

牡臺灣梅花鹿生殖性狀之季節性變化⁽¹⁾

林信宏⁽²⁾ 郭廷雍⁽³⁾ 康獻仁⁽²⁾ 張仲彰⁽²⁾ 楊鎮榮⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：112 年 4 月 19 日；接受日期：112 年 10 月 13 日

摘 要

本研究目的係評估牡臺灣梅花鹿血液生殖內分泌素、陰囊周長與精液性狀等生殖性狀之季節性變化，以提高優良種鹿繁殖效率。試驗選用健康、性成熟牡臺灣梅花鹿 5 頭，每月以電激方式採集精液樣本與頸靜脈採血 1 次，結果顯示，牡臺灣梅花鹿血清中睪固酮濃度於 11 月時達到最高值 10.3 ± 4.8 ng/mL，且 10-11 月間之濃度顯著高於 3-7 月間 ($P < 0.05$)；雌素二醇濃度於 4 月時達到最高值 393.8 ± 42.1 pg/mL，且 2-6 月間之濃度顯著高於 10-12 月間 ($P < 0.05$)；陰囊周長於 9-11 月達到整年度較大之平均值，且顯著大於 3-7 月之周長平均值 ($P < 0.05$)；統計 1-9 月與 9-12 月間精液性狀之平均數據為精液量 0.3 ± 0.2 mL、精子活力 4.0 ± 1.2 、精液濃度 $17.5 \pm 6.9 \times 10^8$ 精子數/mL、精子畸形率 $12.9 \pm 5.1\%$ 、精子存活率 $76.3 \pm 19.3\%$ 、睪丸周長 20.3 ± 1.2 cm 與 pH 值 7.2 ± 0.4 。依據結果，牡臺灣梅花鹿血清中睪固酮濃度與陰囊周長呈季節性變化，且僅能於繁殖季節採集到精液，研究結果可以做為牡臺灣梅花鹿繁殖之參考。

關鍵詞：臺灣梅花鹿 (Formosan sika deer)、生殖性狀 (Reproductive performances)、精液 (Semen)。

緒 言

鹿科動物在偶蹄目動物裡屬於一個高多樣性的族群，目前所知約有 40 個物種和 200 個亞種以上，體型範圍差距甚大，從體重達 700 公斤的阿拉斯加駝鹿 (Alaskan mooses)，到體重僅 9 公斤的南美洲的北方普度鹿 (Northern Pudu) 都有。因此，並無典型代表之鹿科族群，這也反應在繁殖生理差異，有些鹿種呈現高度季節性繁殖模式；在赤道地區的鹿種則呈現非季節性。回顧鹿科繁殖技術的發展，資訊有限且只能用在少數物種上 (Asher *et al.*, 2000)。臺灣梅花鹿 (Formosan sika deer; *Cervus nippon taiouanus*) 為臺灣特有亞種，屬短日照季節性繁殖，且季節性繁殖極為明顯，季節性生殖活動主要是受光照調節，當日照由長變短時啟動繁殖活動，區域性光照影響可自 10 月至隔年 2 月，但主要配種行為集中在 11 至 12 月，成年個體於秋季至隔年春季發情配種，動情週期為 19.3 ± 1.8 天 (Liu *et al.*, 2002)，母鹿在隔年春夏之交際分娩，公鹿則於立春時解角長茸；然而，同樣屬於鹿科 (Cervidae) 之臺灣山羌 (Formosan Reeves' Muntjac; *Muntiacus reevesi micrurus*) 卻無明顯之季節性變化 (鄭, 2006)。其他如馬來西亞水鹿 (Malaysia sambar deer; *Cervus unicolor brookei*) 是非季節性繁殖動物，繁殖高峰期為二月 (Dahlan and Dawend, 2013)。不同鹿種之繁殖特性及模式除受緯度及環境溫度影響外，亦受地形環境、食物種類及供應情況而有所不同，其主控因子乃在鹿群飼養緯度之日照長短所致 (Jackson *et al.*, 1989)。在日本的野生梅花鹿因採食人類種植的農作物，提升年輕鹿隻體型並促進生殖性能早熟 (Hata *et al.*, 2021)。溫帶地區鹿種如美國馬鹿 (American elk; *Crerus canadensis*)，其配種行為發生的時間，則明顯受緯度高低影響，緯度高者其配種季節愈早，但其配種季節之持續時間則愈短 (Suzuki, 1993)。

