

行政院農業委員會畜產試驗所主管科技計畫  
98年度細部計畫說明書

98農科-2.1.2-畜-L1(14)

種畜禽研究團隊(FABRC)：台灣水鹿繁殖體系之建立

Food Animal Breeding Research Consortium  
(FABRC): Establishment of reproduction system in  
Formosan sambar deer



1236311670812 2009/03/06 11:54:30

行政院農業委員會畜產試驗所  
中華民國98年1月



執行機構(計畫)識別碼：020102L114

# 行政院農業委員會畜產試驗所主管科技計畫 98年度細部計畫說明書

## 一、計畫序號及名稱

- (一) 序號： 14
- (二) 中文名稱： 種畜禽研究團隊(FABRC)：台灣水鹿繁殖體系之建立
- (三) 英文名稱： Food Animal Breeding Research Consortium (FABRC): Establishment of reproduction system in Formosan sambar deer

## 二、計畫編號

- (一) 國科會審議編號： 9821010106-03020102L1
- (二) 本年度計畫編號
  - 中文： 98農科-2.1.2-畜-L1
  - 英文： 98AS-2.1.2-LI-L1
- (三) 去年度計畫編號
  - 中文： 新提計畫
  - 英文： 新提計畫

## 三、計畫依據

- (一)農委會施政計畫  
農委會中程施政計畫

## 四、計畫屬性

科技類

## 五、研究性質/研究方式

研究性質：技術發展  
研究方式：自行研究





## 六、研究領域/研究目的

研究領域：59 畜牧獸醫類

研究目的：發展農林漁牧(不含食品加工與包裝)

## 七、執行機關與執行人

機 關 名 稱	執 行 人	職 稱
行政院農業委員會畜產試驗所	黃英豪	所長

## 八、協辦（合作）機關

無

## 九、計畫主持人

機關名稱：農委會畜產試驗所

姓 名：王治華

職 稱：副研究員兼場長 單位名稱：高雄種畜繁殖場

電 話：08-7792617

傳 真：08-7791852

電子信箱：chwang@mail.tlri.gov.tw

## 十、研究人員

序號	機 關 名 稱	單 位 名 稱	研究人員	職 稱
1.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	康獻仁	助理研究員
2.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	林信宏	技佐
3.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	詹嫻嫻	約聘人員
4.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	曾進輝	技工
5.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	鄭木榮	技工
6.	農委會畜產試驗所	高雄種畜繁殖場	宋文霖	技工
7.	屏東科技大學	畜產系	沈朋志	助理教授





## 十一、執行期限

全程計畫： 98 年 1 月 1 日至 101 年 12 月 31 日止  
本年度計畫： 98 年 1 月 1 日至 98 年 12 月 31 日止

## 十二、實施地點

高雄種畜繁殖場

## 十三、計畫內容

### (一) 已完成/相關之重要計畫成果摘要：

新提計畫

### (二) 擬解決問題：

台灣鹿隻飼養約2萬2千餘頭，飼養戶數約8百餘戶，其中台灣水鹿占83%；鮮茸產量21.9公噸，鮮茸產值約5.5億元。惟因每頭公鹿產茸能力差異甚鉅（30~363台兩），優良種公鹿每頭值台幣十數萬至百萬不等。台灣鹿茸消費習性以現場採收買賣為主，惟部分養鹿勞力高齡化，副業型態經營方式，鹿隻之人工授精技術未普及化，影響種鹿繁殖推廣，且鹿產品仍需面對關稅調降及走私貨衝擊，將壓縮鹿產業發展空間。本計畫之目的，擬建立台灣水鹿繁殖供應體系，藉由台灣水鹿人工生殖科技---精液、胚胎冷凍保存技術之改良、性別鑑定與人工授精推廣實施，協助種鹿場人工授精種子教師之養成訓練及永續保存利用優良台灣水鹿之種原，藉以提昇種鹿產業競爭力。

