

豚精子の凍結保存に関する研究

豚凍結精液による授精成績

伊藤 米人・近藤 ゆり*・加藤 巳之吉・橋島 敏男

Studies on Deep Freezing of Boar Spermatozoa

Fertility Results of Deep Frozen Boar Spermatozoa

Yoneto ITOH, Yuri KONDO, Minokichi KATO and Toshio NARASHIMA

(要旨)

1984年から1992年の間に、豚凍結精液の授精試験を実施した。授精試験は受胎試験と受精試験とし、受胎試験は人工授精後分娩調査または胎子を調査し、受精試験は人工授精後子宮角より卵子を回収し検査する方法によった。受胎試験はⅠ期、Ⅱ期およびⅢ期試験に分けて試験した。供試した雌豚は、受胎試験のⅠ期試験26頭、Ⅱ期試験17頭、Ⅲ期試験18頭および受精試験20頭である。

①受胎率(胎子例、流産例含む)はⅠ期試験、Ⅱ期試験およびⅢ期試験でそれぞれ、23.1%(6/26)、29.4%(5/17)および50.0%(9/18)であった。平均産子数(分娩例のみ)はこの順にそれぞれ、 5.0 ± 2.6 頭、 9.8 ± 3.1 頭および 7.3 ± 2.5 頭であった。Ⅰ期試験においては受胎率は低く産子数も少なかったが、Ⅱ期試験では産子数が増加し、Ⅲ期試験においては受胎率が向上した。

②受精試験では、平均黄体数は 13.2 ± 2.0 個、卵子の回収率は $88.3 \pm 10.8\%$ であり、受精した頭数の比率は65.0%(13/20)、平均受精卵数は 7.8 ± 4.5 個、受精卵率は $66.4 \pm 35.1\%$ であった。卵子の透明帯に付着した精子数は、液状精液のそれと比較すると少なかった。これらのことから、産子数の少ない要因は、子宮着床後の胎子の退行等の原因よりも着床前の正常胚が少ないことによると推察された。

まえがき

家畜の凍結精液の利用は、牛においては一般に利用されているが、豚¹⁾においては未だその域に達していない。その原因としては、豚の人工授精が牛のそれに比較すると経済的効果が低いこと、豚の凍結精液は技術的に困難な点が多いことが考えられる。

本研究は、豚凍結精液の実用的な利用を目的に、1984(昭和59)年から1992(平成4)年までに、豚凍結精液により授精試験を行ったものをまとめたものである。

材料と方法

1. 試験の構成

授精試験は、受胎試験と受精試験とした。受胎試験は、人工授精後分娩調査または胎子を調査する方法とした。受胎試験は、Ⅰ期、Ⅱ期およびⅢ期に分けて行った。受精試験は、受胎前の卵子レベルで調査するために人工授精後子宮角より卵子を回収し検査した。受胎試験および受精試験の実施年、供試凍結精液の形状および供試雌豚数を表1に示した。

2. 供試雌豚と供試凍結精液

授精に用いた雌豚と凍結精液の製造に用いた雄豚は、当场飼養の豚である。雌豚は、ランドレース種、大ヨークシャー種、デュロック種、パークシャー種、北京黒豚およびこれらの交雑種で自然発情の経産豚または未経産豚である。雄豚は、ランドレース種、大ヨークシャー種、デュロック種、パークシャー種、北京黒豚および梅山豚である。

供試凍結精液の製造と融解は、受胎試験のⅠ期試験ではPurselとJohnson(1975)²⁾の方法に準じて行い、Ⅱ期試験、Ⅲ期試験および受精試験では豚凍結精液利用技術マニュアル³⁾に準じて行った。

3. 人工授精と授精試験の結果の確認

人工授精は凍結精液を実験室で融解後、豚舎に運搬し速やかに授精した。受胎試験の雌豚の大半は分娩させ、妊娠期間、産子数および産子の体重等を調査した。分娩させない場合は、人工授精後24日から37日目に雌豚を屠殺し子宮内の胎子を検査した。受精試験は、人工授精後3日から6日目に雌豚を屠殺し摘出した子宮から卵子を回収し受精状況を検査した。透明帯付着精子は、倒立顕

