

「鳥取地どりピヨ」の遺伝資源保存技術の開発

1 情報・成果の内容

(1) 背景・目的

高病原性鳥インフルエンザ等の発生により、発生農場の鶏は種鶏も含めて全廃棄されるため、試験場で発生すれば「鳥取地どりピヨ」は消滅することになる。そこで「鳥取地どりピヨ」の遺伝資源保存技術を確立し、万一の場合に備えることとする。このため凍結精液保存技術を開発し、「鳥取地どりピヨ」の種鶏の遺伝子を雄側で保存する方法を検討した。

(2) 情報・成果の要約

精液の凍結に用いる耐凍剤としてメチルアセトアミドが優れており、そのストロー内最終濃度は8.0%であることが判明した。また授精に際しては雌膣深部に授精させる方が受精成績が高くなることが判明した。

2 試験成果の概要

(1) 耐凍剤濃度試験

耐凍剤をメチルアセトアミド(MA)とした場合のストロー内薬剤各濃度による受精成績を検討した。

1) 方法

家畜改良センター岡崎牧場が開発したメチルアセトアミド[®]添加法による凍結手技を用い、各濃度区(最終濃度6、7、8および9%)の凍結精液を作成し、雌鶏に人工授精を行い受精率および孵化率を比較した。(表1)

表1. 凍結及び融解の術式

工程	採精	→ 一次希釈	→ 静置	→ 二次希釈	→ 凍結・保存	→ 融解・注入
内容	精液濃厚部のみ採取し、5℃保存した一次希釈液で直ちに希釈		5℃30分	4℃環境下において、濃度設定した耐凍剤を主成分とした希釈液で二次希釈。その後0.5mlストローに充填	液体窒素気化蒸気で30分間急速凍結	5℃冷水に100秒間浸漬し融解。2分以内に羽当たり0.3mlそのまま人工授精

2) 結果

MAを最終濃度6~9%に濃度設定して凍結精液を作成し、授精試験を行ったところ8、7、9、6%の順で高い受精率、孵化率を示した。MA8%区の受精率は73.8%、孵化率は44.1%であった。

表 2. メチルアセトアミド濃度試験の結果

区分	供試羽数	入卵個数	無精卵	受精率	発生ヒナ	
	(羽)	(個)	(個)	(%)	羽数(羽)	孵化率(%)
MA6%区	10	96	52	42.8	31	30.4
MA7%区	11	103	35	67.1	43	40.3
MA8%区	11	98	29	73.8	44	44.1
MA9%区	13	114	36	65.2	50	39.2

(2) 各種耐凍剤比較試験

耐凍剤の種類を替えて、受精成績を検討した。

1) 方法

表1の方法に準じ、使用する耐凍剤をジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルアセトアミド(DMA)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、エチレングリコール(EG)およびMAとし、各濃度で凍結精液を作成して雌鶏に人工授精を行い受精率および孵化率の比較を行った。

2) 結果

MAが受精率65.6%、孵化率52.4%と最も高く、DMFが受精率55.7%、孵化率44.9%、DMSOが受精率49.4%、孵化率31.2%で受精率および孵化率ともMA>DMF>DMSO>DMA>EGの順に高い値が得られた。(表3)

表3. 各種耐凍剤試験試験の結果

区分	供試羽数 (羽)	入卵個数 (個)	無精卵 (個)	受精率 (%)	発生ヒナ	
					羽数(羽)	孵化率(%)
DMF8%区	15	115	46	55.7	56	44.9
DMA8%区	14	105	61	38.1	32	26.5
DMSO4%区	15	106	55	49.4	35	31.2
EG8%区	15	125	118	5.4	4	2.9
EG12%区	15	102	94	7.7	4	3.8
MA8%区	12	106	32	65.6	59	52.4

(3) 膣深部注入比較試験

融解した凍結精液を雌体内のより深部に注入することにより受精成績が変化するかを検討した。

1) 方法

使い捨て注射器の先端にプラスチックカテーテルを装着し、雌膣内挿入長8cmとなるように調整した注入器を作成し人工授精を行い、従来の挿入長4cmの注入器を用いた場合の受精率および孵化率を比較した。

2) 結果

カテーテル長を8cmに調整した区の受精率66.4%、孵化率48.8%と従来の4cm区の受精率56.1%、孵化率45.9%より高い値が得られた。(表4)

表4. 膣深部注入比較試験の結果

区分	供試羽数 (羽)	入卵個数 (個)	無精卵 (個)	受精率 (%)	発生ヒナ	
					羽数(羽)	孵化率(%)
8cm区	27	71	25	66.4	32	48.8
4cm区	25	80	33	56.1	38	45.9

3 利用上の留意点

本試験において実用レベルの高い孵化率が得られたことから、平成29年度新規試験”「鳥取地どりピヨ」の遺伝資源保存技術の確立”において万一の際に利用する凍結精液の貯蔵を行うこととする。

4 試験担当者

[環境・養鶏研究室 室長 福間 規夫]