桃園種精液の一般性状と凍結保存

金丸英伸・丹羽太左衛門・門司恭典・鈴木伸一*

東京農業大学, 世田谷区 156

* 東京農業大学厚木中央農場, 厚木市 243

(1988年4月5日 受付)

要 約 桃園種精液の有効利用を目的として, 精液の一般性状を調査するとともに, ストロー法および錠剤化法による凍結保存を行ない, 凍結保存処理過程における精子の生存性, 形態および代謝能について調査し, 改良種のそれと比較検討した。

1) 3頭の桃園種より採取した43例の射精所要時間は7分27秒, 1射精の精液量は 176.65 ± 5.54 ml, 液体部量は 121.70 ± 4.66 ml, 膠様物量は 54.05 ± 2.81 g, 精子濃度は 1.64 ± 0.17 億/ml, 1射精の総精子数は 217.1 ± 30.18 億, 精液のpHは 7.02 ± 0.04 , 採取時の精子生存指数は 80.70 ± 1.18 , 異常精子率は $32.82 \pm 3.00\%$ であった。

2) 凍結保存処理過程が進むに従い, 精子生存性は低下傾向を示し, 精子のアクロソーム損傷率およびGOT値は増加した。精子の酸素消費量と精液中の乳酸蓄積量は凍結融解後で最も高く, 次いで第1次希釈後, 凍結前の順であった。

3) 凍結融解後の精子生存指数はストロー法では 43.5 ± 1.67 , 錠剤化法では 51.25 ± 2.51 と錠剤化法がストロー法に比べ良好な値であったが, アクロソーム損傷率はストロー法が低い値で, GOT値および代謝能については有意差は認められなかった。

4) 桃園種精子の生存性および代謝能は改良種精子に比べ低い値を示したが, 人工授精を実施する上において十分な結果であるものと思われる。

緒 言

アジア在来豚の利用による豚の生産能力の向上に関する研究のために, 在来豚の中で純粋性が保持されている台湾の桃園種を導入した¹⁾。欧米系改良種との交雑試験を実施して繁殖性・産肉性などに及ぼす効果を検討するにあたり, まず桃園種の保有する遺伝的生理的特質を把握する目的で著者ら²⁻⁴⁾は一連の研究を行っている。

その一段階として桃園種精液の長期保存を目的とし, 精液の一般性状を調査するとともに, ストロー法および錠剤化法による凍結保存を試み, それらの凍結保存処理

過程における精子の生存性, 形態および代謝能について, 改良種のそれと比較検討した。

材料および方法

供試豚は1986年3月, 台湾省畜産試験所から導入し, 東京農業大学厚木中央農場で, 繁殖, 飼養管理中の桃園種3頭(12~15か月令)を用いた。1987年5月~同年10月までの6か月間, 週1回定期的に手圧法で精液を採取した。射精状態の観察については乗駕欲を強(卅), 中(+), 弱(+)に3区分し観察した。射精所要時間は擬牝台に乗駕した後, 射精の開始から終了までの時間とした。

精液の一般性状は, 通常的人工授精にて実施されている項目について常法に準じて検査した。

次に, 精子活力の良好な桃園種2頭の濃厚部精液を用い, PURSEL & JOHNSON⁵⁾, WESTENDORFら⁶⁾および丹羽ら⁷⁾の方法を参考に凍結した。すなわち採取後直ちに精液3:前処理液(Hulsenberg VIII)2の割合で混合し, 室温で約3時間放置した後遠心分離し, 上澄みを

Studies on the general properties and on the deep-freezing storage of Tauyen breed boar semen.

H. KANAMARU, T. NIWA, Y. MONJI and S. SUZUKI*

Tokyo University of Agriculture, Setagaya, Tokyo 156.

* Atsugi Central Farm, Tokyo University of Agriculture, Atsugi-shi 243.