表1. 試験の構成

試験区分	実施年	供試雌 豚数	形状 ¹⁾				
			形状 ¹⁾	凍結液	融解液	融解温度 (°C)	
受胎試験	I 期試験	1984~1988	26	P	TF1	TS4	50
	II 期試験	1989~1991	17	P, S	P:GLR, S:NSF	NST	40
	III 期試験	1992	18	P, S	P:GLR, S:NSF	NST	40
受精試験	1992	20	P, S	P:GLR, S:NSF	NST	40	

¹⁾ P : ペレット S : ストロー

表2. 豚凍結精液による個体別受胎成績 (I 期試験)

No.	雌豚No.	授精 回数	凍結方法 ¹⁾ (P, S)	雄豚No.	授精時の精液性状			受胎 結果	妊娠 期間	産子数	
					精液量 (ml)	活力	運動総精子 数 (×10 ⁸)			雄	雌
1	L6557	2	P	L7	50	45	22.5	-			
2	L6655	2	P	D56-5	50	43	21.5	+	117	1	5 6
3	L6677	2	P	L6592	50	44	22.5	-			
4	L6523	3	P	L5883	50	45	22.5	+	115	0	4 4
5	L142	3	P	L-G5-10	50	35	17.5	-			
6	L141	3	P	L10	60	43	25.8	+	37 ²⁾	1	2 3
7	D57-48	3	P	D82-44	95	43	38.0	-			
8	D34702	2	P	D82-44	85	43	36.5	+	115	4	5 9
9	D57-48	2	P	D82-44	95	40	38.0	-			
10	L7829	2	P	D82-92	90	40	36.0	-			
11	L7829	2	P	W58-63	100	28	28.0	-			
12	L7968	1	P	L-G6-3	90	30	27.0	-			
13	D6116	3	P	D62-26	60	40	24.0	+	120 ³⁾	1	1 2
14	D84-9272	3	P	D62-26	80	40	32.0	-			
15	D6116	2	P	D62-26	95	40	38.0	-			
16	L7573	3	P	L5	95	35	33.2	-			
17	W86-7135	2	P	L8	50	40	20.0	-			
18	L8466	2	P	L8	100	38	38.0	-			
19	L8601	2	P	L16	100	35	35.0	-			
20	D84-9272	3	P	D62-26	70	35	24.5	+	114	2	2 4
21	D9197	3	P	D62-26	60	40	24.0	-			
22	D86-9113	2	P	D62-26	50	35	17.5	-			
23	L8632	3	P	L2	65	35	22.7	-			
24	L8622	3	P	L2	65	35	22.7	-			
25	D8515	2	P	D8041	50	30	15.0	-			
26	D8856	3	P	L16	75	33	24.7	-			

凍結用希釈液はTF1, 融解液はTS4, 融解温度は50°Cである。

¹⁾ P : ペレット法 S : ストロー法 ²⁾ 胎子調査 ³⁾ 死産

顕鏡下で確認が可能な精子を算定した。

結 果

1. 受胎試験

個体ごとの受胎試験の結果をそれぞれ、I期試験については表2に、II期試験については表3に、III期試験については表4に示した。そのそれぞれの受胎率と平均産子数の結果を、表5に示した。図1-Aには、凍結精液で初めて生まれた子豚とその母豚を示した。

I期試験については26頭の雌豚のうち6頭(23.1%)が受胎し、平均産子数は 5.0 ± 2.6 頭と低い値であった。I期試験に使用した凍結精液は、全てペレット法で凍結したものである。II期試験については授精頭数17頭のうち3頭がストロー精液である。全体の受胎率は29.4%、平均産子数は 9.8 ± 3.1 頭であった。これらの値をI期平均の値と比較すると、受胎率では6.3%高く、平均産子数では4.8頭と大幅に増加した。III期試験についてはペレット精液とストロー精液で9頭ずつ供試し、全体の受胎率は50.0%、平均産子数は 7.3 ± 2.5 頭であった。これらの値をII期試験の値と比較すると、受胎率は20.6%と著しく増加したが産子数は2.5頭少なかった。

表5には、試験条件が同一であるII期試験とIII期試験を合計した値も示した。受胎率は40.0%、平均産子数は 8.2 ± 2.9 頭であった。また、I期試験からIII期試験までの分娩調査の結果では、平均妊娠日数は 115.6 ± 2.2 日(範囲は111~120日)であり、平均産子数は雄 3.44 ± 2.39 頭、雌 3.75 ± 1.53 頭で差はなく、生時体重は 1.40 ± 0.25 kgであった。

