

# 沖縄アグー豚の液状精液人工授精活用試験

親泊元治 當眞嗣平 野中克治\* 鈴木直人

## I 要 約

沖縄アグー豚（アグー）雄豚精液の効率的な活用を図るため、液状精液における混合精液、市販希釈剤、精子濃度低減の検討および農場実証人工授精（AI）試験を実施した。

1. アグー複数雄豚の混合精液は精子生存指数が平均化し、その低い雄を補完できる。
2. モデナ液および市販希釈剤を用いて作製した液状精液は、ほぼ10日間は精子生存指数が高く維持されたことから市販希釈剤はアグーに問題なく適応できる。
3. アグー精子濃度低減液状精液は精子濃度0.5～1.0億/mlで問題なく作製できる。
4. 当センターで作製したアグー液状精液とH農場で作製したアグー液状精液において受胎率、産子数に有意な差はなかった。

以上の結果から、アグーの液状精液は西洋豚の液状精液と同様にAIで問題なく活用できると考えられ、その広域的な利用が期待される。

## II 緒 言

アグーの雄と西洋豚の雌を交配して生産されるアグーブランド豚は本県を代表する銘柄豚であり、出荷頭数は2013年に3万頭を超えたが、アグーブランド豚の出荷目標頭数である4万5千頭<sup>1)</sup>を達成するためにはアグー種雄豚の効率的な活用が重要である。アグーは、総頭数が少なく、各農場において閉鎖環境で飼育されている。アグーブランド豚の出荷頭数目標を達成するためには豚AI技術の確立による広域的な液状精液の活用が求められているが、アグーのAIに関する基礎的な報告<sup>2～5)</sup>は少ない状況である。

そこで、アグー雄豚精液の効率的な活用を図るため、液状精液の混合精液、市販希釈剤、精子濃度低減の検討および農場実証AI試験を実施した。

## III 材料および方法

試験に供した精液は、当センターで飼養しているアグー種雄豚およびランドレース種雄豚から手圧法で濃厚部<sup>6, 7)</sup>を採取した。液状精液作製処理において希釈液の調整時に市販LPS除去水を用い、ポリペプチド系抗生剤Aとフルオロキノロン系抗生剤Bまたはアミノグリコシド系抗生剤Cの2種類を添加した。各処理後のアグー液状精液は80mlを100ml容量の精液ボトルに空気が入らないように充填し、15℃の恒温装置内に保存した。各処理液状精液の調査は一定期間経過ごとに38℃に加温し、顕微鏡下で精子活力検査盤を用いて精子活力を、「+++ (100)非常に活発な前進運動」、「++ (75)活発な前進運動」、「+ (50)緩慢な前進運動」、「± (25)旋回または振り子運動」および「- (0)全く運動しない」の5段階に区分し、活力ごとの重み付け数値に精子の割合をかけて、総和を100で割った精子生存指数を算出<sup>7)</sup>した。AI試験では、当センターで飼養しているアグーおよび一般雌豚を用い、農場実証AI試験においては本部町内のH農場で飼養している一般豚を用いた。試験は2013～2015年度において実施した。

### 1. 混合精液試験

表1に混合精液供試豚概要を示した。混合精液は1区あたり4頭の雄豚から採取した各精液を精子濃度1億/mlに希釈し、各20mlずつ混合して精液ボトル1本当たり総量80mlで作製した。また、比較のため雄個別精液ボトルを作製した。

\*退職

### 1) 混合精液性状

混合区と構成雄個別精液ボトルについて0日，7日および10日後に精子活力を調査した。また，混合4区，構成雄個別および通常精液ボトルの一般細菌数測定を株式会社食環境衛生研究所に依頼した。

表1 混合精液供試豚概要

混合区	雄名号				雌名号
1区	576A	594A	593A	566A	306W
					555A
2区	573A	594A	593A	66L	492L
					556L
3区	576A	577A	593A	566A	152LW
4区	573A	66L	593A	566A	11L

### 2) 混合精液のAI試験

混合精液は自然発情の雌豚へ，AI（3回/発情当たり）を実施し，受胎頭数，産子数を調査した。

### 3) 産子の父子鑑定

混合精液のAIでの産子についてマイクロサテライトマーカーにより父子鑑定を実施した。

## 2. 市販希釈剤試験

モデナ液および市販希釈剤におけるアグー液状精液の適応性を検討した。モデナ液は試薬を調合して作製<sup>7)</sup>した。市販希釈剤の形状は市販希釈剤Aが10L液状，他の市販希釈剤は1L用粉末状である。

