

凍結精液によるトウキョウ X 遺伝資源保存と 効率的子豚生産に向けた検討

鈴木亜由美*・上原由史^a

東京都農林総合研究センター

摘 要

凍結融解後の精子活力が高いブタ凍結精液の作製方法が、大分県と広島大学により共同開発された（「受胎率および産子数向上豚凍結精液およびその製法」，特許 2007-325313）。この方法に従ってトウキョウ X 種雄豚 19 頭の凍結精液を作製し，遺伝資源として保存した。このうち 10 頭については人工授精により子豚生産能力を確認し，一部は子宮角深部注入法による 1 発情中 1 回の人工授精でも受胎・分娩に至った。いずれも自然交配時に近い産子数が得られたことから，作製した凍結精液は生産現場における種豚生産への活用が期待できる。

キーワード：トウキョウ X，ブタ凍結精液，人工授精，子宮角深部注入法

東京都農林総合研究センター研究報告 10: 33-37, 2015

2014 年 10 月 15 日受付，2015 年 1 月 14 日受理

緒 言

ブタ精液の凍結保存技術の歴史は古く，様々な改良がなされてきたが，融解後の精子活力が低いため受胎率が低く，産子数も自然交配に比べて少ないことから，一部の種畜生産などで利用されるにとどまっており，生産現場ではほとんど利用されていない。東京都で育種改良した銘柄豚・トウキョウ X においても，これまで維持群の凍結精液を作製・保存しているが，資質改良を目的に若干の利用実績はあるものの，生産効率の問題などから，あまり活用されていない。しかし，凍結精液は優秀な種雄豚の能力を後世でも利用するための有効な手段であり，また古い世代の精液を利用して，維持群の近交係数の上昇を抑えることができる。凍結精液を単なる遺伝資源の保存だけ留まらず，優良種豚の生産などに活用していく

ためには，より実用性の高い精液保存技術が求められる。

近年，凍結融解後の精子活力が高いブタ凍結精液作製方法が，大分県農林水産研究指導センターと広島大学によって共同開発され，特許が取得された。東京都農林総合研究センターでは，両者と特許技術使用許諾契約を締結してこの製法を導入し，トウキョウ X の凍結精液を作製した。従来のストロー法（豚凍結精液利用技術マニュアル，一部改変）で同じ精液を用いて凍結精液を作製し，融解後に比較したところ，特許製法では運動精子率が高く推移し，精子生存指数の低下が緩やかで，高い精子活力が長時間維持されることが示され（上原・太田，2011），種豚生産など実用性が高いと推察した。

これまで凍結精液による人工授精は，融解後の精子活力が低いことから，1 発情期間中に 2～3 回繰り返して実施することが推奨されてきた。しかし，既に廃用された種雄豚などの精液は数量に限りがあることから，使用

*著者連絡先 鈴木亜由美 E-mail a-suzuki@tdfaff.com

^a現・東京都農業振興事務所

量は最小限に抑える必要がある。今回特許製法により作製した凍結精液は、融解後の高い精子活力が維持されることから、1発情期間中の人工授精回数を減じたときの受胎の可能性について検討した。

今回、遺伝資源として作製・保存した凍結精液による生産性を確認するため、種雌豚に人工授精して受胎・分娩率および産子数を調査し、また希少な種雄豚の凍結精液を効率的に利用するため、人工授精回数の低減を試みたので報告する。

材料および方法

1. 凍結精液の作製

青梅畜産センターで飼養している、トウキョウX維持群の種雄豚20頭から精液を採取した。種雄豚を偽牝台または発情した種雌豚に乗駕させ、膠様物をガーゼで除きながら手圧法で濃厚部精液のみ40から50ml採取し、特許製法に従って処理した。処理した精液はストロー精液管（富士平工業）に0.5mlずつ封入し、液体窒素中で20分間予備凍結した後、液体窒素中に投下して凍結した。

2. 人工授精による凍結精液の子豚生産能力確認

作製した凍結精液による受胎・分娩を確認するため、トウキョウX種雌豚（未経産～13産）に人工授精した。1回の人工授精には0.5mlストロー10本（精子数約50億）を使用し、37℃の温水に1分間浸して融解し、pHを7.0～7.1に調整した融解液（モデナ液）45mlに懸濁した。これを50ml注射筒に充填して精子注入器に装着し、自然発情した種雌豚に1発情期間中1～3回人工授精した。精

