

台灣水牛在動情週期、懷孕期及產後45天期間之血清孕酮濃度變化⁽¹⁾

林正鏞⁽²⁾⁽⁵⁾ 黃志銓⁽²⁾ 吳兩新⁽³⁾ 魏良原⁽⁴⁾ 郭曉芸⁽²⁾

收件日期：97年7月4日；接受日期：97年10月9日

摘要

本試驗旨在探討台灣母水牛於動情週期、懷孕期及分娩後 45 天之血清孕酮（progesterone, P₄）濃度變化，供為懷孕早期診斷及產後回復發情等之判定，並作為母水牛在繁殖配種及飼養管理等之參考。試驗使用不同年齡之母水牛 16 頭，分別於涼季（2 月，n=10）及熱季（8 月，n=6）連續測定 2 個動情週期中 D0、D3、D7、D10、D14、D17 及 D20 之血清 P₄ 濃度（發情第一日為 D0）。另外，涼季之母水牛於第三個動情週期以公牛進行自然配種，並每星期採血一次，以測定在懷孕期及分娩後 45 天之血清 P₄ 濃度。結果顯示，隨著動情週期之進行，血清 P₄ 濃度亦隨之提高，並持續至 D14 達高峰，而於 D17 後 P₄ 濃度即迅速下降，且在 D7 至 D14 間之血清 P₄ 濃度以涼季者顯著較熱季者為高（P < 0.05）。配種懷孕之母水牛，其血清 P₄ 濃度於 D14 後持續維持在動情週期之高峰濃度，在大多數母水牛懷孕早期（懷孕 63 日內）之血清 P₄ 濃度均在 1.5 ng/mL 以上，而未懷孕之母水牛 D20 的血清 P₄ 濃度則下降至 0.85 ng/mL 以下。初產母水牛在懷孕期之平均血清 P₄ 濃度及高峰濃度顯著較經產母水牛為低（P < 0.05），但初產母水牛血清 P₄ 濃度之上升速度較經產母水牛為快。母水牛在懷孕期前 10 個月之平均血清 P₄ 濃度高於 2.0 ng/mL，而至分娩前 5~10 天之血清 P₄ 濃度驟降至 1 ng/mL 以下，而產後 45 天之血清 P₄ 濃度甚至低於 0.25 ng/mL 以下。

關鍵詞：台灣水牛、動情週期、季節、懷孕期、血清孕酮濃度。

緒言

世界各地對水牛肉與水牛乳的需求及每人消費量正逐年增加中，具有很大的潛力與未來性

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1477 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(3) 國立台灣大學動物科學技術系。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。

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

(Borghese, 2005; Tripaldi, 2005)，最主要原因是水牛對環境之適應能力極強，且對氣候（0~30℃，濕熱天氣亦能適應良好）與地形（平原~高山及沼澤地均能適應良好）之適應範圍廣，又具抗病性及耐壁蝨等外寄生蟲之特性（Borghese and Mazzi, 2005）。另外，水牛耐粗飼，對芻料品質之要求較低，對芻料種類之接受性廣，採食種類非常多樣化，且利用能力佳，尤其對低品質芻料之利用上，能將纖維轉化為能量及蛋白質之效率較肉牛或乳牛高約 5%（Mudgal, 1988）。水牛主要以青草及農副產物為主食，利用效率佳，又具抗病性及耐外寄生蟲能力，因此殺蟲劑及動物藥品之殘留風險性較肉牛低，亦無狂牛症（BSE）問題，因此較具安全性（Murty and Prince Devadason, 2003）。另外，水牛肉具備低膽固醇（< 50 mg/100g）、低脂肪（< 3%）、低熱能（131 kcal/100 g）、低血栓指數（1.48）、低動脈粥樣化指數（0.53）、高蛋白含量（> 20%）、高膠原蛋白含量（0.9%）及高鐵（>1.5 mg/100 g）等特性，較符合現代人的健康飲食要求（Rocha Loures, 2001）。水牛乳之總固形物、脂肪、蛋白質、酪蛋白及鈣含量甚高，且鈣之型態及脂肪與蛋白質之比例亦非常適合各項加工品之製作（Addeo *et al.*, 1996; Tripaldi *et al.*, 1997; Tripaldi *et al.*, 2003）。

