

冷藏 6 或 24 小時對來亨雞、紐漢西與土雞受精率之影響⁽¹⁾

黃祥吉⁽²⁾ 洪哲明⁽²⁾

收件日期：90 年 3 月 11 日；接受日期：91 年 04 月 13 日

摘 要

本試驗之目的旨在探討不同雞種稀釋精液於 3~5°C 之低溫貯藏不同時間對受精率、孵化率及持續性受精時間等之影響，試驗雞隻為 62~65 週齡之三個品種（蛋用品種來亨雞、兼用品種紐漢西和肉用品種土雞）之公雞各 8 隻，母雞各 60 隻。各品種雞隻逢機區分為三個授精組，分別為原精液（A 組）、冷藏 6 小時稀釋精液（B 組）與冷藏 24 小時稀釋精液（C 組）。授精時 A 組精液不添加稀釋液，於採精後 30 分鐘內完成人工授精，B 組和 C 組授精之精液以等量 Lake 稀釋液稀釋後分別於 3~5°C 之溫度冷藏 6 小時與冷藏 24 小時，然後予以回溫再用於授精，各組均配種二次，第一次配種與第二次配種間隔為五天，A 組每次注入 0.05 ml，添加稀釋液之冷藏精液組（B 和 C 組）每次注入 0.10 ml，各組配種後 48 小時開始收集種蛋，種蛋連續收集 10 天計算其受精率與孵化率，試驗結果顯示各雞種 A 組與 B 組之受精率，差異不顯著($P>0.05$)，且均顯著地高於 C 組，不同雞種之平均受精持續天數亦以 A 與 B 組的 18 天較長，C 組的 8~10 天較短。本試驗授精以冷藏 6 小時之精液（B 組）與原精液（A 組）具有相同水準之受精率、孵化率與受精持續之天數，而授精以冷藏 24 小時之精液（C 組）其成績不理想，顯示此配方之稀釋液可供雞精液短時間（6 小時）低溫（3~5°C）保存之需要，值得遠距離種雞場之人工授精現場參考使用。

關鍵詞：雞、精液、受精率、孵化率、稀釋液。

緒 言

公雞精液在母雞生殖腔內保有受精能力之時間最長雖可達 35 天，火雞則更長 (Sturkie and Opel, 1976)；如果貯存時間在 45 分鐘內，則在 5°C 至 25°C 下不會顯著地影響受精率，但是超過 2 小時以上，以 5°C 為宜 (戴及劉，1985)；而未經處理或稀釋之精液經過 4 小時冷藏貯存 (3~5°C) 後，其精子活力則顯著的受到影響；因此種公雞經採精後，精液一般都在 30 分鐘內即授精完畢，否則會因精液貯存時間延長而影響受精率；一般種雞場之管理方法，是將種公雞與種母雞分開飼養，因此採精後往往因飼養地點及管理等因素，未

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1095 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所畜牧場。

能於 30 分鐘內完成授精，致使種母雞受精率大受影響。Tanaka and Okamoto (1966) 曾在精液中添加果糖高張溶液稀釋冷藏，可維持約 4 小時相當良好的精子活力，van Tinhooven (1960) 指出由於家禽精液中本身含有麩胺酸鹽 (Glutamate)，當添加麩胺酸鹽於精液中可使精子活力增加，進而提高受精率；Lake and Stewart (1978) 提出數種雞精液稀釋液之配方，同時指出稀釋液具減低精液污染，提高受精率之效果。本試驗乃選取 Lake and Stewart (1978) 所提供效果較佳之一種稀釋液配方，測定種雞精液經添加該配方之稀釋液後，於不同冷藏時間下對受精率之影響，供本省雞隻人工授精時參考使用。

材料與方法

I. 試驗材料：

- (i) 試驗動物：來亨雞、紐漢西與土雞每品種公雞 8 隻，母雞 60 隻（公雞與母雞均為 62~65 週齡）。
- (ii) 稀釋液之配方如下（參照 Lake and Stewart, 1978）：
 - 1. 醋酸鎂 · 4 H₂O (Magnesium Acetate · 4 H₂O)：0.08 g
 - 2. 檸檬酸鉀 · H₂O (Potassium Citrate)：0.12 g
 - 3. 醋酸鈉（無水） (Sodium Acetate) (anhydrous)：0.51 g
 - 4. 麩胺酸鈉 · H₂O (Sodium Glutamate · H₂O)：1.92 g
 - 5. 果糖 (Fructose)：0.60 g
 - 6. 蒸餾水 (Distilled water)：100 ml