表 1. 桃 園 種 の 精 液 量

	精 液 全 量 (ml)	液 体 部 量 (ml)	膠 様 物 量 (g)	全精液量に対する 膠様物量の割合(%)
No.1 (N=9)	188.42±13.89 (154.20~220.90)	123.22±12.34 (70.00~196.00)	65.20±4.44 (46.10~84.20)	35.37 (28.74~54.60)
No. 2 (N=17)	162.39± 7.67 (122.90~204.95)	119.00± 5.69 (88.00~166.00)	43.13±3.38 (32.00~77.70)	26.23 (18.32~37.78)
No. 3 (N=17)	184.71± 8.05 (164.60~245.50)	125.04± 8.04 (38.00~194.00)	59.17±4.42 (29.10~90.02)	32.68 (19.26~63.67)
平 均 (N=43)	176.50± 5.54 (104.60~245.50)	121.70± 4.66 (38.00~196.00)	54.05±2.81 (22.00~90.02)	30.60 (18.32~63.67)

注：() 内は範囲

除去した。第1次希釈はストロー法用希釈液（卵黄糖液）および錠剤化法用希釈液（BF-5）を用いて行った（精子濃度 1 ml 中 12 億）。その後、約 2 時間を要し 5℃ まで温度降下を行ない、第 2 次希釈を実施した（精子濃度 1 ml 中 6 億）。第 2 次希釈液にはストロー法用希釈液に 4%、錠剤化法用希釈液に 2% のグリセリンを含んでいるものを使用した。凍結はストロー法（0.5 ml）および錠剤化法（0.2 ml）でそれぞれ常法に従って実施した。融解はストロー法では、37℃ の温湯中で行ない、融解後 ITS-1[®] で再希釈（精子濃度 1 ml 中 1 億）した。錠剤化法では、50℃ の ITS-1 中に凍結精液を投入し融解した（精子濃度 1 ml 中 1 億）。

精液の凍結保存処理過程を 3 段階（第 1 次希釈後、凍結前、凍結融解後）に分け、各過程における精子の生存性、アクロソーム損傷率、代謝能力（酸素消費量、乳酸蓄積量）および精子細胞内酵素 Glutamic exaloacetic transaminase（以下 GOT）活性を測定した。

アクロソーム損傷率は、取り出した精液を 30 分間オルト液で固定後、緩衝ギムザ液で 2 時間染色し、×1000 の光学顕微鏡下で 400 の精子について観察した。アクロソーム形態は大沼⁹⁾の報告に基づいて分類した。

酸素消費量は Warburg 検圧法にて、15 分の前振りの後、30 分ごとにマノメーターの目盛りを読みとり、精子 1 億 1 時間当たりの酸素消費量を求めた。乳酸蓄積量は酸素消費量の測定の開始前および終了後において BARKER & SUMMERSON¹⁰⁾の方法により精液中の乳酸量を測定し、その前後の差をもって、精子 1 億 1 時間当たりの乳酸蓄積量を求めた。

GOT 活性は POP-TOOS 法（Transaminase C II-Test Wako）にて測定した。

改良種 3 頭（デュロック種、中ヨークシャー種およびランドレース種各 1 頭）の精液についても同様な方法で

凍結保存処理し、桃園種精液のそれと比較検討した。

結果および考察

1. 射精の状態ならびに精液の一般性状について

射精の状態については乗駕欲^卅を示すものが 88.38% と強い乗駕欲を示した。また、射精所要時間の範囲は 2 分 38 秒～11 分 03 秒、その平均は 7 分 27 秒で、3 頭中 1 頭の個体においてやや長い傾向が認められた。

精液量は、平均 176.50±5.54 ml でありその内、液体部量は 121.70±4.66 ml、膠様物は平均 54.05±2.81 g であった。また、精液全量に対する膠様物量の割合は、平均 30.60% であった（表 1）。

1 ml 中の精子数は平均 $1.64 \pm 0.17 \times 10^8$ で、1 射精の総精子数は平均 $217.11 \pm 30.18 \times 10^8$ であった（表 2）。精液は希薄乳白色～乳白色を示し、すべて無臭であった。また、精液の pH 値は平均 7.02 ± 0.04 であった。採取直後の精子生存指数は平均 80.70 ± 1.18 と良好であっ