然而，水牛於繁殖上亦面臨晚熟、發情徵候不明顯、靜默排卵（silent ovulation）、發情週期不規則、不發情、低受胎率及產仔間距長（懷孕期長及產後至回復發情之時間較長）等問題（Mondal *et al.*, 2007）。Barile（2005）指稱，水牛雖可整年繁殖，但具季節性差異，以涼季之繁殖表現優於熱季。血中孕酮（progesterone, P₄）濃度高低會影響到懷孕早期胚的生長發育（Edgerton and Hafs, 1973; Lukaszewska and Hansel, 1980），且可作為是否已進入發身及懷孕之判斷。台灣水牛動情週期及懷孕期等之血清 P₄ 濃度之基礎值尚未建立，因此本試驗旨在建立台灣水牛動情週期、懷孕期及產後 45 天內等階段之血清 P₄ 濃度變化，據此作為牛隻是否已進入發身階段、早期懷孕診斷與產後是否已回復發情等之判斷，供作飼養管理與配種管理的依據，以提高水牛之繁殖效率。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗處理

逢機選取不同年齡（女牛 2~3 歲，經產母牛 5~10 歲）而體重相近的母水牛 30 頭，飼養於圈飼欄中，盤固乾草及飲水任食，並分不同季節進行發情同期化處理。試驗分別於涼季（2 月）及熱季（8 月）進行。參試牛隻以助孕素釋放器（CIDR）進行發情同期化，先將助孕素留置於陰道內 11 日（Estrumate, Coopers, England），並於第 9 日注射 PGF_{2α}（Cloprostenol 500 μg），於第 11 日取出 CIDR，並以試情公牛佩掛發情偵測器（chin-ball marker）及監視設備輔助母牛發情偵測。選取發情時間（以試情公牛初次駕乘母牛之時間為基準）差距在 24 小時內之母水牛 16 頭（熱季 6 頭與涼季 10 頭），進行為期二個動情週期之血清孕酮（progesterone, P₄）濃度變化調查（每一動情週期以 21 天計算）。母牛自發情開始（D0 天）每隔 3~4 日自頸靜脈採血一次，連續採血二或三個動情週期，其中第二個週期為自然發情，以測定母水牛動情週期（D0、D3、D7、D10、D14、D17、D20 天）之血清 P₄ 濃度變化。涼季之試驗，在試驗第 35 天時放入種公牛進行自然配種，並於放入種公牛 65 天後以直腸觸診進行懷孕檢查，懷孕期間（第四週期後）至分娩後 45 天期間，每週採血一次，以測定母水牛在懷孕期及分娩後 45 天之血清 P₄ 濃度變化。熱季之試驗則僅測定兩個動情週期之血樣，並未放入種公牛進行配種。

II. 測定方法

採得之血樣經短暫冷藏靜置後，於 5°C 下、以 1500 xg 離心 30 分鐘，以分離血清。分離後之血清分裝貯存於 -20°C 下，以備分析之用。血清 P₄ 濃度之分析採用酵素免疫分析法（吳等，1989）測定之，本方法之靈敏度為 0.5 ng/mL，分析內（intra-assay）與分析間（inter-assay）變異係數分別為 7.3 與 11.5%。

III. 統計分析

試驗所得資料以統計分析系統（Statistical Analysis System；SAS, 2000）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，以最小平方均值（Least Squares Means；LSM）測定法，比較涼季與熱季間、初產與經產母水牛間之血清 P₄ 濃度差異的顯著性。