### 1) モデナ液および市販希釈剤におけるアグー液状精液保存性試験

アグー種雄豚精液をモデナ液，市販希釈剤A，B，CおよびDで希釈し0日，1日，3日，5日，7日，10日および14日後の精子活力を調査した。

### 2) モデナ液と市販希釈剤Aのアグー液状精液保存性比較

複数のアグー種雄豚精液を，モデナ液と市販希釈剤Aで希釈し0日，5日，7日，10日および14日後の精子活力を調査した。

### 3) 市販希釈剤AのAI試験

市販希釈剤Aについて，アグーおよび一般豚の雌豚にAIを実施し，受胎率および産子数を調査した。

## 3. 精子濃度低減試験

液状精液の精子濃度を0.3，0.5および1億/mlに調整し一定期間経過後の精子活力を調査し，精子濃度低減を検討した。

### 1) 精子濃度低減精液の保存性

精子濃度を低減した液状精液を1日，7日および14日後に精子活力を調査した。

### 2) 14日後精子濃度低減精液の経過時間ごと保存性

精子濃度を低減した液状精液を14日間保存し30分，90分および180分後の精子活力を調査した。

### 3) 精子濃度低減精液AI試験

0.5～1.0億/mlに精子濃度を低減した液状精液を，アグーおよび一般雌豚にAIを実施し，受胎率および産子数を調査した。

## 4. 農場実証AI試験

当センターで精子濃度0.67億/mlに調整して作製したアグー液状精液を本部町にあるH農場で飼養している一般豚にAIを実施し，雄，希釈剤および抗生剤別にH農場で作製したアグー液状精液と受胎率および分娩成績を比較した。

## IV 結果および考察

### 1. 混合精液試験

#### 1) 混合精液性状

図1に混合精液の精子生存指数の推移を示す。混合1区の希釈直後，7日後および10日後精子生存指数はそれぞれ70，37.5および30であった。同様に混合2区は70，40および45，混合3区は80，60および40，

混合4区は70, 60および40であった。雄個別の推移は混合1区では593Aが低い値となった。混合2区は66Lが低い値となった。混合3区では593Aと66Lが低い値となった。混合4区では66Lが低い値であった。

