

家禽の人工授精とその応用に関する研究

渡 辺 守 之

(広島大学水産産学部)

家禽の人工授精は IVANOV (1913)¹⁾ の雄鶏の精管からの採精に始まり爾来 BURROWS & QUINN (1935)²⁾ らを始めとし多くの研究報告がなされているが、今日においてもまだ実用化の域に達しているとは言えない。これには幾つかの原因が考えられるが著者³⁾ が既に指摘したように、種雄鶏に対するコストが他の家畜の雄の場合にくらべ低廉なため人工授精の可能性を真剣に研究しようとする熱意に欠けていたこと、また自然交尾の状態ではほとんど伝染病に対する心配がなかったこと、更には家禽精液の *in vitro* 保存の困難性などによって満足できるような受精結果を与える技術的進歩を伴なわなかったことに起因するものと言われている。

しかし近年に至り鶏の飼育形態の変遷によりバタリーおよびケージ養鶏法が普及発達するにつれ、それら飼育鶏の受精卵確保の必要から、あるいは後代検定法による優れた種雄鶏の高度利用等の必要上から従来の実験段階より授精技術の応用面へと発展し、それに関する研究も一段と活発になって来た。

本研究は著者が昭和 28 年から今日まで広島大学水産産学部において家禽の人工授精の技術的問題を中心に、更にこれらを応用して行なった展間および科間雑種の作出に関する研究並びに家禽精液の凍結保存に関する問題の解明を目的として行なって来た一連のものである。

I. 家禽の人工授精特にあひる、 七面鳥の人工授精

鶏については BURROWS & QUINN (1935)²⁾ の *massage* 法に始まり内外共に数多くの研究が行なわれており、最近では LAKE (1960)⁴⁾、佐伯 (1960)⁵⁾、武田 (1961)⁶⁾、山根ら (1962)⁷⁾ の業績が挙げられ著者 (1965)³⁾ も既に詳

細に綜説しているのでここでは特にあひる、バリケンおよび七面鳥について報告する。

1. あひるの人工授精

採精法：あひる特有の保定台⁸⁾ を考案して初め大西ら (1955)⁹⁾ の *massage* 法により次いで電気刺激法^{10,11)} によって採精し精液の一般性状および特質について研究を進めた。動物に電気刺激を与えて人工的に射精させる試みは BATTELLI (1922)¹²⁾ に始まりその後これが実際に家畜の分野で行なわれるようになったのは GUNN (1936)¹³⁾ の山羊を用いて行なった実験が初めてのようである。爾来この電気射精法に関する実験が牛馬のごとき大家畜から綿・山羊、豚、兎、鶏等に至るまで行なわれている。これを鳥類に適用したものには SEREBROWSKY & SOKOLOVSKY (1934)¹⁴⁾ の鶏、あひる、鴨、雉、珠鶏に関する報告および西川 (1944)¹⁵⁾ の鶏に関する報告があるが、いずれも実験段階に止まり実際の応用の面からは程遠いものであった。そこで著者は富士平製山羊用電気射精器 (現明大農学部芝田清吾博士らの考案による) を使用し上述の保定台によって保定したあひるの大腿骨部皮下に鋭針を、直腸に鈍針を挿入し (Fig. 1) 電圧 20~30 volt, 0.06~0.08 Amp. の交流で 3 秒間通電、5 秒間隔で 3~5 回これを繰返すことによって採精に成功した。この方法はその後採精の困難なバリケン (20 volt, 0.04~0.05 Amp.) 日本雉 (10 volt, 0.03~0.04 Amp.) にも応用し容易に採精の可能なことを確認した。バリケンについては後述する。

その結果電気刺激法による採精があひる、バリケンおよび日本雉の心理的要因に対し *massage* 法よりも効果的であり、あひるの場合においては精液の性状、受精率において *massage* 法、電気刺激法の間にほとんど差異が認められずまた電気刺激を連続行なっても鳥体に悪影響が認められない。

精液の注入法：精液の注入に当ってはあひる用に特別に考案した腔鏡¹⁶⁾ と富士平製山羊精液注入器の容量 0.5 ml のガラスピペットを予め 0.3 ml に規正したものを使用し、従来左人指ゆび誘導による注入法よりも遙かに

Studies on the artificial insemination in domestic fowls.

WATANABE, Moriyuki (Faculty of Fisheries & Animal Husbandry, Hiroshima University, Fuku-yama-shi, Hiroshima 720)

Jap. J. Animal Reprod. 16 (2), 1970.

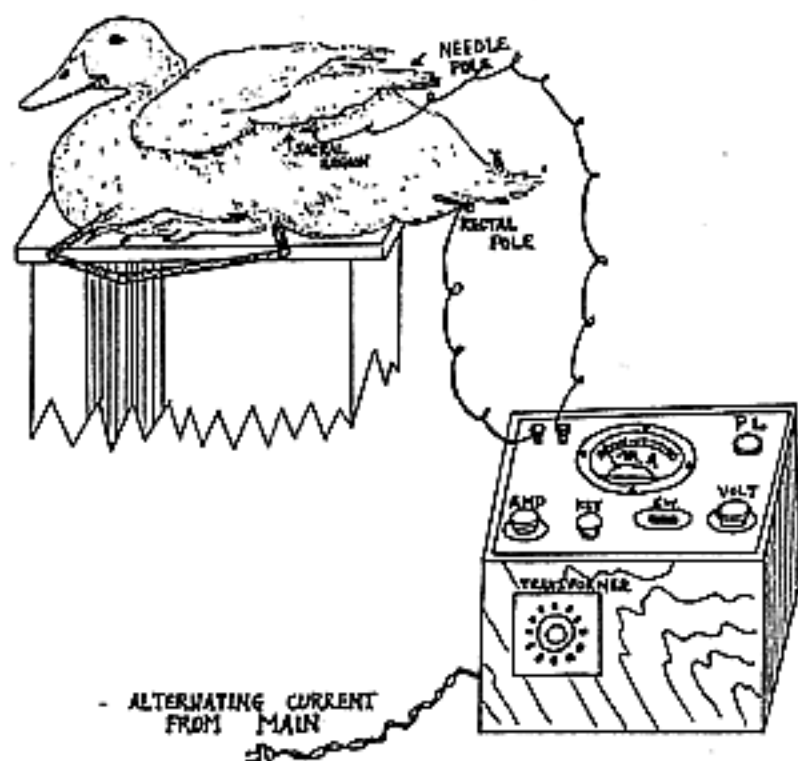


Fig. 1. Diagram illustrating the method of electrical stimulation for collecting the semen of drake.