表 2 桃園種精液の精子数

	1 ml 中の精子数 ($\times 10^8$ /ml)	1 射精の総精子数 ($\times 10^8$)
No. 1(N= 9)	0.33±0.03 ^a (0.19~0.43)	37.85±4.05 ^a (27.30~58.80)
No. 2(N=17)	2.32±0.25 ^b (1.00~4.70)	337.97±58.36 ^b (122.40~1080.80)
No. 3(N=17)	1.63±0.20 ^b (0.56±3.10)	190.14±25.24 ^b (84.00~421.00)
平 均 (N=43)	1.64±0.17 (0.19~4.17)	217.11±30.18 (27.30~1080.80)

注：1) () 内は範囲

2) 異なる肩文字を持つ平均値間には有意差がある (P<0.05)

表 3 凍結保存処理過程における精子生存性

	精 子 生 存 指 数					
	ス ト ロ ー 法			錠 剤 化 法		
	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後
桃 園 種	85.50 ^A	68.50 ^B	43.50 ^C	84.50 ^a	80.50 ^a	51.25 ^{b*}
(10)	±3.50	±3.50	±1.67	±2.17	±2.29	±2.51
改 良 種	87.33 ^A	73.33 ^B	55.00 ^{C**}	88.67 ^a	82.33 ^{a*}	57.67 ^b
(15)	±1.08	±3.33	±1.69	±0.91	±1.61	±1.88

注：1) () は供試例数 2) 測定値は平均値±標準誤差

3) 同一列内で異なる肩文字を持つ平均値間には有意差がある ($P<0.05$)

4) **($P<0.01$) は桃園種の測定値との間に有意差がある

5) *($P<0.05$) はストロー法の測定値との間に有意差がある

たが、異常精子率は平均 $32.82 \pm 3.00\%$ とかなり高い値であった。

桃園種精液の一般性状を丹羽¹¹⁾の改良種の報告と比較すると、精液量は少く、膠様物量の占める割合が高いように思われた。精子数は改良種に比べ少なく、精液の色も希薄乳白色を示すものが多く認められた。また、異常精子率は高く、その内訳においては頸部もしくは中片部に原形質滴付精子が多く認められた。その他の項目については改良種精液とほぼ同程度であると思われた。

2. 桃園種ならびに改良種精液の凍結保存について

1) 凍結保存処理過程における精子生存性について
ストロー法および錠剤化法により凍結した桃園種 2 頭 10 例、改良種 3 頭 15 例の凍結保存処理過程での精子生存性を調べた。その結果は表 3 に示す通りであった。

第 1 次希釈後における精子生存性は凍結方法の差異ならびに桃園種と改良種との間には著差は認められなかった。凍結前においても、同様に桃園種と改良種の間著差は認められなかったが、ストロー法に比べ錠剤化法が桃園種ならびに改良種ともに高く、その間に有意差 ($P<0.05$) が認められた。凍結融解後においては、ストロー法で改良種の精子生存性が高く、桃園種との間に有意差 ($P<0.01$) が認められた。また、桃園種および改良種ともストロー法より錠剤化法の精子生存性が良好であった。さらに凍結保存処理過程が進むにしたがって、いずれも精子生存性は低下傾向を示し、それぞれの凍結保存処理過程間で有意差 ($P<0.05$) が認められた。

丹羽¹²⁾は錠剤化法における凍結融解後の精子生存性は 55.6 であったとし、川倉¹³⁾はストロー法と錠剤化法を比較した結果、後者の方が高い精子生存性であったとしている。また、副島¹⁴⁾は凍結方法について検討した結果、ストロー法で 33.3、錠剤化法で 40.9 の精

子生存指数を示し明らかに後者が優れていたとしている。

アジア在来豚を用いた報告では、原山¹⁵⁾が梅山豚精液を錠剤化法で凍結し、融解後の前進精子率は 56% であったとしている。本実験では、桃園種ならびに改良種とも既往の諸報告と同程度、もしくはやや優れた結果が得られた。また、桃園種ならびに改良種ともに錠剤化法の精子生存性が高い値であり、副島¹⁴⁾、川倉¹³⁾の報告と同様であった。

