

第2章 日本における豚人工授精の歩み（その1） （液状精液の利用を中心として）

1. 沿革と発達の経過

日本における豚の人工授精は昭和13年（1938年）農林省（現農林水産省）畜産試験場（当時千葉市に所在）において開始した豚人工授精に関する研究（伊藤祐之，工藤篤および丹羽太左衛門の3名，伊藤，工藤両氏は故人となられ，現在生き残りは筆者のみ）に始まり，その開始は世界的にも早い方であった。

当時，農林省畜産試験場では場長釘本昌二博士主導の下に昭和12年頃から各家畜・家禽の繁殖生理に関する研究が一斉に始まり，繁殖に関する一連の研究として人工授精に関する研究もきわめて精力的に行われ，すぐれた多くの研究業績が生れた。当時の家畜部長は「畜産学原論」の著者として有名な芝田清吾博士であった。

牛の人工授精に関する研究は，既にその数年前から養牛掛において開始され，昭和4年（1929）進藤武男，杣田精一両氏によって精液の遠距離輸送が実施され受胎に成功したのが最初のように，（千葉市外，農林省畜試から千葉県嶺岡種畜場（安房郡）へ乳牛の精液を携行して人工授精し2頭中1頭受胎），その後精管マッサージ法による精液採取にも成功して（杣田，橋本，1935）精液保存に関する研究もすすめられ，さらに人工膣の改良をはじめ牛人工授精の実用化に必要な研究が行われていた。

豚の人工授精に関する研究は，上述のように昭和13年（1938年）から開始し，約1年かかって人工膣による精液採取に成功してから研究が順調にすすみ，数年の間に大体実用化の見通しがついた。具体的には，昭和14年に畜試式豚用人工膣が出来て精液の採取が可能となり，翌昭和15年に畜試式豚精液注入器の原型が出来上がった。これと並行して精液の性状に関する調査，精液の保存，とくに保存温度，保存液，保存方法等についての試験研究，精液の注入方法，注入精液量および精子数等に関する実験的研究を行い，実施方法に一応の見通しが得られた。そして，人工授精によっても受胎し，正常な子豚が得られることが場内の試験によって確認された。（以下多少私事にわたって恐縮ですが），

昭和17，8年頃から太平洋戦争は苛烈となり，研究資材は乏しく，人員の不足も加わって十分な試験研究が出来る環境ではなくなり，筆者自身（丹羽太左衛門）も昭和19年5月第1回目の臨時召集を受けて入隊した。幸い1カ月で除隊となったが，次の召集が予測されたので，次回召集（同年9月であった）までの3カ月間に不眠不休で2つの研究報告（豚の発情に関する研究と和種牡牛の性成熟期に関する研究）の原稿を書き上げ，その印刷を伊藤祐之科長（故人）に託して慌しく応召した次第であった。終戦前後の昭和19年～21年頃は試験場全体として本

格的な試験研究は頓挫していた。筆者は幸い命あって昭和21年6月に中支から生還し、復員、職場復帰が叶ったので又豚の人工授精、繁殖等に関する試験研究を続けることができた。

豚の人工授精の研究メンバーは当初3名であったが、その後工藤 篤技官が養牛掛に転属になり、伊藤祐之科長と筆者の2名になったが、昭和18年9月から新卒の瑞穂 当技官が加わり、人手のいる毎日の試験が大分楽になった。人工授精による受胎試験はまず場内の豚で実施したが、何分にも飼料不足で頭数が足りず、周辺農家をお願いして受胎試験をさせてもらったりして供試頭数を増やした。

一方、精液の保存、注入等に関する研究は、主として保存液、保存温度、保存輸送の方法、精液注入器具の開発、注入精液量および注入精子数等の解明に力を注ぎ実用化をめざして努力した。当時の精液保存は、液状精液保存であって、全精液の保存には15～20℃が適温であることを見つけるまでにかなりの期間がかかった。この適温は海外の研究でも同じ結果であることが後日明らかになった。

