馬の人工授精に関する研究

第Ⅱ報 既往保存液の追試並に精清の影響

佐々木義夫・西川義正 (畜産試験場那須支場)

Studies on the artificial insemination in the horse.

YOSHIO SASAKI, YOSHIMASA NISHIKAWA

(From Nasu Branch of the Zootechnical Experiment Station,
Ministry of Agriculture and Forestry)

1. 緒言

馬精蟲の體外に於ける生存能力は、他の家畜のそれに比し著しく弱く、原精液のまゝの保存では生存時間は數日に過ぎず、授精能力の持続も1,2時間程度を出でざるが如し。之が爲從來馬精蟲の體外生存能力を延長せしめんとして多數研究せられたり。之等の主なるものとしては我が國に於ては佐藤 (1916, 19), 山根 (1921, 29), 島村外 (1927, 30) 等, 海外に於ては PAYARKOV (1914), MILOVANOV (1933), GONZAGA 外 (1934, 40) 等を擧げ得べし。然れども之等の成績に徴するも未だ體外精蟲を長時間に亘り保存し、之を實際の人工授精に用うべき方法あるを聞かず。茲に於て余等は馬の人工授精應用を更に強化促進せんとし、精蟲の體外保存に関する研究に着手せり。而して最初に從來馬精蟲或は他種動物の精蟲の保存に使用されたる各種の保存液に就き一應良否を検討し、更に馬の原精液保存が極めて不良なるは果して精清の影響によるものなりや、又之の處理方法等に就き知見を得んとせり。

2. 實驗材料及び方法

A. 保存液の追試

精液は日本馬9頭、朝鮮馬3頭からコンドーム法又は人工陰法により採取せり。保存液の名稱及び之が調製次の如し。

1. 原精液：原精液のまゝ保存す。
2. 葡萄糖液：馬精液と等滲透壓の5.25% 溶液 (佐藤, 1916)。
3. 生理的食鹽水：0.85% 食鹽水溶液。
4. 蔗糖液：10% 溶液。
5. RINGER 氏液, LOCKE 氏液, 及び TYRODE 氏液：組成は下表の如し。

藥品名 種類	NaCl	NaHCO ₃	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	NaH ₂ PO ₄	葡萄糖	蒸溜水
RINGER 氏液	0.8 g	0.01 g	0.010 g	0.020 g	— g	— g	— g	100 cc
LOCKE 氏液	0.9 g	0.02 g	0.025 g	0.046 g	— g	— g	0.1 g	100 cc
TYRODE 氏液	0.8 g	0.10 g	0.020 g	0.020 g	0.01 g	0.005 g	— g	100 cc

6. BAKER 氏液：

蒸溜水 100 cc + 葡萄糖 3.09 瓦
+ Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.6 瓦 + NaCl 0.2 瓦
+ KH₂PO₄ 0.01 瓦

7. 山根氏液：

蒸溜水 72.8 cc + 10 cc $\frac{M}{10}$ H₃PO₄ + 17.2 cc $\frac{M}{10}$ NaOH
+ 葡萄糖 5.25 瓦

8. 島村氏液：

6.5% 葡萄糖液 100 cc + $\left(\frac{M}{15} \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \frac{M}{15} \text{H}_3\text{PO}_4\right) 25 \text{ cc}$

9. ソ聯液：次の組成を有する2種を使用。

成分 種類	蒸溜水	葡萄糖	Na ₂ SO ₄	KN ₂ C ₄ H ₄ O ₆	ペプトン
酒石酸鹽液	1,000 cc	57.0 g	— g	6.7 g	2.0 g
硫酸鹽液	1,000 cc	57.6 g	3.4 g	— g	2.0 g

10. 卵黄緩衝液 (馬用)：蒸溜水 100 cc + 10 瓦葡萄糖 + KH₂PO₄ 0.2 瓦 + Na₂HPO₄ · 12H₂O 2.0 瓦の割合に加温溶解、冷却後等量の新鮮卵黄と混合、一鹽基性カリ鹽にて pH を 6.7 に補正。

11. 血清：牝馬、騾馬より採血せる血清をそのまゝ及び 55°C に 30 分加温して非動性とせるもの。

12. 乳清：牛乳に等量の熱湯を加へ 40~50°C に冷却後數滴の醋酸を加へて、之を濾過、濾液を MgCO₃ で pH 7.0~7.2 に補正、更に 60°C, 30 分間加温。

