

子宮深部カテーテルを用いた豚液状精液の人工授精における カフェイン添加による注入精子数低減効果について

増本憲考*・山口昇一郎¹⁾・笠正二郎・吉岡耕治²⁾・永井 卓³⁾

当試験場では凍結精液の融解液に10mMのカフェインを添加して注入することで子宮内に出現する白血球数を減少させ、生存精子を増加させることを報告した。そこで、本研究ではこの技術を改良して、液状精液における人工授精の注入精子数を繁殖成績に影響なく低減可能であるかについて、実際の養豚現場において検証した。

自家採精の精子活力80+++、正常精子率80%以上の精液では、注入器に子宮深部カテーテルを使用し、精液へカフェインを10mM添加することで、受胎率、分娩率および総産子数に影響することなく注入精子数を30億から7.5億まで低減でき、自家採精による人工授精で負担が大きい採精作業の回数の低減が期待できた。

また、購入液状精液を用いる場合は、注入器に子宮深部カテーテルを使用し、精液へカフェインを10mM添加することで、受胎率、分娩率および総産子数を低下させずに1ドースの精液を1/2分割して母豚2頭へ利用可能であることが示唆され、大規模養豚場における精液購入コストの節減が期待できた。

[キーワード：豚液状精液、人工授精、子宮深部カテーテル、カフェイン]

Effect of caffeine to reduce the number of sperm to be injected in the artificial insemination of boar semen using an intrauterine infusion catheter. MASUMOTO Noritaka, Shoichiro YAMAGUCHI, Shojiro KASA, Koji YOSHIOKA and Takashi NAGAI (Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 33: 29-33 (2014)

We have reported that artificial insemination with frozen-thawed swine semen supplemented with 10mM caffeine increased the number of uterine sperm by inhibiting migration of leukocytes into the uterine lumen. Therefore, in this study, by applying this technology, it was verified in the pig farm whether to reduce the number of sperm to be injected in the artificial insemination of boar semen without loss of reproductive performance.

The addition of caffeine 10mM semen of sperm morphologically normal motility of at least 80%, were inseminated using intrauterine infusion catheter. As a result, without lowering the average litter size and farrowing rate and pregnancy rate, could be reduced to 750 million from 3 billion more than the normal number of sperm to be injected. Since it allows for artificial insemination to more many sows by diluting to low concentrations further the semen that is collected from a boar, this was expected to reduce the working times of pig farmers to collect semen.

In addition, by using the same techniques, even if artificial insemination in sows by being divided into two one dose purchase semen, litter size and farrowing rate and pregnancy rate did not decrease. This result suggests the possibility of halving the cost of buying the semen for large-scale pig farms.

[Key words : boar semen, artificial insemination, intrauterine infusion catheter, caffeine]

緒言

養豚経営にとって人工授精（以後 AI）は、種雄豚飼養頭数の低減による導入・維持経費の節減、資質の高い血統の精液を利用することによる遺伝的改良促進が期待できるなどメリットが大きい。しかし、自家採精の場合、採精作業は興奮した雄との接触や採精時の精液への細菌混入防止などかなりの注意を要し、負担の大きい作業であるため、採精回数の低減が求められている。また、購入精液を用いる場合、使用精液量を減らすことは、飼料価格高騰が続いている近年の状況から、更なる経費節減となるため、検討する意義は大きい。

現行の AI の手法では、1 回の注入精子数は 30～50 億が一般的である。この注入精子数を低減すれば、1 頭の種雄豚で交配可能な母豚数が増え、採精回数の低減や購入精液の購入量の節減が期待できる。

当試験場では、凍結精液を 10mM のカフェイン（以後 CF）を添加した保存用希釈液（モデナ液）で融解・希釈した後に AI を実施すると、CF を添加しなかった区と比べ子宮内の白血球数が減少し、精子への貪食作用が抑制されることを見出し、受胎率が向上する傾向にあること（Yamaguchi ら 2013）を明らかにした。一方、精液注入に

子宮深部カテーテルを用いると、液状精液では通常 30 億の注入数を 10 億程度まで低減することが可能であるとの報告（Watson・Behan 2002）がある。

そこで、本研究では上記の技術を応用し、繁殖成績を低下させずに、液状精液 AI の注入精子数を低減できるか生産現場における実証試験で検討した。

材料および方法

1 試験 1（自家採精精液を用いた試験）

（1）試験期間 交配期間：2009 年 10 月～2012 年 3 月

（2）供試母豚 肥育一貫経営の中規模養豚場（繁殖母豚 120 頭）で繁養する交雑種（ランドレース種×大ヨークシャー種または大ヨークシャー種×ランドレース種）の経産豚とした。