Table 1. Relationships between the dilution rate and the fertility of semen obtained by massage and diluted with physiological saline solution (September 2 to October 13, 1953). Sperm suspension of each rate was allotted to five ducks in a volume of 0.3 ml. per bird

No. day following insemination	Number of eggs laid				Number of fertile eggs				Daily fertility (%)			
	Dilution rate				Dilution rate				Dilution rate			
	0	5	10	20	0	5	10	20	0	5	10	20
1	5	3	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4	4	4	4	4	3	3	4	100	75	75	100
3	4	4	5	4	4	3	5	4	100	75	100	100
4	5	1	4	3	3	1	3	3	60	100	75	100
5	5	2	4	5	4	2	2	3	80	100	50	60
6	5	2	4	4	4	2	2	1	80	100	50	25
7	5	4	5	4	3	4	1	1	60	100	20	25
8	4	5	4	4	3	4	0	1	75	80	0	25
9	5	4	5	5	2	3	3	2	40	75	60	40
10	4	4	5	5	1	3	0	0	25	75	0	0
11	3	4	5	5	1	1	0	0	33.3	25	0	0
12	4	3	5	5	0	2	0	0	0	66.7	0	0
13	5	4	5	5	1	0	0	0	20	0	0	0
14	4	4	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0
15	4	4	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. Average viability of duck sperms in various diluents

	Mean (hrs.)	Range (hrs.)	Confidence limits (95%)
Undiluted	36	24—72	±12.63
Physiological saline solution (0.85%)	78	48—96	±20.72
Fowl egg-yolk citrate	126	48—192	±41.11
Duck egg-yolk citrate	63	24—96	±21.22
"Seminan"	60	24—96	±21.41

Table 3. Fertility of the semen electrically collected and stored in a fowl egg-yolk citrate buffer at dilution rate of 1:5. Inseminating once for each flock, consisting of 6 ducks

days after insemina- tion	Flock I. 0-hour storage			Flock II. 24-hour storage			Flock III. 48-hour storage		
	No. of eggs laid	No. of fertile eggs	Daily fertility (%)	No. of eggs laid	No. of fertile eggs	Daily fertility (%)	No. of eggs laid	No. of fertile eggs	Daily fertility (%)
1	3	0	0	5	0	0	4	0	0
2	6	4	66.7	6	3	50.0	5	4	80.0
3	6	6	100.0	6	5	83.3	5	4	80.0
4	4	3	75.0	6	2	33.3	3	1	33.3
5	4	4	100.0	5	2	40.0	5	3	60.0
6	4	2	50.0	6	2	33.3	5	1	20.0
7	6	2	33.3	6	2	33.3	6	0	0
8	6	2	33.3	5	2	40.0	6	0	0
9	5	1	20.0	6	2	33.3	6	0	0
10	3	1	33.3	6	1	16.7	4	0	0
11	4	2	50.0	6	0	0	6	0	0
12	6	1	16.7	6	0	0	6	0	0
13	6	1	16.7	6	0	0	6	0	0
14	4	0	0	5	0	0	6	0	0

衛生的であり、腔壁、子宮壁の損傷の恐れもなく、卵管開口部を確認してから精液注入完了まで1分以内で終ることができ、しかもこれら改良注入法による授精成績¹⁷⁾は従来の人指ゆび誘導による注入法の成績¹⁷⁾と比較して少しも劣るものでないことを確認した。

精液の稀釈倍率と受精率の関係: massage 法によって得た精液を生理食塩液で 0, 5, 10, 20 倍に稀釈した各精液を各区 5 羽 1 群として 1 羽当り 0.3 ml 宛注入しあひる精液の稀釈倍率と受精率の関係を調べた結果は Table 1 の通りで、未稀釈の原精液区、5 倍区で良好な結果が得られ、10 倍区、20 倍区でも余り著しい差は認められない。

各種稀釈液によるあひる精液の viability: 3 種類の

egg yolk citrate buffer [Fowl egg-yolk citrate (FEY citrate), Duck egg yolk citrate (DEY citrate), Seminan] とこれまで稀釈液として使用して来た生理食塩液 (0.85%) でそれぞれ 5 倍に稀釈し 5°C に保存してその viability について比較した結果は Table 2 のごとくで FEY citrate が最も優れ、次いで生理食塩液、DEY citrate, Seminan の順で未稀釈の原精液が最も劣っていた。

精液の保存時間と受精率との関係: 上述の稀釈液の適否に関する試験の結果 FEY citrate buffer が最も好成績を示したので、精液の保存時間と受精率の関係を調べる実験ではこの稀釈液を使用した。従来液状の保存精液をもって受精試験を行ない好成績を収めた例は家禽の場

