

台灣水牛精液性狀之季節性變化⁽¹⁾

魏良原⁽²⁾⁽⁴⁾ 劉炳燦⁽³⁾ 賈玉祥⁽²⁾

收件日期：94 年 9 月 6 日；接受日期：94 年 11 月 4 日

摘 要

本試驗旨在建立台灣水牛精液性狀之季節性變化與資料，作為冷凍精液製作之參考與製作季節選擇之依據。圈飼於花蓮地區（北緯23° 59'，東經121° 36'）之水牛3頭，以假陰道收集精液樣本，每週一回，每回收集兩次，間隔30分鐘，試驗為期一年。結果顯示，試驗期間，其精液性狀依次為精液量： $2.0 \pm 0.5\text{mL}$ 、精子濃度： $1.4 \pm 0.3 \times 10^9 \text{ sperms/mL}$ 、泳動性評分： 4.6 ± 0.4 、精子活動力： $82.2 \pm 6.0\%$ 、精子畸形率： $7.0 \pm 1.5\%$ 、死精子率： $8.8 \pm 3.2\%$ 、pH值： 6.6 ± 0.1 。秋、冬季之精子濃度均顯著高於春、夏季（分別為 $1.5 \pm 0.3 \times 10^9$, $1.5 \pm 0.3 \times 10^9 \text{ sperms/mL}$ vs. $1.2 \pm 0.4 \times 10^9$, $1.3 \pm 0.2 \times 10^7 \text{ sperms/mL}$, $P < 0.05$ ）。冬季之精子活動力達全年之最高值（ $85.7 \pm 4.6\%$ ），並顯著（ $P < 0.05$ ）優於春（ $82.0 \pm 4.2\%$ ）、秋（ $78.8 \pm 8.1\%$ ）與夏季（ $82.1 \pm 3.5\%$ ）。夏季之死精子率為最高值（ $10.3 \pm 4.2\%$ ），亦顯著（ $P < 0.05$ ）高於其餘季節。而精液量、精子泳動性評分、精子畸形率和pH值等測量值，於各季節間均無顯著差異。間隔二次之精液收集，其精液性狀之各項測量值間，除射精量以第一次射精顯著較第二次多（ 2.1 ± 0.6 vs. $1.9 \pm 0.4 \text{ mL}$, $P < 0.05$ ）之外，其餘性狀皆無顯著差異。試驗結果顯示，台灣水牛精液以冬季之精子活動力和精子濃度等精液性狀為最佳，可於該季節進行精液冷凍保存作業。

關鍵詞：台灣水牛、精液性狀、季節性。

緒 言

季節影響公水牛性慾（Mandal *et al.*, 2000），亦影響精液品質及精子抗凍能力（Sansone *et al.*, 2000）。許多研究顯示，較熱的季節對精子型態（Ahmad *et al.*, 1987; Chacon *et al.*, 1999; Mandal *et al.*, 2000）、活動力（Mandal *et al.*, 2000）、精子抗凍能力（Bahga and Khokar, 1991）等精液性狀有不利之影響。亦有部份研究認為季節對精液品質無影響（Wideus and Hammond, 1993; Brito *et al.*, 2002）。不同地區因動物飼養管理條件、及對環境適應性不同，以致不同研究顯示不同的季節效應對精液性狀造成的影響，其結果不一致。冷凍保存台灣水牛精液，旨在保護珍貴的畜產資源，保存數量並不

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1301號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(3) 國立屏東科技大學畜產系。

(4) 通訊作者：E-mail: lywei@mail.tlri.gov.tw。

多，有別於需量產的商業化生產，因此，可選擇較適當的季節進行保存，以維精液品質。本試驗目的係經由調查台灣水牛全年度精液性狀的季節性變化，瞭解各季節精液品質，當作冷凍精液製作之適當時間參考與選擇製作季節之依據，以確保冷凍精液品質。

材料與方法

I. 試驗動物與樣品處理

飼養於行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場（23.59° N；121.36° E）之三歲以上台灣水牛3頭，圈飼於個別牛欄（5M × 5M），無水浴設備，於牛欄角落上方提供滴水設施供其散熱，飲水、礦鹽（block salt）與乾草任食，每日並補充肉牛精料2公斤（上午08:00及下午15:00各1公斤）。於試驗開始前三個月，經人工採精訓練，待公牛已習慣人工採精方式後，方進行試驗。精液以假陰道（artificial vagina）採集，於每週三當日每頭連續採集精液2次，每次間隔30分鐘以上（Sansone *et al.*, 2000）。採精之前，將假陰道組合後，於外套管與內襯間灌注溫水，使內腔溫度調整至39~41℃（Sansone *et al.*, 2000），置於恆溫箱中保溫備用，採精前取出假陰道，套上保溫套避免溫度突然下降影響精子活力。採集後的樣品置於數位式乾浴加熱器（digital dry bath incubator），維持37.5℃，以備檢測精液品質。

