

琉球在来豚（アグー）の効率的繁殖技術の確立

(3) 膣内粘液電気抵抗値の変動と性ホルモン濃度の動態との関連

仲村敏 島袋宏俊 稲嶺修 山内昌吾*
吉元哲兵* 建本秀樹* 与古田稔

I 要 約

琉球在来豚（アグー）の授精適期を的確に判断することを目的に、正常な発情周期を呈するアグー（Ag）とランドレース（L）を供試して、発情前後6日間の膣内粘液電気抵抗（VER）値の変動および性ホルモンの動態との関連を比較したところ、結果は以下のとおりであった。

1. アグーは、1) VER 値が最低となる時期（Ag; 発情日の約 56 時間前, L; 約 24 時間前）、2) 血漿中エストロジェン（Estradiol-17 β ; E₂）濃度が最も高くなる時期（Ag; 発情日の約 16 時間前, L; 発情日）、3) 血漿中プロゲステロン（Progesterone; P₄）濃度が上昇する時期（Ag; 発情日の約 24 時間後, L; 約 28 時間）、4) LH サージの発現（Ag; 発情日の約 48 時間前, L; 約 24 時間前）のいずれもランドレースより早いことが確認された。このことから、アグーの発情行動、排卵はランドレースより早く起こることが示唆された。

2. 両品種共に VER 値が最低値を示したのは、LH サージが発現してから約 10 時間後であった。このことから経時的な VER 値の測定により LH サージを予見し、排卵時期を推察できると思われた。

3. VER 値と P₄ 濃度との間には高い有意な正の相関（P<0.001）が確認され、LH 濃度との間には有意な負の相関（P<0.05）が認められた。このことから、VER 値の測定により性ホルモンの動態を推察することが可能であると考えられた。

4. 排卵時期、精子の卵管到達時間などの時間的要因からアグーの授精適期は発情直後であると推察された。

5. 両品種ともに VER 値の変動および血漿中性ホルモンの動態に大きな違いは認められなかった。

以上のことから、VER 法は性ホルモンの動態を推察しながら発情日の推定が可能な有用な手法であると確認された。したがって、アグーの受胎率を高め、効率よく繁殖させるためには、VER 法を活用しながら発情状態を確認し、発情直後に1回目の授精を行う方法が最良な方法であると考えた。

II 結 言

豚の授精適期は通常、陰部の腫脹、発情行動や背圧反応などの発情徴候により判断している。しかし、アグーは発情徴候の発現に乏しく微弱発情や鈍性発情を呈する個体が多いため、繁殖効率を低下させる原因の一つとなっている¹⁾。そのため、アグーの生産性を高めるには発情判定や授精適期を的確に判定する技術が求められている。

著者ら¹⁾は VER 値の動態パターンは性周期とよく一致することを確認し、微弱発情を呈すアグーでも経時的に VER 値を測定することで、発情日を予測することは可能であると報告した。

一般的に授精適期をよりの確に判断するには、できるだけ正確な排卵時期を把握することが必要である。しかし、豚の発情開始から排卵までの時間は各研究報告によって様々で、発情開始と排卵時間との間にはかなりの差がある^{2~4)}。またアグーは一般的な西洋品種に比べ小型であるため、直腸検査により卵巣形態の変化を把握することは難しい。一方、Dsuza ら⁵⁾は豚で VER 値の周期的変動が発情や排卵を制御する血中性ホルモンと相関関係にあることを明らかにしている。

そこで本試験では、発情や排卵時期を可能な限り正確に捉え、アグーの授精適期をよりの確に判断することを目的に、VER 値の変動と性ホルモンの動態との関連について検討した。

Ⅲ 材料および方法

1. 期間および場所

試験は2006年9月から2007年8月に沖縄県畜産研究センターで実施した。

2. 供試豚

当センターで飼養している繁殖種雌豚のうち、発情徴候の発現および経時的な VER 値の測定により正常な発情周期を呈していると判断されたアグー5頭、ランドレース3頭の計8頭を供試した。

3. 採血方法

採血は、耳介静脈へカテーテル(日本シャーウッド社、メディカットLCV-UKキット)を留置・固定し、発情前後6日間、8時間間隔で行った。採取した血液は、直ちに抗凝固剤(EDTA-2Na)加真空採血管に移し、3000rpm 30分間遠心分離後、血漿サンプルとして、各性ホルモンを測定するまで-80℃に保存した。なお、耳介静脈留置は血液凝固を防ぐため、採血の前後にヘパリンナトリウム注射液(日本薬局方)をカテーテル内へ注入した。