精液保存液としては、当時は卵黄系のものとして卵黄クエン酸ソーダ糖液（卵ク糖液、抗菌性物質を含む）、牛乳系のものとして粉乳糖液（抗菌性物質を含む、ポリガミン（のちにポリザノンと改名して市販））が簡単で良好なことが明かとなり、広く用いられるようになった。これらの結果は、当時発行が始まったばかりの畜産試験場年報（B5版で粗末な用紙のもの）に掲載された。

豚の人工授精がようやく実用価値があるとの評判が広まるに伴って、昭和21～23年頃から千葉県種畜場（現在の千葉県畜産センター、養豚試験場）をはじめ各県種畜場（現在の県畜産試験場）や大学、農業高校等から技術の研修、見学に来場される方がふえ、県施設などでも小規模ながら豚の人工授精による受胎試験成績が発表されるようになった。また、個人の養豚家や復員軍人で熱心な方などが技術研修に来場された。県種畜場で最も早く受胎率を発表された千葉県種畜場の成績によると、初期の成績では24頭中第1回で受胎したもの16頭（67%）、第2回では5頭中3頭受胎し（久原ら、1947）、その後117頭について実施された成績では初回で受胎したもの75頭、次回で受胎したもの10頭、3回で受胎したもの3頭、計88頭であった（永沢ら、1948）。また、木藤（1953）が長野県更級地方において採取後24時間以内の精液をもって203頭に授精（245回）した結果、193頭が受胎し、1受胎に要した授精回数は平均1.27回で、自然交配に比較してなんら遜色ないものであった。

また、濃厚部精液を用いて精液を低温保存（5～8℃）する方法についても実験を行い、一部実用化されるようになった。

濃厚精液の保存に関連して特筆すべきことは、この技術を用いて豚精液を日本からビルマに空輸して人工授精を行い、精液採取（日本）から注入（ビルマ）まで45～75時間を要したが、

受胎率 80.1% (17/21 頭) の成績が得られ、産子数も現地精液の注入による成績と差がないことが立証され、豚精液の遠距離輸送に明るい見通しが得られた (丹羽ら, 1964)。

わが国で豚の人工授精が本格的に用いられるようになったのは、(1) 昭和 25 年 (1950 年) 家畜改良増殖法が施行され、種畜の検査、登録事業とともに、家畜人工授精実施の組織、家畜人工授精師の制度が確立したこと (2) 昭和 35 年頃からランドレース、大ヨークシャー、ハンブシャー等をはじめとする大型外国種が導入され、これらの貴重な純粋種の種豚を有効に利用するために人工授精法を採用したこと、および在来の中型種 (中ヨークシャー種、バークシャー種など) に大型種豚を交配する場合、体格の差による自然交尾の困難さを克服するために人工授精を利用したことなどが、豚人工授精の普及に弾みをつけた一転機であったと思う。

人工授精実施の当初は、受胎率が低い、ロクな子豚が生れない、生れた子豚が弱いなど根も葉もない中傷があったが、偶然にも次のような出来事があってから、人工授精の悪口を言う人はなくなり、逆に良い例を宣伝してくれる人も現われたりしてその後の業務の遂行に好都合であった。

それは昭和 29 年 3 月神奈川県平塚市で第 2 回全日本豚共進会 (社団法人日本種豚登録協会主催) が開催されたときのことであった。最終比較審査が終り、全国 1 道 1 都 28 県から選ばれて出品された 130 頭の出品種豚の中で最上位の名誉賞 (ヨークシャー種雌) が決定したとき、1 人の人工授精師が筆者 (丹羽は同全日本豚共進会の審査委員の 1 人であった) のところへ飛んできて「先生、名誉賞の豚は私が人工授精して生れた豚です」と興奮と感動に満ちた口調で叫んだ。「それはよかった」とお互い感激したことは終生忘れられない。

その名誉賞を受けた中ヨークシャー種雌豚は、神奈川県小山源之丞氏の出品豚で、父豚 (精液採取豚) は神奈川県畜試の所有豚であった。また、人工授精を実施した技術者は、小菅進氏 (当時横浜農業指導所職員) であることが判明した (柏木敏男氏の調査による)。

