

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 52 No. 4

December 2019

CONTENTS

- | | Page |
|--|------|
| 1. Reference values of biochemical parameters among minipigs of difference breeds
<i>Sheng-Yang Wu and Chia-Chieh Chang</i> | 198 |
| 2. Physicochemical analysis for breast meat of Commercial Mule duck, Pekin duck
and Muscovy in Taiwan
<i>Meng-Ru Lee, Wen-Shyan Chan and Rung-Jen Tu</i> | 206 |
| 3. Evaluation of <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> differentiation capability of induced pluripotent
stem cell lines from the black silkie chicken
<i>Jenn-Fa Liou, Yu-Hisn Chen, Jen-Wen Shiau, Yow-Ling Shiue and Lih-Ren Chen</i> ... | 215 |
| 4. Breeding of the new variety of Nilegrass cv. Taishi No. 3
<i>Po-Yu Chen, Chin-Te Hsu and Sue-Pea Shaug</i> | 227 |
| 5. The effects of different glycerol and dimethyl sulfoxide ratios in diluent on the
goat sperm quality after tube-type vitrified-thawed
<i>Ting-Chieh Kang, Yu-Hsin Chen, Fung-Hsiang Chu, Hsiu-Lien Lin and Kai-Fei
Tseng</i> | 234 |
| 6. Effects of different ratio of rice hull and grass biochar as litter materials on the
growth performance, contact dermatitis and ammonia concentrations of chicken
house for broiler
<i>Ya-Chun Liu, Shann-Ren Kang, Shu-Min Wang and Hsiao-Mei Liang</i> | 241 |
| 7. Study on the correlation of ranks among selection index, body type evaluation
and foot hoof evaluation under swine purebred growth performance test
<i>Neim-Tsu Yen, Hsiu-Rong Tsai, Yung-Yu Lai, Chia-Hsuan Chen, Cheng-Hsiang
Lin, Pei-Mei Chen and Ming-Che Wu</i> | 249 |
| 8. Evaluation of the feeding value of Napiergrass cv. TS8 for lactating dairy goats
<i>Geng-Jen Fan, Bor-Ling Shih, Tzu-Rung Li, Tzong-Faa Shiao, Tzu-Tai Lee and
Churng-Faung Lee</i> | 256 |

行政院新聞局出版事業登記證局版台省誌字第六七七號
中華郵政新營字第十八號執登記為雜誌交寄

畜產研究

第五十二卷 第四期

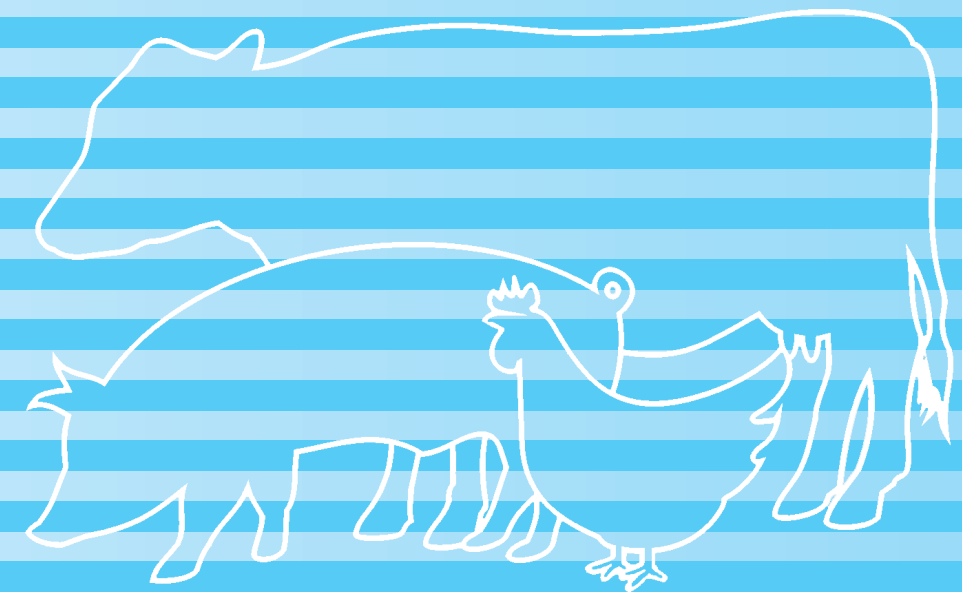
行政院農業委員會畜產試驗所

畜產研究

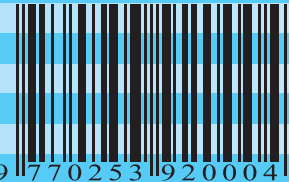
第五十二卷 第四期 中華民國一〇八年 十二月 季 刊

JOURNAL OF
TAIWAN LIVESTOCK
RESEARCH

Vol. 52 No. 4 December 2019



ISSN 0253-9209



9 770253 920004

GPN: 2005200015

定價：新臺幣二〇〇元



行政院農業委員會畜產試驗所

LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE,
COUNCIL OF AGRICULTURE, EXECUTIVE YUAN

畜產研究編審委員會

主任委員：黃振芳

審查委員：丁詩同 方珍玲 王佩華 王尚禮 王淑音 成游貴 朱有田 朱志成
余 祺 余 碧 吳信志 吳勇初 吳錫勳 李固遠 沈朋志 沈添富
沈韶儀 阮喜文 周明顯 林俊臣 姜樹興 施宗雄 唐品琦 徐阿里
徐濟泰 張秀鑾 張菊犁 莊士德 許振忠 許福星 郭猛德 陳仁炫
陳志峰 陳宗禮 陳明造 陳洵一 陳秋麟 黃文理 黃英豪 葉茂生
廖宗文 劉登城 劉世賢 鄭裕信 盧虎生 謝清祥 謝豪晃
(以姓名筆劃為序)

編輯委員：林幼君 林正鏞 張世融 郭卿雲 陳立人 陳佳萱 廖仁寶
(以姓名筆劃為序)

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

J. F. HUANG, EDITOR-IN-CHIEF,

DIRECTOR GENERAL,

LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE, COUNCIL OF AGRICULTURE

HSINHUA, TAINAN, TAIWAN

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

S. T. DING	C. L. FANG	P. H. WANG	S. L. WANG	S. Y. WANG
Y. K. CHENG	Y. T. JU	C. C. CHU	C. YU	P. YU
H. C. WU	Y. C. WU	H. H. WU	G. Y. LI	P. C. SHEN
T. F. SHEN	S. I. SHEN	S. W. ROAN	M. H. CHOU	C. C. LIN
S. H. CHIANG	C. H. SHIH	P. C. TANG	A. L. HSU	C. T. HSU
H. L. CHANG	C. L. CHANG	S. T. CHUANG	C. C. HSU	F. H. HSU
M. T. KUO	J. H. CHEN	C. F. CHEN	C. L. CHEN	M. T. CHEN
H. I. CHEN	T. L. CHEN	W. L. HUANG	I. H. HWANG	M. S. YEH
C. W. LIAO	T. C. LIU	S. S. LIU	Y. S. CHENG	H. S. LUR
C. H. HSIEH	H. H. HSIEH			

EDITORS:

Y. C. LIN	C. Y. LIN	S. R. CHANG	C. Y. KUO	L. R. CHEN
C. H. CHEN	R. B. LIAW			



畜 產 研 究

編 者：行政院農業委員會畜產試驗所

發 行 人：黃振芳

總 編 輯：林正斌

主 編：張以恆 田懋萍

發 行 所：行政院農業委員會畜產試驗所

地 址：臺南市新化區牧場 112 號

電 話：(06) 5911211

網 址：<http://www.tlri.gov.tw>

編輯\印製者：振緯企業有限公司

地 址：臺南市公園路 134 號

電 話：(06) 2288009

出 版 日 期：中華民國 108 年 12 月出版

定 價：新台幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五 南 文 化 廣 場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

國 家 網 路 書 店：<http://www.govbook.com.tw>

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

畜產研究

第 52 卷第 4 期

中華民國 108 年 12 月

目 錄

	頁
1. 不同小型豬血液生化值與品種間之差異 吳昇陽、章嘉潔	198
2. 商用土番鴨、北京鴨和紅面番鴨胸肉理化分析 李孟儒、陳文賢、涂榮珍	206
3. 烏骨雞誘導多能性幹細胞株體外分化能力之探討 劉振發、陳裕信、蕭振文、薛佑玲、陳立人	215
4. 尼羅草台畜草 3 號之育成 陳勃聿、許進德、蕭素碧	227
5. 稀釋液中甘油與二甲基亞砷比例對玻璃化冷凍解凍後山羊精子品質之影響 康定傑、陳裕信、曲鳳翔、林秀蓮、曾楷扉	234
6. 不同比例稻殼及草炭墊料對白肉雞生長性狀、接觸性皮膚炎及欄舍氨氣濃度之影響 劉雅醇、康獻仁、王紓愍、梁筱梅	241
7. 純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分的名次分級之間相關性探討 顏念慈、蔡秀容、賴永裕、陳佳萱、林正祥、陳培梅、吳明哲	249
8. 狼尾草台畜草 8 號對泌乳山羊飼養價值的評估 范耕榛、施柏齡、李姿蓉、蕭宗法、李滋泰、李春芳	256

不同小型豬血液生化值與品種間之差異⁽¹⁾

吳昇陽⁽²⁾ 章嘉潔⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：108 年 4 月 25 日；接受日期：108 年 8 月 19 日

摘 要

本試驗旨在建立蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬和迷彩豬血液生化項目檢測值，並比較血液生化項目之檢測值差異，提供小型豬基礎血液生化檢測值是評估豬隻健康與研究生物醫學中血液學重要的依據。採用全自動生化分析儀，測定 3 月齡小型豬血液 20 項生化項目，對檢測資料進行分析與比較。試驗結果顯示，蘭嶼豬與賓朗豬兩組進行比較有 14 項檢測值呈顯著差異 ($P < 0.05$)，與花斑豬比較有 8 項檢測值呈顯著差異 ($P < 0.05$)，與迷彩豬比較有 10 項檢測值呈顯著差異 ($P < 0.05$)。蘭嶼豬血液生化檢驗項目處於人類正常參考值範圍中的有 10 項：AST、ALB、A/G、TP、BUN、CREAT、Mg、Na、Cl 及 Ca。賓朗豬血液生化檢驗項目處於人類正常參考值範圍中的有 7 項，花斑豬及迷彩豬血液生化檢驗項目處於人類正常參考值範圍中的有 9 項。試驗結果顯示蘭嶼豬血液生化檢測值，與人類正常檢驗參考值相比，於 20 項中有 10 項相近。雖然這些豬種皆是蘭嶼豬衍生出來的近親品種或合成品種，結果顯示某些特定的血液生化值在不同品種間呈現顯著差異。提供選擇小型豬作為生物醫學研究模式時，亦須考慮品種間血液生化檢驗值的差異。本篇亦進行上述豬種血液生化檢驗值與人類正常參考值、國外著名的哥廷根小型豬及李宋豬品種比較，為建立小型豬生物學特性之資料庫提供依據。

關鍵詞：小型豬、生化檢測值、血液。

緒 言

畜產試驗所於民國 69 年因應「發展豬隻供作醫學研究之用」(臺東種畜繁殖場, 1996)，自蘭嶼引進 4 公 16 母種畜，以此基礎進行生醫用小型豬培育與選育，於民國 92 年完成花斑豬 (Spotty Lanyu pig) 與迷彩豬 (Mitsai pig) 新品種登記 (李等, 1998)，花斑豬為隔離自蘭嶼豬保種族群中具有花斑體色的個體，再經數代近親選育而成的蘭嶼豬花色品種。迷彩豬之育成方式以人工授精方式將蘭嶼豬與杜洛克豬進行雜交試驗，雜交後裔仔豬毛色多樣，自第二代起以具有棕白條紋體色為選留目標，因具有 50% 蘭嶼豬與 50% 杜洛克豬之遺傳形質，體型略大於蘭嶼豬屬於合成之品系。民國 97 年完成「蘭嶼豬保種品系」與「蘭嶼豬 GPI-CRC-PGD 基因型純合品系」新品系登記 (行政院農業委員會, 2007)，蘭嶼豬 GPI-CRC-PGD 基因型純合品系，為畜試所臺東種畜繁殖場閉鎖之蘭嶼豬保種族群，經基因型篩選出具 GPI-BB 型、CRC-CC 型和 PGD-AA 型之黑色蘭嶼豬個體，再經數代近親選育而成之品系。民國 99 年完成「賓朗豬」(Binlang pig) 新品系登記 (行政院農業委員會, 2010)。原始種原為黑色蘭嶼豬，經多年近親配種與毛色選育，選育出畜試花斑豬，再由畜試花斑豬隔離選育出毛色全白的個體，進行近親配種而成。豬群目前飼養分佈於臺東種畜繁殖場，持續進行封閉族群保種、選育等相關研究，發展朝向符合生醫研究之實驗動物，目前主要推廣供應給國內生技產業、大學及醫學相關等研究單位，而應用於外科手術方面的研究為主要需求。血液生化指標不僅反映個體代謝和健康狀況，也是生理機能指標之一 (Ohaeri and Eluwa, 2011; Kawaguchi *et al.*, 2012)，在診斷及疾病防治不可或缺的診斷依據 (Talebi *et al.*, 2005; Polizopoulou, 2010)，小型豬其生理及解剖特徵，特別是組織器官比例及結構，與疾病發生機制等方面與人類極為相似，極具研究和應用價值 (Bollen *et al.*, 1996; Smith and Swindle, 2006)，研究單位對小型豬的培育及生物特性都很重視，並進行許多相關基礎生理生化學的研究與數據蒐集 (Duan *et al.*, 2016; Lignet *et al.*, 2016; Lorenzen *et al.*, 2016; Ochoa *et al.*, 2016; Bai *et al.*, 2017)，為利於小型豬作為動物模式參考依據。血液生化檢驗值受到年齡、性別 (吳及章, 2018)、飼糧配方 (Xie *et al.*, 2015) 及環境季節 (Mayengbam and Tolenthomba, 2015) 所影響。不同品種的豬隻的育成背景不同，因此，建立這些不同品種豬隻的血液學基礎資料

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2623 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所臺東種畜繁殖場。

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

具有重要性，為了對實驗用小型豬血液生化檢測項目進行系統性的收集與比較，本研究在相同環境，供應一樣配方的飼糧，比較成長中 3 月齡蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬，和迷彩豬血液生化檢測值的差異，為未來發展標準化實驗動物和推廣使用提供更為詳盡與實用的資訊。

材料與方法

I. 實驗動物

小型豬飼養於臺東種畜繁殖場，條件為自然溫度、濕度和光照，畜產試驗所配製的飼料，飼料消化能為 3,150 kcal/kg、粗蛋白質 15.4% 及粗脂肪 3.2%，依照生醫用小型豬工作人員管理標準作業程序書 (TAPS-DLT-2-03)，在相同條件下每日每隻豬共餵飼 100 g 分 2 餐，自由攝取水分。試驗為 3 月齡小型豬，蘭嶼豬 20 頭、賓朗豬 31 頭、花斑豬 24 頭和迷彩豬 14 頭，賓朗豬 15 公 16 母，其餘品種均公母各半。

II. 實驗方法

本研究中使用動物皆有臺東種畜繁殖場實驗照護及使用小組批准 (批准字號：畜試動字 106-5 號)，動物採血前禁食 12 小時，自由攝取飲水，在採血皆有目視觀測豬隻其具有正常的健康狀況，小型豬置於 V 形臺上的躺臥限制其移動，採前腔靜脈方式採血 5 mL，置入含促凝劑之黃頭採血管，促凝劑可加速血液凝集用於生化檢測，收集後置於 4℃ 儲存，儘速送至大統醫學檢驗中心，進行血液細胞生化分析測定，血液生化檢驗項目共 20 項，包括：天冬氨酸氨基轉移酶 (aspartate aminotransferase, AST, U/L)、丙氨酸氨基轉移酶 (alanine aminotransferase, ALT, U/L)、穀氨醯基氨基轉移酶 (γ -Glutamyl transferase, GGT, U/L)、肌酸激酶 (creatinine kinase, CK, U/L)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP, U/L)、葡萄糖 (glucose, GLU, mmol/L)、乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase, LDH, U/L)、血清白蛋白 (albumin, ALB, g/L)、總蛋白 (total protein, TP, g/L)、甘油三酯 (triglycerides, TG, mmol/L)、總膽固醇 (cholesterol, CHOL, mmol/L)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN, mmol/L)、肌酸酐 (creatinine, CREAT, mmol/L)、鉀 (potassium, K, mmol/L)、鎂 (magnesium, Mg, mmol/L)、鈉 (sodium, Na, mmol/L)、氯化物 (chloride, Cl, mmol/L)、鈣 (calcium, Ca, mmol/L) 及無機磷 (phosphorus, P, mmol/L)，採用日本日立公司生產的全自動生化儀 (automatic biochemical analyzer, Hitachi 7020, Japan)，常規操作測定各類生化檢測項目。

III. 資料分析

計算豬隻各群體血液生化檢驗項目的平均值，並進行差異顯著性檢定，對同 3 月齡及不同豬種的血液生化檢驗項目測定值，進行獨立樣本 t-檢定比較探討，以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示並以 $\alpha = 0.05$ 為檢驗水準，資料用 SAS (Statistical Analysis System, SAS 9.1, 2005) 軟體進行統計分析。另以李宋豬 (財團法人農業科技研究院—臺灣大學動物科學技術學系, 2019a) 和國外哥廷根小型豬 (Ellegaard göttingen minipig, 2017) 品種之相應檢測項目進行比較，及來自於大統醫學檢驗中心所提供之人類生化檢驗正常值作為參考。

結果與討論

小型豬各品系間血液生化檢驗，項目與酵素活性相關有 AST、ALT、GGT、CK、ALP 及 LDH 6 項，測定結果列於表 1，蘭嶼豬與賓朗豬相關項目比較，AST、ALT、LDH 及 ALP 4 項結果呈現差異顯著 ($P < 0.05$)，蘭嶼豬與花斑豬比較 GGT、CK 及 ALP 3 項差異顯著 ($P < 0.05$)，蘭嶼豬與迷彩豬之間比較，ALT 及 ALP 2 項差異顯著 ($P < 0.05$)，而另觀察 AST、ALP 及 LDH 項目於不同小型豬品種檢測平均值較高於哥廷根小型豬。學者研究五指山小型豬及廣西巴馬小型豬，AST 及 ALP 項目檢測平均值較高於哥廷根小型豬 (閔等, 2008)，廣西巴馬小型豬 LDH 項目檢測平均值較高於哥廷根小型豬 (王等, 2001)，Doornenbal *et al.* (1986) 研究 ALP 值與豬隻平均日增重 ($P < 0.05$)，屠體剖檢後骨佔比例 ($P < 0.01$) 呈正相關，哥廷根小型豬 3 月齡平均體重約 7 kg，蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬和迷彩豬 3 月齡平均體重約 9 kg，是否這些小型豬增重與 ALP 值有關聯性有待進一步驗證和探討。

血液生化檢測項目關於血糖、蛋白質及脂質測定項目，為 GLU、ALB、A/G、TP、TG、CHOL、BUN 及 CREAT 等 8 項。小型豬不同種系間血糖、蛋白質及脂質血液生化項目測定結果列於表 2，蘭嶼豬與賓朗豬相比有 7 個項目呈差異顯著 ($P < 0.05$) 如 GLU、ALB、A/G、TP、TG、BUN 及 CREAT，與花斑豬相比有 2 項項目差異顯著 ($P < 0.05$) 如 ALB、及 TG，與迷彩豬相比有 6 項項目差異顯著 ($P < 0.05$) 如 GLU、ALB、TP、TG、CHOL 及 BUN，而另觀察 TP 及 CREAT 項目於不同小型豬品種檢測平均值較高於哥廷根小型豬。五指山小型豬、廣西巴馬

小型豬及貴州小型豬，TP 及 CREAT 項目於不同小型豬品種檢測平均值也較高於哥廷根小型豬 (閔等，2008)，肌酐是評估飲食中蛋白質質量指標，肌肉磷酸肌酐分解成肌酸酐，隨尿排出體外，與體內肌肉代謝具有關連性 (Eggum, 1970)。Doornenbal *et al.* (1986) 學者研究 CREAT 項目與背脂、腰眼脂肪、瘦肉率和屠體剖檢後骨佔比例之間達顯著正相關 ($P < 0.05$)。Harapin *et al.* (2003) 參考 7 篇文獻推論家豬檢測 TP 項目值範圍大約 60 至 90 g/L，也高於哥廷根小型豬，與目前蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬，和迷彩豬所檢測 TP 項目值接近。

血液中 6 項電解質項目如 K、Mg、Na、Cl、Ca 及 P，這些離子直接影響人體多種重要的功能，不僅具有維持血液滲透壓，且各離子具有獨特功能，是維持生命現象不可或缺的物質 (怡仁綜合醫院，2019；新光吳火獅紀念醫院病理檢驗科，2019)。小型豬品種間血液中 6 項血液電解質項目測定結果如表 3 所示，蘭嶼豬與賓朗豬相比有 3 項目差異顯著 ($P < 0.05$) 如 K、Mg 及 P，與花斑豬相比有 3 項目差異顯著 ($P < 0.05$) 如 Mg、Na 及 P，與迷彩豬相比有 2 項目差異顯著 ($P < 0.05$) 如 K 及 P。而另觀察血液中電解質項目 Cl 及 Ca 於不同小型豬品種間比較均無差異顯著 ($P > 0.05$)，其中 K、Na 及 Cl 項目於不同小型豬品種檢測平均值較高於哥廷根小型豬。五指山小型豬、廣西巴馬小型豬及貴州小型豬，K、Na 及 Cl 項目於不同小型豬品種檢測平均值也較高於哥廷根小型豬 (楊等，2007；靳等，2007)。

血液是個體重要的內在環境，直接參與物質能量代謝及複雜的生化過程，血液生化項目檢測成為監測小型豬健康狀況，以及小型豬試驗過程中身體變化的主要依據，不僅能反應生理及健康狀況，也反應個體代謝情形 (Braun *et al.*, 2010)，然而這些項目受品種、生活環境、飼養管理及測定方法等因素的影響而呈現一定程度的差異 (Humann-Ziehank and Ganter, 2012)。試驗結果顯示，蘭嶼豬與賓朗豬相比有 14 項差異顯著 ($P < 0.05$) 如 AST、ALT、LDH、ALP、GLU、ALB、A/G、TP、TG、BUN、CREAT、K、Mg 及 P，與花斑豬相比有 8 項差異顯著 ($P < 0.05$) 如 GGT、CK、ALP、ALB、TG、Mg、Na 及 P，與迷彩豬相比有 10 項差異顯著 ($P < 0.05$) 如 ALT、ALP、GLU、ALB、TP、TG、CHOL、BUN、K 及 P。在親緣關係上蘭嶼豬跟花斑豬較近，其次是賓朗豬，而迷彩豬與李宋豬的親緣關係是較遠。本研究結果蘭嶼豬與賓朗豬品系間血液生化項目差異較大，顯示選育後的遺傳差異可能導致血液生化值在不同品種小型豬間的變異，形成不同品種間獨特的生物特徵。

蘭嶼豬血液生化項目處於人類正常參考值範圍中的有 10 項：AST、ALB、A/G、TP、BUN、CREAT、Mg、Na、Cl 及 Ca。賓朗豬血液生化項目處於人類正常參考值範圍中的有 7 項：A/G、TP、BUN、CREAT、Na、Cl 及 Ca。花斑豬血液生化項目處於人類值範圍中的有 9 項：AST、GGT、TP、A/G、BUN、CREAT、Na、Cl 及 Ca。迷彩豬血液生化項目處於人類正常參考值範圍中的有 9 項：A/G、TP、BUN、CREAT、K、Mg、Na、Cl 及 Ca。哥廷根小型豬處於人類正常參考值範圍中有 10 項：AST、GGT、LDH、GLU、ALB、A/G、CREAT、K、Mg 及 Ca。目前李宋豬文獻資料血液的 17 項生化項目處於人類正常參考值範圍中的亦有 8 項：ALT、ALB、TG、BUN、CREAT、Na、Cl 及 Ca，以上比較說明蘭嶼豬及哥廷根小型豬品種，血液生化項目檢測值較接近人類正常檢測值範圍，賓朗豬與人類的差異較大，產生這種差異的原因可能與不同品系之生物體的遺傳特性有關。此研究結果顯示某些特定的血液生化值在不同品種間呈現顯著差異，此結果提供選擇小型豬作為生物醫學研究模式時，亦須考慮品種間血液生化值的差異。

