

台灣水鹿同期化發情之處理

康獻仁

文獻回顧

1. 同期化處理之原理

發情同期化之目的乃主要令動物能於某一特定時機，同時發情，以利飼養者能不需費時於不定期且長時間之發情觀察，而可使母畜群同時進行人工授精，便於牧場之管理；此外，對於相關生殖科技研究，亦可提供其執行試驗之方便性。有關發情同期化處理之模式，主要包括利用解黃體劑，如 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ，其目的乃在促使黃體解體；繼而引起母畜發情、排卵。而促使排卵之藥劑，如 GnRH, hCG 等，乃為促使成熟濾泡排卵，以更精準調控發情動物群之同步化；此外，促進濾泡發育之藥劑，如 eCG, FSH 等則為促進濾泡發育，以增加卵巢內 E_2 之分泌量進而強化動物之發情徵候。然若使用高劑量之 eCG 或 FSH 時將同時引發超量排卵效果(Bearden *et al.*, 2004)。另一方面，助孕素之應用，如 CIDR，係長時間維持母畜之體內助孕酮濃度，一但移除，則可促使母畜群於移除後之數日內同時呈現發情徵候。

1. 常用於同期化處理之外源性內分泌素種類與應用

(1) 前列腺素 ($\text{PGF}_{2\alpha}$) 之應用

當牛隻於動情週期中之黃體期時注射外源性 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ，將導致黃體解體，使血中助孕素濃度降低，而促使激性腺素分泌增加，引起母牛發情、排卵，而顯示前列腺素 ($\text{PGF}_{2\alpha}$) 確實具有解黃體。惟單獨應用 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 之處理，母畜群間之發情時間並未完全一致，此種變異乃與 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 注射時母畜卵巢所處之發育期別有關，若卵巢發育期別處於濾泡期或黃體期之極早期則 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 之注射將無法誘發發情 (Fortune *et al.*, 1991)。一般而言，以荷蘭牛為例， $\text{PGF}_{2\alpha}$ 之注射時間執行於卵巢處於前一動情週期之 17~21 日或動情週期之最初 5 日內的黃體初期，則無解黃體的效果，此時，牛隻將依其原動情週期進展，最佳之 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 注射時間為母牛動情週期之第 7~16 天期間，因此， $\text{PGF}_{2\alpha}$ 之使用時機仍有其限制性。但若

採用間隔 11 至 14 天分別施打兩劑之 PGF_{2α} 之流程，則至少可涵蓋一次之黃體期，此也是何以在實際應用面間隔 11~14 天施打兩次 PGF_{2α} 之緣由 (Hafs and Manns, 1975; Lucy *et al.*, 1986; Larson and Ball, 1992)。

(2) 激性腺素釋素 (GnRH)

GnRH 之使用，乃主要促進成熟濾泡之排卵，若處理時動物之卵巢內不存在成熟濾泡將無法誘發排卵，因此，在實際應用面，多與其他內泌素搭配使用，如採 GnRH-PGF_{2α}-GnRH 之同期化處理模式，其方法即在動情週期的任一時間注射第一劑 GnRH，以促使原有的濾泡排出，重新啟動另一個新的濾泡波，且於 7 天後注射 PGF_{2α} 使原有濾泡排出所形成之黃體解體，此時新的一濾泡波形成之優勢濾泡業已逐漸成熟。因此於第 9 天注射第二劑 GnRH，將可誘發排卵。其排卵時機已證實於第二劑 GnRH 注射後之 24-32 小時內多數可被誘發。此準確的同期化模式，足以不需發情觀察，而能成功執行人工授精 (Pursley *et al.*, 1995)。另有試驗也證實此一模式，可以明顯改善重複配種母牛之懷孕率 (Rosenberg *et al.*, 1991)。此外，研究也發現以 GnRH 處理的母牛其血清助孕酮濃度將高於對照組注射生理鹽水之母牛，顯示 GnRH 對於黃體期的黃體有刺激的作用 (Ullah *et al.*, 1996)，而 Mee *et al.* (1993) 的報告也指出 GnRH 有增加黃體細胞數目之效果，此或可提昇母畜人工授精之懷孕率。

