家畜精子の代謝に関する研究

I 温度と精子代謝量との関係について

瑞穂 当・丹羽太左衛門・副島昭彦

(農林省畜産試験場)

人工授精が家畜の改良・増殖に重要な役割を果していることは周知の通りであるが、人工授精の効果をより大ならしめるためには精子の体外における有効生存時間をできるだけ延長させることが必要である。精子の運動力が温度の高低に支配されるところが大きいことは顕微鏡下の観察によっても明らかであり、また精液の保存にあたって温度が重大な影響力を有することも知られている。そこで温度と精子の代謝量との関係について実験をおこない、家畜の種類による精液の保存適温の違いについての解明を試みた。

実験材料ならびに方法

実験材料：人工陰法によって採取した馬、牛、豚、山羊、兎精液を用いた。処理等の細部については各実験の項に述べる。

1) 実験方法：

呼吸量の測定には円弧運動型式のワールブルグ検圧装置を使用し、振盪回数は毎分 110 回、精液量は 3 ml、苛性カリ液は 0.3 ml (10 g/dl 濃度) とし、ガス腔は空気のまま実施した。なお、精漿あるいは卵く液など保存液のみでも相当量の酸素消費が認められるので、精液についての数値からこれら精子以外のものに基因する数値を差し引いたものをもつて精子自体による正味の呼吸量と見做し、数値は精子 1 億当りに換算して表示した。

2) 解糖量は実験の前後における供試精液の糖の含量を ROE¹⁾ のアンスロン試薬による発色法により比色定量してその差を求めた。数値は精子 1 億当りに換算して表示した。なお除蛋白は水酸化亜鉛法 (硫酸亜鉛 + 苛性ソーダ) によった。

3) 乳酸蓄積量の測定は実験の前後における供試精液の乳酸含量を BARKER & SUMMERSON²⁾ の方法により比色定量し、その差をもつて乳酸蓄積量とした。表示は

精子 1 億当りとし、実験中において乳酸量の減少を示した場合は — の符号を付した。

4) 精子の活力検査は懸滴法により、通常 38°C の加温装置内におさめた顕微鏡下において観察した。なお、豚精子で保存後時間を経過し仮死状態に陥つたものについては活力回復操作を施した後に鏡検した。

実験結果ならびに考察

〔I〕 測定温度による精子代謝量の差異

豚精液 9 容に対し解糖源として 6% ブドウ糖液 1 容の割合で混合したものについて 10°C、20°C、30°C、37°C の各温度において好氣的振盪温条件のもとで精子の代謝量を測定した結果は第 1 図のようであつた。

第 1 図 測定温度と精子の代謝量 (3 例平均)

備考：好氣的条件における精子 1 億、1 時間当りの量を示す

すなわち、精子の呼吸量・解糖量ともに測定温度が高温となるにしたがつて増加し、かつその増加割合は温度 10°C の上昇によつて 2 倍になる関係にあることが知られた。BALDWIN³⁾ は酵素反応は 10°C の温度上昇で 2 倍になると述べているが、精子の呼吸ならびに解糖に関する一連の酵素反応系も酵素反応の一般法則にしたがつているものと言ふことができる。

なお、この実験に用いた精液の代謝測定開始時および終了時における精子活力を、それぞれの測定温度において鏡検した結果は第 1 表のようであり、代謝量の少ない低温状態では精子の運動も低調であつた。

Studies on the metabolism of spermatozoa of farm animals I. The effect of temperature on the metabolism of spermatozoa. MIZUHO, A., T. NIWA & A. SOEJIMA (Nat. Inst. Anim. Indust., Chiba-shi) *Jap. J. Animal Reprod.*, 9 (2).