結果與討論

I. 動情週期之血清孕酮（progesterone, P₄）濃度變化

圖 1 表示母水牛在涼季連續二個動情週期（2~3 月）及懷孕最初 63 天之血清 P₄ 濃度變化。圖 2 為母水牛在熱季連續二個動情週期（8~9 月）之血清 P₄ 濃度變化。母水牛在涼、熱季之動情週期血清 P₄ 平均濃度比較，則列示於圖 3。結果顯示，隨著動情週期之進行，血清 P₄ 濃度亦隨之提高，並持續至 D14 達高峰，於 D17 後 P₄ 濃度即迅速下降，且誘發發情與自然發情週期的血清 P₄ 濃度並無顯著差異，但除 D17 外，血清 P₄ 度均以涼季高於熱季，其中於 D7 至 D14 間之血清 P₄ 濃度以涼季顯著較熱季為高（ $P < 0.05$ ）。母水牛的動情週期起始日（D0）之血清 P₄ 濃度在 0.42 至 0.90 ng/mL 間變化，其中在涼季（ $n=10$ ）平均為 0.68 ± 0.11 ng/mL，而在熱季（ $n=6$ ）平均為 0.55 ± 0.05 ng/mL。在 D3 之血清 P₄ 濃度在 0.35 至 1.20 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 0.77 ± 0.21 ng/mL，而在熱季平均為 0.65 ± 0.06 ng/mL。在 D7 之血清 P₄ 濃度在 0.60 至 2.50 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 1.40 ± 0.41 ng/mL，在熱季平均為 0.85 ± 0.12 ng/mL。在 D10 之血清 P₄ 濃度在 0.70 至 3.01 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 2.23 ± 0.38 ng/mL，而在熱季平均為 0.95 ± 0.11 ng/mL。在 D14 之血清 P₄ 濃度在 1.25 至 3.78 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 3.28 ± 0.23 ng/mL，而在熱季平均為 1.47 ± 0.09 ng/mL。在 D17 之血清 P₄ 濃度在 0.50 至 1.10 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 0.80 ± 0.14 ng/mL，而在熱季平均為 0.90 ± 0.06 ng/mL。在 D20 之血清 P₄ 濃度在 0.40 至 0.82 ng/mL 間變化，其中在涼季平均為 0.61 ± 0.09 ng/mL，而在熱季平均為 0.52 ± 0.05 ng/mL。本試驗之結果與 Seren *et al.*（1994）指稱，母水牛血中之 P₄ 濃度於排卵後 4 天逐漸升高，至排卵前 6 天達高峰，而在排卵前 4 天即快速下降之結果相似。Barile（2005）指稱，河川型水牛之動情週期平均為 21 天，發情持續時間介於 9 至 56 h，平均約 20 h，且河川型水牛之發情持續時間長於沼澤型水牛，但動情週期長度及發情行為表現程度，會受氣候、溫度、光照及營養等因素之影響。魏等（2008）發現，台灣水牛之發情持續時間介於 8.8 至 23.5 h，平均約 16.7 h，但 Zicarelli（1992）指出，水牛之發情持續時間在個體間之變異甚大，介於 5 至 57 h，平均約 32.7 h。Stott and Wiersma（1973）指稱，熱季會導致牛隻血中之 P₄ 濃度降低，而 Barile（2005）指出，水牛雖可整年繁殖，但具季節性差異，其中以涼季之繁殖表現優於熱季，如印度水牛之發情比率，以涼季（以 11 月最高）高於熱季（6 月最低），澳洲及巴基斯坦水牛之分娩比率，亦以涼季高於熱季（冬 > 秋 > 春 > 夏季），義大利水牛之配種季節以雨季和冬天較高，而以夏季最低，因此本試驗之結果與前述學者之研究相符。Edgerton and Hafs（1973）及 Lukaszewska and Hansel

(1980) 指出，在動情週期之黃體期，血清 P_4 濃度高者較濃度低者更有助於胚的發育成長，懷孕率亦較高。另外，本試驗測得動情週期間之血清 P_4 濃度除 D14~D17 間較 Seren *et al.* (1994) 之報告為低外，其他天數之濃度則與其報告相近，且亦與 Stott and Wiersma (1973) 測得乳牛之血清 P_4 濃度相近。本試驗測得母水牛在熱季動情週期之血中 P_4 濃度與柏原孝夫 (1984) 在熱帶水牛所測得之濃度 (1.2 至 1.5 ng/mL) 相近。由本試驗結果得知，台灣水牛於涼、熱季間卵巢功能之表現仍具差異性，其中以涼季較熱季為佳，因此可進行季節性配種，以提高水牛之受胎率。