合においては家畜にくらべて比較的少なく、1959 年 LAKE ら¹⁰⁾が協同してアメリカ・イスラエル・スコットランド間の鶏精液の航空輸送を行ない、アメリカからイスラエルに送られた 11°C, 37 時間保存の精液注入後 1 週間の受精率は 38%, アメリカ・スコットランド間の 10.8°C, 38 時間保存精液の同受精率は 36% であったという報告は非常な関心を喚起した。更に LAKE (1960)¹¹⁾は fructose を添加したグルタミン酸を含む生食液を medium として 4 倍希釈で 2°C から 0°C に 24 時間および 48 時間保存した精液を各羽 0.1 ml 宛注入し、注入後 2~6 日間の受精率がそれぞれ 64% および 47% であることを報告し、これまた当時非常な注目を浴びた。著者の 1959 年 11 月 23 日から 1960 年 3 月 4 日に亘ってあひるを用いて実施した精液の保存時間と受精率の関係は Table 3 のごとくで、電気刺激法により精液採取後直ちに FEY citrate で 5 倍に希釈し各羽 0.3 ml 宛注入した第 I 群では注入後 3 日から 5 日までの間に僅かの低下はあるが 100% の daily fertility を示し、fertility potential は注入後 12 日まで続いた。上記の希釈により 5°C に 24 時間保存後授精試験を行なった第 II 群では注入後 3 日目に 83.3% の daily fertility を示し、fertility potential は注入後 9 日まで続いた。同様の手法で 48 時間保存後に注入試験を行なった第 III 群の daily fertility は 24 時間保存のものと同様であったが、fertility potential の持続は注入後 5 日間でその間の受精率は漸次低下を示すのが認められた。第 IV 群および第 V 群すなわち 72 時間および 96 時間保存のものでは受精卵は得られなかった。

この著者の結果を LAKE (1960)¹¹⁾の鶏における成績と比較するため 24 時間保存における注入後 2~6 日間の受精率を求めると 48%, 48 時間保存の受精率は 55% となり LAKE の成績にくらべて少しも遜色がない。このように液状精液において比較的長時間の保存にもかかわらず次第に良好な受精率が得られるようになって来たのは WILCOX (1957)¹²⁾らが低受精率の原因を使用した稀釈液の低浸透圧によるものとして、*in vitro*において鶏精子が受精能を保有するためにはその稀釈液の氷点降下度を $-0.607 \sim -0.639^{\circ}\text{C}$ の範囲内におくことの必要性に注目したことによるとと思われる。鶏精子の体外保存における "Crooked-necked spermatozoa" すなわち精子の頸曲り現象が受精に重要な関係を有し、これを他の精子の奇形と区別し、低受精の原因となることを指摘したのは佐伯 (1960)¹³⁾でこのことは極めて重要なことである。その後山根ら (1962)¹⁴⁾は鶏精子の Neck-bending は

生きた精子がその低浸透圧の medium によって誘起される反応で -1.03°C 以下の氷点降下度をもつ低浸透圧の稀釈液では多かれ少なかれその浸透圧によって精子は頸曲り現象を惹き起こすもので副生殖腺排出液からなる鶏の精漿の氷点降下度はこれよりもかなり低く -0.58°C であるから新しい原精液でも時間の経過と共に次第に頸曲り精子を増大し、それが著しく受精能を低下させることを認め、氷点降下度を -1.03°C に調整した稀釈液で精液を 4 倍に希釈し、保存温度 $2 \sim 5^{\circ}\text{C}$ でこれまで見られなかった 72 時間、96 時間保存精液による注入後 2 週間に亘る平均受精率 42.8% および 36.5% を得て鶏精子の生理学的見地から新たに家禽の人工授精の分野に画期的な方向を与えるに至った。しかしながら鶏精液の液状保存においてはやはり限界があり家禽においても将来は牛の場合と同様に凍結保存によらねばならないし、また必ずしもそのような時代の到来するであろうことを予測しⅢのごとき凍結保存を行なうに至ったわけである。バリケン的人工授精についてはⅡのバリケン $\times$ あひる ♀の F_1 である土著鴨作出のところで述べる。

2. 七面鳥の人工授精

七面鳥の受精卵の持続日数は鶏にくらべ 3~4 倍も長い。精液量は鶏の約 1/2 以下で雌雄の体重差も大きく、自然交配による受精率²¹⁻²⁴⁾はかなり低く、七面鳥の飼育の盛んなアメリカでは七面鳥の受精率、ふ化率を高めるため人工授精の必要性が早くから強調され数多くの報告がなされているが、わが国ではこれに関する研究はほとんど見られない。最近漸くわが国でも一部で七面鳥の飼育熱が高まり自然交配による受精率の低さに気付き人工授精の要望も高まって来た。

著者ら²⁵⁾は 1966 年 3 月からまず七面鳥の人工授精に関する基礎的研究として精液の採取法および採取精液の一般性状について調べたような結果を得た。採精には七面鳥特有の保定台を考案し、massage 法により両恥骨部外側から両掌で緩急自在に軽く加圧すること数回で容易に採精可能なことを確認した。得られた精液量は 0.05~0.3 ml, 平均 0.11 ml; pH 7.0~7.8, 平均 7.6; 1 mm³ 中の精子数は 2.11~18.20 百万, 平均 5.11 百万; 総精子数 1.62~27.30 億, 平均 6.12 億であった。なお精子の大きさは全長 82.7~93.7 μ , 平均 86.8 $\pm$ 0.56 μ ; 頭部長 8.0~13.0 μ , 平均 10.4 $\pm$ 0.25 μ であった。次いで 1968 年 3 月から精液の注入技術についての研究をすすめ授精試験を行なった結果では受精率 97.3%, ふ化率 83.4% でかなり良好な結果を得た。受精卵の持続日数は 61 日で LORENZ (1950)²⁶⁾, McCARTNEY

(1951)²⁷⁾ らの平均持続日数よりもかなり上回った。以上の結果から七面鳥の人工授精についても明るい見通しを得られた。なお七面鳥では雄の精液生産の最盛期と雌鳥の産卵期が一致しない場合がかなり多いのももちろんこの同期化を計ることも必要であるが、更にすすんで後述する凍結精液の利用も考慮されるべきであろう。