この噂は自然と豚関係者に伝わり、それ以後人工授精の悪口を言う人は跡を絶った。偶然とは言いながら天与の有難い出来事であった。事実、人工授精法によって生れた子豚で人工授精技術に由来する子豚の異常は 1 頭もないし、そのようなことを信ずる人もいなくなった。余談ながら、何事によらず新しい仕事には反対や中傷はつきものであることを覚悟せねばならないが、これに挫折せず、信念をもって進めば、いつかは解決するものであることを体験した嬉しい事例であった。

さて、わが国における豚人工授精の実施状況を年次別に見ると表 12.3 のようである。すなわち、わが国における豚の人工授精実施頭数は昭和 23 年 (1948 年) には僅かに 428 頭、同 25 年 (1950 年) には 2, 688 頭であったが、年とともに次第に増加し、昭和 39 年 (1964 年) ~ 41 年 (1966 年) には 105,000 ~ 117,000 頭に及び、その普及率も約 22% に達した。また実施区域もほ

第12編 豚人工授精の歩み

表 12.3 日本における豚人工授精の実施頭数

年次別	授精頭数	普及率	年次別	授精頭数	普及率
昭和 23 (1948)	428 頭	%	昭和 48 (1973)	84,818 頭	%
24	1,364		49	64,760	16.0
25 (1950)	2,688		50 (1975)	54,020	
26	5,143		51		
27	10,815		52		
28	17,079		53		
29	20,063		54	60,760	3.0
30 (1955)	23,235		55 (1980)	66,836	3.2
31	25,431		56	59,364	2.9
32	25,386		57	52,499	2.5
33	26,706		58	51,690	2.3
34	28,575		59	45,310	2.0
35 (1960)	47,320		60 (1985)	39,118	1.8
36	43,198		61		
37	61,171		62		
38	83,322		63		
39 (1964)	117,141	} 約 22.0	平成 1		
40 (1965)	105,255		2 (1990)		
41 (1966)	115,930		3		
42	99,908		4		
43	93,228		5		
44	97,664		6		
45 (1970)	98,114		7 (1995)		
46	74,884	20.9	8		
47	69,518	21.2	9		

註：数値は農林水産省の統計資料による。

とんど全国に及んだ。しかし、残念ながら近年豚の人工授精頭数は減少し、普及率も低下している。これには次のような理由があげられよう。

1) 豚の人工授精では、1回の注入に多くの精液量を要し、精子の有効生存時間が短いという先入観がある。2) 凍結精液の技術確立が遅れた（最近、凍結精液の実用化技術が確立したが（後述）、技術の普及、啓蒙が必要である）。3) 技術が複雑で面倒くさいという人が多い。4) 熱心な技術者が少なくなった。5) 近年雑種利用が盛んになり、養豚家自らが多品種の雄豚を飼育して自然交配する例が多くなった。6) 牛などと異り、雄畜を農家で飼育することが比較的容易であり、繁殖に供用したのち肉豚として出荷しても経済的にさほど大きな負担とならないこと。7) 自然交配に比べて産子数が少ない場合があること、などが考えられる。

しかし、最近、能力検定や系統造成等ですぐれた優秀な種雄豚を有効に利用すること、貴重な遺伝子を長く保存し（凍結精液の活用）、都道府県の境をこえた精液の広域利用、組合せ検定

等に必要とする種雄豚精液の利用，オーエスキー病等疾病防遏の見地から，豚の移動禁止に代る唯一の方法として人工授精の活用が再認識され，とくに凍結精液の利用が要望されるようになってきている。

