

[成果情報名]メチルアセトアミドを用いたシャモ凍結精液による遺伝資源保存技術

[要約]メチルアセトアミドを6~9%の濃度に調整したシャモの凍結精液を週2回人工授精することで、34~38%の受精率が得られる。

[キーワード]凍結精液、メチルアセトアミド、シャモ、人工授精

[担当]福岡県農林業総合試験場・畜産部・中小家畜チーム

[代表連絡先]092-925-5232

[分類]研究成果情報

[背景・ねらい]

福岡県産ブランド鶏の「はかた地どり」原種鶏は当场が保有しており、家畜伝染病の発生に備え、リスク回避対策として種鶏における精液の凍結保存が求められている。鶏では、煩雑な操作を必要とせずに融解後にそのまま注入できる新たな凍結保護剤としてメチルアセトアミド (MA) を用いた精液凍結保存技術が開発された (2010 年、独立行政法人家畜改良センター岡崎牧場)。一方、凍結精液の受精率は品種や系統により異なることが報告されている。そこで、当场保有のシャモ精液の保存を可能にする MA 濃度と人工授精技術を明らかにし、凍結精液による遺伝資源保存技術を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. MA を凍結保護剤としてシャモ精液を凍結保存し人工授精を実施するまでのフローを表 1 に示す。
2. MA 濃度を 6.0~9.0% に調整した希釈液で凍結保存した福岡県保有のシャモ精液は、凍結融解後の精子生存指数に差はない。この凍結精液を用いて 3-4 日間隔で週 2 回の人工授精を実施すると 34~38% の受精率が得られる。これは生精液での受精率に対する 6 割程度の受精率である (表 2)。
3. MA を 7.5% とした希釈液を用いて作製した凍結精液を、融解後に週 1 回の頻度で人工授精を行うと週 2 回の頻度に比較して受精率は 28 ポイント低くなる (表 3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 当該技術をシャモ向けの「凍結精液を用いた人工授精マニュアル」として作成する。
2. 当該技術は当场で飼養しているシャモにおける技術であり、本成果を応用する場合は検討が必要である。

[具体的データ]

表 1 凍結精液に係るフロー及び希釈液組成

	HS-2液	
	成分	濃度
採精後、混合し一次希釈 (HS-2液で2倍希釈)		
↓		
二次希釈 (MA12、15または18%添加HS-2液で2倍希釈)		(g/DW 100mL)
↓		
0.5mLストロー充填 (密栓)	グルコース・無水	0.2
↓	トレハロース・2H ₂ O	3.8
凍結 (液体窒素蒸気下30分)	グルタミン酸Na・H ₂ O	1.2
↓	酢酸K・無水	0.3
保存 (液体窒素中)	クエン酸三K・H ₂ O	0.08
↓	酢酸Mg・4H ₂ O	0.05
氷水中で融解 (1分40秒)	BES	0.4
↓	Bis-tris	0.4
精液0.3mLを膣深部注入 (融解後2分以内)	硫酸ゲンタマイシン	0.001

表2 凍結精液中のメチルアセトアミド濃度が受精率に及ぼす影響

MA 濃度	受精率 (%) (生精液に対する割合)	精子生存指数	供試卵数 (個)
6.0%	34.1 (56)	52.2±2.5	281
7.5%	38.4 (63)	57.1±1.9	310
9.0%	35.6 (58)	53.7±2.0	283
有意差	n. s.	n. s.	
生精液 (参考)	60.9 (100)	—	261

- 注) 1. 試験期間：2020.6月～2021年4月
 2. 供試鶏：シャモ雄 21-25羽、30-60週齢
 シャモ雌各区 10羽、37-62週齢
 横斑プリマスロック雌各区 10羽、69-72週齢
 3. 初日と3日目に人工授精後、人工授精回数を2回/週実施
 4. 精子生存指数=精子活力×精子割合
 5. 生精液は試験区と同程度の精子数になるよう希釈
 6. n. s. で有意差なし (受精率はカイ二乗検定後に残差分析、精子生存指数はTukeyの多重比較検定で分析)

表3 凍結精液の人工授精頻度が受精率に及ぼす影響

人工授精頻度	受精率 (%)	供試卵数 (個)
週2回	37.7*	220
週1回	9.7	238

- 注) 1. 試験期間：2021年4月
 2. 供試鶏：シャモ雄 21羽、30-32週齢
 シャモ雌 (各区6羽×3反復)、30-32週齢
 3. 初日と3日目に人工授精後、週2回は3～4日間隔で人工授精を実施
 4. 凍結精液のMA濃度は7.5%
 5. * : $p < 0.05$ で有意差あり (カイ二乗検定)

(伊地知駿)

[その他]

予算区分：県単

研究期間：2018～2020年度

研究担当者：伊地知駿、小高真紀子、徳永りさ、福原絵里子、平川達也、村上徹哉