

荷蘭牛雙胎率與 freemartin DNA 檢測⁽¹⁾

林德育⁽²⁾ 楊德威⁽³⁾ 黃鈺嘉⁽²⁾⁽⁴⁾ 陳若菁⁽²⁾

吳明哲⁽²⁾

收件日期：94 年 10 月 20 日；接受日期：94 年 12 月 20 日

摘要

為探討台灣荷蘭牛雙胞胎率及驗證雄相雌性體（freemartin）DNA 檢測法，分析行政院農業委員會畜產試驗所乳牛群，自 1987 年至 2003 年分娩記錄，共計 1284 胎。其中雙胞胎率為 2.9%（37/1284），內含異性雙胞胎率 1.3%（17/1284）。異性雙胞胎的女牛於 1 歲齡左右以直腸觸診其生殖器官是否正常，在 17 頭異性雙胞胎的仔牛有 1 頭為正常個體（5.9%），該仔牛經生長發育後進行配種，並順利產下正常仔牛。以牛性別標記 AMX/Y 檢測該牛隻，並另外收集南部一家種牛場 3 胎異性雙胞胎仔牛血樣 DNA，結果確證該已產仔之雙胞胎母牛為雌性基因型，而 3 胎異性雙胞胎仔牛則皆帶有雄性基因型，這些仔牛判定為雄相雌性體。本試驗證實荷蘭乳牛雙胎率達 2.5% 以上。以牛性別標記 AMX/Y 鑑別雄相雌性體，為一簡易可靠的 DNA 分生檢測方法，檢測結果可提供酪農作為選留異性雙胞胎仔牛依據。

關鍵詞：牛、雙胞胎、雄相雌性體、遺傳標記。

緒言

牛為單胎動物，母牛產出雙胞胎仔牛的機率相當低，三胞胎或四胞胎的機率更是微乎其微。雙胞胎率（twinning rate）因品種、產次及季節有所差異，通常在夏季的月份裡有較高比率雙胞胎出生（Karlsen *et al.*, 2000; Johanson *et al.*, 2001）。大多數肉牛品種的雙胞胎率多低於 1%（Rutledge, 1975），但乳牛則有 2.5~5.8%，但隨產次增加則可能高達 10%（Komisarek and Dorynek, 2002）。雄相雌性體是指不同性別的孿生牛之中會有不育的雌性仔牛，在家畜中以牛最常見。水牛（Iannuzzi *et al.*, 2005）、綿羊（Smith *et al.*, 2000; Parkinson *et al.*, 2001）、山羊（Szatkowska *et al.*, 2004）及豬則不多見（Padula, 2005）。雄相雌性體的女牛在解剖學上具有不育的睪丸或卵巢，雄性生殖道發達，輸卵管與子宮角則非常萎縮，卵巢較小且發育不正常；在外觀上具雌性外表特徵與雌性外生殖器，但陰

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告 1305 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

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

蒂有時甚長且較大，常不易從外觀來鑑別（馬，1981）。導致雄相雌性體牛發生的原因目前尚無定論，但由於哺乳動物的性別分化上，雄性較雌性早，一般認為異性雙胞胎的雄性胎兒所分泌的雄性激素藉由與雌性胎兒相通的血管，進入雌性胎兒抑制其雌性生殖道的發育，使雌性胎兒的性腺向雄性發展。母牛懷孕 40 天後，胎盤膜間會發生融合現象（Mellor, 1969），此外，異性雙胞胎孿生牛之間經由血管有細胞交換的現象，使得胎兒間的體液與血液會彼此混合，造成兩頭胎兒的血液交換（Komisarek and Dorynek, 2002）。