(3) 助孕酮 (progesterone)

已知優勢濾泡之盛衰，係由助孕酮經負迴饋作用引發 LH 之分泌以調節。當母牛血液中之助孕酮濃度呈現低值時 (約在動情週期之第 17~18 天)，將引發 LH 之分泌；其後，LH 濃度之增加，將進而促使優勢濾泡更形成成熟而排卵。因此，若能使母畜群先同時處於高助孕酮濃度環境，再一致移除助孕酮之供應，將可望使母畜群之血中助孕酮濃度於特定時間一致低落，而達同期化發情之效果。為使母畜群之血中助孕酮濃度均處於高值，助孕酮之持續施打是為其中之方法，但在執行面卻甚為繁雜，而一種置於母牛陰道內並緩慢釋放助孕酮之裝置 controlled internal drug release (CIDR) 之開發，提供了使用之便利性。且使用 CIDR 以調控其同期化發情之母牛於配種後之懷孕率與自然發情觀察者相似 (Van Cleeff *et al.*, 1991; Smith and Steven, 1995)。

摘 要

於本試驗旨在探討性成熟台灣水鹿母鹿於內泌素調控下，其同期化發情之效果。本試驗係在台灣水鹿之配種季節內(8-12 月)進行，試驗共採用性成熟母水鹿 26 頭；其中 12 頭母鹿供處理一使用，14 頭母鹿供處理二使用。於處理一乃在評估母台灣水鹿經 CIDR 同期化發情處理後之血清中助孕酮濃度變化，結果顯示，埋置 CIDR 之 9 頭母台灣水鹿，其於埋置前之血清助孕酮濃度為 1.97 ± 0.05 ng/ml，於埋置後以迄 CIDR 移除當日均維持高值 ($4.07 \pm 0.06 \sim 13.92 \pm 7.79$ ng/ml ng/ml)，反觀未埋置 CIDR 之 3 頭母鹿 (對照組) 其同期間之血清中助孕酮濃度則維持在 $0.50 \pm 0.24 \sim 3.49 \pm 0.39$ ng/ml 間之低值。於處理二則在評估利用 CIDR 搭配 eCG 同期化發情處理母台灣水鹿後之發情效率與懷孕率，結果顯示，於 2004 年所執行之 4 頭母鹿中，4 頭均被誘導發情，其發情率為 100%；發情母鹿經配種後之懷孕率 75%(3/4)，且此三頭懷孕母鹿均各分娩 1 頭仔鹿。於 2005 年則進行 10 頭母台灣水鹿之同期化發情處理，其誘導成功之發情率為 80% (8/10)；發情母鹿經配種後之懷孕率(依據現場記錄與觀察，涵蓋 2 個動情週期均未發情者)為 87.5% (7/8)，目前該 7 頭母鹿仍維持懷孕中。綜合上述結果顯示，利用 CIDR 搭配 eCG 處理之同期化發情模式具有極高之誘導發情率與懷孕率，且說明母台灣水鹿之同期化發情處理模式已被初步建立。

關鍵詞：台灣水鹿、馬絨毛膜激性腺素、同期化發情

前 言

發情同期化之應用除有利飼養者不需耗費額外時間用於發情觀察，而可使母畜群同時於特定時機進行人工授精，便於牧場管理之優勢外 (King *et al.*, 1982)，尤其對於相關生殖科技研究，如進行胚移置時供胚母畜與受胚母畜生理週期之同期化搭配，更被視為必備之技術(Bearden *et al.*, 2004)。