II. 季節分組

試驗期間自2003年8月7日至2004年7月28日止。季節依立春（Beginning of Spring）、立夏（Beginning of Summer）、立秋（Beginning of Autumn）、立冬（Beginning of winter）四個節氣劃分。

III. 牛舍環境溫溼度指數之監測

試驗期間於採樣日上午9:00記錄牛舍環境溫度、相對溼度。溫溼度指數（temperature-humidity index, THI）則依照下列公式計算（Madler *et al.*, 1999）：

$$THI = 0.8 \times T + RH (T - 14.3) + 46.3$$

T：Dry bulb temperature (°C)

RH：Relative humidity (%)

IV. 新鮮精液檢查項目

(I) 精液量 (semen volume, mL)

以具有刻度的集精管，裝置於假陰道末端，採集公牛射精的精液後，可直接目測射精量。

(II) 精子濃度 (sperm concentration, sperms/mL)

將原精液以3%NaCl稀釋200倍，溫和攪拌2分鐘，使混合均勻，吸取稀釋200倍之精液流入蓋玻片，和血球計數板（improved Neubauer haemocytometer）間之空間而充滿計數室，於水氣飽和的密閉盒中靜置10~15分鐘，以200×~400×顯微鏡鏡檢，計算計數板上方格區的精子數，方格內精子數小於10，計算全部方格；方格內精子數介於10~40間，計算10個方格；方格內精子數大於40，則計算4個角落及中央共5個方格區的精子數，5個方格區內的精子數乘以10⁷即每mL精液所含精子數（Nafa and Eshre-Siga, 2002）。

(III) 精子泳動評分 (mass activity score, 0~5scale)

依Ax *et al.* (2000)所述，給予0~5之評分。

(IV) 精子活動力 (motility, %)

每樣品二重複，以生理食鹽水稀釋原精液 200 倍後，如計算精液濃度之方法，在血球計數板上計算 5 個方格內不活動的精子數 (A)，再將原精液以 3%NaCl 稀釋後，計算精液濃度所得的值為 (B)，則 $(B-A)/B \times 100\%$ 即為精子活動力 (姜, 1977)。

(V) 死精子率 (percentage of dead spermatozoa, %)

原精液以 eosin-nigrosin (eosin-Y 11.1 mg plus nigrosin 66.7 mg/mL distilled water; Sigma) 活體染劑進行染色，製成抹片 2 片，快速風乾並存放於乾燥皿中待測，於顯微鏡下以 400 倍觀察，每 1 抹片計算 500 隻精子。

(VI) 精子畸形率 (percentage of abnormal spermatozoa, %)

以活體染色法 (eosin-nigrosin staining technique) 製備 2 片抹片，快速風乾並存放於乾燥皿中待測，於 400 倍顯微鏡下，每一抹片觀察至少 200 個精子。而精子型態上之缺陷，依 Ax *et al.* (2000) 所述區分之。

(VII) pH 值

以 pH meter 直接測量之。

VI. 統計分析

試驗結果之各項數值，均以平均值±標準機差 (Mean ± Standard error of mean, M ± SEM) 表示之。試驗所得之精液性狀數據中，季節性差異的顯著性，以套裝統計軟體 SPSS 10.0 (Statistical products and services solutions) 之一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure, GLM) 進行統計分析，而以鄧肯氏新多變域測定法 (Duncan's new multiple range test) 比較；兩次採集間的差異顯著性，以成對 t 值測驗 (Paired t test) 比較之。

結果與討論

環境溫溼度指數 (THI) 可視為熱緊迫程度的指標，72 是一個分界點，72 以下的環境是舒適的；72 到 78 的環境還算溫和的熱緊迫；78 到 89 的環境屬於中度熱緊迫；89 以上則是非常嚴重的熱緊迫環境 (Wiresma, 1990)。本試驗期間自 2003 年 8 月至 2004 年 7 月，即自秋季起至次年的夏季止，四季之 THI 分別為 79、66、68 及 82 (如表 1)，以夏、秋兩季極顯著 ($P < 0.01$) 高於春、冬兩季，顯示花蓮地區全年度有兩個季節於上午九點時即處於中度熱緊迫的狀況下。於此期間，共採集 3 頭台灣水牛的 274 個精液樣品進行新鮮精液性狀測定，各性狀之結果如下。

表 1. 試驗期間各季節之畜舍平均溫度、相對溼度及 THI 值

Table 1. The THI index, temperature and relative humidity of four seasons during experiment

	Autumn	Winter	Spring	Summer
Temperature humidity index	79.1 ± 5.1 ^a	65.8 ± 7.7 ^b	68.5 ± 4.6 ^b	82.1 ± 2.2 ^a
Temperature (°C)	28.0 ± 3.2 ^a	19.2 ± 3.4 ^b	20.9 ± 3.1 ^b	30.2 ± 1.9 ^a
Relative humidity (RH, %)	73.4 ± 9.0 ^x	81.3 ± 7.5 ^y	80.7 ± 9.2 ^{xy}	76.3 ± 9.9 ^{xy}

^{x,y} Means with the different superscript in the same row differ significantly ($P < 0.05$).