II. 属間および科間雑種の作出

1. Mule-duck (土着鴨) の作出

Muscovy drake (バリケン) と Common duck (普通あひる) の F_1 は古くから属間雑種として有名で、台湾、フィリピン、東南アジア等では重要な肉生産鳥として珍重され、殊に台湾では tsai-ah (菜鴨) $\times$ fan-ah (蕃鴨) の F_1 を too-fan-ah (土着鴨) と称し、雌雄共に sterile であるが、体質強健で発育が速く、かつ発育時の雌雄の体重差が極めて少なく、肉味も佳良であるためあひる生産業に劣らぬ肉鳥生産業である。この Muscovy drake と Common duck の自然交配による F_1 作出はかなり古くから行なわれており、台湾では以前熟練した技術者が交尾の補助を行なって巡回することが行なわれていたと聞いている。しかしその受精率は低く決して満足すべき状態ではないといわれている。

一方この土着鴨の生産に人工授精を応用する試みは YAMASHINA (1950)²⁸⁾ によって初めて行なわれ、その後大西ら (1955)²⁹⁾ による研究報告があるが、採精法、注入法、精液の保存等について、これを実用化するためには更に研究をすすめる必要があると考えられるのでこれらの諸点について検討を加えた。特に本試験の遂行に当り 1959 年 3 月 国立台湾大学農学院 劉榮傑 教授の Muscovy duck の原種卵の空輸による 御寄贈のあったことを附記しなければならない。

授精法: 初めあひる同様に大腿骨部の massage 法を試みたがほとんど反応を示さなかった。そこで著者は採精に電気刺激法を試みた。従来 SEREBROVSHII & SOKOLOVSKAJA (1934)¹⁸⁾ や 西川 (1944)¹⁹⁾ の家禽で実施した電気射精に関する報告があるが、いずれも実験的段階に止まっている。著者¹⁸⁾ は 1959 年、電圧 20 V、40~50 milliamp. の交流で 3 秒間通電、5 秒間隔で数回繰返すことにより 1 分以内で容易に射精反応を示すことを確認した。採取精液はあひると同様にその性状に異常を認めず、また電気刺激を連続与えても鳥体に悪影響は認められない。しかし人工授精を実施する場合には採精量の多いこと、好適な稀釈液を使用することが大切で、この見地から更に研究をすすめ、雄バリケンに対する横

取法の訓練により常時 1.5~2.0 ml の精液を射出する種雄バリケンを確認することができるようになった。

注入法: 前述の Common duck 用に考案したあひる腔鏡と山羊精液注入器の容量 0.5 ml のガラスビベットを予め 0.2 ml に規正したものを使用して授精試験を行なった。

稀釈法: 従来家禽特に鶏精液の稀釈液としては家畜同様に当初リンゲル氏液、ロック氏液、卵白、6% ブドウ糖液、生理食塩液などが多く使用されているが、これらは単に稀釈の観点から試みられたものが多く、これらを用いて稀釈した精液を数時間ないし数 10 時間保存した後授精試験を行なって好成績を収めた例は少ない。著者の行なった土着鴨の量産に関する試験では浸透圧の観点から鶏用として調製された山根ら (1962)⁷⁾ の高浸透圧改良稀釈液を使用し 3, 5, 10 倍稀釈について検討した。その結果原液が 3 倍、5 倍、10 倍希釈のものにくらべ優れた成績³⁰⁾を示し、精液の横取法により訓練した雄であれば電気射精法によるよりも約 7~8 倍も多量に採精でき、しかも精子濃度においてもバリケン場合には後者による場合と余り変わらず、原精液を 0.2 ml 宛注入しても上記の訓練バリケンでは 1 回の採精量で雌 8~9 羽を受精することができるので人工授精の意義を失なわないことを認めた。しかし今後は更にバリケン精液独自の稀釈液の調整、更に精液の保存という点では凍結保存も考えてゆく必要があるだろう。

2. 白色レグホーン雄 (*Gallus domesticus*) $\times$ 日本雄 (*Phasianus versicolor Vieillot*) 雌の属間雑種

従来コウライ雄 (*Phasianus colchicus*) と鶏 (*Gallus domesticus*) の F_1 についての報告はあるが日本雄と鶏の F_1 作出に関する報告は聞かない。著者³¹⁾ は 1962 年 広島方式と呼ばれる山根・突永⁷⁾ (1962) らによる鶏の人工授精技術を用いて単飼した生後 415 日令、体重 2.1 kg の白色レグホーン種雄から腹部 massage 法により採精した原精液を浸透圧を調整した卵タ液で 1:4 に稀釈し、生後 387 日、体重 805 g の雌雄の子宮内に注入した。使用した卵タ液は 6.5% $\text{Na}_2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 液 1 容量 + 9% ブドウ糖液 1 容量 + FEY 2 容量 ($d=1.03^\circ\text{C}$) である。その結果日本雄雌は唯一回の授精を行なった翌々日に 1 卵を産んだのみでその後産卵を停止したが、この唯一の卵が受精し、順調にふ化発育して成鳥となった。本実験はただ一回授精を行なっただけで、しかも 1 卵を生産したのみであるにもかかわらずこれが完全にふ化し生育したことは今後人工授精により属間雑種の作出の可能なことを示す大きなよりどころとなった。引き続き

1963 年 5 月 17 日広島農業短大家禽舎に飼育中の生後 2 年目の体重 2.1 kg の白色レグホーン雄鶏から採精しこれを上述の稀釈液で 4 倍に稀釈、稀釈後 2°C の魔法槽につめて 2.5 時間汽車輸送したものを広島大学水畜産学部家禽舎に単飼した生後 3 年目の体重 950 g の雌雉に注入した。注入の翌々日からこの雌は 4 コの卵を続けて産んだが、この 4 卵全部が受精し内 3 コはふ化日数 24~26 日、平均 24.6 ± 1.1 日で完全にふ化した。1 コははし打ちをしながら 22 日目に死ごもった。この死ごもった F_1 は雄で羽色は白色であった。他の 3 羽の F_1 の行動および一般外観は鶏よりも雉の母親に似ていたが、特に著明な特徴³¹⁾は低いバラ冠様の comb を有し胸には golden crescent marking を有していた。性比は 22 日目に死ごもったものを含め $\delta\delta : \text{♀♀} = 50 : 50$ であった。この逆交配でも受精卵は得られたがいずれも 1 週間以内の早い時期に発育を中止し、この交配からは未だ雛は得られていない。

