

乳牛精液性状の季節的変動に関する研究

西山久吉・小川清彦・中西喜彦・小山田 巽

Seasonal Variation in Semen Quality of the Holstein Bull

Hisayoshi NISHIYAMA*, Kiyohiko OGAWA*,
Yoshihiko NAKANISHI* and
Tatsumi OYAMADA**

(* Laboratory of Animal Reproduction,
** Department of Agronomy)

緒 言

乳牛の受胎率または精液性状の季節的変動については多くの報告がなされているが、その結果は乳牛が飼養される環境によって異なり、一致した傾向を示していない。一般に、温度や日照の季節変化が少ない地方では、精液の質または受精率に顕著な変化は期待されない。しかし、寒冷地帯では冬や春に比較して夏秋の精液性状や受胎率がよく¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、暑さのひどい地帯では、反対に夏および秋に受胎率や精液性状が低下する傾向がある⁶⁾⁷⁾⁸⁾。夏秋における寒冷地帯での受精率、精液性状の上昇は日照時間の影響が大きく²⁾³⁾⁵⁾⁹⁾、光の促進的効果と推定され、暖地における夏秋の低下は暑熱の精巣に対する直接間接の有害効果によるものと考えられている⁸⁾¹⁰⁾。

わが国においては夏季の精液性状の低下が相当広範囲に現われているようであり、石井および岡本(1959)⁸⁾の熊本での研究でも精液性状は夏・秋におとることを報告し、岡本ら(1962)¹¹⁾は陰囊冷却によって精子の活力、異常精子率および生存力の低下はおおむね防除しえたこと述べている。

この報告では、本学農場に1967年4月まで繋養していたホルスタイン種雄牛エフ・ウォーカー・グローズ・ロベルの精液生産および精液性状について最近4年間の成績を取りまとめ、その季節的変動の有無について検討するとともに、これと対比するため鹿児島県人工授精所繋養の種雄牛2頭の若干の成績をつけ加えて報告する。

実験材料および方法

供試牛エフ・ウォーカー・グローズ・ロベルは昭和34年、生後15カ月の時、福岡県種畜場より購入し、生後18カ月より種雄牛として精液の採取を行ってきたが、本年4月新種雄牛の導入にともない廃用にした

(9才)。本実験の成績は昭和38年4月より昭和42年3月までの4年間の射出精液に関するものである。精液は擬牝台と人工腔を用い週2回採取し、採取までの乗駕回数、採取所要時間を記録するとともに採取後、射出精液について精液量、精液pH、精子運動力、MRT、精子濃度および奇形率を測定した。また、昭和40年には別に鹿児島県人工授精所の種雄牛2頭、ジェネラル・リリー・ローヤル(昭和35年5月16日生)およびサー・デコール・フォーブス(昭和37年7月22日生)の精液の供与をうけ、原精液を研究室に持参し、エフ・ウォーカー・グローズ・ロベルの場合と同じ項目について測定した。これら人工授精所の繋養牛は1週2回採取していたが、実験に供用したのは、そのうち1回だけであり、また測定した期間はジェネラル・リリー・ローヤルが昭和40年6月から昭和41年1月までの8カ月間、サー・デコール・フォーブスは昭和40年6月から同年11月までの6カ月間であった。

精液性状の測定方法は、次の通りである。

1. 精液量：0.1 ml 目盛付尖底試験管による直読、但し10 mlを超える時は、メスピペットによって測定。
2. pH：微量用電極を用い、ガラス電極pHメーター(東亜電波HF-5型)で測定。
3. 精子運動力：農研式精液性状検査板を使用し、スライド加温装置によって38°Cに加温測定した。運動力の表示はRice and Andrews(1951)¹²⁾の方法に従い、0～5の6段階に分けて記録した。
4. メチレンブルー還元時間(MRT)：Beck and Salisbury(1943)¹³⁾の方法によった。
5. 精子濃度：各射出精液につき、血球計算盤法、光電比色計を用いる方法および遠心沈澱による方法の3方法で測定した。

a. 血球計算盤による方法：赤血球用メランジュールを用い、3%食塩水で200倍に稀釈し、常法に従い血球計算盤によって1 mm³中の精子数を測定した。

b. 光電比色計を用いる方法：精液 0.2 ml に 3.6% クエン酸ソーダ液を 5 ml を加えて、よく混和し、 3.6% クエン酸ソーダ液をブランクとして、日立光電光度計（EPO-B 型）を用い $660\text{ m}\mu$ で透過率を測定し、あらかじめ作成した精子数と透過率の回帰直線によって精子数を求めた。

c. 遠心沈澱による方法：精液をスポイドで微量ヘマトクリット管（長さ 75 mm 、直径 1.8 mm ）の 1 側から 7 分目位注入し、他端をバーナーを用いて管の内底が水平になるように封入し、ヘマトクリット用遠心沈澱機（久保田 F T-9 S 型）を用いて 1 万回転で 15 分間遠心分離した。分離後直ちに、ヘマトクリット管を計測板上にのせ、 7.5 倍の双眼解剖顕微鏡下で精密に全精液に対する精子量の割合を測定し、あらかじめ作成した精子数と、精子量の割合との回帰直線によって精子数を求めた。

