

行政院農業委員會畜產試驗所
高雄種畜繁殖場

人工生殖科技於台灣水鹿之應用

林信宏



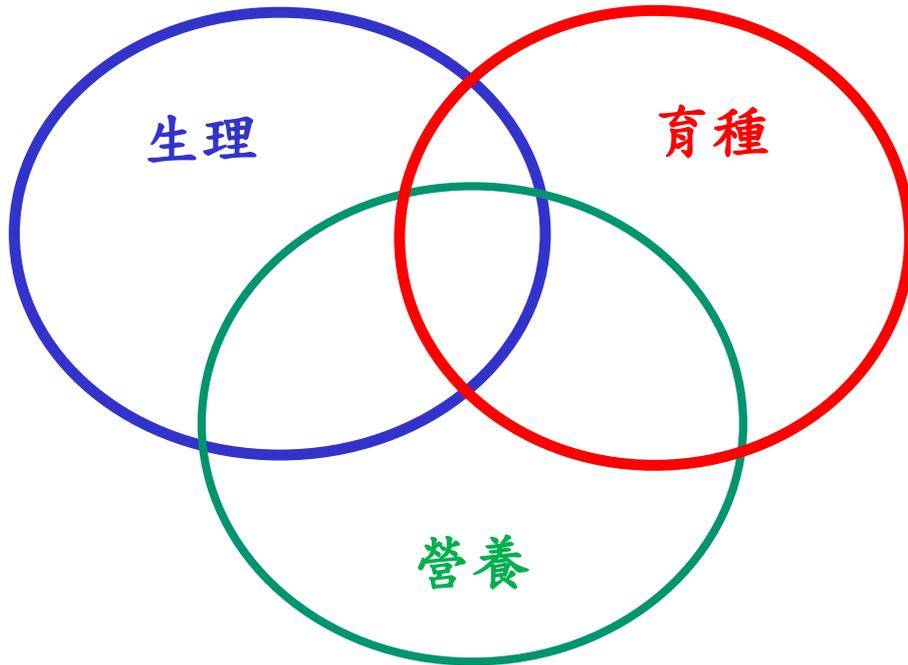
LRI

LRI

台灣鹿產業概況

目前養鹿戶700餘戶，飼養**2萬2千多頭**，水鹿佔其中的**85%**為大宗。鮮茸產量**23.7公噸**（102年），鮮茸每台兩**800~1,200元**（水鹿），**650~800元**（梅花鹿），**近五年**（97-101年）鮮茸平均產值約**6.3億元**。衍生商品主要為鹿茸酒、鹿茸粉及種鹿買賣等。

台灣水鹿繁殖育種飼養管理



3

台灣水鹿人工生殖技術應用於民間



4

種公鹿價值 (種母鹿價值?)

2011年台灣水鹿種鹿平均交易價: 14.6萬/頭
(11場121頭平均; 包含大公、小公、大母與小母)

種公鹿最高成交價: 280萬/頭 (野山鹿場)



蘋果日報 20060424 A2版

(大榮鹿場)

5

台灣鹿科動物



台灣水鹿

Body length: 210~240 cm
Weight : 200 kg



Body length: 150 cm
Weight : 70kg

臺灣梅花鹿

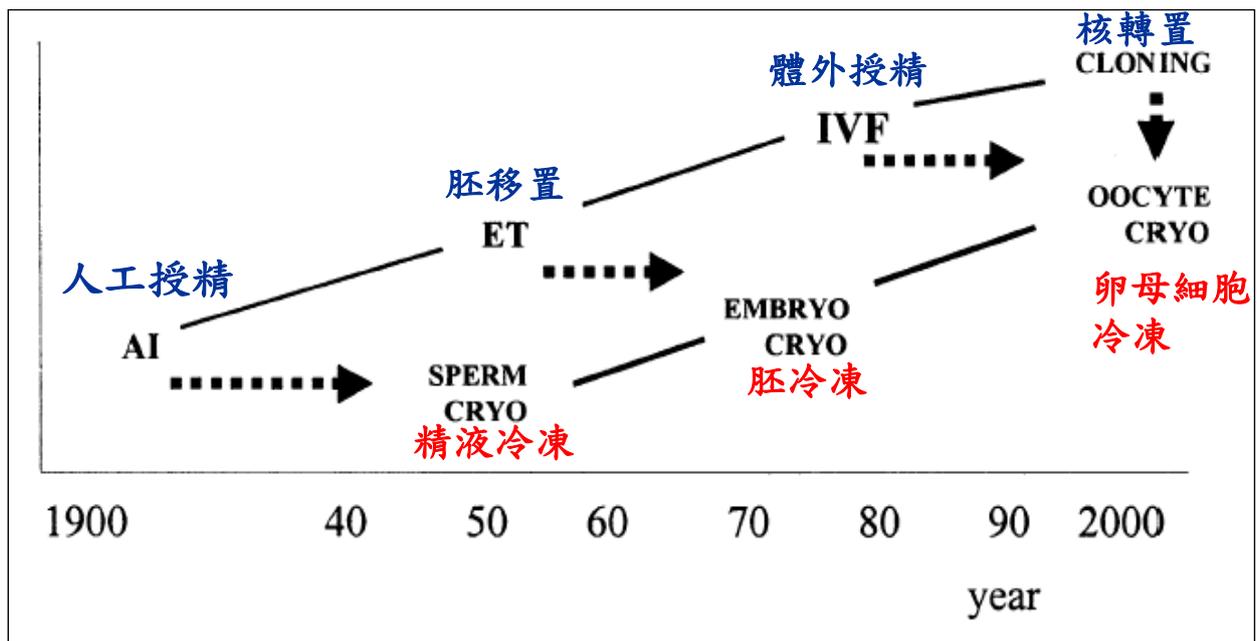


Body length:
40~70 cm

山羌

6

家畜人工生殖科技應用上的發展



(Arav *et al.*, 2002)

台灣水鹿人工生殖技術模式建立重要性

- 全世界鹿隻品種超過200種
- 不同品種間之生殖生理具高度差異性
- 季節性繁殖
- 低產 (單胎, 1 calf/year)
- 國內鹿隻主要飼養品種(84%)
- 種鹿平均價格高
- 後裔檢定時間長(至少5年)
- 迫切需要人工生殖技術協助
- 具研究挑戰性



台灣水鹿各階段研究發展規劃

- **第一階段 2004 - 2009**
 - 精液收集與冷凍
 - 發情同期化
 - 人工授精
- **第二階段 2006 - 2011**
 - 超量排卵
 - 胚沖洗回收, 冷凍 與 移置
- **第三階段 2010-**
 - 選性精液與胚性別鑑定
 - 體外胚生產
 - 腹腔鏡技術
 - 冷藏與冷凍稀釋液改良
 - 非繁殖季節生殖調控技術

2005 AI
(冷藏精液)



2007 AI (冷凍精液)



2007 ET (冷凍胚)



2012 非繁殖季節生殖調控

人工生殖於鹿隻之應用效率

AI(人工授精): 200 劑精液 – 60%效率-120頭仔鹿

超排胚移置: 200 劑 – 600頭仔鹿(每頭母鹿可產生3頭仔鹿)

IVF and OPU : 200劑 – 0.5支STRAW 可用於20頭母鹿
(體外授精與腹腔鏡取卵) 來源卵之IVF –1200頭仔鹿(每劑精液可產生6頭仔鹿)

(Berg and Asher, 2003)

