

## 豚凍結精液の受胎試験について

松川善昌 玉城敬 松井孝  
 長嶺良光 官里松善 大城清昌  
 今田哲雄 橋爪力 丹羽太左衛門

### I はじめに

豚の人工授精は現在一般的に低温保存精液または15°C保存精液によって行なわれているが、有効保存日数に限度があるため広域利用に難点がある。

また、豚凍結精液による人工授精は多くの国で実施されているが実験段階の域を出ていない。<sup>8),9)</sup>  
 1),2),  
 3),4),6),7),10),20),21),31),32),34),35),36)  
 丹羽らは豚精液を錠剤化法で凍結し、その保存精子の生存性、代謝、形態等について調査を行なっている。<sup>22),23),24),26),28),29),30)</sup>

本試験は岩手大学農学部家畜人工授精研究室の要請により、丹羽らの製造した豚凍結精液を用いて岩手大学農学部、山形県養豚試験場そして当場の共同で実施したものである。

※山形県養豚試験場  
 ※※岩手大学  
 ※※※現東京農業大学

### II 試験材料及び方法

#### 1. 試験期間

第1回試験：1979年12月～1980年9月

第2回試験：1981年1月～1981年8月

第3回試験：1982年3月～1982年7月

#### 2. 供試豚凍結精液

岩手大学農学部家畜人工授精研究室（第1回と第2回試験）および山形県養豚試験場（第3回試験）で錠剤化法により製造したL種、W種、H種、計3品種8個体の精液を供試した。これらの凍結精液は受胎試験に供するまで液体窒素中（-196°C）に保管した。なお、凍結精液の輸送には自動車および航空機（仙台～那覇）を利用した。

#### 3. 供試雌豚

当場および沖縄県中部種畜育成センター（第3回試験）繋養豚で健康状態良好なL種経産豚（2～6産）19頭を供試した。

#### 4. 凍結精液の融解および人工授精

所定量の錠剤化凍結精液を液体窒素中から発泡スチロール容器に移し、室温で3分間静置した<sup>30)</sup>  
 後、あらかじめ50°Cに加熱したITS-1融解液<sup>23),26)</sup>50ml中に入れ、よく振とうして融解し、融解精液はただちに人工授精に供した。なお、これらの凍結精液は受胎試験を行う前にあらかじめ精子の生存性およびアクロソーム異常率について検査した。

人工授精は原則として1発情に2回（雄許容1日後と1日半後）行なった。なお、人工授精時

において精子活力と生存率ならびに注入精液量を測定した。

### Ⅲ 試験結果及び考察

#### 1. 受胎成績

受胎・分娩例における注入精液の性状および分娩成績を表-1に、不受胎例における注入精液の性状を表-2に示した。

表-1 受胎・分娩例における注入精液の性状および分娩成績

	雌豚名	精液名	保存日数	※※ 精子生存 指数	アクロソーム 異常率	注入精液量		産子数	受胎率
						1回目	2回目		
第一回	1	H-1	55日	55	-%	60 ml	60 ml	15頭	40.0% (2/5)
	2	L-3	169	50	33.4	45	60	11	
第二回	3	L-4	1,538	58.8	24.7	45	49	11	30.3 (3/9)
	4	H-1	263	58.8	-	31	60	10	
	5	H-1	309	58.8	-	60	60	7	
第三回	6	L-1	100	55	37.0	20	35	12	60.0 (3/5)
	7※	L-2	106	65	44.6	60	60	4	
	8※	L-1	111	55	37.0	60	60	6	
平均			331.4 ±495.2	57.1 ±4.4	35.3 ±19.1	47.6 ±15.4	55.5 ±9.1	9.5 ±3.6	42.1 (8/19)