小型豬性成熟較商業豬種早，成熟時體重較低，其組織及器官解剖構造與人相似 (Svendsen, 2006; Nunoya *et al.*, 2007; Bode *et al.*, 2010)，一直是合適之實驗動物，國外研究機構開發選育體型小生醫用小型豬，有利於新藥之測試，檢測藥物使用量較低，及體型更易操作掌控 (Simianer and Köhn, 2010)，本研究所比較哥廷根小型豬，是目前最廣泛使用的試驗小型豬品種，係由德國哥廷根大學 1960 年開發選育，其品種組成來源由明尼蘇達小型豬、德國大白豬和越南大腹豬，德國哥廷根大學進行遺傳資源之維護，將性狀持續進行選拔及保持高度一致性。其相關之正常血液學和臨床生物化學之研究先前已有許多發表 (Petroianu *et al.*, 1997; Damm Jorgensen *et al.*, 1998; Christoffersen *et al.*, 2007, 2013; Alstrup, 2016; Ellegaard göttingen minipig, 2017)。另一對照本研究比較小型豬豬種為李宋豬，1975 年臺灣大學畜牧系自蘭嶼引進之一公三母小耳豬為基礎族群進行繁殖選育，供做育成李宋豬之母系品種 (maternal breed)。藍瑞斯豬種之原始種畜群係購自民間種豬場登錄種豬繁殖之後裔種公豬，並做為育成李宋豬之父系品種 (paternal breed)，以繁殖具有 75% 蘭嶼小耳豬與 25% 藍瑞斯豬血統；經全同胞或半同胞近親配種選育而成。李宋豬育成目標乃以選育出白色毛皮及具體型小之特徵，供應做為生醫用之實驗動物 (行政院農業委員會畜產試驗所，2015；財團法人農業科技研究院－臺灣大學動物科學技術學系，2019)。本研究中所探討四種 3 月齡小型豬資料，反應品種之間血液生化檢驗項目的差異可提供參考，並與同月齡李宋豬 (行政院農業委員會畜產試驗所，2015) 和哥廷根小型豬 (Ellegaard göttingen minipig, 2017) 進行比較，檢測大多數血液測定值接近。說明小型豬具有與人類相似的血液生化特性，但以小型豬的血液生化作為研究指標或對象時，需考慮品種特性、年齡、性別、個體代謝、營養供應、飼養管理、環境，及檢測方式和數量等方面不同而存在一定的差異。後續將持續增加檢測樣本數，及減少技

表 1. 蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬、迷彩豬、哥廷根小型豬和李宋豬血液中酵素活性項目的比較

Table 1. Comparison of blood enzyme activity parameters among the Lanyu pig, Binlang pig, Spotty Lanyu pig, Mitsai pig, Göttingen minipig and Leesung pig

Item	Human Reference	Lanyu pig (n = 20)	Binlang pig (n = 31)	Spotty Lanyu pig (n = 24)	Mitsai pig (n = 14)	Göttingen minipig ^A (n = 34)	Leesung pig ^B (n = 23)
AST (U/L)	5.0 – 40.0	39.6 ± 13.2 ^b	53.0 ± 12.6 ^a	40.9 ± 13.1 ^b	45.2 ± 17.9 ^{ab}	19.4 – 23.0	48.6 ± 12.8
ALT (U/L)	5.0 – 40.0	45.3 ± 7.7 ^b	56.0 ± 17.7 ^a	48.8 ± 10.1 ^{ab}	58.6 ± 14.0 ^a	47.0 – 56.5	40.9 ± 7.8
GGT (U/L)	0.0 – 60.0	70.0 ± 8.8 ^a	65.1 ± 9.1 ^a	58.0 ± 6.5 ^b	70.1 ± 9.0 ^a	54.6 – 58.2	—
CK (U/L)	24.0 – 175.0	528.6 ± 187.3 ^a	542.3 ± 259.0 ^a	327.0 ± 158.8 ^b	617.6 ± 213.5 ^a	235.3 – 299.4	—
ALP (U/L)	20.0 – 130.0	251.4 ± 65.6 ^b	320.9 ± 87.1 ^a	302.4 ± 71.0 ^a	330.6 ± 87.1 ^a	213.5 – 215.9	723.8 ± 100.6
LDH (U/L)	60.0 – 480.0	892.1 ± 129.0 ^b	1,009.1 ± 186.6 ^a	915.8 ± 141.3 ^{ab}	983.9 ± 154.1 ^{ab}	394.5 – 404.8	602.4 ± 108.1

AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, GGT: γ -Glutamyl transferase, CK: creatine kinase I, ALP: alkaline phosphatase, LDH: lactate dehydrogenase.

Values with different superscripts within a row are significantly different ($P < 0.05$).

^A The published profiles of Göttingen minipig (Ellegaard göttingen minipig, 2017).

^B The published profiles of Leesung pig (財團法人農業科技研究院－臺灣大學動物科學技術學系，2019a)。

表 2. 蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬、迷彩豬、哥廷根小型豬和李宋小型豬血液血糖、蛋白質及脂質項目的比較

Table 2. Comparison of blood sugar, protein, and lipid parameters among the Lanyu pig, Binlang pig, Spotty Lanyu pig, Mitsai pig, Göttingen minipig and Leesung pig

Item	Human Reference	Lanyu pig (n = 20)	Binlang pig (n = 31)	Spotty Lanyu pig (n = 24)	Mitsai pig (n = 14)	Göttingen minipig ^A (n = 34)	Leesung pig ^B (n = 23)
GLU (mmol/L)	3.9 – 5.6	7.1 ± 2.0 ^a	5.9 ± 1.0 ^b	6.4 ± 1.0 ^{ab}	5.9 ± 0.9 ^b	4.6 – 5.1	—
ALB (g/L)	35.0 – 50.0	36.5 ± 2.4 ^a	30.8 ± 4.0 ^c	32.2 ± 2.8 ^{bc}	33.4 ± 2.2 ^b	38.8 – 39.1	40.4 ± 2.3
A/G	1.0 – 2.0	1.2 ± 0.2 ^a	1.0 ± 0.3 ^b	1.1 ± 0.3 ^{ab}	1.2 ± 0.3 ^{ab}	1.2 – 1.3	2.2 ± 0.2
TP (g/L)	60.0 – 80.0	67.9 ± 3.5 ^a	63.8 ± 5.8 ^b	64.9 ± 8.0 ^{ab}	62.3 ± 6.3 ^b	52.3 – 52.8	59.2 ± 3.2
TG (mmol/L)	0.5 – 1.50	0.2 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.4 – 0.5	0.7 ± 0.3
CHOL (mmol/L)	3.1 – 5.2	2.5 ± 0.4 ^b	2.5 ± 0.3 ^b	2.5 ± 0.3 ^b	2.8 ± 0.3 ^a	1.7 – 2.2	2.6 ± 0.3
BUN (mmol/L)	2.1 – 7.9	3.0 ± 0.8 ^b	4.3 ± 0.8 ^a	3.4 ± 0.8 ^b	4.1 ± 1.0 ^a	1.9 – 2.2	4.2 ± 0.6
CREAT (umol/L)	53.0 – 132.6	110.5 ± 14.5 ^a	93.2 ± 13.7 ^b	106.1 ± 13.8 ^a	102.9 ± 15.7 ^a	59.5 – 62.5	82.2 ± 7.1

GLU: glucose, ALB: albumin, A/G: albumin/globulin, TP: total protein, TG: triglycerides, CHOL: cholesterol, BUN: blood urea nitrogen, CREAT: creatinine.

Values with different superscripts within a row are significantly different ($P < 0.05$).

^A The published profiles of Göttingen minipig (Ellegaard göttingen minipig, 2017).

^B The published profiles of Leesung pig (財團法人農業科技研究院－臺灣大學動物科學技術學系，2019a)。

表 3. 蘭嶼豬、賓朗豬、花斑豬、迷彩豬、哥廷根小型豬和李宋小型豬血液電解質項目的比較

Table 3. Comparison of blood electrolyte parameters among the Lanyu pig, Binlang pig, Spotty Lanyu pig, Mitsai pig, Göttingen minipig and Leesung pig

Item	Human Reference	Lanyu pig (n = 20)	Binlang pig (n = 31)	Spotty Lanyu pig (n = 24)	Mitsai pig (n = 14)	Göttingen minipig ^A (n = 34)	Leesung pig ^B (n = 23)
K (mmol/L)	3.5 – 5.5	6.6 ± 0.6 ^a	5.9 ± 0.9 ^b	6.1 ± 1.1 ^{ab}	5.3 ± 0.7 ^c	4.0 – 4.1	7.3 ± 1.7
Mg (mmol/L)	0.7 – 1.0	1.0 ± 0.1 ^b	1.1 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.1 ^b	0.9 – 1.0	1.1 ± 0.1
Na (mmol/L)	135.0 – 155.0	141.0 ± 1.9 ^a	140.5 ± 2.4 ^{ab}	139.3 ± 2.1 ^b	140.0 ± 1.7 ^{ab}	133.0 – 134.2	145.6 ± 4.8
Cl (mmol/L)	96.0 – 106.0	103.2 ± 2.2 ^a	102.5 ± 2.1 ^a	102.0 ± 2.6 ^a	102.7 ± 1.4 ^a	91.7 – 92.5	104.6 ± 1.4
Ca (mmol/L)	2.1 – 2.9	2.5 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.2 ^a	2.4 – 2.5	2.9 ± 0.2
P (mmol/L)	0.8 – 1.5	2.8 ± 0.2 ^a	2.3 ± 0.3 ^c	2.6 ± 0.3 ^b	2.5 ± 0.3 ^{bc}	2.4 – 2.5	2.8 ± 0.4

K: potassium, Mg: magnesium, Na: sodium, Cl: chloride, Ca: calcium, P: phosphorus.

Values with different superscripts within a row are significantly different (P < 0.05).

^A The published profiles of Göttingen minipig (Ellegaard göttingen minipig. 2017).

^B The published profiles of Leesung pig (財團法人農業科技研究院－臺灣大學動物科學技術學系，2019a)。

術誤差等方面之影響，使之更加完備齊全、結果更加準確。本研究結果將不同實驗用小型豬血液生化檢測項目，進行了測定與分析，以期全面認識不同種系之小型豬血液生化特性，提供選擇小型豬做為醫學研究實驗動物之參考資料。

誌 謝

本試驗承行政院農業委員會科技計畫 (106 農 -2.5.4- 畜 -L1) 經費補助，試驗期間承蒙臺東種畜繁殖場許聰明、蕭強、黃德昇及林穎昇等同仁之協助，特此誌謝。

參考文獻

- 王愛德、郭亞芬、李柏、胡傳活、魏泓。2001。巴馬小型豬血液生化指標。上海實驗動物科學。21：8-12。
- 臺東種畜繁殖場。1996。小型豬。臺灣省畜產試驗所臺東種畜繁殖場編印。pp. 1-16。
- 李啟忠、陳文誠、曾晉郎、張秀鑾、吳明哲。1998。蘭嶼豬近親品系之白色斑和棕色斑體色選拔。中畜會誌 8：109-113。
- 吳昇陽、章嘉潔。2018。蘭嶼豬血液生化性狀之分析。畜產研究 51：157-165。
- 行政院農業委員會。2007。生醫用小型豬的選育與應用。行政院農業委員會首頁。統計與出版品。農業出版品。農政與農情。96 年 8 月第 182 期。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2010。實驗用小型豬生產與供應。<http://minipigs.angrin.tlri.gov.tw/modules/tinyd0/index.php?id=23>。2019 年 2 月 21 日引用。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2015。李宋豬新品種審定書。<http://www.angrin.tlri.gov.tw/NewBreed/2015/LS-NTU.pdf>。2019 年 2 月 21 日引用。
- 怡仁綜合醫院。2019。血液、生化檢查。<http://www.yeezen.com.tw/hcenter/HCPicture/> 四、血液、生化檢查 .pdf。2019 年 2 月 21 日引用。
- 新光吳火獅紀念醫院病理檢驗科。2019。檢查結果解讀。<http://www.skh.org.tw/blood/test5.html>。2019 年 2 月 21 日引用。
- 財團法人農業科技研究院 - 臺灣大學動物科學技術學系。2019a。血液生理與其他生理值資料。https://leesung.atri.org.tw/base_data/page/4/4。2019 年 2 月 21 日引用。
- 財團法人農業科技研究院 - 臺灣大學動物科學技術學系。2019b。李宋小型試驗豬。<https://leesung.atri.org.tw>。2019 年 2 月 21 日引用。
- 閔凡貴、王希龍、袁文、張鈺、潘金春、王靜。2008。封閉群五指山小型豬血液生理生化指標的測定。中國實驗動物學報：16：373-376。
- 楊述林、任紅豔、王恒、馮書堂、王愛德、甘世祥、李奎。2007。3 個中國實驗用小型豬品種血液生化指標分析。中國畜牧獸醫：34：75-80。
- 靳洪濤、凡春榮、李慧、李晉、李吉濤、王學鋒、馮書堂、王愛平。2007。實驗用五指山小型豬正常生理值測定。實驗動物科學：24：69-73。
- Alstrup, A. K. 2016. Blood Lactate concentrations in Göttingen minipigs compared with domestic pigs. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 55: 18-20.
- Bai, Y., L. Hu, D. Yu, S. Peng, M. Zhang, X. Liu and Y. Gu. 2017. A simple method of placing a coronary sinus catheter through the femoral vein in miniature swine. Exp. Ther. Med. 13: 1604-1607.
- Bode, G., P. Clausen, F. Gervais, J. Loegsted, J. Luft, V. Nogues and J. Sims. 2010. The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. J. Pharmacol. Toxicol. Methods 62: 196-220.
- Bollen, P. J. A. and L. Ellegaard. 1996. Developments in breeding miniature swine for experimental purposes. In: Advances in Swine for Biomedical Research. Vol. I. eds. Tumbleson, M. E. and Schook, L. B. Plenum Press, New York. pp. 59-66.
- Braun, J. P., C. Trumel and P. Bezille. 2010. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. Small Rumin. Res. 92: 10-18.
- Christoffersen, B. O., N. Grand, V. Golozoubova, O. Svendsen and K. Raun. 2007. Gender-associated differences in metabolic syndrome-related parameters in Göttingen minipigs. Comp. Med. 57: 493-504.

- Christoffersen, B., V. Golozoubova, G. Pacini, O. Svendsen and K. Raun. 2013. The young Göttingen minipig as a model of childhood and adolescent obesity: Influence of Diet and Gender. *Obesity* 21: 149-158.
- Damm Jorgensen, K., T. S. A. Kledal, O. Svendsen and N. E. Skakkeboek. 1998. Hematological and clinical chemical values in pregnant and juvenile Göttingen minipigs. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 25: 181-190.
- Doornenbal, H., A. K. Tong and A. P. Sather. 1986. Relationships among serum characteristics and performance and carcass traits in growing pigs. *J Anim Sci.* 62: 1675-1681.
- Duan, Y., X. Yan, L. Wei, C. Bensimon, P. Fernando and T. D. Ruddy. 2016. Acute and subacute toxicity studies of CMICE-013, a novel iodinated rotenone-based myocardial perfusion tracer, in Sprague Dawley rats and Göttingen minipigs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 80: 195-209.
- Eggum, B. O. 1970. Blood urea measurement as a technique for assessing protein quality. *Brit. J. Nutr.* 24: 983-988.
- Ellegaard, L., K. D. Jorgensen, S. Kjastrup, A. K. Hansen and O. Svendsen. 1995. Hematologic and clinical chemical values in 3 and 6 months old Göttingen minipigs. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 22: 239-248.
- Ellegaard göttingen minipigs. 2017. Human reference hematological parameters source.http://minipigs.dk/uploads/media/Clinical_chemistry_Background_data.pdf.
- Harapin, I., L. Bedrica, V. Hahn, B. Šoštaric and D. Gračner. 2003. Haematological and biochemical values in blood of wild boar. *Veterinarski. arhiv.* 73: 333-343.
- Humann-Ziehank, E. and M. Ganter. 2012. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. *Animal* 6: 1115-1123.
- Kawaguchi, H., T. Yamada, N. Miura, Y. Takahashi, T. Yoshikawa, H. Izumi, T. Kawarasaki, N. Miyoshi and A. Tanimoto. 2012. Reference values of hematological and biochemical parameters for the world smallest microminipigs. *J. Vet. Med. Sci.* 74: 933-936.
- Lignet, F., E. Sherbetjian, N. Kratochwil, R. Jones, C. Suenderhauf, M. B. Otteneder, T. Singer and N. Parrott. 2016. Characterization of pharmacokinetics in the göttingen minipig with reference human drugs: an in vitro and in vivo approach. *Pharm. Res.* 33: 2565-2579.
- Lorenzen, E., J. S. Agerholm, A. B. Grossi, A. M. Bojesen, C. Skytte, K. Erneholm, F. Follmann and G. Jungersen. 2016. Characterization of cytological changes, IgA, IgG and IL-8 levels and pH value in the vagina of prepubertal and sexually mature Ellegaard Göttingen minipigs during an estrous cycle. *Dev. Comp. Immunol.* 59: 57-62.
- Nunoya, T., K. Shibuya, T. Saitoh, H. Yazawa, K. Nakamura, Y. Baba and T. Hirai. 2007. Use of miniature pig for biomedical research with reference to toxicologic studies. *J. Toxicol. Pathol.* 20: 125-132.
- Ochoa, M., D. Val-Lille, J. P. Ladles, P. Maurice and C. H. Albert. 2016. Obesogenic diets have deleterious effects on fat deposits irrespective of the nature of dietary carbohydrates in a Yucatan minipig model. *Nutr. Res.* 36: 947-954.
- Ohaeri, C. C. and M. C. Eluwa. 2011. Abnormal biochemical and hematological indices in trypanosomiasis as a threat to herd production. *Vet. Parasitol.* 177: 199-202.
- Petroianu, G., W. Maleck, S. Almannsberger, A. Jatzko and R. Rufer. 1997. Blood coagulation, platelets and haematocrit in male, female, and pregnant Göttingen minipigs. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 24: 31-40.
- Polizopoulou, Z. S. 2010. Hematological tests in sheep health management. *Small Rumin. Res.* 92: 88-89.
- SAS. 2011. SAS User's Guide: Statistics, SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA.
- Simianer, H. and F. Köhn. 2010. Genetic management of the göttingen minipig population. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 62: 221-226.
- Mayengbam, P and T. C. Tolengkomba. 2015. Seasonal variation of hemato-biochemical parameters in indigenous pig: Zovawk of Mizoram. *Vet. World* 8: 732-737.
- Smith, A. C. and M. M. Swindle. 2006. Preparation of swine for the laboratory. *ILAR J* 47: 358-363.
- Svendsen, O. 2006. The minipig in toxicology. *Exp. Toxicol. Pathol.* 57: 335-339.
- Talebi, A., S. Asri-Rezaei, R. Rozeh-Chai and R. Sahraei. 2005. Comparative studies on hematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *Int. J. Poultry Sci.* 4: 573-579.
- Xie, C., X. Wu, J. Li, Z. Fan, C. Long, H. Liu, P. C. Even, F. Blachier and Y. Yin. 2015. Effects of the sequence of isocaloric meals with different protein contents on plasma biochemical indexes in pigs. *PLoS One.* 10: e0125640.

Reference values of biochemical parameters among minipigs of difference breeds ⁽¹⁾

Sheng-Yang Wu ⁽²⁾ and Chia-Chieh Chang ⁽²⁾⁽³⁾

Received: Apr. 25, 2019; Accepted: Aug. 19, 2019

Abstract

The aim of this study was to compare the differences of blood biochemical parameters among the Lanyu pig, Binlang pig, Spotty Lanyu pig and Mitsai pig. This assay was aimed to determine the blood biochemical parameters, so as to provide the blood reference values for minipigs. Twenty biochemical blood parameters were measured using automatic biochemical analyzer and the differences between different groups were analyzed. Present results showed 14 blood biochemical parameters had significant differences between Lanyu pig and Binlang pig ($P < 0.05$); While 8 blood biochemical parameters were significant difference between the Lanyu pig and Spotty Lanyu pig ($P < 0.05$) and 10 indices were significant differences between the Lanyu pig and Mitsai pig ($P < 0.05$). The results showed these 10 blood biochemical parameters of Lanyu pig were similar to those of human beings, which included AST, ALB, A/G, TP, BUN, CREAT, Mg, Na, Cl and Ca. Seven blood biochemical parameters of Binlang pig were measured in the average range of normal blood biochemical parameters in human reference ranges; 9 blood biochemical parameters in Spotty Lanyu pig and Mitsai pig were closer to those of human. Compared with human beings, 10 of 20 biochemical blood parameters in Lanyu pigs were similar, so it might be more suitable laboratory animals for biomedical researchs. Throughout the comparison of among the four minipig breeds and Göttingen minipig, Leesung pig, as well as the human, reference values of biochemical parameters those important information could be served as biological characteristics of reference databases.

Key words: Minipig, Biochemical parameter, Blood.

(1) Contribution No. 2623 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Taitung Animal Propagation Station, COA-LRI, Taitung 95444, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: janices@mail.tlri.gov.tw.