研發難易度

- 鹿科動物生性膽怯，馴化程度不足，**生殖季節中尤具攻擊性**，研究過程中，幾乎皆需要**麻醉保定技術**，更加深各項技術研發串聯之困難度。
- 台灣水鹿人工生殖科技的研究，是由**畜產試驗所種畜禽研究團隊**從基礎一點一滴的『**由無到有**』逐年逐步累積建立。



創新程度

技術整合：針對特有種台灣水鹿開發技術並創新整合種鹿各項人工生殖關鍵技術。

- (一) 種公鹿：
公鹿**麻醉保定技術**、**電激採精技術**、**精液冷藏技術**、**精液冷凍稀釋液配製技術**及**精液冷凍保存技術**等**5項**。
- (二) 種母鹿：
母鹿**麻醉保定技術**、**直腸觸診技術**、**同期化發情處理技術**、**人工授精技術**、**超量排卵技術**、**水鹿胚沖洗回收技術**、**胚冷凍技術**及**胚移置技術**等**8項**。



麻醉保定技術



種公鹿電激採精技術



種母鹿人工授精技術

重大突破：

- 成功開發**全球第一頭台灣水鹿**利用**新鮮精液人工授精**方式孕育的小水鹿，迄100年已誕生21頭。

成功開發**全球第一頭台灣水鹿**利用**冷凍精液人工授精**後誕生之小水鹿，迄100年已誕生71頭。

全球第一頭台灣水鹿『小璐』係利用**玻璃化法冷凍胚移置技術**誕生之小水鹿，應用此創新技術已誕生6頭台灣水鹿。

第一頭台灣水鹿利用非繁殖季節生殖調控技術處理，經**冷凍精液人工授精**於**101年**1月24日成功產下仔鹿，應用此創新技術已誕生3頭台灣水鹿。

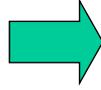


第一階段：93-98年