注) ※沖縄県中部種畜育成センター繁殖豚

※※融解後精液を37°C 30分間インキュベートしたときの精子活力を精子生存指数で示した。

表-2 不受胎例における注入精液の性状

	雌豚名	精液名	保存日数	※※ 精子生存 指数	アクロソーム 異常率	注入精液量	
						1回目	2回目
第一回	9	L-8	155日	55	41.7%	60 ml	60 ml
	10	L-1	166	60	37.0	60	60
	11	W-1	164	55	22.3	26	60
第二回	12	L-5	201	60	-	60	60
	13	L-5	214	60	-	60	55
	14	L-4	1,540	58.8	24.7	60	60
	15	L-5	225	60	-	57	30
	16	H-1	234	58.8	-	60	60
	17	L-4	1,562	58.8	24.7	58	55
第三回	18※	L-2	111	65	44.6	60	60
	19	L-1	168	55	37.0	44	60
平均			430.9±554.9	58.8±3.0	33.1±9.1	55.0±10.7	56.4±8.9

注) ※沖縄県中部種畜育成センター繁殖豚

※※融解後精液を37°C、30分間インキュベートしたときの精子活力を精子生存指数で示した。

第1回試験において5頭の経産豚に人工授精し2頭が受胎・分娩して、受胎率、分娩率とも40.4%で平均産子数は13頭(15頭と11頭)であった。

第2回試験においては9頭の経産豚に人工授精、3頭が受胎・分娩して受胎率、分娩率とも33.3%で、平均産子数は9.3頭(7~11頭)であった。

そして第3回試験においては5頭の経産豚に人工授精して3頭が受胎・分娩、受胎率および分娩率が60.0%、平均産子数は7.3頭(4~12頭)であった。

また、第1回から第3回までの成績は19頭中8頭が受胎・分娩し、受胎率および分娩率が42.1%、平均産子数が9.5頭(4~15頭)であった。なお、第1回試験の結果についてはすでに丹羽<sup>25),27)</sup>らが岩手大学および山形県養豚試験場の受胎試験成績とあわせて報告しており、岩手大学においては受胎率71.4%(5/7)、分娩率51.7%(4/7)、平均産子数4.8頭(3~7)、そして、山形県養豚試験場においてはそれぞれ54.5%(6/11)、45.5%(5/11)、8.2頭(3~15頭)であり、当场における成績は両者に比較して受胎率および分娩率が低いが、平均産子数は多かった。Larsson<sup>16)</sup>は主要な豚凍結精液の受胎試験成績について解説しており、受胎率および産子数はそれぞれPursel & Johnson, 81.8%(27/33)~63.9%(92/144)、9.5頭、Westendorfら69.2%(139/201)、8.4頭、Paquignon & Courot、57.8%(80/138)、9.7頭、そしてLarssonらの成績が72.0%(28/36)、9.7頭であったと述べている。入谷は各国における凍結精液の現状について総説し、19か国における平均受胎率は53%(30~65%)、また、Osinowo<sup>31)</sup>らは、分娩率34.4%(11/32)、平均産子数6.8頭(2~10)、さらに鄭<sup>2),3),4)</sup>らは受胎率48.3%(29/60)~90.0%(18/20)、平均産子数8.0~8.9頭であったと報告している。

Paquignon<sup>22)</sup>らは分娩率および産子数が経産豚において59.8%(202/338)、9.5頭、未經産豚が41.9%(18/43)、7.0頭であり、両方をあわせて57.8%(200/381)、9.3頭と述べ、経産豚と未經産豚間の分娩率には有意差(P<0.05)が認められたと報告している。日本においては和出<sup>35),36)</sup>らがアルミパックによる薄層凍結精液を用いて8頭の経産豚と12頭の未經産豚について受胎試験を行い、受胎率70.0%、(14/20)、分娩率60.0%(12/20)、平均産子数8.6頭(3~13頭)、三川<sup>20)</sup>らも受胎率22.5%(20/89)、平均産子数6.0頭(1~12頭)と報告している。

