

家禽精液保存技術的最新發展

◎北區分所／賴佑宜

前言

精子保存通常需要減少或中斷其生理代謝，以延長其存活時間。精子在形態和生理特性上具有獨特性，經過分化並呈現極性，其主要功能是攜帶父本DNA，並在受精後激活卵母細胞。然而，不同物種的精子在多個方面存在顯著差異，特別是在精子頭部形態、運動特性、質膜組成及冷凍耐受性等方面。這些差異主要源於物種間特定且高度分化的生殖功能，與許多哺乳動物相比，輔助生殖技術在家禽中的應用程度較低，特別是禽類精液在採集後，其精子功能迅速下降。因此，在禽類中最常使用的人工生殖技術是人工授精（Artificial Insemination, AI），其中精液經稀釋後可在室溫或低溫條件下保存，但儲存時間通常不超過24小時。目前商業上用於家禽人工授精的冷凍精液，製備與儲存的成本較高，而且市場上的雛禽價格相對較家畜低。此外，相較於新鮮精液，冷凍精液的精子品質較低，如：頭帽完整度、精子活力等等，人工授精後的受精效果也明顯較自然配種差。

家禽精液保存之關鍵

家禽輔助生殖技術的發展相較於哺乳動物而言，仍處於初步的階段。由於禽類精子對儲存條件高度敏感，因此人工授精所使用的精液通常需在短時間內使用完畢。在液態氮的環境中儲存精液，可減少精子的新陳代謝，並維持精子活力，比存放在室溫下的精

液樣本能夠存活較長的時間。在哺乳動物中，以液態氮儲存精液並保存精子活力的時間通常比鳥類更長。精液儲存會對精子造成一定的生化和結構損傷。因此，需要開發和使用能夠提供最佳環境條件的精液稀釋液，以維持禽類精子的活力，在精液稀釋液中，維持稀釋後精液的pH值和滲透壓是關鍵因素，以確保精子在儲存期間仍保有活力。目前，市面上有多種禽類精液稀釋液可供選擇，也可在實驗室自行配製。最常用的禽類精液稀釋液包括：Lake稀釋液、Beltsville家禽精液稀釋液（Beltsville Poultry Semen Extender, BPSE）、磷酸鹽緩衝稀釋液以及EK稀釋液（Clulow and Watson, 1982）。

冷凍保護劑的改進與開發

在精液冷凍保存的過程中，精子細胞膜會受到不可逆的損傷，進而導致精子活力下降。冷凍與解凍過程中，精子易受熱衝擊影響，造成細胞膜結構不穩定，最終喪失正常功能。此外，冷凍保存會引起細胞膜的相態轉變與通透性改變，導致滲透壓失衡，使得水分異常進出細胞，造成細胞膨脹或脫水，進一步損傷其內部結構。這些物理與生理變化同時影響膜脂與膜蛋白的排列與組成，導致細胞膜功能失調，影響精子的活力與受精能力(Watson, 2000)。總體而言，凍溶程序對精子造成的損傷主要源自於細胞膜的物理結構改變及滲透壓不穩所引發的一系列生物學反應。許多研究(Abouelezz *et. al*, 2015)旨在

確定最有效的禽類精液冷凍方案，透過使用冷凍保護劑維持精子在儲存期間的生存力、運動能力及受精能力。

一、傳統冷凍保護劑的改進

傳統上，甘油被廣泛用作精液的冷凍保護劑，但在解凍後，甘油對精子具有一定毒性，可能影響其活力與受精能力，為克服此問題，研究者開始嘗試使用替代性冷凍保護劑，包括二甲基乙醯胺（N,N-Dimethylacetamide, DMA）與二甲基甲醯胺（N,N-Dimethylformamide, DMF），這些醯胺類化合物具有較小的分子量，能夠更有效地穿透精子細胞膜，提供冷凍保護，醯胺類保護劑可穩定精子細胞膜的結構，其機制可能與脂質及蛋白質的重新排列有關。在精液稀釋液中添加DMA或DMF後，精子細胞膜在初期會呈現較高的流動性，促進低溫下的脫水作用，從而減少冰晶形成對細胞的損傷，冷凍與解凍過程結束後，當冷凍保護劑自精子中移除，精子的活力表現亦優於傳統使用甘油者，相關研究整理如下表。