雄相雌性體仔女牛初期從外觀不易判別，且其雄性孿生胎在出生前亦有可能因胚胎早期死亡而被母體吸收而僅產下單一雌性胎，所以單胎的女牛亦無法保證非雄相雌性體。因此，早期檢測出牛群中雄相雌性體也就更形重要。雄相雌性體可由觸診方式來檢查女牛生殖道是否發育正常，或直接以直徑 1.6 公分，長 12.5 公分的圓型平滑長管插入陰道探試，正常牛可整支插入，如為『雄相雌性體』的女牛則因生殖道發育不全僅能插入約 1/3。實驗室檢測方法是以染色體核型分析來進行鑑定個別牛，分析女牛的染色體核型是否同時存有 XX 與 XY 性染色體的嵌合現象（chimerism）來作鑑別（Eldridge and Blazak, 1977；Zhang *et al.*, 1994）。直接檢測 DNA 的技術被認為是最準確的方法，應用特定 DNA 片段來檢測該女牛 DNA 是否有嵌合的特性，取得該女牛基因組 DNA（genomic DNA）後，利用 Y 性染色體上的特異性引子（primers），經聚合酶反應（polymerase chain reaction）來增幅複製出性別關聯特定 DNA 片段，DNA 片段經電泳分析後染色呈像，即可判定該女牛是否為雄相雌性體（Ennis *et al.*, 1999）。

台灣氣候炎熱，荷蘭牛繁殖問題愈顯重要，迄今雙胞胎率的研究調查資料仍然有限。本研究由牛群繁殖資料分析統計著手，再試驗雄相雌性體的 DNA 檢測法，以提供一項簡易可靠的鑑別雄相雌性體的 DNA 分生檢測方法，作為酪農選留異性雙胞胎仔女牛的可靠輔助依據。

材料與方法

I. 雙胞胎率

分析行政院農業委員會畜產試驗所自 1987 年至 2003 年乳牛分娩記錄，共計 1284 胎，異性雙胞胎的女牛於 1 歲齡左右以直腸觸診其生殖器官是否正常，以計次方式分析雙胞胎率與異性雙胞胎率。

II. Freemartin DNA 檢測

(i) 血樣 DNA 來源

1. 採集台灣南部一家種牛場 338 頭荷蘭牛個體與 3 胎異性雙胞胎仔牛頸靜脈血樣。
2. 採集畜產試驗所已驗證具繁殖能力的異性雙胞胎雌性荷蘭牛頸靜脈血樣（該牛隻已正常生產一頭仔牛）。

(ii) DNA 萃取

取牛隻血樣 3~5 ml，以市售 DNA 萃取試劑組 Puregene™ DNA Isolation Kits（Gentra Systems, USA）萃取白血球 DNA。

(iii) 聚合酶連鎖反應

應用 Ennis and Gallagher（1994）所提出的性別標記引子組 AMX/Y，核苷酸引子序列分別為：

AMX/Y_F 5'- CAGCCAAACCTCCCTCTgC -3'

AMX/Y_R 5'- CCCgCTTggTCTTgTCTgTTgC -3'

聚合酶連鎖反應中，反應物添加濃度與添加量如表 1 所示。反應物添加於 0.2 ml 的微量管後滴入一滴礦物油，使礦物油在上避免水分蒸發。操作步驟均在外吹式無菌操作櫃進行。PCR 反應條件依序為 94°C 5 分鐘；再以 94°C 30 秒鐘、59 °C 30 秒、72°C 30 秒，共進行 35 次循環；最後為 72°C 5 分鐘。

(iv) 電泳、染色及判讀

取出 10 μ l PCR 產物加 2 μ l loading dye 與予混合，並以市售 100 base pair ladder 當 DNA 片段大小標記，於 Mupid II 電泳槽中使用 3.0% agarose gel 為介質，0.5X TBE buffer，100 伏特電壓，泳動 50 分鐘後，將 agarose gel 置入含 ethidium bromide 0.5X TBE buffer 中染色 20 分鐘後，利用紫外燈 (Spectroline, USA) 觀察電泳指印進行判讀。判讀之依據為雌性個體具 280 bp DNA 片段，雄性個體則具 217 bp 與 280 bp DNA 片段。