混合精液の精子生存指数の推移は、構成する雄個別の精子生存指数に低い値があっても、ほかの高い雄の値と平均化すると考えられた。

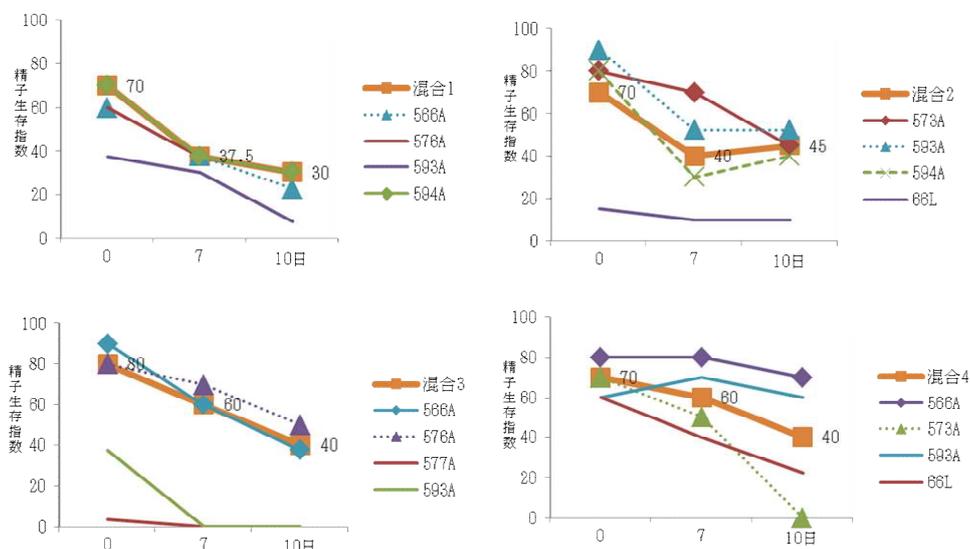


図1 混合精液の精子生存指数の推移

表2にアグー液状精液細菌検査結果を示す。一般細菌は混合4区およびその構成雄ごとの液状精液からは検出されなかったが、試験区と別に作製し、保存した通常精液ボトルから平均2144cfu/ml検出された。通常精液ボトルから検出された一般細菌は雄個体ごとの菌数の差が大きかった。このことから、今回の試験では、混合区に一般細菌の混入は認められなかったが、混合精液を作製する時は精液採取時に雄のペニスの洗浄など衛生面に十分注意することが重要と考えられた。

表2 アグー液状精液細菌検査

区・雄名号	菌種	菌数 (cfu/ml)
混合4区	検出されず	10以下
566A		
573A		
593A	検出されず	10以下
66L		
576A	<i>Enterococcus faecalis</i>	100
	<i>Rhizobium radiobacter</i>	100
573A	<i>Staphylococcus cohnii</i>	13000
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	200
	<i>Burkholderia cepacia</i>	100
Y1	<i>Pseudomonas luteola</i>	1200
	<i>Moraxella spp.</i>	500
535A	<i>Pseudomonas luteola</i>	4000
	<i>Rhizobium radiobacter</i>	100
	平均	2144

## 2) 混合精液のAI試験

表3に混合精液繁殖成績を示す。AIを実施した雌豚の品種内訳はランドレース種3頭、大ヨークシャー種1頭、交雑種(LW)1頭、アグー1頭の計6頭であった。AI結果は受胎が6頭、分娩が5頭であった。

混合区の平均分娩頭数および離乳頭数は、それぞれ10.8頭、9.0頭であった。分娩頭数および離乳頭数は混合区が平成25年度の単一の雄を用いた一般豚へのAI成績よりも多い結果であった。このことから、繁殖成績において複数雄の精液を混合することによる悪い影響は認められなかった。

表3 混合精液AI成績

単位：頭

混合区	雄名号				雌名号	分娩頭数	離乳頭数
1区	576A	594A	593A	566A	306W	11	10
					555A	-	-
2区	573A	594A	593A	66L	492L	12	9
					556L	10	9
3区	576A	577A	593A	566A	152LW	7	6
4区	573A	66L	593A	566A	11L	14	11
合計					5	54	45
平均						10.8	9.0
通常 <sup>注)</sup>					21	10.6	8.4

注) 通常は平成25年度一般豚繁殖成績(雄単一液状精液)

### 3) 産子の父子鑑定

表4に混合区の産子50頭について父子鑑定結果を示す。供試した雄豚4頭の産子が全て鑑定された区はなかった。精子生存指数の低かった577Aと66Lは産子を得られなかった。父別の内訳は566Aが12頭、573Aが13頭、576Aが2頭、593Aが9頭、594Aが14頭であった。各区において図1で示した精子生存指数の高い種雄豚の産子が多い結果となった。

表4 産子の父子鑑定結果

単位：頭

混合区	566A	573A	576A	577A	593A	594A	66L	合計
1区	1	-	0	-	0	10	-	11
2区	-	5	-	-	5	2	0	12
2区	-	4	-	-	4	2	0	10
3区	4	-	2	0	0	-	-	6
4区	7	4	-	-	0	-	0	11
合計	12	13	2	0	9	14	0	50

注) 「-」は雄の供試なし、「0」は鑑定結果なし。

以上のことからアグーの混合精液は精子生存指数が平均化したことから精子活力の高い個体が精子活力の低い個体を補完すると考えられた。また、混合精液においては構成する雄個別精液生存指数の高い個体の産子が多く鑑定された。このことから、複数のアグー雄精液を混合することで精子生存指数が低い精液を単独で交配に用いた場合の不受胎を防止できると考えられた。