然而，生性敏感不易操作的臺灣梅花鹿於繁殖上亦面臨晚熟、單胎、發情徵候不易觀察、發情週期不規則及產仔間距長等問題。迄今針對臺灣梅花鹿生殖功能評估之研究甚少，爰本研究的目的在於評估整年度牡臺灣梅花鹿之血液生殖內分泌素、陰囊周長及精液性狀等生殖性狀之季節性變化，建立茸角週期生殖性狀做為種鹿飼養管理、繁殖管理、精液保存及人工授精時之參考，藉以提高優良種鹿之繁殖效率。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2767 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

(3) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。

(4) 通訊作者，E-mail: jryang@mail.tlri.gov.tw

材料與方法

I. 試驗動物與試驗處理

選用飼養於南區分所屏東場區之健康且性成熟之牡臺灣梅花鹿 5 頭，試驗進行遵照高雄種畜繁殖場實驗動物照護及使用委員會 (Institutional Animal Care and Use Committee) 審定之規定 (KAPS IACUC, No. 110-16)，採個別任食飼養，每日提供盤固草乾草、玉米青貯及苜蓿草塊等粗料與清潔飲水，另每頭鹿隻每日補充 500 g 精料。試驗於 1 月至 12 月進行，參試公鹿自 1 月開始每隔 1 個月進行電激採精與頸靜脈採血 1 次，連續採集 12 個月，以分析公鹿茸角週期之血清睪固酮 (testosterone) 與雌素二醇 (estradiol) 濃度變化。電激採精時量測陰囊周長值，採集之精液則進行精液性狀評估。

II. 精液採集

牡臺灣梅花鹿於採血採精進行前 24 小時先予斷水斷食，採精時以 10% 安耐寧 S (Balanzine; Xylazine 10%, 100 mg/mL, 臺灣) 與舒泰 50 (Zoletil 50; Tiletamine base, 25 mg/mL and Zolazepam base, 25 mg/mL, France)，以 1:2 比例混合之麻醉劑每頭肌肉注射 3 mL，同時每頭肌肉注射 1 mL 阿托品 (Atropine; 1 mg/mL, 臺灣)。鎮靜保定後自頸靜脈採血，再以電激採精器 (Electroejaculator, EJ6CCGS, CGS Products PtyLtd., Australia) 進行電激採精牡鹿精液，待精液流出後以 15 mL 之離心管收集精液樣本，供精液性狀分析及後續試驗使用。

III. 統計分析精液性狀評估

新鮮精液進行下列各性狀評估。

- (i) 精液量 (semen volume)：公鹿所採集之精液原液以微量吸管進行精液量定量。
- (ii) 精子活力 (sperm motility)：各公鹿之精液樣品於採集 5 分鐘內，置於光學顯微鏡 (Nikon SE) 下，以懸滴六級計分法 (0-5) 判斷活力 (吳等, 2002)。
- (iii) 精液濃度 (semen concentration)：各公鹿精液樣本以 3% 生理食鹽水 (saline) 溶液稀釋 200 倍後，再以血球計數板置於正立顯微鏡下計算之。
- (v) 異常形態 (abnormal morphology)：利用苯胺黑 - 伊紅 (nigrosin-eosin, NE) 染色後，隨即使用顯微鏡予以評估 (Ax *et al.*, 2000)。異常形態精子可分為 3 種：1. 第一型形態異常 (primary abnormal morphology)：包括頭部與頭帽異常者；2. 第二型形態異常 (secondary abnormal morphology)：中部含有原生質滴者；3. 第三型形態異常 (tertiary abnormal morphology)：尾部具缺陷者。
- (vi) 精子存活率 (sperm viability)：利用苯胺黑 - 伊紅 (nigrosin-eosin, NE) 染色法評估，即將 5 μ L 原精液與 10 μ L NE 染色劑混合後做成抹片，並置於 37°C 30 秒使抹片儘速乾燥，再置於螢光顯微鏡下觀察，其中呈現紅色或粉紅色者表示為死亡之精子，評估至少 5 個視野內之精子以計算存活率。
- (vi) 睪丸周長 (或稱陰囊周長, scrotal circumference)：使用陰囊量尺 (Scrotal Tape Metric, Neogen, USA) 同時套住兩顆睪丸外圍之最大外徑後讀取數值。
- (vii) pH 值：以 pH meter (Sartorius, PT10 Portable Meter, Germany) 直接測量所採集精液之 pH 值。