- 1、同期化發情方法。
- 2、麻醉保定暨公鹿電激採精技術。
- 3、精液冷凍保存技術。
- 4、母鹿生殖檢查及人工授精技術。



台灣水鹿保定流程



15

電激採精法

透過電刺激器可刺激各種動物射精，電刺激採精器由電流控制器及電擊探棒兩部分組成。



電流控制器

電擊探棒

16

台灣公水鹿電激採精流程

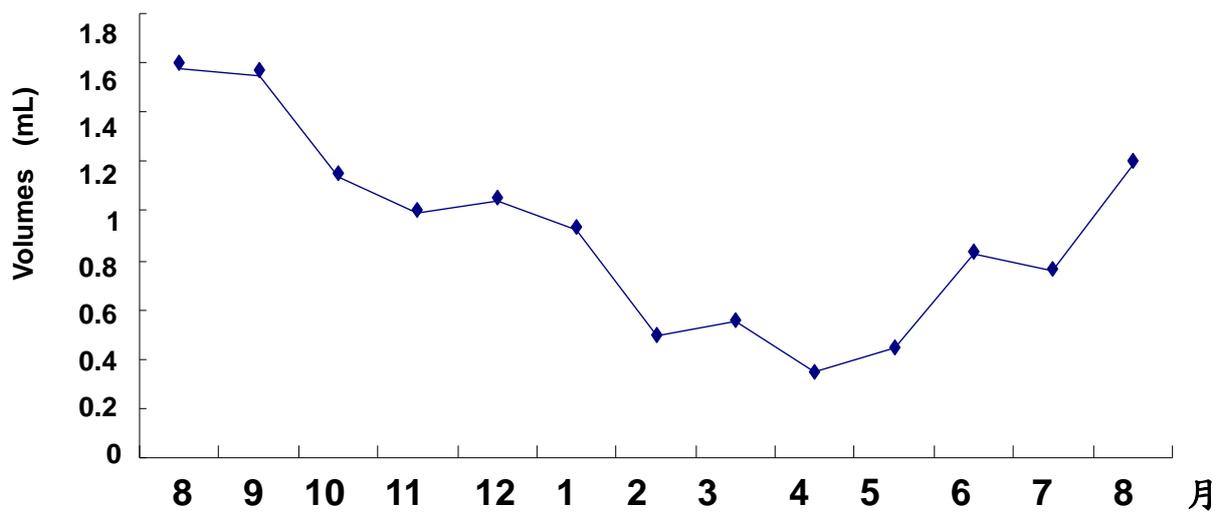


圖. 台灣水鹿全年度精液量變化

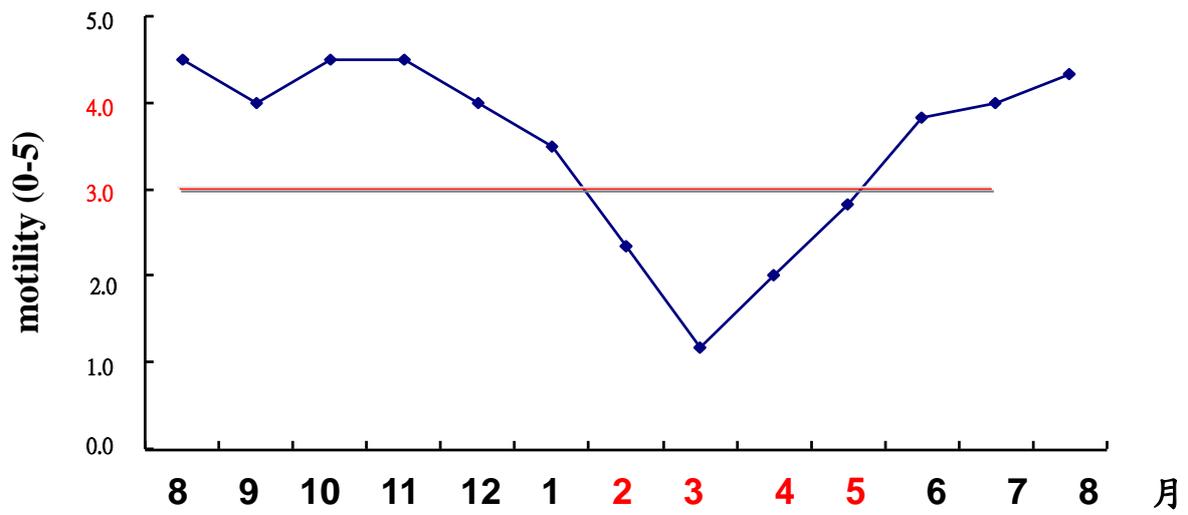


圖. 台灣水鹿全年度精子活力變化

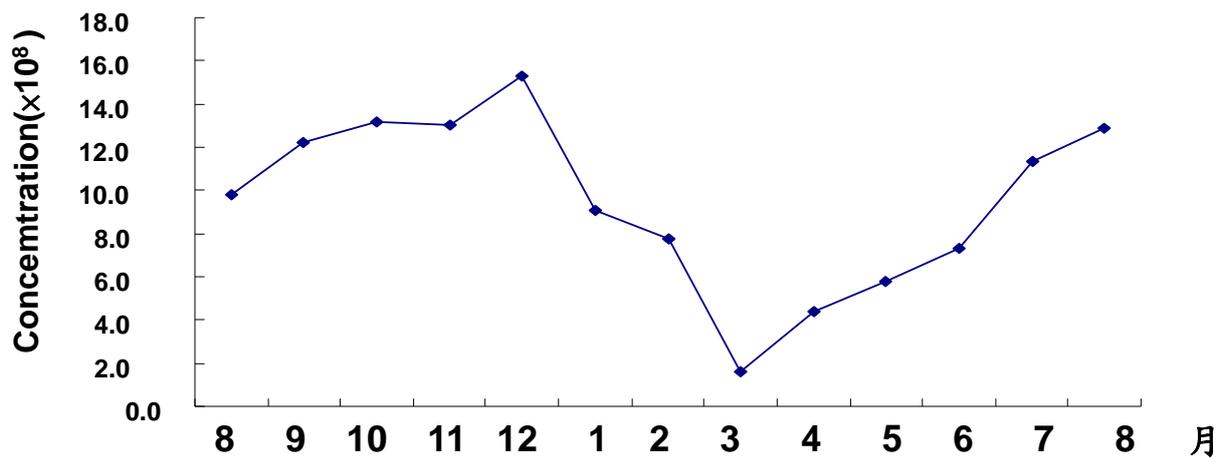


圖. 台灣水鹿全年度精液濃度變化

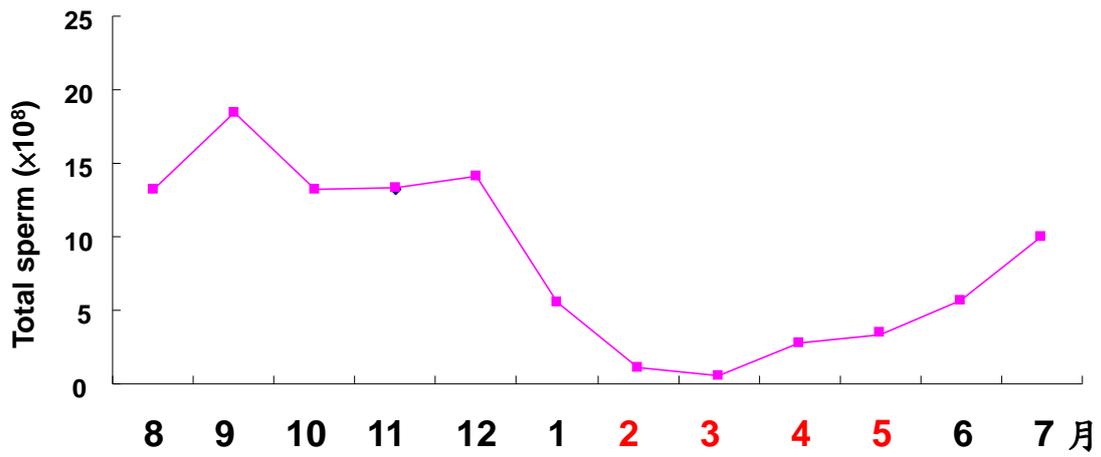


圖. 台灣水鹿全年度總精子數變化

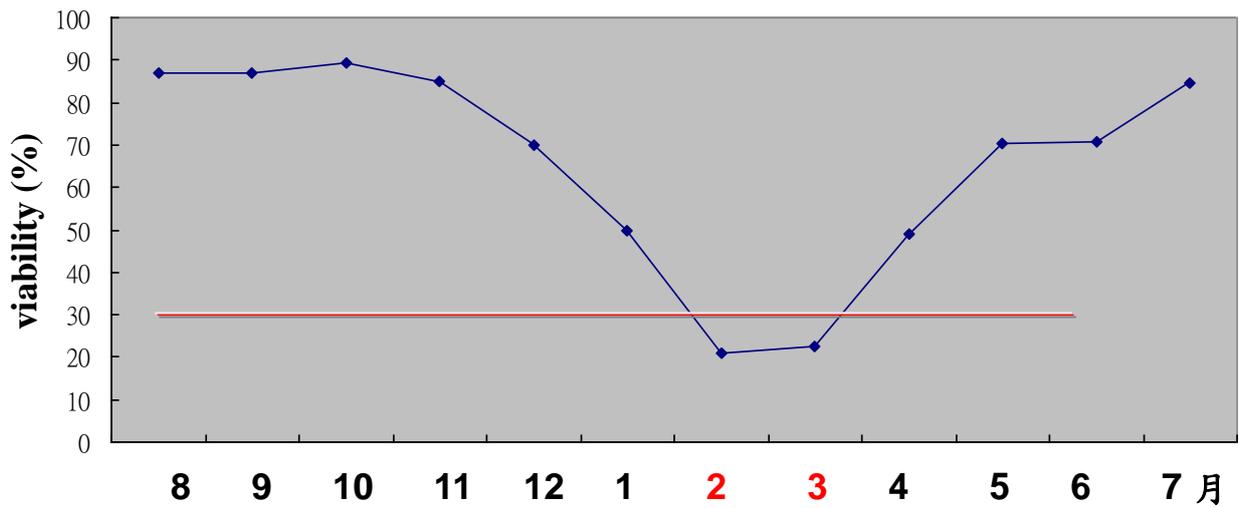


圖. 台灣水鹿全年度精子存活率變化

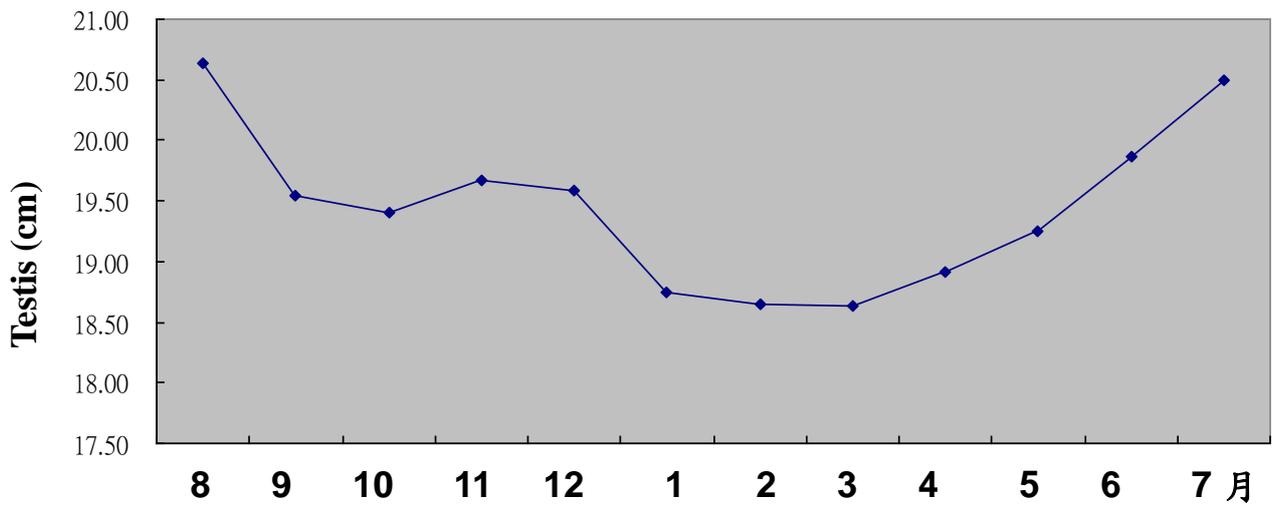


圖. 台灣水鹿全年度睪丸周長變化

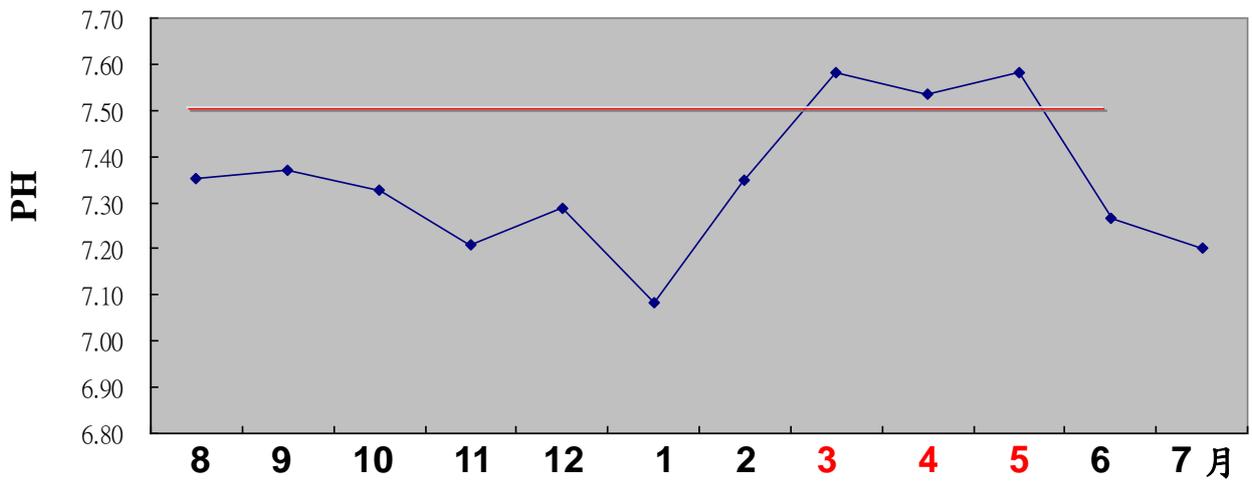
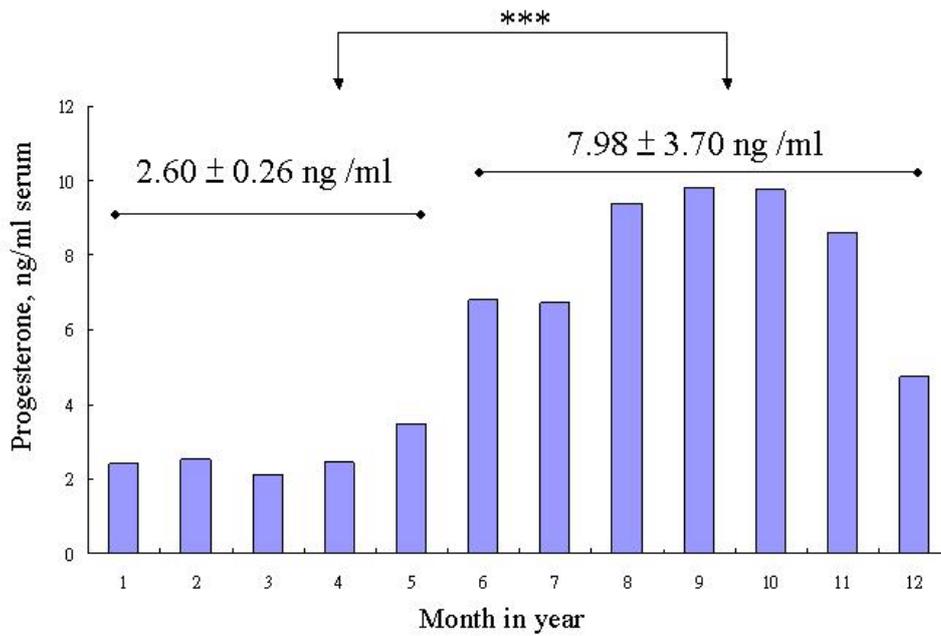


圖. 台灣水鹿全年度精液PH值變化



台灣母水鹿助孕素濃度變化

25

表. 繁殖季節公台灣水鹿平均精液性狀

精液量 (ml)	1.2
活力 (0-5)	4.7
精液濃度(億/ml)	8.9
存活率(%)	87.0