## 2. 市販希釈剤試験

### 1) モデナ液および市販希釈剤におけるアグー液状精液保存性

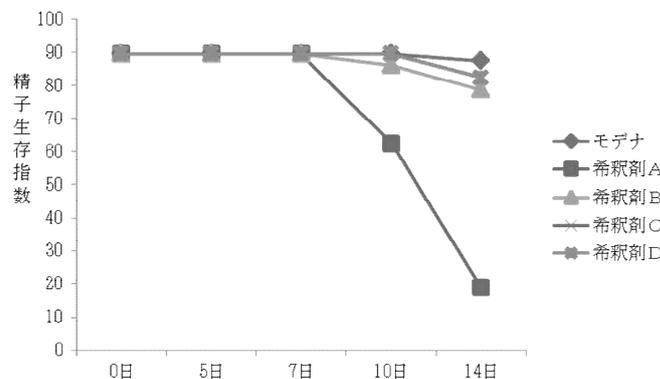


図2 市販希釈剤別精子生存指数の推移

図2にモデナ液および市販希釈剤の精子生存指数の推移を示す。モデナ液および各市販希釈剤は7日後までは差がなく、希釈剤Aを除いて14日後まで良好な保存性を示した。

アグー液状精液を自家作製している県内大規模農場への聞き取りでは液状精液は通常3.3日で使用し、最大保存期間は6日間であったことから、現場において各希釈剤ともに十分活用できると考えられる。

## 2) モデナ液と市販希釈剤Aのアグー液状精液保存性

図3にモデナ液および市販希釈剤Aの精子生存指数の推移を示す。市販希釈剤Aは、1)において他の市販希釈剤と異なる精子生存指数の推移であったため、モデナ液と比較を行った。

市販希釈剤Aの精子生存指数は3日後まではモデナ液を上回って推移し、5日後から7日後においては同等に推移した。10日後以降は有意に低下した。液状精液は現場におけるAIでは通常6日以内に使用されることから市販希釈剤Aの実用性は問題がないと考えられた。

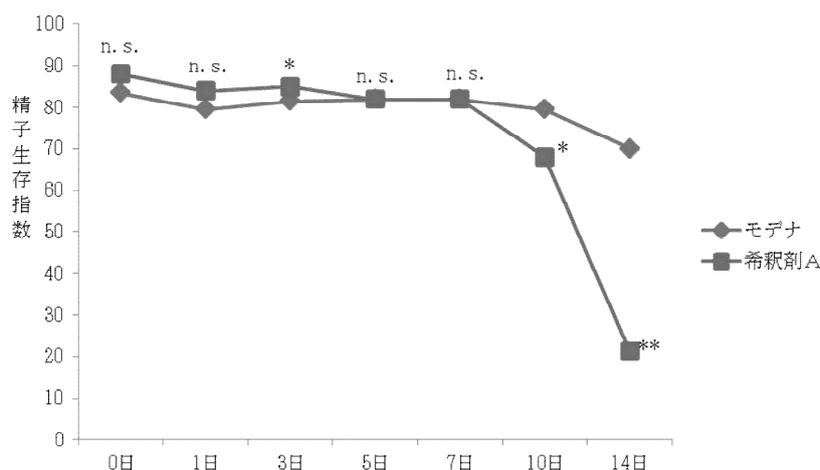


図3 モデナ液および市販希釈剤Aの精子生存指数の推移

注) n.s.: 非有意, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$

## 3) 市販希釈剤AのAI試験

表5に市販希釈剤AのAI試験結果を示す。2)の結果から、市販希釈剤Aは実用性において問題がないと考えられたこと、また、比較的新しい希釈剤のため使用事例がないことから、実際に当センター飼養のアグーおよび一般豚各6頭にAIを実施した。その結果、アグー83%、一般豚100%の受胎率であった。平均分娩頭数は、アグー4.8頭、一般豚10.5頭であった。これらの結果から、希釈剤Aはアグー液状精液に問題なく適応できると考えられた。

	頭・%				平均分娩頭数
	AI頭数	受胎	不受胎	受胎率	
アグー	6	5	1	83	4.8
一般豚	6	6	0	100	10.5
合計・平均	12	11	1	92	

以上のことから、各市販希釈剤の保存性はモデナ液と同等の結果であった。各市販希釈剤は液状、粉状等の形状で販売されているが、LPS除去水の使用および抗生剤添加でほぼ10日間は精子生存指数が高く維持されたことから、各希釈剤において問題なくアグー液状精液に適応できると考えられた。

