出國報告(出國類別:研究)

鴨精液低溫保存技術研習

服務機關:行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所

姓名職稱:魏良原副研究員

派赴國家:法國

出國期間:99年8月20日至99年9月3日

報告日期:99年12月21日

目錄

摘	要	••••	•••	
壹	`	目	的	4
貳	`	過	程	
		_	•	計畫行程5
		=	•	內容重點6
				(一)歐洲家禽年會6
				(二)討論法國鴨精液低溫保存技術研發現況7
				(三)雙方未來合作議題10
				(四)參訪 INRA 圖爾(Tours)分院······11
		Ξ	•	心得與建議12
參	,	附:	錄・	13

摘要

台灣在鴨隻精液低溫保存的相關研究上已有許多經驗與成果,雖然菜鴨與北京鴨皆有不錯的成績,但番鴨的成果仍無法實際應用於產業。本計畫經由台法國際合作,由畜產試驗所研究人員赴法國國家農業研究院(INRA)針對鴨精液低溫保存進行短期研習,期望加速相關研究的進程。研習期間除了赴INRA圖爾分院進行相關議題研習外,另參加第13屆歐洲家禽年會,收集各國有關家禽研究的相關資料。本次經與INRA圖爾分院的研究人員針對雙方鴨隻冷凍精液製作的研究成果分享與經驗溝通,已得到許多未來可改進我方相關研究上的寶貴建議,並已取得雙方針對此議題互相合作的共識,期望透過台法雙方經驗交流與合作縮短番鴨精液冷凍技術研發時程,提高冷凍效率。

壹、目 的

由於家禽在低溫保存精液的發展與應用上皆遠不及家畜廣泛,雖然有關家禽精液的研究已有多年歷史,但大多以雞、火雞、鵝等品種為主,鴨精液低溫保存的相關研究相對較少,且其受精率普遍不佳,目前仍無法實際推廣且應用於田間供人工授精用。近來飼料成本高漲,積極開發鴨隻精液低溫保存技術,除可減少種公鴨飼養費用、防止疫病傳播,更可快速育種改良。本研習計畫期望藉由台法鴨精液低溫保存之研究技術交流,有效提升鴨精液經低溫保存後之存活率,加速技術開發期程。另於赴法期間參加第 13 屆歐洲家禽年會,收集歐洲各國近期有關鴨精液低溫保存之相關研究,並與相關研究人員進一步於會議期間進行研究心得溝通,以利後續相關研究。

貳、過 程

一、本次赴法國國家農業研究院執行「鴨精液低溫保存技術研習」計

畫行程如下:

時間			起訖地點	活動內容
月	日	星期		
8	20	五	台北→巴黎	由分所前往桃園機場搭乘長榮 BR87 班機
	21	六	(Paris)	飛往巴黎戴高樂機場。
8	22	日	巴黎	收集研習相關資料與當地交通資訊聯繫
8	23	_	巴黎→圖爾	赴圖爾參加第13屆歐洲家禽年會
	24	=	(Tours)	收集歐洲家禽年會中各國家禽精液的相關
	25	三		研究資料
	26	四		
	27	五		
	28	六	圖爾	歐洲家禽年會資料整理
	29	日		2011 年 APPC 論文撰寫
	30	_	圖爾 ◆◆ INRA	赴 INRA 研習鴨精液低溫保存技術
	31	二	圖爾 ◆ INRA	
9	1	=	圖爾→巴黎	整理研習過程之相關資料
9	2	四	巴黎→台北	由巴黎戴高樂機場搭乘長榮 BR88 班機飛
	3	五		往桃園機場並返回分所。

