

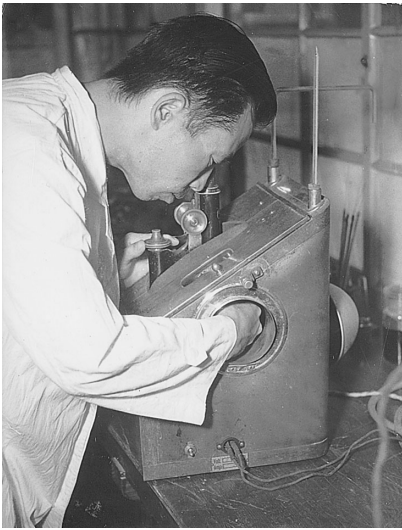


図 12.8 顕微鏡保温装置による精子活力の検査

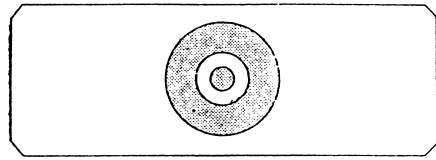


図 12.9 精子活力検査版



図 12.10 スライド加温装置（丸型）



図 12.11 テレビ顕微鏡による精子活力の検査

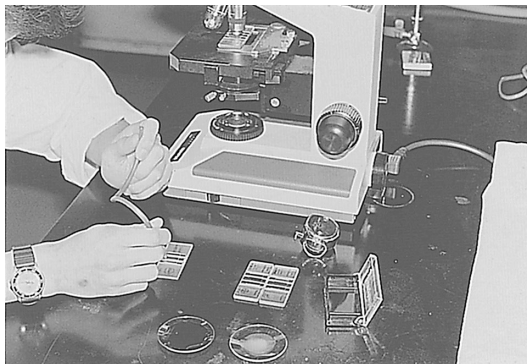


図 12.12 血球計算盤による精子数の計算

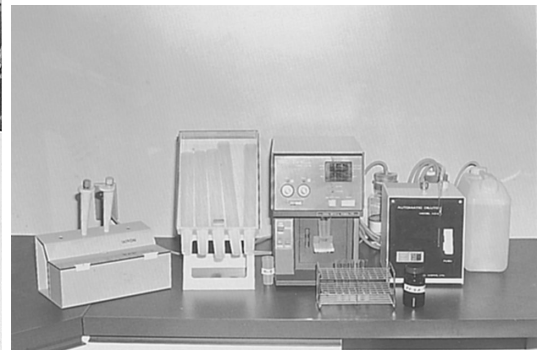


図 12.13 ミクロセルカウンター
（自動血球計数装置）

また精子形態の検査には古くからカルボル・フクシン法、フォンタナ氏鍍銀法、などの染色法が用いられているが、簡便法として上述のゲンチャナ・バイオレット染色法が採り入れられ、さらに精子頭部とくにアクロソーム（先体）の形態と受精率との関係が注目されるようになってからは精子アクロソーム系染色法（ギムザ染色）による観察が一般的となってきた。また、精子の形態をさらに精密に検査するために、実験室段階での検査法として、位相差顕微鏡、蛍光顕微鏡、電子顕微鏡（走査型 SEM、透過型 TEM）等を用いて調査研究する事例も多くなった。

そのほか、精液の理化学的性状の検査、生化学的検査として精子呼吸能の測定（ワールブルグ検圧装置を用いる）、解糖能の測定（グルコース消費量の測定、乳酸蓄積量の測定）、精液中の果糖量、クエン酸含量の測定などがあり、すぐれた発表も見られるようになったが、これらは研究室段階での手法であって、野外での実施は困難である。

因みに、一般の現場では家畜改良増殖法施行規則（第16条、精液の検査方法）で定められている下記的项目が検査されている。

（肉眼的検査項目）

精液の量及びその色、臭気、水素イオン濃度等の性状

（顕微鏡的検査項目）

精子の数、活力、生存率及びき型率

さらに、豚精子に特有な検査項目として、仮死状態（Anabiosis）精子の活力回復検査がある。豚精液は採取後静置すると、時間の経過に伴い精子層（下層）と精漿層（上層）とに分離し、精子はいわゆる仮死状態（Anabiosis）を起して運動を停止する。これを回復させるには、精液に持続的に適当な温度と適度の振盪を与えることが必要であることが判ってきたので、簡単に行うには上、下2層に分離している精液をよく混合攪拌して、その0.5cc程度を小試験管にとり密栓して布に包み、約30分～1時間内ポケットに保持して活力を回復させてから検査するようになった。