第 2 次希釈液中に含まれているグリセリンは、精子の凍害保護物質として有効に働くことが知られており、その濃度については、豚で 1~2% が最適とされている。桃園種においてはグリセリンの濃度が低い錠剤化法で、高い精子生存性を示していることより、その濃度についてさらに詳細な検討が必要であると思われる。

次に各凍結保存処理過程における精液を 37℃ 温水中で 3 時間インキュベートし、30 分毎に精子の生存性について観察した。その結果は図 1 に示す通りであった。

凍結保存処理過程および凍結方法の違いにかかわらず、インキュベート時間が長くなるに従って、精子生存性は低下する傾向を示した。凍結前では、第 1 次希釈後、凍結融解後の低下傾向に比べてその割合が急激で、特に桃園種において顕著であった。凍結融解直後においては、錠剤化法がストロー法に比べ高い精子生存性を示していたが、180 分後では逆にストロー法が良好な値を示していた。これは桃園種および改良種においても同様な傾向を示した。

凍結前の桃園種において認められた精子生存性の急激な低下の要因として希釈液中に含まれる卵黄およびグリセリンの影響が考えられる。卵黄は 37℃ 下において精子の運動性を妨げる、しかしながら界面活性剤の一種である OEP (Orvus ES Paste) の存在下では比較的運

図 1 凍結保存処理過程における 37°C 保存中の精子生存性の経時的変化 (平均値 ± 標準誤差)

動阻害が緩和されることが認められている¹⁶⁾。また、グリセリンの含まれる希釈液は低温下において精子に好影響を与えるが、37°C 下でインキュベートすると逆に悪影響を及ぼすことが知られている^{17,18)}。本実験に用いた希釈液中には卵黄や OEP を含んでおり、さらに第 2 次希釈液中にはグリセリンが含まれている。従って、グリセリンの影響が大きかったものと推察される。

2) 凍結保存処理過程における精子アクロソーム形態について

凍結保存処理過程における精子アクロソーム損傷率とその内訳は図 2 に示す通りであった。

凍結保存処理過程が進むに従って、精子アクロソーム損傷率は桃園種、改良種いずれも凍結方法の違いにかかわらず増加傾向を示した。特に凍結融解後における損傷率は、第 1 次希釈後および凍結前に比べ著しく高く、これらの間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた。また、第 1 次希釈後、凍結前においては著差は認められなかった。しかしながら、凍結融解後において桃園種ならびに改良種ともに錠剤化法でアクロソーム損傷率が高く、ストロ

ー法との間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた。精子アクロソーム損傷の内訳は、第 1 次希釈後から凍結前にかけて膨化の占める割合が高くなるが、凍結融解後においては欠損、染色異常の占める割合が大であった。特にアクロソーム損傷率の高い錠剤化法においてその傾向は顕著であった。

凍結保存処理過程における精子アクロソームの損傷が増加することについては、各家畜について同様な傾向が認められているが^{19,20)}、特に凍結融解の温度衝撃が豚精子に与える影響が大きいと副島ら²¹⁾は報告している。

本実験において桃園種精子および改良種精子とも同様な傾向が認められた。しかしながら得られた結果より桃園種精子および改良種精子には凍結保存処理過程におけるアクロソームの損傷には著差はないものと推察された。

3) 凍結保存処理過程における精子代謝能について

精子の酸素消費量の測定結果は表 4 に示す通りであった。

各凍結保存処理過程において、ストロー法および錠剤

図 2 凍結保存処理過程における精子アクロソームの損傷率とその内訳

表 4 凍結保存処理過程における精子の酸素消費量

	酸 素 消 費 量 (μl/10 ⁸ 精子/時間)					
	ス ト ロ ー 法			錠 剤 化 法		
	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後
桃 園 種	6.51 ^A	2.62 ^B	8.58 ^C	6.72 ^a	2.30 ^b	9.44 ^c
(10)	±0.59	±0.34	±1.14	±0.54	±0.31	±1.14
改 良 種	8.39 ^A	4.25 ^{B**}	11.85 ^{c*}	9.16 ^{a**}	4.73 ^{b**}	12.74 ^{c*}
(15)	±0.75	±0.41	±0.95	±0.71	±0.62	±0.72