商用土番鴨、北京鴨和紅面番鴨胸肉理化分析⁽¹⁾

李孟儒⁽²⁾ 陳文賢⁽²⁾ 涂榮珍⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：108 年 5 月 23 日；接受日期：108 年 8 月 28 日

摘 要

本試驗目的在於分析臺灣現今主要肉鴨品種之肉質基礎資料。鴨隻來源為國內商用土番鴨、北京鴨和紅面番鴨，試驗處理組分為土番鴨胸肉 (MD)、北京鴨胸肉 (PD) 和紅面番鴨胸肉 (MU)，分析項目計有一般組成分、色澤、剪切值、保水性、胺基酸組成分、脂肪酸組成分、氧化酸敗值和總生菌數。試驗結果顯示，MU 組之水分含量為 73.53% 顯著低於其他組，而粗蛋白質和粗脂肪則顯著最高。PD 組具有最高之 L 值 (32.79) 和最低之 a 值 (14.67)，b 值最高為 MU 組 (3.35)。剪切值方面，各組間皆具顯著差異，以 MU 組最高，PD 組最低，蒸煮失重以 MD 組 31.29% 最高，三組之 pH 值無顯著差異，介於 6.07 – 6.14 之間。胺基酸組成分方面，三組皆以麩胺酸含量最高，為 2.86% – 3.03%，而總胺基酸含量各組無顯著差異。MU 組具有最高比例之飽和脂肪酸和最低比例之多元不飽和脂肪酸，單元不飽和脂肪酸於三組間無顯著差異。MU 組於 4℃ 冷藏 1 週後其氧化酸敗值 (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS) 0.52 mg/kg，顯著低於其他組。此三種品種鴨肉之堅實度具顯著差異，綜上所述，可利用此特色搭配不同溫度之熱處理、嫩化或熟成等加工方式開發多樣化鴨肉產品，以增加消費量，本試驗相關數據可供加工業者參考應用。

關鍵詞：土番鴨、北京鴨、紅面番鴨、胸肉、理化分析。

緒 言

土番鴨 (Mule duck)、北京鴨 (Pekin duck) 和紅面番鴨 (Muscovy) 為臺灣主要肉鴨品種，依據行政院農業委員會 107 年第 1 季畜禽統計調查結果指出，臺閩地區肉鴨飼養總隻數為 540 餘萬隻，主要分布在雲林縣 (32.25%)、屏東縣 (27.66%) 和彰化縣 (16.65%)，其中土番鴨、紅面番鴨和北京鴨飼養隻數各約佔總飼養隻數之 75.88、2.31 和 21.80%(行政院農業委員會畜禽統計調查結果，2018)。

土番鴨為公番鴨與母菜鴨、改鴨或北京鴨之雜交後代，雜交之土番鴨不具生殖能力，國內早期飼養雜交二品種土番鴨 (公番鴨與母菜鴨)，近年則以飼養三品種土番鴨 (公番鴨與母改鴨) 為主，三品種土番鴨兼具番鴨肉質佳及北京鴨生長快之優點，飼養成本低且瘦肉量高 (Baeza *et al.*, 2000)，較符合國內主要市場需求，另有利用公番鴨與北京母鴨雜交生產大型土番鴨，以供應部分市場需要 (賴，2008)。

國內北京鴨以英國櫻桃谷 (Cherry valley) 鴨品系為主，北京鴨生長快速，脂肪堆積較多，以往主要是提供冷凍鴨肉外銷日本，後轉為內銷以契約模式飼養為主，產品有不同規格生鮮部位肉或鴨肉加工品於主要通路進行銷售。紅面番鴨又稱番鴨、麝香鴨，早期以飼養黑色番鴨為主，後有白色番鴨品系，在國內主要供應薑母鴨市場需求，屬臺灣在地的特殊季節性食補料理食材，故需求變化幅度相對較大，因此可加以開發新產品，增加番鴨產品之多元性 (財團法人中央畜產會，2018)。

由於瞭解鴨肉品質差異對於發展鴨肉加工品具有密切關係，但相關肉質分析資料並不充足。陳等 (1984) 進行了土番鴨和櫻桃鴨之屠體性狀、化學組成和氧化酸敗值 (TBA value) 等分析，結果指出櫻桃鴨肌肉脂肪和皮下脂肪較土番鴨高，適合用於烤鴨，而土番鴨肉質鮮美受到消費者喜愛，適合用於各種臺式鴨肉料理。潘等 (1985) 亦指出北京鴨較易蓄積體脂，且屠體重和胸肉重皆顯著高於大改、中改和花改土番鴨。國外相關文獻資料較為詳細，除了鴨肉一般組成分、色澤、物性和脂肪酸組成等分析之外，品種和性別間差異亦有探討。例如 Baeza *et al.* (2000) 指出土

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2624 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所加工組。

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

番鴨之性別差異對體重、肉質、胸肉化學組成並不造成顯著影響，因此公、母土番鴨可於 10 週齡後一同進行屠宰。Wawro *et al.* (2004) 指出北京公鴨體重雖較北京母鴨重，但性別差異對北京鴨體重性狀之關聯性低，對胸肉重量亦無顯著影響，而公、母番鴨之體重、胸肉、腿肉等性狀則具有性別顯著差異。

以往國內對於本土鴨肉理化分析之報告較少，考量近 20 年臺灣鴨隻飼養技術的精進、品種選育、飼養管理和飼料配方改良等因素，可能對鴨肉品質造成影響，故本試驗目的在於分析臺灣現今主要肉鴨品種之肉質基礎資料，以期提供相關加工業者參考應用。

材料與方法

I. 鴨隻來源及取樣方式

本試驗選定國內商用土番鴨、北京鴨和紅面公番鴨，鴨隻購自冷凍屠宰場 (振聲農業科技有限公司，屏東，臺灣)，三種品種鴨隻各 15 隻。土番鴨飼養週齡 11 – 12 週，不分公母平均屠體重約 2.64 kg；北京鴨飼養週齡 10 – 11 週，不分公母平均屠體重約 2.50 kg；紅面公番鴨飼養週齡 17 – 18 週，平均屠體重約 5.07 kg。業者提供鴨隻為屠宰後經 -40℃ 急速冷凍 48 小時之商用鴨屠體，將三種鴨隻屠體置於冷藏 4℃ 至完全解凍，每種鴨於 15 隻中隨機挑選 5 隻不同個體，切取其鴨胸肉進行試驗分析，試驗組分為土番鴨胸肉 (MD)、北京鴨胸肉 (PD) 和紅面番鴨胸肉 (MU)。

II. 分析方法

(i) 一般組成分

依據 A.O.A.C. (2005) 之方法進行。秤取絞碎樣品 3 – 4 g 置於已乾燥至恆重之坩鍋中，移入烘箱，以 105℃ 加熱 4 – 5 hr，取出秤重，再移入烘箱中 1 – 2 hr 後取出秤重，直至恆重為止，計算乾燥前後之失重量換算百分比即得水分百分比含量。精秤絞碎樣品 2 – 3 g，放入圓筒濾紙 (Advantec No.84, Advantec, Japan) 中，利用 Soxhlet 裝置使用乙醚連續萃取 16 hr 後，測定粗脂肪含量。取絞碎樣品 1.00 g 利用凱氏法進行含氮量分析，將含氮量 $\times 6.25$ ，即得粗蛋白質量。取 4 – 5 g 乾燥樣品置於坩鍋中，移入高溫灰化爐中 (Furance 6038C, Thermolyne, USA)，升溫至 105℃ 維持 1 hr，再升溫至 600℃ 維持 6 hr，隨後冷卻至 105℃ 取出秤重，計算灰化前後之重量差異，換算百分比即為灰分含量。

(ii) 色澤

利用色差儀 (Color and Color Difference Meter TC-1, Tokyo Denshoku Co., Japan) 測定樣品之亮度、紅度和黃光度 (L、a 及 b 值)。將鴨胸樣品平放於測試孔上進行測定，每一塊鴨胸測定 3 次，每一品種重複測定 5 次後進行統計分析。

(iii) 剪切值 (Shear value)

將鴨胸樣品裝入真空袋中以 80℃ 水浴加熱 40 min，冷卻至室溫後，順著肌纖維走向切成長、寬、高為 3 × 1 × 1 cm 之長方體，並利用物性測定儀 (TA-XT-plus, Stable Micro Systems, UK) 測定剪切值，最大負載重量為 30 kg；測試套組使用 HDP/BS 切刀和 HDP/90 模具 (TA-XT-plus, Stable Micro Systems, UK)，將長方體鴨胸肉條穩固於模具平面，測定速度為 5.0 mm/sec，下壓距離 5.0 mm，系統自動計算記錄最大受力和總做功，分別為堅實度 (Firmness) 和韌度 (Toughness)。

(iv) 蒸煮失重

依 Wal van der *et al.* (1993) 方法進行測定。將完整鴨胸樣品裝入真空袋中以 80℃ 水浴加熱 40 min，測定樣品滲出汁液重與蒸煮前樣品原始重量之百分率。

(v) 氧化酸敗值 (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS)

參考 Faustman and Cassens (1991) 之方法修正後測定。取切碎鴨胸樣品 10 g 加入 20% TCA 25 mL 及 20 mL 蒸餾水，以均質機 (PH-91, SMT 株式會社, JAPAN) 10,000 rpm 均質 2 min。均質後以 4℃，6,000 g 離心 20 min，離心後以 Advantec No.1 濾紙過濾，取濾液 4 mL 加入 4 mL 0.02 M Thiobarbituric Acid，混和後於滾水加熱 35 min。試液冷卻後，以分光光譜儀 (U-2900, HITACHI, JAPAN) 於波長 532 nm 下測定其吸光值，TBARS 值的計算公式為 $A_{532} \times 7.8$ 。

(vi) 胺基酸組成分

委託畜產試驗所化驗中心測定，測定方法依據 A.O.A.C. 994. 13. Amino acids in feed - Acid hydrolysis method(2005) 修正後進行測定。將鴨胸肉細切混勻，秤取 0.2 g 樣品置入 15 mL Pyrex 玻璃管內，加入 6 N HCl 10 mL 溶液後抽真空，置於 115 ± 5℃ 加熱器進行酸水解 24 hr。冷卻後，將酸水解物以濾紙過濾並定量

至 100 mL 後，以真空濃縮機去除酸液，再加 1 mL 蒸餾水洗淨後再次真空抽乾，以去除鹽酸殘留，之後取 0.02 N HCl 1 mL 將樣品振盪溶出後，以 0.22 μ m 濾膜過濾，取濾液 20 μ L 利用胺基酸分析儀分析。胺基酸濃度換算公式如下：

$$\text{胺基酸 (\%)} = \frac{\text{分子量 (g/mole)} \times C \times D}{V \times 10,000 \times W \times \text{回收率}}$$

C：檢液注入胺基酸系統後，得到試樣層析圖，經與標準液層析圖做面積比，計算後即得胺基酸個別量 (nmole)。

D：稀釋倍數

V：檢液注入量

W：樣品重 (g)

回收率：每批次測定所得酪蛋白總氮濃度除標準添加酪蛋白總氮濃度 $\times 100\%$

(vii) 脂肪酸組成分

委託食品工業研究所進行測定，測定方法依據衛生福利部 102.11.28 部授食字第 1021950978 號公告，訂定食品中脂肪酸之檢驗方法，將鴨胸肉細切混勻後以酸水解法萃取粗脂肪。萃取後進行皂化及酯化各 15 min，冷卻後加入正己烷 1 mL 混合 1 min，加入飽和氯化鈉溶液 6 mL 輕搖，靜置分層，取上層液至褐色樣品瓶中，加入少量無水硫酸鈉，經濾膜過濾後供作檢液，注入氣相層析儀 (TRACETM GC Ultra, Thermo, USA) 中進行氣相層析，管柱為 HP-88 毛細管，內膜厚度 0.2 μ m，內徑 0.25 mm \times 100 m，定量極限為 0.05%，試驗結果以脂肪百分比表示。

(viii) 總生菌數

依 Maturin and Peeler (1995) 之方法修正後進行測定。以滅菌剪刀剪取樣品 25 g 移入無菌袋，加入無菌蛋白胨水 225 mL (秤取蛋白胨 1 g 加入無菌水定量至 1,000 mL)，將無菌袋放入鐵胃 (Model 400, Seward, England) 均質 3 min，並取均質液 1 mL，加入無菌水 9 mL，作成 10 倍之稀釋液，依需求製成 10^2 、 10^3 、 10^4 倍之稀釋液，各取稀釋液 1 mL，接種於 Plate count agar 培養基，於 37°C 恆溫培養箱 (DB-72，博高科儀，臺灣) 中進行培養 48 ± 3 hr，培養完成後計算其菌落數。

III. 統計分析

試驗樣品完成後進行各項性狀測定，每種分析項目皆進行 3 重複測定，將所得數據利用 Sigmaplot 統計套裝軟體 (Version 12.0; Systat Software, Inc., CA, 2010) 以 One-way ANOVA 進行變方分析，並以鄧肯式新多變異法比較各組平均值之差異顯著性 ($P < 0.05$)。

結果與討論

I. 不同品種鴨胸肉之一般組成分析

土番鴨胸肉 (MD)、北京鴨胸肉 (PD) 和紅面番鴨胸肉 (MU) 之水分、粗蛋白質、粗脂肪和灰分分析結果如表 1 所示。MU 組之水分含量為 73.53% 顯著低於其他組，而粗蛋白質和粗脂肪則顯著最高，灰分於各組間無顯著差異。Omojola(2007) 報告中北京鴨和紅面番鴨胸肉水分含量分別為 74.71 — 75.62% 和 72.69 — 73.55%，與本試驗結果類似；另 Baeza *et al.* (2000) 飼養 8 至 13 週土番鴨研究中顯示，飼養週齡越長，胸肉水分含量下降、粗脂肪和蛋白質含量上升，且與性別差異無顯著關係，故推測本試驗除品種間差異外，紅面番鴨飼養週數較土番鴨和北京鴨長，亦應會影響一般組成分之含量。

II. 不同品種鴨胸肉之色澤分析

肉色一般直接影響消費者購買意願，通常為肉品品質判斷的標準。本試驗 MD、PD 和 MU 各組之色澤差異以肉色亮度 (L) 值、紅色度 (a) 值、黃色度 (b) 值檢測結果表示，詳如表 2。各組之 L 值皆具顯著差異，以 PD 組 L 值 32.79 最高，MD 組次之，MU 組最低；a 值以 PD 組 14.67 顯著低於其他二組，MD 和 MU 組間無顯著差異；b 值以 MU 組 3.35 顯著高於其他 2 組，MD 和 PD 組間無顯著差異。Huda *et al.* (2011) 研究中指出血紅素或水分含量為影響亮度之可能原因，例如肉雞雞胸絞肉水分含量越高，會導致亮度上升，而本試驗 MU 組因飼養週齡長水分含量最低，亮度亦為三組中最低。Chartrin *et al.* (2006) 研究中提到三種鴨品種之 L 值和 b 值具品種間差異，且紅面番鴨 L 值和 b 值顯著最高，雖然 L 值雖與本試驗相反，但該研究紅面番鴨胸肉水分含量最高，仍符合水分含量和亮度之正相關。Chartrin *et al.* (2006) 亦指出鴨隻經過量餵食較任飼具有較高之 b 值，可能與飼

料中玉米之脂溶性葉黃素累積有關，而胸肉含有較高脂肪含量亦會有更高的黃色度，由於本試驗中紅面番鴨胸肉粗脂肪含量高且飼養週齡長，推測為黃色度較高之因素。

表 1. 不同鴨品種胸肉之一般組成分析

Table 1. The proximate analysis of breast meat of different duck breeds

	MD	PD	MU
Moisture, %	75.65 ± 0.42 ^{a*}	75.54 ± 0.35 ^a	73.53 ± 1.27 ^b
Crude protein, %	21.74 ± 0.44 ^b	21.69 ± 0.40 ^b	22.93 ± 0.31 ^a
Crude fat, %	0.25 ± 0.18 ^b	0.93 ± 0.45 ^b	1.98 ± 0.78 ^a
Ash, %	1.47 ± 0.14 ^a	1.39 ± 0.12 ^a	1.54 ± 0.24 ^a

MD: breast meat of Mule duck; PD: breast meat of Pekin duck; MU: breast meat of Muscovy.

* Mean ± standard deviation.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

表 2. 不同品種鴨胸肉之色澤分析

Table 2. The lightness (L-value), redness (a-value) and yellowness (b-value) values of breast meat of different duck breeds

	MD	PD	MU
L-value	32.01 ± 0.82 ^{b*}	32.79 ± 1.00 ^a	28.48 ± 1.07 ^c
a-value	15.68 ± 0.49 ^a	14.67 ± 0.93 ^b	15.76 ± 0.65 ^a
b-value	2.62 ± 0.35 ^b	2.63 ± 0.33 ^b	3.35 ± 0.62 ^a

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

* Mean ± standard deviation.

^{a, b, c} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

III. 不同品種鴨胸肉之物性和蒸煮失重分析

各組鴨胸肉之剪切值和蒸煮失重分析詳如表 3。剪切值檢測結果，堅實度以 MU 組 6.64 kg 顯著高於 MD 和 PD 組之 3.91 kg 和 3.00 kg，韌度以 MU 組 11.64 kg × sec 最高，PD 組最低，各組間皆具顯著差異。蒸煮失重以 MD 組 31.29% 顯著高於其他兩組，PD 和 MU 組間無顯著差異。Omojola (2007) 測得紅面番鴨胸肉之剪切值稍高於北京鴨，但無顯著差異，而保水性 (water holding capacity) 和蒸煮失重亦無顯著差異。Chartrin *et al.* (2006) 和 Huda *et al.* (2011) 研究顯示北京鴨相較於紅面番鴨之胸肉，具有較低之剪切值和較高之蒸煮失重，且北京鴨與紅面番鴨具有品種間差異。保水性可能因品種或各地區飼養週數不同而有所差異，但剪切值受到肌內脂肪含量及肌纖維等因素影響 (Huda *et al.*, 2011)，皆以紅面番鴨胸肉最堅韌，北京鴨胸肉最為軟嫩。

表 3. 不同品種鴨胸肉之剪切值、蒸煮失重和 pH 值分析

Table 3. The shear values, cooking loss and pH value of breast meat of different duck breeds

	MD	PD	MU
Firmness, kg	3.91 ± 0.44 ^{b*}	3.00 ± 0.35 ^c	6.64 ± 0.57 ^a
Toughness, kg × sec	7.58 ± 1.18 ^b	5.55 ± 0.82 ^c	11.64 ± 1.37 ^a
Cooking loss, %	31.29 ± 0.88 ^a	28.20 ± 1.56 ^b	29.20 ± 1.15 ^b
pH	6.07 ± 0.06 ^a	6.11 ± 0.16 ^a	6.14 ± 0.09 ^a

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

* Mean ± standard deviation.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

IV. 不同品種鴨胸肉之胺基酸組成分分析

各組鴨胸肉之胺基酸組成分分析結果如表 4。三試驗組鴨胸肉皆以麩胺酸 (glutamic acid) 含量最高，為 2.86 — 3.03%，其次為天門冬胺酸 (aspartic acid) 1.85 — 1.95%，第三為離胺酸 (lysine) 1.80 — 1.87%，而各組鴨胸肉之總胺基酸含量無顯著差異，介於 18.81 — 19.60% 之間。本試驗結果與 Aronal *et al.* (2012) 之北京鴨和紅面番鴨胸肉之胺基酸含量趨勢相符，且該研究指出於兩品種間亦無顯著差異。

表 4. 不同品種鴨胸肉之胺基酸組成分分析

Table 4. The amino acid composition of breast meat of different duck breeds

	MD	PD	MU
Aspartic acid	1.85 ± 0.11*	1.95 ± 0.04	1.89 ± 0.07
Threonine	0.94 ± 0.05	0.98 ± 0.03	0.96 ± 0.04
Serine	0.81 ± 0.05	0.84 ± 0.03	0.82 ± 0.03
Glutamic acid	2.86 ± 0.20	3.03 ± 0.07	2.97 ± 0.12
Proline	0.76 ± 0.03	0.76 ± 0.02	0.68 ± 0.03
Glycine	0.89 ± 0.04	0.89 ± 0.01	0.87 ± 0.06
Alanine	1.21 ± 0.06	1.25 ± 0.02	1.23 ± 0.05
Cystine	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.04 ± 0.01
Valine	1.03 ± 0.05	1.12 ± 0.04	1.08 ± 0.10
Methionine	0.48 ± 0.06	0.46 ± 0.10	0.54 ± 0.02
Isoleucine	0.90 ± 0.04	0.95 ± 0.03	0.91 ± 0.06
Leucine	1.71 ± 0.09	1.79 ± 0.03	1.75 ± 0.07
Tyrosine	0.71 ± 0.04	0.72 ± 0.02	0.71 ± 0.03
Phenylalanine	0.93 ± 0.05	0.97 ± 0.03	0.98 ± 0.04
Lysine	1.80 ± 0.10	1.87 ± 0.03	1.83 ± 0.06
Histidine	0.56 ± 0.04	0.62 ± 0.03	0.55 ± 0.03
Arginine	1.32 ± 0.08	1.36 ± 0.01	1.32 ± 0.05
Total	18.81 ± 1.02 ^a	19.60 ± 0.27 ^a	19.12 ± 0.82 ^a

Unit of amino acid: g /100 g.

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

* Mean ± standard deviation.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

V. 不同品種鴨胸肉之脂肪酸組成分分析

表 5 為各組鴨胸肉之脂肪酸組成分分析。MU 組之棕櫚酸 (C16:0) 比例顯著最高，亞麻油酸 (C18:2 ω6) 比例以 MD 組顯著最高，且三組皆具顯著差異；而硬脂酸 (C18:0)、油酸 (C18:1) 和花生四烯酸 (C20:4 ω6) 於各組間無顯著差異。飽和脂肪酸 (Saturated fatty acid, SFA) 比例以 MU 組 (38.63%) 顯著最高，多元不飽和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) 比例則以 MD 組 (41.16%) 最高，而各組之單元不飽和脂肪酸 (Monounsaturated fatty acid, MUFA) 無顯著差異。Aronal *et al.* (2012) 研究中顯示，北京鴨和紅面番鴨胸肉之棕櫚酸比例無顯著差異，但北京鴨胸油酸比例為 26.89% 顯著低於紅面番鴨胸肉之 36.45%，而該報告兩種鴨胸肉之 SFA、MUFA 和 PUFA 比例高低與本試驗結果相符。Baeza *et al.* (2000) 飼養 11 週之土番鴨肉質研究顯示，土番鴨胸肉含飽和 SFA、MUFA 和 PUFA 分別為 35.29、32.08 和 32.12%，與本試驗結果略有不同，推測鴨肉可能因各地飼養方式、飼料配方和週齡等因素，造成脂肪酸組成比例互有差異，但相關報告皆顯示紅面番鴨之 SFA 最高。

VI. 不同鴨品種胸肉冷藏期間總生菌數之變化

消費者在市面上採購的冷藏肉，一般建議保存期限只有 2 — 3 天。本試驗鴨胸肉均採真空包裝，故於 4℃ 冷

藏 1 至 7 天期間，採樣檢測總生菌數變化情形結果如表 6 所示。MD 組之總生菌數由 3.78 log CFU/g 上升至 4.11 log CFU/g，PD 組由 3.91 log CFU/g 上升至 4.59 log CFU/g，MU 組則由 3.79 log CFU/g 上升至 4.87 log CFU/g，生菌數隨著冷藏時間增加而上升 ($P < 0.05$)，而冷藏第 1、4 和 7 天，各品種鴨胸肉之間並無顯著差異。

VII 不同品種鴨胸肉冷藏期間氧化酸敗值之變化

肉品脂肪過氧化程度可作為肉品品質的間接量化指標，可測定 TBARS 值之高低作為參考 (吳及紀, 2002; Ockerman and Kuo, 1982)。各組鴨胸肉於 4°C 冷藏 1 至 7 天之氧化酸敗值變化情形如表 7 所示。MD 組由 0.62 mg/kg 上升至 1.32mg/kg，PD 組由 0.62 mg/kg 上升至 1.09 mg/kg，MU 組由 0.36 mg/kg 上升至 0.52 mg/kg。冷藏 1 天以 MU 組顯著低於其他兩組，第 4 天和第 7 天皆以 MD 組最高，MU 組最低，且三種鴨胸之間具顯著差異。對照表 5，MD 組之不飽和脂肪酸比例最高，應與氧化酸敗值上升速率較快有關；另依據 Rael *et al.* (2004) 研究指出，不同飽和度之脂肪酸存在著不同程度之抑制效應，尤以飽和脂肪酸 (如 C16:0) 與減緩 TBA 衍生物之生成有關，推測本試驗 MU 組之粗脂肪含量和飽和脂肪酸比例皆為三組中最高，可能為導致其 TBARS 值最低之因素。雖然 TBA 值會受到許多因素影響，且其反應物質亦有可能因與蛋白質形成多聚體而降解 (de Abreu *et al.*, 2011)，但 TBARS 分析法仍可作為判斷脂肪酸敗之重要依據。

表 5. 不同品種鴨胸肉之脂肪酸組成成分分析

Table 5. The fatty acid composition of breast meat of different duck breeds

	MD	PD	MU
C14 : 0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
C16 : 0	20.36 ± 0.78 ^{c*}	23.35 ± 0.73 ^b	25.19 ± 0.98 ^a
C18 : 0	14.78 ± 2.57 ^a	13.26 ± 1.93 ^a	13.55 ± 1.37 ^a
C18 : 1	23.92 ± 5.29 ^a	25.58 ± 5.26 ^a	28.10 ± 2.78 ^a
C18 : 2 ω6	26.86 ± 1.17 ^a	24.89 ± 1.11 ^b	22.18 ± 1.51 ^c
C20 : 4 ω6	14.13 ± 3.09 ^a	12.86 ± 2.79 ^a	10.98 ± 1.47 ^a
C22 : 2	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
C22 : 4	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
C22 : 5 ω6	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
SFA	34.92 ± 2.14 ^b	36.36 ± 1.96 ^b	38.63 ± 0.86 ^a
MUFA	23.92 ± 5.29 ^a	25.58 ± 5.26 ^a	28.15 ± 2.66 ^a
PUFA	41.16 ± 3.18 ^a	38.06 ± 3.56 ^a	33.23 ± 2.28 ^b

Unit of fatty acid: g /100 g crude fat.

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

SFA = saturated fatty acid, MUFA = monounsaturated fatty acid, PUFA = polyunsaturated fatty acid.