表1. 牛 Freemartin DNA 檢測之 PCR 反應物組成分

Table 1. Ingredients in PCR reaction mixture for bovine freemartin test

Ingredient	Concentration	Volumn
Polymerase Taq	5 U / μ l	0.3 μ l
Primer AMX/Y_F	10 pmole / μ l	1.0 μ l
Primer AMX/Y_R	10 pmole / μ l	1.0 μ l
DNTP	25 ng / μ l	1.0 μ l
10X PCR buffer		2.0 μ l
Distilled water		12.7 μ l
DNA template	100 ng / μ l	2.0 μ l
Total volume		20.0 μ l

結果與討論

1. 雙胞胎率分析

分析行政院農業委員會畜產試驗所自 1987 年至 2003 年乳牛分娩記錄，共計 1284 胎 (表 2)。其中雙胞胎率為 2.9% (37/1284)，異性雙胞胎率為 1.3% (17/1284)。Rutledge (1975) 彙整 1840 年至 1974 年不同品種牛的雙胞胎率文獻指出，大多數肉牛品種的雙胞胎率多低於 1%，也就是分娩 100 胎僅有 1 胎可能為雙胞胎，如布拉曼牛 (Brahman) 與聖達牛 (Santa Gertrudis) 的雙胞胎率分別為 0.2% 與 0.4%，白面牛 (Hereford)、短角牛 (Shorthorn) 及安格斯牛 (Angus) 的雙胞胎率分別為 0.4%、0.7% 及 1.1%；而在乳牛品種中，荷蘭牛與瑞士黃牛的雙胞胎率則分別為 3.4% 與 8.9%，顯示乳牛有較高的雙胞胎率；而由其引用的文獻資料顯示荷蘭牛雙胞胎率為 1.6~8.8%。Kinsel *et al.* (1998) 以北美 260 場乳牛場共 52,362 筆記錄評估乳牛雙胞胎率的危險因子，結果顯示雙胞胎率由 1983 年的 1.4% 至 1993 年的 2.4% 逐年呈穩定性增加，並隨著胎次而提高，由初產的 1.0% 增加至 5

產以上的 4.1% 以上；Johanson *et al.*(2001) 分析北美 National Association of Animal Breeders (NAAB) 母牛繁殖資料庫中，由 37,174 頭公牛與配的母牛分娩 1,324,678 胎的記錄，顯示雙胞胎率為 5.02%，係低遺傳率 (0.021~0.087)，公牛與配母牛的雙胞胎率範圍 1.6% ~ 8.0%，且隨著胎次而提高，由初產的 1.63% 增加至 5 產的 7.19%；乳牛有較高的雙胞胎率 (平均為 4~5%)，受母牛年齡與胎次影響甚巨，其範圍可從初產新母牛的 1% 隨產次增加到老母牛則可能高達 10% (Komisarek and Dorynek, 2002)。牛的雙胞胎率除在不同品種與產次有所差異外，不同季節亦有差異，通常在 4~5 月份裡有較高比率雙胞胎出生 (5.88%)，而在 10-12 月份則有 4.23% 較低的雙胞胎率 (Johanson *et al.*, 2001)。畜產試驗所荷蘭牛母牛群平均雙胞胎率為 2.9% 較 Kinsel *et al.*(1998) 報告的 2.4% 高，但雖較一般荷蘭牛 (3~5%) 低些，然而與已往的文獻有相似的結果，顯示台灣的溼熱環境可能對雙胞胎率影響不大。

表 2. 行政院農業委員會畜產試驗所諸年度的荷蘭乳牛雙胎率觀察

Table 2. Twinning rate of Holstein dairy cattle in past years of animal farm of LRI, COA¹