### (三) 前人研究概況：

鹿精液之採集方法可歸納為假陰道法、電激法和附辜蒐集法。假陰道法係於其自然配種之射精時利用假陰道收集精液。電激法係於其被輕度麻醉狀態下利用電刺激方式取得精液，較為安全，且所得之精液品質亦佳（吳等，2002；王，2003）。台灣水鹿之精液性狀根據王（2003）研究報告牡台灣水鹿精液量為1.3~2.2ml，精子濃度為19~22億sperms/ml，精子活力則為3~5級分；而吳等（2002）研究報告牡台灣水鹿精液量為 $1.4 \pm 0.7$ ml，精子濃度為 $5.57 \pm 3.45$ 億sperms/ml，精子活力則為 $75.5 \pm 9.3\%$ 。

冷凍精液品質主要受溫度、降溫速率、稀釋液之組成份、冷凍保護劑之種類與濃度、滲透壓、冷休克、冷凍-解凍速率等因素影響。精液冷凍過程中，添加冷





凍保護劑(cryoprotectants), 可防止低溫造成細胞的傷害而導致死亡。Fernandez-santos 等 (2006b)所做的試驗是於西伯利亞紅鹿精液稀釋液是使用Tris-citrate-fructose-egg yolk, TCF緩衝溶液為基本的冷凍稀釋液。而精子最終濃為2億精子細胞數/ml,先將含有精子稀釋液冷卻至5℃, 平衡2小時以上, 填入0.25ml麥管中, 先冷凍在液態氮蒸氣液面上4公分之-120℃, 10分鐘後再將麥管投入液態氮中(-196℃)保存。解凍後評估精子冷凍保存之影響, 利用不同濃度甘油稀釋液(3%或6%), 以甘油濃度6%之稀釋液組成在冷凍解凍後精子活力百分率, 精子活力等級和精子存活率都顯著高於甘油濃度3%之稀釋液(P<0.05)。並且在37℃溫度環境下培養2小時後精子頭帽完整性(%NAK)、細胞膜完整性(HOST+)低滲透壓膨脹試驗、精子活力百分率, 精子活力等級(0-5)、精子存活率、都以6%甘油濃度之稀釋液組成為佳。Fernandez-santos等 (2006a)進行三種不同的滲透性保護性和濃度對於紅鹿副睪精子之抗凍能力影響。其結果顯示在精子稀釋液添加甘油(3%, 6%或12%)、乙二醇(3%, 6%或12%)、丙二醇(3%, 6%或12%)、於5℃平衡2小時後, 在精子活力指標以甘油濃度3%或6%比對照組有顯著差異(p<0.05), 其它EG,PG等稀釋液濃度對精子活力沒有顯著差異(p>0.05)。綜合結果顯示三種不同冷凍保護劑對於紅鹿副睪精子的冷凍保護作用, 以Glycerol>EG>PG。Martinez-pastor等(2006)研究利用電激採精法和副睪採集法之精液, 使用甘油濃度4%和8%做為滲透性冷凍保護劑, 精子存活率以甘油濃度4%較好。存活精子之頭帽完整性ACR(%), 以甘油濃度8%較好。