二、內容重點

(一)歐洲家禽年會

- 1. 第 13 屆歐洲家禽年會今年於法國圖爾 (Tours, France)舉行,會 議期間自 8 月 23 至 27 日。由於歐洲家禽年會有如奧運般每 4 年 舉辦一次,可謂歐洲畜產界的大事,每每吸引世界各國研究人 員、相關事業從業人員、政府機構、民間團體等參與此盛會。依 主辦單位統計,本屆來自歐洲、亞洲、南美洲、非洲、北美洲及 澳洲等世界各地包括台灣在內的 70 幾個國家,超過 1200 位與會 人員(54%為家禽相關企業;45%為大學或相關研究機構),總共有 160 篇口頭報告及超過 700 篇海報展示的方式分享近期相關研究 成果,光摘錄會議中所有研究成果的摘要就成為一本近千頁的厚 重書籍,充分展現歐洲在家禽研究的巨大能量。
- 2. 本次年會口頭報告及海報發表的主題大致包含下列內容

生理: Reproduction, incubation and avian physiology.

營養: Feed, feedstuff, nutrition, digestion, feed technology, feed intake, growth and water.

遺傳育種:Genetic and diversity.

加工: Meat quality and egg quality.

經營: Poultry product safety, welfare and behavior, environment control of reproduction, economic, marketing, alternative poultry systems and poultry welfare.

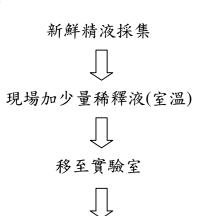
防疫: Avian pathology.

3. 自歐洲家禽年會收集與鴨隻相關之研究成果,雖然此次年會針對 鴨隻精液低溫保存的研究仍相當有限,不過仍帶回台灣許多家禽 相關的研究成果,可供其他領域的研究人員參考,以擬定未來研 究方針。

(二)討論法國鴨精液低溫保存技術研發現況

經自我介紹後,與 INRA 圖爾分院家禽精液相關研究團隊主持人 Dr. Elisabeth Blesbois 以及研究團隊之研究人員就雙方有關鴨隻精液低溫保存技術研發現況進行簡報。台灣目前研究有關鴨隻精液低溫保存的品種包括菜鴨、北京鴨及番鴨,其中菜鴨及北京鴨無論在冷藏及冷凍精液製作技術方面目前已漸趨成熟,惟番鴨部分仍有許多進步空間。INRA 針對番鴨精液低溫保存的研究概況分述如下:

1. 番鴨冷凍精液製程



加稀釋液至所需稀釋倍數(at 30℃, without DMA)



精液移至冷藏間(5℃)



緩慢添加 6%DMA



緩慢搖晃一分鐘



裝填麥管



冷凍(直接丟液態氮)

INRA 的製作流程與我方的流程仍有些差異,未來將以法方的

流程嘗試進行番鴨精液冷凍試驗。如:兩方皆以 DMA 為抗凍劑,惟 INRA 使用的濃度僅 6%,與本分所所用濃度有些差距。

2. 番鴨冷凍精液研究現況:以下 2 個表為 INRA 最近期的番鴨冷凍 精液研究結果

若將番鴨精液以 pellet 方式冷凍,解凍後的精液對母番鴨施以人工授精,其受精率為 52% (表 1)。若以番鴨冷凍解凍後精液對母北京鴨施以屬間雜交的人工授精,則其結果降至 27-34%。不過此結果仍可看見一個趨勢,即番鴨精液以麥管裝填後冷凍保存比pellet 冷凍保存有比較好的趨勢。目前本分所即以 0.5mL 麥管裝填來進行冷凍程序。表 2 顯示北京鴨冷凍精液解凍後仍有 89%的受精率,本分所的結果則為 90.8%,兩方結果很相近。INRA 曾比較過常用的甘油 (Glycerol) 與 DMA 當冷凍保護劑的差異,其結果仍以 DMA 為較佳者。至於將番鴨精液以麥管方式冷凍,解凍後的精液對母番鴨施以人工授精,其受精率則提升為 60%。目前本分所番鴨精液對母番鴨施以人工授精的受精率約 42%。綜合前幾項的結果,顯示 INRA 在北京鴨的研究成果與本分所相近,但番鴨的成果則以 INRA 優於本分所的結果。