^{a,b} Means with the different superscript in the same row differ significantly ($P < 0.01$).

I. 精液量及精子濃度

台灣水牛全年度精液量及精子濃度之平均值分別為 2.0 ± 0.5 mL 及 $1.4 \pm 0.3 \times 10^9$ /mL (表2)。*Goldon* (1996) 指出, 沼澤型與河川型水牛的精液量分別為 2~4 與 3~5 mL; 馬來西亞地區的沼澤型水牛, 於不同年齡之精液量及精子濃度分別介於 1.5~3.7 mL 及 $0.6\sim 2.5 \times 10^9$ /mL 之間 (*Nordin et al.*, 1990)。上述研究結果皆與本試驗相符; 亦與李等 (1986) 與 *Mathias and Yusuf* (1985) 分別調查台灣及印尼地區沼澤型水牛精子濃度的研究報告相近 (1.5×10^9 /mL 及 1.1×10^9 /mL)。

試驗期間, 同日而間隔 30 分鐘的連續兩次採集間, 以第一次的精液量顯著高於第二次 (2.1 ± 0.6 vs. 1.9 ± 0.4 mL; $P < 0.05$, 表 2), 而精子濃度 (1.3 ± 0.3 及 $1.4 \pm 0.3 \times 10^9$ /mL, $P > 0.05$) 則無顯著差異 (如表2); 在其他水牛品種的研究中, 同日採集兩次時, 其精液量差異, 如 *Nili-Ravi* 水牛 (2.0 vs. 1.4 mL)、印尼沼澤型水牛 (1.8 ± 0.6 vs. 1.3 ± 0.6 mL)、*Murrah* 水牛 (3.17 ± 1.21 vs. 2.98 ± 0.97 mL) (*Wierzbowski et al.*, 1980; *Mathias and Yusuf*, 1985; *Verma et al.*, 1986) 與荷蘭牛 (8.16 vs. 7.31 mL) (*Everett and Bean*, 1982), 皆以第一次採集的精液量較高, 與本試驗結果亦有相同的趨勢。當採精頻率增加時, 相對減少採精間隔的時間, 導致精液量減少 (*Everett and Bean*, 1982), 由於本試驗每週僅採精一天, 同日的第一次採集精液時, 距上次採集時間已經有一週之間隔, 與第二次之間隔 30 分鐘相對較長的多, 使得第一次採集的精液量較高。*Mathias and Yusuf* (1985) 調查印尼沼澤型水牛的精子濃度時指出, 同日採精兩次之精子濃度相近, 而以第二次稍高 (1.0 ± 0.7 vs. $1.1 \pm 0.7 \times 10^9$ /mL), 與本試驗結果相符。

試驗期間之秋、冬、春及夏季間的精液量差異 (分別為 1.9 ± 0.4 、 2.0 ± 0.4 、 2.2 ± 0.5 及 2.2 ± 0.7 mL, $P > 0.05$, 表 3) 皆不顯著, 惟以春、夏兩季稍多於秋、冬兩季。各季節的精子濃度以秋、冬季顯著高於春、夏季 (分別為 $1.5 \pm 0.3 \times 10^9$, $1.5 \pm 0.3 \times 10^9$ sperms/mL vs. $1.2 \pm 0.4 \times 10^9$, $1.3 \pm 0.2 \times 10^9$ sperms/mL, $P < 0.05$, 表 3)。台灣水牛精液量的季節間差異雖不顯著, 與印度地區水牛之研究結果相似 (*Bahga and Khokar*, 1991), 惟其仍依秋、冬、春、夏之順序遞增, 可能因本試驗開始於 2003 年秋季, 於全年度試驗期間, 此季節變換的順序, 其參試牛隻年齡亦隨之增加, 致精液量有增加的趨勢。據 *Sansone et al.* (2000) 引述 *Vale et al.* (1994) 的研究指出, 精液量隨年齡而增加, 年輕的公水牛約 1~3mL, 較年長者可達 6mL。*Nordin et al.* (1990) 將馬來西亞地區沼澤型水牛依不同年齡區分為 29~32、33~41、42~53、54~65 及 65 月齡以上等 5 組, 各組之平均月齡差距皆小於 12 個月, 而其精液量分別為 1.5 ± 0.4 、 1.8 ± 0.6 、 2.1 ± 1.0 、 3.5 ± 0.4 及 3.7 ± 0.5 mL, 顯示 65 月齡以下的公牛, 其精液量在一年間即有約 0.3 mL 的增加。而本試驗的 3 頭參試牛隻其中 2 頭之年齡小於 65 月齡, 且開始的秋季與結束時的夏季, 期間相距近一年, 精液量之差異亦約 0.3 mL, 此與上述之試驗結果相近。每次射精之精子數於秋、冬、春及夏四季分別為 2.8 ± 0.9 、 2.9 ± 0.9 、 2.6 ± 1.0 及 $2.6 \pm 0.8 \times 10^9$ sperms/ejaculation, 季節間無顯著差異 ($P > 0.05$, 表 3), 由於春、夏兩季之精液量較秋、冬兩季多, 相對減低春、夏季的精子濃度。部份研究顯示較乾、熱的季節, 有降低精子濃度的趨勢 (*Cassady et al.*, 1953; *Mandal et al.*, 2000)。*Zarfar et al.* (1988) 研究巴基斯坦地區 *Nili-Ravi* 水牛之精液性狀則指出, 季節不影響精子濃度。上述研究顯示季節對精子濃度的影響因地區與品種之差異, 而有不同之結果。本試驗中以夏季上午九點之平均溫度及 THI 達全年度最高值, 分別為 30.2°C 及 82 (如表 1), 表示試驗動物所處之環境已達中度熱緊迫, 導致該季節之精子濃度顯著低於秋、冬兩季; 而秋季與春季之平均溫度及 THI 分別為 28.0 vs. 20.9°C 及 79 vs. 68 (如表 1), 然而, 秋季之精子濃度卻顯著高於春季, 顯示除季節性造成的環境微氣候改變之外, 仍有其他因素影響精子濃度, 如遺傳、營養、年齡及個別牛隻對環境的適應性 (*Zarfar et al.*, 1988; *Nordin et al.*, 1990)。季節為綜合之環境效應, 其變化除造成溫度、溼度、降雨量、日照長度等環境因子之不同, 除了直接影響動物外, 亦間接影響植物相、飼料品質甚至土壤、植物、動物三者間的交互關係。推測由於季節涵括的影響因素很多, 導致其對精子濃度之影響並不明確。