（3）供試精液 福岡県農業総合試験場で繁養するデュロック種の雄 1 頭から手掌圧迫法により採取した精液を、モデナ液（152.6mM グルコース、26.7mM クエン酸ナトリウム、11.9mM 重炭酸ナトリウム、15.1mM クエン酸、6.3mM EDTA-2Na、46.6mM トリスアミノメタン、200mg/L アミカマイシン）で 2 倍希釈した。希釈精液は

*連絡責任者（家畜部：masumoto-n1759@pref.fukuoka.lg.jp）

受付 2013 年 8 月 1 日；受理 2013 年 11 月 18 日

1) 現 福岡県農林水産部畜産課

2) 現 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

3) 前 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所

顕微鏡検査で活力 85+++ 以上、正常精子率 80%以上であることを確認後、トーマの血球計算板を用いて精子数を算出し、再度モデナ液で 0.3 億/mL まで希釈調製して精液ボトルに 100mL (精子数 30 億) ずつ分注した。

(4) AI の手法 離乳後 4~5 日目に発情が確認できた経産母豚へ、発情確認日の午後、翌日の午前と午後の 3 回 AI を実施した。注入器はプラスチック内管式の子宮深部カテーテル (商品名: ユニックカテーテル LANDATA 社製 (フランス)) を使用した。

(5) 試験区分 1 回の AI 時に精子数 30 億に調製した精液 100mL のみを注入する区を慣行区、注入精子数を 15 億に減数して CF 添加の有無で 2 区 (15 億・CF 添加区、15 億・CF 無添加区)、さらに注入精子数を 7.5 億に減数して CF 添加の有無で 2 区 (7.5 億・CF 添加区、7.5 億・CF 無添加区) を設定して比較した。

なお、CF の添加は注入精子数を減数した精液 50mL を注入する直前に 20mM の CF を添加したモデナ液 50mL を前注入剤として注入する手法をとり、総注入液量 100mL に対して 10mM の CF 濃度とした。CF 無添加区の場合は前注入剤に CF を添加していないモデナ液 50mL を用いた。

各区の供試頭数は慣行区 40 頭、15 億・CF 添加区 53 頭、15 億・CF 無添加区 55 頭、7.5 億・CF 添加区 21 頭、7.5 億・CF 無添加区 22 頭とした。

(6) 調査項目 受胎率、分娩率、総産子数に加え一般的に大ヨークシャー種とランドレース種の交雑種母豚では 1 腹あたり 10 頭以上の産子が望まれるため、総産子 10 頭未満の発生率を調査した。なお、受胎確認はノンリターン法で行った。

2 試験 2 (購入液状精液を用いた試験)

(1) 試験期間

交配期間: 2012 年 10 月~2012 年 11 月の 7 週間

分娩時期: 2013 年 2 月~2013 年 3 月

(2) 供試母豚 肥育一貫経営の大規模養豚場 (繁殖母豚 900 頭) で繁養する交雑種 (ランドレース種×大ヨークシャー種) の経産豚とした。

(3) 供試精液 一般流通しているデュロック種の液状精液を用いた。購入液状精液の規格は精液 1 ドースあたり液量 80mL、精子数 30 億以上で、保存液の成分については非公開であった。この精液は週毎に数頭の種雄豚から採取されたものが送られてきた。

(4) AI の手法 精液の注入は離乳後 4 日目に発情発現した母豚へ、発情当日と翌日の午前、午後の計 3 回 AI を実施した。注入器はゴム薄膜式の子宮深部カテーテル (商品名: アブソリュートカテーテル アブソリュート社製 (アメリカ)) を使用した。

(5) 試験区分 1 回の AI 時に精液 1 ドース (80mL :

精子数 30 億以上) 注入する区を慣行区、注入ボトルに 1/2 ドース (40mL : 精子数 15 億以上) の精液を分注し、AI 直前に CF を 20mM 添加したモデナ液 40mL と混合して注入した区を 1/2 節減区、注入ボトルに 1/4 ドース (20mL : 精子数 7.5 億以上) の精液を分注し、AI 直前に CF を 13.3mM 添加したモデナ液 60mL と混合して注入した区を 3/4 節減区とした。CF 添加濃度は子宮内への注入液量 80mL に対して 10mM となるよう調製した。