* Mean ± standard deviation.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

表 6. 不同品種鴨胸肉冷藏期間總生菌數之變化

Table 6. Changes in total plate counts (log CFU/g) of breast meat of different duck breeds during storage period (day) at 4°C

	Day 1	Day 4	Day 7
MD	3.78 ± 0.57 ^{Aa*}	3.69 ± 0.80 ^{Aa}	4.11 ± 0.82 ^{Aa}
PD	3.91 ± 0.88 ^{Ba}	3.58 ± 0.47 ^{Ba}	4.59 ± 0.60 ^{Aa}
MU	3.79 ± 0.66 ^{Ba}	3.56 ± 0.58 ^{Ba}	4.87 ± 1.06 ^{Aa}

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

* Mean ± standard deviation.

^{A, B} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

表 7. 不同品種鴨胸肉於 4°C 冷藏期間氧化酸敗值之變化

Table 7. Changes on TBARS values (mg/kg) of breast meat of different duck breeds during storage period (day) at 4°C

	Day 1	Day 4	Day 7
MD	0.62 ± 0.08 ^{Ca*}	0.93 ± 0.06 ^{Ba}	1.32 ± 0.17 ^{Aa}
PD	0.62 ± 0.09 ^{Ba}	0.72 ± 0.11 ^{Bb}	1.09 ± 0.23 ^{Ab}
MU	0.36 ± 0.09 ^{Bb}	0.43 ± 0.15 ^{ABc}	0.52 ± 0.19 ^{Ac}

MD, PD and MU: footnote as Table 1.

* Mean ± standard deviation.

^{A, B} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

結 論

三種鴨胸肉於剪切值方面顯現出品種差異及特性，北京鴨胸硬度低，紅面番鴨胸硬度、粗脂肪含量和飽和脂肪酸比例高，而土番鴨胸蒸煮失重偏高，故可依品種特性搭配不同溫度及時間之熱處理、嫩化或熟成等加工方式改善口感和保水性，開發多樣化新式鴨肉產品，以利調節產銷並增加鴨肉消費需求。

參考文獻

- 行政院農業委員會畜禽統計調查結果。2018。107 年第 1 季各類畜禽飼養場數及在養量－按縣市別分。<http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 行政院衛生福利部。2013。部授食字第 1021950978 號公告訂定食品中脂肪酸之檢驗方法。
- 財團法人中央畜產會。2018。水禽－產業現況－肉鴨產業。<https://www.naif.org.tw/industrialContent.aspx?param=frontMenuID=13%EF%BC%86sDate=%EF%BC%86eDate=%EF%BC%86key1=%EF%BC%86frontTitleMenuID=12%EF%BC%86forewordTypeID=0%EF%BC%86pn=1&frontTitleMenuID=12&frontMenuID=13&forewordID=2437>。
- 吳祥雲、紀學斌。2002。進口與國產冷凍豬肉品質差異之探討。畜產研究 35：331-337。
- 陳明造、李淵白、黃木秋、劉登城和黃暉煌。1984。肉鴨屠體性狀與肉質之研究。I. 肉鴨屠體品質。中畜會誌 13：109-116。
- 潘金木、李舜榮、康清亮、林誠一和陳保基。1985。肉鴨生長及屠體性狀之測定。畜產研究 18：167-174。
- 賴銘癸。2008。鴨生產系統手冊。臺灣省畜產試驗所宜蘭分所，宜蘭，pp. 2。
- A.O.A.C. 2005. Official methods of analysis, 18th ed. Association of official analytical chemistry, Washington, DC.
- A.O.A.C. 2005. Official method 994.13, Amino Acids in Feeds. International 18th ed. Association of official analytical chemistry, Gaithersburg, USA.
- Aronal, A., N. Huda and R. Ahmad. 2012. Amino acid and fatty acid profiles of Peking and Muscovy duck meat. Int. J. Poult. Sci 11: 229-236.
- Baeza, E., M. Salichon, G. Marche, N. Wacrenier, B. Dominguez and J. Culioli. 2000. Effects of age and sex on the structural, chemical and technological characteristics of mule duck meat. Br. Poult. Sci. 41: 300-307.
- Chartrin, P., K. Meteau, H. Juin, M. Bernadet, G. Guy, C. Larzul, H. Remignon, J. Mourrot, M. Duclos and E. Baéza. 2006. Effects of intramuscular fat levels on sensory characteristics of duck breast meat. Poult. Sci. 85: 914-922.
- de Abreu, D. A. P., P. P. Losada, J. Maroto and J. M. Cruz. 2011. Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants. Food Chem. 126: 315-320.
- Faustman, C. and R. G. Cassens. 1991. The effect of cattle breed and muscle type on discoloration and various biochemical parameters in fresh beef. J. Anim. Sci. 69(1): 184-193.
- Huda, N., A. Putra and R. Ahmad. 2011. Proximate and physicochemical properties of Peking and Muscovy duck breasts and thighs for further processing. J. Food Agric. Environ. 9: 82-88.
- Maturin, L. and J. Peeler. 1995. Aerobic Plate Count in Food and Drug Administration: Bacteriological Analytical Manual. AOAC International, Gaithersburg: 3.01-03.05.

- Ockerman, H. W. and J. C. Kuo. 1982. Dried pork as influenced by nitrate, packaging method and storage. *J. Food Sci.* 47: 1631-1634, 1661.
- Omojola, A. 2007. Carcass and organoleptic characteristics of duck meat as influenced by breed and sex. *Int. J. Poult. Sci.* 6: 329-334.
- Rael, L. T., G. W. Thomas, M. L. Craun, C. G. Curtis, R. Bar-Or and D. Bar-Or. 2004. Lipid peroxidation and the thiobarbituric acid assay: standardization of the assay when using saturated and unsaturated fatty acids. *BMB Reports* 37: 749-752.
- Sigmaplot. 2010. Systat Software Version 12.0. Systat Software Inc., San Jose CA, USA.
- Wal, P. G., G. van der Vries, A. W. de Smulders and F. J. M. Engel. 1993. "Scharrel" (Free range) pigs: carcass composition, meat quality and test-panel studies. *Meat Sci.* 34: 27-37.
- Wawro, K., E. Wilkiewicz-Wawro, K. Kleczek and W. Brzozowski. 2004. Slaughter value and meat quality of Muscovy ducks, Pekin ducks and their crossbreeds, and evaluation of the heterosis effect. *Arch Anim. Breed* 47: 287-299.

Physicochemical analysis for breast meat of Commercial Mule duck, Pekin duck and Muscovy in Taiwan ⁽¹⁾

Meng-Ru Lee ⁽²⁾ Wen-Shyan Chan ⁽²⁾ and Rung-Jen Tu ⁽²⁾⁽³⁾

Received: May 23, 2019; Accepted: Aug. 28, 2019

Abstract

This experiment was conducted to analyze the physicochemical qualities of duck breast meats for Mule duck, Pekin duck and Muscovy. The MD, PD and MU were grouped the breast meats of Mule duck, Pekin duck and Muscovy respectively. The analyze items included the proximate analysis, color, shear force, cooking loss, pH value, amino acid composition, fatty acid composition, Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value and total plate counts. The results showed the moisture of MU group was the lowest at 73.53%, and crude protein (22.93%) and crude fat (1.98%) were the highest significantly. There were the highest L-value (32.79) and lowest a-value (14.67) for PD group, and highest b-value (3.35) for MU group. The shear force of MU group was the highest but PD group was the lowest, in addition, the cooking loss of MD group was highest at 31.29%. The pH values of all groups were among 6.07-6.14 ($P > 0.05$). The content of glutamic acid was the highest in these three groups which were 2.86%-3.03%, and there were no significant differences at the total amino acid contents for all groups. The saturated fatty acid ratio of MU group was significantly higher and polyunsaturated fatty acid ratio was lower than other groups. The TBARS value of MU group was the lowest at 0.52 mg/kg significantly after storing 1 week at 4°C. In conclusion, there were significantly different values of firmness among three duck meat so that made the different characteristics. It could improve the demand of duck meat using the heating processing at different temperature, tenderization or aging to develop various duck meat products. The results of this experiment could be used as a reference for the meat processing industry.

Key words: Mule duck, Pekin duck, Muscovy, Breast meat, Physicochemical analysis.

(1) Contribution No. 2624 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Animal Products Processing Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: jctu@mail.tlri.gov.tw °

烏骨雞誘導多能性幹細胞株體外分化能力之探討⁽¹⁾

劉振發⁽²⁾ 陳裕信⁽²⁾ 蕭振文⁽³⁾ 薛佑玲⁽⁴⁾ 陳立人⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾

收件日期：108 年 8 月 15 日；接受日期：108 年 10 月 8 日

摘 要

本研究目的為探討烏骨雞誘導多能性幹細胞 (black silkie chicken induced pluripotent stem cells, BSciPSCs) 之體外分化特性和嵌合體形成能力，期供後續相關研究使用。供試之 BSciPSCs 在體外培養已超過 35 繼代 (約 300 天)，經分化多能性專一性抗體 Oct-4、AP 及 PAS 染色後可呈現陽性反應，且利用胚層細胞譜系特異性抗體進行免疫染色方式檢驗 BSciPSCs 衍生的類胚體 (EB) 的結果顯示，BSciPSCs 具有分化形成三胚層的細胞譜系和神經細胞的能力。將 BSciPSCs 移植到孵化 3.5 天 (X-stage) 的來亨雞胚中，檢視孵化第 12 天胚胎的體色分佈，結果有 11% 胚胎體色有黑色分佈，證實為嵌合體。綜合上述結果，在本研究中建立的 BSciPSCs 是具多能性，且有嵌合體形成潛力，冀望此細胞可應用於生物醫學領域研究。

關鍵詞：黑絨烏骨雞、誘導多能性幹細胞、嵌合體。

緒 言

哺乳動物的胚幹細胞 (embryonic stem cells, ESCs) 是一種具有自我更新、不斷裂殖、同時亦能分化成三胚層與生殖細胞譜系等不同組織形態與生理功能之細胞 (Robertson and Bradley, 1986; Notarianni and Laurie, 1992; Shiue *et al.*, 2016)，而由於人類的胚幹細胞之取得來源仍有道德倫理上的爭議，因此幹細胞研究專家希望能找到其它的取代方式。誘導多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSC) 的幹細胞科技在 2006 年公開發表，由日本京都大學的 Yamanaka 與其研究團隊，鎖定了胚幹細胞中具活化關鍵的 24 個候選基因，認為這些基因與維持胚幹細胞分化多能性的獨特細胞特性有關，最終發現只需要將 4 個轉錄因子：OCT3/4、SOX2、KLF4 與 C-MYC，同時成功轉染至小鼠纖維母細胞，即能產製出具有分化多能性之幹細胞，既此稱為誘導多能性幹細胞。其研究亦指出可以在 iPSCs 衍生的畸胎瘤 (teratoma) 切片中，檢出分化為軟骨細胞、神經細胞、肌肉細胞、脂肪細胞與上皮細胞等不同胚層的細胞，此研究成果在幹細胞研究領域造成大轟動 (Takahashi and Yamanaka, 2006)，並且獲得 2012 年諾貝爾生里暨醫學獎之殊榮，隨後利用此技術相繼建立了人類 (Park *et al.*, 2008)、恆河猴 (Liu *et al.*, 2008)、大鼠 (Liao *et al.*, 2009) 與馬 (Breton *et al.*, 2013) 的 iPSCs。家禽是一種很好的模式動物，常被使用在發育生物學與疾病模式之研究，另外許多疫苗的生產也是利用家禽 (雞) 的胚胎或是初代培養的雞胚纖維母細胞 (primary chicken embryonic fibroblasts) 進行生產；但此方式確有潛在的生產風險，例如無特定病原雞蛋短缺、病毒株毒性過強無法利用雞胚蛋培養。因此，近年來亦成功開發利用由鴨的幹細胞 (EB66 細胞株) 作為疫苗與蛋白質生產平臺 (Olivier *et al.*, 2010)。在家禽誘導多能性幹細胞株的建立研究，Lu *et al.* (2012) 利用哺乳動物的特定的基因 (POU5F1, NANOG, SOX2, LIN28, KLF4, C-MYC) 轉殖到鵪鶉的胚纖維母細胞 (quail embryonic fibroblasts, qEFs)，成功誘導胚胎纖維母細胞進行重新編程改造，變成具有類似胚幹細胞的特性及功能；並且誘導後的細胞移植到雞胚，也證實能夠參與嵌合體的形成，這是第一例禽類利用哺乳動物基因進行家禽誘導多能性幹細胞的研究。本研究之目的乃接續我們先前已初步建立之烏骨雞誘導多能性幹細胞株 (black silkie chicken induced pluripotent stem cells, BSciPSCs；劉等，2018)，進一步探討其體外分化特性和嵌合體形成能力，期供後續相關研究使用。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2625 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(4) 國立中山大學生物醫學研究所。

(5) 國立成功大學生物科技研究所。

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

材料與方法

I. 烏骨雞之誘導多能性幹細胞株建立

系利用源自烏骨雞胚胎 (孵化 9 天) 分離之胚纖維母細胞 (chicken embryonic fibroblasts, cEFs)，利用市售的細胞重組因子 (reprogramming factors) 套組 (set of lentivirus: EF1A-driven *LIN28*, *NANOG*, *SOX2*, *OCT3/4*, *KLF4* and *C-MYC*; Cat. # LV01006L; Creative Biogene, USA) 轉染烏骨雞 cEFs 進行誘導細胞重組已進行烏骨雞之誘導多能性幹細胞株建立 (劉等, 2018)。

II. 誘導幹細胞的特徵檢測分析

(i) 細胞 Oct-4 與鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase) 活性分析：

利用免疫細胞化學染色法 (immunocytochemistry, ICC) 進行分析，染色時先將細胞以 10% 中性福馬林 (neutral buffered formalin) 於室溫下固定 30 min，再加入 0.3% Triton X-100 反應 10 min，再加入 5% FBS 反應 2 h，之後加入一級抗體於 4℃ 下反應隔夜後，加入二級抗體 rhodamine (TRITC)-conjugated AffiniPure goat anti-rabbit IgG (H+L) (for Oct-4 staining, Jackson ImmunoResearch Cat # 111-025-003, West Baltimore Pike, PA, USA)，rhodamine (TRITC)-conjugated AffiniPure rabbit anti-mouse IgG (H+L) (for AP staining, Jackson ImmunoResearch Cat # 315-025-003, West Baltimore Pike, PA, USA)，然後以螢光顯微鏡 (DM IRB; Leica, Wetzlar, Germany) 進行螢光表現分析。

(ii) 過碘酸 Schiff 氏染色 (Periodic acid-Schiff Stain, PAS) 細胞染色分析：

將培養盤中的細胞培養液吸出，以 PBS 清洗一次再加入 1 mL 含 10% 福馬林的無水酒精固定細胞 5 min，以 PBS 清洗二次後，加入 1 mL Periodic acid (Sigma-Aldrich)，於室溫下反應 5 min 後以 PBS 清洗二次。再加入 Schiff reagent (Sigma-Aldrich)，於室溫下反應 10 min 後以 PBS 清洗二次，再以顯微鏡進行呈色反應之觀察。

III. 誘發類胚體 (embryoid body, EBs) 形成與自體分化

利用培養皿之上蓋製作 mTeSR™1 培養基 (Stemcell Technologies, Cat # 85850, Canada) 懸浮培養小滴，每滴約 20 μ L。培養皿底部加入 5 mL PBS 以提供濕度防止小滴蒸發。將約 2.0×10^6 個未分化之 BSciPSCs 置入單一懸浮培養小滴中，培養於 37℃ 與含 5% CO₂ 的培養箱中，以誘發類胚體形成，培養第 7 天之後，觀察與記錄類胚體形成情形。

形成類胚體後，以幹細胞培養液培養於預先以 0.1% 明膠 (gelatin) 處理之 4 孔細胞培養盤，進行貼附培養以誘導自體分化，並於貼附培養一週與二週之後，分別以 ICC 進行細胞分化標誌的表現分析。供試之細胞先以 10% 中性福馬林於室溫下固定 30 min，再以 0.3% Triton X-100 反應 10 min 後，以 5% FBS 作用反應 2 h。之後，加入一級抗體於 4℃ 下反應至隔夜。隔天再以二級抗體與 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 染色進行螢光分析。使用之一級抗體為 neurofilament light (NFL, Millipore Cat. #AB9568, Temecula, CA, USA)、atrial natriuretic peptide (ANP, Millipore Cat. #AB1970, Temecula, CA, USA) 與 α -fetoprotein (AFP, Santa Cruz Cat. #SC-8108, Dallas, TX, USA)；二級抗體為 rhodamine (TRITC) (Jackson ImmunoResearch Cat. #111-025-003, PA, USA. for NFL and ANP staining; Cat. #305-025-003, PA, USA. for AFP staining)。染色之結果以倒立式螢光顯微鏡與超高感度冷卻式數位影像系統 (CoolSNAP HQ2 Monochrome, Photometrics, USA) 及影像分析處理系統 MetaMorph 6.Or5 (Universal Imaging, USA) 記錄和分析結果。

IV. 神經細胞誘導分化

BSciPSCs 進行神經細胞誘導分化前，先讓 BSciPSCs 形成類胚體後，再以三階段的誘導培養方式進行神經細胞 (neural cells) 的誘導分化 (Dai *et al.*, 2014)。首先將 BSciPSCs 培養在神經細胞誘導培養基 [DMEM/F12 supplemented with 200 mM L-glutamine, 4 ng/mL bFGF 和 $1 \times N2$ (Gibco)] 培養 12 天後，將培養基更換為細胞增生培養基 [AB2 (Aruna) medium 添加 200 mM L-glutamine、 $1 \times$ aruna neural supplement (ANS) 和 20 ng/mL bFGF] 培養 7 天後，之後再將培養基更換為分化培養基 [AB2 medium 添加 200 mM L-glutamine、 $1 \times$ ANS 和 10 ng/mL leukemia inhibitory factor (LIF)] 進行持續培養 7 – 10 天。

經神經細胞誘導分化後的衍生細胞，亦利用 ICC 如同前揭的方法進行細胞譜系分析。所選用專一性抗體是參照已發表的文獻中被用來檢測神經細胞標誌的 Microtubule-associated protein 2 (MAP-2, Millipore Cat. #MAB378, Temecula, CA, USA)、Glial fibrillary acidic protein (GFAP, Millipore Cat. #SMI-22, Temecula, CA, USA) 和 O4 (Millipore Cat. #SMI-22 MAB345, Temecula, CA, USA) 等抗體 (Lu *et al.*, 2012)。

V. 畸胎瘤形成測試

選用 5 隻 10 週齡之 NOD-SCID 免疫缺陷小鼠供試。將 5×10^6 個 BSciPSCs 懸浮於 1 mL 之 PBS 溶液中，取 100 μ L 之細胞懸浮液，以注射方式移植於小鼠左側背部之皮下組織。移植 1 個月後犧牲取其畸胎瘤組織進行蘇木素－伊紅染色 (H&E 染色；hematoxylin and eosin stain, H&E stain)，以鑑定畸胎瘤內部細胞分化之樣態。

VI. 嵌合體形成能力分析

將 BSciPSCs 移植到來亨雞胚胎，藉以探討移植之細胞是否具有參與胚胎分化之能力。細胞移植之操作乃是將 1×10^8 個 BSciPSCs 懸浮於 1 mL 之 PBS 溶液中，取 1 μ L 之細胞懸浮液，利用 Micro-Injector (model IM-88, Nikon; Tokyo, Japan) 以顯微注射方式將其注入到 Stage X 期的來亨雞受精蛋之胚盤位置，移植後的來亨雞受精蛋隨即移入孵化器進行孵化，並於孵化後第 5 天和第 12 天進行照蛋檢查。

VII. 實驗動物核准編號

本研究涉及之動物試驗於行政院農業委員會畜產試驗所執行，動物之使用、飼養及實驗內容皆依據行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護及使用小組審查同意 (動物實驗申請表暨同意書編號：106-3) 進行。

結果與討論

I. 雞誘導多能性幹細胞的特徵檢測

胚幹細胞在體外長期培養後，為確認是否仍維持在未分化的狀態並保有多潛能分化特性，一般可利用胚幹細胞未分化狀態所表現的分子標誌來鑑定。有關未分化胚胎幹細胞之鑑定標誌有以下二種，分別為：1. 胚幹細胞之細胞膜表面標誌 (Draper *et al.*, 2002; Henderson *et al.*, 2002)；2. 胚幹細胞表達之與全能分化性相關之專一標誌 (Sperger *et al.*, 2003; Abeyta *et al.*, 2004)。本研究供試之 BSciPSCs 已在體外培養超過 35 繼代 (約 300 天)，為確認是否仍維持在未分化的狀態，遂採用檢測雞始基生殖細胞 (primordial germ cells, PGCs) 和雞胚幹細胞 (Jung *et al.*, 2005; van de Lavoie *et al.*, 2006; Liou *et al.*, 2012) 及雞誘導多能性幹細胞株 (Lu *et al.*, 2012) 的細胞標誌，包括 Oct-4、AP 之 ICC 和 PAS 細胞染色等方法來進行細胞特性檢測分析。結果 BSciPSCs 經以 PAS (圖 1)、Oct-4 與 AP (圖 2) 的 ICC 染色均呈現陽性反應，顯示 35 繼代之 BSciPSCs 仍然維持幹細胞之未分化狀態。

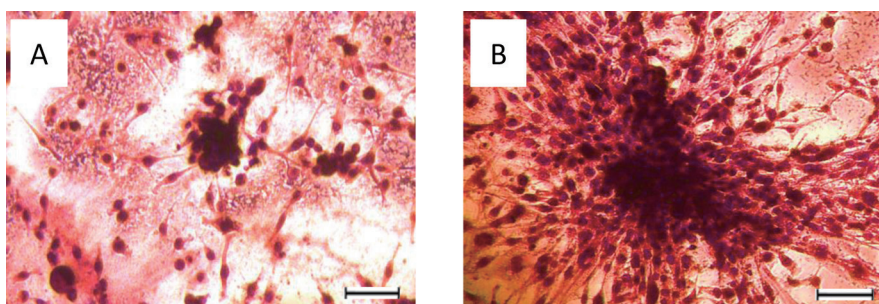


圖 1. 烏骨雞誘導多能性幹細胞利用 periodic acid-Schiff (PAS) 進行組織學染色。A：BSciPSCs 培養 60 天；B：BSciPSCs 培養 280 天。

Fig. 1. Histochemical staining of black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs) with periodic acid-Schiff (PAS). A: BSciPSCs cultured for 60 days. B: BSciPSCs cultured for 280 days. Scale bar = 50 μ m.