2. 受精試験

受精試験の結果について、個体ごとの結果を表6に示し、平均値を表7に示した。卵の回収率はペレット法では $85.3 \pm 13.3\%$ 、ストロー法では $89.6 \pm 9.9\%$ と良好であった。受精卵が回収された雌豚の割合は、ペレット法では50.0%、ストロー法では71.4%、全体の平均では65.0%と受胎試験より良く、得られた受精卵の割合は、ペレット法では 73.3 ± 46.2 (範囲は20~100)%、ストロー法では 64.3 ± 33.9 (範囲は10~100)%、全体の平均では $66.4 \pm 35.1\%$ であった。受精卵数は、ペレット法では 8.3 ± 5.7 (範囲は2~13)個、ストロー法では 7.6 ± 4.4 (範囲は1~14)個、全体の平均では 7.8 ± 4.5 個であった。透明帯付着精子数は、受精卵が回収された豚の卵子(図1-D)の方が、受精卵が回収されない豚の卵子

表3. 豚凍結精液による個体別受胎成績 (II期試験)

No.	雌豚No.	授精回数	凍結 ¹⁾ 方法 (P,S)	雄豚No.	授精時の精液性状			受胎結果	妊娠期間	産子数		
					精液量 (ml)	活力	運動総精子数 ($\times 10^8$)			雄	雌	計
1	D9113	1	P	D8041	100	35	21.0	-				
2	L9009	2	S	L16	75	35	15.7	+				13 ²⁾
3	L9851	3	P	L4	90	35	18.9	+	115	3	5	8
4	L9851	2	P	L4	80	35	16.8	-				
5	D4793	3	P	D63-97	80	28	13.4	+	114	6	4	10
6	L9902	4	P	L ₁ 12	80	35	16.8	-				
7	L9894	2	P	L ₁ 12	80	40	19.2	-				
8	D4761	2	P	D63-97	80	35	16.8	-				
9	L9894	2	P	L ₁ 12	80	33	15.8	-				
10	L9857	2	P	L4	80	35	16.8	-				
11	D4761	1	P	D8021	80	30	14.4	-				
12	L9086	2	P	L ₁ 12	80	35	16.8	-				
13	L8678	1	P	L ₁ 12	90	40	21.6	-				
14	L9844	1	S	L ₁ 12	90	40	21.6	-				
15	L9907	2	S	L ₁ 12	90	40	21.6	+	115	4	3	7
16	Pe97	3	P	M7	120	40	21.6	+	114	9	5	14
17	Pe66	1	P	M12	100	40	32.0	-				

凍結用希釈液はペレット法でGLR、ストロー法ではNSF、融解液はNST、融解温度は40°Cである。

¹⁾ P: ペレット法 S: ストロー法 ²⁾ 人工流産胎子は黒子状で娩出された。

表4. 豚凍結精液による個体別受胎成績 (Ⅲ期試験)

No.	雌豚No.	授精回数	凍結 ¹⁾ 方法 (P, S)	雄豚No.	授精時の精液性状			受胎結果	妊娠期間	産子数		
					精液量 (ml)	活力	運動総精子 数 (×10 ⁶)			雄	雌	計
1	D91-9578	2	P	D63-97	140	40	48.1	+	117	4	4	8
2	D91-9008	1	P	D8021	120	40	28.8	-				
3	D91-9008	1	P	D8021	140	33	29.5	+	117	2	4	6
4	D9947	2	P	D8021	140	35	17.6	-				
5	B9621	2	S	EB8	140	30	29.4	+	119	4	2	6
6	PB55	2	S	L,3	140	30	36.1	+	24 ²⁾	5	7	12
7	Pe97	1	S	Pe81	140	25	14.0	-				
8	L75	1	S	L,9923	140	47	28.9	+	117	3	7	10
9	L70	3	P	L7532	120	33	17.8	+	115	1	2	3
10	L71	2	S	L,15	140	40	49.2	-				
11	L200	1	S	L8058	140	40	47.0	+	115	7	3	10
12	Pe22	1	S	Pe11	140	30	11.7	-				
13	W7025	1	P	L2	120	30	21.6	-				
14	D9726	2	S	D8047	100	25	15.0	+	95 ³⁾	5	3	8
15	L24305	2	S	L,3	120	40	28.8	-				
16	PeM9	1	P	M7	90	45	24.3	+	111	4	4	8
17	W7025	1	P	W6689	120	43	30.9	-				
18	Pe10	2	S	Pe181	120	25	18.0	-				