3. コウライ雉 (*Phasianus colchicus*) 雄 × 鶏 (*Gallus domesticus*) 雌の F_1 作出

著者ら³²⁾は 1963 年 4 月 25 日属間雑種作出を目的として生後 5 年目の体重 1,250 g のコウライ雄雉と生後 2 年目の体重 1,100 g の鶏雌 (Small Bantam $\delta \times$ Single Comb White Leghorn ♀ の F_1) を同一 pen 内に飼育し、自然交配による属間雑種の作出を試みたところ、5 月 1 日から 6 日まで 6 コ続けて産卵しその後は産卵を中止した。これをふ化したところ全部受精し、ふ化日数 22~26 日、平均 23.8 ± 1.6 日で 6 コ全部がふ化した。得られた雑種の一般外観および行動は鶏よりも雉に類似していた。6 カ月令で雑種の平均体重は 1,672 g に達しその両親の体重のいずれをも凌駕しいわゆる heterosis の現象が認められた。羽装の色はかなり違いがあり、白、薄茶、濃茶および黒が現われた。嘴および脚の色もまたかなりの違いがあり灰白色、石盤色および石盤色様の黒となった。雑種の尾羽長はその両親の中間であった。雑種には鶏の特徴である肉髯や耳朶もなければまた雉の特徴である耳房もなく、5 カ月令に達する頃から全雑種に低いバラ冠様の comb が現われた。雑種の性比は $\delta\delta : \text{♀♀} = 4 : 2$ でここでは HALDANE rule³³⁾ がうかがわれた。雑種の喙の形、大きさおよび附着位置についてはいずれも両親の中間のものであった。また脚の鱗片数は平均 14 でこれも両親の中間であった。なお得られた雑種雌 2 羽の生殖器官において 1 対の卵管および卵巣の特異例が観察された。鶏では一般に左右の卵管は embryo の発育段階において、初めは平

行して発達するが、ふ卵 10~13 日目頃を境にして右側卵管は発育を中止し、左側卵管のみ発育を継続する。その結果ふ化時においては左側がますます発達するのに対して右側は僅かにその痕跡を留めるに過ぎないのが普通である。従って成鶏においては稀に 2 つの卵巣と左右 1 対の卵管を有する例も報告されているが、かような例は極めて例外的なものである。今回の雑種の雌 2 羽においては左右 1 対の卵管と 1 つの卵巣を有するものおよび左右 1 対の卵管と 2 つの卵巣を有する極めて特異な例に遭遇した。これらの 1 例では不完全ながら濃黄褐色の小形卵胞様の扁平菲薄な 1 コの卵巣と先端が盲管となって回旋していない 1 対の卵管を有し、その卵管長は左右それぞれ 8.28 cm, 7.18 cm で、卵巣重量は 0.15 g であった。他の 1 例では左右 2 コの濃黄褐色の卵巣と左右 1 対の卵管を有していた。この場合は前者にくらべ卵巣は機能的でなく、重量も各々 0.12 g であり、卵管は左右共にやや細いが回旋しておりその先端はいずれも開口しており、特に左側卵管ではその上端部は明瞭な infundibulum を形づくっていた。卵管長は左右それぞれ 15.20 cm, 9.12 cm であった。雑種 F_1 の睾丸機能については今後行なわれる組織学的研究の結果を待たなければならない。

4. 鶏 (*Gallus domesticus*) × 七面鳥 (*Meleagris gallopavo*) の F_1 作出

この実験は 1969 年 5 月から開始し現在なお続行中であるが、これまで得られた結果の概要は次のごとくである。

年令 12 カ月の Bronze turkey の雄から massage 法により採精した原精液を採取後速かに 12~22 カ月令の White Leghorn 雌に 0.08~0.1 ml 宛子宮内注入を行ない、またその逆交配では 12~22 カ月令の White Leghorn 雄から同じく massage 法により採取した原精液をできるだけ速かに同年令の Bronze turkey の雌に注入した。その結果七面鳥 $\delta \times$ 鶏 ♀ の実験では 16.67% の受精率、一方その逆交配すなわち鶏 $\delta \times$ 七面鳥 ♀ では 28.27% の受精率を得た。いずれの交配でも embryo は発生の初期に中止するものが多かった。これらの受精成績は QUINN ら (1937)³⁴⁾ および ASMUNDSON ら (1957)³⁵⁾ の成績と同様に鶏を雄とし七面鳥を雌とした方がその逆交配の成績にくらべてかなり高かった。これにはいろいろの原因も考えられるが七面鳥の parthenogenesis (処女生殖) の問題も関係しているように思われる。この実験で得た最も長い embryo の生存日数は鶏 $\delta \times$ 七面鳥 ♀ の交配において得られた孵卵 25 日間で、外観は鶏に類似し、羽色は白色で、はし打

ち中に死ごもりその体重は 47.4 g であった。

III. 家禽精液の凍結保存

1. 鶏精液の凍結保存

牛精液の凍結保存については POLGE & ROWSON³⁴⁾ がグリセリン加牛精液を -79°C で 2 時間から 8 日間保存し、これを 38 頭の雌牛に注入して 79% の高受精率を得たことを報告して以来ここ 17~18 年間に目覚ましい進歩を遂げ現在では世界各国において -196°C の液体窒素 (LN_2) による凍結保存が広く実用化されるに至っている。一方鶏では牛精液の凍結保存より凡そ 10 年も早く 1941 年 SHAFFNER ら³⁷⁾ によって開始されその後多くの研究者^{38~54)} によって実施されて来たが未だいづれの国でも牛の場合に見られるような実用化の域には達していない。