Year	Births	Twinning rate	Heterosexual twinning rate	Freemartin female calf	Normal female calf
1987	89	2.2(2/89)	0	0	2
1988	83	2.4(2/83)	0	0	2
1989	65	1.5(1/65)	0	0	2
1990	61	1.6(1/61)	1.6(1/61)	1	0
1991	71	1.4(1/71)	1.4(1/71)	1	0
1992	90	1.1(1/90)	1.1(1/90)	1	0
1993	70	1.4(1/70)	1.4(1/70)	1	0
1994	58	6.9(4/58)	5.2(3/58)	3	1
1995	84	5.9(5/84)	3.6(3/84)	3	2
1996	51	2.0(1/51)	0	0	1
1997	76	3.9(3/76)	0	0	3
1998	83	3.6(3/83)	1.2(1/83)	1	2
1999	73	4.1(3/73)	2.7(2/73)	2	1
2000	88	2.3(2/88)	1.1(1/88)	1	1
2001	84	4.8(4/84)	3.6(3/84)	3	1
2002	72	0	0	0	0
2003	86	3.5(3/86)	0	0	3
Total	1284	2.9(37/1284)	1.3(17/1284)	16	21

¹ LRI, COA: Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

在 Padula (2005) 的雄相雌性體專題檢閱中指出所有雙胞胎中，約有一半是異性雙胞胎，而異性雙胞胎的子女牛有 80-95% 為不育的雄相雌性體 (Marcum, 1974)，只有約 10% 之少數子女牛可能有生育能力。本試驗檢測之異性雙胞胎女牛，於 1 歲齡左右生殖器官直腸觸診結果，發現 17 頭異性雙胞胎的子女牛僅有 1 頭為正常個體，正常率為 5.9%，該子女牛經生長發育後進行配種，順利產下正常仔牛。Zhang *et al.* (1994) 以染色體核型分析 727 異性雙胞胎的女牛的血樣，有 82.5% (600/727) 為雄相雌性體；而 Buoen *et al.* (1992) 的報告則高達 92%。本試驗中異性雙胞胎的女牛有 94.1% 為雄相雌性體，較已知文獻平均值高，可能與收集的樣本較小有關。

II. 牛性別標記

牛雄相雌性體鑑定除早期發展出的陰道長度檢測法 (Marcum, 1974; Zhang *et al.*, 1994) 與染色體核型分析 (Zhang *et al.*, 1994) 外，應用性別特異性 DNA 序列結合聚合酶連鎖反應的分子生物檢測技術已陸續發展出可快速且準確地檢測出雄相雌性體的個體的方法 (Aasen and Medrano, 1990; Miller and Koopman, 1990; Ennis and Gallagher, 1994; Cavalieri and Farin, 1999; Ennis *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2001; Peippo *et al.*, 2002; Takagi *et al.*, 2005)。Aasen and Medrano (1990) 應用聚合酶連鎖反應以 ZFY/ZFX 引子組，分別由 X 染色體與 Y 染色體特定 DNA 序列增幅 DNA 片段 (445 bp)，由於由 Y 染色體特定 DNA 序列增幅的 DNA 片段有限制酶 *Pst*I 辨識截切序列，所以可被 *Pst*I 切成 344 bp 與 103 bp 兩個片段。因此，雄性牛與雄相雌性體牛可被檢出 3 條 DNA 片段 (445 bp, 344 bp 及 103 bp)，而正常雌性牛只有 1 條 DNA 片段 (445 bp) 被檢出。Schroder *et al.* (1990) 以 Y 染色體 BOV97M (Miller and Koopman, 1990) 特定 DNA 序列增幅 97 bp DNA 片段進行牛胚性別鑑定，雄性牛胚可增幅出 1 條 97 bp DNA 片段，而雌性牛胚則無此片段檢出。Olsaker *et al.* (1993) 應用兩組引子組進行雄相雌性體牛檢測，其中一組引子組 (BRY · 4a) 可由 Y 染色體特定 DNA 序列增幅出 469 bp DNA 片段，而另一組引子 (satellite sequence 1,709) 由雌性或雄性牛隻 DNA 都可增幅