母牛配種成功而懷孕者，其血清 P_4 濃度於 D14 後並不會降低，而是持續維持在動情週期之高峰濃度，而在懷孕早期 (懷孕 63 日內) 由 D14 至 D63 期間之平均血清 P_4 濃度為 3.63 ± 1.1 ng/mL，且大多數懷孕母水牛之血清 P_4 濃度均維持在 1.5 ng/mL 以上，而未懷孕之母水牛在 D17 之血清 P_4 濃度下降至 0.8 ng/mL (0.50~1.10 ng/mL) (圖 1)。Seren *et al.* (1994) 指出，血清 P_4 濃度的變化與黃體之生理變化是一致的，未懷孕母水牛血中之前列腺素濃度於排卵前 2.7 天達高峰，導致黃體溶解， P_4 濃度下降，故 FSH 及動情素之分泌開始增加，而 FSH 及 LH 之高峰出現在排卵前 35.5 h。本試驗之結果可被用以進行水牛懷孕早期診斷，如水牛於配種後 17 天進行間隔 10 天連續二次之血清 P_4 濃度測定，而二次之濃度均高於 1.5 ng/mL 以上即可判定為母水牛已懷孕，據此做為牛群個別牛隻懷孕與否之依據，供作飼養管理與配種管理的參考。

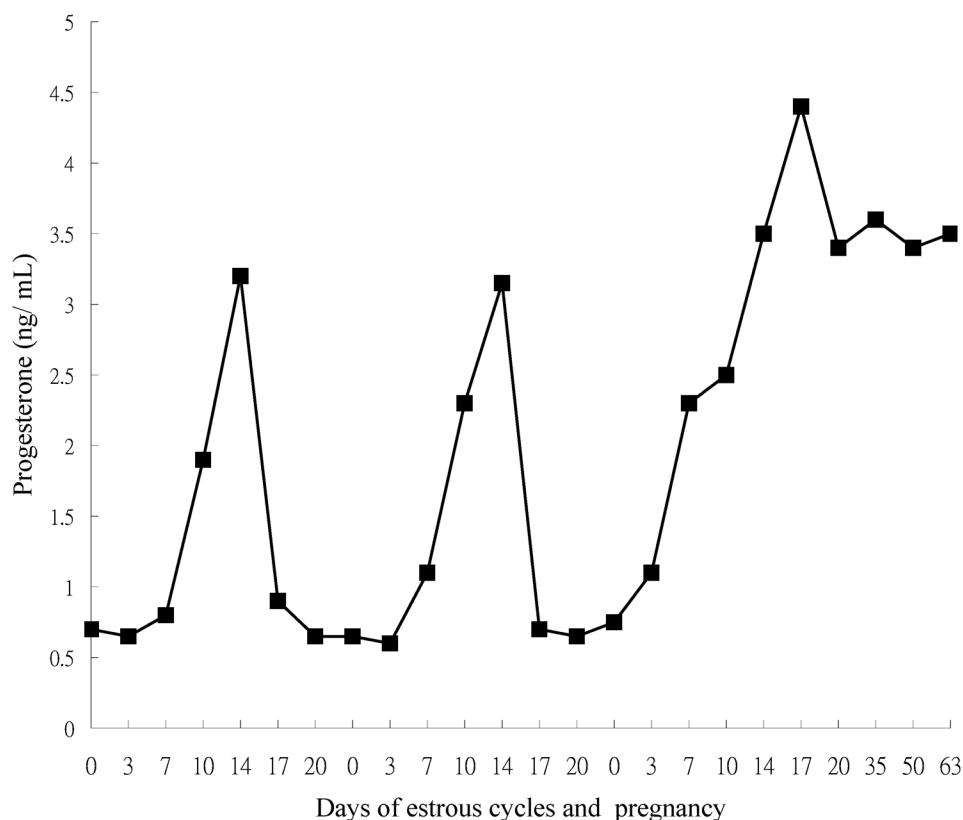


圖 1. 母水牛在涼季連續 2 個動情週期 (2~3 月) 及懷孕最初 63 天之血清孕酮濃度變化。

Fig. 1. Changes of serum progesterone (P_4) concentration of the female buffaloes in cool season during two consecutive estrous cycles (February and March), and the first 63 days of pregnancy.