IV. 血樣測定

採得血樣經短暫冷藏靜置後，於 5°C 下、以 1500 x g 離心 30 分鐘，以分離血清。分離後，血清分裝貯存於 -20°C 下，以備分析之用。血清睪固酮與雌素二醇濃度之分析採用酵素免疫分析法測定之 (睪固酮：Lot 640，雌素二醇：Lot 606，Immulite 2000 XPi, Siemens, USA)。

V. 血樣測定

試驗資料以統計分析系統 (Statistical Analysis System, SAS, 2005) 套裝軟體進行統計分析，使用一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure, GLM) 進行變方分析，再以最小平方均值 (Least Squares Means; LSM) 檢定相互間差異顯著性。

結果與討論

I. 睪固酮、雌素二醇與陰囊週長變化：

試驗結果顯示，牡臺灣梅花鹿之睪固酮平均濃度以 5 月時之 0.4 ± 0.1 ng/mL 為整年度最低值，之後逐漸上升至 11

月達到整年度最高值之 10.3 ± 4.8 ng/mL，且 10-11 月平均濃度顯著高於 3-7 月 ($P < 0.05$) (圖 1)。雌素二醇整年度最低值月份為 11 月之 147.6 ± 35.4 pg/mL，最高值為四月之 393.8 ± 42.1 pg/mL，且 2-6 月平均含量顯著高於 10-12 月 ($P < 0.05$) (圖 2)。血液中之睪固酮濃度於 10-11 月份間均呈現較穩定之高值；但 11 月時之雌素二醇則呈現整年度之最低值，雌素二醇濃度達最高值為四月份之解角期。陰囊周長於 9-11 月達到整年度明顯較大之周長值，分別為 20.7 ± 0.4 、 20.9 ± 0.3 與 20.4 ± 0.4 ，此時期也正好是睪固酮整年度較高時期；3-7 月則呈現明顯之較小周長值，分別為 16.7 ± 0.4 、 15.2 ± 0.6 、 14.6 ± 0.3 、 14.2 ± 0.2 與 15.5 ± 0.2 cm ($P < 0.05$) (圖 3)

睪固酮為雄性最重要的生殖內分泌素之一，試驗結果顯示 3-7 月間之平均濃度均不超過 1.3 ng/mL，至 8-9 月所有鹿隻之血清睪固酮濃度開始上升，於 10-11 月達到最高值，平均濃度超過 10 ng/mL，此後所有鹿隻之睪固酮均迅速下降 (圖 1)。加拿大地區之馬鹿 (Wapiti, American elk)，牡鹿之血液中睪固酮濃度於秋季時快速上升，4-5 週後睪固酮濃度達到最高值 (27 ng/mL) (Haigh *et al.*, 1984)。於南半球之黓鹿 (Fallow deer; *Dama dama*)，其血清中睪固酮濃度於夏季中開始上升，平均睪固酮濃度於 10-11 月最低 (< 1.0 ng/mL)，次年的 4 月中旬可達最大值 (> 12.0 ng/mL)，配種期結束後，睪固酮濃度會迅速下降，於 11 月會達到最低值 (< 1.0 ng/mL)，並以解角日為最低 (< 0.3 ng/mL) (Asher *et al.*, 1987)。一般溫帶鹿科動物，於茸角期間無法收集到含精子之精液樣本，係因此時期血液中睪固酮之濃度最低，睪固酮濃度高低，將影響輔性腺之功能。溫帶地區鹿種之精液量具有季節性變化，可能受季節光照影響，以致輔性腺功能下降，精液量最低時，均發生在睪丸組織退化之時間，可能原因為輔性腺之功能主要受睪固酮濃度高低所影響，當血液睪固酮濃度最低時，無法順利取得精液，即睪固酮濃度高低，將影響輔性腺之活性。