以上のように凍結方法等の違いはあるものの受胎率あるいは分娩率が22.5~90.0%、平均産子数が6.0~9.7頭とかなりの巾がみられ、著者らの今回の試験においても受胎率・分娩率が33.3%~60.0%、平均産子数が7.3~13.0頭であり、同様な傾向がみられた。

Johnson<sup>10)</sup>らは凍結・融解精液の成績は新鮮精液に比べ分娩率で約30%(47.0 Vs 79.1%)、産子数で約3頭(7.4 Vs 10.6頭)劣ることを報告しており、今回の試験においては分娩率には同様な傾向がみられたが、産子数は特に劣らなかった。

豚凍結精液の受胎試験において早期流産の例が比較的多くみられるが、今回の試験においては3回をとおして1度もみられなかった。

## 2. 注入精液の保存日数及び性状

今回の受胎、分娩例における注入精液の保存日数は平均331.4日(55~1,538日)、精子生存指数は57.1(50~65)、アクロソーム異常率は35.3%(24.7~44.6%)、そして注入精液量は第1回目注入が47.6 ml(20~60 ml)、2回目注入において55.5 ml(35~60 ml)であった。

不受胎例における注入精液の保存日数は430.9日(111~1,562日)、精子生存指数は58.8

(55~65)、アクロソーム異常率は33.1% (22.3~44.6%)、そして注入精液量は第1回目が55.0 ml (26~60 ml)、第2回目が56.4 ml (30~60 ml)であった。なお、注入精子数については第3回試験においてのみの測定であるが、受胎・分娩例の平均が1回目注入38.0億、第2回目注入41.9億であり、不受胎例における平均が第1回目注入43.5億、第2回目注入50.1億であった。以上のように注入精液の性状は受胎・分娩例および不受胎例とも各項目において特に差は認められなかった。

和出らは、<sup>35), 36)</sup>薄層豚凍結精液を液体窒素中(-196℃)に保存し、2,000日間の長期保存においても精子生存性が良好に維持されることを認め、また510日保存による受胎・分娩例を報告し、<sup>12)</sup> 又は2カ月保存及び8カ月保存の豚凍結精液の受胎率及び分娩子豚数に差はなかったと述べている。また、今回の試験における受胎・分娩例の精液保存日数は平均で331.4日、最長保存日数は1,538日であり、豚凍結精液が-196℃保存により長期間受精能力を保持することが認められた。

今回の試験においては注入精液量が60 ml、精子数が60億になるように調整して人工授精を実施したが、<sup>9), 9)</sup>入谷は現在世界的に一般的な注入精液量と精子数はそれぞれ50~100 ml、30~50億、<sup>15), 18)</sup>Larssonらは45億、<sup>33)</sup>Purselらは60 ml、60億、<sup>32)</sup>Paquignonは100 ml、100~120億としており、<sup>35), 36)</sup>我国においては丹羽らが60 ml、60億、和出らは約65 ml、23億であり、一般的に精子数が新鮮精液の授精に比較して多い傾向がみられる。

<sup>13)</sup> 又は精子数30億の精液は分娩率において60億および90億より劣る ( $P < 0.05$ )ことを報告し、<sup>20)</sup> 最も良い繁殖成績を上げるには60億以上の精子数が必要だと述べている。しかし、三川らは受胎例および不受胎例において注入精液量および精子数の差は認められず、また産子数に対する注入精液量は精子数の影響はみられなかったと報告している。今回の試験においても三川らと同様に<sup>20)</sup> 注入精液量によって受胎率あるいは産子数に特別な影響はみられなかった。

今回の受胎試験においては原則として1発情につき雄許容1日後と1日半後の2回精液注入を行った。各国における精液注入時期をみると、<sup>33)</sup>Pursel and Johnsonは雄許容25時間と42時間後の2回注入、<sup>18)</sup>Larssonらは発情2日以後16時間間隔で2回注入、<sup>10)</sup>Johnsonらは雄許容12~24時間後に1回、<sup>16)</sup>Paquignonらは雄許容24~48時間後に1回注入の報告をしている。また、<sup>9)</sup>入谷は世界的に発情2日目の午前と午後の2回授精される場合が多いと述べ、いずれにしても液状保存精液による人工授精に比べ、注入時期が遅い点で共通している。