各区の供試頭数は慣行区 35 頭 (5 頭×7 週)、1/2 節減区 42 頭 (6 頭×7 週)、3/4 節減区 27 頭 (4 頭×7 週、うち 1 頭は途中で斃死) とし、1/2 節減区では 1 度の AI で 3 ドースの精液をそれぞれ 2 分割して母豚 6 頭に供試し、3/4 節減区では 1 ドースの精液を 4 分割して母豚 4 頭に供試した。

(6) 調査項目 受胎率、分娩率、総産子数および総産子数 10 頭未満率で比較した。受胎確認は AI から 30 日前後に超音波妊娠鑑定器を用いて行った。

また、毎週異なる精液ロットの影響を確認するため、交配期間中の各週の成績についても比較検討した。

3 購入精液利用時の CF 添加処理に係るコスト検証

購入液状精液における CF 添加処理によるコスト低減効果を明らかにするため、慣行手法と CF 添加により精子数を低減した新しい AI 手法のコストを比較・検討した。各試薬・資材のコストは CF とモデナ液用試薬では和光純薬工業株式会社の 2012 年カタログの価格を参照し、精液や注入カテーテルおよびモデナ液のボトルは実際に購入した価格を用いて算出した。

4 統計処理

受胎率、分娩率、総産子 10 頭未満の発生率は χ^2 検定を行った。総産子数は平均値±標準誤差で示し、Dunnett 法による多重比較を行って、慣行区と精子を減数した各処理区の差を検定した。

結果

1 試験 1 (自家採精精液を用いた試験)

第 1 表に各繁殖成績を示した。精子性状に問題のない精液を用いた場合、注入精子数を減数した各処理区と慣行区間で、受胎率および分娩率に有意差は認められなかった。

しかし、注入精子数を減数した場合、CF 添加区は無添加区に比べ、受胎率は注入精子数 15 億で 5.3 ポイント、7.5 億で 13.2 ポイント高く、分娩率では注入精子数 15 億で 7.0 ポイント、7.5 億で 13.2 ポイント高かった。そこで要因分析を行ったところ、前注入剤への CF 添加で分娩率が向上する傾向 ($p<0.1$) があった。

総産子数においては慣行区の 13.0 ± 1.04 頭に対し、注入精子数を減数した場合、CF 無添加の 15 億・CF 無添加区では 11.7 ± 0.52 頭と少ない値を示し、7.5 億・CF 無添加区では 10.5 ± 1.04 頭と有意に減少した ($p<0.05$)。一方、CF を添加した 15 億・CF 添加区では 12.4 ± 0.49 頭、7.5 億・CF 添加区では 12.5 ± 0.65 頭であり、慣行区とほぼ変わらなかった。

第1表 液状精液における注入精子数とカフェイン (CF) 添加が繁殖成績に及ぼす影響

試験区分	前注入液の種類 (最終CF濃度)	受胎率	分娩率	総産子数 ²⁾ (最少-最大)	総産子数 ³⁾ 10頭未満率
7.5億・CF添加区	20mMCF添加 Ca^{2+} 液 (10mM)	95.2% (20/21) ¹⁾	90.5% (19/21)	12.5±0.65 (6-17)	10.5% a (2/19)
15億・CF添加区	20mMCF添加 Ca^{2+} 液 (10mM)	96.2% (51/53)	94.3% (50/53)	12.4±0.49 (3-20)	16.0% a (8/50)
7.5億・CF無添加区	モデナ液	82.0% (18/22)	77.3% (17/22)	10.5±1.04 * ⁴⁾ (3-18)	41.2% b ⁵⁾ (7/17)
15億・CF無添加区	モデナ液	90.9% (50/55)	87.3% (48/55)	11.7±0.52 (4-20)	25.0% ab (12/48)
慣行区 (30億)	—	87.5% (35/40)	80% (32/40)	13.0±1.04 (7-19)	12.5% a (4/32)
要因分析 ⁶⁾	精子数:A	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
	前注入液:B	n. s.	†	†	†
	A×B	n. s.	n. s.	—	n. s.