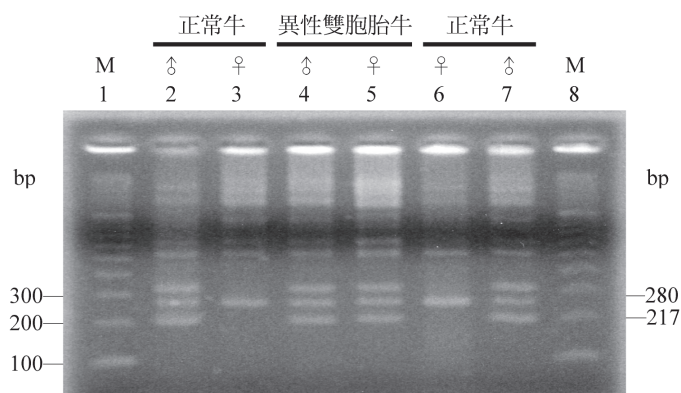


圖 1. 牛 AMX/Y 性別鑑定標記鑑別雄相雌性體之 DNA 檢測電泳樣態。Lane 1, 8 : 100 bp DNA ladder ; Lane 2, 7 : 正常雄性牛 ; Lane 3 : 正常雌性牛 ; Lane 4 : 異性雙胞胎雄性牛 ; Lane 5 : 異性雙胞胎雄相雌性體牛，Lane 6 : 異性雙胞胎正常雌性牛。

Fig. 1. Diagnosis of freemartinism by AMX/Y sex determination marker.

Lane 1, 8 100 bp ladder. Lane 2, 7 normal male genomic DNA. Lane 3 normal female DNA. Lane 4 heterosexual twin male DNA. Lane 5 heterosexual twin female DNA(freemartin). Lane 6 heterosexual twin female DNA(normal).

出 246 bp DNA 片段。Ennis and Gallagher (1994) 在發現牛隻 amelogenin 基因分為兩型分別位於 X 染色體 (class I) 與 Y 染色體 (class II)，這個基因在第 15 exon 序列中，amelogenin class II 較 amelogenin class I 少了 63 bp，因此設計了一組引子可以由雌性牛隻 DNA 增幅出 280 bp DNA 片段，而由雄性牛隻 DNA 增幅出 280 bp 與 217 bp DNA 片段，可直接進行牛隻公母鑑別，可避免 Schroder *et al.* (1990) 在檢測雌性個體時的誤判，且不需如 Olsaker *et al.* (1993) 還需搭配內部對照 (internal control)，更不需如 Aasen and Medrano (1990) 所研發結合限制酶切割法 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 進行牛隻性別鑑定。本試驗應用 Ennis and Gallagher (1994) 的引子組進行 338 頭荷蘭牛個體、3 胎異性雙胞胎仔牛、及已驗證具繁殖能力的異性雙胞胎雌性荷蘭牛 (該牛隻已正常生產一頭仔牛) 性別鑑定。結果顯示 338 頭荷蘭牛個體 DNA 檢測出的性別與實際性別完全符合，3 胎異性雙胞胎仔牛則皆帶有雄性基因型，這些仔牛均判定為雄相雌性體，而畜試所之經產異性雙胞胎的母牛，其 DNA 性別鑑定驗明為雌性 (圖 1)。

結論

本試驗分析行政院農業委員會畜產試驗所自 1987 年起 16 年的乳牛分娩記錄，顯示荷蘭牛雙胞胎率為 2.9%，異性雙胞胎率為 1.3%，異性雙胞胎率佔所有雙胞胎率的 45.9 %。AMX/Y 引子組確實可作為一快速且準確的性別鑑定標記，並且可作為雄相雌性體鑑定的有效標記。女牛是否為雄相雌性體困擾多時，尤其在產期調節的同期化發情技術使用下，亦有可能增加異性雙胞胎的機率，提高因胎盤血液相通而生產不孕女牛機會，所以酪農戶需更重視女牛的選育。因此，提供女牛繁殖基因診斷技術，不僅可區分異性雙胞胎的女牛是否為雄相雌性體，亦可確認新生仔牛有無雄性基因。女牛利用繁殖基因診斷技術後，可降低仔牛育成費與增加優質女牛選育率和母牛群繁殖效率。