目前精液冷凍保存常使用之滲透性冷凍保護劑主要包括甘油 (glycerol)、乙二醇 (ethylene glycol; EG)、二甲基磺氧化物 (dimethyl sulfoxide; DMSO)、及丙二醇 (propylene glycol; PG) 等可滲透細胞膜的冷凍保護劑 (Purdy, 2006)。自1940年代Polge等人發現甘油 (glycerol) 具有冷凍保護效用後 (Yoshida, 2000), 甘油已廣泛的運用於家畜、動物及人類等精液之冷凍保存。據Watson et al. (1990) 之研究指出, 甘油仍為目前製作哺乳動物冷凍精子最優先使用之冷凍保護劑, 其優點乃對細胞膜的通透性強、冷凍保護效果佳等。儘管如此, 甘油亦有其副作用, 在Fiser and Fairfull (1984) 報告中指出, 甘油會降低解凍後精子活動力、精子穿透卵子能力及造成精子頭帽之傷害; 因此降低添加時之稀釋液溫度及在足夠保護濃度下降低甘油量是為必要措施。在甘油濃度之探討, 據Bamba and Cran (1988) 之研究指出, 豬精液中分別添加5% 含0.0, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5及10%等不同甘油濃度之稀釋液後, 再回溫至37℃之精液品質結果顯示, 含較高濃度 (7.5及10%) 甘油組之精子顯著降低其正常頭帽之百分比。Leboeuf (2000) 建議山羊冷凍稀釋液中之甘油濃度範圍應用為3% ~ 9%, 且以4% ~ 7% 為最適當條件。搭配含雙糖類的精液稀釋液使用於牛時, 可使用較低甘油濃度 (3 ~ 4%) ; 但如果不含雙糖之精液稀釋液則需使用較高濃度之甘油 (7%) (Unal et al., 1978)。在鹿科動物, 以4至8%甘油添加於稀釋液中, 解凍後精子存活率皆可接受 (Asher et al., 2000; Umapathy et al., 2007)。國內水鹿冷凍精液製作以6%甘油添加於稀釋液中, 解凍後進行人工授精之懷孕率可高達77% (17/22)。上述說明冷凍精液製作過程中, 精子暴露於較高濃度甘油下對精子有不利之影響, 因此, 冷凍精液稀釋液中甘油的添加量須適量, 始能有較佳之冷凍保存效果。

#### (四) 計畫目標：



1. 全程目標：

(1)總目標：

建立台灣水鹿繁殖供應體系

(2)分年度工作目標：

98年度：

水鹿精液冷凍保存技術之改良

99年度：

水鹿胚冷凍條件之改良

100年度：

水鹿胚性別鑑定條件之評估

101年度：

水鹿胚性別鑑定及冷凍胚移置

2. 本年度目標：

水鹿精液冷凍保存技術之改良

(五) 重要工作項目及實施方法：

98年：台灣水鹿精液冷凍保存技術之改良：

於台灣水鹿主要繁殖配種季節中(7-11月)選取種鹿場產茸量100台兩以上之性成熟種公鹿2頭，進行麻醉保定以電激採精器收集精液，評估新鮮精液品質性狀，選取優良品質之精液(活力4以上及存活率80%以上)進行稀釋作業流程，利用TES-蛋黃稀釋液配方，分別搭配含3組不同濃度(3%、6%、12%)之甘油，於實驗室製作冷凍精液，測定其滲透壓變化狀況，於液態氮貯藏及解凍後評估其精液品質性狀。經同期化發情處理之母台灣水鹿36頭(每組12頭)，於CIDR抽除後之第60~72小時間予以進行人工授精1次，評估3種不同濃度抗凍劑(3、6、12%)冷凍精液進行人工授精母鹿之懷孕率。

(六) 預定進度：

重要工作項目	工作比重 %	預定進度	98年				備註
			1-3月	4-6月	7-9月	10-12月	





冷凍精液配方設計與製備	30	工作量或內容	文獻收集與試驗配方設計	試驗物品購置及儀器測試		
		累計百分比	40	100	100	100
製備保存台灣水鹿冷凍精液	30	工作量或內容	試驗公鹿飼養	公鹿精液採集與性狀分析	冷凍精液製備保存	冷凍精液製備保存
		累計百分比	10	20	80	100
母鹿人工授精	30	工作量或內容	試驗母鹿飼養	試驗母鹿飼養	母鹿同期化發情與人工授精	母鹿同期化發情與人工授精
		累計百分比	10	30	60	100
期中期末報告撰寫	10	工作量或內容		期中報告撰寫		期末報告撰寫
		累計百分比	0	50	50	100
累計總進度	百分比		18	50	77	100

