

凍結精液を活用したトウキョウXの夏季生産強化

[平成 28～30 年度]

鈴木亜由美・三山紗衣子・太田久由
(畜産技術科)

【要 約】凍結精液の人工授精は受胎率が安定せず、産子数も自然交配より少ないため更なる改善が必要であるが、凍結精液がすべての不受胎原因とは言えず、融解液への免疫抑制剤などの添加で受胎率向上が期待できる。

【目 的】

トウキョウXの凍結精液は、これまで遺伝資源の保存や将来における維持群の近交上昇抑制を目的に作製・保存しており、通常の子豚生産には利用されていない。一方、暑熱期における生産性低下は従来より大きな問題であり、その解決策の一つとして、高い精子活力を維持している凍結精液の活用は、精液性状の低下による不受胎対策として有効と考えられる。2013 年度までの成果で、凍結精液の人工授精は子宮角深部注入法で実施しているが、受胎率は低く（鈴木・上原 2015）、またカテーテルの挿入に技術を要することから、人工授精の手技が簡便で受胎率も高い方法を検討し、凍結精液の実用化を目指す。また種雌豚側の暑熱ストレス低減もあわせて検討するものとし、高い抗酸化作用を有する飼料添加物の利用が有効と考えた。これらの対策により、暑熱ストレスによる影響が及ぶと考えられる 8～10 月におけるトウキョウXの受胎成績向上を目指す。

【成果の概要】

1. 種雌豚への抗酸化剤給与と人工授精方法の改善

トウキョウX種雌豚 10 頭にアスタキサンチン（ファフィア酵母 DX：リケンベッツファーマ）を 2016 年 7 月 16 日～9 月 20 日の 66 日間毎日 2g 給与し（試験区）、同期間に通常飼料で飼養した 12 頭（対照区）との発情回帰日数、ならびに人工授精または自然交配による受胎率を比較した。凍結精液の人工授精は、融解液 40mL に精子を分離して凍結保存したトウキョウX種雄豚の精漿を 5 mL 添加して総量 50mL とし（精液量は 5 mL）、先端より内筒が 15cm 突出する absolute カテーテル（イノセント、図 1）を用いて、種雌豚の子宮体部に注入した。1 発情期間中の人工授精回数は、種雌豚の発情を確認した日の夕方と翌朝、または発情確認日の翌朝と夕方の 2 回とした。その結果、離乳後の発情回帰は試験区の回帰日数がやや早かったが、対照区との間に有意差はなかった（表 1）。凍結精液の人工授精と自然交配による受胎率も、試験区がやや高かったが有意差はなく（表 1）、いずれの区間にも受胎率に有意な差はみられなかった（表 1）。一方、これまで深部注入法で約 46%だった凍結精液の受胎率は 75%に向上したことから、精漿の添加と子宮体部への注入はトウキョウXに適した人工授精方法と考えられた（表 2）。

2. 種雌豚の暑熱ストレス低減強化と人工授精方法の再現性確認

離乳前 7 日から発情回帰までの種雌豚に、アスタキサンチンとビタミン E を含む添加剤（ビタミン E-100 アスタ：ナーリン株式会社）を給与飼料中に 0.3%添加し、前年と同様に凍結精液を人工授精した（AI 添加区）。また添加剤は給与せず、凍結精液を人工授

精した区 (AI 区), および自然交配した区を対照区とし, 離乳後の発情回帰日数および受胎成績を比較した。AI 添加区および AI 区の人工授精は, 発情を確認した日の夕方と翌朝の 2 回とした。その結果, 離乳後の発情回帰日数はほとんどの供試豚が 4 ~ 5 日であり, 区ごとに差はみられなかったものの (表 3), 受胎率は AI 区が 42.9%, AI 添加区が 57.1% であり, いずれも対照区より低かった (表 3)。前年度の試験において人工授精に用い, 受胎・分娩に至った凍結精液も今回は受胎しなかったため, 精子活力や人工授精方法等を検証したが問題点は見出せず, 唯一の相違点は, 人工授精のタイミングが約半日早いことがあげられる。一方, 人工授精した区で不受胎だった種雌豚は, 次の発情時に自然交配したが, いずれも回帰日数が通常よりも長く (表 4), 人工授精で一度受胎したものの, 何らかの原因で胚が死滅したため発情が遅れた可能性がある。

3. 凍結精液の人工授精による安定した受胎率の検討

発情を確認した日の夕方と翌朝の人工授精では受胎率が低かったことから, 人工授精時期をより排卵に近いと考えられる発情確認日の翌日の朝および夕方に統一した。またこれまで添加していた精漿に代えて, 子宮内における免疫抑制効果により受胎率向上が報告されているカフェイン (nacalai tesque, YAMAGUCHI et al. 2009) を 1mM 融解液に添加して人工授精したが, 受胎率は自然交配に及ばなかった (表 5)。カフェインの添加量が少なかったため効果が発揮されなかったと考えられる。一方, 過去の人工授精で受胎実績のある 3 種雄豚の凍結精液が, 今回の人工授精では不受胎だったことから (表 6), 一概に凍結精液が不受胎の原因であるとは言えない。人工授精のタイミングが適切であったかを検討する目的で, 種雌豚 2 頭にそれぞれ異なる種雄豚の凍結精液を用いて, 発情初日の夕方および翌朝と夕方の合計 3 回の人工授精をした。いずれも受胎したため, 産子の父子鑑定を行うことにより, 人工授精の適期を検証する (2019 年 2 月予定)。凍結精液は融解後早期に受精能獲得様現象および先体反応が誘起されるため, 時間の経過とともに受精能が低下し, 2 回の人工授精ではタイミングが合わずに不受胎となった可能性がある。より排卵時期に近い人工授精が望ましいが, 推定は困難であることから, 注入する精子の受精能獲得や先体反応の抑制が報告されている抗酸化剤 (β -メルカプトエタノール等) の添加を検証する必要がある。

