数が多い傾向がみられた。

また、保存日数別の産子数を集計した成績は表17のようで、特に傾向は認められなかった。

一腹当たりの産子数を1ml中に含まれる精子数別に集計した結果は表17に示すとおりであった。

表15 精子数と受胎率

精子数 (億/ml)	以上 1.0	以下 ~ 1.5	以上 1.5	以下 ~ 2.0	2.0~以上
	以上 1.0	以下 ~ 1.5	以上 1.5	以下 ~ 2.0	2.0~以上
受胎率 (%)	50%		82		89
例 数 (頭)		4頭		22	18

表16 希釈倍率別産子数

希釈倍率	平均産子数		産子数／母豚数	
	経産豚	未経産豚	経産豚	未経産豚
3.0±0.6	10.2頭	9.0頭	61/6	27/3
4.2±0.2	10.5	8.2	42/4	74/9
5.0±0.0	9.4	11.5	75/8	46/4
平均	9.9	9.2	178/18	147/16

表17 保存日数別産子数

保存日数	分娩腹数	合計産子数	平均産子数
0~1日	14頭	151頭	10.8頭
1~2	13	112	8.6
2~3	3	27	9.0
3~4	1	7	7.0
4~5	3	28	9.3

5. 40ml注入による授精試験

豚精液の注入量を40mlに減らして量の面から有効利用をはかる試験、即ち2~3倍希釈により1ml中に活発な活動をする精子を1億以上含むように調整して、この精液を40mlづつ1発情に1~2回注入して受胎成績を調査した結果は、表18のとおりで受胎率が劣っていた。

表18 精子数別産子数

精子数(億/ml)	分娩腹数	合計産子数	平均産子数
1.0以上~1.5以下	2頭	16頭	8.0頭
1.5~2.0	18	170	9.4
2.0~2.5	9	84	9.3
2.5~3.0	3	32	10.7
3.0~3.5	2	23	11.5

表19 40ml授精試験成績

希釈液	授精頭数	受胎頭数	受胎率
M-14	18頭	7頭	39%

表20 40ml授精産子成績

希釈液	分娩腹数	合計産子数	平均産子数
M-14	7頭	64頭	9.1頭

ま と め

M-14希釈液の利用試験は、倍率を高め授精頭数を多くし、有効に精液を利用する方法と、注入量を節約し授精頭数を増加するという両面から実施したが、前者の試験で良い成績が得られた。

即ち、採取精液を2~3倍に希釈するのにポリザノンを使用した場合、70%以上の受胎率を得られたのは2日間保存であったが、M-14による受胎試験成績では、120時間保存でも77%の成績が得られた。

このようにM-14の普通希釈方式で長時間の保存が可能となり、また4倍希釈精液についても5日間保存で普通希釈と同様な受胎率が得られている。

これ等の試験結果から、精液を有効利用するには、比較的需要の少ない品種については普通希釈で保存性を良くし、需要の多い精液は短時間で授精に供される例が多いので倍率を高くして有効に利用するのが良いものと考察された。

謝 詞

おわりに本試験の実施に御指導を頂いた農林水産省畜産試験場、和出室長はじめ諸先生に深甚な謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 豚精液の液状低温保存に関する試験(第1報)
鹿児島県畜産試験場研究報告 No.9 1976.

東京都畜産試験場研究報告 第19号 (1982)

2) 豚精液の液状低温保存に関する試験（第2報）

日本家畜人工授精師協会

鹿児島県畜産試験場研究報告 №10 1977.

3) 家畜人工授精講習会テキスト 55.1

4) 豚人工授精の実用化に関する試験

栃木県畜産試験場業務並試験研究報告 1975.