牛精子の生存性ならびに運動性に及ぼす 不活性ガスおよび窒素ガスの影響

池上順子・加藤征史郎・入谷 明・西川義正*

(京都大学農学部・*帯広畜産大学)

射出精液を体温付近の温度下におくと、精子の運動及び受精能力は時間の経過とともに急激に低下することが知られており、その際、酸素は精子の代謝を促進する要因として働き、結果的には精子に有害な作用を及ぼすこと¹⁾が明らかにされている。精子の生存性、運動性ならびに代謝に及ぼす酸素の影響については MACLEOD²⁾, VAN DEMARK³⁾, TOSIC⁴⁾ らにより研究が行われ、酸素の存在は、精子のアミノ酸代謝過程における過酸化水素 (H_2O_2) の形成により精子に対して害作用を及ぼすものと考えられている。一方、炭酸ガス (CO_2) が精子の運動を可逆的に抑制することはよく知られている^{5,6)}。しかし、窒素ガス (N_2) やヘリウムガス (He) にはそのような抑制作用はなく、 CO_2 ガスによって抑制された精子の運動は、これらのガスで置換すると回復することが認められている^{7,8)}。

一般に嫌気条件をつくる場合、常温では化学的に不活性である N_2 ガスを用いることが多い^{9,10)}。しかし、生物によっては分子状の窒素を利用したり、物質代謝の経路に影響を与えることがある¹⁰⁾。従って化学的・生物活性を示す N_2 ガスを用いて嫌気条件をつくることは複雑な問題を含んでおり、化学的・生物活性を示さない不活性ガスを用いるのが理想的である⁹⁾とされている。また、100% N_2 ガスによる嫌気的条件下では、精子の生存や代謝が阻害されるという報告¹¹⁻¹³⁾もみられる。精子の代謝を抑制して生存延長をはかる手段として N_2 ガスを用いた報告¹⁴⁻¹⁹⁾は多いが、不活性ガスを用いた報告は少ない^{6-8,10)}。

本実験は、不活性ガスのうちアルゴン (Ar) 及びヘリウム (He) ガスを用いて、これらのガスによる嫌気的条

件下における牛精子の生存性を調べるとともに、 N_2 ガスとの比較検討も行った。さらに、ガス通気の可能な観察器具を用いて、牛精子の運動性を顕微鏡下で経時的に観察し、不活性ガス及び N_2 ガスの運動性への影響を明らかにしようとした。

材料及び方法

供試精液は2頭の黒毛和種雄牛から人工腔法で採取した。

実験 1. 牛精子の生存性に及ぼす不活性ガス及び N_2 ガスの影響

1. 希釈液: 卵黄と3%クエン酸ソーダ液を1:4の割合に混合した液(卵ク液)に、1錠中に結晶ベニシリンGカリウム9000単位及び硫酸ジヒドロストربتマイシン9mgを含有する市販のマイペニン錠を、卵ク液1ml当たり1錠の割合で溶かした。

2. 供試ガスと通気法: 供試したガスは、Ar, He, N_2 , CO_2 及び air の5種であった。希釈液への通気は、卵ク液10mlに約1lの N_2 または CO_2 ガスを20°C下で bubbling 法²⁴⁾によって通気した。遠沈管を用いた場合、約0.5lの各種ガスを真空法²⁴⁾によって通気した。なお、保存容器に遠沈管を用いた場合、毎検査後、同様にガス通気を行った。

3. 保存容器: 保存容器を比較する場合には、尖底試験管、塩化ビニール製ストロー及び10ml遠沈管の3種を用い、各種ガスを比較する場合には10ml遠沈管のみを用いた。

4. 保存条件: 保存容器を比較する場合には、採取した精液を20°Cに冷却後、ガス処理を行った卵ク液で10倍に希釈し、1mlの希釈精液を各種容器に分注し、4°Cで14日間ならびに15°Cで10日間保存した。各種ガスを比較する場合には、採取した精液を室温下で卵ク液により10倍に希釈し、2mlの希釈精液を遠沈管に分注し、4°Cに冷却後各種ガスを通気した。保存温度は4°C及び15°Cとし、保存期間は7日であった。

Effect of inert gases and nitrogen gas on viability and motility of bull spermatozoa. ISEGAMI, Junko, Seishiro KATO, Akira IRITANI & Yoshimasa NISHIKAWA* (Faculty of Agriculture, Kyoto University, Kyoto-shi 606 & *Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro-shi 080)

Japan. J. Anim. Reprod. 25 (1), 1979.