表 1.以麥管或冷凍顆粒保存番鴨混合精液後分別對母番鴨及母北京鴨施以人工授精之授精率

		保存方式	
	麥管	顆粒	顆粒
		注精母鴨	
品系	番鴨	北京鴨	北京鴨
J2	67	36	41
J3	50	33	41
J4	38	14	21
平均值	52	27	34

表 2. 番鴨及北京鴨精液以不同冷凍保護劑處理後之人工授精率

		品 種	
	北京鴨	北京鴨	番鴨
		冷凍保護劑	
注精後日數	Glycerol	DMA	DMA
2 日	26	96	68
3 日	18	93	81
4 日	0	90	54
5 日	5	75	39
平均值	12.5	89	60

3. 針對番鴨精液製作流程進行討論

- (1)新鮮精液品質檢查:INRA 在精液進行冷凍程序之前會先確認 新鮮精液的品質是否符合要求,本分所因礙於人力現況,可能 無法針對個別鴨隻新鮮精液進行品質監控,目前僅以較常用且 簡易的泳動評分(0-5 scale)來評估品質。但會於精液解凍後以 LIVE / DEAD Sperm Viability 試劑組進行精子螢光染色,評估 其存活率。
- (2)影響精液冷凍解凍後的受精率有幾點需特別注意,如滲透壓、pH 值及溫度變化等,這些因子若未控制好容易造成精子osmotic shock 及 cold shock。INRA 建議針對新鮮精液及稀釋液進行滲透壓檢測,至少要讓稀釋液與精將的滲透壓相近。INRA 建議新鮮精液要測滲透壓前,需先將精液進行精漿分離的處理,流程為:在室溫下以 2000rpm 離心 10 分鐘 2 次,先將精漿分離後,再測定精漿之 pH 及 Osmotic pressure 等。
- (3) 由於 INRA 研究番鴨精液冷凍保存的目的主要為了生物多樣性的目的而建立冷凍細胞銀行,與台灣的研究目的仍有些許不同,因此 INRA 並無冷藏精液的相關研究可供參考,不過

Dr. Elisabeth Blesbois 還是給了一些很好的建議,包括:

- a. 如果一定要提高冷凍精液的受精率以應用於產業解決番 鴨季節性生殖的問題,或許可以評估非生殖季節時將人工 受精次數由 2 次/週提高至 3 次/週,不過前提是需評估其 經濟效益。
- b. 或許可透過選種的方式進行精子抗凍品系選拔。

(三)雙方未來合作議題

經過此次雙方研究成果分享,INRA對番鴨精液冷凍保存議題表現高度合作意願,期望透過台法雙方經驗交流縮短番鴨精液冷凍技術研發時程,提高冷凍效率。簡略說明如下:

議題:番鴨精液冷凍保存之研究

背景說明:

三品種雜交方式生產的土番鴨約佔台灣肉鴨市場80%左右,而番鴨為該品種肉鴨生產的終端公鴨,由於番鴨之精液品質具有季節性變化,於非生殖季節時,除了精液品質不佳外,尚有公鴨無法採集精液的嚴重問題,若能透過番鴨精液冷凍技術的開發,將精液於繁殖季節予以冷凍保存,除可解決非繁殖季節之供需不平衡的問題外,亦能將優良個體的生殖細胞凍存,建立生殖細胞冷凍銀行以保存該種原。