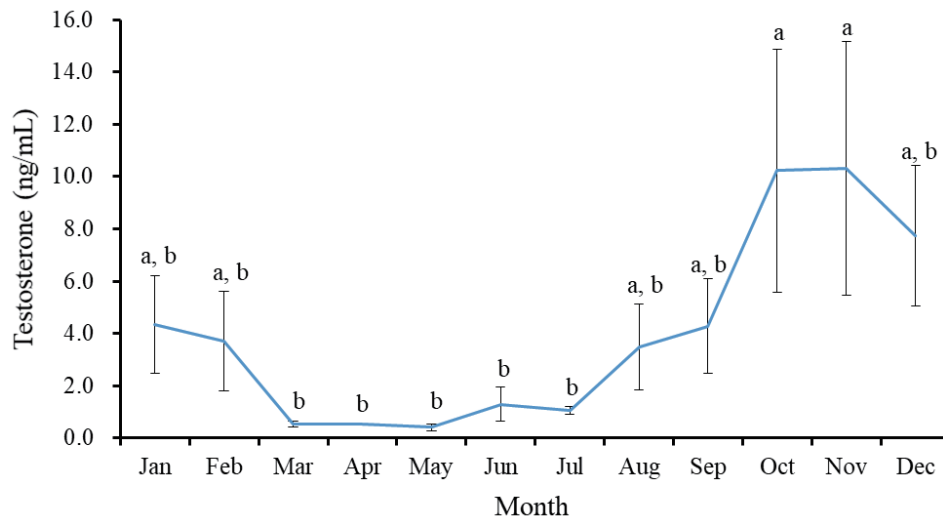


圖 1. 不同月份牡臺灣梅花鹿血液睪固酮變化。

Fig. 1. Changes of testosterone concentration of Formosan sika stag in different months.

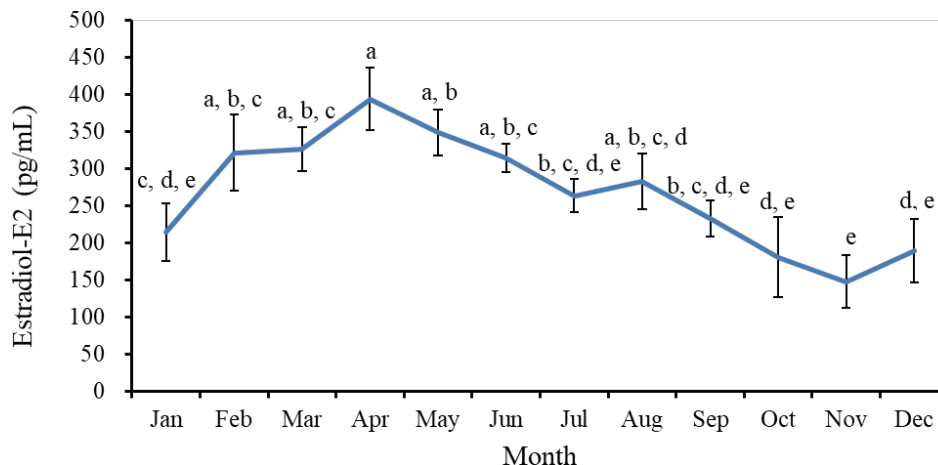


圖 2. 不同月份牡臺灣梅花鹿血液雌素二醇變化。

Fig. 2. Changes of estradiol concentration of Formosan sika stag in different months.