以上の 3 方法による精子濃度の測定結果は各精液とも、ほぼ同様の値を示した。しかし時には測定値に相当の差異が見出されることがあり、この場合には 3 方法について実験を反復し、その原因を確かめた。この場合、血球計算盤による測定値にあやまりが認められる場合が多かった。本実験で示した精子濃度は血球計算盤による測定値であるが、以上の様に透過率および遠心沈澱法を併用し、その正確さを確かめた値である。

6. 奇形率：常法に従って精液をスライドに塗抹し、塗抹後直ちに（塗抹精液が乾燥しないうちに）ホルマリンガスの充満したシャーレ内で $15\sim 30$ 分間固定し、翌日まで風乾放置する。これをカルボールフクシン液で染色し標本作製した。塗抹標本は各サンプル毎に 2 枚作成し各標本毎に 1000 個の精子中に含まれる奇形精子数を数え、その百分率の平均をもって奇形精子率とした。ホルマリン固定の状態は Fig. 1. の通りである。

上述の方法によって得られた結果は各測定項目毎に分散分析によって年間 および 季節間の有意性を検定し¹⁴⁾、また、時系列解析¹⁵⁾によって一般的傾向、季節的変動、偶然変動に分離考察した。

実験成績および考察

(1) 年令と造精能力および精液性状の関係

種雄牛の fertility index や繁殖率は 1 才雄や 2 才の種雄で最も高く、年令の増加とともに低下することが報告され¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、Dawson (1938)¹⁹⁾ は $5\sim 16$ 才の間の年令別 bull の繁殖率が同様に低下することを観察している。また、精巣の機能についても、性成熟に達

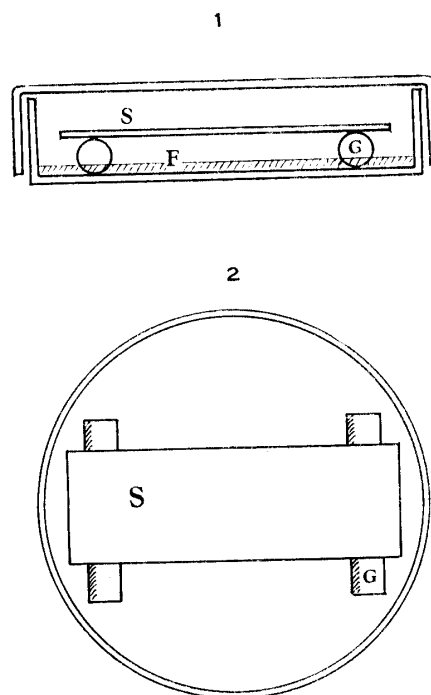


Fig. 1. Fixing method of spermatozoa

1. A side-view

2. A plane figure

S : Slide (The smear faced formalin)

F : Formalin

G : Glass rod

した後では多くの種雄牛で色々の程度の退化をおこすことが観察されている²⁰⁾²¹⁾。このような年令増加に伴う種雄牛の受精能力、造精能力の一般的低下に対し、New Zealand Dairy Board²²⁾ は 10 才までの年令と受精率の間には有意の関係がないことを報告している。

本実験のエフ・ウォーカー・グローズ・ロベルの 6～9 才にわたる 4 年間の精液性状の分散分析の結果では、Table 1. に示されているように、pH、精液量、MRT、精子濃度、および奇形率について年の間に有意の差が認められている。

これは年によって、これらの精液性状が異なることを示すものであって、年令に伴う一般的傾向を示すものではない。

12 カ月の移動平均によって示される一般的傾向 (Fig. 2. ～ Fig. 6.) からみると、各精液性状の測定値とも若干のうねりが認められるが、年次経過に伴う明らかな減少あるいは増加の傾向は認められない。すなわち、本牛の精液性状は 6～9 才の間では低下することなく、良好な造精能力を維持し得たものと判定される。

(2) 精液性状の季節的変動

分散分析の結果では (Table 1.), 精子濃度、総精

Table 1. Analysis of variance in semen characteristics.

Semen character	Source of Variance									
	Year			Season			Year \times Season			Error
	d.f.	MS	F	d.f.	MS	F	d.f.	MS	F	d.f. MS
pH	3	0.720	27.69**	3	0.497	19.12**	9	0.508	19.54**	350 0.026
Semen volume	3	12.26	4.85**	3	8.25	3.26*	9	4.18	1.65	365 2.53
Initial motility	3	0.42	2.10	3	0.22	1.10	9	0.58	2.85*	360 0.20
MRT	3	1189822	13.77**	3	150811	1.75	9	405945	4.70**	269 86420
Density of sperm	3	5991	4.82**	3	14119	11.36**	9	2798	2.25*	358 1243
Total sperm	3	3010	2.24	3	13685	10.19**	9	3556	2.65*	360 1343
Abnormal sperm	3	123.81	20.98**	3	141.25	23.94**	9	37.8	6.41**	353 5.90