II. 試驗方法：

- (i) 將 62~65 週齡之各品種母雞逢機分為三組，每組 20 隻，以個別籠飼於相同空間之籠中；稀釋液依配方製備後冷藏於 3~5℃ 冰箱內；使用前預先回溫到與種公雞精液相同之溫度（稀釋液回溫時間約 5~6 分鐘），使用時與原精液以 1：1 之比例混合之，並輕輕轉動試管使混合均勻。
- (ii) 各品種逢機分組之母雞分別進行以下人工授精之處理：
 - A 組：對照組以原新鮮精液授精。
 - B 組：為添加與精液等量體積稀釋液之稀釋精液冷藏 6 小時處理組。
 - C 組：為添加與精液等量體積稀釋液之稀釋精液冷藏 24 小時處理組。
- (iii) 各組採用同一品種公雞之混合精液，經處理後注入同一品種母雞生殖腔內，原精液組每隻母雞各注入 0.05 ml，添加稀釋液精液組之 B 及 C 組於冷藏後每隻母雞各注入 0.10 ml，各組母雞均予人工授精二次，第一次與第二次人工授精之間隔為五天。
- (iv) 調查項目：

各雞種各處理組及對照組之精子活力、受精率、孵化率及受精持續天數。其中精子活力是以顯微鏡檢視（吳，1992），受精率與孵化率是以第一次人工授精後 48 小時開始收集種蛋至第二次人工授精後六天合計 10 天之種蛋數計算，受精持續之天數判定是以第二次人工授精後開始計算。
- (v) 統計分析：

試驗中各不同處理組所獲得之受精率與孵化率，均分別以 SAS 統計套裝軟體 (SAS, 1996) 進行統計分析，俾比較各組間差異之顯著性。

結果與討論

在相同的飼養管理條件下，各品種母雞之對照 (A) 組和二個處理 (B 和 C) 組之受精率如表 1 所示。由表 1 可知，供試之來亨雞以 A 與 B 組平均受精率較高，分別為 85.0% 與 87.9%，C 組者較低僅為 25.8%。紐漢西平均受精率則以 A 與 B 組平均受精率較高，分別為 83.9% 與 82.4%，而 C 組較低僅為 40.0%，土雞之平均受精率則以 A 與 B 組平均受精率較高，分別為 85.7% 與 83.3%，而 C 組僅為 64.7% 較低。各品種內以原精液授精者 (A 組) 和以等體積稀釋後冷藏 6 小時之精液授精者 (B 組) 之受精率並無顯著差異 ($P>0.05$)，但均顯著高於授精以等體積稀釋後冷藏 24 小時之精液的 C 組 ($P<0.05$)。

各品種之對照組與處理組所收集種蛋之孵化率 (表 1) 均以 A 與 B 組較佳，分別為來亨雞 81.3% 與 77.8%，紐漢西 74.2% 與 67.2%，土雞 86.7% 與 83.3%；而以 C 組之孵化率最低，分別為 25.7%、16.7% 和 52.4%。

各品種之每組母雞二次人工授精後之受精持續天數，若以雞隻生產之種蛋連續四天均為未受精者判定受精持續終止之標準，則各品種 A 組和 B 組之受精持續天數者均為 18 天為最長，C 組之來亨雞和紐漢西均為 8 天較土雞 10 天為短 (表 2)。而此等結果均不如 Sturkie and Opel (1976) 所報告之公雞精液在母雞生殖腔內維持受精能力最長可達 35 天之記錄。

表 1. 不同雞種精液之儲藏時間對受精率之影響

Table 1. The effect of storage time on chicken fertility among different strains

| Item | Breed | | | | | | | | |
|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|
| | Leghorn | | | New Hampshire | | | Taiwan native chicken | | |
| | Treatment | | | Treatment | | | Treatment | | |
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| No.of pullets (bird) | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Eggs (No.) | 160 | 165 | 163 | 124 | 136 | 120 | 140 | 120 | 136 |
| Fertilized Eggs (No.) | 136 | 145 | 142 | 104 | 112 | 48 | 120 | 100 | 88 |
| Fertility (%) | 85.0 ^a | 87.9 ^a | 25.8 ^b | 83.9 ^a | 82.4 ^a | 40.0 ^b | 85.7 ^a | 83.3 ^a | 64.7 ^b |
| Hatchability (%) | 81.3 ^a | 77.8 ^a | 25.7 ^b | 74.2 ^a | 67.2 ^a | 16.7 ^b | 86.7 ^a | 83.3 ^a | 52.4 ^b |
| Duration of Fertility (days) | 18 | 18 | 8 | 18 | 18 | 8 | 18 | 18 | 10 |

^{a,b} : Values with different subscripts differ significantly ($P<0.05$) within strain.

Group A : Inseminated with fresh semen.

Group B : Inseminated using fresh semen diluted with equal volume of Lake's Diluent and stored at 3~5°C for 6 hours.