畸形率(%)	11.2
pH值	7.1

26

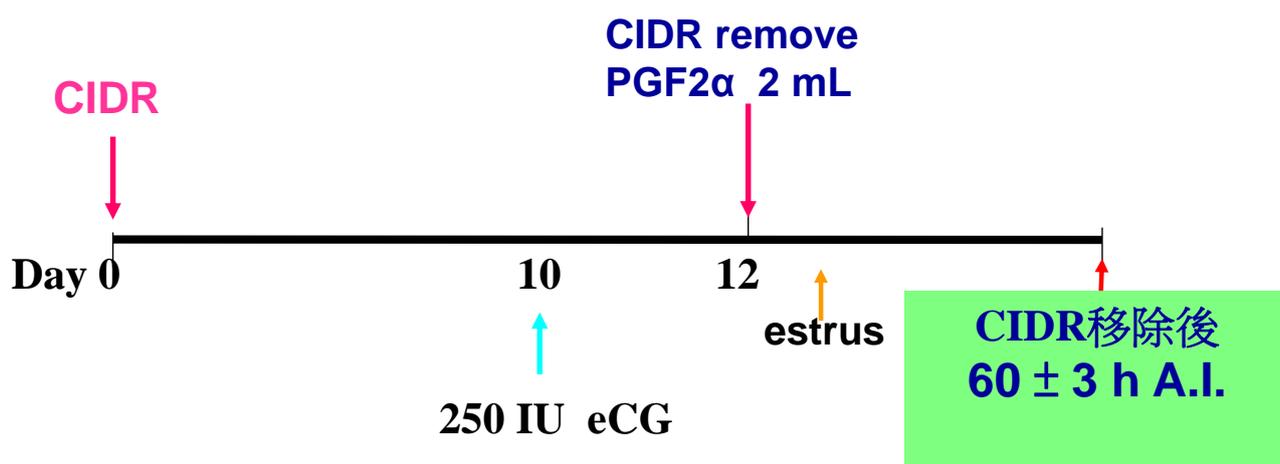
表. 繁殖障礙之台灣公水鹿電激採精後進行精子性狀評估

年齡 (歲)	3
精液量 (ml)	1.2
活力 (0-5)	2 (4.7)
存活率 (%)	68 (87.0)
畸形率 (%)	46 (11.2)

註: ()內為繁殖季節之正常公鹿精液性狀平均值



母水鹿同期化發情調控流程



母台灣水鹿發情同期化處理模式，利用CIDR埋植，並於埋植後之第10日搭配250 IU eCG之注射，第12日CIDR移除同時肌肉注射2ml 前列腺素，可獲致極高之母水鹿發情率85.4% (35/41)。

母水鹿保定與人工授精



29



母水鹿以超音波掃描儀配合直腸穿透型探頭，透過掃描診斷其子宮腔內宮阜之影像確認懷孕。

30

表. 不同稀釋液種類對台灣水鹿冷藏精液人工授精後懷孕率之影響

Treatment	No. of service	No. (%) of pregnancy ^a	No. (%) of parturient does ^a
TCY ⁽¹⁾	10	7 (70)	7 (70)
TY ⁽²⁾	10	8 (80)	8 (80)
CY ⁽³⁾	10	6 (60)	6 (60)

⁽¹⁾ Tris-citric-base medium; ⁽²⁾ TES-base medium; ⁽³⁾ Sodium citrate-base medium.
^a No significant differences were detected among treatment groups ($P > 0.05$).