* Significant at 5 % level

** Significant at 1 % level

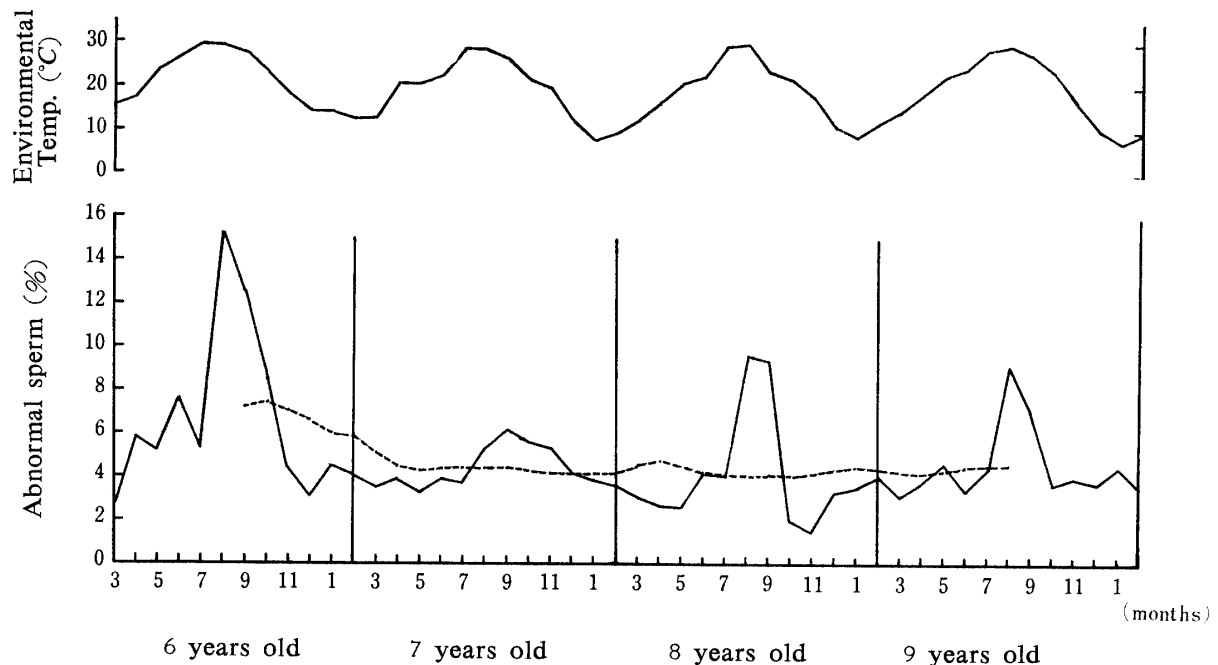


Fig. 2. The environmental temperature during the examination, and the monthly variations and 12 month moving averages in percentage of abnormal spermatozoa
 moving average

子数, 奇形精子率, pH, 精液量について季節間に有意の差が認められた。これらを時系列解析による季節変動と対比すれば (Fig. 7.) (Fig. 8.), 最も顕著な変動を示すものは奇形精子率であって8月, 9月に急増している。これに関連して, 造精機能の一つの指標と考えられる精子濃度および総精子数は9月および10月に低下し, 12月に最高の価を示していた。また, 精子の運動力は分散分析の結果では有意の差が認められなかったが, 時系列解析の結果では9月に低下しており, 運動力もまた9月に低下する傾向があるように考えられる。以上のような精液性状の変化と月別平均温度を対比して考察すれば, 気温は8月に最も高く, 夏季高温の影響が奇形精子の急増をまねき, 更に1~2

カ月遅れて造精機能にも悪影響を及ぼしたものと推定される。pHと精液量は7・8月と11月に低下する傾向が認められ, 精子濃度との逆の関係も推定されるがこれらの変動の意義は明らかでない。Erbら (1942)⁶⁾は乳牛の精液量, 精子濃度, 採取時精子運動力, 精子生存期間, 奇形精子率を測定し, 精液の性状は春に優れ夏悪くなることを報告しており, 石井・岡本 (1959)⁸⁾は精液量, 精子濃度, 奇形精子率, 採取時運動力, 精子生存日数, 総精子数の測定結果に基づいて精液性状の低下は夏季の高温の影響によると考えられるが, その影響はかなり遅れて現われると述べている。