曾有研究指出，當單獨應用 PGF_{2α} 處理動情週期處於黃體期之母牛時，確實具有誘發發情之效果，惟若試驗母牛之動情週期處於濾泡期或黃體期之早期時，則均無法被誘發發情 (Fortune *et al.*, 1991)。應運而生之策略，乃採用間隔 11 至 14 天分別施打兩劑 PGF_{2α} 之流程，則至少可涵蓋一次之黃體期，且其誘導之發情效率與僅一劑處理於黃體期之母牛者相當 (Hafs and Manns, 1975; Lucy *et al.*, 1986; Larson and Ball, 1992)，但無論如何，僅單獨應用 PGF_{2α} 處理之母畜群，其個體間之發情同期化之一致性仍有極大之變異。因此，目前應用於家畜發情同期化之處理模式，均採取包括解黃體藥劑(如 PGF_{2α})、排卵藥劑(如 GnRH 和及 hCG)、濾泡發育藥劑(如 eCG 和 FSH)以及助孕素(如 CIDR)等藥劑之搭配使用(Bearden *et al.*, 2004)。Pursley *et al.* (1995) 利用 CIDR 搭配 PGF_{2α} 處理母牛時則有 85%之母牛被成功誘導發情；而李善男 (1999) 利用兩劑 PGF_{2α} 搭配 GnRH 之流程，執行荷蘭牛之發情同期化處理，在不進行發情觀察之情況下予以定時人工授精，其結果顯示，所得之受胎率明顯較觀察發情組者為高 (63.9 vs. 40.8%， $p < 0.05$)。在鹿科動物之發情同期化處理研究方面發現，紅鹿(Asher *et al.*, 1992a)或黓鹿(Asher *et al.*, 1995b)不論單獨使用 CIDR 以及 CIDR 搭配 eCG 或 FSH 處理時，均可獲致極高之誘導發情效率(70~100%)。

於台灣有關鹿科動物之發情同期化處理之研究仍少，尤其台灣水鹿者則尚未被研究，因此於本試驗，擬藉由僅利用 CIDR 或搭配 eCG 處理之母鹿發情效率與懷孕率，用以評估執行母台灣水鹿發情同期化處理之可行性，期能建立可應用於母台灣水鹿之較佳化發情同期化技術。

調控流程與方法

(一)、鹿隻保定、血液樣本採集、血清製備與 CIDR 埋植

1. 鹿隻保定

由試驗顯示；即使母台灣水鹿於非配種季節其血清中助孕酮之月平均濃度仍高於 2 ng/ml 以上，顯示吹箭麻醉制動保定之前置驅趕聚集作業，可能造成鹿隻緊迫而使其血中助孕酮濃度偏高，因此，於試驗貳另行採用鹿隻專用固定架 (圖 1)，用以保定動物，期降低動物之緊迫反應。試驗母鹿於驅趕入固定架後 (圖 2)，視鹿隻個體之緊迫反應程度，而決定是否搭配麻醉保定。

2.CIDR 埋置之發情同期化處理

將 CIDR (CIDR[®], AHI Inc. New Zealand) 裝配於專用置入器後，即予以置於母鹿之陰道中為期 12 天，並以置入之當日視為處理之第 0 日，第 12 日時取出 CIDR，並予以肌肉注射 2 ml 含 250 μ g/ml 之 PGF2 α (cloprostenol, Estrumate[®], Coopers, Germany)；於 eCG 注射組母鹿，其 eCG 之注射時機為第 12 日，濃度為 500 IU (血清哥娜，中化)。

(二)、母台灣水鹿之配種

經同期化發情處理之母鹿，於 CIDR 移除後之 56~60 小時進行第一次人工授精，並間隔 12 小時後進行複配；完成配種之母鹿每 4-5 頭區分於同一飼養欄舍飼養，靜待懷孕判定。

(九)、母鹿之懷孕判定

依據現場紀錄所得之經驗，本場母鹿之動情週期約為 17 天，發情母鹿經配種後，於預定發情日前後 4 天(共 8 天)，以試情公鹿觀察其發情狀況，並涵蓋 2 個動情週期 (至少 34 天以上)，未再發情者則判定為懷孕。



圖 1. 鹿隻專用固定架。

Fig. 1. The holding trunk of deer.