Fig. 1. Observation cell and method of gassing.

5. 精子の活力検査: 精子の活力検査は常法により毎日 1 回行い、結果は生存指数で表した。なお、精子の生存性について、分散分析により測定結果の有意性を検定した。

実験 2. 牛精子の運動性に及ぼす不活性ガスおよび N_2 ガスの影響

1. 観察試料の調製: 観察試料は、原精液、生理食塩液による 10 倍希釈精液、生理食塩液により 2 回洗浄を行ったのち生理食塩液で原精液量にもどし、さらに生理食塩液で 10 倍に希釈した 2 回洗浄牛精子浮遊液、及びブドウ糖を最終濃度で 0.02 M となるように添加した 2 回洗浄牛精子浮遊液の 4 種とした。

2. 観察器具: 図 1 に示したように縦 25 mm、横 75 mm、厚さ 4 mm のゴム板に直径 10 mm の穴をあけ、スライドガラス上にはりつけ、観察時にゴム板上にワセリンを塗ってカバーガラスをはりつける observation cell をつくり、ゴム板に 2 本の注射針を貫通させ、その一方からガスを送り、他方から排気を行うようにした。

3. 供試ガスと通気法 (図 1 参照): observation cell に通気したガスは、Ar, He, N_2 , N_2-O_2 , CO_2 及び air の 6 種であった。酸素吸収剤を用いる場合、ガス溜に黄燐を直接投入する方法 (N_2-O_2 (bottle) と略記) 及

び黄燐を入れた 5 個のフラスコを連結し、順次ガスを送る方法 (N_2-O_2 (flask) と略記) を用いた。observation cell へのガス通気法は、予備実験により試料への影響を検討した結果、次の方法が採用された。5 ml/min の速度で 1 分間通気を行い両端を閉じた後、通気したガスによる嫌氣的条件下において観察を行った。

4. 精子の運動の観察: 0.07 ml の試料をカバーガラス上に円型に塗布し、塗布面を下にして、ゴム板上にワセリンを塗った前記の observation cell にはりつけ、43°C の加温器上におく。ガスは流量計を兼ねる 37°C の温水中を通して温め、5 ml/min の速度で 1 分間通気し、両端を閉じて光学顕微鏡下で 10 分間精子の運動を観察した。酸素吸収剤を用いる場合は、流量計の温水をピロガロール溶液にかえた。

5. 結果の表示: 観察の結果は、原精液以外の試料を用いた場合には、実験 I と同様に生存指数で表した。原精液を用いた場合には、生存指数で表すことができないので、精子の運動を次に示す motility score で表した。

卅): 激しい雲状運動, 卅): 緩慢な雲状運動, +): かすかに全体がゆれ動く。

結果及び考察

実験 1. 牛精子の生存性に及ぼす不活性ガスおよび N_2 ガスの影響

1. 保存容器の比較: 結果は一括して表 1 に示した。4°C 保存の場合、 N_2 ガス処理区の牛精子は、全保存期間を通じて、いずれの保存容器においても、対照の air 区よりやや高い生存性が維持され、とくに、遠沈管を用いた場合に良好な成績が得られた。15°C 保存の場合、 N_2 ガス処理区の牛精子の生存性は、保存 5 日目以後いずれの保存容器においても対照の air 区よりかなり良好に維持された。しかし、保存 7 日目以後は、いずれの保存容器においても CO_2 ガス処理区の精子が高い生存性を示した。

これらの結果から、ガス処理後の希釈精液を保存する場合、精子の生存性に保存容器による若干の差が認められ、とくに、容器として遠沈管を用いた場合に良好な結果が得られた。これは、毎検査後のガス通気により通気したガスの分圧が高まり、容器内の酸素分圧が低下することによるものと推察される。

2. 各種ガスの比較: 表 2 に示したように、4°C 保存の場合、Ar 及び He ガス処理による保存 7 日後の生存指数は 61 及び 55 で、対照 (air) の 57 とほとんど差

Table 1. Effect of nitrogen gas on viability of bull spermatozoa ($n=8$)

Gas	Vessel	Storage time at 4°C (day)								Storage time at 15°C (day)					
		1	3	5	7	9	11	13	14	1	3	5	7	9	10
N ₂	TTT	75	68	55	47	38	28	14	10	72	60	44	27	16	13
	PS	75	68	59	46	40	38	—	—	73	47	44	21	15	11
	CT	75	72	65	50	48	33	26	19	74	59	39	27	17	15
CO ₂	TTT	74	68	57	47	32	27	17	15	75	65	49	37	24	23
	PS	70	68	55	42	—	—	—	—	71	58	43	35	26	—
	CT	76	74	62	54	25	11	3	3	75	68	56	40	28	20
Air	TTT	75	65	47	39	34	18	14	7	72	62	33	19	5	1

TTT: Taper test tube, PS: Plastic straw, CT: Centrifuge tube.