13. 雌性生殖腺液：卵巢濾胞液及び子宮内容液を供

試、前者は發情牝馬から剔出せる卵巢の成熟濾胞液及び屠殺解剖せる卵巢の直徑 3.0 cm 以上に達せる成熟濾胞液をそのまゝ、或は葡萄糖液 (5.25%) で 3:1~1:3 まゝで稀釋し使用。子宮内容液は卵巢機能の休止せるものに發情ホルモンを注射して強度に發情を起さしめたる場合の子宮内潑溜液にして該當馬の子宮に於ける組織學的検査より分泌液と言ふよりも寧ろ膠樣浸潤による滲出液と思考。之等兩者の溶液は何れも粘稠なる黃色透明液。

14. 乳糖液：局方乳糖 13 瓦を 100 cc 蒸溜水に溶解。

15. 卵黃抽出液：新鮮卵黃に等量の蒸溜水に混合、之を 1 分間約 14 往復の水平動振盪器で 60 分振盪。次で之を 1 分間 2,000 回轉の遠心分離器に 60 分かけ上澄液を採取。此の液に更に等量の 5.25% 葡萄糖液を混合。

保存液の精蟲生存に及ぼす影響を検するには原精液を保存液で 3 倍稀釋し (精液 1 cc + 保存液 2 cc) 直後の精蟲生存率及び活力検査をなせる後 10 cc 容量の尖底褐色沈澱管に入れて 4~5°C の魔法壺中に保存し、一定時間毎に精蟲の生存検査を行へり。精蟲の生存検査は所定の如く加温装置を施せる顯微鏡下に懸滴標本で行い各性状を記載せり。記載の方法は最活潑な前進運動をするもの $\equiv$ 、活潑なる前進運動をするもの $\equiv$ 、緩慢なる前進運動をするもの $+$ 、固着運動又は小圓形運動をするもの $\pm$ とし、之等の運動を示す精蟲の % を併記せり。而して上記各種の保存液の精蟲生存能力に及ぼす影響を比較する爲活力検査の成績を精蟲生存指數を以て表せり。精蟲生存指數は上記の活動狀態の記號に $\equiv$...100, $\equiv$...75, $+$...50, $\pm$ 25 なる數値を與へ、各記號の生存率と之等數値との積の總和を 100 で割つたものを以て表はす事とせり。

B. 精清の影響

精清の精蟲生存に及ぼす影響に關しては原精液を遠心分離して精清を除去せる場合の影響及び剔出せる副辜丸精蟲に精清を添加せる場合の影響の 2 者に就き實驗せり。

精清の除去は 2, 3 の基礎試験より 1 分間 2,000~2,500 回轉の遠心分離器に 15 分かけ上澄液を排棄せり。實驗の方法としては 1) 原精液を濃縮して單に精清を除去せるもの、2) 葡萄糖液により 3 倍稀釋したる精液を濃縮して上澄液を除去せるもの、3) 原精液を濃縮して精清を除去し之に略々等量の葡萄糖液を添加せるものの 3 者に就き同一精液を用いて比較試験せり。副辜丸尾部精蟲に精清を加へ之が影響を見たる實驗に於ては日本馬 3 頭の剔出副辜丸の尾部より成可く純粹に精液を採取し之を 1) 0.1~0.2 cc の副尾精蟲をそのまゝ尖底試験管に受け取り保存せるもの、2) 他の正常馬の射出精液を遠心分離して採取せる精清を副尾精蟲 0.5 cc に對し 1 cc、

50 cc 及び 100 cc (100 cc 添加は正常射出精液の濃度に近し) 添加し保存せるもの、3) 副尾精蟲 0.2 cc に 5.25% 葡萄糖液 0.4 cc 添加せるもの、4) 副尾精蟲 0.5 cc に精清 100 cc を添加し混和せる後之を遠心分離して濃縮せるもの、5) 上記 4) の操作を爲せるものに更に 3 倍量の 5.25% 葡萄糖液を添加せるものの 5 者に就き比較試験を行へり。

精蟲の保存温度及び生存能力検査の要領は A の場合と同一なり。

以上の 2 種の實驗は昭和 18 年 5 月より昭和 20 年 3 月に至る間に行へるものなり。

3. 實驗成績及び考察

A. 保存液の追試

(1) 原精液保存 原精液のまゝの保存は次記葡萄糖液稀釋と共に各保存液の對照として其の都度實驗せるを以て實驗回数 86 回に及べり。實驗全例及び最長生存 144 時間 2 例、最短 24 時間以内 5 例の精蟲生存指數の各平均値を一括すれば次表の如し。尙 86 例中 64 例 (74.6%) は最長生存 48~72 時間なり。

種類	保存時間	直後	24 時間	48	72	96	120	144	168
86 例		68.0	11.2	2.1	0.7	0.3	0.1	0.02	0
最長生存例		53.8	22.5	15.6	12.4	5.8	3.3	1.0	0
最短生存例		57.0	0						

