

# 液体窒素で15年保存した牛凍結精液による 受胎試験

白山勝彦\*

Conception Tests Using Frozen Bull Semen Stored in Liquid Nitrogen  
Over Fifteen Years.

KATSUHIKO SHIRAYAMA\*

## 緒言

著者はさきに、液体窒素中で5年以上10年まで保存した牛凍結精液を用いて受胎試験を行ない、授精した計212頭の受胎成績を保存期間ごとに明らかにした。その結果、精液によっては凍結直後のものに比べて受胎率に若干の低下が認められることがあるものの、実用上なら遜色のない成績が期待できることを明らかにし、あわせて分娩された子の性比ならびに在胎日数などをしらべて、その概要を本誌第5号(1976)に報告<sup>5)</sup>した。

牛の凍結精液は、理論的には半永久保存が可能であろうと推測されており、したがって保存経過に伴う受胎能力を逐次実証していくことは、意義のあることと考えられる。

しかし、10年以上を経過した長期保存精液について受胎能力を実証した報告はきわめて少なく、著者の知る限りではたまたま、川口ら<sup>3)</sup>(12年保存, 1975)の報告と Mixner<sup>4)</sup>(12年保存, 1968)の報告をあげ得るにすぎない。

前報<sup>5)</sup>に記したように、昭和37年に当時の三重県畜

産試験場が京都大学の協力を得て、長期保存を目的として精液の備蓄を開始したが、その精液の一部がようやく15年を経過し、融解して精子生存性をしらべたところ、15年前の性状と変わるところがなく、受胎試験に供し得る見とおしを得た。

そこで、県下小俣町で受胎試験を行ない、その成績を取りまとめたので報告する。

なお、本報告の一部はすでに家畜人工授精研究会誌に報告<sup>6)</sup>し、さらに、今回取りまとめた成果の全容は1980年にスペインのマドリッドで開催された第9回国際家畜繁殖学会<sup>1)</sup>で、共同研究者である入谷明(京大・農)によって口演発表された。

## 材料、方法ならびに期日

### 1. 凍結、保管

精液は、当時の三重県畜産試験場が繁殖に供用していた3頭のホルスタイン種雄牛から3重壁人工腔で採取したものをを用いた。

供試した3頭の雄牛の供用歴は第1表のとおりである。

第1表 種雄牛の供用歴の概要

名	号	生年月日	登録番号	供用開始年月日	死亡または 廃用年月日	備	考
カーネーション	ローヤル	ポテンテート	35. 10. 6	HCAJ 37451	昭 36. 11. 11	昭 46. 6. 4	昭和36年10月, 米国から輸入
フェムコ	マラソン	ローヤル	26. 5. 7	31663	28. 6.	38. 9. 12	国内産
ベッスパーク	サーイムベリアル	マラソン	30. 1. 30	33754	31. 4. 2	41. 4. 19	国内産

採取した精液の処理および凍結の速度は前報<sup>5)</sup>と同じである。

凍結操作を終えた精液はドライアイス・アルコール

(-79℃)に入れて直ちに京都大学家畜繁殖学研究室へ運搬し、すべて5時間以内に液体窒素(-196℃)保管器内へ移し、受胎試験に供されるまでの15年間、同研究

\* 畜産部

室で保管が継続された。

2. 融解, 授精

受胎試験に用いる精液は液体窒素による小型輸送器 (Linde10ℓ型) に入れて京都大学から現地へ運搬し, 授精に供する直前まで, -196℃保管が継続された。

授精は, 凍結精液で十分な経験を有する技術者によって行なわれ, 融解は授精の直前に10~15℃で融解するいわゆる「庭先融解」とした。雌牛はホルスタイン種に限定したほかは, とくに条件を設けることなく, 技術者の