- 1) 受胎率, 分娩率, 総産子数数10頭未満率の下段括弧書きは (受胎頭数/供試頭数), (分娩頭数/供試頭数), (10頭未満の母豚数/供試頭数) を示す
- 2) 総産子数は平均値±標準誤差で示し, 下段括弧書きは最少と最大の産子数を示す
- 3) 総産子数10頭未満率は分娩した母豚のうち総産子数10頭未満の母豚が発生した率
- 4) *: 慣行区に対して $P < 0.05$ (Dunnett法)
- 5) 異なる英文字間で $P < 0.1$ (χ^2 検定)
- 6) 要因分析は各処理の有意性について, 受胎率, 分娩率, 総産子数10頭未満率は χ^2 検定, 総産子数は1元配置分散分析により, n. s. は有意差なし, †は $P < 0.1$, —は統計未処理を示す

第2表 購入液状精液の希釈利用とカフェイン添加が繁殖成績に及ぼす影響

注入精子数	CF添加濃度 (最終CF濃度)	供試頭数 (頭)	受胎率	分娩率	総産子数 ²⁾ (最少-最大)	総産子数 ³⁾ 10頭未満率
3/4節減区	13.3mM (10mM)	27	92.6% (25/27) ¹⁾	92.6% (25/27)	10.2±0.65 * ⁵⁾ (4-17)	36.0% (9/25)
1/2節減区	20mM (10mM)	42	97.6% (41/42)	95.2% (40/42)	11.8±0.43 (5-16)	27.5% (11/40)
慣行区	—	35	100.0% (35/35)	97.1% (34/35)	12.3±0.52 (6-19)	17.6% (6/34)

- 1) 受胎率, 分娩率, 総産子数数10頭未満率の下段括弧書きは (受胎頭数/供試頭数), (分娩頭数/供試頭数), (10頭未満の母豚数/供試頭数) を示す
- 2) 総産子数は平均値±標準誤差で示し, 下段括弧書きは最少と最大の産子数を示す
- 3) 総産子数10頭未満率は分娩した母豚のうち総産子数10頭未満の母豚が発生した率
- 4) *: 慣行区に対して $P < 0.05$ (Dunnett法)

総産子数 10 頭未満率についても, 慣行区の 12.5% に対し, 注入精子数を減数して CF を添加しなかった場合, 15 億・CF 無添加区 25.0%, 7.5 億・CF 無添加区 41.2% と成績が低下する傾向にあった ($p < 0.1$)。しかし, CF を添加した区では 15 億・CF 添加区 16.0%, 7.5 億・CF 添加区 10.5% と慣行区と同程度の成績であった。

2 試験 2 (購入液状精液を用いた試験)

第 2 表に各繁殖成績を示した。受胎率および分娩率においては, 慣行区 (受胎率 100%, 分娩率 97.1%) と比較して, 注入精子数 1/2 節減区 (受胎率 97.6%, 分娩率 95.2%) または 3/4 節減区 (受胎率 92.6%, 分娩率 92.6%) で有意差は認められなかった。

総産子数においては, 慣行区 (12.3 頭) に対し, 1/2 節減区 (11.8 頭) で有意差はなかったが, 3/4 節減区 (10.2 頭) において有意に減少した ($p < 0.05$)。

また, 総産子数 10 頭未満率においては慣行区 17.6% に対し, 1/2 節減区 27.5%, 3/4 節減区 36% と有意差はないが, 高い値を示した。

さらに毎週搬入される精液ロットの影響を確認するため, 各週の総産子数の平均値を第 3 表に示した。1/2 節減区は第 1 週を除いて 10 頭以上を推移していた。3/4 節減区では慣行区と同程度の成績が見られる週もあるが, 第 5 週では平均で 8 頭を下回るなど各週で成績のばらつきが大きかった。

第3表 購入精液の希釈利用と各週ロットの総産子数へ及ぼす影響

	慣行	1/2節減区	3/4節減区
第1週	11.0±0.6	9.7±1.4	9.5±0.7
第2週	10.2±1.2	13.3±1.2	10.0±3.5
第3週	11.4±1.3	10.8±1.2	9.5±0.9
第4週	12.4±1.6	12.7±1.0	13.3±1.7
第5週	13.6±1.4	12.5±0.9	7.3±0.9
第6週	13.6±1.4	11.5±1.2	13.0±1.4
第7週	13.6±1.6	12.3±0.6	9.0±1.5

- 1) 総産子数は平均値±標準誤差で示す
- 2) 精液は週の初めに購入先から配布され、各週で精液ロットが異なる
- 3) 各週の供試頭数は慣行区5頭、1/2節減区6頭、3/4節減区4頭