即ち保存直後に於ける精蟲生存能力は極めて良好なるも 24 時間にして著しく低下し、其の後時間の経過と共に急激に減弱し、最長生存時間 100 時間に及ぶもの僅少にして、大多數は 48~72 時間にして死滅し、最長の 2 例に於ても僅に 168 時間に過ぎず。馬精蟲の原液保存は極めて不良なるは從來報告され來りし處にして著者等の實驗成績も良く之と軌を一にす。斯く原精液中に於ける精蟲の生存が著しく短縮せらるるは馬精液の特異性によるものと稱すべく、牛、綿羊及び山羊の如き動物の原液保存は一般の保存液による稀釋よりも著しく精蟲の生存能力を延長するものなり (WALTON, 1933, HATZIOLOS, 1937, KÜST, 1939, HERMAN & RAGSDALE, 1939, 著者の一人西川も多數經驗)。之等兩者の原精液中に於ける精蟲の生存性に著しき相違あるは精蟲濃度其の他物理的條件等に原因を求め得べきも精清の組成に根本的相違あるべきを想像せしむるものあり。之等に就きては今後の研究に俟つべきものとす。

(2) 5.25% 葡萄糖液 實驗數 86 例、最長生存 264 時間 1 例、200 時間生存 5 例、最短生存 48 時間以

種 類	保存時間	直 後	24 時間	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264
86 例		73.6	38.9	19.5	10.0	5.3	2.0	0.8	0.5	0.2	0.08	0.04	0.001
最 長 生 存 例		82.5	40.0	26.3	18.7	18.7	14.8	9.8	8.3	7.5	5.0	2.5	0.5
200 時間以上生存例		81.0	37.3	26.2	19.5	13.4	8.0	5.5	3.6	1.5	0.4	0.1	0

内 2 例の精蟲生存指數の各平均値を一括すれば上表の如し。尙 86 例中 64 例が 100 時間以上の生存能力を有せり。

上表を既述原精液の場合と比較するに葡萄糖液稀釋の成績は遙かに良好にして保存 24 時間の指數は保存直後の約 1/2 以下に低下しあるに過ぎず、其の後にも低下の速度比較的緩慢にして最長生存時間も原精液に比し遙かに長く、又保存直後の指數に於て葡萄糖液が原精液に優るは之が添加により精蟲の活力が一時的に増強される證左なり。保存 6 時間迄の生存能力を比較せる 6 例の平均に於ても次表に示す如く原精液は 6 時間後既に直後の 1/2 以下に低下するに反し葡萄糖液稀釋は左程低下を示さず。

種 類	保存時間	直 後	6 時間
原 精 液		71.3	24.0
葡 萄 糖 液		75.0	53.3

以上の如く馬精蟲の保存は葡萄糖液稀釋により精蟲の活力を増強せしめるのみならず其の後の精蟲の生存にも有効に作用する如き成績は佐藤 (1916)、山根 (1921) 等の報告せる處と一致するものなり。而して之が原因と考へらるるは恐らく精清の悪影響を減弱すると共に LARDY & PHILLIPS (1941) の稱する如く精蟲のエネルギー給源となるものと思惟さる。尙本實驗には 5.25% 葡萄糖液 (佐藤, 1916) を採用せるも余等の既報せる實驗成績 (西川及佐々木, 1947) の示す處によれば 5~6% の範圍に於ては同様の成績を期待し得るものにして敢て 5.25% を固守する要なきものとす。

上記成績を實用目的と關聯して考察するに精蟲は 6 時間後既に生存能力の低下を認め、24 時間にして既に 1/2 に低下せる事實は未だ所期の目的を達し得たるものとは稱し得ず、佐藤 (1916) が曾て試みたる葡萄糖液稀釋保存精蟲の授精能力に於ても 4 時間保存で 30~40% 受胎に過ぎず、自然交尾に比し遙かに劣れるを示せり。

(3) 0.85 食鹽水 7 例の精液に就き實驗せるも 1 例は 24 時間以内、他の 6 例は何れも 48 時間以内に死滅せり。48 時間以内 6 例の生存指數平均値は次表の如く 24 時間にして僅かに 3.6 に過ぎず、對照の葡萄糖液稀釋よりも著しく劣悪なるを示せり。尙食鹽水添加による馬精蟲は一般に凝集の傾向あり。

即ち食鹽水稀釋は著しく精蟲の生存を阻害す。斯る結論は既往の佐藤 (1916)、山根 (1921)、島村、佐藤及當

種 類	保存時間	直 後	24 時間	48 時間	備 考
食 鹽 水		62.14	3.6	0	
葡 萄 糖 液		69.64	34.0	19.0	48時間以降も生存