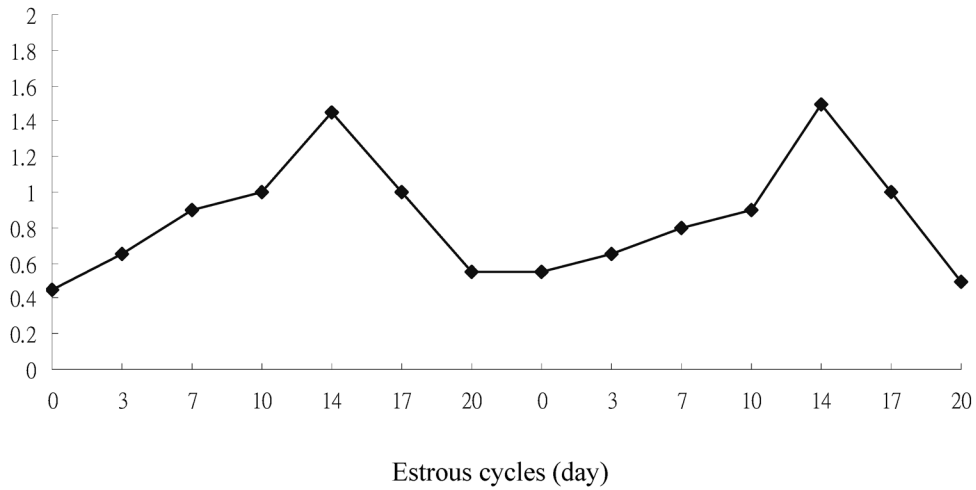


圖 2. 母水牛在熱季連續 2 個動情週期（8~9 月）之血清孕酮濃度變化。

Fig. 2. Changes of serum progesterone (P₄) concentration of the female buffaloes in hot season during two consecutive estrous cycles (August and September).

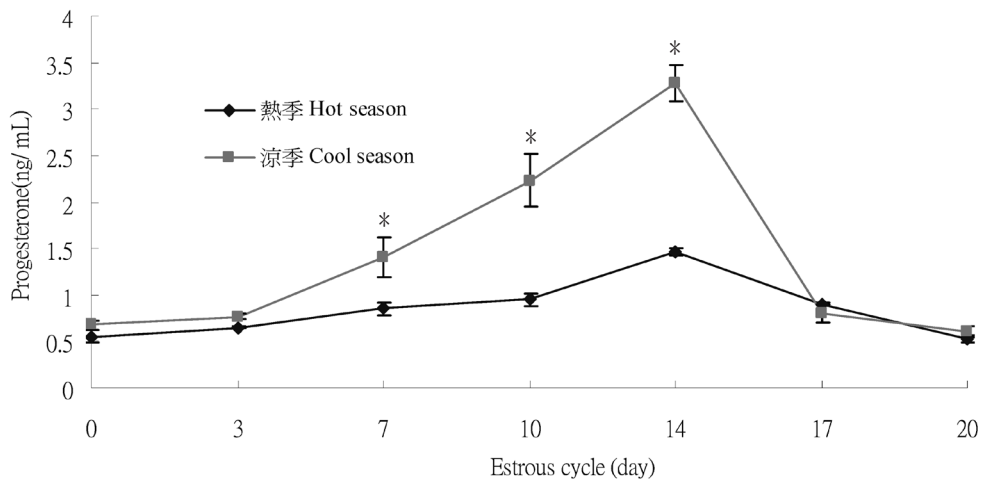


圖 3. 母水牛在涼、熱季動情週期之血清孕酮濃度變化。

Fig. 3. Change of serum progesterone (P₄) concentration of the female buffaloes in hot and cool season.

* Significant difference between hot and cool season ($P < 0.05$).