31



圖. 藉由台灣水鹿新鮮精液人工授精技術生下的仔鹿群(畜產試驗所高雄場)

32



圖. 藉由台灣水鹿新鮮精液人工授精技術生下的仔鹿群(台鹿農場行)

33

表. 不同稀釋液種類對台灣水鹿冷凍精液人工授精後懷孕率之影響(畜產試驗所高雄場)

稀釋液 Diluents	授精頭數 No. of service	懷孕頭數 No. of pregnancy	懷孕率 Pregnant rate (%)
TCY G6 (Tris-Citric-Yolk)	11	3	27.3
TY G6 (TES-Yolk)	15	10	66.7
CY G6 (Citrate-Yolk)	10	1	10.0

34



圖. 藉由台灣水鹿冷凍精液人工授精技術生下的仔鹿群(畜產試驗所高雄場)

35

表. 不同稀釋液種類對台灣水鹿冷凍精液人工授精後懷孕率之影響(台鹿農場行)

稀釋液 Diluents	授精頭數 No. of service	懷孕頭數 No. of pregnancy	懷孕率 Pregnant rate (%)
TCYG6 (Tris-Citric-Yolk)	8	3	38
TY G6 (TES-Yolk)	22	17	77
CY G6 (Citrate-Yolk)	5	0	0

36



圖. 藉由台灣水鹿冷凍精液經人工授精產下的雙胞胎仔鹿
(台鹿農產行)

37

技術成熟度：

- 目前台灣水鹿精液冷凍保存效率，於解凍後可獲得63%之精子存活率，進一步經產學合作實證應用於民間鹿隻（台鹿農產行）之懷孕率可高達77.3% (17/22)，證明冷凍精液經一次人工授精配種的可行性及技術成熟的可應用性。
- 應用冷藏精液人工授精技術懷孕率80.0%，以冷凍精液人工授精技術處理懷孕率73.0% (27 / 37)，皆高於Chan *et. al.*, (2009) 調查台灣水鹿傳統自然配種每次配種懷孕率64.4%。

38

產業運用效益

- 一.不良的公鹿汰除，加速品種的選育。
- 二.種公鹿的配種效益可增加10-100倍以上，若製成冷凍精液，將使優良種公鹿品種的流通加速，並避免近親繁殖與疾病的傳播。

39

同期化發情調控技術效益

- 母鹿的分娩日期可預期，提高了仔鹿出生的存活率(由75%上升至95%)。
- 仔鹿出生的時間點接近，母鹿共同哺育，亦提高了仔鹿的育成率(由60%上升至85%)。

40

母鹿生殖檢查技術效益

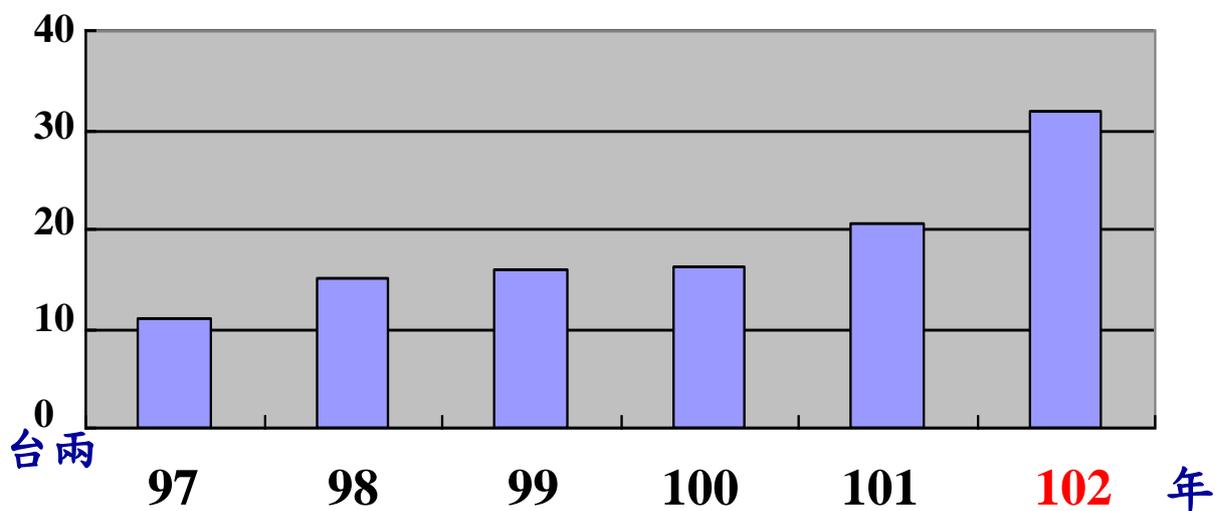
- 飼養效率增加10% (淘汰有繁殖障礙的母鹿
----->降低飼養成本)
- 淘汰不具經濟效益的鹿，增加額外的收入
(鹿肉乾等其他產品)。



