

オオタカにおける 人工授精と精液凍結保存の試み

波多野幾也 (NPO法人 日本放鷹協会)

- 個体(中国系 *Accipiter gentilis scheidowi*)
- 管理・・・雄、雌
- 採精
- 希釈、凍結、融解
- 注入
- 孵卵

本研究は、公益信託乾太助記念動物科学研究助成基金の助成を受けて行われた。

雄 3 個体



- 1 F1、99年に自家育成、クレイシ、使役歴あり
04 / 05年に採精成功
- 2 F1、10歳前後？ 04年発情のみ、05年乗駕のみ
- 3 輸入個体、高齡、乗駕歴あるも、近年は発情が弱まりつつあり

雌 04年3個体、05年5個体

- 1 雄1と完全同胎、01年自家育成、
アイソレイト、04年 / 05年とも産卵、注入せず
- 2 履歴不明なるも刷り込み 04年3卵、凍結融解
精液を注入 05年3卵、新鮮精液を注入
- 3 履歴不明なるも刷り込み 発情すれども産卵せ
ず
- 4 履歴不明なるも非刷り込み 05年に3卵、注入
できず(凍結は枯湯、新鮮は間に合わず)
- 5 履歴不明なるも非刷り込み 05年に3卵、新鮮
精液を注入、ただし強制

餌

- 冷凍ウズラ、「新鮮な」ウズラ、ハト他
- VITAHAWK MAINTENANCE (総合栄養補助飼料)
0.5g/kg 週に1回 通年
- VITAHAWK BREEDER (ビタミンE)
0.25g/kg 週に2回 冬～繁殖期開始期
- BPD's (カルシウム剤)
5g/kg 週に1回 初冬～繁殖期終わりごろ

ペアボンドの確立のため

雄に対しては雌のように、
雌に対しては雄のように…

- 鳴き交わし
- 餌のやりとり
- 巣と巣材



採精



個体1 グローブ上での自発射精

個体2

04年、発情のみ。用手マッサージによる強制法を試みたところ、発情停止

05年、帽子に発情から乗駕、「こすりつけ」は2回見られたが、射精動作に至らず。隣接した雌に関心を示し、帽子に乗ろうとせず。帽子を改良中に発情弱まる。

個体3 供試せず

精液の取り扱い

- 「WAXTEX」(食品包装用蠟紙)

M.Robinsonの“Goshawk Breeding Techniques”
で推奨



精液の取り扱い

- 用具 精液量は多くても0.1ml未満



希釈

- 一次希釈液 LAKE液1、LAKE液2
- 二次希釈液 LAKE液1、LAKE液2
および トレハロース液(THL)
- 耐凍剤はメチルアセトアミド(MAA)、
ジメチルアセトアミド(dMAA)
ジメチルホルムアミド(dMFA)

を試験

一次希釈液 100ml 中の含量

試薬名	LAKE1	LAKE2	THL	単位
L-グルタミン酸ナトリウム		1.92	-	g
D-(-)-フルクトース(果糖)	0.8	-	-	g
ぶどう糖(無水)	-	0.6	-	g
D-(+)-トレハロース二水和物	-	-	11.5	g
酢酸マグネシウム四水和物	0.12	0.08	-	g
酢酸ナトリウム三水和物	-	0.8455	-	g
酢酸カリウム	0.5	-	-	g
くえん酸三カリウム一水和物	-	0.128	-	g
ポリビニルピロリドン	0.3	-	-	g
ペニシリンGカリウム	0.06155	-	-	g
硫酸ストレプトマイシン	0.1	-	-	g
ゲンタマイシン硫酸塩	-	0.001	0.001	g
ウシ血清アルブミン	-	-	0.3	g
グリセリン	13.64	-	-	ml
蒸留水	100	100	100	ml

二次希釈液 2ml 中の含量

溶液名	A	B	C	D	E	単位
LAKE1	-	-	1.64	-	-	ml
LAKE2	-	-	-	1.64	-	ml
THL	1.7	1.7	-	-	1.7	ml
メチルアセトアミド	0.3	-	-	-	-	ml
ジメチルホルムアミド	-	0.3	-	-	-	ml
ジメチルアセトアミド	-	-	0.36	0.36	0.3	ml