麻 (1927)、西川及佐々木 (1947) 等の示せるものと軌を一にす。尙牛精蟲 (HATZIOLOS, 1937 及び豚精蟲伊藤及工藤, 1941) に對して生理的食鹽水が比較的良好なる如き報告あるも、之より食鹽水の精蟲に對する有害性は動物精液の種類により異なるものなるべく、精清の組成に影響さるる處大なるべし。

(4) 10% 蔗糖液 7 例の精液に就き實驗せるに最長生存 192 時間 1 例、最短生存 120 時間 1 例にして、他の 5 例中 3 例は 168 時間、2 例は 144 時間なり。精蟲生存指數の平均は次表の如し。即ち上記 5.25% 葡萄糖液に比し多少良好なる成績を示せり。

種 類	保存時間	直後	24 時間	48	72	96	120	144	168	192
蔗 糖 液		76.1	47.5	24.3	12.0	4.2	1.6	0.6	0.2	0
葡 萄 糖 液		75.7	44.3	20.1	9.5	3.4	0.8	0.1	0	

10% 蔗糖液の價值に就ては既に佐藤 (1916) が葡萄糖液に比し稍々劣るも精蟲の稀釋液としては製法の簡便なる點より推奨し、今日馬精蟲の稀釋に一般に使用さるるものなり。著者等の行へる成績に於ては葡萄糖液よりも多少優る成績を示せり。然れども從來行はれたる牛、緬羊、或は山羊精蟲の保存成績に比すれば著しく劣るものにして未だ所期の目的に遠きものと言ふべし。

(5) RINGER 氏液, LOCKE 氏液及 TYRODE 氏液 RINGER 氏液に就ては 5 例の精液に就て實驗せるに最長生存時間は 2 例に於て僅に 24 時間他の 3 例は 24 時間以内なり。

LOCKE 氏液に就ては實驗 4 例中 2 例は 24 時間、他の 2 例は 24 時間以内に全精蟲死滅せり。

TYRODE 氏液に就ては 4 例中 1 例に於て 48 時間、2 例は 24 時間、他の 1 例は 24 時間以内に全精蟲死滅せり。

以上 3 種の液中最長生存例の生存指數を示さん次表

の如く葡萄糖液に比し著しく劣悪にして、生理的食鹽水の場合に傾向を同じくする。

種 類	保存 時間	直 後	24 時間	48 時間	72 時 間
RINGER 氏液		77.5	3.8	0	
LOCKE 氏液		62.5	4.2	0	
TYRODE 氏液		55.0	2.5	0.5	0
葡 萄 糖 液		68.0	30.8	14.8	72時間以降 も生存

即ち之等3者の良好ならざるは他の鹽類の混合を勿論度外視し得ざるも NaCl の含有に支配せらるる處多きを想像し得べし。上記成績は山根(1929)の馬精蟲に関する研究成績と略々同一の傾向にあり。然れども RINGER 氏液の如きは著者の経験及び文獻に徴するも山羊及び鶏精蟲の生存には良好にして、既述食鹽水の場合と同様に稀釋液の精蟲に對する有効性は家畜の種類により異なるを知るべし。

(6) BAKER 氏液 本液は BAKER (1931) の調製せるものにして、一種の緩衝葡萄糖液に相當し一般哺乳動物の精蟲生存に有効なる如く報告せらる。實驗4例に於て生存時間の最長1例96時間、最短1例48時間以内に於て、他の2例は72時間以内なり。4例の精蟲の平均生存指數は次表の如く24時間にして既に相當低下し48時間以後に於て急激に惡化し對照の葡萄糖液よりも相當惡きを知る。

種 類	保存 時間	直後	24時間	48	72	96	120
BAKER 氏液		62.9	14.6	2.5	0.5	0.2	0
葡 萄 糖 液		69.4	32.8	14.0	4.5	1.3	1.3

(7) 山根氏液 本液は山根(1921)が専ら馬精蟲用に調製せるものにして氏の所謂糖磷曹液と稱するものなり。實驗4例に於て最長生存時間は144時間、他は120時間、96時間及び72時間なり。4例の精蟲の平均生存指數は次表の如く單獨の葡萄糖液に比し稍々劣る如き成績を示せり。

種 類	保存 時間	直後	24時間	48	72	96	120	144	168	備 考
山根氏液		75.0	32.8	15.9	8.0	2.8	1.0	0.1	0	6時間 後2例 平均 66.3
葡 萄 糖 液		81.3	35.0	20.1	10.3	4.1	1.8	0.4	0.1	