<sup>15), 16)</sup> Paquignonらは発情1日目の授精より排卵に近い2日目授精の方が良い受胎成績を得、<sup>14)</sup>Larssonは排卵の2~6時間前の授精で最も良い受胎率を得ている。そして、<sup>34)</sup>Salamon & Visserは卵管授精により排卵前授精が排卵後授精より受胎率が良かったことを報告している。

### 3. 種雄豚別の受胎試験成績

種雄豚別受胎試験成績を表-3に示した。

表-3 種雄豚別受胎試験成績

精液名	平均保存日数	精子生存指数	アクロソーム異常率	受胎率	平均産子数
L-1	136.3±35.8日	56.3	37.0%	55.0% (2/4)	9.0±4.2頭
L-2	108.5± 3.5	65.0	44.6	50.0 (1/2)	4.0
L-3	169.0	50.0	33.4	100.0 (1/1)	11.0
L-4	1,546.7± 13.3	58.8	24.7	33.3 (1/3)	11.0
L-5	213.3± 12.0	60.0	-	0 (0/3)	-
L-8	155.0	55.0	41.7	0 (0/1)	-
H-1	215.3±111.2	57.9	-	75.0 (3/4)	10.7±4.0
W-1	164.0	55.0	22.3	0 (0/1)	-
総計	389.0±518.7	58.0±3.6	34.1±8.1	42.1 (8/19)	9.5±3.6

豚精子の凍結融解後の精子生存性および受精能力は雄個体による差が著しいことが知られている。<sup>1),2),10),11),17),19),32),37)</sup>

また、さらに精子活力やアクロソーム形態には差がないにもかかわらず高受胎群と低受胎群が存在することも知られており、Polge によると高受胎群の受胎率は95% (18/19) ~ 100% (20/20)、低受胎群が33% (5/15) ~ 69% (11/16) であり、鄭らは受胎率および平均産子数がそれぞれ高受胎群 76.7% (23/30)、8.7頭、低受胎群が20.0% (6/30)、5.3頭であったと報告している。<sup>2),8),9) 8),9)</sup>

今回の試験に用いた種雄豚は8頭であり、いずれも精液性状がよく、また各個体においてほとんど差がみられなかった。しかし、受胎成績をみると、H-1は4頭中3頭が受胎・分娩し受胎率が75%、平均産子数が10.7頭と良好であるが、L-5は3頭に授精していずれも不受胎に終わった。

#### 4. 凍結精液による子豚成績

凍結精液による子豚成績は表-4のとおりである。

表-4 凍結精液による子豚成績

	雌豚名	精液名	分娩年月日	産子数	平均体重			育成率 (35日)	産次
					生時	35日令	60日令		
第一回	1	H-1	1980. 5.25	15頭	1.22 kg	5.96 kg	14.45 kg	86.7%	5産
	2	L-3	1980. 9. 3	11	1.66	6.50	15.60	66.7	6
第二回	3	L-4	1981. 5.15	11	1.11	8.61	16.48	90.0	6
	4	H-1	1981. 7. 8	10	1.46	8.92	17.19	90.0	5
	5	H-1	1981. 8.22	7	1.50	7.25	16.20	100.0	5
第三回	6	L-1	1982. 6.28	12	1.26	5.36	13.89	100.0	8
	7※	L-2	1982. 7. 6	4	2.13	-	16.78	100.0	3
	8※	L-1	1982. 7. 8	6	1.75	-	12.07	100.0	6
平均				9.5±3.6	1.51±0.33	7.10±1.44	15.33±1.74	91.7±11.5	5.5±1.4