II. 水牛懷孕期間至分娩後 2 個月之血清 P₄ 濃度變化

圖 4 為初產與經產母水牛在懷孕期間至分娩後 45 天之血清 P₄ 濃度變化。結果顯示，女水牛在懷孕期間之平均血清 P₄ 濃度顯著較經產母水牛為低（4.48 vs. 6.58 ng/mL）（ $P < 0.05$ ），但女水牛在懷孕期間之血清 P₄ 濃度上升速度較經產母水牛為快，在懷孕之第 4 個月即達高峰，而經產母

水牛則於懷孕之第 8 個月才達高峰，且高峰濃度顯著較經產母水牛為低（8.80 vs. 11.00 ng/mL）（ $P < 0.05$ ）。不論初產或經產母水牛在懷孕期前 10 個月之平均 P_4 濃度均高於 2.0 ng/mL，而在分娩前 5~10 天（第 11 個月）之血清 P_4 濃度驟降至 1 ng/mL 以下（0.88~0.93 ng/mL）。女水牛與母水牛在產後前 45 天之血清 P_4 濃度甚低，均在 0.25 ng/mL（0.19~0.24 ng/mL），比動情週期各階段所測得之濃度低，顯示卵巢尚未恢復活動。本場以人工授精配種測得經產母牛之懷孕期長度為 338 ± 4.6 天，產犢間距為 450 ± 43 天，產後至回復發情之天數約 112 天（本場未發表資料）。Jainudeen *et al.*（1983）指出，馬來西亞之沼澤型水牛，其母牛於哺乳仔牛之情況下，僅 32% 母牛於產後 96 ± 22 天回復發情，68% 母牛於產後 150 天內未見回復發情。Barile（2005）探討水牛繁殖相關研究指稱，水牛在產仔後卵巢重新恢復功能之時間較肉牛及乳牛為長，且母水牛於哺乳仔牛之情況下，其產後至第一次發情時間受飼養區域（國家）、品種（河川型或沼澤型）、產後體況、哺乳與否、產乳量、餵飼營養水準、產次及分娩季節等諸多因素之影響，而其產仔間距介於 361~570.6 天間，產後回復第一次發情之天數介於 25.2~185.9 天間，並以在涼季分娩之母水牛，產後回復發情之天數較熱季分娩之母水牛為短。

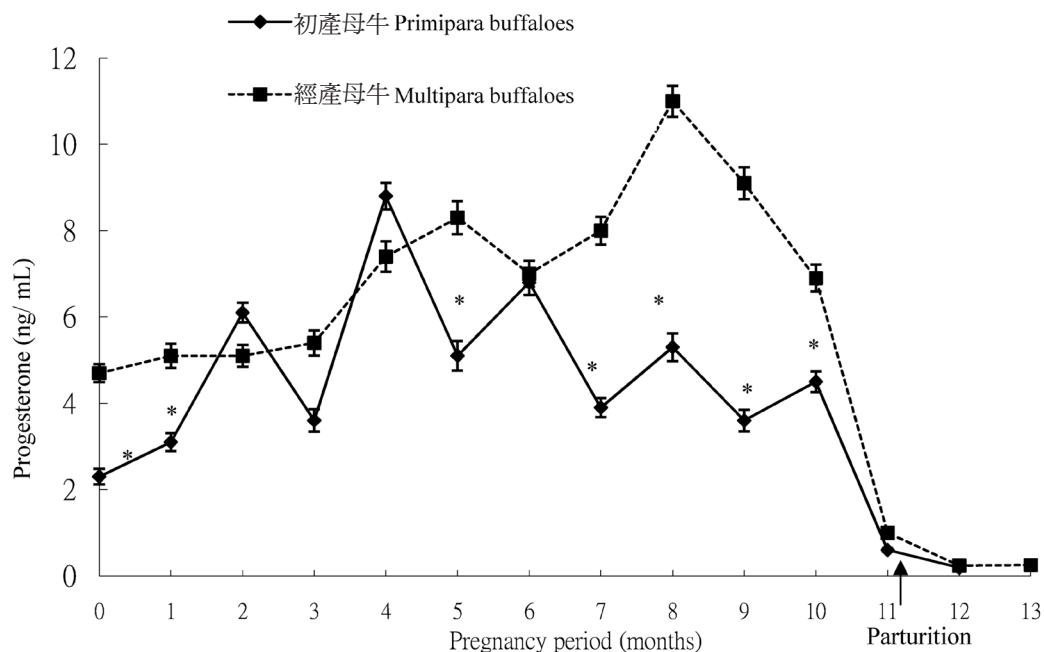


圖 4. 初產與經產母水牛在懷孕期間至分娩後 45 天之血清孕酮濃度變化。

Fig. 4. Changes of serum progesterone (P_4) concentration of the primiparous and multiparous female buffaloes during pregnancy and forty-five days after parturition. *Significant difference between primiparous and multiparous buffaloes ($P < 0.05$).