(8) 島村氏液 本液は島村、佐藤及當麻(1927)が馬精蟲用として調製し實驗せるものなり。實驗4例に於て最長生存144時間1例、72時間2例、48時間1例な

り。4例の精蟲の平均生存指數は次表に示せる如く精蟲の壽命に對しては對照の單獨葡萄糖液に比し優る如きも96時間迄の生存指數に於ては多少劣るを示せり。

種 類	保存 時間	直後	24時間	48	72	96	120	144	168
島村氏液		69.4	30.6	6.6	2.0	0.6	0.4	0.1	0
葡 萄 糖 液		69.4	32.8	14.0	4.5	1.3	0.1	0	

(9) ソ聯液 本實驗に用いたソ聯液は MILOVANOVA (1933) の馬精蟲用として調製せる酒石酸鹽混合液及び硫酸鹽混合液の2者なり。

酒石酸混合液4例の生存に於て2例は96時間、他の2例は72時間なり。

硫酸鹽混合液4例の生存に於ては3例は96時間、他の1例は72時間なり。以上2者各4例の精蟲の平均生存指數を同時に行へる5.25%葡萄糖液4例の平均値と比較するに次表の如く葡萄糖液に比し寧ろ多少劣る如き成績を示せり。

種 類	保存 時間	直後	24時間	48	72	96	120
酒石酸鹽混合液		71.9	30.3	18.9	6.5	1.0	0
硫酸鹽混合液		69.4	29.1	18.6	9.4	1.1	0
葡 萄 糖 液		74.4	32.8	19.6	10.0	5.6	1.4

(10) 馬用卵黃緩衝液(アメリカ) 本液の調製は LAMBERT & MCKENZIE (1940) の報告に従へるものにして牛用卵黃緩衝液を多少馬用として改良せるものなり。實驗8例中、最長生存120時間2例、96時間1例、72時間4例、48時間1例なり。8例平均、120時間生存2例及び對照の葡萄糖液8例の平均生存指數は次表の如く第3者に比し前者が多少劣る成績を示せり。

種 類	保存時間	直後	24時間	48	72	96	120
卵 黃 緩 衝 液		63.8	21.5	11.3	8.6	2.5	0.5
同上120時間生存		66.9	34.3	5.9	3.1	0.7	0.1
葡 萄 糖 液		74.7	38.4	21.1	11.0	5.4	1.7

(11) 血清(馬) 牝馬及び騾馬血清をそのまゝ或は非働性させるものの間には認むべき差異なかりしを以て之等13例の成績を一括して示さん最長生存96時間1例、72時間3例、48時間1例、24時間4例は24時間以内4例にして、之等の平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液13例の平均と比較するに次表の如し。即ち稀釋直後既に相當惡く、最長生存時間に於ても葡萄糖液に比し短縮せらるるを知るべし。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96	120
血 清		58.1	15.1	3.3	0.7	0.1	0
葡 萄 糖 液		76.4	37.9	23.8	15.0	8.7	4.1

從來家畜の精蟲保存に血清が如何なる影響あるやに就き試みられたるものに、馬に就ては島村、佐藤及當麻 (1927)、牛に就ては井貫 (1924, 1938) 及び小松 (1937) 等、山羊に就ては芝田、西川外 2 氏 (1944)、鶏に就ては石川 (1930)、GRODZINSKI & MARCHLEWSKI (1937) 等あり。然れども鶏精蟲以外は左程良好なる成績を報告せるものなく、余等の馬に於ける成績に略々近似するものなり。

(12) 乳 清 實驗例 3 例中最長生存は 72 時間 1 例、48 時間 2 例なり。之等の平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液のそれと比較せんに次表の如く、稀釋直後既に相當悪く最長生存時間に於ても極めて短縮されたる結果を示せり。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96
乳 清		55.0	23.8	10.0	0.8	0
葡 萄 糖 液		79.2	48.3	25.8	14.1	9.6

從來馬以外の家畜精蟲の保存に乳清を試みたるものに牛に就ては井貫 (1924) 及び小松 (1931)、山羊に就ては芝田、西川外 2 氏 (1944) 等あり。何れも良好なる成績を得ず。唯馬精蟲に就きて試みたる島村、佐藤及當麻 (1927) の成績に於ては單獨の葡萄糖液よりも之を添加せる場合多少良好なるを報告せり。著者等の得たる結果は島村外 2 氏の成績と趣きを異にするは恐らく乳清の製法の相違によるものなるべし。

(13) 雌性生殖腺液 (馬)

(イ) 濾胞内容液をそのまま使用 卵巢濾胞液 1 例を用い精液 6 例に就き實驗せるに最長生存時間 72 時間 1 例、48 時間 3 例、他の 2 例は 24 時間なり。平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液のそれと比較するに次表の如く前者著しく劣れり。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96
濾 胞 液		56.5	15.5	3.8	1.1	0
葡 萄 糖 液		76.9	45.6	33.0	13.0	8.5