大規模に行う場合は、30℃前後の孵卵器内に間歇的に緩やかに動く振盪機を備えつけ（やゝ斜めに）その中に前記と同様供試精液を入れた試験管を入れておくと、1.5～2時間（採取当日は30分～1時間）で活力を回復するから、保存した豚精液は必ず活力を回復させてから検査を行い、精子の生存率および活力を確認した後、授精に供することが常識となった。ただし、糖類を含む稀釈、保存液で精液を希釈した場合は精子活力の回復が早いから、この操作は短時間（約30分）でよい。

豚人工授精開始の初期には、このことが解らなくて有効な精液でありながら廃棄していたが、試みに授精してみたところ受胎能力のあることが判明し、これが豚精液に特有な精子の仮

死状態であることに気付いた。そして、基礎研究の結果、その原因は、精液が上、下2層に分離すると精子層（下層）へは酸素の供給が十分に行われないこと、豚精液中には糖類が少いから無酸素条件下で精子が解糖によって運動エネルギーを獲得することが不十分なためとわかった。ただし、授精用の精液は活力を回復することなく単によく混合しただけで注入しても受胎には支障がないから、その全量について活力を回復させる必要はなく、ごく一部をとってこの操作を行い活力の判定を行うだけで事足りるわけである。この豚精子の仮死状態については、諸外国でもわが国の発表のあとで同様の報告がなされた。

3) 精液の保存と輸送

前記1)の方法で精液の採取が可能になってから、精液の保存・輸送や注入に関する技術は急速に進歩した。同時にその過程において射精の状態や精液の性状等が他の家畜と著しく異なることも明らかとなり、基礎的研究も進展した。関係事項の要点のみを摘録すると次のようである。

(1) 精液の保存・輸送に必要な基礎的条件の研究

① 精液の採取頻度は週2回ぐらいとする。採取間隔の短縮や連続採取は精子数の減少や精子の活力・形態等に悪影響を及ぼす。② 豚の射精時間は家畜中最も長く、平均6分半（最短2分、最長23分半）である。射精には、1射精中に濃厚な精液を射出する回数により1回型、2回型、3回型、4回型、混合型の5型があり、1回型が最も多く（約54%）、2回型がこれに次ぎ（約28%）、他の型は低率である。③ 1射精中に最も濃厚な精液（精子数が多い精液）を射精する時期は最初の約1分半であって、射精開始後最初の2分以内に全精子数の平均82%が射出されるので、この濃厚部分を取りそこなわないように注意する必要がある。④ またこの濃厚部分のみを利用しようとする場合（例えば凍結精液の製造にはこの部分を使用する）には、採精容器を2個準備して濃厚部分と希薄部分を分離採取する。⑤ 精液量は家畜中最も多く、1射精の全精液量は平均226ml（65～680ml）で、うち液体部が平均178ml、膠様物（カウパー腺から分泌されるザクロの実に似た粘着性のある白色～灰白色の小粒物）が約47gで、精液全量に対する膠様物の割合は約21%である。膠様物は人工授精の精液注入に必要ながないので、採取直後に清潔なガーゼ等を用いて濾過して取り除く。⑥ 精子数は1ml中1.0～2.5億、1射精の総精子数は約440～700億である。⑦ 精子は温度の急変によって影響を受け易いので、寒冷時の精液採取には必ず精液採取用保温器（図12.14）を用い、また採取後の精液保存に当たっても温度の変化に注意すること。⑧ 以上のほか、精液の保存・輸送に影響を及ぼす諸要因に関する実験として、精子数と保存温度、精子の生存に及ぼす日光、振動等の影響、精液中に出現する細菌の種類とその由来、精液に添加する抗菌性物質、微量栄養物質、各種の希釈液、保存液等に関する詳細な実験的研究が精力的に行われた。