Table 2. Effect of inert gases on viability of bull spermatozoa ($n=4$)

Gas	Storage time at 4°C (day)								Storage time at 15°C (day)							
	0	1	2	3	4	5	6	7	0	1	2	3	4	5	6	7
Ar	77	76	72	65	63	63	61	61	77	68	62	57	46	34	30	22
He	77	71	68	65	57	55	54	55	77	64	58	51	44	41	31	22
N ₂	77	73	71	65	60	60	60	58	77	63	59	52	43	37	30	22
CO ₂	77	76	72	69	68	65	62	53	77	68	66	62	55	52	47	39
Air	77	73	67	66	61	59	59	57	77	67	62	58	49	39	28	20

がなかった。また、N₂ ガス処理区も 58 で、各ガス処理間に有意な差はみられなかった。各ガス処理間に有意な差がみとめられないのは、不活性ガスは精子の代謝を抑制することにより精子の生存延長にやや有効に作用するが、4°C 保存の場合低温による代謝抑制効果が強く現れ、ガス処理による著明な影響がみられなかったものと考えられる。この結果は、他の研究者たちの結果^{15,16)}によく一致している。15°C で保存した場合、Ar, He, N₂ 及び CO₂ ガス処理の保存 7 日後の生存指数は、それぞれ 22, 22, 22 及び 39 で、対照の air との差は有意ではなく、また各ガス処理間の差も有意ではなかった。

これは、ガス処理による精子の代謝抑制^{12,25)}より、15°C の温度による代謝の促進作用が強く、精子生存性が著しく低下するものと考えられる。また、CO₂ ガス処理によって精子生存性が高められたが、これは CO₂ ガスの可逆的な代謝抑制作用によるもので、他のガスの酸素置換による間接的な抑制作用とは抑制のメカニズムが異なるのではないかと考えられる。

以上の結果から、不活性ガス処理と N₂ ガス処理間には有意な差は認められなかった。従って、N₂ ガスは不活性ガスと同様、牛精子に対して直接的に作用を及ぼすのではなく、気相及び媒液中に溶存する酸素の置換によ

る酸素分圧の低下によって、精子の代謝を抑制するという間接的な作用を及ぼすものと推論される。SHANNON¹⁷⁾ は、希釈液に N₂ ガスを通気することによって、5°C 保存における精子生存性が良好に維持されたと報告しており、PETERSON ら¹⁴⁾ や KIEWER & WOLBERG^{15,16)} も N₂ ガス処理により良好な成績を得たと報告している。彼らは、ガス処理の効果は、希釈液の酸素分圧の低下により精子の代謝を可逆的に抑制することによると推測している。また、ROUSSEL²⁰⁾ は、ガス処理による酸素の置換率が約 50% であると報告しており、一方、牛精子の酸素消費量は 37°C で 5~20 $\mu\text{l}/10^8$ 精子/時間²¹⁾ といわれ、とくに保存温度が低い場合、代謝が抑制され酸素消費量も低下するため、残存酸素量は精子生存にとって十分な量ではないかと推察される。

実験 2. 牛精子の運動性に及ぼす不活性ガスおよび N₂ ガスの影響

1. 原精液の運動性: observation cell を用いて、各種ガス (Ar, He, N₂ 及び air) 下における牛原精液の運動性を観察した結果を図 2 に示した。各種ガス下において 2~3 分後に雲状運動がやや弱まる傾向がみられ、5 分以後さらに低下する傾向がみられた。Ar, He 及び N₂ ガス処理区間に著明な差はみとめられず、対照の

Fig. 2. Effect of inert gases on motility of bull spermatozoa in undiluted semen ($n=3$).

Fig. 3. Effect of nitrogen gas on motility of bull spermatozoa in undiluted semen ($n=3$).