凍結・融解

- 一次希釈 二次希釈 冷蔵安置
凍結(窒素蒸気中)
- 取り出し 融解 検鏡

冷蔵安置時間 15 ~ 40分

凍結 容器の蓋は開 / 閉

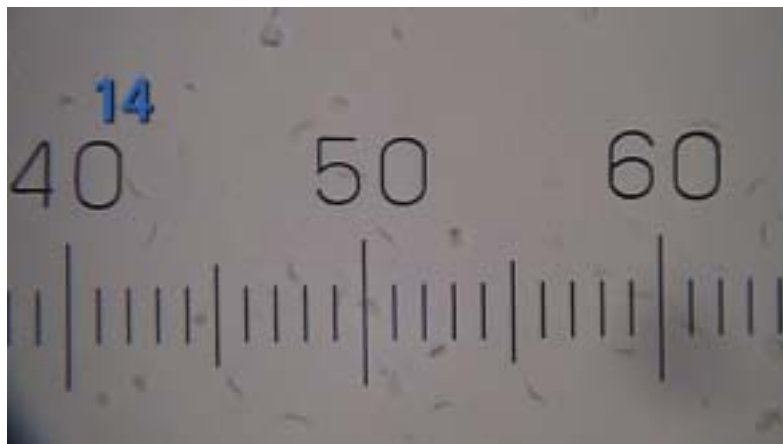
融解 冷水 / 冷蔵安置 / 温水

計216パターン……

観察

得られたのは計32サンプル

- 撮影
- 乱数に従いラベリング、並び替え
- 評価



乱数No.	状態	融解法	冷蔵時間	検鏡日	採取日	一次希釈液	倍率	二次希釈液 (いずれも等倍)	耐凍剤	凍結時の 容器の蓋	%	%	%	%	%	コメント
											-	+/-	+	++	+++	
											不動	非前進	ゆっくり前進	前進	素早く前進	
1	融解後	冷水	40分	5月27日	5月26日	LAKE 2	等倍	LAKE 2	MAA	オープン	100					精子は動いていない、流れているだけ
2	融解後	湯	15分	5月5日	5月4日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ						前進運動無し、数が少ないので割合↓
3	直後			5月3日	5月3日	LAKE 1	2倍				70	10		20		
4	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	THL	DMFA	クローズ	100					精子は動いていない、流れているだけ
5	融解後	冷水	40分	5月27日	5月26日	LAKE 2	等倍	THL	MAA	クローズ	50	10	10	20	10	
6	融解後	湯	15分	5月17日	5月13日	LAKE 1	等倍	LAKE 1	MAA	クローズ	80	20				
7	融解後	冷水	15分	5月17日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ	90	5		5		
8	直後			6月5日	6月5日	無希釈					95	5				
9	冷蔵後		15分	5月10日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA		10	70	15	5		かなりの精子が動いている
10	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	THL	DMAA	クローズ						画像が悪くよく分からない
11	直後			5月19日	5月19日	LAKE 1	等倍				30		20	50		
12	直後			5月9日	5月9日	LAKE 2	等倍				10			20	70	極めて良好
13	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	LAKE 2	DMFA	クローズ	100					精子は動いていない、流れているだけ
14	融解後	冷水	15分	5月12日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ	50	5	40	5		
15	融解後	冷水	40分	5月27日	5月26日	LAKE 2	等倍	LAKE 2	MAA	クローズ	60	15	20	5		流れているので分かりにくい
16	融解後	冷水	15分	5月12日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ	60	10	20	10		
17	直後			5月4日	5月4日	LAKE 1	2倍				80	20				
18	融解後	湯	15分	5月17日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ						精子がいらない?
19	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	LAKE 2	DMAA	クローズ	100					流れているので分かりにくい
20	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	LAKE 1	DMAA	クローズ	100					
21	融解後	冷水	40分	5月27日	5月26日	LAKE 2	等倍	THL	MAA	オープン	85	10	5			
22	融解後	冷水	40分	5月27日	5月26日	LAKE 2	等倍	LAKE 2	MAA	オープン	70	20	10			
23	融解後	冷水	20分	5月19日	5月18日	LAKE 1	等倍	LAKE 1	DMFA	クローズ	100					
24	融解後	冷蔵庫	15分	5月12日	5月10日	LAKE 1	等倍	THL	MAA	クローズ	75	10	10	5		
25	融解後		15分	5月10日	5月9日	LAKE 2	等倍	THL	MAA	クローズ	80	5	5	5	5	
26	融解後	冷水	15分	5月17日	5月13日	LAKE 1	等倍	LAKE 1	MAA	クローズ	60	40				非前進精子が分かり難い?
27	直後			5月10日	5月10日	LAKE 1	等倍				60		10	10	20	
28	直後			5月13日	5月13日	LAKE 1	等倍				65	10	10	10	5	
29	冷蔵後		15分	5月9日	5月9日	LAKE 2	等倍	THL	MAA		40		60			
30	直後			5月6日	5月6日	無希釈										精子がよく分からない
31	融解後	冷水	15分	5月17日	5月13日	LAKE 1	等倍	LAKE 1	MAA	クローズ	100					判別が?
32	直後			5月18日	5月18日	LAKE 1	等倍				20			80		

結果 サンプル数が少ないが...