本実験の結果は石井・岡本 (1959)⁸⁾の報告とほぼ同様の結果であると考えられ, 全般的にみて, 精液性

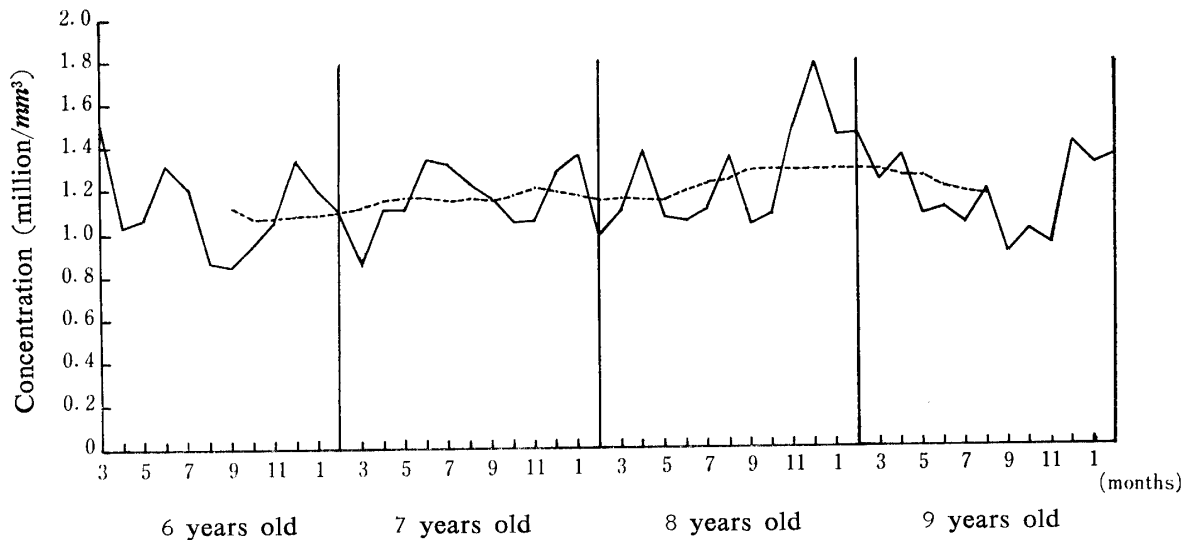


Fig. 3. Twelve month moving averages and the monthly variations in concentration of spermatozoa

..... moving average

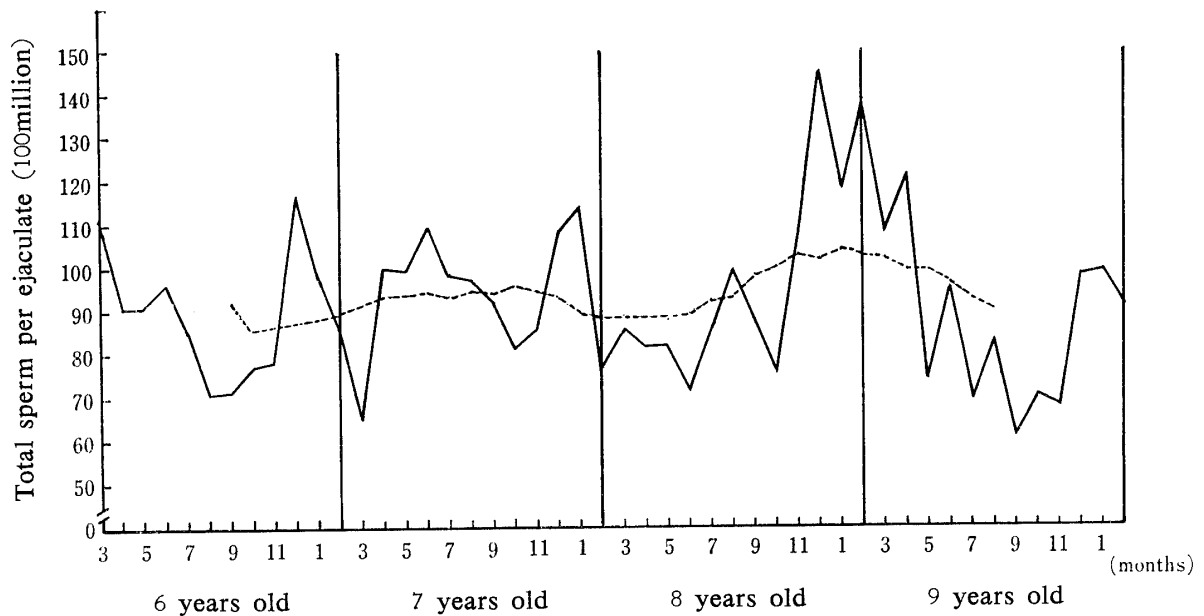


Fig. 4. Twelve month moving averages and the monthly variations in total spermatozoa

..... moving average

状は夏から秋にかけて低下し 12月に最高になるものと推定され、最も顕著な低下は奇形精子率の増加にみられるということができよう。

しかしながら、石井・岡本 (1959)⁸⁾ や Erb and Waldo (1952)⁴⁾ が指摘しているように、また、本実験の結果からみても年間に精液性状に大きな変異があり (Fig. 2. ~ Fig. 6, Table 1.) 1~2年の結果をもって、季節的変動を論ずることは危険であると考えられる。

(3) 気温と精液性状との間の相関

以上の様に夏季高温時に精液性状は低下するが、これは気温の影響が主要因と推定される。本実験では4年間にわたる気温と精液性状との相関係数の算定を行なったが、その成績は Table 2. のとおりである。これによると精子奇形率が、比較的高い相関値を示している。また、精子濃度および総精子数も1%水準で有意の負の相関が認められた。このように、精子奇形率が高い相関値を示すのは、高温上昇に伴ない、精子