二、新型冷凍保護劑的開發

目前禽類遺傳物質異地備份的建立，仍然僅能透過精液冷凍保存技術來實現，由於不同禽種的精子對冷凍保存的敏感性不同，加上解凍後精液樣本中精子活力較低。因此，有必要開發提高禽類繁殖效率的生物技術，並進行相關研究，以了解在使用這些技術時精子所發生的變化。Partyka 與 Nizański（2021）指出，精子細胞膜為冷凍保存期間最先受損的部分，這也是使用冷凍保存精子進行人工授精時，其運動能力和受精能力降低的主要原因，這種損傷發生於細

胞膜在冷凍過程中從液晶態轉變為凝膠態。在精液冷卻過程中，精子細胞膜會發生脂質相轉變，且此變化與細胞膜中膽固醇含量呈負相關。此外，冷凍保存會導致精子細胞膜中的膽固醇含量下降，進一步引起膜的不穩定。冷凍解凍後公雞精子的結構性損傷不僅與細胞膜通透性的變化有關，也與粒線體、中段與頂體的損壞相關，因此，目前所發展的禽類精液冷凍保存方法，在使用解凍後精液進行授精時，其受精率仍低於使用新鮮精液進行人工授精。許多研究旨在確定最有效的禽類精液冷凍保存程序，以在使用與哺乳動物冷凍保存不同的冷凍保護劑下，維持精子的存活率、活動力及受精能力。值得注意的是，甘油雖是哺乳動物精液冷凍保存中最常用的冷凍保護劑，但在禽類中具有避孕效果。儘管如此，甘油在禽類精子保存中仍被視為一種非常有效且低毒性的冷凍保護劑。可用於改善禽類精液冷凍保存後精子品質的其他添加劑，例如膽固醇和環糊精。其中膽固醇在調節細胞質膜脂質雙層的流動性和穩定性方面具有重要的作用能力，可以容易利用環糊精融入細胞膜或從細胞膜中去除。

結語

禽類精液的保存技術，尤其是冷凍保存，對於家禽繁殖、生物多樣性維護及遺傳資源庫的建立具有重要意義。雖然甘油作為傳統冷凍保護劑在哺乳動物中的應用已相當成熟，但在禽類中的使用仍具挑戰性。甘油雖可能在母禽體內產生避孕效應，但其在保護精子細胞膜、維持精子活力及冷凍後存活率方面，仍展現出良好的效果，因而被認為是一種低毒性且有效的冷凍保護劑。隨著對

精子冷凍損傷機制認識的加深，未來可望透過新型保護劑與輔助添加物，如DMA、DMF、膽固醇及環糊精的優化組合，進一步提升禽類冷凍精液的品質與受精率，促進人工生殖技術在家禽生產與遺傳資源保護領域可持續應用與發展。

參考文獻

- Abouelezz, F., C. Castano, A. Toledano-Díaz, M. Estesó, A. L'opez-Sebasti'an, J. Campo and J. Santiago-Moreno. 2015. Effect of the interaction between cryoprotectant concentration and cryopreservation method on frozen/thawed chicken sperm variables. *Reprod. Domest. Anim.* 50: 135–141.
- Partyka, A., E. Lukaszewicz and W. Nizanski. 2011a. Flow cytometric assessment of fresh and frozen-thawed Canada goose (*Branta canadensis*) semen. *Theriogenology* 76:843–850.
- Watson, P. F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 481–492.

表、用於禽類冷凍保存的可滲透性或非滲透性冷凍保護劑

禽種	最佳冷凍保護劑濃度	參考文獻
印度紅原雞	DMF 8%	Rakha <i>et al.</i> , 2020
泰國土雞	DMF 6%	Thananurak <i>et al.</i> , 2017
珍珠雞	DMA 6%	Varadi <i>et al.</i> , 2013
雞	DMA 6%	Abouelezz <i>et al.</i> , 2015
雞	DMA 6%、9%	Mosca <i>et al.</i> , 2019
雞	DMF 6%+sucrose 1mM	Thananurak <i>et al.</i> , 2019
雞	DMA 6%+trehalose 0.1M	Mosca <i>et al.</i> , 2016
雞	EG 8%+Ficoll 70 0.75M	Miranda <i>et al.</i> , 2018
火雞	DMSO+ Ficoll 70 1mM	Di Iorio <i>et al.</i> , 2020
火雞	Dextran 10%	Gloria <i>et al.</i> , 2019
加拿大鵝	DMF 6%	Partyka <i>et al.</i> , 2011a