41

應用冷凍精液人工授精技術之效益實例

畜試所高雄種畜繁殖場水鹿頭剪歷年平均產量



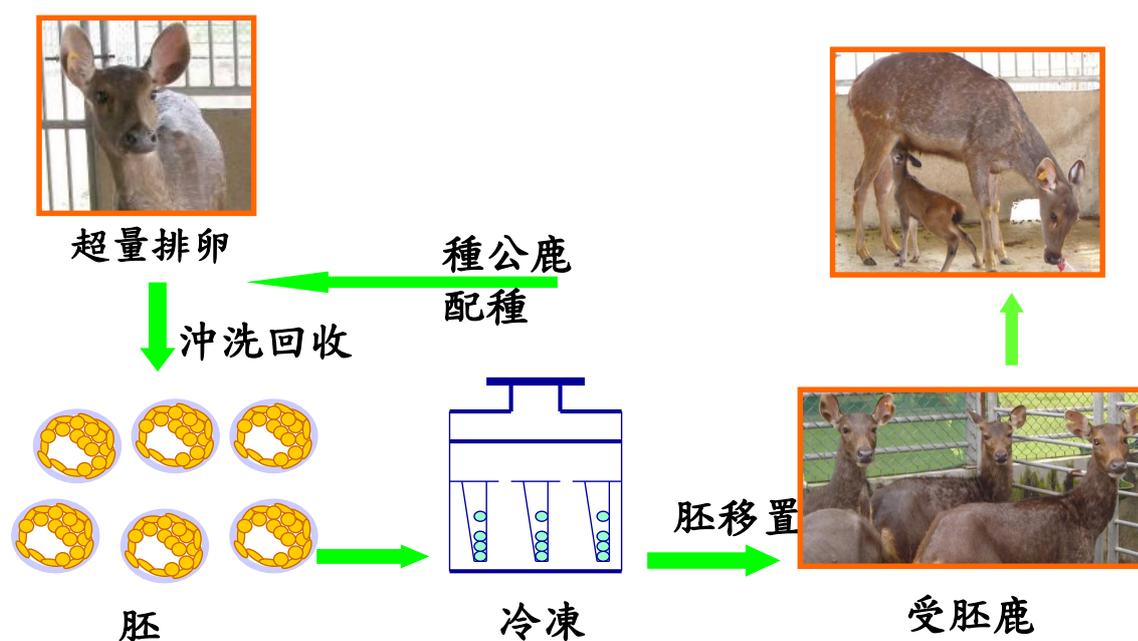
42

第二階段：95 - 100年

- 1、母鹿超量排卵與胚回收技術。
- 2、水鹿胚玻璃化冷凍與胚移置技術。

LRI

母水鹿超量排卵、胚回收、冷凍與移置技術

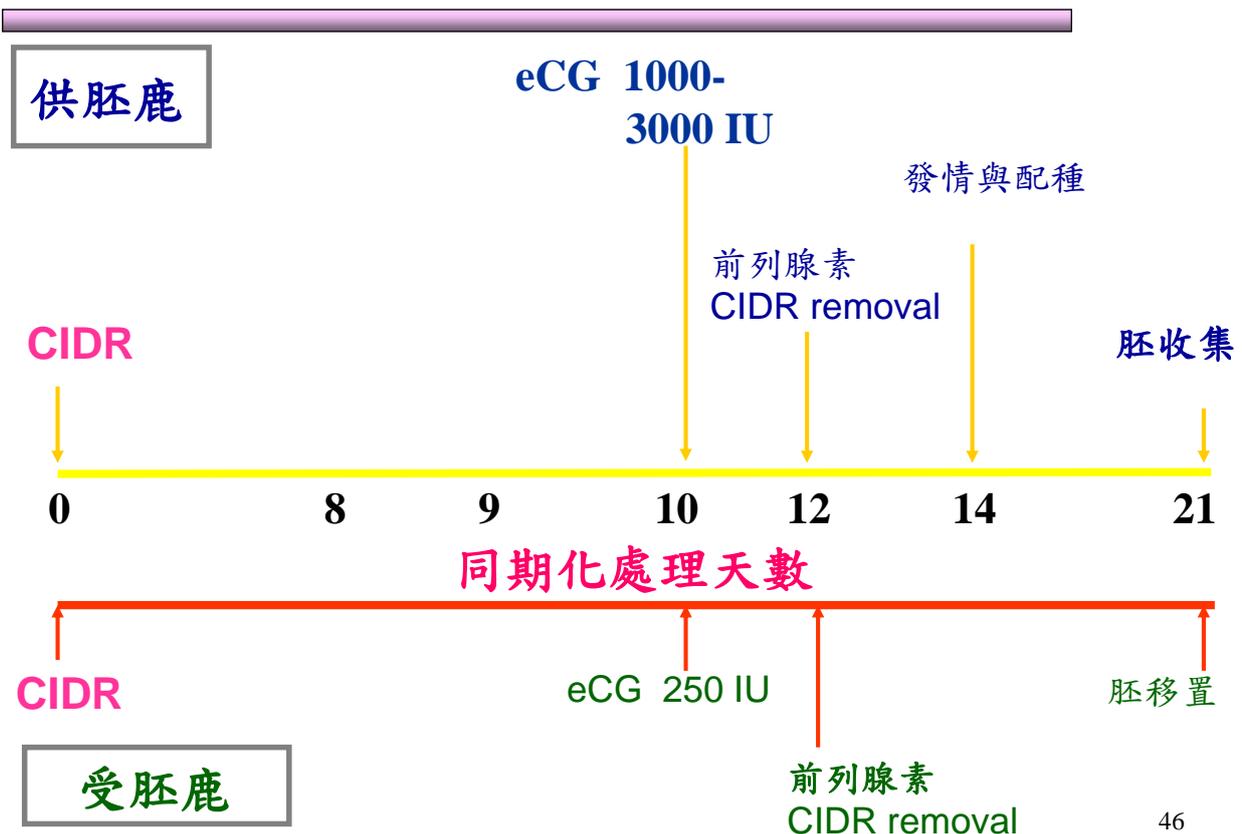


胚移置(embryo transfer, ET)原則

- 供胚者與受胚者一致性
 1. 分類學
 2. 生理同步
 3. 解剖部位
- 胚發育的期限
- 胚品質
- 供胚與受胚者健康與生理狀況

45

超量排卵 與 發情同期化



46

水鹿胚收集



保定鎮靜



消毒



腹中線手術



子宮角沖洗回收



觀察卵巢與子宮角

47

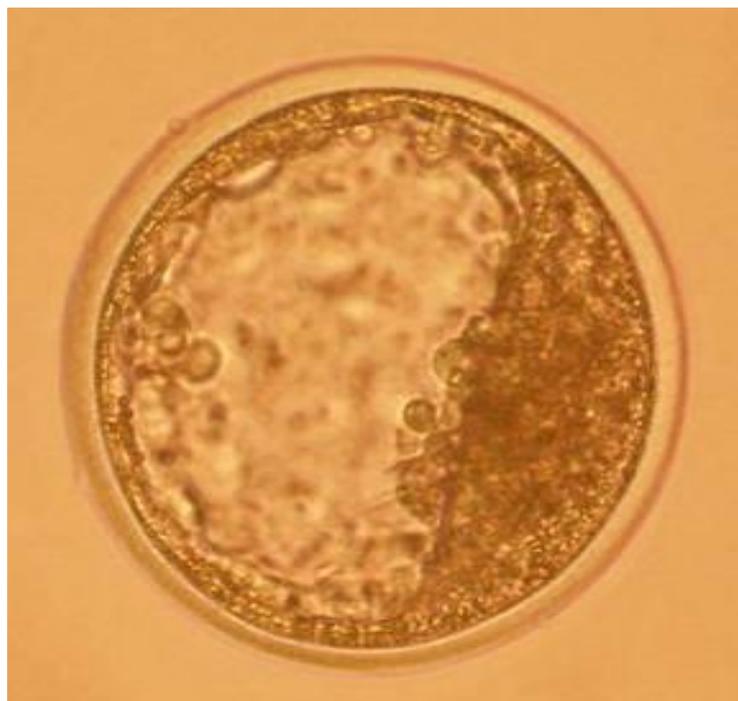


圖8 經超量排卵處理配種後第7天收集之水鹿囊胚。