第 1 表 代謝測定の前後的における供試精液の精子活力
(各測定温度で鏡検)

測定温度	10°C	20°C	30°C	37°C
開始時	20+	27+ 50+	49+ 40+	97+
終了時	33+	47+ 30+	50+ 30+	78+ 3+

備考：精子運動力…+ 激烈，++ 活潑，+ 微弱

[II] 温度別による各家畜精子代謝量の比較

乳牛，山羊，豚精液を材料としたが，射精液量，精子密度，糖含量に差があるので，測定ならびに比較の便宜上次の処置を施したものを実験に供した。すなわち，豚精液は糖含量が少ないので精液 9 容に対して 6% ブドウ糖液 1 容を添加し，また乳牛精液には 2~4 倍量，山羊精液には 5~20 倍量の KREBS の phosphate-Ringer 液（以下 KRP 液と略称）（カルシウム不含，適量の 6% ブドウ糖液を添加）をなるべく希釈ショックを避けるよう留意しつつ添加し，最終的に各供試精液とも精子密度，糖含量をほぼ同条件に揃えた。これら供試精液について 37°C，15°C，5°C の好氣的条件下において測定した精子代謝量は第 2 表のようであった。

第 2 表 各温度における精子代謝量の家畜別比較
(3 例平均)

測定温度	呼吸量			解糖量			乳酸蓄積量		
	豚	乳牛	山羊	豚	乳牛	山羊	豚	乳牛	山羊
37°C	15.0	12.5	17.0	85.8	122.0	205.5	17.3	23.2	36.0
15°C	3.5	2.5	3.9	5.9	18.7	19.1	3.0	7.1	4.8
5°C	1.4	1.7	2.3	2.8	16.0	18.4	0.5	4.8	3.3

備考：数値はいずれも生存精子 1 億，1 時間当りで示す

すなわち，37°C の温度条件においては，呼吸量は山羊精子が最高値を示し，豚精子がこれに次ぎ，乳牛精子が最低値となつたが，その差は小さく家畜間に著差はないと言える。解糖量は山羊精子が最大で，乳牛精子がこれに次ぎ，豚精子が最も劣り，且つ家畜別の差はかなり明瞭であつた。乳酸蓄積量には 3 者間に著差を認めなかつた。

15°C の温度条件においては，いずれも数値は 37°C の実験に比べて低いが，家畜別の比較においては，呼吸量は山羊，豚，乳牛の順で変らず，ただ解糖量は豚精子は乳牛および山羊精子に比べてはるかに低い値となつた。乳酸蓄積量は山羊精子よりも乳牛精子の方が高い数値を示したが，これは解糖量に比較して呼吸量が相対的に少なかつたためと解される。

5°C の温度条件においては，呼吸量は 37°C および 15°C

の場合と異なり，豚精子は乳牛精子に劣り最下位にあつた。これは解糖量の低下による焦性ブドウ酸の生成不充分が，これを起点とする呼吸系を二次的に制約した結果と推察され，豚における乳酸蓄積量がきわめて少なかつたこともこれを裏付けしていると思われる。山羊ならびに乳牛精子では，なお相当量の解糖が認められた。

以上の各温度における実験結果から，保存適温の高い豚精子と，低い温度を保存適温とする山羊および乳牛精子とは，呼吸系では著差はないが，解糖系では豚精子は他の 2 者に比べて低温での能力が劣ることが大きな差異であると言える。そして前述のように乳牛および山羊精液は KRP 液で希釈された条件で実験が行なわれたのであるから，代謝量の差は精子密度あるいは糖含量によるものではなく，精子がもつ本質的な種属別の特性によるものであると結論すべきであろう。

[III] 精液の保存温度と精子代謝能力保持との関係

上記の実験と同様に処置した豚，乳牛，山羊精液に抗菌性物質としてサルファ剤を添加したものを 2 分し，15°C および 5°C に静置保存しておき，それぞれ 24 時間後および 72 時間後に 37°C の好氣的振盪条件下で精子代謝量を測定し，保存開始時の数値と比較することにより精液の保存温度と精子の代謝能力保持状況との関係を検討した。その結果は第 3 表のようであった。