凍結用希釈液はペレット法でGLR, ストロー法ではNSF, 融解液はNST, 融解温度は40°Cである。

¹⁾ P: ペレット法 S: ストロー法 ²⁾ 胎子調査 ³⁾ 流産

表5. 豚凍結精液による受胎成績

	凍結方法 ¹⁾	授精頭数	受胎頭数	受胎率	分娩例	
					雌豚数	平均産子数 ²⁾
Ⅰ期試験	P	26	6	23.1	5	5.0±2.0
	P	14	3	21.4	3	10.7±3.1
Ⅱ期試験	S	3	2	66.7	1	7.0
	P, S	17	5	29.4	4	9.8±3.1
Ⅲ期試験	P	9	4	44.4	4	5.6±2.5
	S	9	5	55.6	3	8.7±2.3
	P, S	18	9	50.0	7	7.3±2.5
Ⅱ～Ⅲ 期試験	P	23	7	30.4	7	8.1±3.4
	S	12	7	58.3	4	8.3±2.1
	P, S	35	14	40.0	11	8.2±2.9

¹⁾ P: ペレット S: ストロー

²⁾ 死産を含む。

表6. 豚凍結精液による個体別受精成績

No.	雌豚 No.	授精 回数	凍結方法 ¹⁾ (P, S)	雄豚 No.	黄体数	回収卵		受精 状況	受精卵		透明帯付着精子数	
						数	率(%)		数	率(%)	合計	1卵子当たり
1	BD125	1	P	L ₁ -7	12	10	83.3	+	2	20.0	29	2.9
2	DB60	2	P	L-2	17	17	100	-	0	0	0	0
3	DB19	2	P	L ₁ -3	15	14	93.3	-	0	0	15	1.1
4	PD89	3	P	L ₁ -3	16	10	62.5	+	10	100	116	11.6
5	BD28	3	P	L ₁ 12	14	13	92.9	+	13	100	82	6.3
6	BD105	2	P	M-12	10	8	80.0	-	0	0	7	0.9
7	PB36	1	S	L ₁ -7	17	11	64.7	+	9	81.8	76	6.9
8	BD25	2	S	L-4	10	10	100	+	1	10.0	24	2.4
9	BP143	2	S	L ₁ -12	12	11	91.7	+	5	45.5	16	1.5
10	BP54	2	S	L ₁ -3	12	12	100	+	9	75.0	291	24.3
11	DP66	3	S	L ₁ -3	13	12	92.3	-	0	0	8	0.7
12	DP138	1	S	L ₁ -3	12	11	91.7	-	0	0	0	0
13	BD69	2	S	L ₁ -3	12	10	83.3	+	7	70	116	11.6
14	BP13	2	S	L ₁ -3	14	12	85.7	-	0	0	50	4.2
15	PB118	2	S	L ₁ -3	12	11	91.7	+	11	100	123	11.2
16	PB105	3	S	L ₁ -3	12	9	75.0	-	0	0	7	0.8
17	BD94	1	S	L-4	14	13	92.9	+	2	15.4	110	8.5
18	PB61	2	S	D-5	13	13	100	+	13	100	322	24.8
19	BD85	2	S	B-6	15	14	93.3	+	14	100	820	58.6
20	BD129	2	S	B-6	12	11	91.7	+	5	45.5	88	8.0

¹⁾ P : ペレット法 S : ストロー法

表7. 豚凍結精液による平均受精成績

凍結 ¹⁾ 方法	授精 雌豚	黄体数	回収卵		受精率 ²⁾ (%)	受精卵 ³⁾	
			数	率(%)		数	率(%)
P	6	14.0±2.6	12.0±3.3	85.3±13.3	50.0	8.3±5.7	73.3±46.2
S	14	12.9±1.7	11.4±1.3	89.6±9.9	71.4	7.6±4.4	64.3±33.9
P, S	20	13.2±2.0	11.6±2.0	88.3±10.8	65.0	7.8±4.5	66.4±35.1