注) ※ 沖縄県中部種畜育成センター繁殖豚

今回、凍結精液の人口授精により8腹の分娩例をみたが、いずれも生時体重、発育および育成率等において特に問題はなかった。

#### IV 要 約

岩手大学農学部家畜人工授精研究室の要請により、丹羽らの製造した豚凍結精液を用いて受胎試験を実施した。供試凍結精液はL種、W種、H種の3品種8個体から製造し、供試雌豚はL種経産豚(2~6産)19頭であった。人工授精は1発情に2回行った。その成績の概要は以下のとおりであった。

1. 受胎成績については、19頭の経産豚に授精して8頭が受胎・分娩、受胎および分娩率が42.1% 平均産子数が9.5頭であった。
2. 受胎・分娩例における注入精液の保存日数は平均331.4日(55~1,538日)、精子生存指数は57.1 アクロソーム異常率は35.3%、そして注入精液量は1回目が47.6 ml、2回目は56.4 mlであった。なお、注入精子数(第3回試験のみ)は1回目注入において38.0億、2回目注入においては41.9億であった。また、注入精液の性状は受胎・分娩例と受胎例において特に差は認められなかった。
3. 凍結精液による子豚成績は、生時体重、発育および育成率等において特に問題はなかった。

謝辞:

稿を終わるにあたり、第3回試験にご協力いただいた沖縄県中部種畜育成センター外間善一郎所長、喜屋武盛徳主任技師および与那嶺盛光技師に衷心より感謝の意を表する。

V 文 献

- 1) 番場公雄・飯田勲・小島義夫、豚凍結精液による受胎例について、家畜繁殖誌、18、1、37、1972
- 2) 鄭三實・戈定軍・郭有海、公猪冷凍精液之研究
  1. 濃縮処理、稀釈液和解凍液対精虫生存率之影響・及粒状冷凍精液生殖力之効果、台糖公司畜産研究所研究試験報告、64-65年期、7~23、1976
- 3) 鄭三實・翁森昌、公猪冷凍精液及其生育能力之研究、台糖公司畜産研究所研究試験報告、63~64年期、9~34、1975
- 4) 鄭三實・翁森昌、初步探討三種公猪冷凍精液稀釈液生殖能力之効果、中国畜牧学会会誌、5. 1-2、43~52、1976
- 5) Einarsson S., and Viring S., Distribution of frozen -thawed spermatozoa in the reproductive tract of gilts at different time intervals after insemination, J. Reprod. Fert., 32, 117~120, 1973
- 6) 原島昇昱他3名、豚凍結精液による1受胎分娩例について、凍結精液研究会報、42、14~15、1974
- 7) 原島昇昱他3名、豚凍結精液に関する試験・グリセリン添加稀釈液(糖)の組成ならびに受胎成績について、凍結精液研究会報、44、4~7、1974
- 8) 入谷明、各動物種における精子凍結保存上の問題点、畜産の研究、35、4、17~24、1981
- 9) Iritani A., Problems of freezing spermatozoa of different species, 9th Intern. Congr. Anim. Reprod. A. I. (Madrid)、1、115~132、1980
- 10) Johnson L. A. et al, Use of boar spermatozoa for artificial insemination. I. Fertilizing capacity of fresh and frozen spermatozoa in sows of 36 farms., J. Anim. Sci., 52、5、1130~1136、1981
- 11) 加藤征史郎他3名、豚精子の凍結能における個体差、凍結精液研究会報、44、7~10、1974
- 12) 戈福江、台湾の液状豚精液の人工授精の普及および凍結豚精液の研究、日豚研誌14、3、161~164、1977
- 13) 戈福江他3名、公猪冷凍精液之研究 II. 冷凍保護剤与授精精虫数対生殖力之影響、台糖公司畜産研究所研究試験報告、65-66年期、29~37、1977
- 14) Larsson K., Fertility of deep frozen boar spermatozoa at various intervals between insemination and induced ovulation, Acta vet scand., 17、63~73、1976
- 15) Larsson K., Deep -freezing of boar semen, Cryobiology, 15、352~354、1978
- 16) Larsson K., Current reseach on the deep freezing of boar semen, wld. Rev. Anim. prod., XIV, 4, 59~64, 1978
- 17) Larsson K. and S. Einarsson, Fertility of deep frozen boar