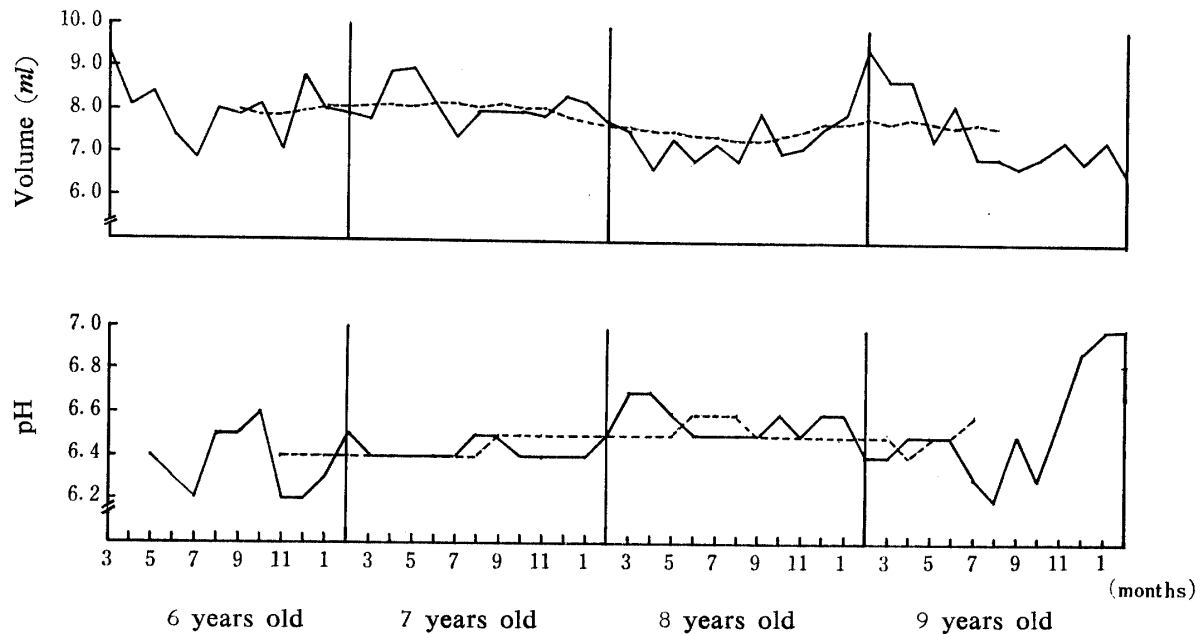


Fig. 5. Twelve month moving averages and the monthly variations in semen volume and pH

..... moving average

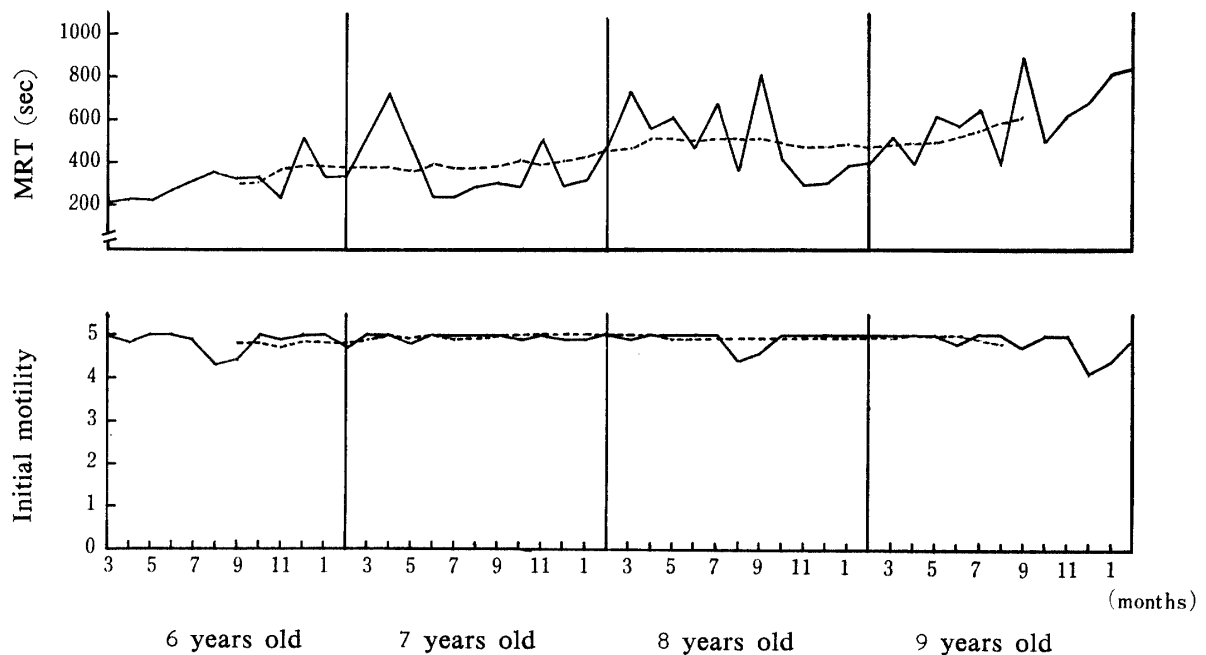


Fig. 6. Twelve month moving averages and the monthly variations in methylene blue reduction time and initial motility

..... moving average

が比較的早く、その影響をうけ、奇形率増加となって現われるためであり、一方、精子濃度および総精子数の値が低いのは、高温が精液性状に悪影響として現われるまでに若干の時間的経過を必要とする性格をもち、また精子奇形率ほど気温が強い影響をもたないためであると推定される。しかし、相関係数の面からみ