子注入器は一般的な頸管カテーテルなど数種を用いた。受胎はノーリターン法により鑑定し、青梅畜産センターにおける通常の母豚管理方法に従い分娩させた。

3. 人工授精回数の低減化の検討

ブタの発情はおよそ21日周期で回帰し、約2～2日半持続する。排卵は発情開始から25～40時間後に起こるとされ、発情後半の交配および人工授精が有効であるとされている（岩村，2005）。また山口・村上（2007）は、性腺刺激ホルモンの投与により排卵の同期化を施すことで、凍結精液による1回の人工授精での受胎を報告している。今回作製した凍結精液は、融解後の高い精子活力が長く維持されることから、排卵のタイミングに近いと推測される。種雌豚の発情の中～後期に1回または2回人工授精して、受胎を検証した。太田・川手（2009）は凍結精液の人工授精において深部注入カテーテル（ファイア・フレックス）を用いて高い受胎成績を得ていることから、今回も同タイプの子宮深部注入用カテーテル「TAKUMI」（富士平工業，図1。以下、深部注入カテーテル）を用いた。種雌豚の外陰部よりガイドカテーテルを子宮頸管まで挿入してから、インナーカテーテルを子宮深部へ挿入し、40～60cm挿入したところで精液をゆっくりと注入した。人工授精に用いる種雌豚は、雌側の不受胎要因を除外するため、本試験における人工授精の前後に自然交配によって受胎・分娩の実績があるものとした（未経産豚を除く）。また、カテーテル挿入時に出血または精液の逆流が認められた場合は、例数から除いた。平均産子数は一元配置による分散分析で解析した。

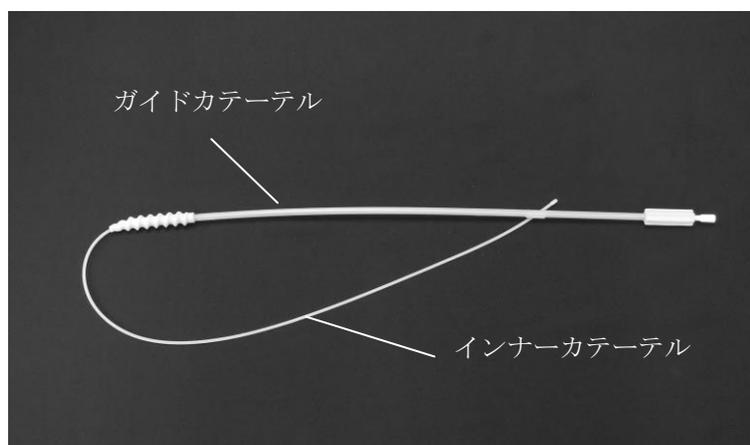


図1 深部注入カテーテル

結果と考察

1. 遺伝資源保存としての凍結精液

トウキョウX維持群の10の血統グループから各血統1頭以上、のべ20頭の種雄豚から合計65回採精し、凍結処理を行った。このうち、融解時の精子運動率が50冊（活発に運動している精子が50%存在する）未満だったものは夏季を中心に5例（4頭）あったが、他はすべて50冊以上だった。最終的に、19頭の種雄豚の凍結精液2,850本を遺伝資源として保存した（表1）。今回は世代が古く、維持

群の中では高齢な種雄豚を中心に、種雄豚1頭につき100本以上の保存を目標にしたが、精液採取が困難な個体があり、すべての種雄豚で十分な本数を保存できず、血統ごとの保存数にも偏りが生じた。今後、作製・保存数が少ない血統については、次世代の種雄豚精液を凍結保存し、遺伝資源として補完していく必要があるが、その前提として、精液の採取は種雄豚に早期から偽牝台への乗駕トレーニングを施し、精液採取に馴致させることが肝要である。