綜合本試驗之結果，可知女水牛或母水牛卵巢具正常動情週期後（發身或產後第一次發情）之血清 P_4 濃度，應在 0.30 ng/mL 以上，懷孕期間（前 10 個月）之濃度則維持在 1.5 ng/mL 以上，可據以判定水牛是否已發身、產後回復發情或懷孕之參考，並供為飼養與配種管理的依據。另外水牛卵巢功能之表現，以涼季優於熱季，因此可進行季節性配種，以提高水牛之受胎率。

誌謝

本試驗承蒙國立台灣大學動物科學技術系生理研究室協助血清助孕素濃度分析，謹致萬分謝忱。

參考文獻

- 吳兩新、王惠玲、方世偉、莊榮輝、章淑貞、黃森源、林仁壽。1989。牛乳中助孕素酵素免疫微滴盤法之建立。台灣大學農學院研究報告 22 (2) : 173-183。
- 柏原孝夫。1984。熱帶の水牛。pp. 81-96，國際農林業協力協會。
- 魏良原、劉炳燦、賈玉祥、林正鏞。2008。母水牛以PGF2 α 同期化發情處理之效率及發情徵候。畜產研究 40 (1) : 51-61。
- Addeo, F., G. C. Emaldi and P. Masi. 1996. Tradition and innovation in the “mozzarella di bufala campana cheese” production. International symposium on buffalo products, *Paestum (Salerno)*, Italy, Dec. 01-04/1994, EAAP Publ. 62 : 214-222.
- Barile, V. L. 2005. Reproductive efficiency in female buffaloes. FAO Regional Office for Europe Inter-Regional Cooperative Research Network on Buffalo-Production and Research, pp. 77-108, Rome, FAO Publ.
- Borghese, A., A. Di Giacomo and M. Mormile. 1996. Meat eating quality in bovine and buffalo young bulls of one years of age. International symposium on buffalo products, *Paestum (Salerno)*, Italy, Dec. 01-04/1994, EAAP Publ., 82 : 247-254.
- Edgerton, L. A. and H. D. Hafs. 1973. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid and progesterin in dairy cows from calving to gestation. *J. Dairy Sci.* 56 : 451-458.
- Jainudeen, M. R., T. A. Bongso and H. S. Tan. 1983. Postpartum ovarian activity and uterine involution in the suckled swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.* 5 : 181-190.
- Lukaszewska, J. and W. Hansel. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.* 59 : 485-793.
- Mondal, S., B. S. Prakash and P. Palta. 2007. Endocrine aspects of oestrous cycle in buffaloes (*Bubalus bubalis*) : An overview. *Asian-Aust. Anim. Sci.* 20(1) : 124-131.
- Murthy, T. R. K., and I. Prince Devadason. 2003. Buffalo meat and meat products. An overview. *Proc. of Fourth Asian Buffalo Congress*, New Delhi, India, Feb. 25-28 : 194-199.
- Rocha Loures, R. 2001. Buffalo production systems in the Americas. *Proc. of the Sixth World Buffalo Congress*, Maraca Ibo, Venezuela, May 20-23, vol. I : 74-86.
- SAS. 2000. SAS user guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC.
- Seren, E., A. Parmeggiani, S. Mongiorgi, L. Zicarelli, N. Montemurro, C. Pacelli, G. Campanile, L. Esposito, R. Di Palo, A. Borghese, V. L. Barile, M. G. Terzano, G. E. Annicchiarico and S. Allegrini. 1994. Modificazioni endocrine durante il ciclo estrale nella bufala. [Peri-estrous endocrine changes in Italian buffaloes]. *Agricoltura Ricerca* 153 : 17-24.
- Stott, G. H. and F. Wiersma. 1973. Climatic thermal stress, a cause of hormonal depression and low fertility in bovine. *Int. J. Biometeorol.* 17 (2) : 115-122.
- Tripaldi, C. 2005. Buffalo milk quality. FAO Regional Office for Europe Inter-Regional Cooperative Research