表 2. 水牛精液性狀於兩次採集間的變化

Table 2. Semen characteristics of water buffaloes in the 1st and 2nd collection*

Characteristics	1 st collection	2 nd collection	Average
n	47	47	
Semen volume (mL)	2.1 ± 0.6 ^a	1.9 ± 0.4 ^b	2.0 ± 0.5
Sperm concentration (×10 ⁹ /mL)	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.3	1.4 ± 0.3
Total sperms/ejaculate (×10 ⁹)	2.7 ± 0.9	2.6 ± 0.9	2.7 ± 0.9
Mass activity score (0-5 scale)	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.4	4.6 ± 0.4
Motility (%)	82.4 ± 5.2	81.9 ± 6.8	82.2 ± 6.0
Percentage of dead spermatozoa (%)	8.8 ± 3.2	8.8 ± 3.2	8.8 ± 3.2
Percentage of abnormal spermatozoa (%)	7.1 ± 1.4	7.0 ± 1.6	7.0 ± 1.5
pH	6.5 ± 0.1	6.6 ± 0.1	6.6 ± 0.1

*Interval between 1st and 2nd collection was 30min.

Mean ± SEM; SEM: SD of means of bull's collections in each week, 47 weeks collected in experiment period.

^{ab} Means with the different superscript in the same row differ significantly (P < 0.05) .

表 3. 水牛精液性狀於季節間的變化

Table 3. Seasonal variations in semen characteristics of water buffaloes

Characteristics	Autumn	Winter	Spring	Summer
Semen volume (mL)	1.9 ± 0.4 ¹	2.0 ± 0.4	2.2 ± 0.5	2.2 ± 0.7
Sperm concentration (×10 ⁹ /mL)	1.5 ± 0.3 ^b	1.5 ± 0.3 ^b	1.2 ± 0.4 ^a	1.3 ± 0.2 ^a
Total sperms/ejaculate (×10 ⁹)	2.8 ± 0.9	2.9 ± 0.9	2.6 ± 1.0	2.6 ± 0.8
Mass activity score (0~5scale)	4.5 ± 0.4	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.5	4.6 ± 0.3
Motility (%)	78.8 ± 8.1 ^b	85.7 ± 4.6 ^a	82.0 ± 4.2 ^b	82.1 ± 3.5 ^b
Percentage of dead spermatozoa (%)	8.5 ± 2.5 ^b	7.6 ± 2.8 ^b	8.4 ± 2.0 ^b	10.3 ± 4.2 ^a
Percentage of abnormal spermatozoa (%)	7.3 ± 1.8	6.8 ± 1.1	7.0 ± 1.6	7.1 ± 1.5
pH	6.5 ± 0.1	6.5 ± 0.1	6.6 ± 0.2	6.5 ± 0.1

¹ Mean ± SEM; SEM: SD of means of bull's collections in each week in different seasons.

^{ab} Means with the different superscript in the same row differ significantly (P < 0.05) .