¹⁾ P : ペレット法 S : ストロー法

²⁾ 受精した頭数の割合

³⁾ 受精卵が回収された個体についての平均

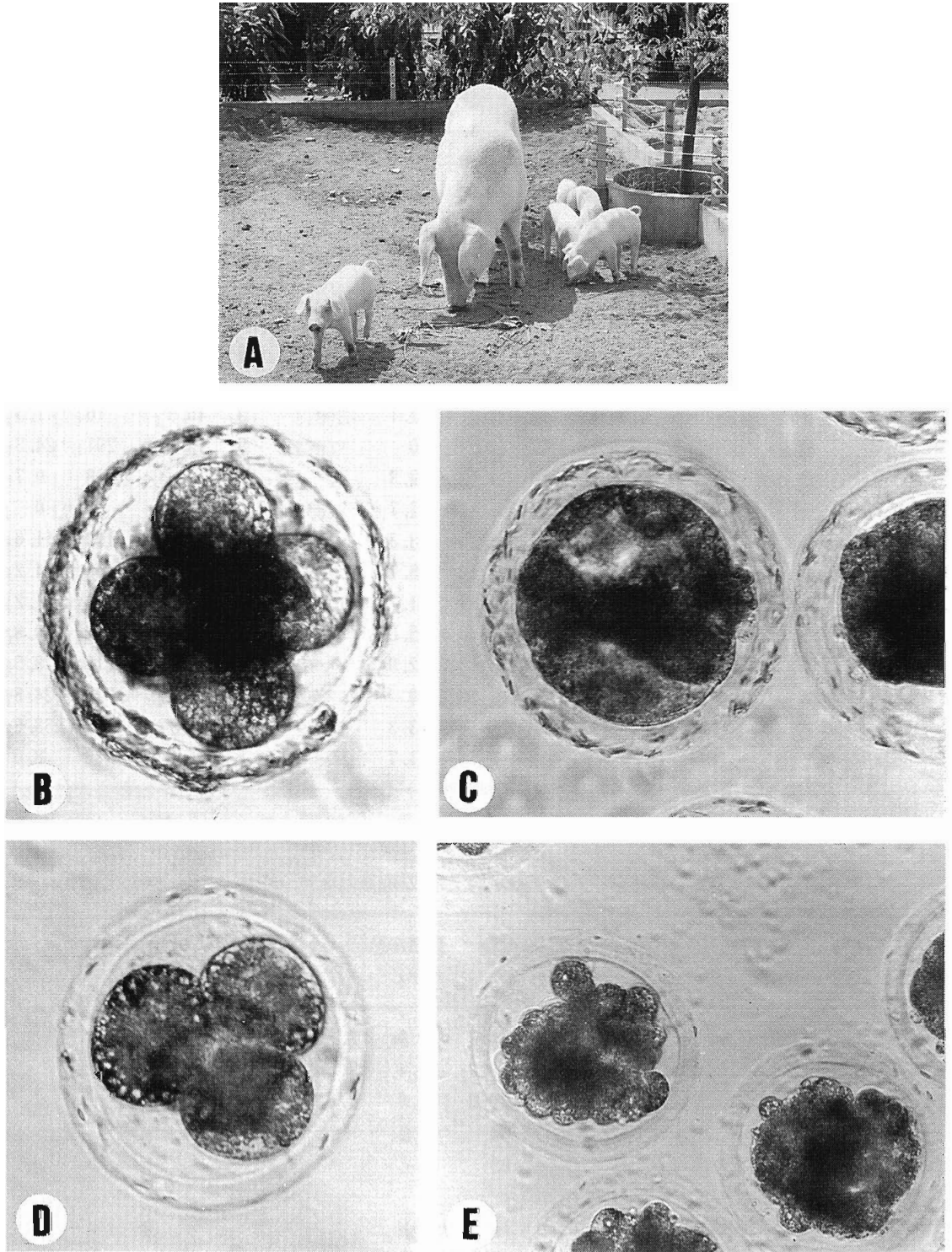


図1. 凍結精液で生まれた子豚と液状精液および凍結精液で授精試験した卵子

A : 凍結精液で生まれた子豚

品種は母豚も子豚もランドレース種である。

B, C : 液状精液による卵子

透明帯には精子が多く付着している。

D, E : 凍結精液による卵子

Dは受精卵であるが、精子数は少ない。Eは未受精卵で、精子はほとんど見られない。

(図1-E)より多かった。また、表6のNo.2, 3, 6, 11, 12, 14およびNo.16の例のように全て未受精卵の豚の場合、透明帯付着精子数が極めて少ないか全く無かった。