著者⁵²⁾は当初鶏精液の凍結保存に関する基礎的研究として dry ice alcohol 法により凍結用各種稀釈液の調製を行ない、凍結融解後の精子活力におよぼすグリセリン濃度、グリセリン平衡温度、平衡時間、各種凍結法および融解法の影響について検討しさらに授精試験を試みた。

採精実験に供した鶏は生後 3 年目の White Leghorn 種雌 3 羽で採精は腹部 massage 法により 2~3 日おきに行ない採取精液は各個体別に試験に用いた。授精試験では 30 日、90 日および 100 日間凍結保存した精液を融解後速かに 12 カ月令の White Leghorn 種雌 8 羽にそれぞれ 0.2 ml 宛子宮内注入を行なった。その結果は次のごとくである。

1. 凍結用稀釈液としては A 液 (5% $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{O}_4$ solution 85+fresh egg yolk 15) が他の稀釈液にくらべ精子活力の維持および生存精子割合に最も効果的であった。
2. 鶏精液の凍結保存においては精液の稀釈倍率は低い方が良好であった。
3. グリセリン濃度は 5, 7, 9, 12, 20, 30 および 50% の 7 区の中で 7% が最も良好な結果を示した。
4. グリセリンの平衡温度、平衡時間については濃度 7% でそれぞれ 5°C , 10°C , 20°C および 30, 60, 90, 180 分で試験した結果、平衡温度は 5°C 、平衡時間は 60 分で良好であった。
5. 凍結への温度変化は 37°C 稀釈から 5°C (グリセリン添加、平衡)、さらに 5°C から 0°C まで毎分 1°C ずつ下げてゆきそれより -79°C に急速凍結した第 4 法が良好であった。
6. 融解方法については -79°C から 5°C に 5 分間

静置して融解しそれから 20°C に移して保持した d 法が良好で活力維持時間も長かった。

7. 鶏精子の融解後の活力と凍結期間 (1~365 日) との関係については 1 日から 180 日までは余り著しい差は認められなかったが 365 日間保存のものでは融解後の活力は低かった。

8. 鶏精液の凍結保存期間 30, 90, 100 日による受精成績はそれぞれ 29.1%, 25% および 25% で凍結期間と受精率の間には顕著な差異は認められなかった。なお 90 日間凍結保存した精液から初めて人工授精による正常な雄雛第 1 号が得られた。

以上が dry ice alcohol 法による鶏精液の凍結保存の結果であるが、その後いろいろとこれらの結果を検討して見るのに、実際にかなり長期間にわたって凍結保存を行なう場合、dry ice 使用では労力的にも経済的にもまた安定性の点からも種々問題があるので dry ice の代わりに LN_2 を用いて鶏精液の凍結保存を実施し dry ice alcohol 法の場合との比較を試み、さらに LN_2 による凍結保存精子を用いて授精試験を行なった。精液採取に使用した雄鶏は 10~24 カ月令の White Leghorn 種雄 2 羽で腹部 massage 法により週 2 回午前 7 時~8 時の間に採精し凍結した。授精試験には生後 12 カ月令の同種雌 11 羽を使用した。本凍結保存における稀釈液、グリセリン濃度、グリセリン添加温度、同平衡時間、凍結および融解法については dry ice alcohol 法の場合と同様にそれぞれ A 液、7%, 5°C 、60 分、第 4 法および d 法によった。特に dry ice 使用の場合と異なる点は精液の保存はストロー管で行ないグリセリンの添加平衡後 0°C まで下げてから LN_2 の気化蒸気中に約 5 分間の予凍を行なった後一挙に -196°C の LN_2 液中に浸漬して保存した。かような操作により 1/4 日~365 日間凍結した鶏精子を融解してその蘇生活力を dry ice alcohol 法の場合と比較検討した。さらに LN_2 により 30 日~54 日間凍結保存した精液を用いて上述の雌 11 羽に融解精液 0.2 ml 宛子宮内に注入して授精試験を行なった結果は次のごとくである。

1. 1/4~365 日間の凍結保存では凍結期間の長短にかかわらず dry ice alcohol 法の場合にくらべかなり活発な安定した活力を示し、長期間保存の可能性が期待される。
2. 注入後 2~8 日までの受精率は 28.6%, ふ化率 7.1% で No. 104 の注入雌鶏からは入卵後 21 日目に体重 39 g の正常な雄雛が得られた。

これまで著者らの行なって来た dry ice alcohol 法お

トメ、このとき、精液の凍結保存においては既に述べたように融解後かなり活発な運動力を示しているにもかかわらずその受精率は 30% を越えず、融解後の精子を顕微鏡下で詳細に観察したところ頸曲り現象を呈するものがかなり多いことがわかった。凍結過程において生ずると思われるこれらの頸曲り異常精子を少なくすることが受精率向上の一因と考えられるので、もし鶏精子に DE SILVA (1961)³⁴⁾ や突永 (1968)³⁷⁾ らの報告しているように採取直後約 15 分間は温度の急激な変化にあってもショックを受けにくい前段の時期いわゆる pre-shocking があるとするれば、この時期に凍結処理操作を完了することが必要であり、さらに渡辺 (1966)³⁰⁾ の成績ではグリセリン平衡時間は 15 分の場合に 64.2% と最高の蘇生率を示していることから、次のような急速凍結法による保存試験を試みた。