Group C : Inseminated using fresh semen diluted with equal volume of Lake's Diluent and stored at 3~5°C for 24 hours.

表 2. 二次授精後受精率及受精持續天數

Table 2. Changes of fertilities and duration after second insemination of different treatment semen

| Days after | | Breed | | | | | | | | |
|--------------------------|---------------------|---------|-------|------|---------------|-------|------|--------------------------|-------|------|
| 1st insemination | 2nd insemination | Leghorn | | | New Hampshire | | | Taiwan native chicken | | |
| | | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| -----Fertility (%) ----- | | | | | | | | | | |
| 2 | | 0 | 0 | 0 | 33.3 | 50.0 | 33.3 | 33.3 | 3.3 | 0 |
| 3 | | 72.2 | 76.5 | 40.0 | 33.3 | 100.0 | 33.3 | 60.0 | 50.0 | 60.0 |
| 4 | | 100.0 | 87.5 | 37.5 | 100.0 | 100.0 | 33.3 | 80.0 | 80.0 | 75.0 |
| 5 | | 84.6 | 100.0 | 33.3 | 80.0 | 75.0 | 33.3 | 100.0 | 75.5 | 66.7 |
| 6 | | 73.3 | 92.3 | 17.6 | 100.0 | 60.0 | 66.7 | 100.0 | 66.7 | 66.7 |
| 7 | 1 | 75.0 | 100.0 | 22.2 | 66.7 | 50.0 | 66.7 | 100.0 | 66.7 | 66.7 |
| 8 | 2 | 75.0 | 88.2 | 25.5 | 100.0 | 66.7 | 75.0 | 75.0 | 100.0 | 50.0 |
| 9 | 3 | 93.3 | 88.2 | 31.6 | 100.0 | 100.0 | 66.7 | 100.0 | 100.0 | 50.0 |
| 10 | 4 | 93.7 | 75.0 | 17.6 | 100.0 | 100.0 | 66.7 | 100.0 | 100.0 | 50.0 |
| 11 | 5 | 88.2 | 88.2 | 26.7 | 66.7 | 100.0 | 33.3 | 75.0 | 100.0 | 50.0 |
| 12 | 6 | 94.7 | 80.0 | 6.7 | 50.0 | 50.0 | 33.3 | 100.0 | 100.0 | 66.7 |
| 13 | 7 | 66.7 | 66.7 | 6.7 | 66.7 | 75.0 | 25.0 | 100.0 | 66.7 | 66.7 |
| 14 | 8 | 53.3 | 57.1 | 10.5 | 50.0 | 33.3 | 25.0 | 100.0 | 100.0 | 75.0 |
| 15 | 9 | 72.2 | 36.8 | 0 | 50.0 | 33.3 | 0 | 33.3 | 100.0 | 75.0 |
| 16 | 10 | 60.0 | 11.8 | 0 | 50.0 | 33.3 | 0 | 0 | 50.0 | 55.0 |
| 17 | 11 | 60.0 | 14.3 | 0 | 66.6 | 33.3 | 0 | 50.0 | 50.0 | 0 |
| 18 | 12 | 46.7 | 25.0 | 0 | 50.0 | 0 | 0 | 50.0 | 33.3 | 0 |
| 19 | 13 | 60.0 | 5.6 | 0 | 50.0 | 33.3 | 0 | 50.0 | 50.0 | 0 |
| 20 | 14 | 20.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33.3 | 0 |
| 21 | 15 | 14.3 | 6.3 | 0 | 25.0 | 0 | 0 | 33.0 | 33.3 | 0 |
| 22 | 16 | 11.7 | 5.8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.0 | 0 | 0 |
| 23 | 17 | 14.3 | 0. | 0 | 0 | 25.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 18 | 6.3 | 6.3 | 0 | 25.0 | 25.0 | 0 | 33.3 | 25.0 | 0 |
| 25 | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

由本試驗之結果顯示，經添加等體積稀釋液再予以 3~5℃ 冷藏 6 小時之公雞稀釋精液，以每隻母雞 0.10 ml 之劑量予以授精，其受精率、種蛋孵化率和受精持續天數，均與以 0.05 ml 原精液授精之對照組之結果近似。惟稀釋精液經 3~5℃ 冷藏 24 小時後，其受精率、種蛋孵化率和受精持續天數則均較對照組及 B 處理組者明顯地低下，推究其原因係精液貯存經過 24 小時精子後代謝所產生酸環境，已對精子具有不利影響，導致受精率、孵化率和受精持續天數降低 (Lake and Ravie, 1979；Clarke *et al.*, 1982)，本試驗各品種經顯微鏡檢查結果原精液之精子活力約為 85%~87%，稀釋精液經 3~5℃ 冷藏 6 小時後之精子活力約為 83%~85%，稀釋精液經 3~5℃ 冷藏 24 小時後之精子活力約為 73%~75%，顯示此種配方之稀釋液當等體積添加於雞之原精