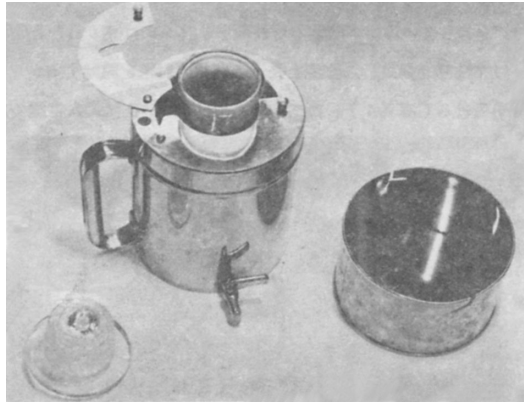


図 12. 14 精液採取用保温器

（２）精液保存用の希釈液，保存液

上記（１）の基礎的条件の研究と並行して，人工授精実施に当って必要な精液の希釈保存液，保存・輸送方法等の開発が行われた。要点のみを記録すると，①精液は採取直後，膠様物を取り除き，液体部のみを人工授精に用いる。精液の保存温度は全精液（濃厚部も希薄部も含む全射出精液）の場合は 15℃（10～20℃），濃厚部精液の場合は 3～5℃（低温保存）とする。②人工授精開始の当初（戦前および戦後 5 年ぐらい）は，原精液そのままか，原精液に 0.7%～生理食塩水または 5% ブドウ糖液等を加えた希釈精液を，手製の注入器（畜産試験場式注入器の原型，後記）を用いて小規模な授精試験を行ってみたところ，受胎例が確認され，研究に弾みがついた。③次いで，豚精液用希釈液および保存液として各種溶液（17 種）について比較試験を行なったが，卵黄クエン酸ソーダ液（卵ク液）と粉乳糖液が広く用いられた。④卵ク糖液と精液とを等量混合して 15℃ に保存した実験では，精子の有効生存時間（70 冊 以上）は約 5～7 日であり，この保存精液を千葉から東北（岩手），九州（熊本）両農試畜産部へ輸送試験を行った成績および広島県下へ輸送して受胎試験を行った結果は相当良好で，7 日間の保存で受胎分娩した例があり，当時としてはきわめて良好な成績であった。また 1954 年にはこの保存液を用いて日本－台湾間の豚精液空輸試験も行い，かなりの成績が得られた。

⑤その後，卵ク糖液には調製上の煩雑さや顕微鏡検査時の視野の暗さなどの欠点があるのでこれを改良して粉乳糖液が考案された。その組成は割合簡単で，1 バイアル中に脱脂粉乳（3.0 g），ブドウ液（9.0 g），重炭酸ナトリウム（0.24 g），ホモスルファミン（0.2 g），スルファメラジンナトリウム（0.4 g）を含むものを 200 ml の滅菌蒸留水に溶解する（蒸留水は予め 40～50℃ に加温しておく）。これを精液と同じ温度で徐々に加えて混和し，希釈後の精液 1 ml 中に約 1 億の精子を含む程度に希釈し（通常 2～3 倍），徐々に温度を下げ 15℃ とする。15℃ の保存で普

通3～4日以内、精子活力70 μ 以上の精液50～70 mlを授精に供する。⑥この希釈保存液はポリザノン（のちポリガミンと改名）して市販され、一般に広く利用された。また、この希釈保存液を用いて日本ービルマ間の精液空輸試験を行いかなりの好成績が得られた（技術の詳細については専門書にゆずる）。⑦最近（大体1985年以後）に至り外国で考案、販売されている次のような新しい豚精液用希釈保存液がわが国でも使用されている。

BTB, Kiev (Guelph), Modena, Zerlosco, MR-A、Androhep, Butschwiler

（3）精液の保存・輸送器具

昭和13～14年（1938～1939年）に精液採取の方法が確立したので、直ちに精液保存技術の研究、開発にとりかかった。戦前・戦中の物資不足の時代であったから、利用し得る容器、器具類を活用することとし、先ずあらかじめ滅菌した適宜容器の硬質細口ガラスびん（豚コレラ予防液等の入った50～100 mlの着色ガラスびん（使用済）をよく洗浄消毒して再利用した）に、精液（または希釈精液）を納め、密栓して15～20℃（全精液の場合）の水を入れたマホービン中に吊す（ガラスびんの頸を丈夫な麻紐などで縛り、その紐をマホービンの栓で圧定して吊す（図12.15）か、その温度に調節した定温器中に納めて保存した。夏季氷の入手し難い不便などころでは、適宜井中に吊すか、冷水（流水）中または冷所に静置して保存することもあった。