3 購入精液利用時の CF 添加処理に係るコスト検証

実証養豚場における購入精液を用いた AI の慣行手法と CF を添加して注入精液を 1/2 節減する新しい手法について 1 回の交配に係る資材費を第 4 表で比較検討した。

資材費の中では精液価格がもっとも高く、その経費を 1/2 節減する新しい手法では、CF 添加の経費を差し引いても 500 円/回のコスト低減が期待できた。

第4表 購入精液AIの注入精子数を低減するAI技術の経費比較

項目	慣行手法	新手法
精液価格	1,200円/回	600円/回
20mMCF添加モデナ液		100円/回
注入カテーテル	子宮深部カテーテル 220円/本	子宮深部カテーテル 220円/本
小計	1,420円/回	920円/回
	差額	500円/回

- 1) 慣行手法は試験2の実証養豚場での手法、新手法は購入精液を1/2分割し、CFを添加する手法
- 2) モデナ液の成分は150Mグルコース、26.7mMクエン酸ナトリウム、11.9mM重炭酸ナトリウム、15.1mMクエン酸、6.3mMEDTA-2Na、46.6mMトリス、200mg/Lアミカマイシン
- 3) 20mMCF添加モデナ液には保存ボトル経費を含む
- 4) カフェインやモデナ液の試薬はメーカーカタログを参照、精液とカテーテルは実際の購入価格を参照

考 察

試験 1 では、自家採精する農場で採精回数を削減することを目的に注入精子数の低減した AI 技術の検証を行った。Watson・Behan (2002) は精子性状の良い精液（精子活力 80+++ 以上、正常精子率 80% 以上）で注入精子数を 10 億まで低減した場合、子宮頸管に注入する通常カテーテルでは分娩率および総産子数が有意に減少するが、子宮深部カテーテルを用いれば 30 億の注入精子数と同程度の成績が得られることを報告している。しかし、子宮

深部カテーテルを用いた試験 1 の結果では注入精子数を 7.5 億にして CF 無添加の場合、受胎率および分娩率は低下し、総産子数は有意に減少した。また、総産子数 10 頭未満の母豚数も増える傾向にあり、子宮深部カテーテルだけでは注入精子数を 10 億未満に低減するには不十分であった。この結果の要因として考えられることは、子宮内への注入精子数が 7.5 億と 10 億より少ないことに加え、精漿濃度の低さがある。精漿には子宮内の免疫を抑制する作用があり（島田ら 2010）、注入精子数を減らすために行った希釈によって、精漿濃度は通常の 15~25%（家畜改良事業団（編）2010）から 3% とかなり低濃度になる。このことで精漿の免疫抑制効果が弱まり、少ない精子をさらに減少させたものと推測される。

一方、精液に 10mM の CF を添加した場合は、注入精子数を 7.5 億まで低減しても、慣行区（30 億）と比べて各繁殖成績の低下は認められなかった。このことは、Yamaguchi ら（2013）の報告と同様である。さらに精漿の子宮内免疫抑制作用は、着床を促進するとの報告がある（岡崎・島田 2009）ことから、CF 添加が精漿の代替として着床を促したことも考えられる。よって CF 添加が精液希釈時に生じる精漿濃度低下の問題を解決できる有効な手法であると考えられる。

次に試験 2 では注入精子数の低減による大規模養豚場での液状精液の購入コスト節減効果について、試験 1 と同様に CF を添加し注入精子数を低減させた 1/2 節減区、3/4 節減区を設けて検討した。まず 3/4 節減区では、慣行区と比べ、受胎率、分娩率には有意差は認められなかったが、総産子数が有意に減少した。この試験 1 と異なる結果となった要因は① 7.5 億以下の注入精子数、② 精液性状の低下が考えられる。要因①については 1 ドースあたり 30 億以上の精子数を購入先が保証していることから考えにくい。要因②については、交配時期が 10~11 月と種雄豚に暑熱ストレスの影響が残る時期だったことから、個体によっては、通常の注入精子数では問題ないが、精子数を低減した場合に影響が出る範囲で精液性状が低下した可能性がある。また、精液性状の低下の原因として宅配輸送によるダメージも考えられる。豚液状精液は 15~18℃ の中温域での保存が望ましい（Shimatsu ら 2002）とされているが、現在の購入液状精液の輸送は常温の宅配便が主流で、輸送中に外気温の影響を受け精子活力が低下することが報告されている（河原崎 1999、公文・松岡 2002）。そこで精液ロットが異なる各週を比較した場合、3/4 節減区は各週で成績のばらつきが見られ、特に第 5 週は成績が著しく低下しており（第 3 表）、精液ロットの影響が伺えた。