Table 3. Effect of inert gases on motility of bull spermatozoa in diluted semen ($n=3$)

Gas	Time (minutes)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Air	67	67	65	65	65	63	63	60	54	54
Ar	63	63	61	59	58	56	56	56	53	49
He	63	63	62	59	58	58	52	52	44	44
N ₂	61	61	61	58	53	52	48	47	43	43

Table 4. Effect of nitrogen gas on motility of bull spermatozoa in diluted semen under the presence of yellow phosphorus as oxygen absorbent ($n=3$)

Gas	Time (minutes)									
	1/4	1/2	3/4	1	1½	2	4	6	8	10
N ₂	65	65	65	65	65	65	65	65	63	63
N ₂ -O ₂ (flask)	67	67	67	67	67	67	67	63	58	54
N ₂ -O ₂ (bottle)	65	65	65	65	65	65	63	62	60	59
CO ₂	48	35	28	29	29	67	68	58	52	52

air との間にも顕著な差はみとめられなかった。図 3 に N₂, N₂-O₂ 及び CO₂ ガス下における牛原精液の運動性の観察結果を示した。N₂-O₂ 区では 2~3 分後と 7 分後にやや低下する傾向が認められ、N₂ 区では 4 分後に低下する傾向がみられた。図 3 に示すように、CO₂ ガス下において牛原精液の運動性は 60 秒までは著しく低下し、その後徐々に回復し 5 分後には N₂ ガス区と同程度の運動性を示した。

2. 希釈精液の運動性: 結果は表 3 及び 4 に示した。Ar, He 及び N₂ ガス区の牛精子の運動性は、3 分以後徐々に低下する傾向がみられた。しかし、これらのガス処理間の差は有意ではなかった。N₂-O₂ 区の精子の運動

性は、N₂ 区の精子の運動性より低下する傾向がみられたが、その差は有意ではなかった。CO₂ ガス区の牛精子の運動性は、通気直後急速に低下するが 2 分後には回復し、その後は他のガス処理区におけると同様に低下した。

3. 基質無添加ならびに添加の洗浄牛精子浮遊液の運動性: 観察結果は表 5 及び 6 に示した。Ar, He 及び N₂ ガス区の牛精子の運動性は 5 分後徐々に低下した。対照の air においても、やや緩慢ではあるが徐々に低下する傾向がみられた。しかし、これらのガス処理間の差は有意ではなかった。N₂-O₂ 区の牛精子の運動性は、N₂ 区に比べやや低下する傾向がみられたが、この差は

Table 5. Effect of inert gases on motility of washed bull spermatozoa ($n=3$)

Gas	Time (minutes)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Air	63	62	62	59	54	54	52	51	51	51
Ar	65	64	61	59	56	51	49	44	44	38
He	64	63	59	56	56	53	47	44	40	40
N ₂	65	64	62	60	60	54	51	45	44	40

Table 6. Effect of nitrogen gas on motility of washed bull spermatozoa under the presence of yellow phosphorus as oxygen absorbent ($n=3$)

Gas	Time (minutes)									
	1/4	1/2	3/4	1	1½	2	4	6	8	10
N ₂	63	63	63	63	63	63	63	63	59	59
N ₂ -O ₂ (flask)	67	67	67	67	67	67	64	57	54	52
N ₂ -O ₂ (bottle)	60	60	60	60	60	59	58	52	49	49
CO ₂	43	28	25	28	29	35	45	42	41	41

有意ではなかった。CO₂ ガス区において、前述と同様の現象がみとめられたが、洗浄牛精子の運動性においては原精液や希釈精液でみられたほどの回復はみられず、徐々に低下する傾向がみられた。

基質としてブドウ糖を添加した場合、基質無添加の場合とほぼ同様な結果が得られ、ガス処理間の差も有意ではなかった。

これらの結果から、Ar, He 及び N₂ ガスによる嫌気的条件下における牛精子の運動性は、ガスの種類による差はほとんどみられなかった。また、いずれのガスの場合も対照の air に比較して、精子の運動性の低下が早い傾向がみられたが、その差は有意ではなかった。しかし、ほとんど例外なく全実験例でみられたこの傾向は、酸素分圧の低下によるものか、あるいはその他の原因によるものかは明らかではない。酸素吸収剤を用いて嫌気度を高めた場合、牛精子の運動性はやや低下する傾向を示したが、この差は統計的に有意ではなかった。

不活性ガスによる嫌気的条件下における精子の運動性に関する報告^{6,12)}はほとんどみられない。VANDEMARK⁶⁾は牛精子の運動性に及ぼすガスの影響について詳細な研究を行い、CO₂ ガスによって抑制された牛精子の運動性が He 及び N₂ ガスによって完全に回復することを示した。本実験では、CO₂ ガス下において牛精子の運動性が低下し、その後回復する傾向がみられ、その回復率は原精液で最も高く、洗浄により低下することが示されたが、この現象は、彼らの観察結果によく一致してい