(七) 預期效益及評估指標：

1. 預期效益：

台灣水鹿精液冷凍保存及胚移置技術之建立，配合人工授精技術平台開發成功與推廣，協助種鹿產業人工授精技術培訓流程與種子教師之養成，以促進台灣水鹿冷凍精液流通交易，並建立台灣水鹿冷凍精液及種鹿交易市場。

2. 評估指標：

(1) 期中審查標準：

完成台灣水鹿冷凍精液配方設計與製備流程。

(2) 期末審查標準：

1. 製備保存產茸量100台兩以上台灣水鹿冷凍精液200劑以上。
2. 完成36頭母台灣水鹿人工授精並評估其懷孕率。

十四、計畫經費分類

(單位：千元)

經費類別	經常門	資本門	合計
自辦費	3,000	2,250	5,250





## 十五、預算細目

機關名稱：農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場

(單位：千元)

預算科目代號	預算科目	經費來源					合計	說明
		農委會畜產試驗所			其他			
		經常門	資本門	小計	金額	配合款單位		
01-00	人事費	20	0	20	0		20	
01-31	加班值班費	20	0	20	0		20	現場飼養動物人員加值班費
02-00	業務費	2,980	0	2,980	0		2,980	
02-01	教育訓練費	20	0	20	0		20	研究人員參與技術訓練研習費用
02-02	水電費	148	0	148	0		148	試驗用水電費
02-03	通訊費	34	0	34	0		34	電話通訊費
02-15	資訊服務費	20	0	20	0		20	資訊設備與操作服務費
02-71	物品	1,163	0	1,163	0		1,163	試驗動物,飼料,消耗性材料,治療用藥品及畜牧器具等
02-79	一般事務費	1,202	0	1,202	0		1,202	誤餐費,印刷費,勞務外包等雜支
02-82	房屋建築修繕費	44	0	44	0		44	鹿舍及畜舍圍欄保養維修
02-83	車輛及辦公器具養護費	2	0	2	0		2	車輛及試驗辦公器具等養護費用,車牌號碼(3879-WT,P4-4270)
02-84	設施及機械設備養護費	175	0	175	0		175	畜牧試驗器具維修
02-91	國內旅費	167	0	167	0		167	計畫人員試驗取樣執行及審查差旅費
02-94	運費	5	0	5	0		5	試驗材料寄送費
03-00	設備及投資	0	2,250	2,250	0		2,250	
03-02	房屋建築及設備費	0	2,000	2,000	0		2,000	鹿舍修繕工程
03-04	機械設備費	0	250	250	0		250	滲透壓分析儀1台
合計		3,000	2,250	5,250	0		5,250	

會計人員簽章：







## 十六、關鍵詞

精液;Semen;冷凍保護劑;Cryoprotectant;台灣水鹿;Formosan sambar deer;