液時，有助於雞精液短時間（6 h）之低溫（3~5℃）保存，但保存時間不宜長達 24 h。對於實施人工授精的種雞場而言，此稀釋液的使用與 3~5℃，6 h 之冷藏方式，可使得雞隻的配種管理能夠有更充裕地安排時間授精，不必受限於採精後 30 min 內完成授精之急迫；同時也不至於因自採精至授精時間之延長而致種雞受精率低下所造成之損失，值得提供種雞場執行人工授精之配種管理參考使用。

誌 謝

本試驗承本所畜三股全體員工協助，使試驗得以順利完成，謹此誌謝。

參考文獻

- 吳明哲。1992。人工生殖技術：精液檢查。家畜禽人工生殖技術。台灣省畜產試驗所專輯第 13 號，pp. 77~87。
- 戴謙、劉瑞珍。1985。遺傳育種及人工授精。畜牧要覽家禽篇。華香園出版社。台北市。第一版，pp. 73~79。
- Clarke, R. N., T. J. Sexton and M. A. Ottinger. 1982. Effects of holding temperature and storage time on respiratory rate, motility, and fertility of chicken and turkey semen. *Poultry Sci.* 61 : 1912~1917.
- Lake, P. E. and O. Ravie. 1979. Effect on fertility of storing fowl semen for 24h at 5°C in fluid of different pH. *J. Reprod. Fert.* 57 : 149~155.
- Lake, P. E. and J. M. Stewart. 1978. In : Artificial insemination in poultry. Her Majesty's Stationery Office. London. pp. 28~29.
- SAS. 1996. SAS Proprietary Software Release 6. 12. SAS Institute Inc., Carry, NC. U.S.A.
- Sturkie, P. D. and H. Opel. 1976. Reproduction in the male, fertilization, and early embryonic development. In : Avian Physiology. Sturkie, P. D. ed. Springer-Verlag, New York. pp. 331~347.
- Tanaka, K. and S. Okamoto. 1966. The effect of freezing point depression on chicken spermatozoa. *Jpn. Poult. Sci.* 3:5~8.
- van Tinhoen, A. 1960. The metabolism of fowl sperm in different diluents. *J. Agri Sci.* 54 : 67~72.

The Effects of Semen Stored at 3~5°C for 6 or 24 Hours on Fertility of Chicken in Leghorn, New Hampshire and Taiwan Native Chicken ⁽¹⁾

Hsiang-Chi Huang ⁽²⁾ and Che-Ming Hung ⁽²⁾

Received : Mar. 11, 2001 ; Accepted : Apr. 13, 2002

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of storage time for diluted semen at 3 - 5°C on fertility, hatchability and duration of fertility in different breeds of chicken. Chickens used in this study were 8 males and 60 females at 62 -- 65 weeks of age of every one of the three breeds, i.e., layer-type Single-Comb White Leghorn, dual-purpose New Hampshire and meat-type Taiwan native chicken. Chickens of every breed were randomly assigned into three insemination groups, the fresh semen (A group), the cool stored 6 hr. diluted semen (B group) and the cool stored 24 hr. diluted semen (C group). Semen in Group A was not diluted and was inseminated within 30 min. after collection. Semen used in B and C groups were diluted with equal volume of Lake's diluent, respectively stored at 3 -- 5°C for 6 and 24 hr., and returned to room temperature before insemination. Insemination was done twice for every chicken with 5-day lap between them. Chicken in Group A was inseminated with 0.05 ml semen and those in Groups B and C were inseminated with 0.10 ml semen. Eggs were collected 48 hr. after insemination consecutively for 10 days to determine fertility and hatchability. Results indicated fertilities of Groups A and B within every breed were not significantly different ($P > 0.05$), however, both were significantly higher than that of Group C. The mean duration of fertility within every breed also showed Groups A and B's 18 days were longer than 8 - 10 days of Group C. The 6 hr. cool stored diluted semen (Group B) performed as well as the fresh semen (Group A) on fertility, hatchability and duration of fertility but those stored for 24 hr. did not perform as well, suggests that the Lake's diluent could satisfy the need to store semen at low temperature (3 - 5°C) for short period (6 hr.). This result could be useful for the practice of artificial insemination for remote breeder farm.

Key words: Chicken, Semen, Fertility, Hatchability, Diluent.

(1) Contribution No. 1095 from Taiwan Livestock Research Institute, Council of Agriculture.

(2) Animal Farm, COA-TLRI, Hsin-hua, Tainan, 712 Taiwan, R.O.C.