2. 技術の進歩

1) 精液の採取

人工授精の技術開発の第一関門は，精液採取が可能か否かである。精液採取が出来るようになればその後の技術は急速に進歩する。

緒言で述べたように豚の人工授精の研究が牛や馬などに比べてやゝ立ち後れたのは精液採取が困難であったことによるもので，その経験は外国でも同じである。われわれが昭和 11 年（1936 年）当時，文献によって知り得た豚の精液採取法の最初の記載は，アメリカ合衆国ミズリー試験場の McKenzie（1931）が豚の精液採取に長さ 16 インチ，内径 $1\frac{3}{16}$ インチ，外径 $1\frac{5}{4}$ インチの弾力ゴムを用い，その一端に径 $1\frac{5}{8}$ インチの金属性の輪をはめ込み，他端に広口のガラス瓶を装したものを使用し，特別に考案したスタンチオンに保定した雌豚に雄豚を乗駕させ，陰茎をこのゴム管中に導き，陰茎先端のラセン部に手で適当な圧迫を加えることによって精液採取に成功し，78 ml の精液を採取し得たというものであった。もちろん，この方法では陰茎のらせん運動によってゴム筒が陰茎にからみつき泡などが入って完全に精液を採取することは困難であったかと思うが，兎も角精液採取に成功した努力には敬意を表した。

日本でも既述のように豚の人工授精の研究は昭和 13 年（1938 年）から当時千葉市外，都村（のち矢作，さらに青葉町となった）に所在した農林省畜産試験場第一部養豚掛において伊藤祐之，工藤 篤，丹羽太左衛門の 3 名によって開始された（伊藤，工藤両氏は故人）。そして研究の第一歩は精液採取法の開発であった。まず第一に，豚が擬牝台に乗駕するか，人工膣によって精液が採取出来るかの 2 点を確かめなければならなかった。ある日，木で作った細長い台の上に稲藁を巻き，その上に麻袋を被せた粗末な擬牝台を作り，台の上に雌豚の尿，発情粘液などを塗りつけて性欲旺盛な雄豚を近づけてみたところ，雄豚は台の周りを廻り，台上の麻袋に塗布した雌豚の分泌物の臭いを嗅いでいたが，暫らくして台に乗駕し，交尾動作を始めた。われわれはこれに歓喜し，次は人工膣の開発だと早速試作にとりかゝった。当時養豚掛では，飼料試験や性成熟期，発情・排卵試験等の試験豚を場内加工部の屠場に運んで屠殺していたので，豚の生殖器を持ち帰り，陰茎と子宮頸の構造，特に子宮頸管に硬くて軟骨様の 8～9 枚の皺襞があること，陰茎先端のらせん状の構造等から射精時に陰茎先端のらせん部がこの子宮頸管の皺襞に嵌入し，強い圧迫を受けて射精するのであろうと想像されたので，このヒントを基に，これに似た人工膣を作ることに専念した。

(1) 畜試式豚用人工膣

まず、自転車のゴムチューブを用い、これを図のような形に切ってゴム糊で貼りつけ、入口に竹の輪をはめたものを試作し、擬牝台に乗駕して交尾動作を始めた豚の陰茎の先に、この手製の人工膣をはめ、手指で陰茎先端のらせん部を強く握って圧迫を加えると、豚は陰茎を長くのばして射精を開始し、精液採取に成功した。これで擬牝台と人工膣を用いて豚の精液採取が可能になったが、この成功はわれわれグループの中のとくに工藤 篤技官の努力に負うところがきわめて大きく、氏の功績は永く記念されるべきある。加えて当時、畜産試験場養豚掛に安藤喜佐君と森谷静佳君という繁殖の仕事に熱心な業夫さんがいて大変助かった。安藤氏は発情鑑定の名人であり、森谷氏は大変器用で人工膣や注入器の試作に非常に骨折ってくれた。今でも思い起すことは、森谷業夫はゴム製の人工膣（畜試式豚用人工膣）と、ガラス管製の精液注入器（畜試式豚用精液注入器の原型）を試作する作業の過程で、誤ってナイフで手頸の部分を持ち、かなりの傷を負ったことがあった。しかし、彼はひるまず何回も作り直してやっと目的に叶うものを作ってくれた。彼らは畜産試験場における豚人工授精技術開発の蔭の功労者であった。残念なことに森谷業夫はその後応召し、南方で散華した。

このようにして、最初の豚用人工膣（畜試式豚用人工膣）は約1年かかって出来上り（昭和14年、1939年）、精液採取に用いて十分目的を達し、その後の研究の突破口を開いた。