表1 凍結保存したトウキョウX種雄豚精液

種雄豚No.	世代	血統	保存数 ^{a)} (0.5ml, 本)	融解後 活力 ^{b)}
6644	8	A	39	70冊
7943	9	A	196	50冊
9177	7	A	48	60冊
6229	8	B	56	50冊
3003	8	C	55	50冊
6751	8	C	43	60冊
3645	8	D	231	80冊
3258	8	E	83	70冊
3857	8	E	9	50冊
3682	9	F	412	50冊
5179	9	F	8	60冊
7393	9	G	145	65冊
7795	9	G	199	70冊
2923	9	H	178	75冊
6844	9	H	129	70冊
7988	10	H	495	60冊
7311	8	I	247	70冊
9418	9	I	92	60冊
6127	9	J	165	70冊

a) 2014年8月現在.

b) 100冊（すべての精子が活発に運動する）を最高値とした、各作製ロットの最高値

2. 人工授精による凍結精液の子豚生産能力確認

種雌豚への人工授精の結果、のべ18頭が受胎・分娩に至り、種雄豚10頭の凍結精液が子豚生産能力を有することが確認された（表2）。受胎が未確認の種雄豚9頭のうち、7頭は既にへい死しているかまたは精液採取が非常に困難な個体であり、保存数が十分でないため、今回の試験では確認を断念した。また、種雄豚No.2923とNo.7943については、人工授精を複数回実施したが、今回は受胎を確認できなかった。

受胎・分娩に至った凍結精液の融解時の精子活力は、

80冊から最も低いもので50冊だった。産子数は平均7.0頭（死産・黒子を含む）であり、トウキョウX維持群の平均産子数（2012～2013年196頭の実績）8.8頭より1.8頭少なかった。しかし、受胎した種雄豚はすべて分娩に至っていることから、子豚生産能力は十分にあると言える。以上の結果から、今回作製・保存した凍結精液は、人工授精により自然交配に近い頭数の産子を得ることが可能であり、トウキョウXの遺伝資源保存として有効な手段と言える。

表2 受胎・分娩に至った凍結精液 (種雄豚)

種雄豚No.	世代	血統	融解後 精子活力	受胎頭数	産子数* (頭)
3003	8	C	60 μ	1	2.0
3645	8	D	60 μ ~80 μ	5	8.4
3258	8	E	70 μ	1	3.0
3682	9	F	50 μ	1	3.0
7795	9	G	60 μ	2	7.5
7393	9	G	60 μ ~70 μ	3	7.7
7988	10	H	50 μ	1	11.0
6844	9	H	60 μ	2	6.5
7311	8	I	70 μ	1	8.0
6127	9	J	50 μ	1	6.0

*複数例あるものは平均値, 黒子を含む

3. 人工授精回数の低減化の検討

種雌豚16頭の発情確認後6から29時間後に、深部注入カテーテルで1回人工授精した結果、7頭が受胎・分娩に至った(表3)。受胎した精液は種雄豚5頭のもので、特定の種雄豚精液ではないことから、1回の人工授精による受胎の可否は、精液の能力差である可能性は低いと考える。また受胎率は、上記期間中に2回人工授精した群と同等の結果だった(表3)。しかし、いずれも同様タイプの深部注入カテーテルを使用した太田らの報告よりも受胎率・産子数ともに低い結果だった。この原因として、試験期間中のトウキョウX維持群の、自然交配による受胎率が59.4%と低下しており、群としての繁殖性が低下していることが一因にあると考えられる。また、深部注入カテーテルを挿入した際に出血のあった個体が散見されたことから、出血は見られなくてもインナーカテーテル挿入時に子宮内を損傷させ、受胎に影響したことも推察される。試験開始当初、一般的に使用されてい

る頸管カテーテルを用いて人工授精を実施していたが、精液の逆流が多発したため受胎率が低く、また受胎しても産子数が少なかった(表4)。深部注入カテーテルは精液の逆流が起らず、未経産豚にも使用できることから、トウキョウXに適した人工授精器として今回の試験に用いたが、人工授精の方法をさらに検討し、受胎率を向上させる必要がある。

一方、産子数は受胎した種雌豚が直近に自然交配で分娩した時と比較して、有意な差が見られなかったことから(図2)、今回作製した凍結精液は人工授精の1回または2回の実施で、自然交配時と近い産子が得られると期待される。

