

台灣水鹿之麻醉保定與電激採精

高雄種畜繁殖場

康獻仁

摘要

麻醉保定技術

台灣鹿科動物十分敏感緊張，過去常以吹箭肌肉麻醉保定方式，往往造成緊迫或反應過慢，施用劑量過度造成鹿隻死亡；現今發展以鹿隻專用固定架，將水鹿保定後作頸靜脈麻醉劑注射麻醉；麻醉劑則採用商品名安耐寧與舒泰50等以1：1之比例混合，每公斤體重/每麻醉1分鐘；施用約0.002-0.003ml，再依此原則依個體差異度追加頸靜脈注射，可達淺層麻醉保定直至各階段所使用之鹿隻試驗完成，再施予等量之甦醒劑頸靜脈注射。而高雄種畜繁殖場目前進行中之人工授精試驗，經由靜脈麻醉保定500頭次以上試驗水鹿，至今以此麻醉方式而造成水鹿死亡率為0%。

電激採精技術

台灣水鹿麻醉保定後，以電激採精器(electroejaculator；EJ6CCGS，CGS Products PtyLtd Manufactured in Australia)採取精液樣品。先將動物腹部及包皮(prepuce)外部之毛髮剔除後，以生理食鹽水(saline 0.9%，NaCl)清洗包皮內側。並清除直腸末端之糞便，再以塗抹潤滑劑之直腸探棒(rectal probe;長 27cm, 直徑 15cm, 含 3 個電極面 surface electrodes，輸出電壓 11.5~14.5V)，以電極面向腹下方向置入直腸中。每輪以 2 伏特之固定電壓持續刺激 20 秒，停止刺激 8 秒，循環三輪。待精液自包皮流出後，以 50ml 之離心管收集精液樣本，供精液性狀之分析及-196°C冷凍保存用。

1.冷凍精液稀釋液製備：本試驗冷凍稀釋液之配方為 Tes-蛋黃-甘油稀釋液溶解於已滅菌蒸餾水中，校正 pH 值；將上述稀釋液再添加青黴素(10000units/ml)及鏈黴素(10mg/ml)，供第一階段稀釋液添加使用。

2.冷凍精液製作之流程：採集精液經活力評估為等級 4 以上之精液與不含抗凍劑之稀釋液，一起置於 35°C 溫水中，待溫度平衡緩慢添加冷凍稀釋液，隔水放置在冰箱中冷卻 1hr 以上，使精液緩慢降溫至 5°C。精液達 5°C 後，以冷凍稀釋液於第二段稀釋部份以 1：1 比率稀釋後最終要求精子濃度為 $100 \times 10^6 / ml$ ，添加抗凍劑稀釋液之後，平衡一段時間，然後裝入 0.5ml 麥管中。

3.冷凍方法：將 0.5ml 麥管置放於-80°C冰箱中 30 分鐘，隨即投入液態氮

桶中(-196°C)保存。

4.精液品質評估：冷凍—解凍後之精液品質檢測方法如下：

(1)精子存活率(Viability,%)(Soler *et al*, 2005)

利用伊紅—苯胺黑(eosin-nigrosin)染色法來評估。取原精液(5ml)與NE染色劑(10ml)混合後做成抹片，置於37°C 30秒，使抹片儘速烘乾。再於光學顯微鏡下400倍觀察精子。存活精子以顯微鏡觀察時呈現白色；反之死亡精子以顯微鏡觀察時呈現紅色或粉紅色。

(2)精子活力等級 (sperm motility scale)：

精液採集後5分鐘內以懸滴法六級(0~5)計分法，並以光學顯微鏡(Nikon SE)判斷其活力(吳等，2002)：

| 評分 | 泳動狀況 |
|----|---|
| 5 | 有80%以上的精子作活潑運動。又精子運動所引起的漩渦時常在變化而在未稀釋之精液中不能看見單一精子。 |
| 4 | 有70~80%的精子作活潑運動。精子有波動級漩渦形成但不如優良者。 |
| 3 | 有50~70%運動活潑之精子，但波動與漩渦移動慢。 |
| 2 | 有20~50%運動活潑之精子，但無波動與漩渦形。 |
| 1 | 劣(Poor)：不足30%的運動精子、運動緩慢、搖擺不定且非向前運動。 |
| 0 | 精子運動完全不運動。 |