ても高温の影響は精液の質を低下するものといえるであろう。

(4) 人工授精所繫養牛の精液性状

人工授精所繫養牛2頭と昭和40年度の本学繫養牛の精液性状の変動を示したものが、(Fig. 9.) および (Fig. 10.) である。これによると各精液性状ともに

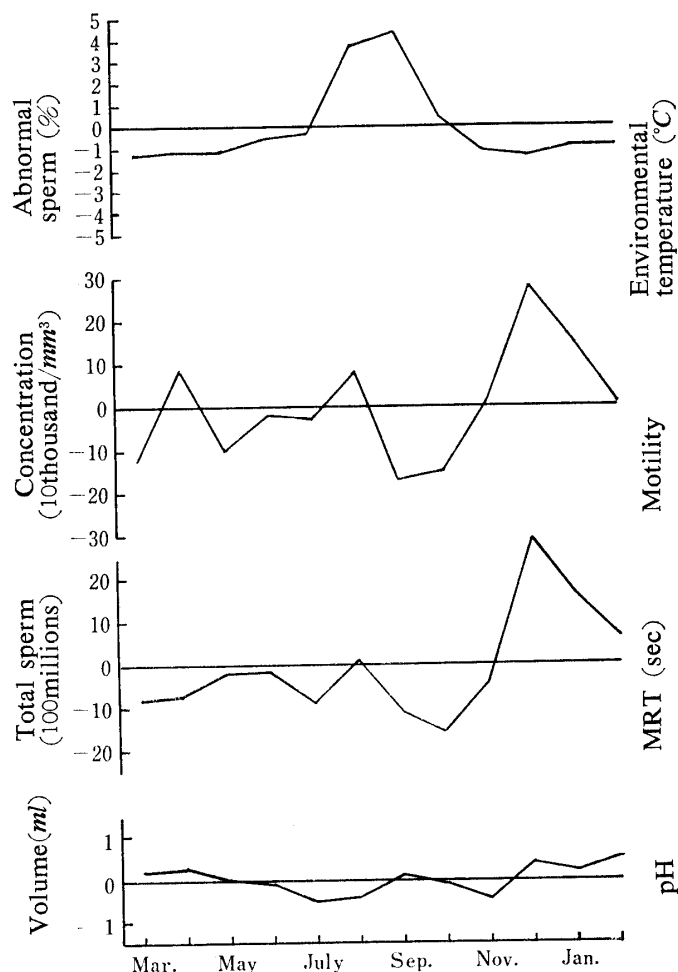


Fig. 7. Seasonal variation of semen characteristics by time series analysis

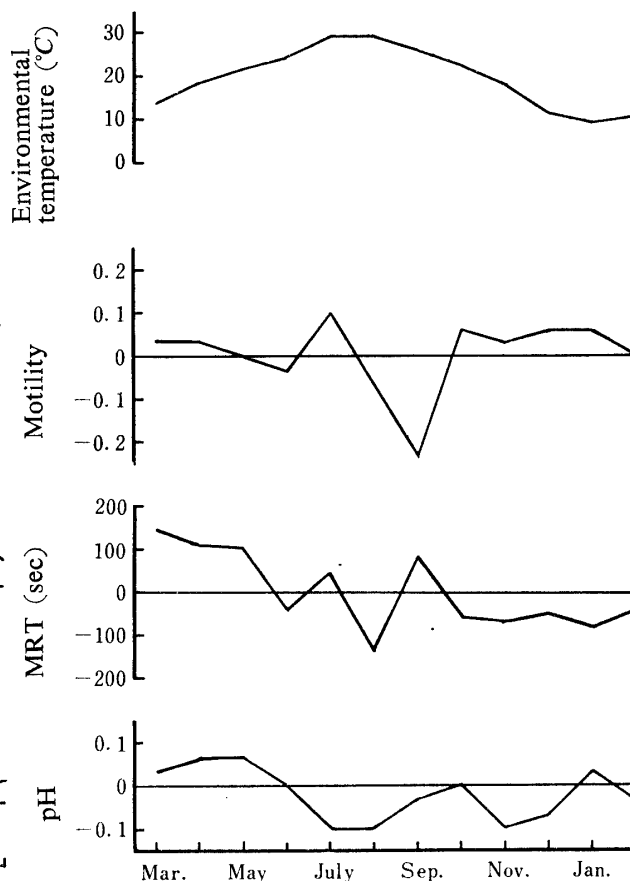


Fig. 8. Seasonal variation of semen characteristics by time series analysis

Table 2. Coefficients of correlation between the environmental temperature and semen characteristics and their means.