II. 泳動性評分及精子活動力

台灣水牛全年度之泳動性評分及精子活動力之平均值分別為 4.6 ± 0.4 及 $82.2 \pm 6.0\%$ (如表2)。此二者於同日而兩次間隔 30 分鐘的第一、二次採集間 (4.6 ± 0.3 vs. 4.5 ± 0.4 ; 82.4 ± 5.2 vs. $81.9 \pm 6.8\%$, $P > 0.05$) 之差異皆不顯著。此結果與印尼沼澤型水牛 (2.2 ± 0.5 vs. 2.1 ± 0.8 ; 0~3 scale), 及越南 Murrah 水牛的精子活動力 (64.5 ± 5.5 vs. $65.9 \pm 5.9\%$) (Mathias and Yusuf, 1985; Verma *et al.*, 1986) 之研究結果有相同趨勢, 顯示同日兩次採集間的泳動性評分及精子活動力並無明顯差異。

秋、冬、春及夏等四個不同季節的泳動性評分 (4.5 ± 0.4 、 4.6 ± 0.3 、 4.5 ± 0.5 、 4.6 ± 0.3 , $P > 0.05$) 於各季節間差異不顯著 (如表3), 且平均評分皆在 4.5 以上, 顯示台灣水牛精子全年均具極佳的泳動性。李等 (1986) 曾對台灣水牛進行冷凍精液製作之研究, 結果亦指出, 試驗期間採得之精液樣品之泳動性評分皆為 5 分 (0~5scale)。Zarfar *et al.* (1988) 指出, 巴基斯坦地區的 Nili-Ravi 水牛之精子泳動性評分亦無季節間差異, 與本試驗有相同之結果。

各季節的精子活動力以冬季 ($85.7 \pm 4.6\%$) 顯著 ($P < 0.05$) 高於春 ($82.0 \pm 4.2\%$) 秋 ($78.8 \pm 8.1\%$) 與夏 ($82.1 \pm 3.5\%$) 季, 而春、秋及夏等三個季節間, 則無顯著差異。Chandra *et al.* (1999) 指出高溫環境對 Murrah 水牛精子活動力有不良之影響。Mandal *et al.* (2003) 研究印度地區 Murrah 水牛精子運動特性 (motion characteristics) 的季節性變化, 其結果顯示, 冬季的精子活動力, 為全年度最佳。本試驗期間秋、冬、春及夏等四季之 THI 值分別為 79、66、68 及 82 (如表1), 以冬季之平均 THI 值為全年度最低, 而該季節之精子活動力亦最高, 與上述 Mandal *et al.* (2003) 的報告有一致的結果。

III. 畸形率、死精子率及 pH 值

台灣水牛全年度的精子畸形率、死精子率及精液 pH 之平均值分別為 $7.0 \pm 1.5\%$ 、 $8.79 \pm 3.18\%$ 及 6.56 ± 0.14 (如表2)。Ahmad *et al.* (1987) 的研究指出, 水牛精子畸形率, 因飼養地區與品種的不同, 而有很大的差異。畸形率可低約 3~4% (Gill *et al.*, 1974), 到高達 26.8~32.8% (Guraya and Sidhu, 1976)。一般而言, 沼澤型、河川型水牛的精子畸形率分別約為 6~15% 及 2~14% (Jainudeen, 1986)。馬來西亞及印尼地區沼澤型水牛的畸形率分別為 10.3 及 12~15% (Avenell, 1982; Jainudeen *et al.*, 1981), 因該二地區全年之平均環境溫度皆高於本試驗進行的地區, 而較熱的環境溫度對精子型態有不利之影響 (Ahmad *et al.*, 1987; Chacon *et al.*, 1999; Mandal *et al.*, 2000), 致本試驗之結果稍低於上述二地區。台灣水牛精子之第一、二、三型畸形, 分別佔精子總畸形比率的 30、31、39%, 與印尼沼澤型水牛的不同類別的畸形所佔之比率 (35、30、35%) 相近 (Mathias and Yusuf, 1985)。在許多不同的研究中, 水牛精液的 pH 值多在 6.4~6.75 之間 (Kumar *et al.*, 1993; Sansone *et al.*, 2000), 此與本試驗之結果相符。

精子畸形率、死精子率及 pH 值於同日而間隔 30 分鐘的兩次採集間, 皆無顯著差異 (如表7), 此結果與印尼地區沼澤型水牛、越南地區 Murrah 水牛的研究結果 (Mathias and Yusuf, 1985; Verma *et al.*, 1986) 有相同之趨勢。