II. 類胚體形成與與自體分化

具有分化多能性之 ESC 及 iPSC 經誘發衍生的 EBs，具有分化形成三個胚層的能力及形成各種不同形態的細胞潛能 (Doetschman *et al.*, 1985; Shen and Leder, 1992; Desbaillets *et al.*, 2000; Odorico *et al.*, 2001)，多種譜系之分化細胞諸如神經細胞、心肌細胞 (cardiomyocytes)、內胚層細胞 (endoderm cells)，如肝及胰細胞和表皮細胞 (epithelia) 均可被偵測檢出 (Assady *et al.*, 2001; Mummery *et al.*, 2002; Draper *et al.*, 2004)。因此誘發 EBs 的形成常被用作測試 ESCs 及 iPSCs 細胞株是否具有體外分化潛力的指標。因此，為了驗證 BSciPSCs 之體外分化潛力，本研究利用懸浮培養對 BSciPSCs 進行體外培養誘發 EBs 形成之測試。結果顯示，BSciPSCs 於懸浮培養 7 天後觀察可見細胞聚集形成圓球狀結構之 EB (圖 3)，其誘發形成之效率為 $92.6 \pm 2.2\%$ (138/150)。

隨後將 EBs 收集，改以貼附培養方式進行誘導自體分化，經過約 10 – 14 天的誘導分化後，利用 ICC 進行

細胞分化標誌的表現分析，以測試 BSciPSCs 在體外分化誘導培養下，是否具有分化成三胚層之潛力。經選用分別代表為外胚層之 NFL、中胚層之 ANP 與內胚層之 *cytokeratin* 等細胞譜系的標誌進行染色，ICC 的結果均呈陽性反應 (圖 4)，顯示 BSciPSCs 具有在體外自體分化為三胚層之潛力。據上述類胚體形成與自體分化測試結果，證實 BSciPSCs 具有與一般 ESCs 及 iPSCs 相類似之體外分化潛力。

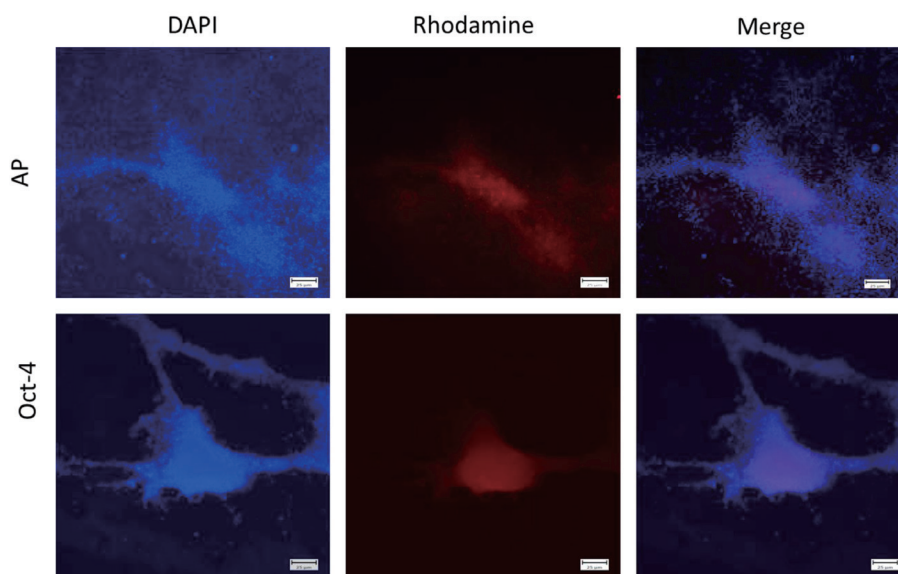


圖 2. 利用 AP 及 Oct-4 抗體對培養 280 天的烏骨雞誘導多能性幹細胞進行免疫組織學染色。

Fig. 2. Immunohistochemical staining of black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs) cultured for 280 days with antibodies specifically against to AP and Oct-4. Scale bar = 50 μ m.

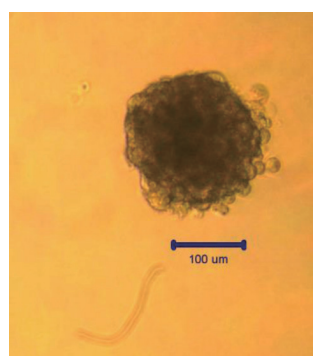


圖 3. 利用懸浮培養可誘發烏骨雞誘導多能性幹細胞形成類胚體。

Fig. 3. The formation of embryoid body from black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs) cultured in hanging drops. Scale bar = 100 μ m.

III. 神經細胞誘導分化

將 BSciPSC 誘發形成類胚體後，再以三階段的培養方式進行神經細胞譜系的誘導分化 (Dai *et al.*, 2014)。BSciPSC 經誘導神經細胞分化之培養後，利用選用神經細胞譜系包括 MAP-2 (microtubule-associated protein 2)、GFAP 和 O4 等進行 ICC 分析。其中 MAP-2 是一種表現在脊椎動物胚胎和成年人神經元的細胞骨架蛋白 (cytoskeletal protein) (Johnson and Jope, 1992)，常被用作為神經細胞鑑識的標誌，GFAP 為表現在中樞神經系統的星狀神經膠細胞 (astrocytes) 的一種中間絲蛋白 (intermediate filament protein)，係星狀神經膠細胞的特異性細胞標記 (Bignami *et al.*, 1972; Antanitus *et al.*, 1975)；而 O4 則是表現在中樞神經系統寡突細胞 (oligodendrocyte) 的特異性神經細胞標誌 (Nielsen *et al.*, 2006)。

BSciPSCs 以三階段誘導分化的培養方式進行神經細胞的誘導分化約 30 天後，可觀察到細胞的形態變化，由原來圓形的幹細胞形態轉變為神經細胞的樣態；以 MAP-2、GFAP 和 O4 等抗體進行 ICC 檢測分析經誘導分化後的細胞，均呈陽性反應 (圖 5)，證實以三階段誘導分化的培養方式可將 BSciPSCs 誘導朝向神經譜系的特化細胞進行分化。

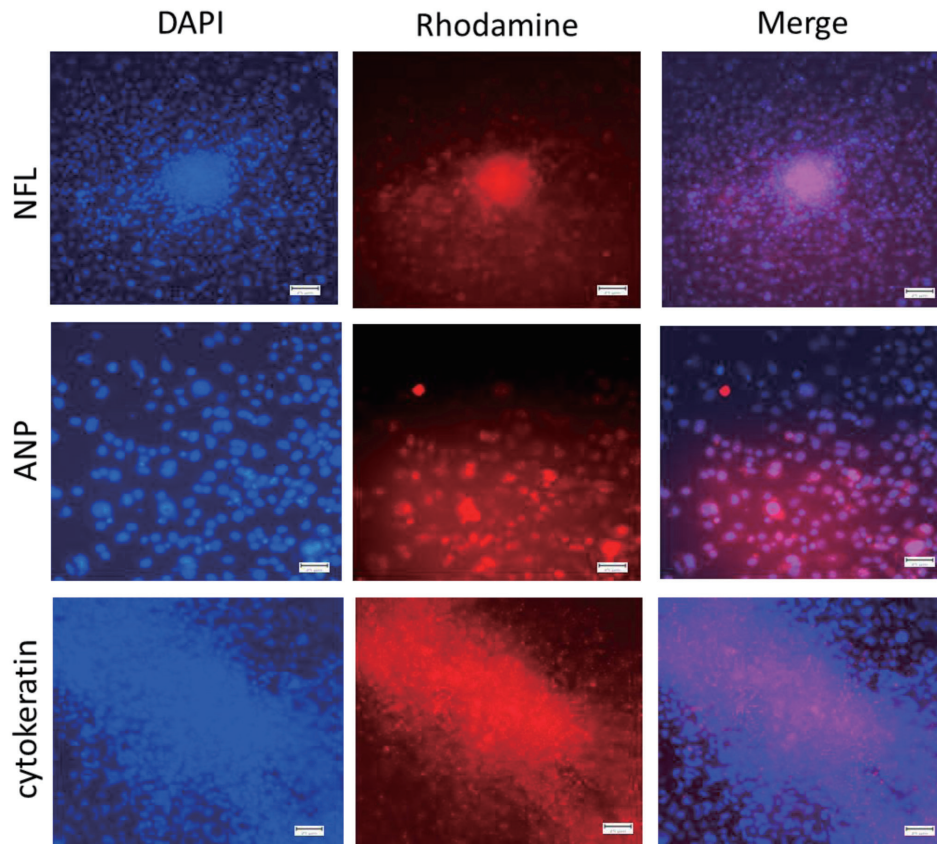


圖 4. 類胚體進行貼附培養後呈現外胚層 neurofilament light (NFL) 標誌、中胚層 atrial natriuretic peptide (ANP) 標誌、內胚層 cytokeratin 標誌。

Fig. 4. Specific expression of ectodermal neurofilament light (NFL) marker, mesodermal atrial natriuretic peptide (ANP) marker and endodermal cytokeratin marker after attaching culture. Scale bar = 25 μ m.

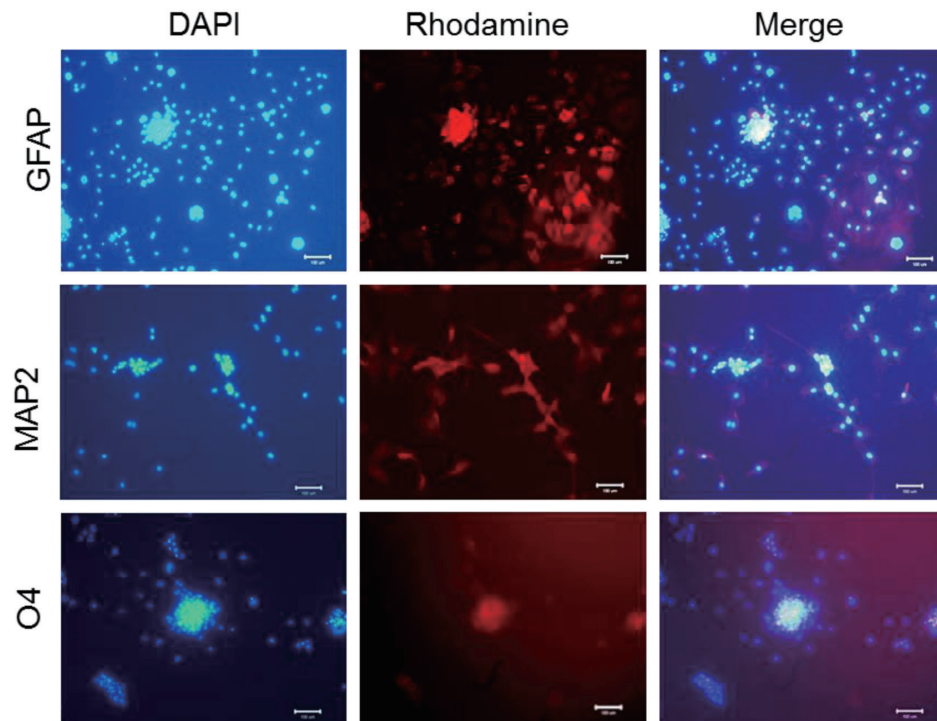


圖 5. 烏骨雞誘導多能性幹細胞神經細胞誘導分化培養後，以 microtubule-associated protein 2 (MAP-2)、Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 和 O4 等抗體檢測，均呈現陽性反應。

Fig. 5. Specific expression of microtubule-associated protein 2 (MAP-2), Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and O4 markers after induction differentiation of neural cells by black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs). Scale bar = 100 μ m.

IV. 畸胎瘤形成測試

在建立 ESs 和 iPSCs 細胞株過程中，以體外和體內誘導分化的方式進行細胞株的多能性的評估和確認是必要的程序。將 ESs 或 iPSCs 細胞株以注射方式移植到 NOD-SCID 小鼠皮下，測試其形成畸胎瘤的能力，是常被應用來評估細胞株的體內分化多能性的方法 (Maherali and Hochedlinger, 2008; Muller *et al.*, 2010)。ESCs 與 iPSCs 移植於 NOD-SCID 小鼠，可持續生長並形成畸胎瘤，為幹細胞具有分化多能性特性之表徵，而幹細胞移植於 NOD-SCID 小鼠後所產生之畸胎瘤，係源自於未分化之多能性幹細胞 (Blum and Benvenisty, 2008; Hentze *et al.*, 2009)，且因為 ESCs 與 iPSCs 具有分化成三胚層與生殖細胞譜系等不同組織形態與生理功能之細胞分化多能特性，將其移植到 NOD-SCID 小鼠所形成畸胎瘤，經進一步切片鏡檢，可觀察到源自三胚層的構造，此驗證亦是證實細胞具有多能性特性之證據 (Brivanlou *et al.*, 2003; Hentze *et al.*, 2009)。Nussbaum *et al.* (2007) 的研究顯示，移植 1×10^5 個小鼠胚幹細胞，形成畸胎瘤之機率約 50%，而移植 5×10^5 個細胞則可 100% 形成畸胎瘤，然而人類胚幹細胞僅需 100 個即可形成畸胎瘤，其發生率約 6.7%，若移植 1×10^5 個細胞可 100% 形成畸胎瘤 (Gropp *et al.*, 2012)。本研究移植 5×10^5 個 BSciPSCs 細胞到 NOD-SCID 小鼠背部之皮下組織，畸胎瘤的發生率為 100%。本研究將 5×10^5 個 BSciPSC 細胞注射移植至 10 週齡之 NOD-SCID 小鼠左側背部之皮下組織，10 天後即可在供試的 6 隻小鼠接受細胞移植的部位觀察到畸胎瘤的形成。後續於注射移植 1 個月後將小鼠犧牲 (安樂死) 取下畸胎瘤 (圖 6)，經固定、脫水、包埋、封蠟、切片後，以蘇木紫與伊紅進行組織染色鏡檢。分析結果顯示畸胎瘤組織切片中，可觀察到神經細胞、纖維母細胞、平滑肌、骨骼肌、脂肪細胞、管狀結構與黏液腺 (mucous gland) 等三胚層之構造 (圖 7)，此等結果可證實本研究所建立的 BSciPSCs 具有體內分化多能性之特性。



圖 6. 烏骨雞誘導多能性幹細胞移植注射於 NOD-SCID 小鼠可誘發畸胎瘤形成。

Fig. 6. Teratomas derived from injected black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs) in NOD-SCID mice.

V. 嵌合體形成能力分析

嵌合體形成是評估胚幹細胞多能分化潛力最有效且直接之驗證方法 (Mascetti and Pedersen, 2016)。本研究建立的雞誘導多能性幹細胞株是源自黑絨烏骨雞的胚胎纖維母細胞，黑絨烏骨雞的羽毛、皮膚、肌肉和骨骼均為黑色。為了探討本研究所建立的雞誘導多能性幹細胞株是否具有形成嵌合體的能力，將 1×10^5 個 BSciPSC 細胞移植到孵化 3.5 天的來亨雞受精蛋，即 Stage X 期之胚盤位置，共移植 45 個胚胎。移植後的來亨雞受精蛋隨即移入孵化器進行孵化，並定期照蛋觀察胚胎存活情形直到雛雞孵出後，再由外觀進行體色檢視並記錄是否為嵌合體。結果在移植的 45 個胚胎在孵化的過程中，於孵化第 5 天進行照蛋檢查，有 9 個胚胎終止發育，因胚胎尚未成形無法進行觀察；在 12 天進行第二次照蛋檢查，有 13 個胚胎 (約第 10 天) 早期死亡，從外觀檢視發現有 2 個胚胎膚色呈現黑色 (圖 8A)，另外 23 個胚胎有 10 個胚胎後期死亡未能順利孵出；21 天後僅 13 隻雛雞孵出 (孵化率為 29%)，但均無嵌合現象。然而，在後期死亡的 10 個胚胎 (約第 18 天)，從外觀檢視有 3 個胚胎之腳 (趾) 部有呈現黑色，證實 BSciPSCs 具有形成嵌合體之能力 (嵌合率 11%)。

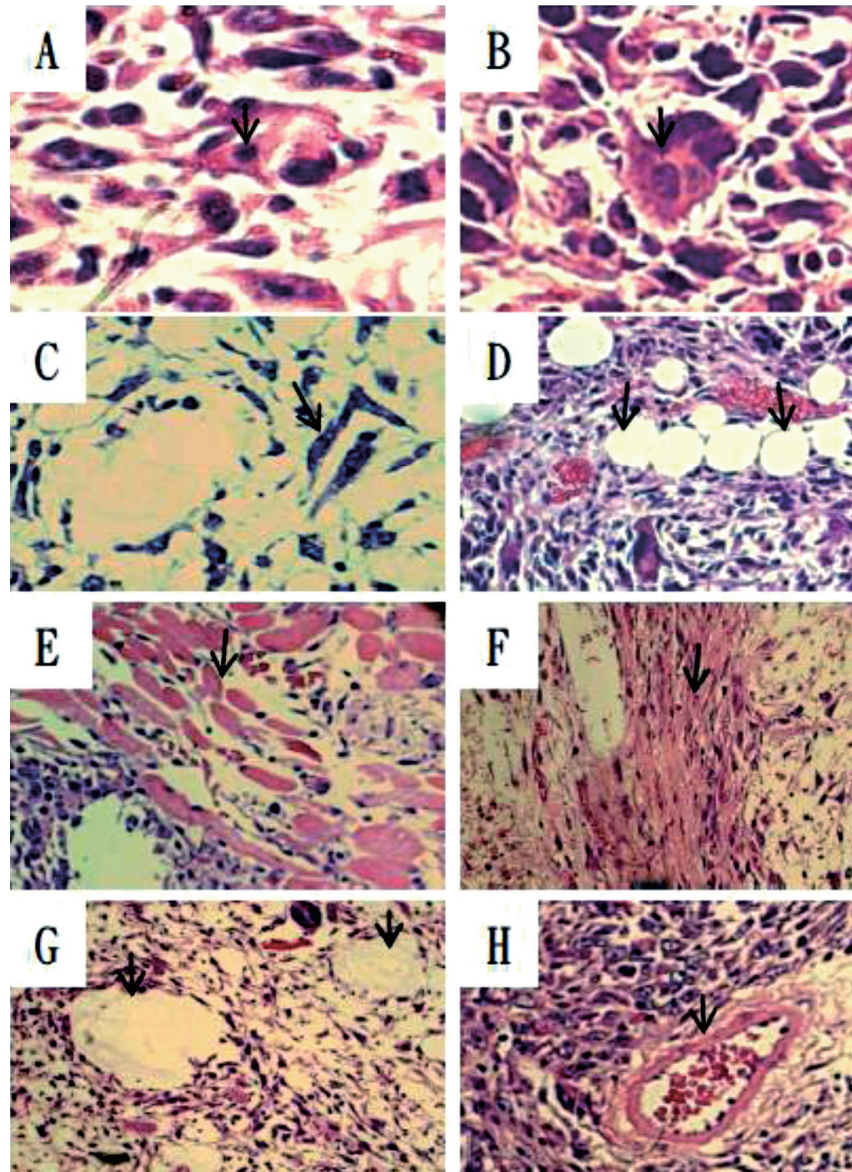


圖 7. 畸胎瘤組織切片可觀察到神經細胞 (A、B)、纖維母細胞 (C)、脂肪細胞 (D)、骨骼肌 (E)、平滑肌 (F)、管狀結構 (G) 與黏液腺 (mucous gland) (H) 等三胚層之構造。(H&E staining)

Fig. 7. The cells and tissues derived from three primitive germ layers in the teratoma, such as neurons (A, B), fibroblast (C), adipocytes (D), skeleton muscle (E) and smooth muscle cells (F), and mucous gland (G) can be found in the histological section of the BSciPSCs-derived tetraomas. (H&E staining)

ESCs 具有自我更新、不斷裂殖、分化成三胚層以及形成身體各種不同類型組織的體細胞之能力，在許多的研究報告中亦證實 iPSCs 亦有與 ESCs 相類似之分化潛能及在體外 (*in vitro*) 和體內 (*in vivo*) 的環境中均表現出高度的可塑性 (plasticity) (Thomson *et al.*, 1998; Takahashi and Yamanaka, 2006; Takahashi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2009)。於 2006 年小鼠 iPSC 首次發表後，此誘導技術已被應用在多種哺乳動物，並證實已分化體細胞可藉由重新編程改造因子 (*OCT3/4*, *SOX2*, *KLF4*, *C-MYC*) 轉染後，成功被誘導成為 iPSCs，目前 iPSCs 已進一步被應用於再生醫學、基礎發育生物學、藥物篩選、基因轉殖、基因標靶 (gene targeting) 等領域之研究 (Takahashi and Yamanaka, 2006; Takahashi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007; Aasen *et al.*, 2008; Hanna *et al.*, 2008; Haase *et al.*, 2009; West *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2010; Shiue *et al.*, 2016)。

雖然雞的 ESCs 和 PGCs 細胞株已被建立 (Pain *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 2010)，但截至目前這些細胞並未像哺乳類的 ESCs 或 iPSCs 被普遍應用，尤其是在基因標靶 (gene targeting) 的相關研究。探究其原因，除了雞的 ESCs 和 PGCs 在體外培養的過程中細胞增殖的效率不高 (Lu *et al.*, 2012) 之外，雞的 ESCs 和 PGCs 形成嵌合體的潛力，也會隨著體外培養繼代次數的增加而顯著降低 (Petitte *et al.*, 2004; Motono *et al.*, 2010)，因此降低了其相關應用的潛力。另外，雞的 ESC 以誘發 EB 及自體分化進行的體外分化潛能評估驗證中，亦無法像哺乳類的 ESC 具有分化成三胚層及多種不同組織類型的細胞之能力 (Rosselló *et al.*, 2013; Dai *et al.*, 2014)。然而，在已發表的禽

類 iPSCs 研究中均指出，禽類的 iPSCs 亦如同哺乳類的 ESCs 與 iPSCs 一樣具有分化形成三胚層及多種不同組織類型細胞之能力，因此禽類的 iPSC 未來在相關領域的應用性將可提升 (Lu *et al.*, 2012; Rosselló *et al.*, 2013; Dai *et al.*, 2014)。

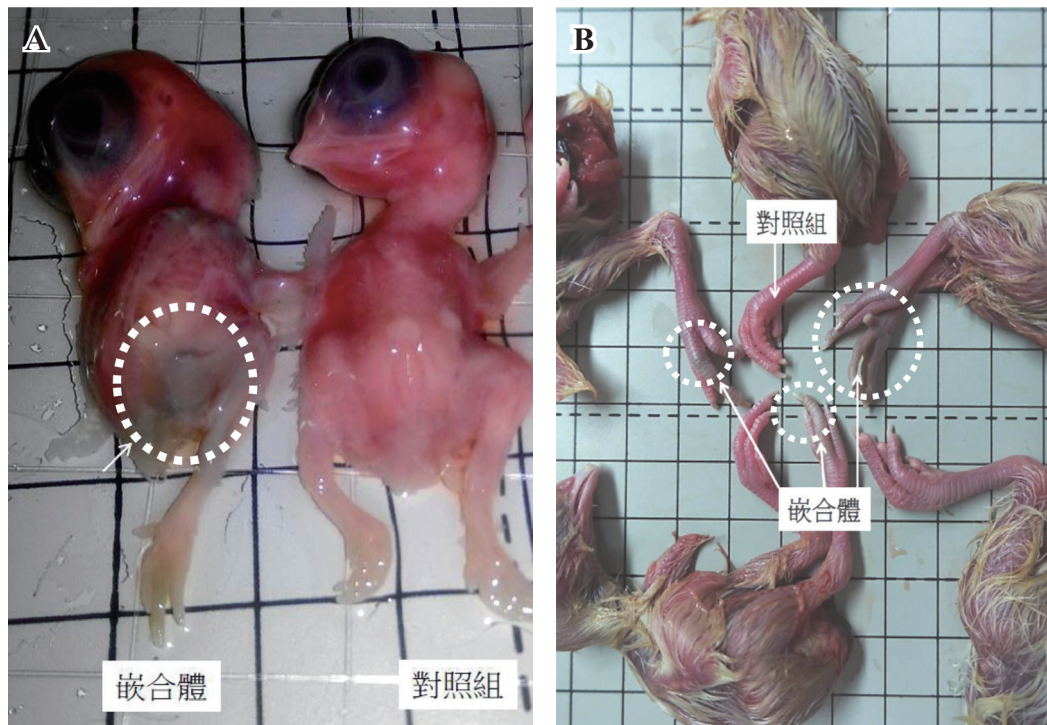


圖 8. 烏骨雞誘導多能性幹細胞注射到白色來亨雞受精蛋後，形成嵌合體。A：孵化 10 天。B：孵化 18 天。

Fig. 8. Chimeric chicken embryos derived from injected black silkie chicken induced pluripotent stem cells (BSciPSCs) in White Leghorn chicken fertilized egg. A: Dead chicks 10 days after incubation; B: Dead chicks 18 days after incubation.