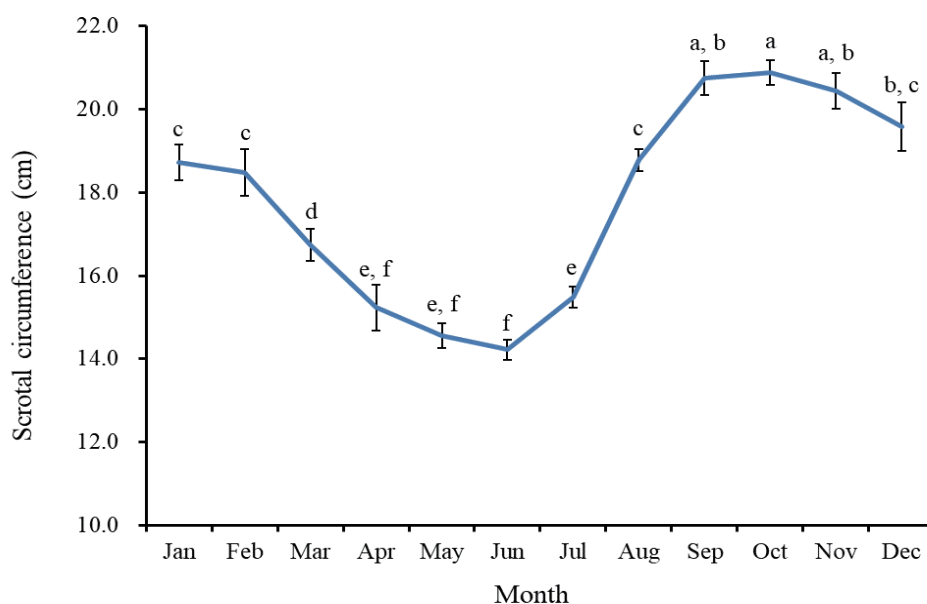


圖 3. 不同月份牡臺灣梅花鹿陰囊周長變化。

Fig. 3. Changes of scrotal circumference of Formosan sika stag in different months.

II. 液性狀評估：

應用電激採精法進行牡臺灣梅花鹿精液採集，所有牡梅花鹿在 3-8 月期間，皆未被採得精液，但於 1-2 月與 9-12 月期間會因個體差異影響採得精液。由表 1 結果顯示，統計 1-2 月與 9-12 月間 5 頭性成熟牡梅花鹿精液之各性狀平均數據為精液量 0.3 ± 0.2 mL、精子活力 4.0 ± 1.2 、精子濃度 $17.5 \pm 6.9 \times 10^8$ 精子數/mL、精子畸形率 $12.9 \pm 5.1\%$ 、精子存活率 $76.3 \pm 19.3\%$ 、睪丸周長 20.3 ± 1.2 cm 與 pH 值 7.2 ± 0.4 ；僅有一頭個體 (ID 04Q-0003) 之活力指數 (2.5 ± 1.2) 與存活率 ($49.5 \pm 24.6\%$) 皆低於其他個體，這說明公鹿個體間之精液品質具極大之差異性，相同之論述於王 (2003) 針對臺灣水鹿精液品質之研究中被證實。本研究所採集 5 頭公鹿之各項精液性狀中，其中 4 頭之冷凍精液製作重要指標如精子活力與存活率均甚佳；且鄭 (2006) 之研究亦顯示以電激採精法取得之臺灣山羊精液量及精子活力與濃度均顯著優於利用假陰道採精法者。因此，利用電激採精法採取梅花鹿精液為可行之策，且所得精液將可應用於後續試驗。大部分鹿隻的精液採集方式是麻醉或鎮靜後使用電激採精 (Asher *et al.*, 1993)。儘管使用麻醉對於供採精鹿隻仍有風險，但相較使用自然交配收集精液的方式，電激採精對操作者更為安全，且比起假陰道採精只能適用於少數受過訓練的動物，此方式可以用在鹿隻且更省時。

表 1. 牡臺灣梅花鹿於 1-2 月與 9-12 月之精液性狀 (Mean \pm SEM)

Table 1. The semen traits of individual Formosan sika stag (Mean \pm SEM)

Items	ID of individuals					Mean \pm SEM
	525	529	Q-09	04Q-0001	04Q-0003	
Month of semen Collection	Sep.- Feb.	Sep.- Nov.	Sep. - Nov.	Sep.- Feb.	Sep. - Dec.	
Number of semen Collection	6	3	3	6	4	
Semen volume (mL)	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2
Sperm motility (0-5)	3.8 ± 1.1	4.7 ± 0.5	4.3 ± 1.1	4.5 ± 0.8	2.5 ± 1.2	4.0 ± 1.2
Semen concentration ($\times 10^8$ /mL)	18.9 ± 6.8	17.3 ± 10.2	15.6 ± 5.3	18.7 ± 8.1	15.4 ± 6.2	17.5 ± 6.9
Abnormal morphology (%)	10.0 ± 3.7	10.2 ± 1.2	15.5 ± 9.5	14.3 ± 5.4	15.3 ± 2.6	12.9 ± 5.1
Sperm viability (%)	80.0 ± 13.6	84.5 ± 3.9	74.8 ± 21.1	87.0 ± 8.1	49.5 ± 24.6	76.3 ± 19.3
Scrotal circumference (cm)	21.0 ± 0.8	21.0 ± 0.4	21.2 ± 0.3	19.3 ± 11.1	19.4 ± 1.0	20.3 ± 1.2
pH	7.2 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.0 ± 0.2	7.3 ± 0.5	7.0 ± 0.2	7.2 ± 0.4