精子畸形率於秋、冬、春及夏季 (7.3 ± 1.8 、 6.8 ± 1.1 、 7.0 ± 1.6 及 $7.1 \pm 1.5\%$, $P > 0.05$) 間的差異不顯著 (如表3)。惟以秋季最高, 其次為夏季, 以冬季最低, 各季節間雖無顯著差異, 但以夏、秋兩季之平均值較高, 該二季節之 THI 值分別為 82 及 79, 顯示環境均已達中度熱緊迫之水準, 試驗年度中以八月之精子畸形率 (8.1%) 為最高, 七月次之 (8.0%) (如表4), 而該二個月之 THI 值 (皆為 84)、環境溫度 (分別為 31.0, 31.5°C) 亦為本試驗年度中 THI 值與環境溫度最高的二個月, 顯示較高環境溫度下, 精子畸形率可能有增加之趨勢。巴基斯坦 (30.7° N, 73.3° E) 的 Nili-Ravi 水牛, 精子畸形率以秋季最高 (Ahmad *et al.*, 1987), 而秋季畸形率較高, 可能因夏季高溫對

表 4. 水牛精液性狀於不同月份之變化
Table 4. The monthly variation of buffalo semen characteristics

Item	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul
Semen volume (mL)	1.8±0.1	1.9±0.1	1.8±0.3	1.8±0.5	2.2±0.3	2.0±0.1	2.3±0.3	2.1±0.2	2.2±0.7	1.9±0.3	2.1±0.7	2.3±0.5
Sperm concentration (×10 ⁹ /mL)	1.4±0.1	1.5±0.2	1.6±0.3	1.6±0.1	1.4±0.2	1.4±0.2	1.6±0.4	1.1±0.2	1.1±0.5	1.2±0.1	1.3±0.1	1.2±0.2
Total sperms/ejaculate (×10 ⁹)	2.4±0.2	2.8±0.4	2.8±0.9	2.7±0.9	2.9±0.4	2.7±0.4	2.8±0.9	2.2±0.5	2.5±0.9	2.3±0.2	2.6±0.7	2.7±0.5
Mass activity score (0~5scale)	4.6±0.1	4.5±0.1	4.4±0.5	4.6±0.3	4.5±0.2	4.7±0.1	4.6±0.2	4.4±0.4	4.6±0.4	4.9±0.1	4.5±0.2	4.4±0.3
Motility (%)	80.8±5.8	78.8±1.6	76.0±9.7	82.5±2.6	86.7±2.0	87.8±0.3	83.3±4.1	80.9±3.4	83.8±4.5	83.9±1.7	81.4±5.6	82.6±2.5
Percentage of dead spermatozoa (%)	7.4±1.4	7.7±2.1	9.5±1.6	8.2±1.7	8.2±4.0	6.0±1.2	7.8±0.7	9.1±1.7	8.8±4.3	7.0±2.2	11.5±3.4	11.6±5.0
Percentage of abnormal spermatozoa (%)	8.1±1.8	7.6±1.6	6.2±0.5	7.2±0.4	6.2±0.9	6.9±0.7	6.9±0.8	7.2±1.4	7.3±2.7	6.0±0.8	6.4±1.1	8.0±1.7
pH	6.6±0.1	6.5±0.1	6.5±0.1	6.5±0.1	6.6±0.1	6.5±0.1	6.6±0.1	6.6±0.1	6.7±0.4	6.5±0.1	6.5±0.1	6.5±0.1
Temperature humidity index	84	79	74	66	70	61	66	65	73	79	80	84
Average temperature (°C)	31.0	29.3	24.5	22.7	22.0	16.3	19.3	18.5	23.7	28.0	27.8	31.5

Means ± SEM; SEM: SD of means of bull's collections in each week in different months.

生精週期早期即有不利之影響 (Gupta *et al.*, 1978)，使得精子畸形率較高的時段，延續至秋季方才出現 (Ahmad *et al.*, 1987)。水牛精子生成時間約需38天 (Sharma and Gupta, 1980)，使得精子畸形率較高的現象，延續至秋季仍顯現。此與本試驗於秋季之精子畸形率最高之結果相符。

死精子率以夏季 ($10.31 \pm 4.19\%$) 顯著 ($P < 0.05$) 高於其他季節，且該季節之 THI 值與環境溫度 ($82, 30.2^{\circ}\text{C}$) (如表 1) 皆為各季節中最高者。此結果顯示較高的 THI 值與環境溫度可能增加死精子率。而春、秋及冬等三季 ($8.4 \pm 2.0\%$ 、 $8.5 \pm 2.5\%$ 及 $7.6 \pm 2.8\%$) 之間的死精子率，則無顯著差異 (如表 3)，而以冬季之死精子率為最低，且該季節為試驗年度的不同季節中，THI 值與環境溫度 ($65, 19.2^{\circ}\text{C}$) 最低之季節。Mandal *et al.* (2000) 的研究指出，印度地區 Murrah 水牛的活精子率以乾熱季顯著較低，顯示高環境溫度對精子存活率有不利之影響。精液之 pH 值於各季節間則無顯著差異 (表 3)。