誌謝

本試驗承行政院農業委員會畜產試驗所 93 年科技計畫「台灣牛與羊種原基因庫建立與遺傳監控」93 農科-3.1.3- 畜-L1 (2) 研究經費支持，行政院農業委員會畜產試驗所總所產業組同仁協助資料收集與遺傳育種組同仁協助樣品處理，特此誌謝。

參考文獻

- 馬春祥。1981。家畜育種學。pp. 80-81。國立編譯館，台北。
- Aasen, E. and J. F. Medrano. 1990. Amplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Biotechnology* 8(12): 1279-1281.
- Buon, L.C. T. Q. Zhang, A. F. Weber, M. R. Anderson and A. R. Ruth. 1992. The requirement of fibroblasts to confirm the identity of cytogenetic centric fusion (CF) carriers in same-sex twin cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4(2): 212-214.
- Cavalieri, J. and P. W. Farin. 1999. Birth of a Holstein freemartin calf co-twinning to a schistosomus reflexus fetus. *Theriogenology* 52(5): 815-826.
- Eldridge, F. E. and W. F. Blazak. 1977. Chromosomal analysis of fertile female heterosexual twins in cattle. *J. Dairy Sci.* 60(3): 458-463.

- Ennis, S. and T. F. Gallagher. 1994. A PCR-based sex-determination assay in cattle based on the bovine amelogenin locus. *Anim. Genet.* 25(6): 425-427.
- Ennis, S., L. Vaughan and T. F. Gallagher. 1999. The diagnosis of freemartinism in cattle using sex-specific DNA sequences. *Res. Vet. Sci.* 67(1): 111-112.
- Iannuzzi, L., G. P. Di Meo, A. Perucatti, F. Ciotola, D. Incarnato, R. Di Palo, V. Peretti, G. Campanile and L. Zicarelli. 2005. Freemartinism in river buffalo: clinical and cytogenetic observations. *Cytogenet. Genome Res.* 108(4): 355-358.
- Johanson, J. M., P. J. Bergert, B. W. Kirkpatrick and M. R. Dentine. 2001. Twinning rates for North American Holstein sires. *J. Dairy Sci.* 84(9): 2081-2088.
- Karlsen, A., J. Ruane, G. Klemetsdal and B. Heringstad. 2000. Twinning rate in Norwegian cattle: frequency, (co) variance components, and genetic trends. *J. Anim. Sci.* 78(1): 15-20.
- Kinsel, M. L., W. E. Marsh, P. L. Ruegg and W. G. Etherington. 1998. Risk Factors for Twinning in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81(4): 989-993.
- Komisarek J. and Z. Dorynek. 2002. Genetic aspects of twinning in cattle. *J. Appl. Genet.* 43(1): 55-68.
- Marcum, J. B. 1974. The freemartin syndrome. *Anim. Breed. Abstr.* 42: 227-241.
- Mellor, D. J. 1969. Chorionic fusion and the occurrence of freemartins: a brief review. *Brit. Vet. J.* 125: 442-444.
- Miller, J. R. and M. Koopman. 1990. Isolation and characterization of two male-specific DNA fragments from the bovine gene. *Anim. Genet.* 21(1): 77-82.
- Olsaker, I., C. B. Jorgensen, A. L. Hellemann, P. D. Thomsen and O. Lie. 1993. A fast and highly sensitive method for detecting freemartinism in bovine twins using immunomagnetic beads and Y-specific PCR primers. *Anim. Genet.* 24(4): 311-313.
- Padula, A. M. 2005. The freemartin syndrome: an update. *Anim. Reprod. Sci.* 87(1-2): 93-109.
- Park, J. H., J. H. Lee, K. M. Choi, S. Y. Joung, J. Y. Kim, G. M. Chung, D. I. Jin and K. S. Im. 2001. Rapid sexing of preimplantation bovine embryo using consecutive and multiplex polymerase chain reaction (PCR) with biopsied single blastomere. *Theriogenology* 55(9): 1843-1853.
- Parkinson, T. J., K. C. Smith, S. E. Long, J. A. Douthwaite, G. E. Mann and P. G. Knight. 2001. Interrelationships among gonadotrophins, reproductive steroids and inhibin in freemartin ewes. *Reproduction* 122(3): 397-409.
- Peippo, J., A. Farazmand, M. Kurkilahti, M. Markkula, P. K. Basrur and W. A. King. 2002. Sex-chromosome linked gene expression in in-vitro produced bovine embryos. *Mol. Hum. Reprod.* 8(10): 923-929.
- Rutledge J. J. 1975. Twinning in cattle. *J. Anim. Sci.* 40(5): 803-815.
- Schroder, A. J. R. Miller, P. D. Thomsen, K. Roschlau, B. Avery, P. H. Poulsen, M. Schmidt and M. Schwerin. 1990. Sex determination of bovine embryos using the polymerase chain reaction. *Anim. Biotech.* 1(2): 121-123.
- Smith, K. C., T. J. Parkinson, S. E. Long and F. J. Barr. 2000. Anatomical, cytogenetic and behavioural studies of freemartin ewes. *Vet. Rec.* 146(20): 574-578.
- Szatkowska, I., S. Zych, J. Udała, A. Dybus, P. Błaszczuk, P. Sysa and T. Dñbrowski. 2004. Freemartinism: Three Cases in Goats. *Acta Vet. Brno* 73: 375-378.

