

鶏精液の凍結保存技術

本村高一・真鳥 清・*榊田博司 (長崎県畜産試験場・*農林水産省畜産試験場)

Takaichi MOTOMURA, Kiyoshi MATORI and Hiroshi MASUDA :
Freezing Preservation of Fowl Semen

鶏精液の凍結保存技術は、近年になって、遺伝資源の保存、優良種雄鶏の広域的な利用、あるいは、地鶏等の個体数の少ない場合でも育種の効率化に有用性が見いだされている。

また、1980年代になって Lake¹⁾によって実験室内で90%以上の高い受精率が得られている。

そこで、本報告においては、LAKE²⁾、HIROSHIMA等の希釈液を用いて、窒素蒸気による簡易な凍結方法における受精率を調査したので報告する。

1. 試験方法

供試鶏は白色レグホーンの雄雌を用いた。

精液の採取は腹部マッサージ法で行い、採取精液は5℃で保持し、採取後できるだけ30分以内に希釈・凍結操作を行うようにした。

凍結前の希釈はどの希釈液においてもグリセロールを含む希釈液で1段階で4倍希釈とした。この時のグリセロール濃度はLAKE希釈液で13%、HIROSHIMA希釈液で9.33%、その他の希釈液で7%であった。希釈精液は、1ml牛凍結保存精液用ストロウに封入して、窒素蒸気で簡易に凍結した。

凍結精液の融解は、5℃で行い、融解後は基本的に、希釈、遠心、濃縮のグリセロール除去操作を行った後原精液濃度にして授精に供した。

2. 結果及び考察

1) 鶏精液凍結希釈液の検討

凍結保存希釈液として、脱脂粉乳を含む希釈液、豚精液の凍結保存で利用されている卵黄を含む希釈液、LAKEの希釈液、HIROSHIMAの希釈液において腹部への浅い注

第1表 LAKE、広島希釈液における授精成績

希釈液/授精日	(89.6.20,23)	(89.6.27,30)	(89.7.17,20)
LAKE	62.26%	47.06%	48.33%
HIROSHIMA	39.22%	54.54%	72.20%

注) 2回授精後7日間の成績、注入精子数約 5×10^8 /1回、腹部注入を行った結果、LAKE希釈液で最高62%、HIROSHIMAの希釈液で最高72%の受精率を得ることができた。他の希釈液では40%を超える受精率を得るとはできなかった。

2) 授精における精液注入法の検討

精液の授精時の注入方法について、子宮部への深い注入と、腹部への浅い注入を行った。腹部への浅い注入では凍結融解後のグリセロール除去なしでは受精卵が得られないことがLAKEによって報告されている³⁾が、子宮部への深い注入によってグリセロール除去を行わなくて

も、比較的高い受精率を得ることができた。しかし、深い注入操作によって、母鶏の産卵率は極端に低下し、受精率は高いが受精卵取得数はかなり少なくなった。

母鶏への影響、注入方法の難易さから、子宮部への深い精液の注入は実用的ではないと考えられた。

3) LAKE及びHIROSHIMA希釈液における注入精液量と凍結融解後の希釈方法の検討

LAKE、HIROSHIMA両希釈液において、凍結融解後のグリセロール除去操作の簡易化と注入精子量の節減を目的として、グリセロール除去操作における希釈段階の簡略化、注入精液量の半減による影響を調査した。

第2表 LAKE及びHIROSHIMA希釈液における融解後の希釈方法と注入精液量の影響

希釈液	希釈法	注入量 (精子数)	受精卵:産卵数	受精率
LaKe	6段階	0.2ml(5.0×10^8)	58:120	48.33%
LaKe	6段階	0.1ml(2.5×10^8)	38:111	34.23%
LaKe	1段階	0.2ml(5.0×10^8)	33:112	29.46%
LaKe	1段階	0.1ml(2.5×10^8)	15:115	13.04%
広島	25段階	0.2ml(5.0×10^8)	65:90	72.20%
広島	25段階	0.1ml(2.5×10^8)	51:83	61.45%
広島	1段階	0.2ml(5.0×10^8)	65:100	65.00%
広島	1段階	0.1ml(2.5×10^8)	49:91	53.85%

注) 2回授精後7日間の成績、腹部注入

その結果、凍結融解後の希釈法を段階的なものから1段階にするとLAKE希釈液で約20%、HIROSHIMA希釈液で約7%の受精率の低下がみられた。授精1回1羽当たりの注入精液量においては、0.2ml (注入精子数 5.0×10^8)を0.1ml (注入精子数 2.5×10^8)にするとLAKE希釈液で約15%、HIROSHIMA希釈液で約10%の受精率の低下がみられた。

引用文献

- 1) Lake, P. E., Ravie, O. and Macadam, J.: Preservation of fowl semen in liquid nitrogen: Application to breeding program. *British Poultry Science* 22: 71-77, 1981.
- 2) Lake, P. E. and Stewart, M. J.: Preservation of fowl semen in liquid nitrogen-an improved method. *British Poultry Science* 19: 187-194, 1978.
- 3) Lake, P. E. and Ravie, O.: An exploration of cryoprotective compounds for fowl spermatozoa. *British Poultry Science* 19: 187-194, 1984.