一方、注入精子数を 1/2 節減した区では、慣行区より値は若干低いものの、分娩率および総産子数は高い値を維持しており、各週の平均産子でも第 1 週を除いて 10 頭以上で、購入液状精液の 2 分割利用への可能性が伺えた。仮に、購入液状精液を 2 分割利用した場合、第 4 表から 1 交配に係る経費が 500 円/回の節減が可能となる。これを実証養豚場の母豚 900 頭規模の経営に当てはめると年間の交配に係る経費が 900 頭×分娩 2.3 回転×AI 3 回×

500円/回≒310万円を節減するメリットが期待できる。

ただ、購入精液を分割して用いる場合は、1ドースの精液の性状悪化が、通常は母豚1頭のところを2頭の母豚へ影響を及ぼすことになり、経営への悪影響を大きくする懸念がある。よって、購入精液を分割利用する際は、精液性状の確認が必須と考えられる。今回の試験では精液性状の確認を行っていないため、精液性状と精子低減数との関係について今後検討が必要である。

以上のことから実際の生産現場で自家採精の性状が良好と確認できた精液を用いた子宮深部カテーテルによるAIにおいては、精液への10mMのCF添加で注入精子数を7.5億まで低減し、採精回数の低減が期待できることを明らかにした。また、購入液状精液を用いた子宮深部カテーテルによるAIにおいては、精液に10mMのCFを添加することにより注入精液を1/2節減でき、交配コストを低減可能であることが示唆された。ただし、市販の液状精液の希釈液の種類や規格によっては結果が異なる可能性があるため、購入液状精液全般に対して同様な成績が得られるか検証が必要である。

この技術は精液の分割利用を可能とするため、突発的な事故などで注入精液が不足した場合に応急対策としての利用が期待できる。

この技術の留意点としては、豚精子の活力維持には精漿が関係しており (Tauchiら 1999, Murrayら 1983)、精漿濃度低下は保存性を悪化させるため、精子数の節減を目的に精液をカフェイン添加モデナ液で希釈する場合は、人工授精直前に行う必要がある。

本研究は新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業による2009～2012年度「高受胎率が望める人工授精用豚精子の液状・凍結保存技術及び受精能評価システムの開発」の中で実施した。

引用文献

- 家畜改良事業団(編)(2010)家畜人工授精講習会テキスト
家畜人工授精編. 社団法人日本家畜人工授精師協会,
東京, p. 344.
- 河原崎達雄(1999)豚人工授精技術の現状と関連新技術.
豚病会報35: 1-15.
- 公文喜一・松岡哲也(2002)豚精液の広域利用実用化試験.
高知県畜産試験場研究報告18: 47-49.
- Murray FA, Grifo AP, Parker CF(1983) Increased
litter size in gilts by intrauterine infusion
of seminal and sperm antigens before breeding.
J Anim Sci. 56:895-900.
- 岡崎哲司・島田昌之(2009)精子保護剤と着床促進剤を用
いたブタ凍結精子による人工授精法の開発. 畜産技
術 655: 8-11.
- Shimada M, Okazaki T(2010) The effects of seminal
plasma in pig artificial insemination using
cryopreserved spermatozoa; the development of
chemical defined seminal plasma for pig
artificial insemination. ALL about SWINE 36:
10-15.
- Shimatsu Y, Uchida M, Niki R, Imai H(2002) Liquid
storage of miniature boar semen. Exp Anim 51:
143-147.
- Tauchi S, Sakai M, Yamauchi N, Geshi M, Nagai T,
Hashizume T, Masuda H(1999) Effect of Seminal
Plasma on the Motility of Boar Spermatozoa
Stored at 10°C for 28 Days. Jpn. J. Swine Science
36(1):18-22.
- Watson PF, Behan JR (2002) Intrauterine
insemination of sows with reduced sperm
numbers: results of a commercially based field
trial. Theriogenology 57:1683-1693.
- Yamaguchi S, Suzuki C, Noguchi M, Kasa S, Mori M,
Isozaki Y, Ueda S, Funahashi H, Kikuchi K,
Nagai T, Yoshioka K(2013) Effects of caffeine
on sperm characteristics after thawing and
inflammatory response in the uterus after
artificial insemination with frozen-thawed
boar semen. Theriogenology 79:87-93.