- 採取直後でも性状差が大 SMI 1.25 ~ 85

凍結条件は

- 一次希釈液は評価困難
- 二次希釈液はTHL + MAAが良好
- 冷蔵安置は30分以上
- 凍結は密閉容器中
- 融解は冷水中で緩慢 が比較的良好

注入と孵卵

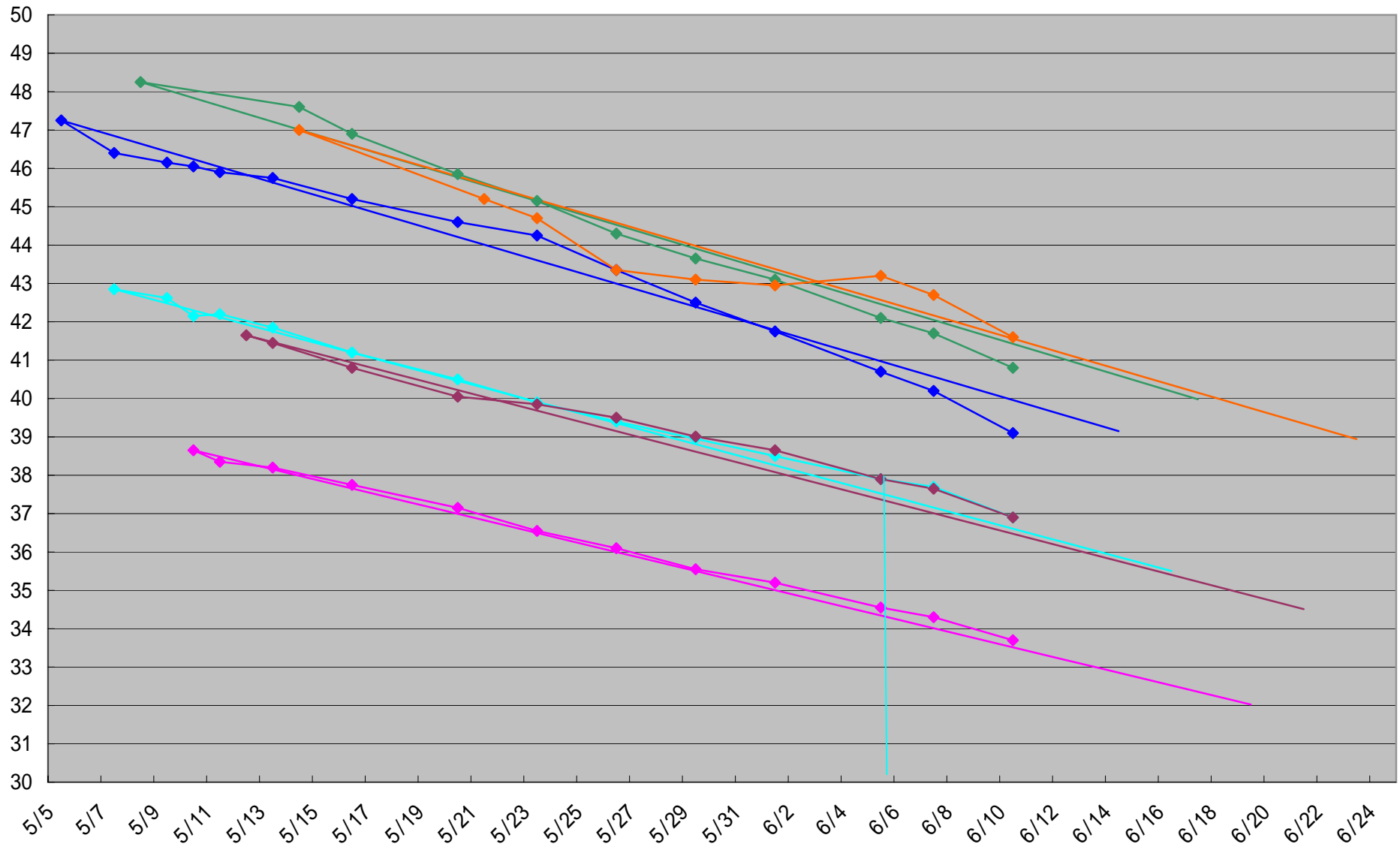
- 04年 1雌3卵に凍結融解精液による受精の可能性あり、が、発生確認できず
- 05年 2雌6卵に新鮮精液(希釈は Tes buffered Saline with Glucose ph7.5)による受精可能性あり...



孵化条件

- 立体、37.8
- 15パーセント卵重減少を目安
- 心拍感知式検卵器





課題

- 受精率　まずは新鮮精液で
量か回数か質か・・・？
 - 一次希釈液の絞り込み
 - その他の要素のリファイン
- によって安定した凍結融解手法の確立を

本研究は、公益信託乾太助記念動物科学研究助成基金の助成を受けて行われた。