合作項目

- 1. 冷凍解凍流程建立
- 2. 冷凍稀釋液配方開發

預期效益

番鴨精液冷凍解凍後的受精率在台法雙方近期的研究結果上,仍明顯較其他鴨隻品種差,期望透過台法雙方經驗交流縮短番鴨精液冷凍技術研發時程,提高冷凍效率。

(四) 參訪 INRA 圖爾(Tours)分院

INRA 圖爾分院內部共設有 4 個研究團隊,包含 23 個研究人員

以及 12 名博士後研究、研究生,另外技工的配合亦大大的提升了該分院研究能量,讓研究人員可以無虞的進行試驗研究,所以在研究報告的產出無論在質與量皆有傑出的表現。此外,亦參觀該分院內有關精液製作及精液品質檢查的相關設施。令我感興趣的為實驗室內一台檢查精液品質的儀器 CASA (Computer Assisted Semen Analysis),由於去法國前即找到 INRA 許多相關研究報告都以這台儀器進行品質檢測,因此特地詢問 Dr. Elisabeth Blesbois 有關這台儀器的使用及相關細節。除了這台比較特別的儀器外,其他硬體設施與本分所進行精液研究的設備並無太大差異。這次訪 INRA 分院較可惜的是當時分院已無鴨隻,主要原因為多數水禽皆飼養於阿堤給(Artiguères) 水禽研究站,圖爾分院這裡通常只維持一小群試驗用鴨隻,試驗結束後即淘汰。

三、心得與建議

- (一) 参加歐洲家禽年會以了解國外最新的研究概況及方向,有助於研究思考的廣度。
- (二) 本次研習與INRA 研究人員討論,受益良多,可增加個人之研究 能量,建議未來與INRA 研究人員進行實質的相關議題合作研究(如 共同研提雙邊合作計畫),有助於提升我國研究之水準。
- (三)在與INRA研究人員討論的過程中除了互相分享研究成果外,法方研究人員也給了有關鴨隻精液低溫保存操作技術上的建議,期望在未來這些建議能使得番鴨冷凍精液的發展有所突破。

叁、附錄



圖 1. 參與第 13 屆歐洲家禽年會與會各國國旗製成的歡迎圖片

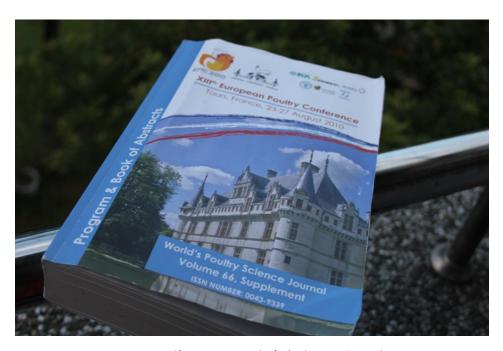


圖 2. 第 13 屆歐洲家禽年會論文摘要集

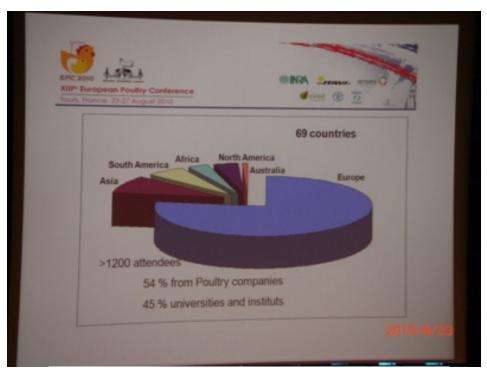


圖 3. 來自世界各地之與會人員數量比例圖



圖 4. INRA 圖爾分院 Dr. Blesbois



圖 5. INRA 圖爾分院的 CASA

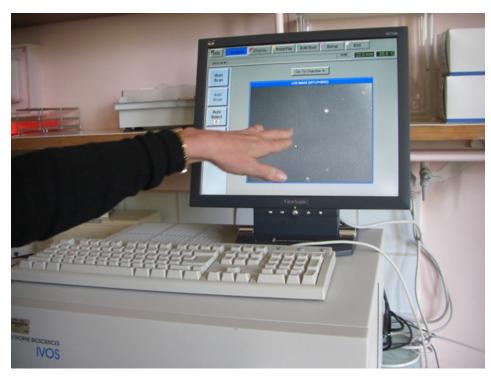


圖 6. Dr. Blesbois 解說 CASA 的操作



圖 7. 精液品質檢查用的光學顯微鏡



圖 8. 精液品質檢查用的螢光顯微鏡



圖 9. 精液製作設備一



圖 10. 精液製作設備二