

課題名	20 鶏凍結精液の実用化	分類	①
	鶏精液の凍結手法の改善と効率的利用法		
試験研究年次	1~2年 (完了)		
I 目的			
<p>遺伝資源の保存及び育種改良の促進を図るため、精液封入容器をアルミアンプルとした場合の、凍結プログラム及び融解後の効率的利用法について検討し、実用に適した凍結保存技術を確立する。</p>			
II 試験方法			
1 供試鶏 ♂ 白レグ 農水省M19系、M21系、福岡N系混成群 計34羽 ♀ " 市販鶏 (ジュリアまたはシェーパー) 受精率調査1回に8~14羽			
2 凍結前処理			
(1) 処理温度 5℃下で処理 (融解後処理も同様)			
(2) 精液量 試験1回につき2ml			
(3) 希釈液 体積比で10%グリセロール添加のLake希釈液			
(4) 希釈方法 希釈液0.6mlを10回、1分間隔で混合 (計6ml、4倍希釈)			
(5) 封入 アルミアンプル8本に1mlずつ封入 (別にダミーを1本)			
3 融解後処理			
(1) 融解方法 氷水中でアンプルを震盪 (8本、8ml)			
(2) 再希釈 Lake再希釈液75mlを5段階、25回に分け1分間隔で混合			
(3) 遠心分離 1000G、20分間			
(4) 最終希釈 上澄みを除去し、沈澱精子に再希釈液を滴下して液状化			
4 検討項目			
(1) 凍結手法について データ第1表に示す4手法			
(2) 融解後処理について 最終希釈量 従来2ml→3mlに増量 雌鶏注入量 従来0.2ml/羽→0.1ml/羽に減量			
5 調査項目 人工授精後2日目~8日目の受精率。			
III 主要成果の概要			
<p>鶏凍結精液の実用化技術について、プログラムフリーザーの使用による安定した高受精率を得られる凍結手法と、融解後精液の効率的利用法を明らかにした。</p>			
1 凍結手法			
熱伝導性が高いアルミアンプルを精液封入容器とし、冷却速度を5℃/分一定にすることにより、精液温度は変動することなく直線的に降下し、受精率は向上する。			
2 融解後の処理方法			
遠心分離、上澄み液除去後の最終希釈量について、従来の2ml (原精液と同量) を3mlに増すと、受精に有害なグリセロールの最終濃度は低下し、精子密度が低下しても受精率は低下せず、凍結精液の利用性が向上する。			
また、雌鶏への注入量は、従来の0.2ml/羽から0.1ml/羽へ減量しても、受精率の低下は2割程度であり、精液1ml当たりの受精卵採取数は約1.6倍に増加する。			

IV 主要成果の具体的データ

第1表 各凍結手法による受精成績

手法	温度範囲別 冷却速度		試験 回数	平均 受精率	受精率 範囲
	[+5~ (-7℃±) 潜熱発生]	[-7±~-40℃]			
A	1℃/分	1℃/分	3	19.2	3.7~41.4
B	1℃/分	10℃/分	4	50.6	19.3~90.1
C	5℃/分	5℃/分	6	76.2	54.4~94.2
D	10℃/分	10℃/分	2	45.3	45.0~45.5

注)①各手法とも-40℃からは10℃/分で-90℃まで冷却し、液体窒素投入。
②手法Bはステップ凍結法(潜熱発生時に冷却速度を早める方法)。

第2表 最終希釈量と受精率(第1表手法Cで凍結)

原精 液量	最終 希釈量	注入 量	試験 回数	最終グリセ ロール濃度	平均 受精率
ml	ml	ml/羽	回	(試算値)%	%
2	2	0.1	2	0.18	64.5
2	3	0.1	1	0.12	93.3

第3表 雌鶏への注入量と受精率(第1表手法Cで凍結)

注入 量	試験 回数	平均 受精率	受精率 範囲	注入雌羽数 (精液1ml当たり)	受精 卵数
ml/羽	回	%	%	羽	個
0.2	4	65.6	33.3~94.2	5	17
0.1	4	52.8	18.5~74.5	10	28

注)受精卵数は、融解後処理を終えた精液1mlから、雌鶏の産卵率を75%と仮定して人工授精後2日目~8日目に得られる受精卵の試算数。

V 成果の評価と取扱上の留意点

- 鶏の育種改良機関において、後代検定、優秀な雄鶏の利用効率向上、遺伝資源の保存等に活用できる。
- プログラムフリーザーの冷却室の熱容量、ヒーター熱量、冷気噴出量等は機種によって異なるため、直線的な温度降下が実現するように機種毎に冷却速度を調整する必要がある。また、1回の凍結量が極端に多い場合も同様である。

VI 今後の研究上の問題点

- 融解後の再希釈過程の簡略化
- 暑熱期における受精率低下の原因と対策

VII 資料名

- 2年度 西日本畜産学会 第41回大会講演要旨
- 3年度 九州農業研究成果情報 第6号