

# 豚精液の凍結保存に関する試験

檀島敏男・秋永達雄・荒岡昭司

## 1. 目的

豚精液の保存については、従来2日が限度とされ、保存時間の短いことが人工授精普及を阻害する一因ともなっており、優良種雄豚の高度活用をはかるためには、精液の保存時間の延長が課題となっているので、凍結による長期保存技術を確認するため、農林省畜試の指導により若干の予備試験を実施した。

## 2. 試験構成

- (1) 種雄豚精液の耐凍性に関する試験
- (2) 注入精液量と受胎率に関する試験

## 3. 種雄豚精液の耐凍性に関する試験

場けい養の種雄豚について精液の耐凍性およびグリセリン平衡最適時間について調査した。

### (1) 実験材料および試験方法

#### ① 試験期間

昭和46年10月～47年3月

#### ② 供試豚

当場けい養の種雄豚7頭を供試したがその内訳は表-1のとおりである。

表-1

No.	品 種	略 名 号	生年月日
1	H	ダイナミック	4 5. 7
2	H	ヤ ノ	4 5. 7
3	L	アサマボスマン	4 4. 1 1
4	L	スズキ	4 5. 9
5	L	ボスマンヤープ	4 4. 1
6	W	アサママーブル	4 5. 1
7	Y	グンマ69	4 4. 9

#### ③ 精液

精液採取については、濃厚精液を分離採取し、精子活力、PH、精子数を検査し、正常精液を供試したがその性状は表-2のとおりである。

表-2

No.	供試精液の性状			
	量	PH	精子数億/ml	活力
1	100 <sup>ml</sup>	7.8	9.0	80 <sup>卅</sup>
2	140	7.4	6.1	80
3	60	7.5	6.8	75
4	90	7.6	8.5	75
5	130	7.6	4.3	70
6	100	7.6	5.4	75
7	100	7.4	7.0	75

## ④ 希釈液

希釈液は粉乳糖液、(ブドウ糖4.2g、脱脂粉乳2.8g、蒸留水100ml)を使用し、トリアミノメタン( $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{OH})_3$ )、およびクエン酸でP.Hを7.3~7.4に補正し、抗菌剤としてペニシリンを1ml中500単位、ストレプトマイシンを1ml中1mgそれぞれ添加した。なおグリセリン濃度は5%とした。

## ⑤ 希釈および凍結方法

1次希釈は25℃で等量希釈を行ない、2次希釈は希釈液の全量を5回に分けて、15分間隔で希釈液を添加し、2次希釈後直ちに恒温室(4℃)内に静置し、グリセリン平衡を行なった。

凍結はドライアイスによるスライド法によったが、ドライアイスブロック上に沓紙をおき、沓紙上にスライドをおいて3分30秒、およびドライアイス上に直接スライドを5分間おいて行なった。

## ⑥ 融解および活力判定方法

融解はスライドを38℃に加温した金属板上に直接おいて行ない、加温した顕微鏡下で前進運動精子数を肉眼的に判定して、精子活力とした。

## ⑦ 成績および考察

場けい養種雄豚精液について、耐凍性およびグリセリン平衡時間について調査した結果は表-3のとおりであった。

表-3

No.	希釈後活力		グリセリン平衡時間耐凍性													凝集
	1次	2次	1h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	20		
1	80	75	10	20	30	40	45	45	40	40	40	40	35	25	+	
2	75	75	-	20	20	25	30	30	30	30	25	20	-	10	+	
3	75	75	5	-	35	40	45	40	35	35	35	30	-	25	-	
4	75	70	-	-	20	25	25	25	25	25	-	20	20	15	++	
5	70	70	15	15	25	25	30	30	20	15	15	15	-	10	-	
6	75	75	10	15	20	25	35	35	35	40	45	40	35	20	+	
7	75	75	10	10	10	15	25	25	25	25	25	20	15	15	+	

即ち凍結融解後の精子活力をみると、 $\text{++}25$ が2頭（No.4, No.7）、 $\text{++}30$ が2頭（No.2, No.5）、 $\text{++}45$ が3頭（No.1, No.3, No.6）で7頭中3頭に耐凍性が認められた。