4. VER 値および血漿中性ホルモンの測定

VER 値の測定は、市販の膈内電気抵抗測定器(ポーランド国, DORAMINSKI 社製)を使用した。

E_2 及び P_4 濃度の測定は、それぞれ市販の Estradiol EIA Kit, Progesterone EIA Kit (Cayman Chemical 社)を使用し、Protocol に従って Enzyme Immunoassay(EIA)法により実施した。黄体形成ホルモン(Luteinizing Hormone; LH)濃度は、市販の LH ELISA Kit (Endocrine Technologies 社)を使用し、Protocol に従って Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA)法により定量した。

また、VER 値および血漿中の性ホルモン濃度の測定は、8時間間隔で発情前後6日間行った。

5. 統計処理

統計処理は統計解析ソフト R を用いて行った。Shapiro-Wilk normality test で正規性を確認し分散分析を行った後、有意差の認められた試験区において Tukey-Kramer test で多重比較検定を行った。

Ⅳ 結 果

1. VER 値の変動と血漿中 E_2 ・ P_4 濃度の動態

アグーおよびランドレースの VER 値を測定した結果、両品種共に発情日前に VER 値が最も低下する変動パターンを示した。しかし、ランドレースの VER 最低値(272.0 ± 12.4 unit)は、発情開始の 24.0 ± 8.0 時間前であったのに対し(図 1B)、アグーの VER 最低値(183.3 ± 12.0 unit)はランドレースより早い発情日の 57.6 ± 5.3 時間前であった(図 1A)。

血漿中 E_2 濃度の最高値は、ランドレースが発情日(最高値： 57.3 ± 3.5 pg/ml)であったのに対し(図 1B)、アグーは発情日の 16 時間前(最高値： 51.8 ± 5.8 pg/ml)とランドレースより約 16 時間早かった(図 1A)。また、 E_2 濃度の動態パターンは両品種共に最高値を示した後に徐々に減少し、発情終了後の黄体期からは 35.0 pg/ml 以下で推移した。

アグーの血漿中 P_4 濃度は、ランドレースよりわずかに低い濃度で推移し、動態パターンは両品種共にほぼ類似していた。しかし、ランドレースの P_4 濃度が上昇パターンへ転ずるのは発情開始から約 28 時間後であったのに対し、アグーは発情開始の 24 時間後とランドレースより早い時期であった(図 1)。

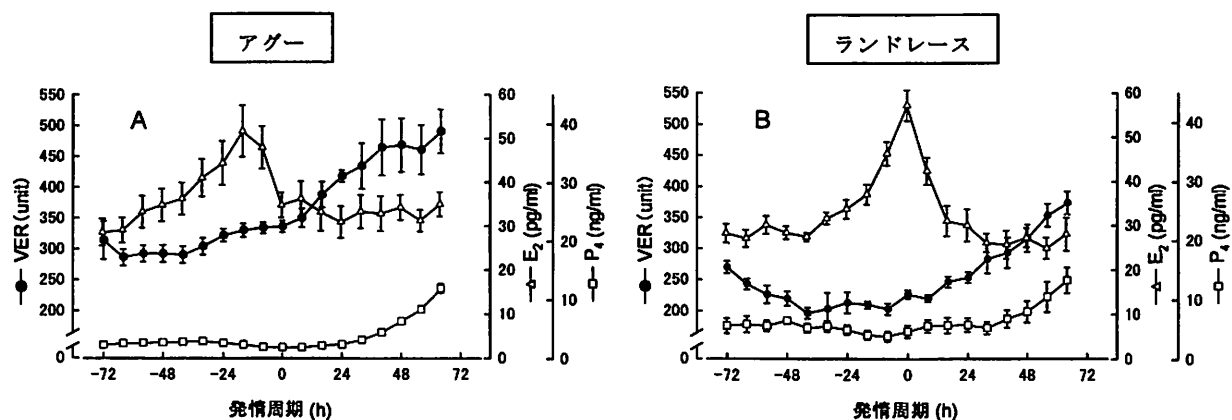


図1 VER 値の変動とエストロゲン(E₂)・プロゲステロン(P₄)の動態

注1) 平均±標準誤差。

2) 発情開始を0 (h)とした。

2. VER 値と血漿中 LH 濃度の動態

アグーとランドレースの VER 値の変動と血漿中 LH 濃度の動態を比較した結果、両品種とも個体によって多少のバラツキはあったものの、ランドレースの LH サージ(LH 最高濃度; 6.3±2.9ng/ml)は発情日の約 24 時間前に認められたのに対し(図 2B), アグーの LH サージ(LH 最高濃度; 3.5±1.0ng/ml)は発情日の約 48 時間前に認められ(図 2A), ランドレースより約 24 時間早かった。(図 1B)。一方, VER 値が最低値を示したのは両品種共に, LH サージが認められてから 9.6~10.7 時間後であった。