本研究所建立的 BSciPSCs 細胞株除以細胞免疫染色等檢測方式，確認經過長期培養繼代後，仍可維持未分化 ESCs 所表現相關的細胞標誌；亦利用誘發類胚體形成及自體分化，證實其具有在體外分化形成三胚層之能力；並以細胞移植於 NOD-SCID 小鼠產生畸胎瘤和雞胚參與形成嵌合體，進一步證實其具有體內分化之潛能。綜合上述的試驗結果，我們已成功建立 BSciPSCs 細胞株，後續將可提供質量穩定的家禽細胞以利進行更精準的發育生物學、轉基因家禽產製、疾病模式建立和疫苗生產技術開發等研究，同時此 BSciPSCs 技術平臺的建立，也可以運用在因應全球暖化氣候變遷下，進行珍貴或瀕絕鳥禽物種的種原保存及復育。

誌 謝

本研究承蒙行政院農業委員會提供研究經費 [106 農科 -2.6.1- 畜 -L1(2)]，由生理組同仁許義明、李秀美與孫碧月等協助本試驗，使其得以順利完成，特此申謝。

參考文獻

- 劉振發、廖御靜、康定傑、蕭振文、薛佑玲、陳立人。2018。雞誘導多能性幹細胞株的建立。畜產研究。51：92-102。
- Aasen, T., A. Raya, M. J. Barrero, E. Garreta, A. Consiglio, F. Gonzalez, R. Vassena, J. Bilic, V. Pekarik, G. Tiscornia, M. Edel, S. Boué and J. C. I. Belmonte. 2008. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat. Biotechnol.* 26: 1276-1284.
- Abeyta, M. J., A. T. Clark, R. T. Rodriguez, R. T. Bodnar, R. A. Pera and M. T. Firpo. 2004. Unique gene expression signatures of independently derived human embryonic stem cell lines. *Hum. Mol. Genet.* 13: 601-608.

- Antanitus, D. S., B. H. Choi and L.W. Lapham. 1975. Immunofluorescence staining of astrocytes *in vitro* using antiserum to glial fibrillary acidic protein. *Brain Res.* 89: 363-367.
- Assady, S., G. Maor, M. Amit, J. ItskovitzEldor, K. L. Skorecki and M. Tzukerman. 2001. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes.* 50: 1691-1697.
- Bignami, A., L. F. Eng, D. Dahl and C. T. Uyeda. 1972. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Res.* 43: 429-435.
- Blum, B. and N. Benvenisty. 2008. The tumorigenicity of human embryonic stem cells. *Adv. Cancer Res.* 100: 133-158.
- Breton, A., R. Sharma, A. C. Diaz, A. G. Parham, A. Graham, C. Neil, C. B. Whitelaw, E. Milne and F. X. Donadeu. 2013. Derivation and characterization of induced pluripotent stem cells from equine fibroblasts. *Stem Cells Dev.* 22: 611-621.
- Brivanlou, A. H., F. H. Gage, R. Jaenisch, T. Jessell, D. Melton and J. Rossant. 2003. Stem cells. Setting standards for human embryonic stem cells. *Science* 300: 913-916.
- Dai, R., R. Rossello, C. C. Chen, J. Kessler and I. Davison, U. Hochgeschwender and E. D. Jarvis. 2014. Maintenance and neuronal differentiation of chicken induced pluripotent stem-Like cells. *Stem Cells Int.* <http://dx.doi.org/10.1155/2014/182737>.
- Desbaillets, I., U. Ziegler, P. Groscurth and M. Gassmann. 2000. Embryoid bodies: an *in vitro* model of mouse embryogenesis. *Exp. Physiol.* 85: 645-651.
- Doetschman, T. C., H. Eistetter, M. Katz, W. Schmidt and R. Kenter. 1985. The *in vitro* development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 87: 27-45.
- Draper, J. S., C. Pigott, J. A. Thomson and P. W. Andrews. 2002. Surface antigens of human embryonic stem cells: Changes upon differentiation in culture. *J. Anat.* 200: 249-258.
- Draper, J. S., K. Smith, P. Gokhale, H. D. Moore, E. Maltby, J. Johnson, L. Meisner, T. P. Zwaka, J. A. Thomson and P. W. Andrews. 2004. Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. *Nat. Biotechnol.* 22: 53-54.
- Gropp, M., V. Shilo, G. Vainer, M. Gov, Y. Gil, H. Khaner, L. Matzrafi, M. Idelson, J. Kopolovic, N. B. Zak and B. E. Reubinoff. 2012. Standardization of the teratoma assay for analysis of pluripotency of human ES cells and biosafety of their differentiated progeny. *PLoS One* 7: e45532.
- Haase, A., R. K. Olmer, S. Schwanke, S. Wunderlich, C. Merkert, R. Hess, I. Zweigerdt, J. Gruh, S. Meyer, L. S. Wagner, D. W. Maier, S. Han, K. Glage, P. Fischer, H. R. Schöler and U. Martin. 2009. Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood. *Cell Stem Cell* 5: 434-441.
- Hanna, J., S. Markoulaki, P. Schorderet, B. W. Carey, C. Beard, M. Wernig, M. P. Creighton, E. J. Steine, J. P. Cassady, R. Foreman, C. J. Lengner, J. A. Dausman and R. Jaenisch. 2008. Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell* 133: 250-264.
- Henderson, J. K., J. S. Draper, H. S. Baillie, S. Fishel, J. A. Thomson, H. Moore and P. W. Andrews. 2002. Preimplantation human embryos and embryonic stem cells show comparable expression of stagespecific embryonic antigens. *Stem Cells* 20: 329-337.
- Hentze, H., P. L. Soong, S. T. Wang, B. W. Phillips, T. C. Putti and N. R. Dunn. 2009. Teratoma formation by human embryonic stem cells: evaluation of essential parameters for future safety studies. *Stem Cell Res.* 2: 198-210.
- Johnson, G. V. and R. S. Johe. 1992. The role of microtubule-associated protein 2 (map-2) in neuronal growth, plasticity, and degeneration. *J. Neurosci Res.* 33: 505-512.
- Jung, J. G., D. K. Kim, T. S. Park, S. D. Lee, J. M. Lim and J. Y. Han. 2005. Development of novel markers for the characterization of chicken primordial germ cells. *Stem Cells* 23: 689-698.
- Liao, J., C. Cui, S. Chen, J. Ren, J. Chen, Y. Gao, H. Li, N. Jia, L. Cheng, H. Xiao and J. Xiao. 2009. Generation of induced pluripotent stem cell lines from adult rat cells. *Cell Stem Cell* 4: 11-15.
- Liou, J. F., J. W. Shiau, J. Tailiu, C. Tai, L. R. Chen and M. C. Chang. 2012. Culture of chicken gonadal primordial germ cells (gPGCs) in chicken embryonic fibroblast (cEF) cells conditioned medium and *in vivo* migration. *J. Anim. Vet. Adv.* 11: 2196-2203.
- Liu, H., F. Zhu, J. Yong, P. Zhang, P. Hou, H. Li, W. Jiang, J. Cai, M. Liu, K. Cui, X. Qu, T. Xiang, D. Lu, X. Chi, G. Gao, W. Ji, M. Ding and H. Deng. 2008. Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts. *Cell*

- Stem Cell 3: 58-590.
- Lu, Y., D. W. Franklin, J. J. Brian, L. M. Jennifer, T. J. Erin, G. C. Amalia, B. B. Robert and L. S. Steven. 2012. Avian-induced pluripotent stem cells derived using human reprogramming factors. *Stem Cells Dev.* 21: 394-403.
- Maherali, N. and K. Hochedlinger. 2008. Guidelines and techniques for the generation of induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 3: 595-605.
- Mascetti, V. L. and R. A. Pedersen. 2016. Contributions of Mammalian Chimeras to Pluripotent Stem Cell Research. *Cell Stem Cell* 19: 163-175.
- Motono, M., Y. Yamada, Y. Hattori, R. Nakagawa, K. Nishijima and S. Iijima. 2010. Production of transgenic chickens from purified primordial germ cells infected with a lentiviral vector. *J. Biosci. Bioeng.* 109: 315-321.
- Muller F. J., J. Goldmann, P. Loser and J. F. Loring. 2010. A call to standardize teratoma assays used to define human pluripotent cell lines. *Cell Stem Cell* 6: 412-414.
- Mummery, C., D. Ward, C. E. van den Brink, S. D. Bird, P. A. Doevedans, T. Opthof, A. Brutel de la Riviere, L. Tertoolen, M. van der Heyden and M. Pera. 2002. Cardiomyocyte differentiation of mouse and human embryonic stem cells. *J. Anat.* 200: 233-242.
- Nielsen, J. A., D. Maric, P. Lau, J. L. Barker and L. D. Hudson. 2006. Identification of a novel oligodendrocyte cell adhesion protein using gene expression profiling. *J. Neurosci.* 26: 9881-9891.
- Notarianni, E., and S. Laurie. 1992. Embryonic stem cell from domestic animals: establishment and potential application. In: *Embryonic Development and Manipulation in Animal Production: Trends in Research and Applications.* eds. Lauria, A. and Gandolfi, F. Proland Press, London and Chapel Hill. pp. 175-182.
- Nussbaum, J., E. Minami, M. A. Laflamme, J. A. Virag, C. B. Ware, A. Masino, V. Muskheli, L. Pabon, H. Reinecke and C. E. Murry. 2007. Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. *FASEB J.* 21: 1345-1357.
- Odorico, J. S., D. S. Kaufman and J. A. Thomson. 2001. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells.* 19: 193-204.
- Olivier S., J. Marine, B. Cédric, B. Sylvana, M. Thomas, N. Olivier, A. Audrey, D. Séverine, S. Boussad, G. Fabienne, G. Laurent, B. Mathilde, V. Henri, B. Nicola and M. Majid. 2010. EB66 cell line, a duck embryonic stem cell-derived substrate for the industrial production of therapeutic monoclonal antibodies with enhanced ADCC activity. *MAbs.* 2: 405-415.
- Pain, B., M. E. Clark, M. Shen, H. Nakazawa, M. Sakurai, J. Samarut and R. J. Etches. 1996. Long-term *in vitro* culture and characterisation of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic potentialities. *Development* 122: 2339-2348.
- Park, I. H., R. Zhao, J. A. West, A. Yabuuchi, H. Huo, T. A. Ince, P. H. Lerou, M. W. Lensch and G. Q. Daley. 2008. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 451: 141-146.
- Petitte, J. N., G. Liu, and Z. Yang. 2004. Avian pluripotent stem cells. *Mech Dev.* 121: 1159-1168.
- Robertson, E. J., and A. Bradley. 1986. Production of permanent cell lines from early embryos and their use in studying developmental problems. In: *Experimental Approaches to Mammalian Embryonic Development.* eds. Rossant, J. and Pedersen, R. A. Cambridge Press. New York. pp. 475-508.
- Rosselló, R. A., C. C. Chen, R. Dai, J. T. Howard, U. Hochgeschwende and E. D. Jarvis. 2013. Mammalian genes induce partially reprogrammed pluripotent stem cells in non-mammalian vertebrate and invertebrate species. *eLife* 2: e00036. DOI: 10.7554/eLife.00036.
- Shen, M. M., and P. Leder. 1992. Leukemia inhibitory factor is expressed by the preimplantation uterus and selectively blocks primitive ectoderm formation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 8240-8244.
- Shiue, Y. L., J. R. Yang, Y. J. Liao, T. Y. Kuo, C. H. Liao, C. H. Kang, C. Tai, Gary B. Anderson and L. R. Chen. 2016. Derivation of porcine pluripotent stem cells for biomedical research. *Theriogenology* 86: 176-181.
- Sperger, J. M., X. Chen, J. S. Draper, J. E. Antosiewicz, C. H. Chon, S. B. Jones, J. D. Brooks, P. W. Andrews, P. O. Brown and J. A. Thomson. 2003. Gene expression patterns in human embryonic stem cells and human pluripotent germ cell tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 13350-13355.
- Takahashi, K. and S. Yamanaka. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676.

- Takahashi, K., K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda and S. Yamanaka. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872.
- Thomson, J. A., J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro, M. A. Waknitz, J. J. Swiergiel, V. S. Marshall and J. M. Jones. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147.
- van de Lavoie, M. C., J. H. Diamond, P. A. Leighton, C. Mather-Love, B. S. Heyer, R. Bradshaw, A. Kerchner, L. T. Hooi and T. M. Gessaro. 2006. Germline transmission of genetically modified primordial germ cells. *Nature* 441: 766-769.
- West, F. D., S. L. Terlouw, D. J. Kwon, J. L. Mumaw, S. K. Dhara, K. Hasneen, J. R. Dobrinsky and S. L. Stice. 2010. Porcine induced pluripotent stem cells produce chimeric offspring. *Stem Cells Dev.* 19: 1211-1220.
- Wu, Y., Y. Zhang, A. Mishra, S. D. Tardif and P. J. Hornsby. 2010. Generation of induced pluripotent stem cells from newborn marmoset skin fibroblasts. *Stem Cell Res.* 4: 180-188.
- Yu J., M. A. Vodyanik, K. Smuga-Otto, J. Antosiewicz-Bourget, J. L. Frane, S. Tian, J. Nie, G. A. Jonsdottir, V. Ruotti, R. Stewart, I. I. Slukvin and J. A. Thomson. 2007. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318: 1917-1920.
- Zhao X. Y., W. Li, Z. Lv, L. Liu, M. Tong, T. Hai, J. Hao, C. L. Guo, Q. W. Ma, W. Liu, Z. Fanyi and Z. Qi. 2009. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature* 461: 86-90.

Evaluation of *in vitro* and *in vivo* differentiation capability of induced pluripotent stem cell lines from the black silkie chicken⁽¹⁾

Jenn-Fa Liou⁽²⁾ Yu-Hisn Chen⁽²⁾ Jen-Wen Shiau⁽³⁾ Yow-Ling Shiue⁽⁴⁾ and Lih-Ren Chen^{(2) (5) (6)}

Received: Aug. 15, 2019; Accepted: Oct. 8, 2019

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* differentiation capability of the induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from the black silkie chicken (BSciPSCs). The BSciPSCs have been maintained *in vitro* for more than 35 passages (about 300 days). These BSciPSCs continuously expressed pluripotent markers of stem cells including Oct-4, AP, and PAS antigens. The *in vitro* differentiation ability of BSciPSCs was determined by EB formation and spontaneously differentiation induction, and the resultant lineages were verified by immunostaining with antibodies specific against cells from 3 primitive germ layers and neuron cells. Moreover, the *in vivo* differentiation capability of BSciPSCs was further demonstrated by formation of multiple lineaged tetramos in NOD-SCID mice and resulted 11% chimeric chicken embryos after transplantation of BSciPSCs into Leghorn chicken embryos. In conclusion, the BSciPSC lines established in this study can be maintained *in vitro* continuously without losing their *in vitro* and *in vivo* pluripotency. The success of BSciPSCs establishment would provide an alternative modles for biomedicine study.

Key words: Black silkie chicken, Induced pluripotent stem cells, Chimera.

(1) Contribution No. 2625 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Physiology Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Hsinchu Branch, COA-LRI, Miaoli 36841, Taiwan, R. O. C.

(4) National Sun Yat-sen University-Kaohsiung Medical University Joint Research Center, Kaohsiung 804, Taiwan.

(5) Institute of Biotechnology, National Chung Kung University, Tainan 701, Taiwan.

(6) Corresponding author, E-mail: lrchen@mail.tlri.gov.tw.

尼羅草台畜草 3 號之育成⁽¹⁾

陳勃聿⁽²⁾⁽³⁾ 許進德⁽²⁾ 蕭素碧⁽²⁾

收件日期：108 年 8 月 15 日；接受日期：108 年 10 月 16 日

摘 要

尼羅草 (*Acroceras macrum* Stapf) 台畜草 3 號之選育以自南非引進的尼羅草種原 AC14、AC15、AC20、AC22、AC26、AC29、AC30、AC33、AC36 及 AC39 等 10 個品系當成親本，經自然授粉及單株觀察，選拔出 11 個較優良後裔進行各級產量試驗及芻料品質分析，並以尼羅草台畜草 1 號 (NL cv. TS1) 及 2 號 (NL cv. TS2) 為對照品種。乾物產量以 A11 (5.03 公噸 / 公頃 / 次)、A6 (4.72)、A7 (4.69)、A2 (4.56) 及 A5 (4.55) 等 5 個新品系顯著高於其他品系，且產量表現與 NL cv. TS2 (4.91 公噸 / 公頃 / 次) 的相當，並顯著高於 NL cv. TS1 的 4.27 公噸 / 公頃 / 次。在莖徑部分，以品系 A2 (2.18 mm) 及 A11 (2.06 mm) 顯著粗於其他新品系，且明顯高於 NL cv. TS1 的 1.78 mm 及 NL cv. TS2 的 1.64 mm。A2、A6、A7 及 A11 等 4 個新品系的粗蛋白質含量介於 10.4 – 10.8%，雖然顯著低於 NL cv. TS2 的 12.2%，但與 NL cv. TS1 (10.5%) 之間並無顯著差異。A2 除了產量及品質與 NL cv. TS2 一樣優秀外，因為其莖較粗可儲藏較多養分，在當草苗使用時易於發芽，在草地建立初期會比 NL cv. TS2 更具優勢。該品系已經審查通過命名為尼羅草台畜草 3 號。

關鍵詞：尼羅草、台畜草 3 號、新品種。

緒 言

尼羅草原產於非洲，為多年生細莖型牧草，形態與盤固草 A254 (*Digitaria decumbens* Stent) 類似，但它的光合產物路徑為 C3 型，盤固草 A254 為 C4 型 (Oliveira *et al.*, 1973)。尼羅草營養成分高，牲畜嗜口性佳，在南非或中東等地已成常用的牧草，具有可製作乾草、半乾青貯料及青貯料，亦可放牧或直接青飼 (盧及許，2004) 等特性。尼羅草適於年雨量 625 – 1,500 公釐地區生長，乾旱地區則生長不佳 (Oliveira *et al.*, 1973; Rout *et al.*, 1990)。行政院農業委員會畜產試驗所於 2000 年及 2011 年分別選育尼羅草台畜草 1 號 (NL cv. TS1) 及尼羅草台畜草 2 號 (NL cv. TS2)，皆可全年生產，可長期生產供應草食動物每日所需的草料，且酪農飼養牛羊反應佳 (蕭等，2002；陳等，2016)。然而尼羅草台畜草 1 號的植株型態是直立生長、分蘖少，而尼羅草台畜草 2 號莖稈細且軟，易倒伏，且兩者建立草地須較長的時間，易遭受雜草侵入 (張等，2006)。因此，尼羅草的育種目標是以選育具有高分蘖性及草地建立快之品種。

材料與方法

I. 試驗材料

以自南非引進的尼羅草種原 AC14、AC15、AC20、AC22、AC26、AC29、AC30、AC32、AC33、AC36 等 10 個品系當成親本，於 2001 年種植在行政院農業委員會畜產試驗所苗圃，以開放方式任其自然授粉，採收雜交種子時記錄母本來源。將採收之雜交種子冷藏一年打破休眠後取出進行發芽，以單株種植並觀察其植株型態後，於 2003 年選出 11 個較優良新品系 (編號 A1 至 A11) 其中品系 A10 已於 2011 年命名為尼羅草台畜草 2 號。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2626 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。

(3) 通訊作者，E-mail: muu680@mail.tlri.gov.tw。

II. 選育過程

尼羅草台畜草 3 號育成經過詳列於表 1。

表 1. 尼羅草台畜草 3 號育成經過

Table 1. Breeding procedures of Nilegrass cv. Taishi No. 3

Year	Course of events	Executive locality
2003	Selection of generation and observed trial	Tainan
2004 – 2005	Preliminary yield trial (I)	Tainan
2006	Preliminary yield trial (II)	Tainan
2007 – 2009	Advanced yield trial and quality test	Tainan
2010 – 2013	Regional yield trial	Tainan, Taoyuan, Pingtung
2014	Variety registration applied	Tainan

(i) 各級產量及品質試驗：

在臺南市新化區（畜產試驗所）以尼羅草 10 個新品系、NL cv. TS1 及 NL cv. TS2（對照組）進行各級產量及品質試驗，各品系皆以莖苗無性繁殖方法種植，每公頃 2,000 公斤草苗，均勻撒佈於尼羅草試驗區。田間採逢機完全區集設計 (randomized complete block design, RCBD)，4 重複，每小區面積 20 平方公尺，生長 8 週採收一次，共 9 次採收，調查農藝性狀及品質分析。

(ii) 區域試驗：

以尼羅草新品系 A2 及尼羅草台畜草 1、2 號在臺南市新化區、桃園市楊梅區、屏東縣南州鄉進行試驗，各品系皆以莖苗無性繁殖方法種植，每公頃 2,000 公斤草苗，均勻撒佈於在尼羅草試區。田間採逢機完全區集，4 重複，每小區面積 50 平方公尺，生長 8 週採收一次，調查農藝性狀及品質分析。

III. 農藝性狀及品質分析方法如下：

(i) 最高葉領高度 (toppest leaf collar height)：從基部至最上葉領的高度。

(ii) 葉乾枯率 (leaf dry percentage)：每枝最上枯黃葉之高度除以每枝最上葉領高度。

(iii) 品質分析：

粗蛋白質 (crude protein, CP) 分析方法是以 Kjeldahl 方法測定植體全氮 (N) (Bremner and Mulvaney, 1982)，再將 N × 6.25 推估粗蛋白質含量。酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 及中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 參照 Goering and van Soest (1970) 所提方法測定。水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrate, WSC) 之測定方法乃修正自 Paleg (1959) 所提之方法，將原提出之 80% 酒精萃取液改採純水。磷、鉀、鈣、鎂含量分析係以硫酸及過氧化氫分解至澄清後，磷含量以鉬藍法 (Olsen and Dean, 1965) 比色測定，K、Ca、Mg 含量以原子吸光儀測定 (Thomas, 1985)。

結果與討論

I. 親本鑑定

真核生物的染色體裡分佈相當多的微衛星 (microsatellite)，或稱簡單重複序列 (Inter-Simple Sequence Repeat, ISSR)。以 ISSR 為基礎所設計的引子 (primer) 稱為 ISSR 分子標誌，以進行 PCR 放大的 DNA 指紋分析。作物的性狀易受環境的影響，在傳統分類方式上常遭到困擾，然而分子標誌則不易受到環境影響，能直接反映出遺傳物質的差異，近來在親緣關係分析上已廣為應用。吳等 (2009) 已建立之 81 組 ISSR-CAPS 標記中，尋找尼羅草品種最小鑑別組合，可作為對於栽培品種尼羅草台畜草一號及新品系快速鑑別技術之用。

本研究在收取尼羅草雜交種子 (新品系) 時已確知母本來源，品系 A01 – A04 的母本均為 AC4，而品系 A05 的為 AC22，品系 A06 及 A07 的母本都為 AC29，品系 A08 的母本為 AC33，品系 A09 的母本為 AC36，品系 A10 與 A11 有共同母本為 AC20。吳等 (2009) 利用親本基因傳遞之條件機率，計算單一親本的最大概率估值，藉此推估尼羅草新品系最可能的父本。由其試驗結果發現，尼羅草親本 AC26 最有可能為品系 A2、A5、A06、A7、A10 (NL cv. TS2) 之父本來源，而親本 AC29 為品系 A1、A4 最可能之父本，另親本 AC30 則為品系

A3、A8、A9 及 A11 等新品系之父本。品系 A2 之親本可能為 AC14×AC26，與 NL cv. TS2 (AC20×AC26) 有一共同父本 AC26，兩者之間具有親緣關係。

II. 各級產量比較試驗

10 個尼羅草新品系初級產量試驗結果 (表 2) 發現，株高部分以品系 A1 (126 cm) 顯著高於其他新品系 ($P < 0.05$)，但與 NL cv. TS1 (126 cm) 及 NL cv. TS2 (119 cm) 之間並無顯著性差異存在，而以品系 A2 顯著最矮僅 102 cm；莖徑以品系 A5 顯著最粗達 2.1 mm，但與 NL cv. TS1 (2.04 mm) 之間並無顯著性差異存在，而以品系 A3 顯著最細僅 1.73 mm；乾物產量則以 A11 (5.03 公噸 / 公頃 / 次)、A6 (4.72 公噸 / 公頃 / 次)、A7 (4.69 公噸 / 公頃 / 次)、A2 (4.56 公噸 / 公頃 / 次) 及 A5 (4.55 公噸 / 公頃 / 次) 等 5 個新品系顯著高於其他新品系，且產量表現與 NL cv. TS2 (4.91 公噸 / 公頃 / 次) 的相當，並顯著高於 NL cv. TS1 的 4.27 公噸 / 公頃 / 次。