今後は受胎率の向上が課題であるが、岡崎ら(2011)は融解液に精漿を加えることにより、液状精液と同等の受胎成績を得ており、これらの知見を参考に成績向上を目指していきたい。

表3 深部注入カテーテルを用いたときの受胎成績

人工授精回数	実施種雌豚 (のべ頭数)	受胎種雌豚 (頭)	凍結精液 (種雄豚頭数)	受胎率 (%)	産子数* (頭)
1	17	7	5	41.2	7.1 \pm 3.2
2	13	6	5	46.2	7.5 \pm 3.3

*平均値 \pm 標準偏差, 黒子を含む

表4 異なる人工授精器による産子数の比較

母豚No.	凍結精液		人工授精		産次	産子数* (頭)
	種雄豚No.	作製日	回数	カテーテル		
4483	3645	2011.8.5	3	頸管	10	4(1)
			1	深部注入	11	11(1)

*()内は黒子

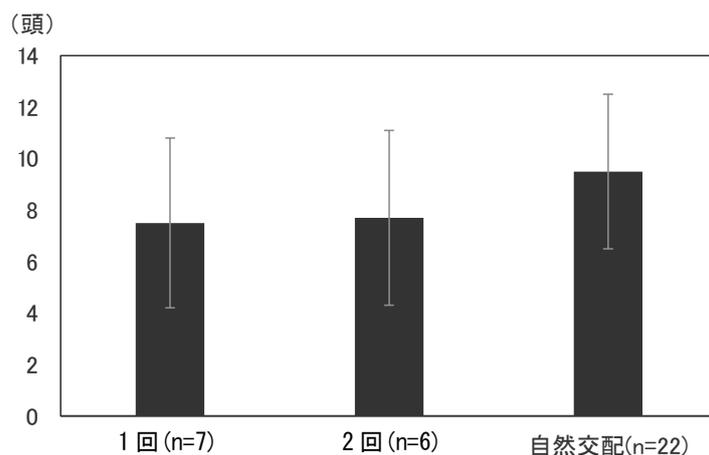


図2 人工授精回数の違いによる産子数の比較

(エラーバーは標準偏差, nは例数を表す。)

近年、トウキョウXの肉質にばらつきが多く見られ、長年の維持による開発当初からの種豚の資質変化が指摘されている。これに対し、古い世代の凍結精液を種豚生産に利用することで、種豚の斉一性を高め、トウキョウXの品質安定を図ることができる。また夏季など精液性状が低下する時期や、種雄豚の乗駕欲不振の際でも、凍結精液の人工授精により生産性の低下を抑制できる。今後、多様な種雄豚の凍結精液を作製・保存し、トウキョウXの優良資質の活用を進め、生産拡大に役立てていく。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、凍結精液の作製方法についてご指導・ご助言いただいた大分県農林水産研究指導センター岡崎哲司氏、トウキョウXの精液採取や種雌豚の繁殖管理にご協力いただいた当センター豚班職員に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 岩村祥吉 (2005) 豚の繁殖生理と繁殖障害 (1). All About Swine 26 : 13-17.
- 上原由史・太田久由 (2011) 凍結精液作製法の違いによる精子の生存性へ及ぼす効果. 平成 23 年度東京都農総研研究速報 : 61-62.
- 太田久由・川手秀一 (2009) 豚精液の凍結技術開発～トウキョウXの凍結精液利用による種豚の近交係数維持～. 平成 20 年度東京都農総研成果情報 : 193-196.
- 岡崎哲司・秋好禎一・管 正和・手島久智・島田雅之 (2011) 精漿含有融解液を用いた豚凍結精液による人工授精試験. 日豚会誌 48 : 164-168.
- 丹羽太左衛門監修 (1989) 豚凍結精液利用技術マニュアル. 日本家畜人工授精師協会発行 : 34-38.
- 山口昇一郎・村上徹哉 (2007) 豚の排卵同期化・定時 1 回人工授精における凍結融解精子の活力および人工授精実施時間の違いが繁殖成績に及ぼす影響. 福岡県農業総合試験場研究報告 26 : 65-68.