すなわち，豚精子は 15°C に保存したものが 5°C 保存のものに比べて長時間良好な代謝能力を保持しているこ

第 3 表 精液の保存温度と精子の代謝能力ならびに活力の保持状況（3 例平均）

区 別	精液保存時間	豚		乳 牛		山 羊	
		15°C 保存	5°C 保存	15°C 保存	5°C 保存	15°C 保存	5°C 保存
呼 吸 量	直 後	16.5 μ l		15.0 μ l		16.8 μ l	
	24 時間	14.7	2.8	10.8	8.8	8.4	9.9
	72 時間	10.0	2.1	7.5	5.3	5.3	8.3
解 糖 量	直 後	69.1 r		144.8 r		233.8 r	
	24 時間	50.2	13.0	82.7	52.4	140.9	178.6
	72 時間	22.5	7.0	34.9	28.1	37.9	78.3
乳酸蓄積量	直 後	19.5 r		31.1 r		43.5 r	
	24 時間	15.2	-0.5	21.8	12.8	26.8	29.8
	72 時間	8.5	-3.9	9.9	7.0	6.9	22.5
精子活力	直 後	82+		72+		77+	
	24 時間	77+	10+	58+ 7+	38+ 13+	73+	67+
	72 時間	7+ 52+	7+	7+ 40+ 8+	18+ 12+	33+	47+ 8+

とが知られその差が大きいが、乳牛精子の場合はその差が少なく、山羊精子の場合はこの関係が逆となり 15°C 保存のものは 5°C 保存のものに劣る結果が得られた。

この結果を前項までの実験結果を援用して考察すると、代謝能力の弱い豚精子は 15°C におかれた場合に適度の量の代謝が続行されて精子の生存が維持されており、37°C での測定で良好な代謝能力を示し得たが、5°C におかれた場合は僅少な代謝量しか行なわれ得ないので保存中にすでに精子が生存を害されており、37°C に温度が上げられてももはやその代謝能力は発揮され得ない状態にあつたものと考えられる。一方、代謝能力の強い山羊精子の場合は、15°C におかれたときは保存中に必要以上の代謝がおこなわれ 37°C の測定時に発揮される代謝量は少ししか残つておらず、5°C におかれたものの方が代謝能力の余力を多分に保持していたものと考えることができる。乳牛精子の場合に保存温度別の差が少なかったことは、乳牛精子の保存適温は 15°C と 5°C との中間に位置するものと考えられるならば、その理由はおのずから明らかとなると考えられる。このような考察は、精子が行ない得る代謝総量には限界があることを前提とするが、それは第 IV 報の実験によつて妥当なものと考えられるし、またこの実験の精子活力の状況からもうかがわれる。

【IV】 静置状態における精子解糖量の家畜別比較

豚、乳牛、山羊、馬、兎の供試精液を 2 分し、5°C および 15°C に静置保存し、保存開始後 24 時間目および 48 時間目における精液の糖含量を定量し、その差から実験開始時における生存精子 1 億 1 時間当りの解糖量を算出した。得られた結果は第 2 図に示すようであつた。

すなわち、豚精液では精子の解糖能力は弱く、5°C の状態ではきわめて少量の解糖を認めるのみであり、鏡検

第 2 図 静置保存の温度と精子解糖量の家畜別比較
(3 例平均)

備考：実験開始時における生存精子 1 億、1 時間当りの消費ブドウ糖量を示す

による精子活力検査でも僅少の生存率を示すのみであつたが、15°C の保存では約 6r の解糖量を示し、鏡検によつて良好な精子生存性が認められた。馬精液では豚精液の場合と殆んど一致する数値が見られたが、乳牛、山羊および兎精液の場合は 5°C においてすでに豚精子の 15°C における解糖量を上回る解糖量を示し、15°C におかれた場合はさらに多量の解糖量が見られ、豚、馬精子に比較し乳牛、山羊および兎精子は静置状態における解糖能力もはるかに強いことが知られた。

