

鶏精液のストロー法による凍結・融解の検討

酒井 隆・依田 真理・永山 文夫*

(福島県養鶏試験場・*いわき農政事務所)

Freezing and Melting Method of Fowl Semen with Straw using for Cattle

Takashi SASAKI, Mari YODA and Fumio NAGAYAMA*

(Fukushima Prefectural Poultry Experiment Station)
・*Iwaki Agricultural Administration Office

1 はじめに

近年、鶏精液の凍結保存に関して様々な研究がなされている中で、Teradaら²⁾は、ペレット法に適した希釈液(広島液)を発表し、安定した高い受精率を得ている。当場においても坂本ら¹⁾は本希釈液を用い、高い受精率が得られたと発表した。一方、液体室素蒸気中でのストローを用いた方法は、大家畜では一般的に普及されているが、鶏では、まだ実用段階に達していないのが現状である。そこで凍結用希釈液に広島液を用い、より個体識別が容易で、取扱い操作が簡便、かつ衛生的なストローでの凍結及び融解方法について検討を行った。

2 試験方法

(1) 試験区分

試験区分を表1に示した。1区を対照区とし、坂本らが実施した、TERADARA²⁾の方法に準じたペレット法による凍結及び融解(ドライアイス上凍結, 37°C融解)を行った。精液採取用種雄鶏には、白色レグホン種を20羽用いた。

表1 試験区分

区	凍結方法	融解方法	雌羽数
1	ドライアイス上(ペレット)	37°C	7
2	針金上	5°C	7
3	"	37°C	7
4	発泡スチロール上	5°C	7
5	"	37°C	7

(2) 凍結方法

液体室素蒸気中での予備凍結時、ストローと台の接触部の急激な温度変化が精子に及ぼす影響を検討するために、熱伝導率の異なる素材を用い2種類の台を作成した。一つは、針金製台、もう一つは針金製台に発泡スチロールを張った台で行った。(手順は次のとおり)

- ① 腰部マッサージにより精液を採取する。
- ② すばやく5°Cに冷却する。
- ③ グリセリン添加広島液で4倍に希釈する。
- ④ 1mlのストローに充填する。
- ⑤ グリセリン平衡(5°C冷水中, 15分間)を行う。
- ⑥ 液体室素蒸気中で予備凍結する。2種類の台を、液

体室素液面の上3cmになるように設置し、台の冷却後、ストローを並べ、3分間静置し、予備凍結した。

⑦ 液体室素中に投入保存する。

(3) 融解方法

融解温度の上昇速度の違いが精子へ及ぼす影響を検討するために、5°C, 37°Cの二つの温度で行った。(手順は次のとおり)

① 5°C冷水中で、ストローを振とうし、ストロー表面の結氷を2回除去しながら2/3程度融解する。また、37°C温水中では、ストローを振とうしながら1/2程度融解する。

② 直ちに、5°C冷水中で全融解する。(5°C, 37°C融解ともに、以下は同一手順で行う。)

③ 融解精液の1/8の再希釈液を1分おきに5回添加する。

④ 同様に、1/4, 3/8, 1/2の再希釈液を添加する。

⑤ 遠心分離(5°C, 1400g, 2500rpm, 15分間)する。

⑥ 0.1~0.2mlの再希釈液を1分おきに添加し、採取時の精液濃度に戻す。

(4) 調査方法

人工受精後、2~8日目まで毎日採卵し、室温で15°C相対湿度80%の貯卵室に保存後、常法に従い孵卵した。孵卵14日目に透光検査により受精卵、及び发育中卵を確認した。

なお、人工受精は1ml注射筒にチュウブを付け、その先端にガラス管を接続したものをを用い、膣部に0.2ml注入して行った。

3 試験結果及び考察

(1) 各試験区における授精率及び成熟率

各区における授精率及び成熟率を、表2に示した。3区(針金上凍結, 37°C融解)が、授精率97.8%と最も高い値が得られた。4区(発泡スチロール上凍結, 5°C融解)は精率87.2%と低い値となったが、これは、対照区とした1区(ペレット法)と同程度の成績であった。发育中止卵を除外した成熟率でも、3区が最も高い値を示した。他の区においても、対照区と比較して統計上有意な差は認められなかった。この結果から、凍結用希釈液に広島液を用いることは実用上可能であると考えられた。さらに、水準間に

交互作用が認められなかったため、各水準別に検討した。

表 2 授精率及び熟成率 (%)

区	授 精 率	熟 成 率	熟成卵/授精卵
1	90.0	83.3	92.3
2	90.3	80.6	89.3
3	97.8	91.1	93.2
4	87.2	80.9	92.7
5	89.6	85.4	95.3

(2) 凍結方法の違いによる授精及び熟成率

針金上及び発泡スチロール上凍結の、授精率・熟成率を表 3 に示した。凍結速度の大きい針金上凍結の結果が、発泡スチロール上凍結よりも優れた傾向が認められた。このことは、使用した針金が比較的細かったことにより、ストロー全体が均一かつ急速な温度低下で凍結されたためと考えられ、ベレット凍結用の広島液に適した温度条件になったものと思われた。

表 3 凍結方法の違いによる授精率・熟成率 (%)

区	方 法	授 精 率	熟 成 率
2, 3	針金上	94.7	86.8
4, 5	発泡スチロール上	88.4	83.2

(3) 融解方法の違いによる授精及び熟成率

5℃融解と37℃融解の授精率・熟成率を表 4 に示した。融解速度の大きい37℃融解の場合で、5℃融解よりも優れた傾向が認められた。しかし、37℃融解では、高温による精子への悪影響を考慮し、1/2程度の融解にとどめ、直ちに冷水中に移し温度上昇を抑えなければならないことから、融解操作をすばやく行う必要がある。一方、5℃融解でも実用上十分な結果が得られていることは、融解操作中に2回結氷を取り除くことにより温度上昇が早くなり、順調に融解が進んだためと考えられる。5℃融解は、操作が比較

的簡単なことから、多量の精液を一度に融解する場合には、有効な手段であると思われた。

表 4 融解方法の違いによる授精率・熟成率 (%)

区	方 法	授 精 率	熟 成 率
2, 4	5℃冷水中	88.5	80.8
3, 5	37℃温水中	93.5	88.2

今後安定した高い受精率を確保するためには、凍結及び融解速度が精子に及ぼす影響を、ストロー内温度変化を経時的にとらえて検討する必要がある。また、精液の効率的利用という面からストロー容量 (0.5ml) の検討も必要と考える。

4 ま と め

牛凍結用ストロー (1ml) を使用し、凍結希釈液に広島液を用いた、鶏精液の凍結及び融解方法について検討した。その結果、ベレット法と同様の高い授精率及び熟成率が得られ、十分に実用可能であると考えられた。

針金上凍結、37℃融解した区が最も高い授精率、熟成率となった。また、凍結方法では、針金上凍結が、発泡スチロール上凍結よりも優れた傾向にあり、融解方法では、37℃融解が、5℃融解よりも優れた傾向にあった。したがって、凍結・融解速度が速い方が高い授精率を得られると考えられた。

引 用 文 献

- 1) 坂本秀樹, 国文洋一, 鈴木 章. 1990. 鶏精液の凍結保存に関する研究. 福島県鶏試研報 21, 20-24.
- 2) Terada, T.; Ashizawa, K.; Maeda, T.; Tutumi, Y.; Graham, Edmund F. 1988. Cryoprotective Effects of Trehalose to Chicken Sperm. Proc. XVIII World's Poult. Cong. 610-611.