## 3. 精子濃度低減試験

### 1) 精子濃度低減精液の保存性

図4に精子濃度低減精液の精子生存指数の推移を示す。0.3億/ml区の精子生存指数は1日後から大きく低下した。0.5億/ml区の精子生存指数は1日後の70から14日後にかけて徐々に低下した。1億/ml区は1日後、7日後の指数が0.5億/ml区より高く推移した。

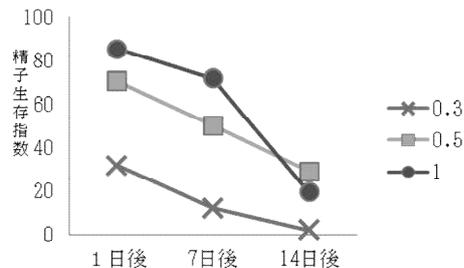


図4 濃度低減精液の精子生存指数の推移

## 2) 14日後精子濃度低減精液の経過時間ごとと保存性

図5に14日後経過時間ごと精子生存指数の推移を示す。精子生存指数は1億/ml区が加温30分後も62.5と高い値で推移し、180分後においても高い値を維持していた。次いで0.5億/ml区が高く推移した。

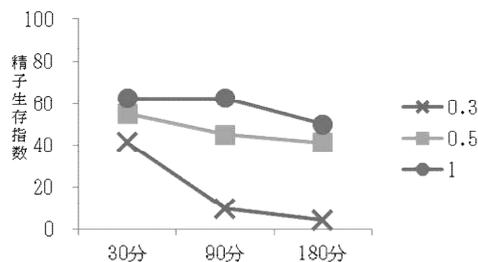


図5 14日後経過時間ごと精子生存指数の推移

以上のことから、精子濃度0.3億/mlは2試験において精子生存指数が低く推移したことから不適當であると考えられた。当センターでは液状精液のアグー精子濃度は1億/ml以上を基準としているが、一般豚の液状精液では精子濃度約0.5~0.7億/mlが一般的であり、アグーでも一般豚と同じ0.5億/mlまで濃度を低減できると考えられた。

## 3) 精子濃度低減精液AI試験

表6に濃度低減精液AI成績を示す。0.5億以上1.0億/ml未満の精子濃度に低減した液状精液をアグー4頭および一般豚3頭にAIを実施し、アグー75%、一般豚100%の受胎率であった。平均分娩頭数はアグー5.0頭、一般豚11.3頭であった。精子濃度を低減したことによる分娩頭数の減少は認められなかった。

	AI頭数	受胎	不受胎	受胎率	平均分娩頭数
アグー	4	3	1	75	5.0
一般豚	3	3	0	100	11.3
合計・平均	7	6	1	86	

以上のことから、精子濃度を0.5~1.0億/mlまで低減し、液状精液を作製できることが示された。精子濃度0.5億/mlで液状精液を作製すると、これまでの2倍以上の本数を作製できることとなる。

## 4. 農場実証 AI 試験

表7 アグー液状精液の作製概要

作製場所	供用雄	希釈剤	抗生剤	精子濃度(億/ml)	希釈精液量 (ml/本)	AI使用本数 (本)
	6頭単一					
畜研セ	(681A, 674A, 648A, 593A, 566A, 535A)	A, B, C, D, モデナ液	A, B, C	0.67	60	3
H農場	3頭混合 (自家)	C	D	0.67	60	3

表7にアグー液状精液の作製概要および表8に農場実証AI試験の結果を示す。当センターで通常AIを実施している精子濃度の約50%以下である0.67億/mlで作製したアグー液状精液について、H農場で

の受胎率は $\chi^2$ 乗検定において雄別、希釈剤別、抗生剤別および作製場所別の比較で有意な差はなかった。同様に繁殖成績も分散分析において有意な差がなかった。AI成績および繁殖成績のいずれも、当センターで作製した濃度低減アグー液状精液とH農場で作製したアグー液状精液との間に大きな差は認められなかった。アグー液状精液は農場実証試験の結果においてもAIに問題なく活用できると考えられた。