精液の採取に使用した雄鶏は 7~9 カ月令の White Leghorn 種の若雄 5 羽で、採取法は腹部 massage 法により午前 7 時~8 時の間に採精した。採取精液は直ちに最終濃度 7% グリセリン加稀釈液 A で 4 倍に稀釈して 5°C に 15 分間保存しこの間にストロー管に移して同管の閉封も行なう。その後 LN₂ 気化蒸気中に 2 分間予凍した後 LN₂ 中に浸漬して凍結を完了する。すなわち採精より凍結完了まで約 17 分間で処理するようにした。かような急速凍結法と従来の旧凍結法により 7 日から 62 日間にわたる 6 回の凍結試験後それぞれ各サンプルを融解してその活力、頸曲り精子の出現率について調べた。頸曲り異常精子の出現率は約 500 コの精子について算定した。固定はホルマリンによって行ない、染色は常法のカルボール・フタシン・エオジンによって染色した。さらにこの急速凍結法によって 35 日から 95 日間にわたって保存した精液を用いて授精試験を実施した。人工授精に使用した雌鶏は 9~10 カ月令の産卵成績良好な White Leghorn 種 11 羽である。その結果は次のごとくである。

1. 精液採取から凍結完了までわずか 17 分で完了するこの急速凍結法によって 7, 41, 46, 55 および 62 日間凍結した精子の融解後の平均活力は 88.3% で、これは同じく凍結を完了するのに約 100 分を要した従来の方法で同期間凍結した精子の融解後の平均活力 80.7% にくらべるとより活発である。

2. 上記凍結精子の融解時の本法による neck-bending spermatozoa の平均出現率は 14.9% で従来の旧凍結法による平均出現率 29.0% にくらべると明らかな差異が認められた。

3. 本法による 1 週目受精率は 60.0% で従来の凍結法による 30% を下回った受精成績にくらべると飛躍的な向上を示し人工授精への実用化が期待される。

4. 本法による受精卵の持続日数は平均 6 日、最高 10 日であった。

2. 七面鳥精液の凍結保存

七面鳥精液の凍結保存に関する報告は RAJAMANNA (1968)³⁸⁾ のもの以外は見当たらない。本実験は今後優れた肉生産鳥として大いに期待される七面鳥の人工繁殖に 1965 年来著者らの行なってきた鶏精液の凍結保存技術を応用しようとして行なったものである。

精液採取に使用した雄鳥は Bronze turkey 種の 10~20 カ月令のもの 7 羽で、採精法、使用器具はいずれも渡辺ら (1967, 1969) の方法^{25, 30)} によった。精液の凍結法は渡辺ら (1970)³⁰⁾ の鶏における急速凍結法によって行ない、融解法も同様に -196°C の LN₂ 中に保存した各 ampule を直ちに 5°C リピーカー水中に投じて融解し、同温度で 5 分間静置後さらに 20°C のリピーカー水中に移し 5 分後にその蘇生活力について調べた。凍結に当って始め鶏同様に稀釈液として 5% ブドウ糖液を使用した。融解後かなり活発な活力を示したにもかかわらずそれらの精子に頸曲り異常精子が多く観察されたので、七面鳥精液の滲透圧 (-0.77°C) の関係から 5%, 7%, 9% ブドウ糖液を稀釈液 (各種濃度のブドウ糖の溶液 85+新鮮卵黄 15 の稀釈液) とした場合の良否について検討した。その結果七面鳥精子の融解後の活力維持については 5%, 7%, 9% ブドウ糖液使用による蘇生精子の活力はそれぞれ 81.3%, 75.0% および 23.9% で前二者の間には著明な差異は認められないが、9% のものでは著しく低かった。異常精子の出現率は原精液の 6.2% に対して 7% ブドウ糖液 14.4%, 5% ブドウ糖液 35.1%, 9% ブドウ糖液 53.8% となり 7% のものが 5%, 9% のものに比べ良好であった。このことは七面鳥精液の滲透圧とも関係あるように思われる。

結 び

以上が著者がこれまで行なって来た研究の大要であるが、家禽の人工授精の問題はこれからの問題であり、著者の行なったものはほんの一部に過ぎず、家畜同様に実用化に到達するためには基礎、応用の両面においてさらに解明すべき幾多の問題が残されており今後の研究に期待がよせられている。

会に感謝すると共に終始ご指導ご鞭撻を賜った恩師山根甚信博士および実験にご協力いただいた当研究室各位に心からお礼申し上げる。

本研究に関する本誌掲載の報告

- 1) 鷺の人工授精に関する研究, 1, 99~100, 1955.
- 2) あひるの人工授精に関する研究 II. 精液注入法の改良について, 3, 101~102, 1958.
- 3) あひるの人工授精に関する研究 III. 電気刺激による精液採取, 3, 103~105, 1958.
- 4) あひるの人工授精に関する研究 IV. 精液注入部位と授精成績との関係について, 3, 105~107, 1958.
- 5) 鳥類における異間雑種作出を目的とする Electro-ejaculation の研究, 5, 25~26, 1959.
- 6) あひる精液の保存と受精率との関係, 7, 38~40, 1961.
- 7) 人工授精による土着鴨 (Mule-duck) の産卵について, 9, 117~119, 1964.
- 8) 七面鳥の人工授精に関する研究 I. 採精法および精液の一般性状, 12, 137~139, 1967.
- 9) 七面鳥の人工授精に関する研究 II. 注入技術および受精結果 (予報), 15, 58~60, 1969.

引用文献

- 1) IVANOV, E.: *Compt. Rend. Biol.*, 75, 371, 1913.
- 2) BURROWS, W. H. & J. P. QUINN: *Poult. Sci.*, 14, 251 & 253, 1935.
- 3) 渡辺(守): *Jap. Jour. Zootech. Sci.*, 36, 29, 1965.
- 4) LAKE, P. E.: *J. Reprod. Fert.*, 1, 30, 1960.
- 5) SAEKI, Y.: *Poult. Sci.*, 39, 1355, 1960.
- 6) 武田(晃): 家畜繁殖誌, 6, 111, 1961.
- 7) YAMANE, J., S. TSUKUNAGA & T. TAKAHASHI: XXV Anno Fond Istit. Sperim. Italiani "L. Spallanzani", pp. 523, 1962.
- 8) WATANABE, M. & Y. SUGIMORI: *Zootecnica e Veterinaria*, 12, 119, 1957.
- 9) 大西(靖)・加藤(義)・二村(喜): 農技研報告, G11, 1, 1955.
- 10) 渡辺(守): 家畜繁殖誌, 3, 103, 1958.
- 11) BATTILLI, F.: *Comp. Rend. Soc. de Physique et d'Histoire Naturelle ed Geneve*, 39, 73, 1922. Abst. in *Council Sci. & Indust. Rev. Bull.* (94), 11, 1936.
- 12) GUNN, R. M. C.: *Council Sci. & Indust. Res. Bull.*, (94) 16, 1936.
- 13) SEREBROVSKY, A. S. & I. I. SOKOLOVSKY: *Anim. Breed. Abst.*, 3, 73, 1934.
- 14) 西川(義): 家畜人工授精法, p. 92, 1944.
- 15) 渡辺(守): 家畜繁殖誌, 5, 25, 1959.