注：1) () は調査例数 2) 測定値は平均値±標準誤差
2) 同一列内で異なる肩文字を持つ平均値間には有意差 (P<0.05) がある (DMRT)
4) *(P<0.05), ***(P<0.01) は桃園種の測定値との間に有意差がある (t 検定)

化法ともに桃園種の酸素消費量は改良種に比べ低く、第1次希釈後では錠剤化法で5%水準、また、凍結前では凍結方法の差異にかかわらず1%水準、凍結融解後も5%水準で有意差が認められた。第1次希釈後から凍結前へと桃園種および改良種の酸素消費量は低下したが、凍結融解後においては高い酸素消費量を示し、各凍結保

存処理過程間で有意差 (P<0.05) が認められた。精液の保存にあたっては、精子のエネルギー代謝を抑制することが必要で通常精子を低温下で保存するが、精子は温度ショックや希釈ショックによりその代謝能が阻害され²²⁾、また、精液の凍結過程ならびに融解過程においても著しく影響を受ける¹⁸⁾。第1次希釈後において桃

園種の酸素消費量が低い値であったのは、この希釈ショックもしくは、呼吸能力の低さによるものと思われる。

凍結融解後において高い酸素消費量をめしたについて、O'SHEA ら²³⁾、橋爪ら²⁴⁾、門司²⁵⁾は錠剤化法で凍結を行ない、カフェイン含有の融解液で融解した結果、酸素消費量が増加することを報告している。本実験に使用した融解液中にも、精子の代謝を活性化させるカフェインが含まれていることにより、凍結融解後の酸素消費量は高い値を示したと思われる。

次に、精液中の乳酸蓄積量の測定結果は表 5 に示す通りであった。

凍結前および凍結融解後において、桃園種は改良種に比べ乳酸蓄積量が低く、凍結前のストロー法と凍結融解後の錠剤化法において有意差が認められた。第 1 次希釈後から凍結前へと乳酸蓄積量は低下したが、凍結融解後においては高い乳酸蓄積量を示し、各凍結保存処理過程間で有意差 ($P < 0.05$) が認められた。

長期保存のために精子を超低温下で保存するが、再び

37℃ の適温下に戻した場合、その代謝系に障害の起こることが認められている。特に凍結融解の操作による低下が、O'DELL & ALMQUIST²⁶⁾、瑞穂ら¹⁸⁾、橋爪ら²⁴⁾、門司²⁵⁾によって報告されている。本実験では第 1 次希釈後、凍結前と精子の解糖能は低下したが、凍結融解後においては、むしろ乳酸蓄積量は増加している。この点について橋爪ら²⁴⁾、門司²⁵⁾の精子浮遊液中にカフェインを添加すると精子の運動性が飛躍的に向上し、そのため解糖量が増加するという見解と一致した。

4) 凍結保存処理過程における精子細胞内酵素 GOT 活性について

凍結保存処理過程における精漿中の GOT 活性の測定結果は表 6 に示す通りであった。

第 1 次希釈後、凍結前および凍結融解後の各凍結保存処理過程において、桃園種の GOT の値は改良種に比べ低い値を示したが、凍結方法の差異において著差は認められなかった。また、凍結前を 100 とした場合に対する凍結融解後の GOT 値の増加割合は、桃園種のスト

表 5 凍結保存処理過程における精液中の乳酸蓄積量

	乳 酸 蓄 積 量 ($\mu\text{g}/10^8$ 精子/時間)					
	ス ト ロ ー 法			錠 剤 化 法		
	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後
桃 園 種	10.31 ^A	4.12 ^B	14.49 ^C	5.64 ^a	4.02 ^b	13.71 ^c
(10)	± 3.19	± 0.46	± 1.69	± 0.79	± 1.36	± 2.46
改 良 種	10.57 ^A	7.81 ^{B**}	19.55 ^C	10.98 ^{a**}	5.47 ^b	21.26 ^{c*}
(15)	± 1.32	± 1.03	± 2.62	± 1.84	± 1.24	± 2.01

注：1) () は調査例数 2) 測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差

3) 同一列内で異なる肩文字を持つ平均値間には有意差 ($P < 0.05$) がある (DMRT)

4) * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) は桃園種の測定値との間に有意差がある (t 検定)

表 6 凍結保存処理過程における GOT 活性

	GOT 活 性 (Karmen 単位)					
	ス ト ロ ー 法			錠 剤 化 法		
	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後	第 1 次希釈後	凍 結 前	凍結融解後
桃 園 種	8.91 ^A	17.43 ^B	61.45 ^C	9.96 ^a	19.76 ^b	71.46 ^c
(10)	± 0.56	± 2.52	± 7.53	± 0.74	± 2.93	± 10.41
改 良 種	9.14 ^A	28.89 ^{B**}	97.49 ^{C**}	21.99 ^{a**#}	31.65 ^{b*}	89.08 ^c
(15)	± 0.79	± 2.81	± 5.84	± 4.61	± 3.15	± 4.77

注：1) () は調査例数 2) 測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差

3) 同一列内で異なる肩文字を持つ平均値間には有意差 ($P < 0.05$) がある (DMRT)

4) * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) は桃園種の測定値との間に有意差がある (t 検定)

5) # ($P < 0.05$) はストロー法の測定値との間に有意差がある (t 検定)

ロー法で 356.26%, 錠剤化法で 361.64%, 改良種のストロー法で 337.45%, 錠剤化法で 281.45% であった。さらに凍結保存処理過程が進むに従って, いずれも GOT 値は増加した。特に凍結融解後において著しく高い値を示し, 他の凍結保存処理過程との間に有意差 ($P < 0.05$) が認められた。

GOT の精漿中への漏出は, 冷却, グリセリンの添加, 凍結および融解の影響により増加することが認められている^{27, 28, 29)}。本実験の結果も同様に GOT 値の増加が認められたが, 桃園種精子は改良種精子に比べ凍結融解の影響を受けやすいのではないかと推察された。

文 献

- 1) 丹羽太左衛門: 食肉に関する助成研究調査成果報告書, 4, 38-40, (財)伊藤記念財団, 東京, 1986.
- 2) 鈴木伸一・池田周平・丹羽太左衛門: 日豚会誌, 24, 260, 1987.
- 3) 丹羽太左衛門・鈴木伸一・池田周平: 日豚会誌, 24, 261, 1987.
- 4) 吉田 豊・田中一栄・丹羽太左衛門: 日豚会誌, 24, 261, 1987.
- 5) PURSEL, V.G., and JOHNSON, L.A.: J. Anim. Sci., 40, 99-102, 1975.
- 6) WESTENDORF, P., L. RICHTER and TREU, T.: Dtsch. Tierarztl. Wschr., 82, 261, 1975.
- 7) 丹羽太左衛門・伊藤和雄・呂 連心・橋爪 力: 岩手大農・人工授精研報, 1, 66-84, 1981.
- 8) 丹羽太左衛門・橋爪 力: 岩手大農・人工授精研報, 3, 9-15, 1981.
- 9) 大沼秀男: 畜試研報, 3, 105-119, 1963.
- 10) BARKER, S.B. and SUMMERSON, W.H.: J. Biol. Chem., 1, 535-554, 1941.
- 11) 丹羽太左衛門・榎田精一・西川義正・吉岡善三郎共著: 「最新家畜の人工授精」, 明文書房, 東京, 243-357, 1973.
- 12) 丹羽太左衛門・橋爪 力: 岩手大農・人工授精研報, 3, 16-23, 1981.
- 13) 川倉一彦・副島昭彦・榎田博司: 人工授精研誌, 6, 61-63, 1984.
- 14) 副島昭彦・榎田博司・和出 靖・松川善昌: 人工授精研誌, 5, 6-8, 1983.
- 15) 原山 洋・南条 巖・加藤征史朗・荻田 淳・得丸哲士: 繁殖技術研誌, 10, 10-14, 1988.
- 16) 加藤征史朗・池上順子・入谷 明: 凍結精液技術研報, (51), 81, 1977.
- 17) 瑞穂 当・丹羽太左衛門・副島昭彦: 農技研報 G, 19, 15-24, 1960.
- 18) 瑞穂 当・丹羽太左衛門・副島昭彦: 畜試研報, 1, 63-81, 1963.
- 19) HEALEY, P.: J. Reprod. Fert., 18, 21-27, 1969.
- 20) 佐々木捷彦・谷中 匡・井田京子・湊 芳明: 人工授精研誌, 6, 97-100, 1984.
- 21) 副島昭彦・川倉一彦・榎田博司: 人工授精研誌, 7, 42-45, 1985.
- 22) 瑞穂 当・丹羽太左衛門・副島昭彦: 畜試研報, 1, 99-108, 1963.
- 23) O'SHEA, T., DACHEUX, J.L., and PAQUIGNON, M.: J. Reprod. Fert., 55, 277-285, 1979.
- 24) 橋爪 力・大石満男・丹羽太左衛門・中城啓一・池田森男: 人工授精研誌, 5, 39-42, 1983.
- 25) 門司恭典: 東農大農学集報, 3, 213-234, 4, 278-295, 1988.
- 26) O'DELL, W.T., and ALMQUIST, J.O.: J. Dairy. Sci., 41, 1792-1799, 1958.
- 27) PURSEL, V.G., JOHNSON, L.A., and GERRITS, R.J.: Cryobiol., 7, 141-144, 1970.
- 28) BOWER, R.E., CRABO, B.G., PACE, M.M., and GRAHAM, E.F.: J. Anim. Sci., 36, 319-324, 1973.
- 29) 鈴木裕之・丹羽太左衛門: 岩手大農・人工授精研報, 1, 52-65, 1981.