表8 農場実証AI試験

単位：頭

処理	区分	AI成績				繁殖成績			
		n	受胎	不受胎	受胎率(%)	n	総産子数 <sup>※</sup>	死産数 <sup>※</sup>	正常子数 <sup>※</sup>
雄	681A	9	6	3	66.7	6	12.2 ± 1.8	0.2 ± 0.4	12.0 ± 1.9
	674A	7	6	1	85.7	6	10.8 ± 1.9	0.3 ± 0.5	10.5 ± 2.1
	648A	11	6	5	54.5	5	9.2 ± 1.3	0.2 ± 0.4	9.0 ± 1.4
	593A	13	10	3	76.9	8	10.3 ± 2.9	0.8 ± 1.2	9.5 ± 3.7
	566A	20	16	4	80.0	15	10.3 ± 2.7	0.5 ± 0.7	9.7 ± 2.5
	535A	5	4	1	80.0	3	12.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0	12.0 ± 1.0
希釈剤	希釈剤A	22	17	5	77.3	17	10.7 ± 1.8	0.4 ± 0.6	10.4 ± 1.7
	希釈剤B	6	6	0	100.0	5	10.8 ± 1.5	0.2 ± 0.4	10.6 ± 1.8
	希釈剤C	23	15	8	65.2	14	10.1 ± 3.3	0.6 ± 1.0	9.4 ± 3.6
	希釈剤D	8	5	3	62.5	3	11.7 ± 1.5	0.3 ± 0.6	11.3 ± 2.1
	モデナ液	6	5	1	83.3	4	11.0 ± 2.7	0.3 ± 0.5	10.8 ± 2.9
抗生剤	抗生剤A+B	13	10	3	76.9	9	10.6 ± 1.7	0.3 ± 0.7	10.2 ± 1.7
	抗生剤A+C	50	36	14	72.0	32	10.6 ± 2.6	0.5 ± 0.8	10.1 ± 2.8
	抗生剤A+B+C	2	2	0	100.0	2	11.5 ± 2.1	0.0 ± 0.0	11.5 ± 2.1
作製場所	畜研セ	65	48	17	73.8	43	10.6 ± 2.4	0.4 ± 0.7	10.2 ± 2.6
	H農場	91	62	29	68.1	52	11.0 ± 2.9	0.5 ± 1.2	10.5 ± 2.9
全体		156	110	46	70.5	95	10.8 ± 2.6	0.4 ± 1.0	10.4 ± 2.7

※平均±標準偏差

以上の結果から、アグーの液状精液は西洋豚の液状精液と同様にAIで問題なく活用できると考えられ、その広域的な利用が期待される。留意点として、アグーの液状精液を広域的に活用する場合は、家畜改良増殖法（昭和25年5月27日法律第209号）第4条第1項に基づく種畜検査で衛生状態および精液性状を検査し、合格したアグー雄豚から採取した精液を用いることが重要である。

また、今後はアグー精液からの病原体の除去等、アグー精液の広域的な活用に対応した伝染性疾病感染リスクの少ない凍結精液の作製等の研究を実施する必要があると考える。

## V 引用文献

- 1) 沖縄県アグーブランド豚推進協議会(2015)アグー及びアグーブランド豚に関する統計データ
- 2) 仲村敏・大城まどか・鈴木直人・玉代勢秀正・吉岡耕治・鈴木千恵・菊地和弘・建本秀樹(2004)琉球在来豚(アグー)を活用した銘柄豚の確立(4), 沖縄畜試研報, **42**, 64-71
- 3) 仲村敏・大城まどか・稲嶺修・鈴木直人・吉本哲兵・渡慶次功・建本秀樹・玉代勢秀正(2005)琉球在来豚(アグー)の効率的繁殖技術の確立(1), 沖縄畜研研報, **43**, 12-20
- 4) 知念司・當眞嗣平・貝賀眞俊・野中克治・生駒エレナ・岡崎哲司・手島久智(2013)琉球在来ブタアグーの射出精液分画と精漿が精子凍結融解後の運動性に及ぼす影響, 日豚会誌, **50**(2), 37-45
- 5) 親泊元治・知念司・當眞嗣平・野中克治(2014)沖縄アグー豚の精液性状に及ぼす季節の影響, 沖縄畜研研報, **52**, 35-38
- 6) 丹羽太左衛門監修(1989)豚凍結精液利用技術マニュアル, 社団法人日本家畜人工授精師協会
- 7) 家畜人工授精講習会テキスト(家畜人工授精編)(2015), 一般社団法人日本家畜人工授精師協会