Measurements	No. of samples	Coefficients of correlation	Means
No. of mounting (Times)	375	-0.05	4.6
Volume of semen (ml)	375	-0.06	7.8
Concentration of spermatozoa ($\times 10^4/mm^3$)	372	-0.17**	117.9
Total number of spermatozoa ($\times 10^8$)	372	-0.17**	92.7
Initial motility (Score)	375	0.00	4.9
MRT (Sec.)	281	-0.05	474.0
Abnormal spermatozoa (Percent)	367	0.41**	5.0
pH	361	0.02	6.5

** Significant at 1% level

個体間の差が、きわめて大きいことが認められる。しかし、精子奇形率については、人工授精所繫養牛1頭が、かなりはっきりした夏季の増加傾向を示し、本学繫養牛と傾向を同じくしている。いずれにしても、精液の性状および温度に対する反応には、個体間に大きな違いがあることが推察される。

結 論

鹿大農学部繫養種雄牛、エフ・ウォーカー・グローズ・ロベルの6～9才にわたる4カ年の精液性状についてとりまとめ、次の様な結果を得た。また、同時に鹿児島県人工授精所繫養牛2頭の6～8カ月間の精液性状の検査結果もつけ加えた。

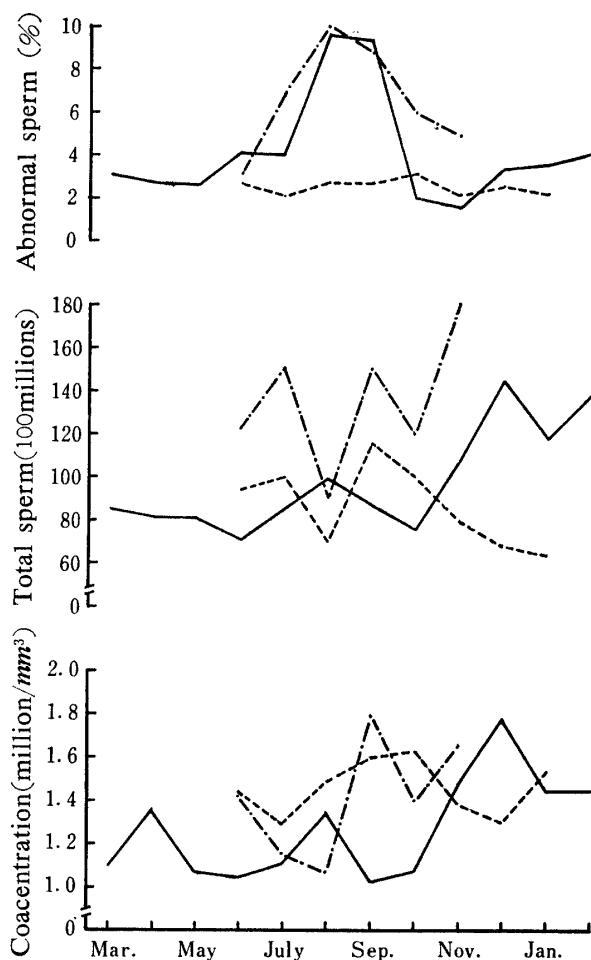


Fig. 9. Seasonal variation of semen characteristics (abnormal sperm, total sperm and concentration) of the bulls kept in the A. I. center and the university.
 — A. I. Bull in the University
 ---- A. I. Bull in the A. I. center (G)
 ---- " (S)

(1) 6～9才にわたる精液性状についてみると、年による変異が認められるが、年次経過に伴う精液性状の低下は認められなかった。すなわち、本牛は6～9才の間良好な造精能力を維持していた。

(2) 精液量、精子濃度、全精子数、奇形精子率、pH において季節間に有意の差が認められた。

(3) 月間の最も明らかな変化は奇形精子率にみられ、8月、9月に著しく増加した。精子濃度、全精子数は9月、10月に低下し、12月に最高の値を示し、精子運動力も9月に低下する傾向が認められた。

(4) 最も精液性状に関連があると推定される気温について、各種精液性状との相関を求めてみた結果、奇形精子率 (+0.41)、精子濃度 (-0.17) および総精子数 (-0.17) との間に有意の相関が認められた。

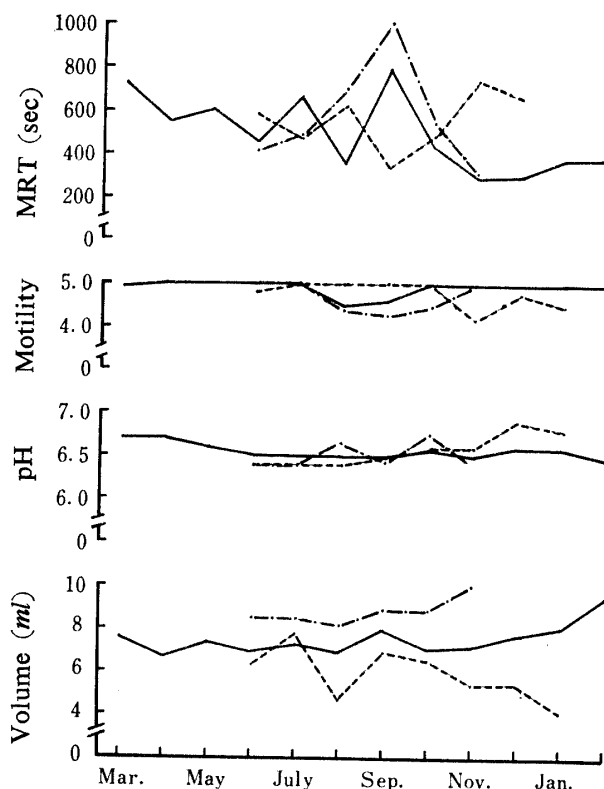


Fig. 10. Seasonal variation of semen characteristics (MRT, motility, pH and Volume) of the bulls kept in the A. I. center and the University.