た。SHINDLER & NEVO²²⁾は、牛及び鶏精子の運動性を顕微鏡下で観察し、Ar ガスによる嫌気的条件下においては精子は不動化し通気によって運動が回復すること、嫌気条件下では解糖基質が利用できるときにのみ運動を維持しようと報告している。さらに、NEVO²¹⁾は、人精子は外因性呼吸と同様に著しい内因性呼吸を行うこと、O₂ が存在しないと不活化し通気により運動を回復すること、嫌気的には外因性基質の代謝により運動を維持しうると報告している。

本実験の結果から、Ar, He 及び N₂ ガスには、CO₂ ガスのように牛精子の運動を抑制する作用はないものと考えられる。従って、これらのガス下における運動性の低下は酸素分圧の低下によるものではないかと推測される。しかし、この observation cell では酸素分圧を測定することは不可能であるので、どの程度まで低下しているかは明らかではない。また、本実験において observation cell へ通気したガス量は、試料を入れた observation cell の気相の容積の約 20 倍であり、嫌気度はかなり高いと思われる⁶⁾が、絶対嫌気条件であると断言することはできない。

嫌気条件下では、精子は基質として糖が存在するときのみ運動性を維持することが知られているが、本実験では、基質としてブドウ糖を添加した場合、基質無添加の結果と同様の傾向を示した。これは、本実験における観察時間が短いため、著者らの報告²⁴⁾に示されるように、媒液中に残った溶存酸素を消費する時間に相当する

ため、嫌気的条件の著明な影響をうけるに至らないのではないかと考えられる。それゆえ、基質添加の影響が明確でないものと考えられる。NEVO ら²⁰⁾は、N₂ ガスによる嫌気条件下において、豚精子は解糖基質が存在しても前進運動を維持することができず、尾部の振動性の運動のみを示し、基質が存在しない場合には完全に不動化したと報告している。本実験で得られた結果との相違は、動物種のちがいによるものか、観察時間の長短によるものかは明らかでない。

不活性ガス及び N₂ ガスによる嫌気的条件下の牛精子の運動性において、洗浄処理の有無による差はみられなかった。この結果は、CO₂ ガス区における精子の運動性に対する洗浄処理の影響と比べて明らかな相違を示した。これは不活性ガス及び N₂ ガスが精子に及ぼす作用のメカニズムと CO₂ ガスの作用のメカニズムが相違することによるものと考えられる。

以上の結果から、不活性ガス及び N₂ ガスは精子の運動性に直接的な影響を及ぼさず、対照の air に比べ多少精子の生存性が低下するようにみえるのも、酸素分圧の低下によるものではないかと考えられる。しかし、観察時間が短かく、本実験の結果から明確な差はみとめられなかった。また、本実験において、N₂ ガスの牛精子に対する影響は、不活性ガスにおけると同様な傾向を示すことが明らかにされた。従って、これらの条件下においては、N₂ ガスは牛精子に対して化学的・生物的不活性であると推定される。

要 約

牛精液の液状保存において、窒素ガスが精子の生存性維持に有効であることが知られている。本実験では、化学的・生物活性を示さない不活性ガス（アルゴン、ヘリウム）が、牛精子の生存ならびに運動にいかなる影響を及ぼすかについて検討するとともに、特殊な条件下において化学的・生物活性を示す窒素ガスの影響との比較検討を行った。

1. 20%卵ク液による牛希釈精液の各種ガス（Ar, He, N₂ および CO₂）処理は、4°C 及び 15°C 保存における牛精子の生存性維持にわずかに有効であった。しかし、各ガス処理間に有意な差はみとめられなかった。

2. ガス通気の可能な観察器具を用いて、顕微鏡下で各種ガス（Ar, He, N₂, CO₂, N₂-O₂ 及び air）下における牛精子の運動性を観察した。牛原精液、希釈精液及び洗浄牛精子浮遊液の各種ガス下における精子の運動性は徐々に低下する傾向がみられた。Ar, He 及び N₂

ガス下の運動性は air より、また、N₂-O₂ 下の運動性は N₂ ガスより低下する傾向がみられたが、ガス処理間の差は有意ではなかった。

3. 牛精子の生存ならびに運動に及ぼす各種ガス（Ar, He 及び N₂）の影響は直接的なものではなく、精子浮遊液中の air がこれらのガスで置換され、酸素分圧が低下することによる間接的な影響であると推察される。また、本実験の結果から、N₂ ガスの牛精子に対する影響は、不活性ガスにおけると同様な傾向を示すことが明らかにされた。従って、これらの条件下においては、N₂ ガスは牛精子に対して化学的・生物的不活性であると推定される。