その後、種々工夫を重ね、精液輸送用のマホービンや、各種の精液輸送器、D型輸送器（アルマイト製）などが考案、使用された（図12.16）。また筆者が1970年FAOの依頼により、シンガポール国に滞在して豚の人工授精を指導した折には、ゴム林の中に点在する養豚家を廻って精液を注入する際に、外気温40℃の地帯では冷水または氷を利用した精液輸送器では役に



図 12.15 精液びんをマホービンの中に吊した保存法

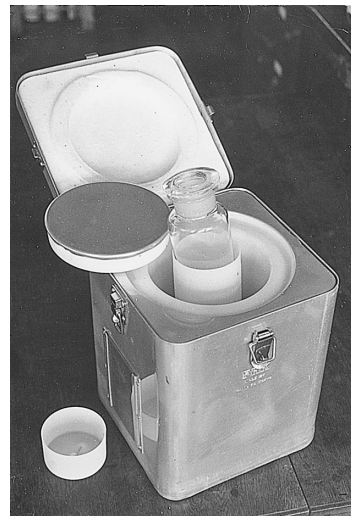


図 12.16 精液保存・輸送器

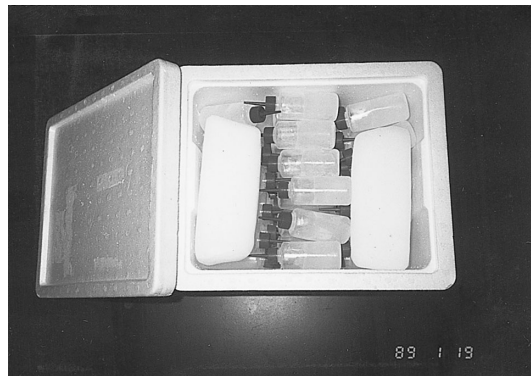


図 12.17 発泡スチロール箱による精液の輸送

立たないので、急遽豚精液用のアイスパック（氷醋酸を利用）を作製して精液温を 20℃ に保ち、受胎率向上に有効であることを経験した。

一方、注入器の改良に伴って一定容量の精液（70～100 ml）をポリエチレン製の容器に入れ、そのまま適温で保存、輸送し、注入時に先端の細い部分を切って注入器に連結して利用する便利なものが考案され、今日広く使用されている。このポリエチレン製の精液容器はヨーロッパ（とくにドイツ、イギリス等）のものは角形で蓋（キャップ）付きの丈夫なものが多く、台湾やわが国では楕円形のものが多く用いられている（ザーメン・チューブと称している）。

最近では、これらのポリ製容器に 1 回授精分づつの精液を入れた容器（ザーメン・チューブ）を先方の希望数収納して発泡スチロール箱などで需要者に宅急便で直送（宅配）している例が多い（図 12.17）。発泡スチロール箱で輸送する場合、夏は精液の上に保冷剤（蓄冷剤）のパックを入れ、冬は精液の上に保温パックを入れて精液を 15℃ 前後に保つよう配慮している。

4) 精液の注入

（1）精液注入器の考案・改良

人工授精技術の実用化に当たって遭遇した第 2 の難関は、精液の注入が非常にむづかしく、この問題の解決には大変苦慮した。困難な理由の 1 つは 1 回の授精に相当多量（通常 50 ml）の精液を注入することが必要であること、他の 1 つは注入部位である子宮頸の形状が複雑なので他の家畜の人工授精において用いられるような注入器では目的を達し得ないからである。

筆者ら（伊藤祐之，丹羽太左衛門，工藤 篤）は注入器について種々実験を重ね、A 型（ゴムカテーテル，人の導尿用），B 型（細長いガラス管で真直のもの，S 字型に曲げたものおよび先端を約 30° に曲げたものの 3 種-外径 0.6 cm，長さ 40 cm），C 型（試験管の底に小孔をあけたもの-大，中，小の 3 種，外径 1.8 cm～3.0 cm，長さ 16～20 cm，容積 35～85 ml）の注入器を試作して，精液の注入具合および受胎率などを比較検討した結果，いずれも注入精液の逆流漏