(ロ) 濾胞液を葡萄糖液で稀釋せるものを使用 イとは異なる馬の卵巢濾胞液を葡萄糖液で各々 3:1, 1:1 及び 1:3 に稀釋し各 2 例宛試験し對照の葡萄糖液のみの

ものと比較試験せるに各平均精蟲生存指數は次表の如し。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96	120	144	168	192
濾胞液：葡萄糖液 3:1		51.3	25.6	13.8	10.6	3.8	2.5	0	—	—
1:1		46.3	33.8	21.3	15.0	5.0	3.8	3.8	1.3	0
1:3		56.3	38.8	33.8	18.1	8.1	5.6	1.3	0	—
葡 萄 糖 液		65.0	53.1	41.3	2.5	0	—	—	—	—

即ち 48 時間までの保存では葡萄糖液の添加量が増加するに従い精蟲生存指數高く、且つ單獨の葡萄糖液に比し精蟲の生存時間を相當或は著しく延長せしむる傾向あるを知る。斯く精蟲の生存時間を延長せしめる作用は卵胞液の化學的性状によるものなりや、或は粘稠性の如き物理的特性によるものなりやは今後の研究に俟つべきなり。曾て DÄTWYLER (1917) が牛精蟲を用い RINGER 氏液で 42 時間生存したものを純粋卵胞液中で 60 時間生存せしめたるを報告せるも余等の成績は之と傾向を同じくする。

(ハ) 子宮液 (馬) 馬の子宮内容液 1 例を以て馬精液 3 例を保存し、平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液のそれと比較するに次表の如し。即ち子宮内容液は對照に比し相當劣るを知れり。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96
子 宮 液		65.0	27.1	2.3	0.5	0
葡 萄 糖 液		78.3	44.2	30.4	17.7	11.3

之は DÄTWYLER (1917) が牛精蟲を用い RINGER 氏液に添加して精蟲の壽命を短縮せしめたる成績と一致す。

(14) 乳 糖 液 精液 6 例に就き試験せる平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液のそれと比較するに次表の如く、乳糖液は精蟲の壽命を延長せしめる傾向あり。然れども生存指數は對稱に比し低し。

種 類	保 存 時 間	直 後	24 時間	48	72	96	120	144	168	192	216	240
乳 糖 液		59.2	23.3	16.6	11.7	6.0	2.0	0.7	0.3	0.3	0.1	0
葡 萄 糖 液		70.4	33.3	22.8	14.6	9.0	3.8	1.8	1.5	0	—	—

從來乳糖溶液を精蟲の保存に試みたるものあるを聞かず。従つて既往の成績を對比して考察し得ざるも、本實驗成績より精蟲保存の實際目的には使用價值なきものとす。

(15) 卵黃抽出液 實驗 12 例に就き精蟲の平均生存指數を對照の葡萄糖液と比較するに次表の如く、精蟲

種類	保存時間 直後	24時間	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	備考 6時間
卵黄抽出液	66.2	29.0	17.3	9.0	3.2	1.4	1.1	0.6	0.2	0.1	0.1	0	47.5
葡萄糖液	71.7	28.9	20.2	12.8	6.8	2.4	1.0	0.8	0.3	0	—	—	44.2

の生存能力少々劣る傾向あるも精蟲の壽命に對し寧ろ對照よりも有効に作用する如き成績を示せり。

本實驗に於ては更に卵黄抽出液に $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ を添加せるもの或は本卵黄抽出液調製行程に於て遠心分離後の上澄液 100 cc に 5.25 瓦の葡萄糖又は 10 瓦の蔗糖を添加せる液に就ても試験せるも之等の成績は略々上表と傾向を同じくし大差なきを以て省略す。最近フィリップスの GONZAGA (1940) は馬精蟲の保存に各種の藥品を用い結局レシチン及び水溶性卵黄抽出液に於て最良の成績を得たるを報告せり。氏の用いし水溶性卵黄抽出液の製法は不明なるも著者等の用いし卵黄抽出液に於ても略々同様の傾向を示し卵黄成分の精蟲保存に對する將來性を示唆するものとす。

A. 精清の影響

(a) 精清除去による生存試験

(1) 單純濃縮 之は單に原精液を濃縮して精清を除去し、魔法壺中に保存せるものなり。

實驗 12 例の平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液の場合と比較するに下表の如く時間の経過と共に對照に比し遙かに劣るを知るべし。即ち單に濃縮せるのみにては個々の精蟲の周圍に精清の被膜が存する理にして之が原精液の場合と同じく悪影響の原因をなすものならん。

種類	保存時間 直後	24時間	48	72	96	120	144	168
單純濃縮	71.3	7.1	0.8	0.6	0.2	0.1	0.1	0
葡萄糖液	72.5	22.9	10.6	5.3	2.1	1.4	0.8	0.8