- Takagi, M., N. Yamagishi, K. Oboshi, S. Kageyama, H. Hirayama, A. Minamihashi, M. Sasaki and M. P. Wijayagunawardane. 2005. A female pseudohermaphrodite Holstein heifer with gonadal mosaicism. *Theriogenology* 63(1): 60-71.
- Zhang, T., L. C. Buoen, B. E. Seguin, G. R. Ruth and A. F. Weber. 1994. Diagnosis of freemartinism in cattle: the need for clinical and cytogenic evaluation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204(10): 1672-1675.

Twinning rate of Holsteins and freemartin DNA diagnosis in Taiwan ⁽¹⁾

Der-Yuh Lin ⁽²⁾, Der-Wei Yang ⁽³⁾, Yu-Chia Huang ^{(2) (4)}, Jo-Ching Chen ⁽²⁾ and Ming-Dhe Wu ⁽²⁾

Received : Oct. 20, 2005 ; Accepted : Dec. 20, 2005

Abstract

The objective of this study was to investigate the frequency of twinning rate of Holsteins and to test the reliability of DNA freemartin diagnosis in Taiwan. A total of 1284 reproductive records in Livestock Research Institute, Council of Agriculture from 1987 to 2003 were analyzed. The twinning rate and heterozygous twinning rate were 2.9% (37/1284) and 1.3% (17/1284), respectively. Rectal palpation to diagnose freemartins was held at about one year old of age for the heterozygous twins. Only one heifer was normal in these 17 heterozygous twins. Tracing breeding records, the "normal heifer" grew up as a normal cow and eventually gave birth to a calf at last. There were four set of blood samples applied for the reliability of DNA test, including the "normal heifer's" and three other heterozygous twins parturition on a dairy farm in southern Taiwan. AMX/Y was selected as sexing genetic marker to identify genotypes of these animals. Results proved that the genotype of the "normal heifer" was a normal female, but the other three heterosexual twins had male genotypes. Results from this study indicated that twinning rate of Taiwan Holsteins was higher than 2.5% and DNA test result showed that AMX/Y genetic marker was a simple technique for diagnosis of freemartin in dairy cows.

Key words: Cattle, Twinning, Freemartin, Genetic marker.

(1) Contribution No.1305 From Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Division of Breeding and Genetics, COA-LRI Hsinhua, Tainan, Taiwan, R.O.C.

(3) Animal Industry Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan, ROC.

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