出が多く受胎率も不良であった。

そこで、根本的に精液逆流の状況を確認するのを感じ、発情中の豚を場内の屠殺場に運び、後肢を麻紐で縛って逆さに吊り下げ、外陰部を開いて上方から試作中の注入器を用いて、精液あるいは着色した溶液を一定量注入し、しばらく経過してから発情豚を実験台上におろし、開腹して注入した液の入り具合を調べてみると、子宮頸より奥の部分（子宮体、子宮角）まで入っていた精液（あるいは着色した溶液）はごく少量で、大部分は子宮頸の下部（入口）および膣、膣前庭へ漏出していることが判った。

このことから精液を子宮頸深部より深く（奥の方へ）注入するためには、注入器を子宮頸の少なくとも第 2～3^{すうへき}皺襞（ひだ）まで挿入すること、精液の逆流漏出を防ぐため注入器になんらかの工夫を凝らすのを感じた（同時に自然交配時にカウパー腺から射出される粘着性の小粒の膠様物が果している役割についても納得できた）。

これらの経験から、精液注入器の先端にふくらみを持たせて精液の逆流漏出を防ぐ注入器（D 型注入器）を考案してほぼ目的を達した。これが「畜産試験場式原型」と称するものでその後の注入器改良の基本となっている。

① 農研式注入器：全体の形は原型とほとんど同じで、長さ約 42 cm、外径約 1.5 cm のガラス管の先端に有孔ゴム栓を装し、その中に先の曲った硬質の小ガラス管がとりつけてあり、またガラス管の外側に金属製のケースがある。精液を吸入または押出するためのピストン（金属製）は中央部で自由に屈伸ができるようになっている。なお消毒器兼用の携帯容器もできている。

② 畜試式注入器：注入器の先端は上記のものと全く同じであるが、中間部は丈夫な金属性の管（長さ約 44 cm、外径約 1 cm）から成り、その中に細口厚壁の硬質ガラス管が通っている。精液注入用の注射筒（容量 70 ml）は別にあって、注入管との接続または分離はきわめて簡単にできるよう（いわゆるイナズマ式切り込み）になっている。

③ ゴム管式注入器：精液注入用の注射筒は上記畜試式と同様であるが、注入器は硬質ゴム管でできている。ゴム管には先端にふくらみを持たせ、その先に孔をあけ溝をつけたものと、小ガラス管をつけたものがある（図 12.18）。

④ スパイラル式改良注入器：英国の Dr. Melrose の原案によるものであるが、先端の第 1 ラセン部を軟かく改良し、注入時手元に国産のザーメン・チューブまたは精液の入った注射筒を連結して使用できるように改良している。

以上の国産注入器のほか、外国製のものも使用されている（図 12.19）。

（2）精液注入の方法

注入器はすべてあらかじめよく洗浄、消毒してあるものを用い、またなるべく使用前、滅菌生理食塩水あるいは 5～6% ブドウ糖液などで表面を潤して入り易くする。注入には膣鏡を用

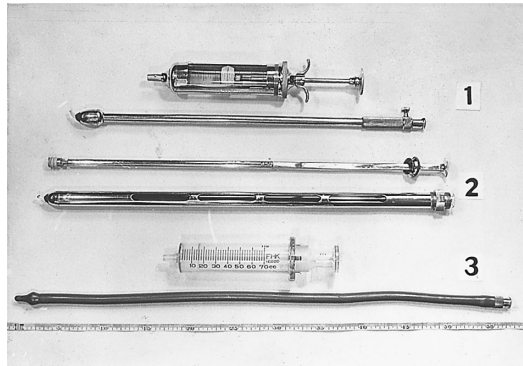


図 12.18 豚用精液注入器
1. 畜試式 2. 農研式 3. ゴム管式

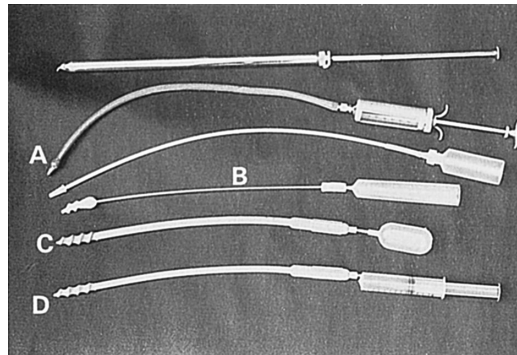


図 12.19 豚用精液注入器のいろいろ
A. ゴム管式 B. スピレッツ式 C.D. スパイラル式

いず、まず左手で陰唇を上げ、右手で注入器を持ち、直接膣内に挿入する。最初の10～15cmは注入器の先端をやや斜上方に向けて挿入し、注入器の先端で尿道外口を傷つけないよう注意する。その後は水平にしてわずかずつ左右に廻しながら挿入する。約25～30cm挿入すると、注入器の先端にやや抵抗を感じる(子宮頸の下端に達したことを示す)。ここでさらに注入器を左右に動かしながらやや強く押すと、注入器の先端が子宮頸の皺襞に入ったことを抵抗の変化と触感によって感知できる。このようにして硬い皺襞を2～3枚経たと思われる部位にまで至ったならば注入器を左手に持ち換え、圧迫を続けながら、ゆっくり精液を注入する(図12.20)。