(2) 葡萄糖液による稀釋後濃縮 之は精液を葡萄糖液で稀釋し、次で濃縮後上澄液を除去せるものにして實驗 6 例の平均精蟲生存指數に對照の葡萄糖液の場合と比較するに下表の如く短時間の保存に於ては對照に

種類	保存時間 直後	6時間	18	24	48	72	96	120	144	實驗例數
副尾精蟲	33.1	22.1	17.3	19.1	6.8	3.5	1.8	0.2	0	3 例
0.5cc 副尾精蟲 + 1cc 精清	90.0	2.5	0.3	0	—	—	—	—	—	1, 特に此の馬良し
同上 + 50 cc 精清	37.5	6.5	1.0	0.3	—	—	—	—	—	2
同上 + 100 cc 精清	37.5	7.3	0.5	0.3	—	—	—	—	—	2
上記を更に濃縮	42.5	9.7	1.5	0.1	—	—	—	—	—	2
0.2 cc 副尾精蟲 + 葡萄糖液	61.7	36.3	21.3	19.9	0.8	0.1	0	—	—	3
0.5 cc 副尾精蟲 + 100cc 精清 之を濃縮し更に葡萄糖液添加	51.3	28.1	9.3	5.6	0.9	0	—	—	—	2

比し少々劣れるが如きも上記の精液を單に濃縮したるものよりも遙かに良好なる成績を示せり。

種類	保存時間 直後	24時間	48	72	96	120	144	168
加糖後濃縮	75.4	45.4	28.4	18.7	8.3	2.7	0.2	0
葡萄糖液	78.8	47.5	29.3	15.5	8.9	2.1	0.2	0

(3) 濃縮後葡萄糖液添加 之は原精液を濃縮して之に精蟲量と略同量の 5.25% 葡萄糖液を添加し軽く混合攪拌せるものなり。實驗 17 例の平均精蟲生存指數を對照の葡萄糖液のそれと比較するに前者は後者よりも多少良好なる成績を示せり。

種類	保存時間 直後	6時間	24	48	72	96	120	144	168	192
濃縮後加糖	76.5	64.8	39.0	22.0	14.7	6.2	2.0	0.5	0.1	0
葡萄糖液	74.0	53.3	31.9	17.3	9.3	4.3	0.9	0.1	0.1	0

以上 3 者の實驗より原精液保存の精蟲に有効ならざる主因を精清の影響に求め得べく之を除去するに遠心分離法を以てし、更に精蟲の生存に有効なるべき保存液を添加することは馬精蟲保存の一法なりと信ず。而して遠心分離が精蟲の生存に如何に影響するやは未だ完全に究め得たる所に非ざるも、著者等が本實驗の基礎實驗として行へる各種の回轉の精蟲生存に及ぼす試験成績及び釘本及梶田 (1939) の牛精蟲を用いたる濃縮試験成績より吾人の想像する程有害ならざるは明かなり。即ち精蟲は遠心分離の如き一定の回轉に對しては極めて強力なるものと稱し得べし。

(b) 副辜丸精蟲の生存試験

副辜丸尾部精蟲に精清或は葡萄糖液を添加せる成績を一括表掲すれば下表の如し。

即ち副尾精蟲に精清を添加することにより一時的に精蟲活力を増強せしめたるも生存能力は著しく減じ壽命も極端に短縮せるを知るものにして上記遠心分離試験による精清の悪影響を立證するものなり。

4. 結 論

馬の人工授精の應用を強化促進せしむる目的を以て精蟲の保存に關する實驗を開始し先づ從來試みられたる各種保存液に就き検討を加へ、更に精清の馬精蟲に及ぼす影響を把握せんせり。保存液として使用せるは 16 種にして、之を以て原精液を 3 倍に稀釋し、4~5°C の魔法壺中に保存せり。之等實驗成績より得られたる結論次の如し。

1) 馬精蟲は原液のまま保存するに於ては精蟲の生存力著しく低下し、之が主因を精清に歸し得べし。而して精清を遠心分離により除去し之に葡萄糖液を添加するは原精液のままの保存より精蟲の生存に極めて有効なり。

2) 保存液として使用せる 16 種中食鹽水、RINGER 氏液、TYRODE 氏液、LOCKE 氏液は精蟲の生存に有効ならず、その壽命を著しく短縮せしむ。

3) 5.25% 葡萄糖液 (5~6% にて可) 及び 10% 蔗糖液は他の方法に比し比較的良好なる成績を示せるも未だ期待する迄に到らず。然れども精液稀釋の目的に使用し得べし。尙葡萄糖液に適量の磷酸鹽、酒石酸液、硫酸鹽等を添加せる場合の成績は單獨の葡萄糖液の場合と大差なし。