(1978, 8, 21 受付)

文 献

- 1) MANN, T.: *Biochem. J.* **39**, 458, 1945.
- 2) MACLEOD, J.: *Am. J. Physiol.* **138**, 512, 1943.
- 3) VAN DEMERK, N.L., G.W. SALISBURY & R.W. BRATTON: *J. Dairy Sci.* **32**, 353, 1949.
- 4) TOSIC, J. & A. WALTON: *Biochem. J.* **47**, 199, 1950.
- 5) SALISBURY, G.W. & N.L. VANDEMARK: *Nature* **180**, 989, 1957.
- 6) VAN DEMARK, N.L., K. KOYAMA & J.R. LODGE: *J. Dairy Sci.* **48**, 586, 1965.
- 7) SHETTLES, L.B.: *Anat. Rec.* **75** (Suppl.), 145, 1939.
- 8) SHETTLES, L.B.: *J. Physiol.* **128**, 408, 1940.
- 9) 赤堀(四): 酵素研究法, 朝倉書店, p. 556, 1955.
- 10) 吉川(春): ワールブルグ検圧計, 南江堂, p. 74, 1964.
- 11) LODGE, J.R.: *J. Dairy Sci.* **44**, 1181, 1961.
- 12) LODGE, J.R., C.N. GRAVES & G.W. SALISBURY: *J. Dairy Sci.* **51**, 96, 1968.
- 13) HARVEY, E.B.: *Biol. Bull.* **58**, 288, 1930.
- 14) PETERSON, P.: *Experientia* **14**, 223, 1958.
- 15) KIEWER, R.H. & F.B. WOLBERG: *J. Dairy Sci.* **42**, 931, 1959.
- 16) KIEWER, R.H. & F.B. WOLBERG: *J. Dairy Sci.* **45**, 533, 1962.
- 17) SHANNON, P.: *J. Dairy Sci.* **48**, 1357, 1965.
- 18) FOOTE, R.H.: *J. Dairy Sci.* **50**, 1338, 1967.
- 19) FOOTE, R.H.: *J. Dairy Sci.* **50**, 1468, 1967.
- 20) ROUSSEL, J.O., T.E. PATRICK & H.C. KELGREN: *J. Dairy Sci.* **45**, 527, 1962.
- 21) WHITE, I.G.: *Anim. Breed. Abstr.* **26**, 109, 1958.
- 22) SCHINDLER, H. & A.C. NEVO: *J. Reprod. Fert.* **4**, 251, 1962.
- 23) NEVO, A.C.: *J. Reprod. Fert.* **11**, 19, 1966.
- 24) 池上(順)・加藤(征)・入谷(明)・西川(義): 日畜

- 会報, 49, 印刷中
- 25) LODGE, J.R. & G.W. SALISBURY: *Nature* 195, 293, 1962.
- 26) NEVO, A.C., C. POLGE & G. FREDERICK: *J. Reprod. Fert.* 22, 109, 1970.

Summary

Experiments were performed to clarify the effects of anaerobic conditions with inert gases on viability and motility of bull spermatozoa. The influence of inert gases was also compared with that of nitrogen gas.

1. Either treatment with argon, helium, nitrogen or carbon dioxide gas was slightly effective on viability of bull spermatozoa when semen was preserved at 4°C and 15°C. But no significant differences were observed among treatments with various gases.

2. Motility of bull spermatozoa either in undiluted semen, diluted semen or washed sperm suspension rather rapidly decreased under various gases such as argon, helium, nitrogen, carbon dioxide and nitrogen with oxygen absorbent than under condition of air atmosphere. Decrease in motility of spermatozoa was greater under argon, helium and nitrogen gas than air, and motility of spermatozoa decreased more rapidly under nitrogen gas with oxygen absorbent than nitrogen gas. However, differences in motility observed among treatments with various gases were not significant statistically.

3. The results obtained from these experiments suggested that nitrogen gas was not effective chemically and biologically to bull spermatozoa under the conditions adopted at the present experiment, and that the effect of inert gases and nitrogen gas on viability and motility of spermatozoa may be derived from the reduction of oxygen tension in sperm suspension, but not directly from the gas itself.