STUDIES ON THE GENERAL PROPERTIES AND ON THE DEEP-FREEZING
STORAGE OF TAUYEN BREED BOAR SEMEN

Hidenobu KANAMARU, Tazaemon NIWA, Yasunori MONJI and Shin-ichi SUZUKI*

Tokyo University of Agriculture, Setagaya-ku, Tokyo, 156.

* Atsugi Central Farm, Tokyo University of Agriculture, Atsugi-shi, 243.

The present study was conducted for examining the general properties and deep-freezing storage of semen of imported Tauen boars, which is one of the representative native breeds of swine in Taiwan, in order to effectively utilize the semen of this breed. A sequence of studies was conducted in order to comparatively examine the viability, metabolic activity and morphology of sperms of breed during and after the deep-freezing storage process (by straw freezing method and pellet freezing method) of the semen of Tauen breed boars and that of improved breed boars.

1) General properties of the samples of ejaculated semen which were collected from 3 Tauen breed boars were studied. The mean duration of ejaculation was 7' 27" (with a range of 2' 38"-11' 03"). The liquid portion in the semen volume averaged 121.70 ± 4.66 ml. The quantity of gelatinous substance in the semen averaged 54.05 ± 2.81 g. The mean total semen volume was 176.65 ± 5.54 ml. The average sperm concentration per ml was $10^8 \times 1.64 \pm 0.17$, while the mean total number of sperm per ejaculate was $10^8 \times 217.11 \pm 30.18$. The mean pH value of semen was 7.02 ± 0.04 . The sperm viability index averaged 80.70 ± 1.18 , while the mean rate of morphological abnormalities of spermatozoa was $32.82 \pm 3.00\%$.

2) As the time advanced with the treatment steps for the freezing storage, the viability of sperm became lower, but the ratio of damages in the acrosome and the levels of GOT in seminal fluid became higher. The amount of oxygen consumption of sperm and the amount of lactic acid accumulated in semen were in the increasing order of pre-freezing < after the first dilution < after the thawing.

3) After the thawing, the viability of sperm index was 43.5 ± 1.67 by the straw method and 51.25 ± 2.51 by the pellet method, but the pellet method showed a higher ratio than the straw method in terms of the damages in the acrosome of sperm, and there were no appreciable differences in the amount of oxygen consumption of sperm and in the levels of GOT in seminal fluid.

4) As the time advanced with the treatment steps for the freezing storage, the viability and metabolic activity of the sperm of Tauen breed boars showed lower levels than those of the improved breed boars. However, the levels would give useful knowledges for the long-term storage of semen and for the techniques of artificial insemination of Tauen breed.

Jap. J. Swine Science 25, 3 : 153-160