— A. I. Bull in the University
 ---- A. I. Bull in the A. I. center (G)
 ---- " (S)

これら一連のデータから、精液の質は晩夏または秋に悪く、12月にすぐれており、また、夏季の高温は1～2カ月遅れて、精液性状に有害効果をあらわすものと考えられる。

(5) 人工授精所繋養牛の附加的観察によって、個体間に大きな差があることが認められた。

実験を行なうに当たり、鹿児島県乳牛人工授精所繋養牛2頭の精液は無償供与をうけた。ここに厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) AMANN, R. P., J. O. ALMQUIST and J. J. Jr. LAMBIASE : *J. Animal Sci.*, **25**, 916～917 (1966)
- 2) MERCIER, E. and G. W. SALISBURY : *J. Dairy Sci.*, **30**, 747～756 (1947)
- 3) MERCIER, E. and G. W. SALISBURY : *Ibid.*, **30**, 817～826 (1947)
- 4) ERB, R. E. and D. R. WALDO : *Ibid.*, **35**, 245～249 (1952)
- 5) MERCIER, E. : *Vet Bulletin (Weybridge)*, **18**,

- 438 (1948)
- 6) ERB, R. E., F. N. ANDREWS and J. H. HILTON : *Ibid.*, **25**, 815~826 (1942)
 - 7) ERB, R. E., J. W. WILBUR and J. H. HILTON : *Ibid.*, **23**, 549 (abst) (1940)
 - 8) 石井尚一・岡本昌三 : 九農試彙報, **5**(3), 229~237 (1953)
 - 9) SCHMIDT, K. : *Mh. Vet Med.*, **9**, 349~353 (ABA, **23**, 387) (1954)
 - 10) CASADY, R. B., R. M. MYERS and J. E. LEGATES : *J. Dairy Sci.*, **36**, 14~23 (1953)
 - 11) 岡本昌三・石井尚一・向井彰夫 : 九農試彙報, **7**(3), 409~417 (1962)
 - 12) RICE, V. A. and F. N. ANDREWS : *Breeding and Improvement of Farm Animals* (Fourth Edition), 270 (1951)
 - 13) BECK, G. H. and G. W. SALISBURY : *J. Dairy Sci.*, **26**, 483~494 (1943)
 - 14) SNEDECOR : *Statistical Method*, The Iowa State College Press, Iowa (1956)
 - 15) 浅井晃・村上正康 : ホーエル初等統計学, 培風館, 198~229 (1965)
 - 16) TANABE, T. and G. W. SALISBURY : *J. Dairy Sci.*, **29**, 337~344 (1946)
 - 17) BOWLING, G. A., D. N. PUTNUM and R. H. ROSS : *J. Dairy Sci.*, **23**, 1171~1176 (1940)
 - 18) HILDER, R. A., M. H. FOHRMAN and R. R. GRAVES : *Ibid.*, **27**, 981~992 (1944)
 - 19) DAWSON, J. R. : *Ibid.*, **21**, 725~737 (1938)
 - 20) HOOKER, C. W. : *Am. J. Anat.*, **74**, 1 (1944) (*J. Dairy Sci.*, **40**, 1559より)
 - 21) WILLETT, E. L. and J. I. OHMS : *J. Dairy Sci.*, **40**, 1559~1569 (1957)
 - 22) New Zealand Dairy Board : *Annual Report*, **17**, 54~66 (1941) [文献16) より引用]

Summary

The semen characteristics of a dairy bull from 6 to 9 years old were studied.

Semen was collected with artificial vagina twice a week, and semen volume, initial motility, spermatozoal concentration, total number of spermatozoa, pH, percentage of abnormal spermatozoa and methylen-blue-reduction-time (MRT) were determined, respectively.

The results obtained are as follows ;

1) Although yearly variation was revealed in the semen characteristics, the semen quality remained at a high level throughout the experimental term, or the period of 4 years from 6 to 9 years old of this bull.

2) Significant seasonal differences were detected by the analysis of variance in the following items, pH, semen volume, MRT, spermatozoal concentration and percentage of abnormal spermatozoa.

3) Apparent change between months was distinctly observable in the percentage of abnormal spermatozoa, which increased markedly in August and September.

The spermatozoal concentration and total number of spermatozoa decreased in September and November, reaching maximum value in December.

The initial motility had a tendency to decrease in September.

4) The coefficients of correlation between the environmental temperatures and semen characteristics were calculated. Among them, the correlation of percentage of abnormal spermatozoa (0.41), spermatozoal concentration (-0.17) and total number of spermatozoa (-0.17) were significant at 1% level.

From these data it may be concluded that the quality of semen was inferior in late summer or autumn and superior in winter, and that it was one or two months later that the high temperature effects during the summer season were brought forth adversely on semen characteristics.

5) An existence of not a small individual difference was noted through the additional observation of the dairy bull belonging to the artificial breeding stud.