溫帶地區鹿種因當地特有的光照週期而表現出高度季節性繁殖模式 (Lincoln, 1985)，這對於採集精液及人工授精應用這兩方面都構成了重大的限制，例如紅鹿和黴鹿此類的雄性鹿種睪丸大小與功能，呈現生殖期和不育期交替現象與戲劇性變化 (Asher *et al.*, 1987, 1996)，此現象反應於季節性變化的精液特徵，在春夏季鹿茸時期精液完全沒有精子，從而發生精子生成缺乏症，嚴重限制採集精液的機會，通常必須在秋季發情後立刻採精，或於繁殖季節中進行收集，然而這段期間牡鹿具強烈攻擊性，易對操作者形成安全疑慮。此外，季節性繁殖的進一步限制是人工授精時機與最佳化受孕率有關，溫帶雌性物種在春季和夏季出現明顯的乏情期，且到秋天開始發情前，普遍對發情同期化處理不會有排卵反應 (Morrow *et al.*, 1992)。因此，大部分的人工授精只得在發情中或後期執行 (Asher *et al.*, 1993)。Lincoln and Short (1980) 指出季節繁殖週期的產生，是溫帶與北極鹿種受到光照改變，進而影響其內源性機制誘導作用，大多數鹿種開始交配的行為在日光逐漸減少的夏末與秋季即為如此。

綜合前述結果，顯示牡臺灣梅花鹿血清睪固酮濃度與陰囊周長之季節性變化具有一致性，在睪固酮濃度下降至最低後解角長茸，8 月開始上升後硬角，且可應用電激採精法於繁殖季節採集到精液。

參考文獻

- 王俊強。2003。牡臺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、鄭豐邦。2002。畜養牡臺灣梅花鹿及牡臺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。臺灣獸醫誌 28：204-210。
- 鄭鈞尹。2006。臺灣山羌之睪丸活動性與茸角週期之研究。屏東科技大學畜產學系。碩士論文。
- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. Love, D. D. Varner, B. Hafez, and M. E. Bellin. 2000. Semen evaluation. pp. 365-375. In: *Reproduction in farm animals*. Hafez, E. S. E. and B. Hafez (eds.) Lippincott Williams & Wilkins, South Carolina, USA.
- Asher, G. W., D. K. Berg, and G. Evans. 2000. Storage of semen and artificial insemination in deer. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 195-211.
- Asher, G. W., D. K. Berg, S. Beaumont, C. J. Morrow, K. T. O'Neill, and M. W. Fisher. 1996. Comparison of seasonal changes in reproduction parameters of adult male European fallow deer (*Dama dama*) and hybrid Mesopotamian \times European fallow deer (*D. d. mesopotamica* \times *D. d. dama*). *Anim. Reprod. Sci.* 45: 201-215.
- Asher, G. W., M. W. Fisher, P. F. Fennessy, C. G. Mackintosh, H. N. Jabbour, and C. J. Morrow. 1993. Oestrous synchronization, semen collection and artificial insemination of farmed red deer (*Cervus elaphus*) and fallow deer (*Dama dama*). *Anim. Reprod. Sci.* 33: 241-265.
- Asher, G. W., A. M. Day, and G. K. Barrell. 1987. Annual cycle of liveweight and reproduction changes of farmed male fallow deer (*Dama dama*) and the effect of daily oral administration of melatonin in summer on the attainment of seasonal fertility. *J. Reprod. Fertil.* 79: 353-362.
- Dahlan, L., and J. Dawend. 2013. Growth and reproductive performance of sambar deer in Sabal Forest Reserve of Sarawak, Malaysia. *Trop. Anim. Health Prod.* 45: 1469-1476.
- Haigh, J. C., W. F. Cates, G. J. Glover, and N. C. Rawlings. 1984. Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapiti (*Cervus elaphus*). *J. Reprod. Fertil.* 70: 413-418.
- Hata, A., R. Nakashita, T. Anezaki, M. Minami, Y. Fukue, N. Higuchi, H. Uno, Y. Nakajima, M. Saeki, C. Kozakai, and M. B. Takada. 2021. Agricultural crop consumption induces precocious maturity in deer by improving physical and reproductive performance. *Ecosphere* 12: 1-13.
- Jackson, G. L., H. T. Jansen, D. E. Kuehl, and R. D. Shanks. 1989. Time of the sidereal affects responsiveness to the phase-resetting effects of photoperiod in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 85: 221-227.
- Liu, B. T., S. P. Cheng, M. C. Huang, and Y. L. Yu. 2002. Serum progesterone changes in luteal cyclicity and duration of estrous cycle in Formosan sika deer (*Cervus nippon taiouanus*). *Zool. Sci.* 19: 1033-1037.
- Lincoln, G. A. 1985. Seasonal breeding in deer. In: Fennessy, P. F., Drew, K. R. (Eds.), *The Biology of Deer Production*. Bulletin No. 22, Royal Society of New Zealand, Wellington, pp. 165-179.
- Lincoln, G. A., and Short, R. V. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Prog. Horm. Res.* 36: 1-52.
- Morrow, C. J., G. W. Asher, J. F. Smith, H. N. Jabbour, R. C. Mulley, and L. M. McLeay. 1992. Seasonal effects on the efficacy of intravaginal CIDR devices for oestrous synchronization of farmed fallow deer (*Dama dama*). *Proc. N. Z.*