## 十七、主要參考文獻

- 王俊強。2003。牡台灣水鹿生殖功能之一年內變化與精液之冷凍保存。東海大學畜產學系，碩士論文。
- 吳瑞得、董光中、馮翰鵬、郭財榮、蔡沛學與鄭豐邦。2002。畜養牡台灣梅花鹿及牡台灣水鹿之生殖性狀分析：以直腸電激採精法進行精液性狀評估。台灣獸醫誌 28：204-210。
- Asher, G. W., D. K. Berg and G. Evans. 2000. Storage of semen artificial insemination in deer. *Anim. Reprod. Sci.* 62:195-211.
- Bamba, K., and D. G. Cran. 1988. Further studies on rapid dilution and warming of boar semen. *J. Reprod. Fert.* 82:509-518.
- Fernandez-Santos M. R., M. C. Estes, V. Montoro, A. J. Soler, and J. J. Garde. 2006a. Influence of Various permeating cryoprotectants on freezability of Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: Effect of concentration and temperature of addition. *J Androl* 69:1-36.
- Fernandez-Santos M. R., M. C. Estes, V. Montoro, A. J. Soler, and J. J. Garde. 2006b. Cryopreservation of Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: effects of egg yolk, glycerol and cooling rate. *Theriogenology* 66: 1931-1942.
- Fiser, P. S., and R. W. Fairfull. 1984. The effect of glycerol concentration and cooling velocity of cryosurvival of ram spermatozoa frozen in straw. *Cryobiology* 21:542-551.
- Leboeuf, B., B. Restall, and S. Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62:113-141.
- Martinez-Pastor F., F. Martinez, V. Garcia-Macias, M. C. Estes, E. Anel, M. R. Fernandez-Santos, A. J. Soler, P. D. Paz, J. Garde, and L. Anel. 2006. A pilot study on post-thawing quality of Iberian Red Deer spermatozoa (epididymal and electroejaculated) depending on glycerol concentration and extender osmolality. *Theriogenology* 66: 1165-1172.
- Purdy, P. H., 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small. Rumi. Res.* 63:215-225.
- Umapathy, G., S. D. Sontakke, A. Reddy and S. Shivaji. 2007. Seasonal variations in semen characteristics, semen cryopreservation, estrus synchronization, and successful artificial insemination in the spotted deer (*Axis axis*). *Theriogenology* 67: 1371-1378.
- Unal, M. B., W. E. Berndtson and B. W. Pickett. 1978. Influence of sugars with glycerol on post-thaw motility of bovine spermatozoa in straw. *J. Dairy Sci.* 61: 83-89.
- Watson, P. F. 1990. Artificial insemination and the preservation of semen. Page 747-869 in *Marshalls physiology of Reproduction*, Lamming G., ed. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Yoshida, M. 2000. Conservation of sperms: current status and new trends. *Anim. Reprod.*





Sci. 60:349-355.





附表一

參與計畫人力資料表

	參與計畫 人員姓名	英文姓名	身份證 字 號	出生 年 民 國	專長 領域	職級	學歷	性別	參與 人月	參與 性質
1	王治華	Wang Chih-Hua	B12081****	52	59	2	1	1	2	1
2	康獻仁	Kang Shann-Ren	R12160****	49	59	3	2	1	4	4
3	林信宏	Lin Hsin-Hung	E12232****	63	59	4	2	1	4	4
4	詹熾榕	Chan Yen-Jung	A22455****	65	59	4	2	0	1	4
5	曾進輝	Tseng Chin-Hui	T12085****	63	59	5	4	1	4	4
6	鄭木榮	Ceng Mu-Jung	S12083****	59	59	5	3	1	4	4
7	宋文霖	Song Wen-Lin	T12132****	57	59	5	3	1	4	4
8	沈朋志	Shen Perng-Chih	J12072****	54	59	3	1	1	1	5





附表二

## 本研究計畫主持人及共同主持人本年度及以往三年之研究計畫名稱

年度	計畫名稱	委託機關	備註			
			主持	非主持	申請中	核定
98	種畜禽研究團隊(FABRC)：台灣水鹿繁殖體系之建立	農委會畜產試驗所	√		√	
97	台灣水鹿繁殖與產品分析效率提升之研發	農委會畜產試驗所	√			√
96	台灣水鹿繁殖與產品分析效率提升之研發	農委會畜產試驗所	√			√
96	台灣水鹿人工授精技術平台之建立	農委會畜產試驗所	√			√
95	畜試黑豬新品種之選育	農委會畜產試驗所	√			√
95	台灣水鹿人工授精技術平台之建立	農委會畜產試驗所	√			√