グリセリン平衡時間については、牛と異なり個体間の差が大きく、従って最適時間はそれぞれ種雄牛個体により変動がみられたが、最も良好な結果が得られた最適時間の範囲は4時間～10時間であった。

なお、本試験は、冬季に実施したものであるが、種雄豚の造精機能および精液性状の季節的な消算を考慮して、今後追試の予定である。

#### 4. 豚精液の注入量と受胎率に関する試験

授精時における精液の注入量については、従来1回当たり50 ml（精子数50億）とされてきたが、凍結化による精液の有効利用という面から、1回の注入量をできるだけ少なくすることが課題となっているので、注入量について試験した。

##### (1) 実験材料および試験方法

① 試験期間 昭和46年9月～47年3月

② 供試豚

當場けい養の種雄豚でランドレース種、ハンプシャー種、大ヨークシャー種各1頭を供試し、雌豚については、民有豚および一部場内豚を使用し、発情が不定のものは除外した。

③ 精液

常法により分離採取を行ない、精子活力、PH、精子数を検査し、正常精液を使用した。その精液性状は表-1のとおりである。

④ 希釈液

希釈液は農林省畜試調製のBL-7(卵黄緩衝液)、およびLM-1(粉乳糖液)を使用し、何れもトリスアミノメタン( $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ )およびクエン酸でPHを7.3~7.4に補正し、抗菌剤として、ペニシリンを1ml中500単位、ストレプトマイシンを1ml中1mgそれぞれ添加した。

⑤ 試験区分

注入精液量を20ml, 30ml, 40ml, 50mlの4区に分け、精子数は各区とも生存精子数で50億とした。

⑥ 注入精液の調整

25℃の等温で原液に希釈液を添加し、生存精子数を算出し、それぞれ各区の注入精液を作成した。

⑦ 授精方法

希釈後の活力で $\geq 70$ 以上のものを使用し、授精は和出式注入器を用い、注入時の逆流精液を追加注入し、再逆流精液については計量記録した。また1発情2回授精については授精間隔を少なくとも24時間以上とした。

⑧ 成績および考察

試験の結果は表-1のとおりであった。

表-1 精液注入量と受胎および産子数

No.	雌豚品種	雄豚品種	供試精液の性状				注入精液量		注入精子数		雌豚産歴	妊否	産子数 ♂♀死
			量	PH	精子数	活力	1回目	2回目	1回目	2回目			
1	L	L	80ml	7.4	9.0億/ml	75	40(8)		40億	億	10	+	371
2	W×L×W	H	60	7.4	4.4	80	30(10)	30	34		3	+	34
3	W	W	80	7.6	3.0	75	40	40(10)	50	50	2	+	75
4	W	L	80	7.8	4.5	70	40		50	38		-	
5	L	L	100	7.6	4.2	65	50(5)		45			-	
6	W	H	75	7.6	7.5	75	50		50		3	+	97
7	Y	Y	60	7.4	10.0	70	30		50		末	-	
8	Y	Y	110	7.8	5.0	75	20	20(5)	50	38	3	+	58
9	Y	Y	120	7.8	6.8	70	50		50		3	+	463
10	L	H	120	7.6	6.0	75	50		50		5	+	551
11	H	H	130	7.6	8.5	75	30		50		1	+	63
12	W×L×W	H	130	7.6	8.5	75	30		50		4	+	312
13	W×L×W	H	120	7.8	5.1	70	20(5)	20	37	50		-	

注入量と受胎率の関係についてみると、注入量40 ml ~ 50 ml 区では6頭中4頭が受胎しており、受胎率は66.7%であったが、注入量20 ml ~ 30 ml 区では7頭中5頭が受胎し、受胎率は71.4%であった。

また注入量と産子数の関係についてみると、注入量40 ml ~ 50 ml 区で受胎の4頭の平均産子数は11.5頭で、注入量20 ml ~ 30 ml 区で受胎の5頭の平均産子数は12.0頭であった。因みに場けい養種豚44頭の平均産子数は11.5頭であり、例数が少ないため、本成績と単純に比較はできないが、注入量を20 ml ~ 30 ml に減少しても受胎率および産子数は殆ど差がないものと思われる。