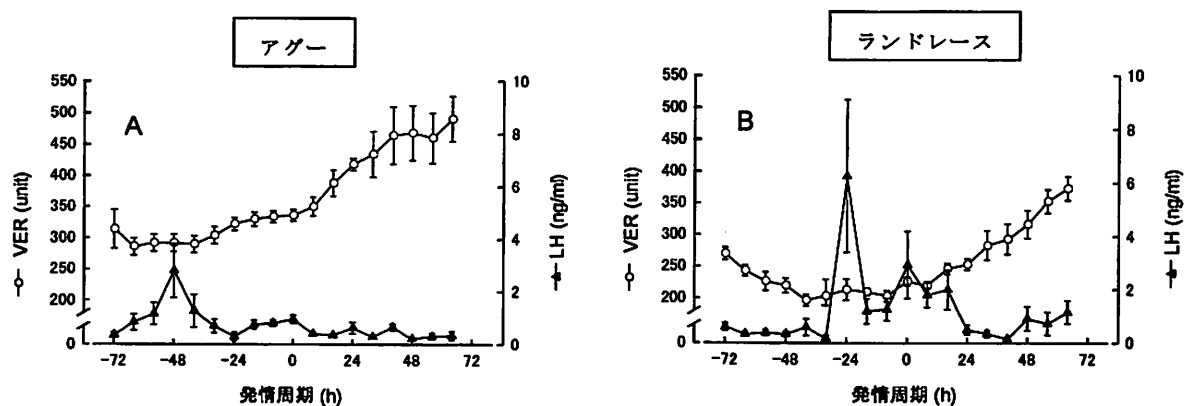


図2 VER 値の変動と黄体形成ホルモン(LH)の動態

注1) 平均±標準誤差。

2) 発情開始を0 (h)とした。

3. アグーにおける VER 値と各血漿中性ホルモン濃度(E₂, P₄および LH)の相関関係

VER 値と血漿中性ホルモン濃度(E₂, P₄および LH)の相関関係を調べた結果, P₄濃度と VER 値の間には高い有意な正の相関が確認されたのに対し(P<0.001), LH 濃度と VER 値の間には有意な負の相関が認められた(P<0.05)。一方, E₂濃度と VER 値との間には相関関係は認められなかった。

表1 VER値と各性ホルモン(E_2 , P_4 , LH)との相関関係

	E_2	P_4	LH
相関係数 (r)	-0.255 NS	0.718 ***	-0.535 *

注1) NS;有意差なし

2) * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

V 考 察

家畜の繁殖機能は各種のホルモンにより支配されており、豚のVER値はホルモン様動態を示し、発情期前後に特に大きく変化することが知られている⁶⁾。伊東ら^{7~10)}はVER値の測定において黄体期には高値を示し、発情徴候が発現し始める時期には急激に低下し、発情開始の1~2日前に最低値となり、以後急激に上昇することから発情日の推定が可能であると報告している。また、著者ら¹⁾はアグーでも同様なVER値の変動パターンがあることを確認し、微弱な発情徴候を示すアグーにおいてもVER値を測定することにより性周期を的確に把握し、発情日を推定することが可能であると報告した。さらにDuszaら⁵⁾は、排卵を誘導するLHサージがVER値の変動パターンから推察できることを報告している。

そこで今回の試験では、発情や排卵時期を可能な限り正確に捉え、アグーの授精適期をよりの確に判断するために、発情前後6日間のVER値と血中性ホルモン濃度との関連について検討した。

その結果、両品種共に発情前後のVER値の変動および性ホルモンの動態パターンに大きな違いは観察されなかった。しかし、アグーは1)VER値が最低となる時期、2)血漿中 E_2 濃度が最も高くなる時期、3)血漿中 P_4 濃度の上昇する時期、4)LHサージの発現時期がいずれもランドレースより早いことが確認された。