通常業務のなかで受胎試験が並行して行なわれた。

精液の凍結は昭和37年11月28日から同38年10月23日までのあいだに行い, 受胎試験は昭和53年11月8日から同54年6月12日までのあいだに行なわれた。

成績ならびに考察

1. 15年保存後の精子生存性

供試原精液の性状, 処理過程における精子生存性の推移および凍結直後, 15年経過後の精子活力・生存率を一括して示すと第2表のとおりである。

第2表 供試精液の性状と15年保存後の精子生存性

雄牛略号	凍結年月日	融解年月日	保存期間年・月	採取直後の精液性状				全1ストロウ中精子数(億)	凍結過程における精子活力・生存率				保管後の精液性状		備考	
				量 (ml)	PH	精子濃度 (億/ml)	最終稀釈倍率		採取直後 (億)	1次稀釈後 (億)	平衡後 (億)	凍結直後 (%)	精子回復率 (%)	活力・生存率 (%)		推定1ストロウ中精子数 (億)
ポテンテート	38.10.23	53.11.8	15.0	6.5	6.2	5.8	9.2	0.63	85	85	80	(35 <sub>5+</sub> )	46.8	(35 <sub>5+</sub> )	0.25	0
ガバナー	38.7.6	53.11.8	15.4	8.5	6.4	9.7	8.2	1.18	80	80	80	(55 <sub>5+</sub> )	71.8	(50 <sub>5+</sub> )	0.65	8.7
イムペリアル	37.11.8	53.11.8	16.0	4.0	6.2	19.05	7.5	2.54	80	80	80	(40 <sub>5+</sub> )	53.1	(40 <sub>5+</sub> )	1.14	0

3頭3例中1例は, 15年保存後の精子生存性にごくわずかの低下が認められたが, この程度の判定差は常法の精子活力検査のなかで認められる範囲のものであり, 他の2例では同じ条件下で精子生存性の低下が認められなかったところからみて, -196℃の条件下で保管を継続するかぎり, 保管中の精子生存性の低下はほとんどないものと考えて大きな誤まりはないであろう。

加えて, 最近になって入谷ら<sup>2)</sup>は, -196℃で7~16年保存した108例の牛凍結精子の生存性をしらべ, かかる長期保存でも精子生存性に変化がないことを明らかにすると同時に, 保存期間をさらに延長し得ることを示唆している。

したがって, 今回著者が得た成績も前出の報告を肯定する範囲にとどまるものであったが, 同時に, 半永久保存の可能性を一層確実に示唆しているものといえよう。

2. 15年保存の牛精子による受胎成績

受胎成績を雄牛別に示すと第3表のとおりである。

供試した雄牛によって受胎率に差がみられたが, 授精した100頭の平均受胎率は54.0%であった。

著者らはさきに, 5年から10年まで保存した黒毛和種

第3表 液体窒素で15年保存した牛精子による受胎成績

雄牛略号	授精頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
ポテンテート	33	10	30.3
ガバナー	36	23	63.9
イムペリアル	31	21	67.7
計と平均	100	54	54.0

の精液を212頭に授精してその受胎率をしらべ, 5年, 6年, 7年, 8年および10年保存した精液の受胎率はそれぞれ, 63.5, 55.6, 48.7, 48.0および50.0%であることを報告<sup>5)</sup>した。さらにこの試験を行なった同一地域において, 通常業務で授精した1~6ヵ月保存の精液による受胎率が52.2%であり, 5~10年保存の精液との受胎率の差は統計的に有意のものではないことも報告<sup>5)</sup>した。

品種による受胎率の差あるいは雄牛個体による凍結能 (Freezability) の差などは当然考慮に入れなければならないが, これまでに実施してきた受胎試験<sup>5) 6)</sup>の経過からみて, 保管の温度に厳密な注意を払うならば, 15年保存後においても実用上支障のない受胎能力を期待することができるものと考えられる。