Soc. Anim. Prod. 52: 165-169.

SAS Institute. 2005. SAS/STAT Guide for personal computers. Ver. 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Suzuki, M. 1993. Reproductive characteristics and morphology of accessory corpora lutea in sika deer in Hokkaido. In *Deer of China* (eds.) N. Ohtaishi, and H. I. Sheng, pp. 356-363. Elsevier Science Publishers. BV, Netherlands.

Effects of the seasonal changes in reproductive performances of Formosan sika stag ⁽¹⁾

Hsin-Hung Lin ⁽²⁾ Ting-Yung Kuo ⁽³⁾ Shann-Ren Kang ⁽²⁾ Shen-Chang Chang ⁽²⁾
and Jenn-Rong Yang ⁽³⁾⁽⁴⁾

Received: Apr. 19, 2023; Accepted: Oct. 13, 2023

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the seasonal changes of reproductive performances including reproductive endocrine, scrotal circumference, semen traits, and to improve the reproductive efficiency of elite breeds of Formosan sika stag. Five healthy and sexually matured males of Formosan sika stag selected for the experiment. The semen samples collected by electric stimulation and jugular vein blood sampling once a month. The results showed that the highest testosterone concentration was 10.3 ± 4.8 ng/mL at Nov., and the value from Oct. to Nov. significantly higher than Mar. to Jul. ($P < 0.05$). The highest estradiol concentration was 393.8 ± 42.1 pg/mL at Apr., and the value from Feb. to Jun. significantly higher than Oct. to Dec. ($P < 0.05$). The scrotal circumference reached the largest average value from Sep. to Nov. in the whole year, and significantly greater than Mar. to Jul. ($P < 0.05$). The average data of semen properties from Sep. to Feb. were that the semen volume 0.3 ± 0.2 mL, sperm motility 4.0 ± 1.2 , semen concentration $17.5 \pm 6.9 \times 10^8$ sperm/mL, abnormal morphology $12.9 \pm 5.1\%$, sperm viability $76.3 \pm 19.3\%$, scrotal circumference 20.3 ± 1.2 cm and pH 7.2 ± 0.4 . In conclusion, the reproductive endocrine concentration and scrotal circumference were consistent with seasonal changes, and the semen could be collected during the breeding season only in Formosan sika stag. According to the results, these can be used as a reference for Formosan sika stag breeding.

Key Words : Formosan sika stag, Reproductive performances, Semen.

(1) Contribution No. 2767 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: jryang@mail.tlri.gov.tw