- 16) 渡辺(守): 家畜繁殖誌, 3, 101, 1958.
- 17) WATANABE, M.: *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, 3, 458, 1961.
- 18) LAKE, P. E., H. SCHINDLER & F. H. WILCOX: *Vet. Rec.*, 71, 52, 1959.
- 19) WILCOX, F. H. & C. S. SHAFFNER: *J. Appl. Phys.*, 11, 429, 1957.
- 20) PARKER, J. E.: *Poult. Sci.*, 25, 67, 1946.
- 21) MOORE, E. N., R. D. CARTER, V. D. CHAMBERLIN, J. WYNE & H. SCOTT: *Poult. Sci.*, 34, 1211, 1955.
- 22) BURROWS, W. H. & S. J. MARSDEN: *Poult. Sci.*, 17, 408, 1938.
- 23) STOTTS, C. E. & M. I. DARROW: *Poult. Sci.*, 34, 508, 1955.
- 24) PARKER, J. E.: *Poult. Sci.*, 26, 118, 1947.
- 25) 渡辺(守)・浜中(勝)・安井(光): 家畜繁殖誌, 12, 137, 1967.
- 26) LORENZ, F. W.: *Poult. Sci.*, 29, 20, 1950.
- 27) MCCARTNEY, M. G.: *Poult. Sci.*, 30, 658, 1951.
- 28) YAMASHINA, Y.: *Tori*, 13, 1, 1950.
- 29) 大西(靖)・加藤(義): 農技研報告, G11, 17, 1955.
- 30) 渡辺(守): 家畜繁殖誌, 9, 117, 1964.
- 31) WATANABE, M.: *World Rev. Anim. Prod.*, 3, 93, 1965.
- 32) WATANABE, M. & K. ASHIDA: *J. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, 5, 431, 1964.
- 33) HALDANE, J. B. S.: *Jour. Genet.*, 12, 101, 1922.
- 34) QUINN, J. P., W. H. BURROWS & T. C. BYERLY: *J. Hered.*, 28, 169, 1937.
- 35) ASMUNDSON, V. S. & F. W. LORENZ: *Poult. Sci.*, 36, 1323, 1957.
- 36) POLGE, C. & L. E. A. ROWSON: *Nature*, 169, 626, 1952.
- 37) SHAFFNER, C. S., E. W. HENDERSON & C. G. CARD: *Poult. Sci.*, 20, 259, 1941.
- 38) SHAFFNER, C. S.: *Science*, 96, 337, 1942.
- 39) POLGE, C., A. U. SMITH & A. S. PARKES: *Nature*, 164, 666, 1949.
- 40) SMITH, A. U. & C. POLGE: *Nature*, 166, 668, 1950.
- 41) PARKES, A. S.: *Proc. Soc. Stud. Fertil (Camb.)*, 2, 12, 1950.
- 42) POLGE, C.: *Nature*, 167, 949, 1951.
- 43) POLGE, C. & A. S. PARKES: *Anim. Breed. Abst.*, 20, 1, 1952.
- 44) ALLEN, T. E. & L. W. BOBER: *Poult. Sci.*, 34, 1167, 1955.
- 45) ALLEN, T. E.: *Proc. Austr. Soc. Anim. Prod.*, 2, 118, 1958.
- 46) CLARK, C. E. & C. S. SHAFFNER: *Poult. Sci.*, 39, 1213, 1960.

- 47) BROWN, J. E. & G. C. HARRIS: *Poult. Sci.*, 42, 277, 1963.
- 48) BROWN, J. E., G. C. HARRIS & T. D. HOBBS: *Poult. Sci.*, 42, 810, 1963.
- 49) SHAFFNER, C. S.: *Proc. 5th Inter. Cong. Anim. Reprod. A. I.*, 4, 426, 1964.
- 50) WATANABE, M.: *Ann. Rep. Individual Junior (Agri.) Minist. Educ.*, p. 247, 1966.
- 51) TANAKA, K., T. TOMITA & S. OKAMOTO: *Jap. J. Zootech. Sci.*, 37, 134, 1968.
- 52) WATANABE, M.: *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, 7, 9, 1967.
- 53) HARRIS, G. C.: *Poult. Sci.*, 47, 384, 1968.
- 54) WATANABE, M., K. IRIE, T. SAKABE & T. TAKAHASHI: *Jap. Poult. Sci.*, 5, 198, 1968.
- 55) WATANABE, M., M. MIURA & Y. MODA: *Jap. Poult. Sci.*, 7, 23, 1960.
- 56) DE SILVA, P. L. G.: *J. Reprod. Fertil.*, 6, 371, 1963.
- 57) TSUKUNAGA, S.: *Jap. J. Zootech. Sci.*, 39, 141, Supplement, 1968.
- 58) RAJAMANNA, A. H. T.: *Proc. 6th. Inter. Cong. Anim. Reprod. A. I.*, 2, 1641, 1968.
- 59) 渡辺(守)・三浦(雅)・茂田(洋): 家畜繁殖誌, 15, 58, 1969.