4. 産子の比較

2016 年からの凍結精液人工授精の平均産子数は, 2017 年の暑熱期に自然交配して得られた実績と比較すると有意に少なく (表 7), 現場における子豚生産への実用化は難しい。融解液への抗酸化剤添加は産子数が増加傾向となる報告があり, 受胎率の改善とともに期待できる。

【残された課題・成果の活用・留意点】

種雌豚ごとに排卵のタイミングは異なると考えられるため, 2 回の人工授精で確実に受胎させて一定の産子数を得るには, 免疫抑制剤の適量添加とともに抗酸化剤の利用が必要と考えられ, 今後検証の予定である。また凍結精液の作製および利用は, 大分県と広島大学が共同開発した「受胎率および産子数向上凍結精子およびその製法 (特許第 4783883 号および特許第 5422848 号)」および「凍結精液された精子用希釈液, 及びこれを用いた人工授精方法 (特許第 5733829 号)」を, 特許実施許諾契約の上で実施している。

【具体的データ】

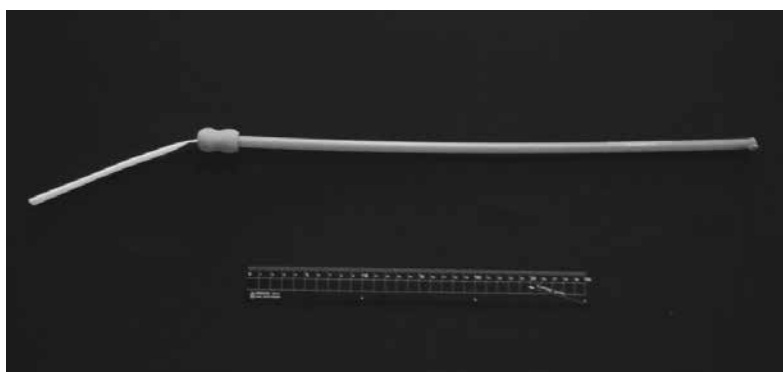


図1 absolute カテーテル

表1 抗酸化剤給与と通常飼養の受胎率比較

	離乳後発情 回帰(日)*	交配方法	供試豚数 (頭)	受胎頭数 (頭)
試験区	9.5±13.2	自然交配	5	5(100%)
		人工授精	5	4(80.0%)
対照区	13.4±26.1	自然交配	9	8(88.9%)
		人工授精	3	2(66.7%)

*平均値±標準偏差

表2 凍結精液の人工授精方法の差異による受胎率比較

	精子注入器	供試 種雌豚 (頭)	人工授精 回数	融解液への 添加物	精子注入 部位	受胎率 (%)
旧	深部注入 カテーテル	13	2	なし	子宮角深部	46.2
新	absolute カテーテル	8	2	精漿5mL	子宮体部	75.0

表3 母豚飼料への抗酸化剤添加による受胎成績

区	供試 頭数	平均産次 (産)*	離乳後発情 回帰(日)*	受胎(%)
AI区	7	7.4±5.8	5.6±2.0	3(42.9)
AI添加区	7	4.0±2.1	4.3±0.8	4(57.1)
対照区	7	5.0±3.4	4.6±0.8	6(85.7)

*平均値±標準偏差

表4 離乳後発情の交配で不受胎個体の次回発情状況

区	不受胎頭数	発情回帰(日)*	自然交配(頭)		自然交配未実施(頭)
			受胎	不受胎	
AI区	4	32.0±4.0	2	1	1
AI添加区	3	39.0±10.5	2	1	0
対照区	1	21	1	0	0

*平均値±標準偏差

表5 カフェイン添加した凍結精液人工授精の受胎成績

区	供試頭数	平均産次*	交配回数	受胎(%)
凍結精液	12	4.5±2.1	発情翌日の朝夕2回人工授精	4(33.3)
自然交配	12	6.8±4.4	発情初日と翌日に1回ずつ*	6(50.0)

*平均値±標準偏差 **3頭は初日に1回のみ

表6 供試凍結精液の成績

種雄豚No.	過去受胎実績		今回受胎実績	
	AI頭数	受胎頭数	AI頭数	受胎頭数
9231	1	0	1	0
9323	2	2	2	1
9389	3	2	1	1
9418	0	0	2	0
9475	4	2	1	0
9547	2	1	1	1
9595	2	1	1	0
9716	3	0	1	1
10241	1	1	1	0
10758	2	1	1	0

過去の人工授精で受胎実績があり、今回不受胎の種雄豚

表7 凍結精液人工授精による産子数

	分娩母豚(頭)	交配時期	平均産子数(頭)*	最少頭数-最多頭数
凍結精液	17	2016年8月～2018年8月に人工授精	7.5±2.6 ^a	3-13
自然交配	17	2017年8～10月	11.1±3.1 ^b	4-16

*平均値±標準偏差 異符号間に有意差あり(P<0.01)

【発表資料】

- 鈴木亜由美(2017)豚の繁殖衛生セミナー通信 43:20-21