圖 2. 母台灣水鹿之固定。

Fig.2. Trunk holding of the sambar deer does.



圖 3. 母台灣水鹿注射麻醉劑。

Fig. 3. Anesthetic injection from jugular vein.



圖 4. 母台灣水鹿麻醉保定。

Fig. 4. The anesthetic holding of sambar deer does .



圖 5. 母台灣水鹿頸靜脈採血。

Fig. 5. The blood sampling by jugular venepuncture of the s.d.d.

結果與討論

一、處理一：母台灣水鹿經 CIDR 發情同期化處理後之血清中助孕酮濃度變化

本試驗處理一所比較母台灣水鹿經 CIDR 發情同期化處理後之血清中助孕酮濃度變化的結果顯示，埋置 CIDR 之母台灣水鹿，其於埋置前之血清助孕酮濃度為 1.97 ± 0.05 ng/ml，於埋置後之第一天其血清助孕酮濃度即快速上昇至 6.84 ± 1.17 ng/ml，並維持至 CIDR 移除當日 ($4.07 \pm 0.06 \sim 13.92 \pm 7.79$ ng/ml ng/ml)，反觀未埋置 CIDR 之母鹿（對照組）其血清中助孕酮濃度則維持在 $0.50 \pm 0.24 \sim 3.49 \pm 0.39$ ng/ml 間之低值（圖 3-5）；且進一步比較兩處理組母鹿於 CIDR 埋置後之第 0、第 8、第 12 之血清助孕酮濃度則發現，於此 CIDR 埋置後之第 8 與第 12 日之血清助孕酮濃度 (8.27 ± 4.47 和 6.15 ± 1.66)，均明顯高於埋置當日 (1.97 ± 0.05 ng/ml) 者，及未埋置組各時期之母鹿 ($0.50 \pm 0.24 \sim 3.49 \pm 0.39$)。此現象與 Asher and Smith (1987) 利用 CIDR 進行黠鹿之發情同期化處理試驗所得結果相似，作者認為埋置 CIDR 組母鹿血中具較高助孕酮含量之原因乃由於源自 CIDR 所釋出者。

二、處理二：母台灣水鹿經 CIDR 搭配 eCG 發情同期化處理後之發情效率與懷孕率

於處理二所評估利用 CIDR 搭配 eCG 發情同期化處理母台灣水鹿後之發情效率與懷孕率結果顯示，於 2004 年所執行之 4 頭母鹿中，4 頭均被誘導發情，其發情率為 100%；發情母鹿經配種後之懷孕率 75% (3/4)，且此三頭懷孕母鹿均各分娩 1 頭仔鹿，惟其中一頭仔鹿難產死亡，另 2 頭仔鹿則健康存活。於 2005 年則進行 10 頭母

台灣水鹿之發情同期化，其誘導成功之發情率為 80% (8/10)；發情母鹿經配種後之懷孕率(涵蓋 2 個動情週期均未發情者)為 87.5% (7/8)，目前該 7 頭母鹿仍維持懷孕中(表 5)。綜合上述結果顯示，利用 CIDR 搭配 eCG 處理之發情同期化模式具有極高之誘導發情率與懷孕率。其中，二次試驗之總合發情率為 85.7%(12/14)與 Asher *et al.*, (1992a) 於紅鹿或 Asher *et al.*, (1995b)於黠鹿所進行發情同期化處理者相近似(70 和 100%)；而二次試驗之總合懷孕率為 83% (10/12)也與 Liu *et al.* (2002)試驗顯示，自然發情之台灣梅花鹿的懷孕率為 90% (9/10)者相接近，且其分娩率 67% (6/9)亦與本試驗目前所得之分娩率(75%)相近。因此說明，利用 CIDR 搭配 eCG 之發情同期化處理模式可適用於母台灣水鹿。此等成果也證實母台灣水鹿之發情同期化處理模式已被建立並可實務應用於台灣水鹿人工生殖模式中。