48

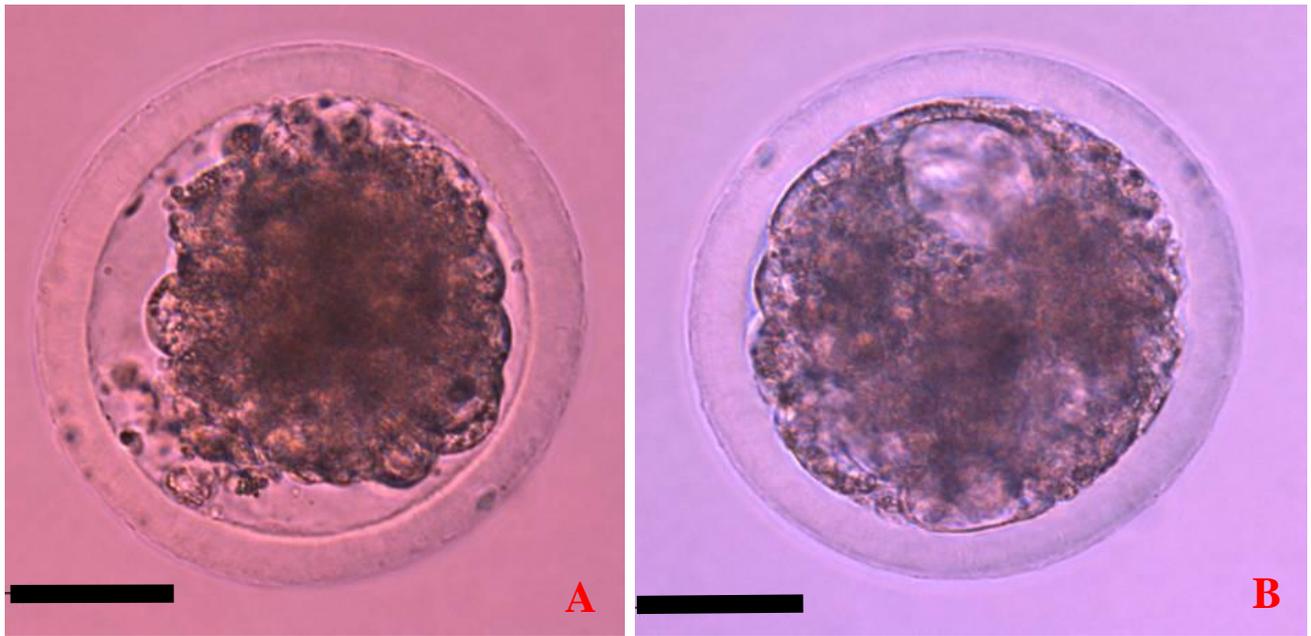


圖. 經玻璃化冷凍-解凍後於體外培養後之水鹿胚 (h); 0(A), 2 (B).
Bar=50 μ m.

49



圖. 第一頭應用玻璃化法產製之冷凍胚進行移置後
所產下之台灣水鹿-小璐(20070416)

50



小璐
(祖母)
6歲



女兒
4歲

孫女
2歲

51

為什麼進行胚移置?

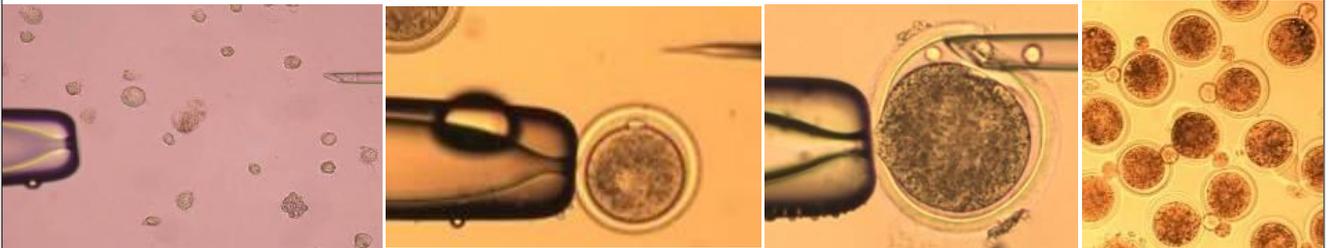
- 充分發揮優良母畜繁殖能力
 1. 縮短繁殖週期
 2. 增加排卵數
- 提高育種效率
提早進行後裔測定
- 保存品種資源與提升全球遺傳資源交換
- 有助於其他研究應用

52

第三階段：

■ 第三階段

- 水鹿選性精液與胚性別鑑定(99年開始發展)
- 水鹿體外胚生產 (99年開始發展)
- 腹腔鏡技術(100年開始發展) **高雄場與生理組**
- 非繁殖季節生殖調控技術