從初級產量試驗結果選出 6 個產量表現優良的新品系 (A2、A4、A5、A6、A7 及 A11) 參加中級產量比較試驗。在株高部分，NL cv. TS1 的 118 cm 雖與 A7 的 113 cm 之間並無差異，但顯著高於其他品系，而 A2、A4、A5、A6、A11 及 NL cv. TS2 的株高介於 100 – 106 cm 之間，品系間並無顯著差異存在；在每支葉片數部分，以品系 A7 的 10.4 片 / 支顯著高於 NL cv. TS1 的 9.1 片 / 支 ($P < 0.05$)，但與 NL cv. TS2 (10.0 片 / 支) 及其他新品系之間並無顯著性差異存在 (表 3)；在葉乾枯率部分，以品系 A11 的 22.3% 顯著最低，而以品系 A5 的 25.7% 顯著最高，與 NL cv. TS2 (22.6%) 之間並無顯著差異存在，但卻顯著低於 NL cv. TS1 的 24.6%；乾物產量以品系 A11 的 30.4 公噸 / 公頃 / 年、A2 的 29.5 公噸 / 公頃 / 年及 A7 的 29 公噸 / 公頃 / 年等 3 個品系皆顯著高於品系 A4 的 25.9 公噸 / 公頃 / 年及 A5 的 25.5 公噸 / 公頃 / 年，且與對照組的 NL cv. TS1 的 29.8 公噸 / 公頃 / 年及 NL cv. TS2 的 31.5 公噸 / 公頃 / 年之間並無顯著差異存在，顯示 A2、A7 及 A11 等 3 個新品系的產量表現與現有 2 個品種一樣優秀。

表 2. 尼羅草不同品系初級產量試驗之農藝特性

Table 2. The agronomic traits of different lines of Nilegrass in preliminary yield trial (I)

Line	Plant height	Toppest leaf collar height	Stem diameter	Dry matter yield	Dry matter percentage
	----- cm -----		mm	mt/ha/cut	%
A1	126 ^{a*}	94 ^{ab}	2.08 ^{ab}	4.30 ^b	26.9 ^{bc}
A2	102 ^c	81 ^{cd}	1.84 ^{cd}	4.56 ^{ab}	26.9 ^{bc}
A3	106 ^{de}	80 ^{cd}	1.73 ^d	4.27 ^b	28.5 ^a
A4	110 ^{cd}	76 ^d	1.97 ^{abc}	4.37 ^b	27.3 ^{abc}
A5	108 ^{de}	77 ^d	2.10 ^a	4.55 ^{ab}	28.1 ^{ab}
A6	108 ^{de}	86 ^{bcd}	1.98 ^{abc}	4.72 ^{ab}	26.0 ^{cd}
A7	116 ^{bc}	92 ^{ab}	1.85 ^{cd}	4.69 ^{ab}	27.4 ^{abc}
A8	112 ^{cd}	89 ^{bc}	2.03 ^{abc}	3.80 ^c	24.9 ^d
A9	107 ^{de}	80 ^{cd}	1.87 ^{bcd}	4.26 ^b	27.9 ^{ab}
A11	111 ^{cd}	86 ^{bcd}	1.93 ^{abc}	5.03 ^a	26.9 ^{bc}
NL cv. TS1	126 ^a	100 ^a	2.04 ^{abc}	4.27 ^b	28.0 ^{ab}
NL cv. TS2	119 ^{ab}	90 ^{abc}	1.86 ^{cd}	4.91 ^a	27.7 ^{ab}

*a, b, c, d, e Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

從初級產量試驗結果選出 6 個產量表現優良的新品系 (A2、A4、A5、A6、A7 及 A11) 參加中級產量比較試驗。在株高部分，NL cv. TS1 的 118 cm 雖與 A7 的 113 cm 之間並無差異，但顯著高於其他品系，而 A2、A4、A5、A6、A11 及 NL cv. TS2 的株高介於 100 – 106 cm 之間，品系間並無顯著差異存在；在每支葉片數部分，以品系 A7 的 10.4 片 / 支顯著高於 NL cv. TS1 的 9.1 片 / 支 ($P < 0.05$)，但與 NL cv. TS2 (10.0 片 / 支) 及其他新品系之間並無顯著性差異存在 (表 3)；在葉乾枯率部分，以品系 A11 的 22.3% 顯著最低，而以品系 A5 的 25.7% 顯著最高，與 NL cv. TS2 (22.6%) 之間並無顯著差異存在，但卻顯著低於 NL cv. TS1 的 24.6%；乾物產量以品系 A11 的 30.4 公噸 / 公頃 / 年、A2 的 29.5 公噸 / 公頃 / 年及 A7 的 29 公噸 / 公頃 / 年等 3 個品系皆顯著高於品系 A4 的 25.9 公噸 / 公頃 / 年及 A5 的 25.5 公噸 / 公頃 / 年，且與對照組的 NL cv. TS1 的 29.8 公噸 / 公頃 / 年及 NL cv. TS2 的 31.5 公噸 / 公頃 / 年之間並無顯著差異存在，顯示 A2、A7 及 A11 等 3 個新品系的產量表現

與現有 2 個品種一樣優秀。

表 3. 尼羅草不同品系中級產量試驗之農藝特性

Table 3. The agronomic traits of different lines of nilegrass in preliminary yield trial (II)

Line	Plant height	Leaf number	Dry matter yield	Dry matter percentage	Dry leaf percentage
	cm	no./tiller	mt/ha/year	----- % -----	-----
A2	105 ^{bc}	9.8 ^{ab}	29.5 ^{ab}	4.56 ^{ab}	26.9 ^{bc}
A4	102 ^c	10.1 ^{ab}	25.9 ^c	4.27 ^b	28.5 ^a
A5	100 ^c	9.9 ^{ab}	25.5 ^c	4.37 ^b	27.3 ^{abc}
A6	106 ^{bc}	10.0 ^{ab}	28.5 ^{bc}	4.55 ^{ab}	28.1 ^{ab}
A7	113 ^{ab}	10.4 ^a	29.0 ^{ab}	4.72 ^{ab}	26.0 ^{cd}
A11	103 ^c	9.5 ^{ab}	30.4 ^{ab}	5.03 ^a	26.9 ^{bc}
NL cv. TS1	118 ^a	9.1 ^b	29.8 ^{ab}	4.27 ^b	28.0 ^{ab}
NL cv. TS2	106 ^{bc}	10.0 ^{ab}	31.5 ^a	4.91 ^a	27.7 ^{ab}

a, b, c, d Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

以 A2、A6、A7 及 A11 等 4 個新品系參加高級產量及品質試驗。在株高部分，以品系 A2 及 NL cv. TS1 的 123 cm 顯著最高 ($P < 0.05$)，優於 NL cv. TS2 的 114 cm，也優於其他 3 個新品系 (表 4)；在葉長部分，也是以品系 A2 的 16.3 cm 顯著最長與 NL cv. TS2 相當，優於 NL cv. TS1 的 14.3 cm；葉寬部分，以品系 A11 (0.67 cm)、A2 (0.60 cm)、A6 (0.60 cm) 等 3 個品系顯著最寬，且與 NL cv. TS1 的 0.53 cm 及 NL cv. TS2 的 0.60 cm 之間並無顯著差異存在；在莖徑部分，以品系 A2 (2.18 mm) 及 A11 (2.06 mm) 顯著粗於其他新品系，且明顯高於 NL cv. TS1 的 1.78 mm 及 NL cv. TS2 的 1.64 mm；在乾物產量部分，以品系 A2 的 7.33 公噸 / 公頃 / 次顯著最高，優於 NL cv. TS1 的 6.73 公噸 / 公頃 / 次，而與 NL cv. TS2 無顯著差異；4 個新品系的粗蛋白質含量介於 10.4 – 10.8% 之間並無顯著差異存在，雖然顯著低於 NL cv. TS2 的 12.2%，但與 NL cv. TS1 (10.5%) 之間並無顯著差異 (表 5)；在中洗纖維及酸洗纖維含量部分，4 個新品系之間並無顯著性差異存在，除了品系 A7 之外，皆與 NL cv. TS2 表現一樣優秀。綜合比較 4 個新品系的農藝性狀表現及品質分析，以品系 A2 的表現最佳，除了產量及品質與 NL cv. TS2 一樣優秀外，因為其莖粗可儲藏較多養分，在當草苗使用時易於發芽，使得草地建立初期會比 NL cv. TS2 更具優勢。

表 4. 尼羅草不同品系高級產量試驗之農藝特性

Table 4. The agronomic traits of different lines of nilegrass in advanced yield trial

Line	Plant height	Leaf length	Leaf width	Stem diameter	Leaf / Stem	Dry matter percentage	Dry matter yield
	-----	cm -----		mm	%	mt/ha/cut	
A2	123 ^a	16.3 ^{ab}	0.60 ^{ab}	2.18 ^a	0.61 ^{ab}	25.6 ^a	7.33 ^{ab}
A6	115 ^b	14.8 ^b	0.60 ^{ab}	1.91 ^b	0.63 ^{ab}	23.5 ^b	7.20 ^{bc}
A7	114 ^b	12.7 ^c	0.43 ^c	1.66 ^c	0.67 ^{ab}	22.7 ^b	6.94 ^{bc}
A11	115 ^b	16.0 ^{ab}	0.67 ^a	2.06 ^a	0.66 ^{ab}	24.6 ^{ab}	7.02 ^{bc}
NL cv. TS1	123 ^a	14.3 ^{bc}	0.53 ^{bc}	1.78 ^{bc}	0.53 ^b	23.9 ^{ab}	6.73 ^c
NL cv. TS2	114 ^b	17.0 ^a	0.60 ^{ab}	1.64 ^c	0.72 ^a	24.2 ^{ab}	7.70 ^a

a, b, c Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

III. 區域試驗

經綜合評估各級產量試驗及品質分析的結果後，以尼羅草新品系 A2 參加區域試驗，試驗地點共計有臺南市、桃園市及屏東縣等 3 處。在臺南市品系 A2 的株高為 135 cm 顯著高於 NL cv. TS2 的 122 cm ($P < 0.05$)，而在桃園市及屏東縣兩者之間則無差異 (表 6)；在最上葉領高度部分，也有相同結果，在臺南市品系 A2 的高度達到 102 cm 顯著高於 NL cv. TS2 的 96 cm；在乾物產量部分，兩個品系在 3 個地區皆無差異存在；在粗蛋白質含量部分有與乾物產量有相同結果，皆無差異存在；品系 A2 的中洗纖維含量在臺南市、桃園市及屏東縣分別為

64.3%、63.8% 及 61.4% 皆顯著高於 NL cv. TS2 的 62.7%、62.3% 及 60.5%；在酸洗纖維部分，品系 A2 的含量在臺南市及桃園市分別為 35.6% 及 36.1% 皆顯著高於 NL cv. TS2 的 34.3% 及 34.9%，而在屏東縣則兩者之間並無差異。由上得知品系 A2 與 NL cv. TS2 同樣具高產特性，且在農藝性狀表現比 NL cv. TS2 優秀，雖然在品質部分品系 A2 略遜 NL cv. TS2，但兩者在各地區皆有良好的適應性。

表 5. 尼羅草不同品系高級產量試驗之品質分析

Table 5. The hay quality of different lines of nilegrass in advanced yield trial

Line	CP [#]	NDF	ADF	K	Ca	Mg	P
----- % -----							
A2	10.5 ^b	67.4 ^{ab}	37.1 ^{ab}	3.82	0.08 ^b	0.29	0.85 ^c
A6	10.8 ^b	66.6 ^{ab}	37.4 ^{ab}	3.89	0.10 ^{ab}	0.38	0.87 ^{abc}
A7	10.4 ^b	67.9 ^a	38.0 ^a	3.68	0.09 ^{ab}	0.31	0.87 ^{abc}
A11	10.6 ^b	66.8 ^{ab}	37.5 ^{ab}	3.73	0.10 ^{ab}	0.32	0.86 ^{bc}
NL cv. TS1	10.5 ^b	67.9 ^a	38.0 ^a	3.69	0.10 ^{ab}	0.33	0.89 ^{ab}
NL cv. TS2	12.2 ^a	66.3 ^b	36.5 ^b	3.91	0.11 ^a	0.35	0.91 ^a

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[#]CP: crude protein; ADF: acid detergent fiber; NDF: neutral detergent fiber.

表 6. 尼羅草在區域試驗之農藝性狀

Table 6. Agronomic traits of nilegrass in regional trial

Location	Line	Plant height	Toppest leaf collar height	Dry matter yield	Dry matter percentage	CP [#]	NDF	ADF	WSC
		----- cm -----		mt/ha/cut	----- % -----				
Tainan	A2	135 ^a	113 ^a	6.75	26.9	10.1	64.3 ^a	35.6 ^a	4.65
	NL cv. TS2	122 ^b	105 ^b	6.63	26.4	10.2	62.7 ^b	34.3 ^b	4.82
Taoyuan	A2	115 ^a	96 ^a	5.96	25.3	11.8	63.8 ^a	36.1 ^a	2.52
	NL cv. TS2	110 ^a	92 ^a	5.81	24.5	12.1	62.3 ^b	34.9 ^b	2.38
Pingtung	A2	125 ^a	97 ^a	6.03	26.7	11.0	61.4 ^a	33.2 ^a	3.48
	NL cv. TS2	118 ^a	90 ^a	6.15	26.2	11.1	60.5 ^b	33.2 ^a	3.53
Mean	A2	125 ^a	102 ^a	6.25	26.3	11.0	63.2 ^a	35.0 ^a	3.55
	NL cv. TS2	117 ^a	96 ^b	6.20	25.7	11.1	61.8 ^b	34.1 ^b	3.58

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[#]CP: crude protein; ADF: acid detergent fiber; NDF: neutral detergent fiber; WSC: water soluble carbohydrate.

結 論

尼羅草新品系 A2 因為莖粗可儲藏較多養分，在當草苗使用時易於發芽，因此草地建立快，地面覆蓋率高，冬季有水灌溉時生長良好。此外，A2 在環境（例如季節氣候）變化大時，對環境緩衝能力較強。未來可推廣於休耕地大面積種植。本品系已於 2014 年 11 月經審查委員會審議通過，命名為尼羅草台畜草 3 號 (NL cv. TS3)。

參考文獻

- 吳東鴻、蕭素碧、施意敏、胡凱康。2009。開發尼羅草專一性分子標記。臺灣農學會報 10：307-320。
- 張世融、洪國源、許福星。2006。尼羅草莖苗播種量對草地建立之影響。畜產研究 39：203-213。
- 陳勃聿、許進德、蕭素碧。2016。尼羅草台畜草二號之育成。畜產研究 50：207-212。
- 蕭素碧、林正斌、金文蔚、陳文、陳玉燕、張溪泉、顏素芬。2002。尼羅草台畜草一號之育成。畜產研究 35：91-

100。

盧啟信、許福星。2004。尼羅草收穫後調製之研究。畜產研究 37：343-349。

Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982 Nitrogen-Total. In: Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edition ed. Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R. Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin, USA. pp. 610-613.

Goering, H. K., P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Application). In: Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA. Washington, DC, USA. pp. 8-9.

Oliveira, B. A. D. de., P. de S. Faria, S. M. Souto, A. M. Carneiro, J. Dobereiner and S. Aronovich. 1973. Identification of tropical grasses with the C4 pathway of photosynthesis from leaf anatomy. Brazilian J. Agric. Res. 8(8): 267-271.

Olsen, S. R. and L. A. Dean. 1965. Phosphorus. In: Method of Soil Analysis. Part 2. ed. Black, C. A. Am. Soc. Agron.

Paleg, L. G. 1959. Citric acid interference in the estimation of reducing sugars with alkaline copper reagents. Anal. Chem. 31: 902.

Rout, C. J., L. G. Howe and L. P. du Toit. 1990. The yield of *Paspalum dilatatum* and *Acroceras macrum* under irrigation in the Dohne Sourveld. S. Afr. J. Plant Soil. 7(4): 240-242.

Thomas, G. W. 1982. Exchangeable cations. In: In: Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edition ed. Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R. Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin, USA. pp. 159-165.

van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Breeding of the new variety of Nilegrass cv. Taishi No. 3 ⁽¹⁾

Po-Yu Chen ⁽²⁾⁽³⁾ Chin-Te Hsu ⁽²⁾ and Sue-Pea Shaug ⁽²⁾

Received: Aug. 15, 2019; Accepted: Oct. 16, 2019

Abstract

Ten lines of nilegrass (*Acroceras macrum* Stapf) introduced from South Africa, including AC14, AC15, AC20, AC22, AC26, AC29, AC30, AC33, AC36 and AC39 were used as open-pollinating parents for nilegrass breeding. Eleven elite lines were selected by forage yield and quality after all trials. Both nilegrass cv. Taishi No. 1 (NL cv. TS1) and cv. Taishi No. TS2 (NL cv. TS2) were used as control varieties. Dry matter yield of A11 (5.03 Mt/ha/cut), A6 (4.72), A7 (4.69), A2 (4.56) and A5 (4.55) were significantly higher than those of the other new lines. No significant difference was observed among these 4 lines and NL cv. TS2 (4.91 Mt/ha/cut). However, all of these 4 lines had significantly higher forage yield as compared to NL cv. TS1 (4.27 Mt/ha/cut). No significant difference was observed on the crude protein contents among A2, A6, A7 and A11, ranged from 10.4% to 10.8%. The stem diameters of A2 and A11 with 2.18 and 2.06 mm were larger than those of the other new lines. The crude protein contents of these 4 lines were all significantly lower than that of NL cv. TS2 (12.2%). However, no significant difference was observed among these 4 lines and NL cv. TS1 (10.5%) for the crude protein contents. The line A2 had the same forage yield and quality as NL cv. TS2. It also maintained good adaptability in all locations. Further, the line A2 was more easily established with larger stem diameter and more branches. It was named after Nilegrass cv. Taishi No. 3 (NL cv. TS3).

Key words: Nilegrass, NL cv. TS3, New variety.

(1) Contribution No. 2626 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Forage Crops Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: muu680@mail.tlri.gov.tw.

稀釋液中甘油與二甲基亞砜比例對玻璃化冷凍解凍後山羊精子品質之影響⁽¹⁾

康定傑⁽²⁾⁽⁴⁾ 陳裕信⁽³⁾ 曲鳳翔⁽³⁾ 林秀蓮⁽³⁾ 曾楷扉⁽²⁾

收件日期：108 年 11 月 19 日；接受日期：108 年 12 月 26 日

摘 要

本研究主要為利用甘油 (glycerol) 搭配二甲基亞砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 為冷凍保護劑成分，並以 0.25 mL 法式麥管 (French straw) 為載具進行麥管式山羊精液玻璃化冷凍，評估 glycerol (2、4、6%) 與 DMSO (0、3、6、9%) 於各組合中，何種比例之搭配最有利於麥管式玻璃化冷凍解凍後山羊精子之品質之維持。結果顯示 6% glycerol 與 6% DMSO 之組合在活力 ($41.08 \pm 2.13\%$)、存活率 ($55.48 \pm 2.49\%$)、頭帽完整性 ($35.89 \pm 3.02\%$) 及 DNA 完整性 ($71.65 \pm 1.73\%$) 表現均顯著高於其他組別。另外針對最佳組合性能者 (6% glycerol + 6% DMSO)，進一步評估添加 0.5 M 蔗糖 (sucrose) 後對玻璃化冷凍解凍後山羊精子品質是否有更佳之保護效果。結果顯示，添加 0.5 M sucrose 者，解凍後精子存活率 ($55.77 \pm 1.34\%$)、頭帽完整性 ($41.92 \pm 1.25\%$) 及粒線體潛能 ($51.90 \pm 2.19\%$) 之性能表現皆顯著優於未添加者 ($P < 0.05$)。綜合以上結果得知，山羊精液麥管式玻璃化冷凍稀釋液中添加 6% glycerol、6% DMSO 及 0.5 M sucrose 為冷凍保護劑時可獲得較佳之解凍後精子品質。

關鍵詞：山羊、法式麥管、精液玻璃化冷凍。

緒 言

繁殖技術之應用在 20 世紀中有突破性的進展，這些進展顛覆了以往大家對低溫生物科學上的認知。在 20 世紀初首先被開發的繁殖技術便是人工授精 (artificial insemination, AI)。AI 技術發展約 20 年後，Polge (1949) 發現了第一個冷凍保護劑 (glycerol)，並成功的應用 glycerol 將精子冷凍保存。在 1980 代初期，第一頭成功經由體外受精 (in vitro fertilization, IVF) 產製的小牛也順利出世 (Brackett *et al.*, 1980)。雖然在 19 世紀末已揭露造成細胞死亡及冷凍傷害之始作俑者為細胞內部所產生之冰晶 (Molisch, 1897)，然而嚴格來說，此理論直至 20 世紀初始被科學家們瞭解，從而由冷凍生物科學衍生而出繁殖相關冷凍技術。Luyet and Hodapp (1938) 為首次利用青蛙的精液進行玻璃化冷凍，並證實玻璃化冷凍方法可應用於動物精液之冷凍。而 Polge (1949) 重複驗證 Luyet and Hodapp (1938) 之結果，並從中發現 glycerol 可做為精子冷凍時的保護劑，從此開啟了慢速冷凍的研究範疇。時至今日，有兩種主要的冷凍技術被應用在配子冷凍上，一是慢速冷凍法 (slow cryopreservation)，另一則為玻璃化冷凍法 (vitrification)。在冷凍過程中使用之冷凍保護劑 (cryoprotectants) 均具有毒性。慢速冷凍通常使用較低濃度的冷凍保護劑，如此一來使得細胞受到的毒性傷害之威脅相對減低；另外冷凍保護劑的作用便是利用濃度梯度的原理，使細胞內部水分滲透出細胞外，如此一來細胞於冷凍過程中因溫度降至冰點以下而導致細胞內部殘餘水分形成冰晶的機會便下降，然而水分由細胞內移出的過程中，滲透壓的改變會對細胞膜造成緊迫，若冷凍保護劑濃度較低，則此一緊迫現象則較輕微 (Alex and Higgins, 2014)。玻璃化冷凍則是一個迅速的冷凍方法，因其降溫速率高達每分鐘 $100,000^{\circ}\text{C}$ 以上 (He *et al.*, 2008)，因此減少了低溫冷休克 (cold shock) 的發生，此一極高之降溫速率，使得於冷凍過程中，溫度下降得以快速跨過冰晶形成帶，減少了冰晶形成對細胞的傷害。但是玻璃化冷凍並非沒有缺點，其需要較高濃度的冷凍保護劑，因而細胞需要承受之毒性及滲透壓差之緊迫亦較高 (Kasai, 1996; Alex and Higgins, 2014)。此外，玻璃化冷凍的冷凍程序與慢速冷凍法相較，在成本及製作時間上簡單許多，另在許多物種卵母細胞及胚冷凍的結果表現亦優於慢速冷凍

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2627 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

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

(Campos *et al.*, 2016)。本試驗利用 0.25 mL 之法式麥管為載具，裝填精液後進行玻璃化冷凍，評估 DMSO (0 – 9%) 與 glycerol (2 – 6%) 搭配添加於精子玻璃化冷凍保護劑中對冷凍解凍後精子品質之影響。

材料與方法

I. 動物及精液收集

本試驗精液係採集自 3 頭年齡介於 2 – 3 歲之阿爾拜因公羊，採精頻率每週 2 次，每次間隔 2 天以上。

精液採集係使用人工假陰道 (artificial vagina) 法，採集前先予以組裝，於假陰道外殼之注水孔注入 45°C 溫水，使假陰道內襯間夾層呈現約 2/3 之飽滿度，其後再於氣孔吹入定量空氣以維持假陰道內腔適宜的壓力；採精時於假陰道內腔前 1/3 處之表面塗抹對精子無害之潤滑劑 (K-Y 軟膏) (Johnson and Johnson Medical, Limited Gargrave, Skipton, BD23 3RX. U. K.)。人工採精操作時，待公羊駕乘母羊的同時，將公羊陰莖導入假陰道內，直至完成射精動作；其後，並將假陰道之錐形漏斗向下甩動，使精液集中於集精管 (15 mL 離心管) 內而完成精液採集。