発情徴候は主として E_2 の作用によって発現し、 P_4 がこれに協力的に働き、ホルモン濃度の上昇に伴って外陰部は腫脹・充血し、発情症状が現れてくる。家畜では E_2 が最高値に達して、 E_2 と P_4 との比率、すなわちE/P比が最も高い数値を示した時点から発情行動が開始される¹¹⁾。アグーは血漿中 E_2 濃度のピークおよび P_4 濃度の上昇がランドレースより早いことから、発情行動も早く開始されると考えられた。

排卵は、成熟卵胞の膨大、卵胞壁が拡張・充血することにより起こり、これらはLHサージにより誘起され、ブタは発情中に排卵が起きる¹¹⁾。また、研究者間で必ずしも一致しているわけではないが^{2~4)}、一般的に排卵時期は発情が始まってから24~48時間(平均31時間)の発情終了日頃とされており、ブタは排卵数が多いため最初の排卵から最後の排卵までに1~7時間(通常2時間程度)を要すると言われている¹¹⁾。また、発情持続期間は同種類の家畜でも品種によって多少の違いがあり¹¹⁾、排卵時間は発情持続時間の短いものは早く、長いものは遅れる傾向にある¹²⁾。著者ら¹⁾はアグーの発情持続時間が正常発情豚で2.3日、微弱発情豚で1.7日と一般豚より短いことを確認している。アグーの排卵時期はLHサージがランドレースより早期に認められたことから、排卵は一般的な知見よりかなり早い時期に起こっていると考えられ、かつ排卵の持続時間も短いと推察された。また、このことはアグーの卵胞数や産子数と関連があるのではないかと思われた。さらに妊娠維持に密接に関係している P_4 濃度がアグーはランドレースよりわずかに低い値であったことは、高頻度で起こる流産等の妊娠異常と関連があるのではないかと思われた。

今回の試験により、VER値と P_4 濃度と間には高い有意な正の相関が確認され、LH濃度との間には有意な負の相関関係が認められた。また両品種共にVER値が最低値を示すのはLHサージが認められてから約10時間後であったことから、経時的なVER値の測定はLHサージをある程度予見でき、性ホルモンの動態推察しながら発情日の予測ができる有用な手法と確認された。

理論的に授精適期は、排卵時期、卵子の受精能保有時間、精子の卵管到達時間、精子の受精能獲得時間、精子の受精能保有時間によって決定されることになる¹²⁾。これら要因を勘案してアグーの授精適

期判定のための時間的關係を示すと図3のようになり、アグーの授精適期は一般豚より早い発情日の直後ではないかと推察された。これまで、アグーが一般豚に比べて受胎率が劣る原因は、近交の影響と考えられてきたが、いままで一般豚と同様な授精適期で人工授精が行われてきたことも一つの要因ではないかと考えられた。

以上のことから、アグーの受胎率を高め、効率よく繁殖させるためには、VER法により発情日を予測し、発情直後に1回目の授精を行う方法が最良の方法であると考えられる。また、この成績は、前報で著者らが¹⁾推察したアグーの授精適期は一般豚より早いということを裏付ける成績であった。