考 察

受胎試験のⅠ期試験においては、受胎率と産子数とも低い値であった。その原因は明らかではないが、精液性状、授精技術あるいは雌豚等の総合的な結果と思われる。Ⅱ期試験においては受胎率が低かったが、この期間は当場で自然交配している場合も低い受胎率であったので、雌豚の生理状態が悪かったことが大きいと判断される。Ⅲ期試験における受胎率50.0%、産子数7.3±2.5頭は液状精液に比較すると劣っていた。しかし、遺伝子の保存という観点からは実用可能な値であると判断される。

凍結精液による受胎率と産子数については、多くの報告がある。丹羽と橋爪⁴⁾は受胎率は56.3% (13/23)、産子数は7.8(範囲は3~15)頭と報告している。豚凍結精液実用化事業においては最終年度で、受胎率はペレット法で49.4%、ストロー法で54.2%、平均産子数はペレット法で8.0頭、ストロー法では8.3頭と報告^{5, 6)}している。KuoとChiang⁷⁾は分娩率は50.7% (77/152)、平均産子数は8.0±2.9頭と報告している。Johnson⁸⁾は1975年から1985年のペレット法とストロー法を合わせて受胎率と産子数を集計し、それぞれ55.5%、8.0±1.0頭と報告している。これらの報告では凍結精液による受胎率は50~60%前後、産子数は7~8頭であり、本試験においてもほぼ同様の値であった。

平均妊娠期間は液状精液の場合と差がなく、これまでに報告⁴⁻⁶⁾されている値と同様である。表2では120日の例があったが、この例では死産であった。表4において111日の例があるが、この雌豚は北京黒豚と梅山豚の交雑種で、精液も梅山豚であるので、品種の差によるものであると判断される。産子の雄と雌の性比にも差は認められず、X精子、Y精子の耐凍性に差が無いことが認められた。生時体重は1.40±0.25kgと大きい傾向であるが、これは産子数が少ないためと思われる。

授精試験では受精卵数は7.8子であるが、これは分娩子豚数とほぼ同じである。このことは、産子が少ない原因は胎児の死滅等の要因よりも、受精卵数が少ないこ

とによることを示している。受精卵数が1~2個の例があったが、受胎はしない例であると思われる。凍結精液の場合の受精卵が液状精液のそれと最も違う点は、一般的に透明帯に付着している精子数が少ないことであった(図1)。

謝 辞

本研究は、「遺伝資源の収集と評価に関する研究」の一環として、多くの関係者の協力によって実施されたものであり、ここに深く感謝する。

文 献

- 1) Crabo, B. G. (1990): Preservation of boar semen : A world wide perspective. In: L. A. Johnson and D. Rath (Eds): Boar Semen Preservation II. Beltsville, USA, 3-9.
- 2) Pursel, V. G. and L. A. Johnson (1975): Freezing of boar spermatozoa. Fertilizing capacity with concentrated semen and new thawing procedure. J. Anim. Sci., 40, 99-102.
- 3) 豚凍結精液利用技術マニュアル(1989), 丹羽太左衛門監修, 日本家畜人工授精師協会, 東京.
- 4) 丹羽太左衛門・橋爪 力(1981): 錠剤化法による豚精液の凍結保存に関する研究. V. 受胎試験成績について. 岩手大農, 家畜人工授精研究室報告, 3, 24-30.
- 5) 豚凍結精液利用実用化促進事業(昭和57~59年度)のまとめ(1986). (社)家畜改良事業団・家畜改良技術センター.
- 6) 豚凍結精液利用実用化促進事業(昭和60~62年度)のまとめ(1989). (社)家畜改良事業団・家畜改良技術センター.
- 7) Kuo, Y. H. and J. C. Chiang : The fertility of frozen semen prepared in Macro tubes. In : L. A. Johnson and D. Reath (Eds) (1990) : Boar Semen Preservation II. Beltsville, 353-357.
- 8) Johnson, L. A. (1985) : Fertility results using frozen boar spermatozoa. In: L. A. Johnson and K. Larsson (Eds), Deep Freezing of Boar Semen. Swedish Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden, 199-222.