附表四

## 新購儀器及設備明細表

儀器設備名稱	中文：滲透壓分析儀				
	英文：Osmometer				
主要規格	1.電源:110V 2.樣品量:20~50ul 3.測試範圍:0~2000mOsmol/kg或以上 4.解析能力:1mOsmol/kg				
單價(元)	250,000	數量	1	總價(元)	250,000
農委會畜產試驗所	250,000	其他機關配合款(元)	0		
購置機關	農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場	使用單位(系課室)	農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場		
儀器設備負責人	王治華	儀器設備管理人員	林信宏		
用途說明	精液及稀釋液滲透壓測定分析用				
購置理由	本場無該項儀器設備故新購置以利試驗進行				





附表五

新購研究分析及檢測用儀器申請表

- 一、申請機關名稱：農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場      單位名稱：農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場
- 二、申請人姓名：康獻仁      職級：助理研究員級      電話：08-7792617~218
- 三、申請儀器設備名稱：      中文：鹿舍修繕工程  
      英文：Breeding deer shed
- 四、主要規格及功能
1. 規格：基地面積50m\*24m 之鹿舍屋頂修建工程,烤漆板、鍍鋅亞管、C型與H型鋼等建材
  2. 功能：提供鹿隻飼養與研究場地用
- 五、經費概算(千元)
- 單價：2,000      數量：1      總價：2,000
- 六、本儀器(設備)之經費是否另有相對經費配合款  
否
- 七、機關內是否有性能相似的儀器  
本件係增購，因原有儀器(設備)使用頻度太高，不敷使用。  
原有儀器(設備)購置年度 72，補助單位 台灣省農林廳
- 八、本儀器(設備)負責人：康獻仁
- 1.操作本儀器(設備)之經驗  
動物飼養經驗20年
  - 2.儀器(設備)操作訓練計畫  
進行台灣水鹿種公鹿採精及母鹿人工授精訓練計畫
  - 3.儀器(設備)放置地點  
農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場
- 九、本儀器(設備)是否可共同使用  
可用於中小型草食動物飼養
- 十、本儀器(設備)的購買與研究計畫的關係
- 1.種公鹿採精及母鹿人工授精之隔欄飼養用；
  - 2.試驗鹿群飼養空間不足故需擴建鹿舍；
  - 3.可用於中小型草食動物飼養。
- 十一、以上所述屬實，若有虛偽情事願意依規定受罰

購置機關：農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場

使用單位：農委會畜產試驗所高雄種畜繁殖場





申請人： 康獻仁  
財產管理人：

財產管理單位簽章：  
財產管理人簽章：





附表八

計畫摘要

計畫名稱：種畜禽研究團隊(FABRC)：台灣水鹿繁殖體系之建立  
計畫編號：98農科-2.1.2-畜-L1 審議編號：9821010106-03020102L1  
主管機關：行政院農業委員會畜產試驗所 執行單位：行政院農業委員會畜產試驗所  
計畫主持人：王治華 聯絡人：王治華  
聯絡電話：08-7792617 傳真號碼：08-7791852  
期程：98年1月1日至101年12月31日  
經費：(全程)21,000千元 98(年度)：5,250千元  
人力預估：(全程)8人年 98(年度)：2人年  
執行內容(中文摘要)：

本計畫之目的，擬建立台灣水鹿繁殖供應體系，藉由台灣水鹿人工生殖科技---精液、胚胎冷凍保存技術之改良、性別鑑定與人工授精推廣實施，結合農業技術移轉授權機制，協助種鹿場人工授精種子教師之養成訓練及永續保存利用優良台灣水鹿之種原，建立養鹿業者對人工生殖科技新思維，藉以提昇種鹿產業競爭力。

英文摘要：

The purpose of this study is to establish the reproduction system in Formosan sambar deer. Through the improvement of artificial reproductive technology in the semen and embryo cryopreservation, sex identification, and the practice of artificial insemination, combining the transfer and authorization mechanism in agricultural technology, we will help to train the seed teacher of artificial insemination, and utilize forever the genetic resources of the propagation ranch. We also intend to establish the new thinking in artificial reproductive technology for industrial managers, and that will promote their competitive competence.