この畜試式人工膣の構造は図12.1の如く、ゴムチューブをもって円筒(a)を作り、これを持ちやすくするため太い方の入口に硬質ゴムか、ベークライトの輪または竹筒(b)を装したもので、人工膣の先端は必ず陰茎の太さより細い必要がある。この畜試式人工膣はわが国独特のもので、次のような利点がある。

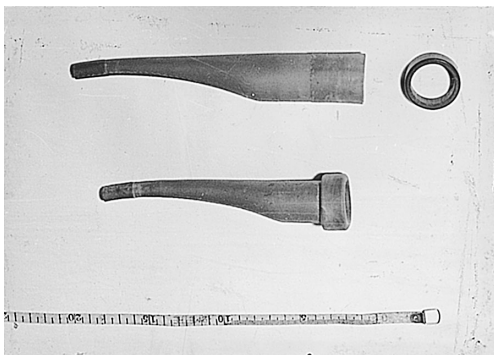


図 12.1 畜試式人工膣



図 12.2 畜試式人工膣による精液採取

(1) 器具および操作が簡単なこと (2) 射精の状態を見ながら精液を採取し得ること (3) 必要に応じて濃厚精液と希薄精液とを容易に分離して採取できることなど。

なお、この畜試式人工膣と同じ原理で、陰茎の先端のらせん部に強い圧迫を加えることによって精液採取が可能なのが一般に知れわたり、薄手のゴム手袋（外科手術用のゴム手袋が最もよい）で陰茎の先端を握って採精することも出来るし、用具のない場合、素手で陰茎の先端に圧迫を加えて採取することも可能である（これを手圧法とか用手法などと称している）。しかし、素手で採精した場合は精液に細菌が混入したり、手の垢や汗などが入って精液が汚染し、有効生存時間が短くなるばかりでなく、そのような精液の注入によって雌豚の生殖器病発生の原因にもなる虞れがあるので、必ず人工膣か外科手術用の薄いゴム手袋あるいはプラスチック・グローブ（サイズS）、または1回毎使い捨てのディスポ・グローブなどを用いて採精するよう注意を促している。

この畜試式人工膣については畜産試験場報告（第55号，1948）による発表，筆者の国際学会での基調講演（第4回国際家畜繁殖学会議，1961年，オランダ国ハーグ）や，英国ケンブリッジ大学その他欧州各国の大学・研究所等でのデモンストレーション（1958年）の影響もあってか，その後エジンバラ大学の Dr. Hancock は柔らかいゴム手袋を用いて精液採取を行う方法を発表しており，他のヨーロッパ諸国やアメリカなどでも同じような発想の精液採取法が試みられている。

なお，今にして想えば愚かな話ではあるが，畜試式人工膣が出来上るまでの試行錯誤の段階で，雄豚を鼻保定して直腸マッサージ法や電気刺激法を試みて見事に失敗した。よく考えてみれば，内部生殖器の構造からしてそれは当然不可能なことであった。

（2）新型豚用人工膣

この畜試式人工膣の考案（昭和14年，1939年）以来，精液採取には専らこの方法が採用され，現在も用いられている。そして，さしたる不自由はなかったが，欠点としては採取の技術に熟練を要する点がある。特に体や手が大きく，指先のあまり器用でない外国人から誰にでも簡単に採取できる人工膣がほしいとの要望があり，また筆者もその必要性を感じていたので，畜試式人工膣の利点を失うことなく誰にでも採取できる型の人工膣の作製に腐心した結果，昭和33年（1958年）図12.3のような人工膣を考案した。新型豚用人工膣の構造と使用法は下記のとおりである。

構造は図12.3のように，①ベークライト製の外筒（これに温湯と空気を入れるバルブがとりつけてある）②ゴム内筒 ③陰茎の先端に合わせて作ったらせん状のリング ④雌豚の膣に相当する部分に適当な圧迫と温感を与えるスポンジ ⑤射出された精液を受ける漏斗形のゴムチューブとから成っている。