結論與建議

本試驗結果顯示，台灣水牛精液性狀中，以冬季之精子活動力為最高，並顯著 ($P < 0.05$) 高於春、秋及夏季，而三個季節之間，則無顯著差異；且精子畸形率也以冬季時最低。秋、冬兩季之精子濃度均顯著 ($P < 0.05$) 高於春、夏季。夏季之死精子率最高，顯著地 ($P < 0.05$) 高於其餘季節，春、秋及冬等三季之間，則無顯著差異。而精液量、精子泳動力、精子畸形率和 pH 值等測量值，於各季節間均無顯著差異。間隔二次所收集之精液，其精液性狀之各項測量值間，除射精量以第一次射精顯著 ($P < 0.05$) 較第二次多之外，其餘性狀皆無顯著差異。綜合上述結果，台灣水牛精液以冬季之精子活動力和精子濃度等精液性狀為最佳，因此，台灣水牛冷凍精液之製作與保存以冬季進行較佳。

致 謝

本試驗承本場劉東原、曾賢二先生及盧春鳳小姐的協助，方使試驗得以順利完成，謹此致謝。

參考文獻

- 李善男、曾青雲、林慶雄。1986。不同稀釋液及處理方法對水牛冷凍精液受胎率之比較研究。畜產研究 19 (1)：23-29。
- 姜延年。1977。台灣本土山羊精液性狀之季節性變化。碩士論文，國立台灣大學，台北市。
- Ahmad, M., M. Latif and M. Ahmad. 1987. Morphological abnormalities of spermatozoa of Nili-Ravi buffalo. Buffalo J. 3 (2)：153-160.
- Avenell, J. A. 1982. Freezing of swamp buffalo semen and conception following insemination. Anim. Reprod. Sci. 5：141-144.
- 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. in: Reproduction in Farm Animals. eds. Hafez, E. S. E. and B. Hafez. Lippincott Williams & Willkins, South Carolina, USA. pp. 365-375.

- Bahga, C. S. and B. S. Khokar. 1991. Effect of different seasons on concentration of plasma luteinizing hormone and seminal quality vis-a-vis freezability of buffalo bulls. *Int J. Biometeorol* 35 (4) : 222-224.
- Brito, L. F. C., A. E. D. F. Silva, L. H. Rodrigues, F. V. Vieira, L. A. G. Deragon and J. P. Kastelic. 2002. Effect of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil. *Anim. Reprod. Sci.* 70 : 181-190.
- Cassady, R. B., R. M. Myers and J. G. Legates. 1953. The effect of exposure to high ambient temperature on spermatogenesis in dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 36 : 14.
- Chacon, J. E. Perez, E. Muller, L. Soderquist and H. Rodriguez-Martinez. 1999. Breeding soundness evaluation of extensively managed bulls in Costa Rica. *Theriogenology* 52 (2) : 221-231.
- Chandra, M. V. K. Srivastava and A. K. Shukla. 1999. Study of effect of temperature on semen quantity (volume) and quality (motility) using fuzzy approach. *Buffalo J.* 15 (1) : 105-113.
- Everett, R. W. and B. Bean. 1982. Environmental influences on sperm output. *J. Dairy Sci.* 65 : 1303-1310.
- Gill, R. S., P. C. Ganwar and O. P. Takkar. 1974. Seminal attributes in buffalo bulls as affected by different seasons. *Indian J. Anim. Sci.* 44 : 415-418.
- Goldon, I. 1996. Controlled reproduction in cattle and buffaloes. CBA International. UK. pp. 432-449.
- Gupta, H. C., M. C. S. Nair, S. G. Naik and R. K. Srivastava. 1978. Effect of age and season on certain seminal characteristics of surti buffalo bulls. *Indian J. Dairy Sci.* 31 : 245-252.
- Guraya, S. S. and K. S. Sidhu. 1976. Morphological, histological and biochemical observations in buffalo (*Bos bubalis*) spermatozoa. Proceedings of the 8th international congress of animal reproduction and artificial insemination. pp. 900-903.
- Jainudeen, M. R., T. A. Bongso and S. Dass. 1981. Semen characteristics of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.* 4 : 213-217.
- Jainudeen, M. R. 1986. Reproduction in the water buffalo. In: Current therapy in theriogenology, Philadelphia. pp. 443-449.
- Kumar, S., K. L. Sahin and G. S. Bistha. 1993. Cytomorphological characteristics of motile and static semen of buffalo bulls. *Buffalo J.* 9 (2) : 117-127.
- Madler, T. L., J. M. Dahlquist, G. L. Hahn and J. B. Gaughan. 1999. Shade and wind barrier effects on summertime feedlot cattle performance. *J. Anim. Sci.* 77 : 2065-2072.
- Mandal, D. K., P. K. Nagpaul and A. K. Gupta. 2000. Seasonal variation in seminal attributes and sexual behaviour of Murrah buffalo bulls. *Indian J. Dairy Sci.* 53 (4) : 278-283.
- Mandal, D. K., P. K. Nagpau and A. K. Gupta. 2003. Motion characteristics of Murrah buffalo bull spermatozoa in various seasons and its relationship with functional integrity of plasmallema. *Theriogenology* 60 : 349-358.
- Mathias, E. and T. L. Yusuf. 1985. Sperm morphology in the Indonesian swamp buffalo: a short note. *Buffalo J.* 1 : 89-91.
- Nafa and Eshre-Siga. 2002. Manual on basic semen analysis. From the World Wide Web: <http://www.ki.se/org/nafa/manual/Manual2002.pdf>
- Nordin, W., M. Hilmi and T. A. Bongso. 1990. Semen Characteristics related to Age in Growing Swamp Buffalo (*bubalus bubalis*). *Buffalo J.* 6 (2) : 161-166.