注入時の精液の条件は、注入精液量(希釈した精液も)は50ml、注入精子数は30～50億(1ml中5,000万～1億)、注入時の精子活力は70%以上を目標とする。注入は1発情に1回でよいが、発情が長い場合は2回注入することもある。注入の時期は発情(雄許容)開始後10～26



図 12. 20 精液の注入

時間であるが、大型種で発情持続時間の長いものはやや遅目に注入する。

5) 受胎率と産子成績

受胎率は、発情がよく適期に、精子活力良好な精液が注入された場合は 80～100% で、自然交配の場合とほとんど差がない。筆者（丹羽）が第 4 回国際家畜繁殖学会（1961 年，オランダ国ハーグで開催）における基調講演に発表のため，全国各都道府県にお願いして調査した当時の人工授精の受胎成績は表 12.4 のようであった。

なお，近年精液保存液の改良により液状精液でも 7 日以上での保存で受胎した例も少くない。人工授精による産子の成績，妊娠期間等は自然交配の場合と差がない。

表 12. 4 日本における豚の人工授精の受胎成績（全国 46 授精所）（1961 年）

年 次		1958 (昭 33)	1959 (昭 34)	1960 (昭 35)
種 雄 豚 数		564	625	676
授 精 延 回 数		40,359	39,002	51,687
授 精 実 頭 数		30,275	30,088	40,595
受 胎 頭 数		26,966	26,958	35,249
受 胎 率	授精回数当り	66.8%	69.1%	68.2%
	授精頭数当り	81.9%	89.6%	86.8%

（関連研究）

授精適期の把握に必要な雌豚の発情（雄許容）持続時間が，大型種は中型種よりも長いことが報告されている。

すなわち，中型種（ヨークシャー種，バークシャー種）では雄許容持続時間は平均約 60 時間

(未経産豚は平均約 55 時間、経産豚は約 70 時間)と報告されているが(伊藤, 工藤, 丹羽, 畜試報告 49 号, 1944), 大型種(ランドレース種)では平均約 91 時間(最短 70 時間, 最長約 112 時間)と報告されている(横山純夫, 山下行哉, 日豚研誌 7 巻 2 号, 1970)。

また, いずれの場合も試情雄豚による許容開始後に, 人の背圧反応による許容期に入るから, 人の背圧反応のみによる許容判定の場合は, 授精適期が遅れないよう留意する必要がある。