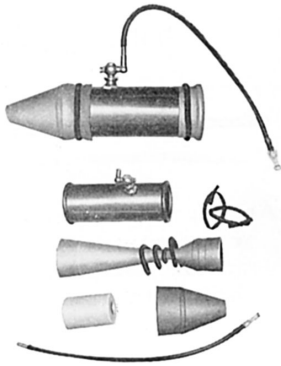


図 12.3 新型豚用人工膣



図 12.4 新型豚用人工膣による精液採取

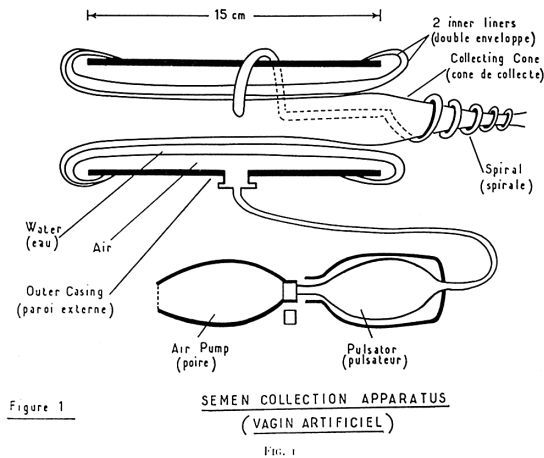


図 12.5 イギリスの新型豚用人工膣
(Dr. Melrose)

使用に当っては、ゴム内筒にリングをはめ、入口の部分にスポンジを通して、これを外筒に装着した上、温湯を入れる。らせん状リングの太さは手で自由に調節できるので、一度雄豚の陰茎の太さに合わせておくと以後の採取は容易である。採取者は通常擬牝台の右側に位置し、雄豚が擬牝台に乗駕して交尾動作を始めたなら右手に人工膣を持ち、勃起した陰茎を人工膣内に誘導してやる。すると、豚は内部の適当な温感と圧迫によって陰茎を回転運動させながら子宮頸に当るリングを探っているが、陰茎のらせん部がリングに嵌入すると陰茎の先端はかなり強い圧迫を受けて性感を誘致し、陰茎を長く伸ばして射精を開始するから左手で精液びんを持って精液を受ける（図 12.4）。

この新型人工膣に関連して忘れられないエピソードがある。それは筆者がヨーロッパを訪問し、英国 Reading の豚人工授精所を訪ねて豚人工授精の研究について情報交換をしたときの

ことである。所長の Dr. Melrose は豚の人工授精を通じて旧知の友人であるが、日本で新しい型の豚用人工膣を作ったことを話したら、「今その器具を持って来ているか、持って来ているならその器具で精液採取の実演を見せてもらいたい。自分の方でも新しい型の人工膣を作っているからお見せする」との話であった。そこで先ず、筆者が日本の新型人工膣の説明をして精液採取のデモンストレーションを行ったところ、Dr. Melrose はこれは我々の新しい型の人工膣とほとんど同じアイデアだと言ってびっくりした。Dr. Melrose 考案の人工膣の構造(図 12.5)は、陰茎の先端部をらせん状リングで圧迫する着想は筆者らのものと全く同じである。異なる点は、(彼らの人工膣はらせん状リングが人工膣の外にあることと、射精中人工膣の外部から空気を吹き込んでゴム内筒に圧迫を加え続ける)というだけの違いであった。人の考えることは結局似たものと言うことで破顔一笑、旧知の仲間は一層親密の度を加えた次第であった。

(3) 大型豚用人工膣

牛用の人工膣と同様大型なもので、人工膣の内筒を温かくし、採取時陰茎に律動的または局部的圧迫を加えて採取する型のもので、ヨーロッパやソ連圏に多く見られる。(Walton (1933), Milovanov (1934), Hudjakov (1936), Wallace (1949) など)。この型の人工膣の構造はベークライトまたは硬質ゴムなどで作った長い人工膣外筒に、ゴム内筒をはめ両筒の間に温湯を満たし、外部から圧力を加減しうるバルブをとりつけたものが多い。