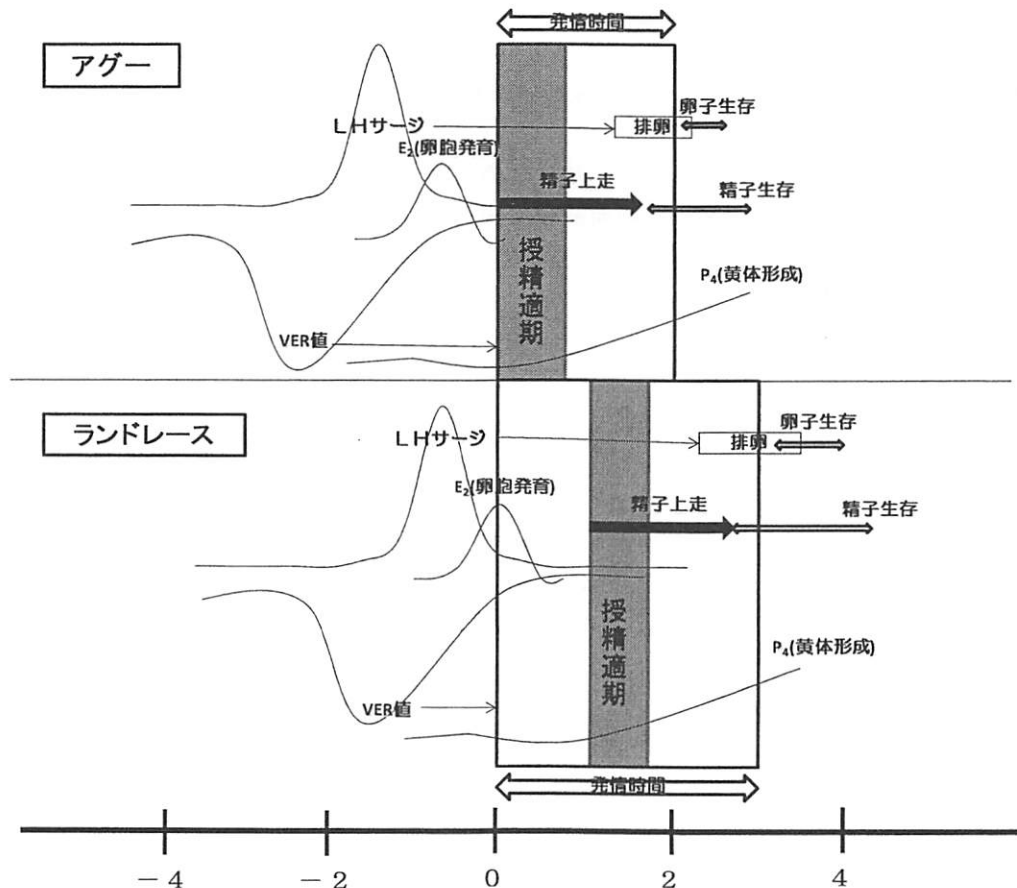


図3 アグーおよびランドレースの授精適期（模式図）

VI 引用文献

- 1) 仲村敏・大城まどか・稲嶺修・山内昌吾, 吉元哲兵, 建本秀樹, 蝦名真澄 (2006) 琉球在来豚(アグー)の効率的繁殖技術の確立(2)膣内電気抵抗値を指標とした発情開始日および授精適期の推定, 沖縄畜研セ研報, 44,43-47
- 2) B. Kemp, N.M Soede, P. Langendijk(2005) Effects of boar contact and housing conditions on estrus expression in sows, *Theriogenology*, 63, 643-656
- 3) K Kaeoket, W Tantasuparuk, A Kunavongkrit(2005) The Effect of Post-ovulatory Insemination on the Subsequent Embryonic Loss, Oestrous Cycle Length and Vaginal Discharge in Sows, *Reprod. Dom. Anim*, 40, 492-494
- 4) Y. Brandt, N. Lundeheim, A. Madej, H. Rodriguez-Martinez, S. Einarsson(2007) Effects of ACTH injections during estrus on concentrations and patterns of progesterone, estradiol, LH, and inhibin α and time of ovulation in the sow, *Domestic Animal Endocrinology*, 32, 122-137

- 5) L. Dusza, M. Opałka, B. Kaminska, T. Kaminski, and R. E. Ciereszko (1996) The relationship between electrical resistance of vaginal mucus and plasma hormonal parameters during periestrus in sows, *Theriogenology*, 45, 1491-1503
- 6) (社) 全国家畜畜産物衛生指導協会 (2000) 生産獣医療システム(養豚編), 84, (社) 農文協
- 7) 伊東正吾・保科和夫・宮脇耕平 (1999) 周排卵期における豚の深部膈内電気抵抗性を指標とした授精成績, 豚の繁殖セミナー通信, 25, 26-30
- 8) 伊東正吾 (1994) 豚の周排卵期における膈深部電気抵抗性の変化と血中ホルモンの動態, 豚の繁殖セミナー通信, 21, 33-37
- 9) 伊東正吾 (2005) 種雌豚の深部膈内電気抵抗値を指標とした繁殖機能の判定技術, *Proc Jpn Pig Vet Soc*, 47, 18-22
- 10) 岩村祥吉・吉岡耕治・加茂前秀夫 (1994) 豚の周排卵期における膈深部の電気抵抗性の変化, 豚の繁殖セミナー通信, 21, 15-17
- 11) 日本家畜人工授精師協会 (2003) 家畜人工授精講習会テキスト(家畜人工授精編), 177-289
- 12) 上村謙一 (1977) 繁殖豚の種付適期とその簡易判定法, 畜産の研究, 6, 46-50

研究補助：又吉康成，赤嶺圭作