- spermatozoa. Influence of thawing diluents and of boars, *Acta vet. scand.*, 17, 43~62, 1976
- 18) Larsson K. et al, The development of a practicable method for deepfreezing of boar spermatozoa, *Nord. vet. Med.*, 29, 113~118 1977
- 19) 丸山淳一・丹羽太左衛門、2. 豚精子の凍結保存に関する研究、II. 各種凍結条件下における豚精子の凍結能と精子凍結能の個体差について、*岩手大農・人工授精研報*、1、86、1981
- 20) 三川和子・武政安一、豚凍結精液の実用化に関する試験（第11報）、*埼玉畜試年報*、56-(1)、96~99、1981
- 21) 三川和子他4名、豚凍結精子の生存性および受胎力、53、11~13、1977
- 22) 丹羽太左衛門・橋爪力、錠剤化法による豚精液の凍結保存に関する研究、II. 融解後の精子生存性および精子アクロソームの形態について、*岩手大農・人工授精研報*、3、1~8、1981
- 23) 丹羽太左衛門・橋爪力、錠剤化法による豚精液の凍結保存に関する研究、III. 融解液中の各種添加物が精子の保存性およびアクロソームに及ぼす影響について、*岩手大農・人工授精研報*、3、9~15、1981
- 24) 丹羽太左衛門・橋爪力、錠剤化法による豚精液の凍結保存に関する研究、IV. 自国産および輸入豚凍結精液の性状と精子生存性について、*岩手大農・人工授精研報*、3、16~23、1981
- 25) 丹羽太左衛門・橋爪力、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・人工授精研報*、3、24~29、1981
- 26) 丹羽太左衛門・橋爪力、錠剤化法による豚精液の凍結保存に関する研究、IV. 融解液中の各種添加物が精子の生存性およびアクロソームに及ぼす影響について、*人工授精研誌*、3、3、92~95、1981
- 27) 丹羽太左衛門他5名、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、*日畜東北支部会報*、31、1、23~25、1981
- 28) 丹羽太左衛門他3名、豚精子の凍結保存に関する研究、XII. ペレット法による凍結豚精子の生存性と形態について、*日畜東北支部会報*、27、1、17~19、1977
- 29) 丹羽太左衛門他3名、ペレット法による豚精子の凍結保存について、*凍結精液研究会報*、54、3~4、1978
- 30) 丹羽太左衛門他3名、錠剤化法による豚精子の凍結保存に関する研究、1. 凍結および融解の方法について、*岩手大農・人工授精研報*、1、66~84、1981
- 31) Osinowo O. and S. Salamon, Fertility test of frozen boar semen, *Aust. J. Biol. Sci.*, 29, 335~339, 1976
- 32) Paquignon M et al, Effectiveness of frozen boar semen under practical conditions of artificial insemination, *Theriogenology*, 14, 3, 217~226, 1980
- 33) Pursel V.G. and L.A. Johnson, Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing Procedure, *J. Anim. Sci.*, 40, 1, 99~102, 1975



- 34) Salamon S. and D. Visser, Fertility after surgical insemination with frozen boar semen, Aust. J. Biol. Sci., 27, 499~504, 1974
- 35) 和出靖、豚精液の低温及び凍結保存、農水省畜試年報、18、101~110、1978
- 36) 和出靖他3名、家畜精液の液状及び凍結保存に関する研究、II. 豚凍結精子の生存性及び受胎力、家畜繁殖誌、23、3、105~112、1977
- 37) 和出靖他5名、豚精子の耐凍能について、凍結精液研究会報、54、6~9、1978