わが国でこの型の人工膣の範疇に入るものとして東農式豚用人工膣(羽生 章 1954)がある。東農式人工膣は精液容器を膣筒の中におさめて精液温の下降を防ぐように考慮されている。

(4) 擬牝(雌)台

豚の場合、未だ精液採取の経験をもたない雄豚から精液を採取する場合や、擬牝台が手元がない場合には発情した雌豚あるいは非発情の保定雌豚(保定法は鼻保定がよい)に乗駕させて精液を採取する。

英国で購買種豚の選定を行った際も、現地(養豚農家)では擬牝台がなかったのでやむを得ず非発情の雌豚を麻縄で鼻保定して台豚とし、これに雄豚に乗駕させて精液を採取した。

しかし、このような方法では雌豚が動いたり、鳴声を発するので雄豚(特に若い雄豚)はおびえて完全に精液採取を行うには困難を伴う。

したがって、常に正確に精液を採取しなければならない人工授精所の業務としては、どうしても擬牝台が必要である。擬牝台は雌畜に模して作った木製あるいは金属製の台で、その高さは豚の大きさによって様でないが、雄豚が楽に乗駕出来る程度の高さでよい。

擬牝台の構造は国や考案者によって異なり、いろいろの型のものがあるが、北欧で使用している擬牝台はわが国で使っている型のものとはかなり異なったタイプのものである。その1例

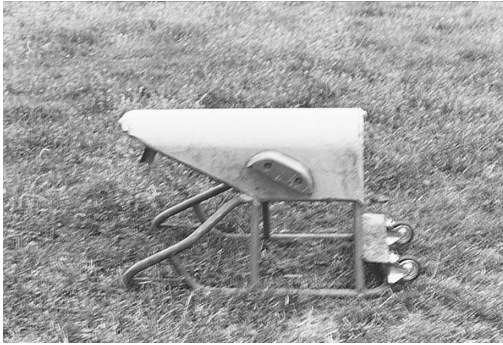


図 12.6 北欧の豚用擬牝台



図 12.7 わが国の改良型豚用擬牝台

を図 12.6 に示した。

わが国では、さきに記したように、昭和 13～14 年（1938～39 年）農林省畜産試験場で初めて豚の精液採取に成功した当時の擬牝台は、木製の台の上に藁束を巻き、その上を麻袋で覆った粗末なものであったが、少しずつこれを改良して使い易くし、現在の擬牝台に至っている（台の高さが調節できるハンドルと前肢をのせる肢受け板がついている。図 12.7）。

2) 精液および精子の検査

精液の検査法については、人工授精の研究が始まった当初から肉眼的検査と顕微鏡的検査が併用され、肉眼的検査の項目としては、一般に精液量（液体部と膠様物）、精液の色、臭い、pH などをしらべ、顕微鏡的検査項目としては、精子の活力（生存率と運動力）、精子の形態（染色、光学顕微鏡）などがしらべられていたが、年と共にその方法も進歩し、精密になった。

精子活力の検査には、昭和 13 年頃は牛で柘田精一博士らが使用されていたと同様、ホールグラスを用いて精液の懸滴標本を作り、顕微鏡全体が保温できる大型の顕微鏡保温装置（図 12.8）を用いて行っていたが、戦後、精子活力検査板（盤）（図 12.9）や、精液サンプルの部分を加温するスライド加温装置（丸型、図 12.10）、載物台にのせる大型保温盤等が用いられ、また最近ではテレビ顕微鏡も一般に用いられるようになった（図 12.11）。

精子数の計算は、古くから基本的な方法として血球計算盤を用い、赤血球メランジュールを使って血球計算に準じて行われているが（図 12.12）、希釈液としてゲンチャナバイオレットを用いる方法が考案され（丹羽，瑞穂，副島，1956）一般に用いられている。この液で希釈すれば精子は鮮やかな紫色に染まり、精子数の計算にあたって見落しがなく、かつ精子数計算のあと直ちにその標本で異常精子の率および種類も検査出来るので便利である。

1970 年代以降になって、精子数の計算に光電比色計，光電光度計，マイクロセルカウンターなどの使用による急速算定法が用いられるようになった（図 12.13）。