4) アメリカに於て一部の研究者が推奨する馬用卵黃緩衝液は葡萄糖液に比し特に良好とは稱し得ず。

5) 卵黃抽出液に於ては葡萄糖液よりも多少良好な成績を示せり。

6) 以上の外血清、乳清、乳糖液、卵胞液、子宮液等を用いたる實驗に於て何れも良好なる成績を得ず。

以上要するに馬精蟲の保存に對し從來の保存液及び保存法を以てしては良好なる成績を期待し得ず、精蟲の保存に有害なるべき精清を除去し之に新しき有効保存液を調製して添加するは今後に残されたる精蟲保存の一法なりと思惟す。

稿を終るに臨み御指導及び御校閱を賜つた舊馬事研究所長佐藤繁雄博士及び同所囑託島村虎猪博士に對し深謝す。(昭 23. 7. 22. 受付)

文 献

- BAKER, J. R. (1931): Quart, J. Exp. Physiol., **21**, 135.
 DATWYLER, W. (1917): Diss. Zürich. (Hatzios, B. (1937); Z. Zücht. B. 38 から引用).
 GONZAGA, A. C. & A. VALENZUELA (1934): Philipp. J. Anim. Indust., **1**, 371.
 GRODZINSKI, Z. & J. MARCHLEWSKI (1935): Bull. int. Acad. Cracovie, Cl. Sci. mat. nat., II, 347.
 HITZIOLOS, B. (1937): Z. Zücht. B., 38.

- 井貫(耕) (1924, 38): 京都府立醫大雜誌, **96**; 23.
 石川(兵) (1930): Rept. Proc. 4th World's Poultry Congr., **90**.
 伊藤(祐)及工藤(篤) (1941): 日畜會報, **14**; 1.
 釘本(昌)及樹田(精) (1939): 日畜會報, **12**; 1.
 KUST, D. (1939): Tztl. Rdsch., **45**; 167.
 小松(伊) (1931): 京都府立醫大雜誌, **5**; 4.
 " (1937): 日畜會報, **12**; 2.
 LAMBERT, W. V. & F. F. MCKENZIE (1940): Circ. U. S. Dep. Agric., **567**.
 LARDY, H. A. & P. H. PHILLIPS (1941): Amer. J. Physiol., **133**.
 MILOVANOV, V. K. (1933): Probl. Zivotn., **4**, 95. (Anim. Breeding Abs. 1, 153 (1933) から引用).
 西川(義)及佐々木(義) (1946): 日獸醫誌, **8**; 3 及 4.
 POYARKOV, E. (1914): Compt. Rend. Soc. Biol., **77**. (Soliven, F. A. & A. C. Gonzaga (1940) (後記)から引用).
 佐藤(繁) (1916): Acta. Schol. Med. Kioto, **1**; 361.
 " (1916): 京都醫誌, **13**; 105.
 " (1919): 馬政局報, **13**.
 芝田(清), 西川(義), 吉岡(喜)及小泉(幸) (1944): 畜産試験場報告, **48**.
 島村(虎), 佐藤(繁)及當麻(嗣): 中央獸誌, **40**, 11.
 島村(虎)及梅津(元) (1930): 中央獸誌, **43**.
 SOLIVEN, F. A. & A. C. GONZAGA (1940): Philipp. J. Anim. Indust., **7**; 1.
 WALTON, A. (1933): Imp. Bull. Anim. Genet. Edinburg.
 山根(甚) (1921): J. Coll. Agric. Hokkaido, **9**.
 " (1929): 札幌農林學會報, **92**.

Résumé

The spermatozoa of horses are much weaker and have much shorter viability than those of other domestic animals, such as bulls, sheep, etc. At present a large number of mares are artificially inseminated in Japan. The insemination has been, however, practised generally with fresh semen just after ejaculation, because effective methods of sperm preservation are not yet found. For the wider practical application of the artificial insemination, more suitable methods of preservation must be found. Thus we investigated various dilution media which have been examined hitherto by other authors and then effects of sperm serum on the viability of spermatozoa were also studied.

In the experiment sperm was preserved at 4°C. Results obtained here were as follows:

- 1) Viability of spermatozoa was short in ejaculated semen.
- 2) Sperm serum caused remarkable reduction of viability of spermatozoa.
- 3) Physiological salt-, Ringer-, Tyrode-, Locke-solution gave bad effects on spermatozoa and blood serum, milk serum, lactose-solution, secreting fluids of female sexual organs (follicle and uterus), etc. did not show favourable results.
- 4) 5.25% glucose-, 10% cane sugar-solution gave comparatively good results and glucose buffer solution, such as phosphate-, citrate- and sulphate-buffer and egg yolk extract did not substantially differ from glucose-solution.