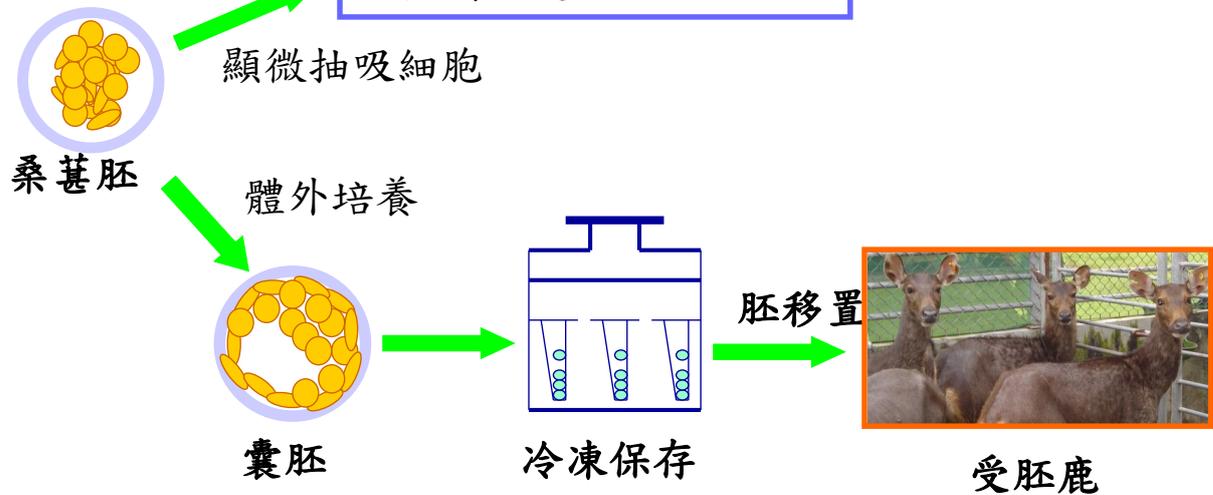


LRI

水鹿胚性別鑑定

公、母台灣水鹿AML基因序列間之差異性為71%

性別鑑定 used PCR



LRI

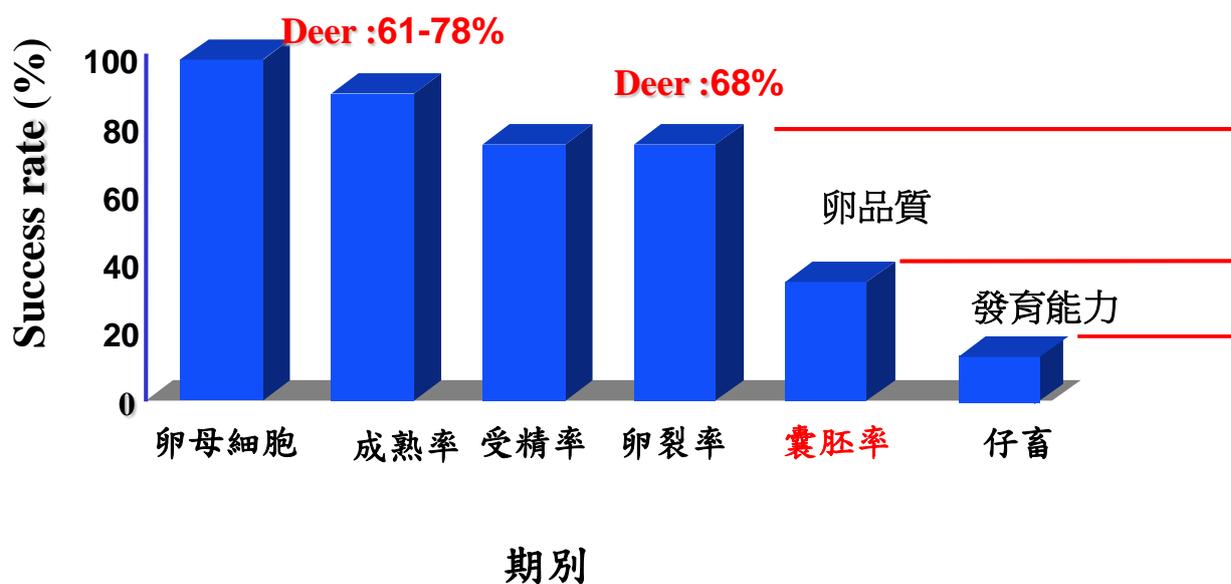
水鹿胚體外培養生產

- 卵丘卵母細胞複合體收集(未成熟卵)
- 體外成熟
- 體外授精
- 體外培養



55

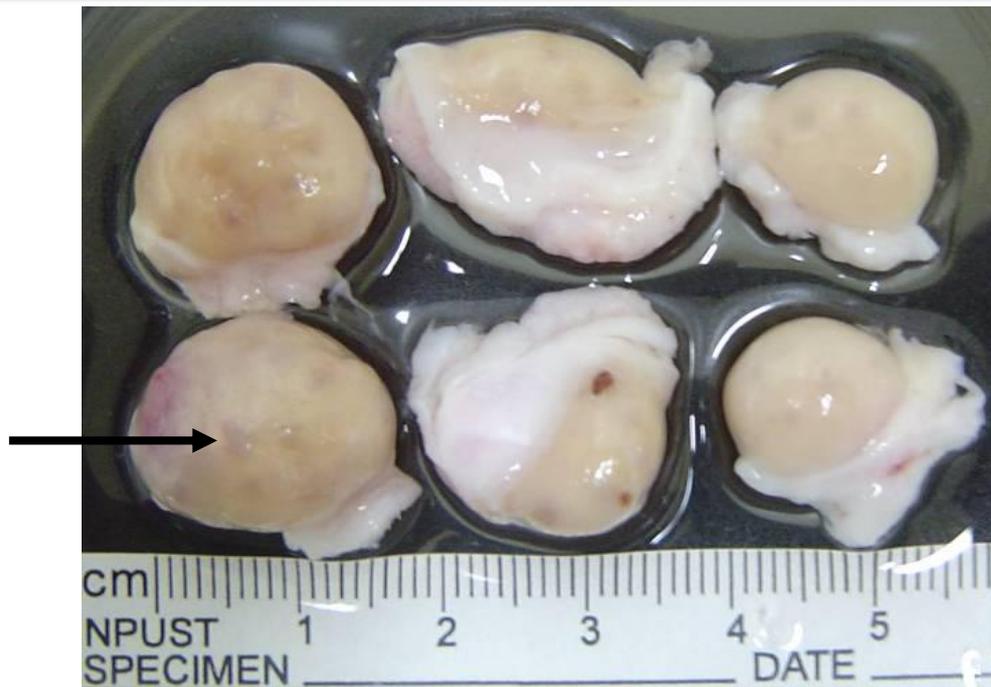
成熟體外生產技術之成功率



(Mermillod et al., 2006)

56

卵丘卵母細胞複合體收集



57

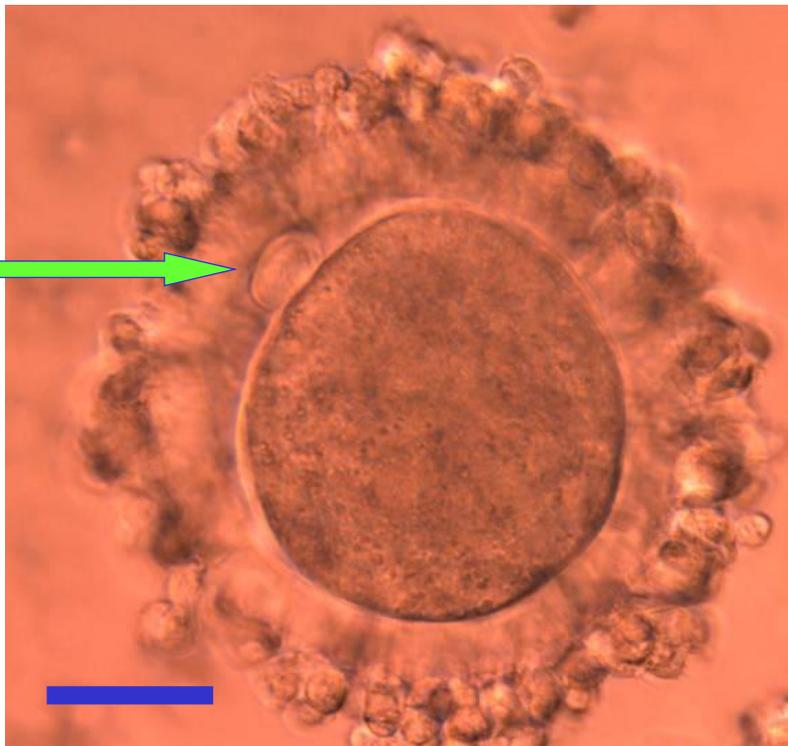


圖. 經體外成熟培養之台灣水鹿卵母細胞.
→ 第一極體. Bar = 50 μm .

58



圖.台灣水鹿卵母細胞於體外授精
Bar = 100 μm .

59



圖.台灣水鹿胚經體外授精後第二天發育至2-細胞階段之形態
Bar = 50 μm .

60

不要讓我們的小鹿輸在起跑點上， 乎你甲早登大人

非繁殖季節

針對台灣水鹿非繁殖季節開發生殖調控技術，使小鹿出生提早至1至2月：

1. 於茸角期前具有較充分的生長期。
2. 較早達到發身體重。

表. 傳統發情同期化處理於繁殖與非繁殖季節對台灣水鹿發情率與人工授精之影響

	處理頭數	發情率(%)	通過子宮頸口AI 成功率(%)	懷孕率 (懷孕/AI成功頭數)
非繁殖季節 ⁽¹⁾	14	6 (42.9) ^a	4 (28.6) ^a	1 (33.3) ^a
繁殖季節 ⁽²⁾	22	21 (95.4) ^b	19 (86.4) ^b	13 (68.4) ^b

(1) 三至五月；(2) 七至十月。

a, b Values without same superscripts in the same column are significantly different (P < 0.05).

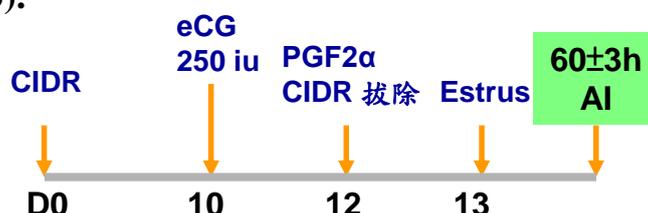


表. 台灣水鹿非繁殖季節生殖調控技術處理對發情率與人工授精之影響

	處理頭數	發情率(%)	通過子宮頸AI成功率(%)	懷孕率(%) (懷孕/AI成功頭數)
非繁殖季節 ⁽¹⁾	6	83.3 (5/6)	83.3 (5/6)	80.0 (4/5)

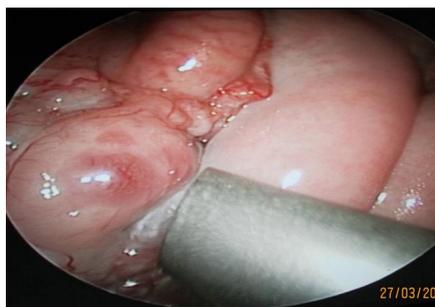
(1) 三至五月



台灣水鹿利用非繁殖季節生殖調控技術處理，經冷凍精液人工授精於101年1月24日成功產下的仔鹿。⁶³

台灣水鹿腹腔鏡技術建立應用價值

1. 女鹿人工授精
2. 少量精子(選性精液)人工授精
3. 胚移置





謝謝
敬請指教

LRI