- Network on Buffalo-Buffero Production and Research, pp. 173-184, Rome, FAO Publ.
- Tripaldi, C., G. Catillo, F. Martillotti and M. Angelucci. 1997. Influence of some characteristics of diet on the milk quality of water buffalo. *Buffalo J.* 1 : 1-13.
- Tripaldi, C., S. Terramoccia, S. Bartocci, M. Angelucci and V. Danese. 2003. Effect of the somatic cell count on yield, composition and coagulating properties of Mediterranean buffalo milk. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16 : 738-742.
- Zicarelli, L., G. Campanile, E. Seren, A. Borghese, A. Parmeggiani and V. L. Barile. 1993. Periestrous endocrine changes in Italian buffaloes with silent oestrus or ovarian disorders. In: Proc. International symposium "Prospects of Buffalo production in the Mediterranean and the Middle East", Cairo, Egypt, Nov. 9-12, 1992, EAAP Publ., Pudoc, Wageningen, n. 62: 397-400.

Variation of serum progesterone concentration during estrous cycle, pregnancy and forty five days post-parturition of Taiwan female water buffaloes (*Bubalus bubalis*)⁽¹⁾

Cheng-Yung Lin⁽²⁾⁽⁵⁾ Jyh-Iong Huang⁽²⁾ Leang-Shin Wu⁽³⁾
Liang-Yuan Wei⁽⁴⁾ and Hsiao-Yun Kuo⁽²⁾

Received : Jul. 4, 2008 ; Accepted : Oct. 9, 2008

Abstract

The purpose of this study was to investigate the variation of serum progesterone (P₄) concentration of the Taiwan female water buffaloes during estrous cycle, pregnancy and forty five days after parturition for early pregnancy diagnosis, post-parturition oestrus, and feeding and management reference. Sixteen female water buffaloes were randomly assigned to cool (February, n = 10) and hot (August, n = 6) season groups. The buffaloes were bled at D0 (the first day of estrus), D3, D7, D10, D14, D17 and D20 to measure serum P₄ concentration during two consecutive estrous cycles in hot and cool season. The buffalos in cool season group were mated by the bull at the third estrous cycle and were bled weekly to measure P₄ concentration during pregnancy and the first 45 days post-parturition. The results indicated that the serum P₄ concentration of buffalos increased with the advancement of estrous cycle. It reached peak at D14, and declined sharply at D17. However, the serum P₄ concentrations during D7 to D14 was significantly (P<0.05) higher in cool season than those in hot season. The serum P₄ concentration of pregnant buffalos reached a plateau after D14 at the estrous cycle. The serum P₄ concentrations of most of the pregnant buffaloes were above 1.5 ng/mL in the early stage of pregnancy (the first 63 days of pregnancy). The serum P₄ concentrations in non-pregnant buffaloes dropped to below 0.85 ng/mL at D20. Besides, the mean P₄ concentrations and the peak concentrations in primiparous cows were significantly (P < 0.05) lower than those of the multiparous cows. But P₄ concentrations went up rapidly in the primiparous cows than the multiparous cows during pregnancy. During the first ten months of the pregnancy, the average concentrations of the serum P₄ was higher than 2.0 ng/mL and then plummeted to below 1 ng/mL five to ten days before parturition. At the first forty-five days postpartum, the average concentrations of serum P₄ was reduced to below 0.25 ng/mL.

Key words : Taiwan water buffaloes, Estrous cycle, Season, Pregnancy, Serum progesterone (P₄) concentration.

-
- (1) Contribution No. 1477 from Livestock Research Institute (LRI), Council of Agriculture (COA), Executive Yuan, R.O.C.
 - (2) Hualien Animal Propagation Station, COA-LRI, Hualien, Taiwan, R.O.C.
 - (3) Animal Science and Technology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.
 - (4) I-Lan Branch institute, COA-LRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan, R.O.C.
 - (5) Corresponding author, E-mail : jengyong@mail.tlri.gov.tw