- Sansone, G., M. J. F. Natri and A. Fabbrocini. 2000. Storage of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. Anim. Reprod. Sci. 62 : 55-76.
- Sharma, A. K. and R. C. Gupta .1980. Duration of seminiferous epithelial cycle in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). Anim. Reprod. Sci. 3 : 217.
- Vale, W. G. 1994. Collection, processing and deep freezing of buffalo semen. Buffalo J. 10 : 65-72.
- Verma, R. P., M. C. Sharma, N. N. Pathak and C. X. Thin. 1986. Study on the sequence of ejaculates in relation to semen picture of river buffaloes (Murrah Bulls). Buffalo J. 2 : 141-145.
- Wideus, S and A. C. Hammond. 1993. Testicular, semen and blood parameters in adapted and non-adapted *Bos taurus* bulls in the semi-arid tropics. Theriogenology 40 : 345-355.
- Wierzbowski, S, M. Nozir, F. B. Hamblin and M. Shafi. 1980. Service ability and semen production of buffalo bulls. World Animal Review (FAO). 33 : 26-31.
- Wiresma, F. 1990. Department of Agricultural Engineering. The University of Arizona, Tucson.
- Zarfar, A. H., N. Ahmad and S. K. Shah. 1988. Effect of seasonal variation on semen production of Nili-Ravi buffalo bulls. Buffalo J. 4 (1) : 61-68.

Seasonal changes of semen characteristics in Taiwan water buffaloes (*Bubalus Bubalis*) ⁽¹⁾

Liang-Yuan Wei⁽²⁾⁽⁴⁾, Bing-Tsan Liu⁽³⁾ and Yu-Shine Jea⁽²⁾

Received : Sept. 6, 2005 ; Accepted : Nov. 4, 2005

Abstract

The objective of this experiment was to investigate the characteristics and seasonal changes of semen of Taiwan water buffaloes for determining a proper season for the frozen semen preparation. A total of three Taiwan water buffalo bulls kept in confinement in Hualien (23° 59' N, 121° 36' E) were used in the study for measurement of semen characteristics. Semen samples of 2 ejaculations were collected at 30-minute intervals with artificial vagina weekly throughout the year. Results of the semen characteristics were volume 2.0 ± 0.5 mL, concentration $1.4 \pm 0.3 \times 10^9$ /mL, mass activity score 4.6 ± 0.4 , motility $82.2 \pm 6.0\%$, percentage of abnormal spermatozoa $7.0 \pm 1.5\%$, percentage of dead spermatozoa $8.8 \pm 3.2\%$ and pH 6.6 ± 0.1 , respectively. The average sperm concentrations in autumn and winter were significantly higher than in spring and summer ($1.5 \pm 0.3 \times 10^9$, $1.5 \pm 0.3 \times 10^9$ vs. $1.2 \pm 0.4 \times 10^9$, $1.3 \pm 0.2 \times 10^9$ sperms/mL, $P < 0.05$). The sperm motility in winter ($85.7 \pm 4.6\%$) was significantly ($P < 0.05$) higher than in spring ($82.0 \pm 4.2\%$), autumn ($78.8 \pm 8.1\%$) and summer ($82.1 \pm 3.5\%$). The percentage of dead spermatozoa in summer ($10.3 \pm 4.2\%$) was significantly ($P < 0.05$) higher than the other seasons. There were no differences in semen volume, mass activity score, percentage of abnormal spermatozoa and pH value between seasons. The semen volume was significantly ($P < 0.05$) higher in 1st ejaculation than in 2nd (2.1 ± 0.6 vs. 1.9 ± 0.4 mL) ejaculation. The semen characteristics between 1st and 2nd ejaculation did not have any difference from each other. In conclusion, the sperm concentration and motility for Taiwan water buffalo bulls in winter were better than in summer season. Therefore, the semen collected in winter was more suitable for frozen semen preparation.

Key words : Taiwan water buffalo, Semen characteristics, Seasonal changes.

(1) Contribution No.1301 from Livestock Research Institute (LRI), Council of Agriculture (COA), Executive Yuan.

(2) Hualien Animal Propagation Station, COA-LRI, Hualien, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, R.O.C.

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