主 な 参 考 資 料

- 1) 丹羽太左衛門: わが国における豚の繁殖と改良に関する研究並びにその応用, 日本畜産学会報 35, 1 (1964)
- 2) 丹羽太左衛門: 豚人工授精の歴史, 現状と課題について, 家畜人工授精 185 号, 1-13 (1998)
- 3) 畜産試験場創立 70 周年記念事業協賛会: 畜産試験場 70 年史, 昭和 61.3 (1986)
- 4) 釘本昌二, 枘田精一, 丹羽太左衛門: 精虫に関する研究 豚の副睪丸内精虫の活力型態に就て, 日本畜産学会報 12, 1 (1939)
- 5) 伊藤祐之, 丹羽太左衛門, 工藤 篤: 豚の人工授精に関する研究 I. 精液採取法及び射精状態について, 畜産試験場報告 55. (1948)
- 6) 伊藤祐之, 丹羽太左衛門, 工藤 篤, 瑞穂 当: 豚の人工授精に関する研究 II. 精液についての観察と保存に関する実験, 畜産試験場報告 55. (1948)
- 7) 伊藤祐之, 丹羽太左衛門, 工藤 篤: 豚の人工授精に関する研究 III. 精液注入法及び繁殖成績, 畜産試験場報告 55. (1948)
- 8) 伊藤祐之, 丹羽太左衛門, 工藤 篤: 豚の人工授精に於ける注入精液量, 同精子数並びに産仔数等について, 日本畜産学会報 19, 1~4 (1949)
- 9) 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 副島昭彦: 豚の人工授精に関する研究 IV. 新型人工膺の考案と擬牝台ならびに精液注入器の改良, 農業技術研究所報告 G. 18, 45 (1959)
- 10) 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 副島昭彦: 豚の人工授精に関する研究 V. 卵枸糖液による豚精液の保存について VI. 粉乳糖液による豚精液の保存について, 農業技術研究所報告 G. 19, 25, 39 (1960)
- 11) 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 副島昭彦: 豚の人工授精に関する研究 VII. 豚精液の低温 (5℃) 保存の可能性について, 日畜会報 31 別号, 46 (1960)
- 12) 久原正義: 人工授精の豚に対する応用とその成果 (第 1 報), 畜産の研究, 1, 9, 398 (1947)
- 13) 木藤沢市: 長野県更級地方における豚の人工授精成績, 畜産の研究, 7, 7, 555 (1953)
- 14) 神奈川県種畜場: 豚の人工授精による受胎成績調査, 昭和 28 年度神奈川県種畜場試験成績調査概要 19 (1953)
- 15) 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 副島昭彦, Ngwe Gaing and Thay Aung: 日本-ビルマ間の豚精液輸送並びに授精試験成績, 日畜会報 33 別号, 47 (1962)
- 16) McKenzie, F.F.: A method for the collection of boar semem. J. Amer. Vet. Med. Ass'n. 31, 2. 244 ~246 (1931)
- 17) McKenzie, F.F., J.C. Miller and L.C. Bauguess: The reproductive organs and semen of the boar. Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 279 (1938)
- 18) Niwa, T.: Artificial insemination with swine in Japan. Div. Anim. Reprod., Nat. Inst. Agr. Sci., Chiba-shi, Japan. (1958)

- 19) Niwa, T., S. Ito., A. Kudo., A. Mizuho and A. Soejima : Techniques of artificial insemination with swine in Japan. Ann. Zootech, 8 Suppl. Serie D. 97 (Paris). (1959)
- 20) Niwa, T : Artificial insemination with swine in Japan. XVI Congreso Mundial de Veterinaria. IV. 6. 14, 913 (Madrid). (1959)
- 21) 羽生 章 : 豚の人工授精とその方法, 精液の採取法および注入法を中心として, 畜産の研究 8, 589 (1954)
- 22) 丹羽太左衛門 : 精子の活力検査法について, 家畜人工授精, 187 号, 1-14 (1998)
- 23) 丹羽太左衛門 : 「豚の人工授精」, 家畜人工授精師研修会テキスト (豚の人工授精) 第 2 部, (社)日本家畜人工授精師協会発行 (1992)
- 24) 丹羽太左衛門, 門司恭典, 橋爪 力, 塩谷康生 : 家畜の人工授精と受精卵移植 (第 5 版), (株)双文 (東京) (1998)
- 25) 瑞穂 当, 丹羽太左衛門, 副島昭彦 : 家畜精液の保存に関する基礎的研究 I. 精液の保存温度と精子の代謝との関係について II. 家畜の種類による精子代謝能力の比較, 特に精液の保存適温を中心として, 農業技術研究所報告 G19. 1, 15 (1960)
- 26) 瑞穂 当, 丹羽太左衛門, 副島昭彦 : 家畜精液の保存に関する基礎的研究 III. 各種保存液ならびに抗菌性物質の添加が精子の代謝におよぼす影響 IV. 温度ショックあるいは稀釈ショックが精子の代謝におよぼす影響について V. 精子代謝量の季節的消長について VI. 凍結保存と精子代謝能力について, 畜試研究報告 1. 45, 63, 83, 99 (1963)
- 27) 田中 広, 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 吉田信行 : 精液の細菌学的研究 I. 豚精液中に出現する細菌の消長及びその由来について, 農業技術研究所報告 G. 1, 61 (1951)
- 28) 吉田信行, 丹羽太左衛門, 瑞穂 当, 田中 広 : 精液の細菌学的研究 II. 種々の抗菌性物質の添加が豚精液内細菌の抑制及び精子の生存に及ぼす影響, 農業技術研究所報告 G. 1, 17 (1951)