精液を静置した場合は空気との接触は液面に限られるので、精子の呼吸系は必然的に休止状態におかれ、精子は生存のためのエネルギーを主として解糖に依存していると考えらるべきであろう。そしてこの実験結果において、豚精子の 15°C における解糖量と乳牛および山羊精子の 5°C における解糖量とはほぼ同等の水準にあることが認められた。これらの家畜において精液の保存適温とされている温度⁽⁴⁻⁶⁾におけるそれぞれの精子の解糖量がほぼ同程度であることは、家畜の種類にかかわらず、精子が生存を維持するためには精子 1 億 1 時間当りブドウ糖として 5~10r 程度の解糖によつて獲得されるエネルギー量が必要であらうということを示すものと考えることができよう。

これを言いかえれば、精液の保存適温とはその中に含まれる精子が 1 億 1 時間当り 5~10r 程度の解糖をおこなう温度であり、精子の解糖能力の強弱によつて家畜毎の精液保存適温が決定されるが、同種類の家畜でも個体による精子の強弱もあり、また精子密度の大小あるいは添加された保存液の種類等によつて、精液の保存適温は変動しうるものと考えられる。なお、馬および兎の原精液の保存適温についてはまだ明確でないようであるが、豚、乳牛および山羊精液についての考え方から、馬精液については 13~15°C を保存適温とした佐藤⁷⁾の報告を肯定したいし、兎精液については WOLF⁸⁾ (0°C) や山根・加藤⁹⁾ (1~2°C) (ただしいずれも緩衝ブドウ糖液で希釈した場合の成績) の報告を支持したい。

要 約

温度と精子代謝量との関係について試験を行ない、次の知見を得た。

(1) 豚精子を材料として 10°C、20°C、30°C、37°C の好气的条件下の代謝量を測定した結果、10°C の温度上昇により精子の呼吸量も解糖量も約 2 倍に増加するという関係を認めた。

(2) 家畜間の比較において、精子呼吸量には著差を認めなかったが、解糖量は豚・馬精子は乳牛・山羊・兎

精子に劣り、殊に豚精子は低温における解糖作用の低下が顕著であつた。

(3) 豚精子は 15°C に保存された場合は 5°C に保存された場合よりも代謝能力を良好に保持し、山羊精子は逆に 5°C に保存された場合の方が代謝能力の保持に有効であり、乳牛精子はほぼ両者の中間に位置した。すなわち精子代謝量の測定結果も、精液はそれぞれの保存適温に保存されるべきであることを示すものと言える。

(4) 静置状態における精子の解糖量を測定した結果、各保存適温における単位精子数当りの解糖量は豚、乳牛、山羊精子ともほぼ同程度であつた。この結果から、家畜の種類にかかわらず、精子が生存を維持するためには精子 1 億 1 時間当りブドウ糖として 5~10 γ 程度の解糖によつて得られるエネルギー量が必要と認められ、この量の解糖をおこない得る温度がその精液の保存

適温となると言うことができよう。

終りに、本研究に対し種々御指導をいただいた東大農学部教授星冬四郎博士に厚く感謝致します。

(1962, 12.1 受付)

文 献

- 1) ROE, J. H. : *J. B. C.*, **212**, 335, 1955. 2) BARAKER, S. B. & W. H. SUMMERSON : *J. B. C.*, **138**, 535, 1941. 3) BALDWIN, E. : *Dynamic aspects of Biochemistry* (動的生化学, 第 4 版, 岩波書店, 1956).
- 4) 伊藤祐之・丹羽太左衛門・工藤篤・瑞穂当 : 畜試報告, **55**, 17, 1948. 5) 榊田精一 : 畜試報告, **56**, 1950.
- 6) 吉岡善三郎 : 緬羊・山羊の人工授精, 家畜人工授精の技術, 第 4 章, 産業図書, 1957. 7) 佐藤繁雄 : *Acta. Schol. Med. Kioto*, **1**, 361, 1916. 8) WOLF, C. G. : *J. Agric. Sci.*, **11**, 310, 1921. 9) 山根甚信・加藤浩 : *Z. Tierz. Biol.*, **B. 12**, 357, 1928