### 3. 子の在胎日数および性比

第2表に示した受胎例54頭について追跡調査したところ、流産した3頭および受胎後転売した5頭を除く46頭の子の性と、在胎日数が明らかになった。

結果は第4表に示される。

第4表 15年保存の凍結精液で生れた子の性と在胎日数

保存期間	生れた子の性と在胎日数							
	雄			雌			計と平均	
	例数	平均	範囲	例数	平均	範囲	例数	平均
15年	23 頭	278.3 日	272-286 日	23 頭	275.9 日	269-282 日	46 頭	277.3 日

在胎日数の平均は277.3日であり、雄の子の平均は278.3日、雌の子のそれは275.9日であって、いずれも分娩時における異常あるいは奇形などは認められなかった。

著者はさきに5～10年保存で生れた75例について在胎日数をしらべ、平均287日（雄：286.6日、雌：287.4日）であることを報告<sup>5)</sup>した。

多羅尾<sup>1)</sup>は、12年保存の精液を授精して分娩した17例の在胎日数をしらべた結果、雄の子の平均は275.5日、雌の子のそれは273.3日であったとしている。

10年以上に及ぶ長期保存凍結精液を授精して生れた子の在胎日数に関する報告は、上記以外は寡聞にして知るところがないが、15年保存の精子で受胎した場合でも妊娠に異常を認めることはなく、通常の妊娠期間を経て分娩にいたるものと解される。

生れた子の性比は、今回の分娩例46頭についてみるとたまたま、雌雄23頭づつの同数であって、子の性が偏ることはなかった。

5年から10年までの保存精液でしらべた前出の報告<sup>5)</sup>では、少数例のなかで子の性が一方に偏る場合があったが、試験の反復と例数の増加によってその偏りが認められなくなるかあるいは、若干の偏りがあってもその差は統計的に有意のものとは認められないことが経験されている。

したがって性比に関する今回の成績は、ひとつの事例として掲げるにとどめ、今後さらに例数を重ねて検討を加えたい。

この試験の実施にあたり、凍結精液の保管ならびに受

胎試験の設定にご指導とご協力をいただいた現帯広畜産大学西川義正学長、京都大学教授入谷明博士ならびに同研究室の諸氏にお礼を申し上げる。

受胎試験の実施ならびにその後の調査にあたって、県下度会郡小俣町大西宏氏に多大のご協力をいただいた。ここに記して深甚の謝意を表する。

### 引用文献

- 1) IRITANI, A. SHIRAYAMA, K. and NISHIKAWA, Y. (1980) : Conception Results with Frozen Bull Semen Stored for Long Term (16 years), Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. 8~18, Madrid, Spain.
- 2) 入谷明, 丹羽皓二, 三宅正史, 加藤征史郎, 西川義正 (1979) : 長期 (7-16年) 保管牛精子の生存性, 家畜人工授精研究会誌, 第2号, 10-12.
- 3) 川口政司, 磯部俊男, 多羅尾俊夫, 藤井吉三, 森繁夫, 西川義正, 入谷明 (1975) : 長期 (8~12年) 保存牛凍結精液による受胎成績, 凍結精液研究会報第45号, 1~2.
- 4) Mixner, J. P. (1968) : Fertility of bull semen frozen for twelve years, Proc. 6th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. (Paris), 2 : 1095-1098.
- 5) 白山勝彦 (1976) : 凍結した牛精子の受胎能力に及ぼす長期保存 (5-10年) の影響, 三重県農業技術センター研究報告第5号, 137~143.
- 6) 白山勝彦, 入谷明, 西川義正, 大西宏 (1980) : 家畜人工授精研究会誌, 第2巻, 第1号, 3~4.
- 7) 多羅尾俊夫, 川口政司, 磯部俊男, 藤井吉三, 森繁夫, 西川義正, 入谷明 (1976) : 長期 (8~12年) 保存牛凍結精液による受胎試験~とくに妊娠中の経過と産仔成績, 凍結精液研究会報, 第49号.