II. 精漿之去除

先各別配置重量百分比濃度 0.9% NaCl、1.15% KCl、0.61% CaCl₂、2.11% KH₂PO₄、3.82% MgSO₄ · 7H₂O、5.34% Glucose anhydrate 之溶液。精漿洗滌操作液之配製則依序加入 100 mL 0.9% NaCl、4 mL 1.15% KCl、3 mL 0.61% CaCl₂、0.4 mL 2.11% KH₂PO₄、1 mL 3.82% MgSO₄ · 7H₂O、4.5 mL 5.34% Glucose anhydrate 及 12 mL pH 為 7.4 之磷酸緩衝液 (phosphate buffer)，混勻後調整 pH 至 7.15 – 7.20 之間，並儲存於 4°C 備用。收集於 15 mL 離心管內之精液，除吸取部分精液進行新鮮精液之各項精子品質分析外，其餘之精液加入 3 倍量的精漿洗滌操作液，經輕柔混合後，以 700 × g，離心 10 min，去除上層液後重覆上述步驟乙次，最終留下約 1 mL 的精子混合液供後續之試驗使用。

III. 冷凍保護稀釋液配製

本研究中冷凍保護劑 DMSO 與 glycerol 之濃度依比例不同共分成 12 組 (DMSO : glycerol, v/v(%) 最終濃度比值分別為 2 : 0、4 : 0、6 : 0、2 : 3、4 : 3、6 : 3、2 : 6、4 : 6、6 : 6、2 : 9、4 : 9、6 : 9)，配製方式皆以體積比體積為之 (v/v)；因此，glycerol/DMSO 之最終濃度 (%) 分別為 1/0、2/0、3/0、1/1.5、2/1.5、3/1.5、1/3、2/3、3/3、1/4.5、2/4.5、2/4.5%。各冷凍保護劑配方以含 4% 低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 之 Tris-citric acid-glucose (4% LDL-TCG) 為基礎液，各冷凍保護劑之添加量則按照 glycerol (2 – 6%) 及 DMSO (0 – 9%) 各組所需之濃度比例配製；稀釋液皆加入 gentamicin 250 µg 及 penicillin 150 µg (表 1)。其後經 0.22 µm 之濾網 (Millipore, millex GP filter unit) 過濾後儲存於 4°C 備用。

表 1. 山羊精液玻璃化冷凍保護劑成分

Table 1. The cryoprotectant components of goat sperm vitrification dilution

Components	
LDL (g) (dry matter)	4
Tris (g)	2.42
Citric acid (g)	1.48
Glucose (g)	1.00
Glycerol (%)	2 – 6
DMSO (%)	0 – 9
Gentamicine (µg)	250
Penicillin (µg)	150
Distilled water (mL)	up to 100

IV. 精液之冷凍

收集之精液依照各試驗所需均分成數等分。每一組之冷凍保護稀釋液添加皆使用二階段方式添加，第一階段冷凍保護稀釋液為僅含 glycerol 者。採集之精液經洗除精漿後依照各處理組需要之濃度加入第一階段稀釋液

(含 2 – 6% glycerol)，第一階段稀釋液之添加量依照每劑擁有 1×10^9 精子濃度進行添加量計算，添加第一階段稀釋液時，將添加量平分成三等份進行添加，每等份添加間隔時間為 10 min。添加完畢後靜置 120 min，續依照配方之不同分別加入等體積含有 DMSO (0 – 9%) 之第二階段稀釋液。第二階段稀釋液添加完畢並混勻後，立即裝填入 0.25 mL 之法式麥管。麥管裝填方法為先吸取約 80 μ L 不含任何冷凍保護劑之稀釋液 (4% LDL-TCG 基礎液)，製作氣泡後續吸取含有冷凍保護劑之精液混合液 50 μ L，製作氣泡後再吸取約 80 μ L 不含任何冷凍保護劑之稀釋液，最後以 PVA (Polyvinyl alcohol) 粉封口後移入距液態氮液面上 4 cm 處之平臺，維持 30 sec 後立即將麥管插入液態氮中進行玻璃化冷凍。而評估添加 0.5 M sucrose 之試驗時，0.5 M sucrose 添加於第一階段稀釋液中，其餘方法與不同比例 glycerol 及 DMSO 之試驗相同；因此 sucrose 的最終濃度為 0.25 M。

V. 精液之解凍

所有冷凍精液自液態氮桶移出後，立即投入 37°C 水浴槽中 30 sec 解凍。解凍後再進行相關精子性狀之評估。

VI. 精子性能分析

精子各項性能之分析皆使用流式細胞儀 (EASCYTE PLUS；法國 IMV 公司) 並搭配 EasySoft v5.4.1 beta2 軟體進行存活率 (viability)、精子頭帽完整性 (acrosome integrity)、粒線體潛能 (mitochondria potential) DNA 完整性 (DNA integrity) 分析，所有操作步驟皆依照操作手冊進行。

VII. 精子活力分析

新鮮精液先以 4% LDL-TCG 稀釋至 6.5×10^6 sperms/mL 之濃度後，吸取 10 μ L 之精液，滴於載玻片上，蓋上蓋玻片後利用電腦精子分析系統與 VideoTesT-ZooSperm 1.0 軟體，評估精子活力 (motility)，詳細操作依操作手冊進行。

VIII. 統計分析

本研究中各處理組別之精子活力、存活率、頭帽完整性、DNA 完整性及粒線體潛能之差異均以統計分析系統 (statistical analysis system, SAS, 2012) 以一般線性模式程序 (general linear models, GLM)，並以鄧肯多變域分析法 (Duncan's multiple range test) 評估各處理間之差異性，所有處理組別間差異性以 $P < 0.05$ 表示。

結果與討論

冷凍保存是長時間保存精子的最有效技術，但是冷凍保存過程中的低溫會對哺乳動物精子產生傷害，導致存活率、DNA 完整性及功能的完整性下降 (Martin *et al.*, 2004; Bucak *et al.*, 2013)。山羊精子因為擁有較低的膽固醇 / 磷脂質比例，導致其冷凍解凍敏感性較其他物種高 (Motamedi-Mojdehi *et al.*, 2013)。現今已有許多稀釋液及冷凍保護劑被開發應用於羊隻精液冷凍 (Soylu *et al.*, 2006)。本研究評估於精子冷凍稀釋液 (4% LDL-TCG) 中添加不同比例 glycerol (2 – 6%) 與 DMSO (0 – 9%) 之冷凍保護劑對山羊精液麥管式玻璃化冷凍解凍後精子品質之影響。冷凍之精液於解凍過程對精子活力、頭帽、細胞膜及 DNA 完整性皆會有不良之影響 (Abdelhakeam *et al.*, 1991)。試驗結果如表 2 所示，在無 DMSO (0%) 存在的狀況下，隨著 glycerol 濃度增加 (2%、4% 及 6%)，解凍後精子活力、存活率、頭帽完整性及粒線體潛能等性能皆會隨之有顯著的增加，其中在 glycerol 濃度為 6% 時之精子活力、存活率與所有處理組中之最佳表現組合 (6% glycerol + 6% DMSO) 相同，在粒線體潛能之表現上甚至顯著高於最佳搭配組，此一結果與 glycerol 用於山羊傳統冷凍精液製作時使用 7% 甘油對精子冷凍解凍保護效果之最佳結果相似 (Farshad *et al.*, 2009; Bezerra *et al.*, 2011)；當 DMSO 於 3% 及 6% 時，精子活力、存活率、頭帽完整性及粒線體潛能基本上均亦隨 glycerol 濃度增加而有較佳之表現。glycerol 及 DMSO 濃度同為 6% 時，除粒線體潛能顯著低於 6% glycerol + 0% DMSO 組外，其餘在精子活力、存活率、頭帽完整性及 DNA 完整性均顯著高於其他組合，為試驗中保護效果最佳之組合。然而當 DMSO 濃度提升至 9% 時，對精子活力、頭帽完整性、DNA 完整性及粒線體潛能之保護能力大幅下降，其中又以頭帽完整性之影響較大；而當 glycerol 濃度亦提升至 6% 之最高量時，在活力、存活率、頭帽完整性之表現均顯著低於其他之組合。綜合上述結果發現，在無 DMSO (0%) 存在下，glycerol 添加量達到 6% 時，進行玻璃化冷凍對於精子的冷凍解凍保護效果均很優異。glycerol 與 DMSO 皆為山羊精液冷凍常見之滲透性冷凍保護劑 (Ritar *et al.*, 1990a, b; Tuli and Holtz, 1994; Kundu *et al.*, 2000; Leboeuf *et al.*, 2000)，可以經由濃度梯度而擴散進入細胞中，其中 glycerol 分子量為 92.094 g/mole，而 DMSO 則為 78.130 g/mole，小分子量之物質可以更快之速度利用擴散原理進入精細胞中。Alex and Higgins (2014) 研究指出在 21°C 條件下，DMSO 之滲透速率為 6.4 μ m/min，而 glycerol

表 2. 稀釋液中添加不同比例之 glycerol 與 DMSO 對山羊精液管式玻璃化冷凍解凍後精子品質之影響

Table 2. The effects of different glycerol and dimethyl sulfoxide ratios in diluent on the goat sperm quality after tube-type vitrified-thawed

Glycerol (%)	DMSO (%)	Motility (%)	Viability (%)	Acrosome Integrity (%)	DNA Integrity (%)	Mitochondria potential (%)
2	0	31.04 ± 1.82 ^c	40.44 ± 0.68 ^f	18.28 ± 1.38 ^{bc}	68.21 ± 1.79 ^{bc}	29.62 ± 0.66 ^{cde}
4	0	36.58 ± 3.33 ^b	46.22 ± 3.21 ^{de}	21.34 ± 1.21 ^{bc}	68.36 ± 0.59 ^{bc}	34.30 ± 3.66 ^{bc}
6	0	40.62 ± 1.51 ^a	54.57 ± 0.91 ^{ab}	28.10 ± 2.20 ^b	69.40 ± 1.04 ^b	38.62 ± 0.97 ^a
2	3	31.93 ± 1.72 ^c	43.19 ± 1.90 ^{ef}	18.83 ± 1.03 ^{bc}	62.69 ± 1.68 ^{def}	28.24 ± 1.74 ^{de}
4	3	36.31 ± 2.45 ^b	42.38 ± 2.22 ^f	19.29 ± 1.23 ^{bc}	64.59 ± 1.94 ^d	33.97 ± 2.86 ^{ab}
6	3	39.17 ± 0.71 ^b	51.78 ± 2.00 ^{bc}	20.79 ± 0.69 ^{bc}	66.80 ± 0.93 ^c	35.96 ± 0.60 ^{ab}
2	6	36.94 ± 1.61 ^b	50.59 ± 1.56 ^c	21.44 ± 1.11 ^{bc}	62.07 ± 0.93 ^{ef}	32.73 ± 1.95 ^{bcd}
4	6	41.00 ± 1.14 ^a	50.73 ± 1.37 ^c	26.15 ± 0.53 ^a	69.19 ± 0.32 ^b	34.68 ± 4.38 ^{ab}
6	6	41.08 ± 2.13 ^a	55.48 ± 2.49 ^a	35.89 ± 3.02 ^a	71.65 ± 1.73 ^a	36.14 ± 0.83 ^b
2	9	29.62 ± 0.67 ^c	48.85 ± 1.98 ^{cd}	14.87 ± 2.32 ^c	64.26 ± 0.32 ^{de}	29.24 ± 0.58 ^{de}
4	9	25.17 ± 2.66 ^d	48.51 ± 0.88 ^{cd}	14.18 ± 1.60 ^c	61.92 ± 1.61 ^{ef}	24.63 ± 0.91 ^{ef}
6	9	21.74 ± 1.68 ^e	33.94 ± 0.71 ^g	12.40 ± 1.90 ^e	60.41 ± 0.72 ^f	24.59 ± 2.05 ^{ef}

Values are mean ± S.E.M., replicate = 10.

^{a, b, c, d, e, f, g} Values in the same column with different superscripts differ (P < 0.05).

表 3. 稀釋液中添加 0.5 M sucrose 對山羊精液管式玻璃化冷凍解凍後精子品質之影響

Table 3. The effects of diluent (6% glycerol + 6% DMSO) presence of 0.5 M sucrose on the goat sperm quality after tube-type vitrified-warmed

Treatment	0.5 M sucrose	Motility (%)	Viability (%)	Acrosome Integrity (%)	DNA Integrity (%)	Mitochondria potential (%)
6% glycerol +	-	40.33 ± 0.82 ^a	53.85 ± 1.42 ^b	35.63 ± 1.63 ^b	69.29 ± 0.98 ^a	37.13 ± 0.94 ^b
6% DMSO	+	47.90 ± 2.22 ^a	55.77 ± 1.34 ^a	41.92 ± 1.25 ^a	69.85 ± 0.88 ^a	51.90 ± 2.19 ^a

Values are mean ± S.E.M., replicate = 8.

^{a, b} Values in the same column with different superscripts differ (P < 0.05).

則僅有 1.0 $\mu\text{m}/\text{min}$ ，兩者有 6.4 倍之差異。一般正常情況下，水分子在 20 – 25°C 條件下的擴散速率是 0.195 – 1.150 $\mu\text{m}/\text{min}$ ，若是滲透速率過高則會導致精子細胞膜內外滲透壓差太大而受到損傷。在細胞或是配子冷凍試驗中，最常被使用的仍為 glycerol。然而這些冷凍保護劑添加之最終濃度 (v/v) 及平衡時間與溫度，需取決於其毒性以及對精子冷凍解凍後精液品質之效益而定。冷凍保護劑通常具有毒性，其中 DMSO 毒性高於 glycerol 甚多 (Kasai, 1996)。此外，如同本試驗，各種冷凍保護劑間可相互搭配使用，如 glycerol (6%) 與 DMSO (5.9%) 組合使用時較兩者單獨使用，在精子解凍後活力表現上有顯著增加之效果 (glycerol + DMSO, glycerol, DMSO; 45% vs. 33% vs. 15%) (Kundu *et al.*, 2001)。此一結果與試驗中 glycerol (6%) 搭配 DMSO (6%) 時會有最佳之精子保護效果之結果符合。然而當 DMSO 添加量達到 9% 時，精子各項性能表現均顯著下降，此結果可顯現出滲透壓及毒性對精子之雙重傷害效果明顯。另有報告指出，利用 DMSO 作為精子冷凍保護劑成分會導致細胞膜受損及膜表面蛋白質變性 (Jomha *et al.*, 2004)，此結論亦與實驗中添加 9% DMSO 時對於頭帽完整性之負面影響最大的結果相符。

以 6% glycerol + 6% DMSO 最佳搭配組進行一步試驗，評估添加 sucrose 對於精子在玻璃化冷凍解凍後之影響。結果顯示 (表 3) 添加 0.5 M sucrose 組，在活力、存活率、頭帽完整性及 DNA 完整性之表現均顯著優於未添加組。先前研究指出，自然形成之精液成分中即有醣類，此等醣類能提供精子進行運動時所需之能量來源，包括果糖 (fructose)、葡萄糖、乳糖 (lactose) 及其他醣類 (Evans and Maxwell, 1987)，然而醣類也有做為精液冷凍稀釋液中平衡滲透壓及冷凍保護劑之功能 (Corteel, 1974; Ritar and Salamon, 1982; Salamon and Ritar, 1982; Evans and Maxwell, 1987)。本試驗之精子稀釋液中有添加葡萄糖，此為山羊精子代謝過程中絕佳且必須的能量來源，可維持精子生理功能正常 (Fukuhara and Nishikawa, 1973; Corteel, 1974)。Fukuhara and Nishikawa (1973) 證實葡萄糖除可提供能量來源外，更有保護精子的作用。單醣與雙醣或多醣在稀釋液中扮演的角色不同；單醣如葡萄糖與果糖，其分子量很小，可經由主動運輸輕易穿過細胞膜進入細胞內，為細胞能量的來源；乳糖、蔗糖、棉子糖 (raffinose)、海藻 (trehalose) 或葡萄聚醣 (glucan) 等雙醣或多醣類，則無法穿過細胞膜，但可在細胞膜外形成一個高滲透壓環境，促進細胞脫水，降低冰晶形成並可穩定細胞膜上磷脂質之安定性，提升解凍後精子的存活率 (Molinia *et al.*, 1994; Aisen *et al.*, 2002)。一般的精液冷凍並不需要如此高濃度之多醣類添加，但在胚或卵母細胞冷凍時添加 0.5 – 0.8 M sucrose 對羊胚冷凍、豬胚冷凍 (Zhang *et al.*, 2009) 及鼠胚冷凍 (Melo *et al.*, 2010) 解凍後之保護效果顯著。本試驗結果顯示，在冷凍保護稀釋液中添加 0.5 M sucrose 對精子玻璃化冷凍解凍後精子品質維持有更佳之效果，顯示出高濃度醣類應用於精子玻璃化冷凍，亦可以有近似應用於卵母細胞及胚冷凍之優良效果。

綜合上述，利用 glycerol 及 DMSO 搭配並添加 sucrose 作為山羊精子玻璃化冷凍之冷凍保護稀釋液時，以 6% glycerol 搭配 6% DMSO 及 0.5 M sucrose 可得到較佳之玻璃化冷凍解凍後精子品質之保護效果。

參考文獻

- Abdelhakeam, A. A., E. F. Graham, I. A. Vazquez and K. M. Chaloner. 1991. Studies on the absence of glycerol in unfrozen and frozen ram semen. *Cryobiology* 28: 43-49.
- Aisen, E., V. Medina and A. Venturino. 2002. Cryopreservation and post thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology* 57: 1801-1808.
- Alex, M. and A. Z. Higgins. 2014. Membrane permeability of the human granulocyte to water, dimethyl sulfoxide, glycerol, propylene glycol and ethylene glycol. *Cryobiology* 68: 35-42.
- Bezerra, F. S., B. T. S. Castelo, H. M. Alves, I. R. S. Oliveira, G. L. Lima, G. C. X. Peixoto, A. C. S. D. Bezerra and A. R. Silva. 2011. Objective assessment of the cryoprotective effects of dimethylformamide for freezing goat semen. *Cryobiology* 63: 263-266.
- Brackett, B. G., J. F. Evans, W. J. Donawick, M. L. Boice and M. A. Cofone. 1980. In vitro penetration of cow oocytes by bull sperm. *Arch. Androl.* 5: 6-9.
- Bucak, M. U. N. Keskin, M. Taspinar, K. Cayan, N. Baspinar, M. C. Cenariu, A. Bilgili, C. Qzturk and A. N. Kursunlu. 2013. Raffinose and hypotaurine improve the post-thawed Merino ram sperm parameters. *Cryobiology* 67: 34-39.
- Campaos, A. L. M., J. de S. Guedes, J. K. Rodrigues, W. A. P. Pace, R. R. Fontoura, J. P. J. Gaetano and R. M. Marinho. 2016. Comparison between Slow Freezing and Vitrification in Terms of Ovarian Tissue Viability in a Bovine Model. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 38: 333-339.
- Corteel, J. M. 1974. Viabilite des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 14: 741-745.

- Evans, G. and W. M. C. Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths. Sydney.
- Farshad, A., B. Khalili and P. Fazeli. 2009. The effect of different concentrations of glycerol and DMSO on viability of markhoz goat spermatozoa during different freezing temperatures steps. *Pakistan J. Bio. Sci.* 12: 239-245.
- Fukuhara, R. and Y. Nishikawa. 1973. Effects of pH, sperm concentration, washing and substrate concentration on respiration and motility on goat spermatozoa. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 44: 266-274.
- He, X., E. C. H. Park, A. Fowler, M. L. Tarmush and M. Toner. 2008. Vitrification by ultra-fast cooling at a low concentration of cryoprotectants in a quartz microcapillary: a study using murine embryonic stem cells. *Cryobiology* 56: 223-232.
- Jomha, N. M., P. C. Anoop, K. Bagnall and L. E. McGann. 2004. Effects of increasing concentrations of dimethyl sulfoxide during cryopreservation of porcine articular cartilage. *Cell Preserv. Tech.* 1: 111-120.
- Kasai, M. 1996. Simple and efficient methods for vitrification of mammalian embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 67-75.
- Kundu, C. N., K. Das and G. C. Majumder. 2001. Effect of amino acids on goat cauda epididymal sperm cryopreservation using a chemically defined model system. *Cryobiology* 41: 21-27.
- Kundu, C. N., J. Chakraborty, P. Dutta, D. Bhattacharyya, A. Ghosh and G. C. Majumder. 2000. Development of a simple sperm cryopreservation model using a chemically defined medium and goat cauda epididymal spermatozoa. *Cryobiology* 40: 117-125.
- Leboeuf, B., B. Restall and S. Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 113-141.
- Luyet, B. J. and R. Hodapp. 1938. Revival of frog spermatozoa vitrified in liquid air. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 39: 433-434.
- Martin, C., L. Aquilina, C. Gascuel-Oudoux, J. Mole'nat, M. Fauchoux and L. Ruiz. 2004. Seasonal and inter-annual variations of nitrate and chloride in streamwaters related to spatial and temporal patterns of groundwater concentrations in agricultural catchments. *Hydrological Proces.* 18: 1237-1254.
- Melo, M. S. L., C. S. Sena, F. J. N. Barreto, L. R. Bonjardim, Jr. G. S. Almeida, J. T. Lima, D. P. De Sousa and L. J. Quintans-Junior. 2010. Antinociceptive effect of citronellal in mice. *Pharm. Biol.* 48: 411-416.
- Molisch, H. 1897. *Untersuchungen uber das Erfrieren der Pflangen*. Fischer, Jena. 1-73.
- Molinia, F. C., G. Evans, P. I. Casares and W. M. C. Maxwell. 1994. Effect of monosaccharides and disaccharides in Tris-based diluents on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 36: 113-122.
- Motamedi-Mojdehi, R., M. Roostaei-Ali Mehr and R. Rajabi-Toustani. 2013. Effect of different levels of glycerol and cholesterol-loaded cyclodextrin on cryosurvival of ram spermatozoa. *Reprod. Dom. Anim.* 49: 65-70.
- Polge, C., A. V. Smith and A. S. Parkes. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164: 666.
- Ritar, A. J., P. D. Ball and P. J. Omay. 1990a. Examination of methods for the deep freezing of goat semen. *Reprod. Fertil. Dev.* 2: 27-34.
- Ritar, A. J., P. D. Ball and P. J. Omay. 1990b. Artificial insemination of Cashmere goat: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females. *Reprod. Fertil. Dev.* 2: 377-384.
- Ritar, A. J. and S. Salamon. 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 35: 305-312.
- Salamon, S. and A. J. Ritar. 1982. Deep freezing of Angora goat semen: effect of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.* 35: 295-303.
- Soylu, S., H. Yigitbas, E. M. Soylu and S. Kurt. 2006. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Appl. Microbiol.* 103: 1021-1030.
- Tuli, P. K. and W. Holtz. 1994. Effect of glycerolizing procedure and removal of seminal plasma on post-thaw survival and got-release from Boer goat spermatozoa. *Theriogenology* 42: 547-555.
- Zhang, G. F., T. Liu, Q. Wang, L. Chen, J. D. Lei, J. Luo, G. H. Ma and Z. G. Su. 2009. Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: a new method to differentiate between bovine and porcine gelatin. *Food Hydrocolloids* 23: 2001-2007.

The effects of different glycerol and dimethyl sulfoxide ratios in diluent on the goat sperm quality after tube-type vitrified-thawed ⁽¹⁾

Ting-Chieh Kang ⁽²⁾⁽⁴⁾ Yu-Hsin Chen ⁽³⁾ Fung-Hsiang Chu ⁽³⁾ Hsiu-Lien Lin ⁽³⁾ and Kai-Fei Tseng ⁽²⁾

Received: Nov. 19, 2019; Accepted: Dec. 26, 2019

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of using different glycerol (0, 2, 4 and 6%) / DMSO (0, 3, 6 and 9%) ratios in diluent on the quality of the goat sperm after tube-type (0.25 mL French straw) vitrification and thawing. Results showed that the motility ($41.08 \pm 2.13\%$), viability ($55.48 \pm 2.49\%$), acrosome integrity ($35.89 \pm 3.02\%$) and DNA integrity (71.65 ± 1.73) obtained by using 6% glycerol/6% DMSO were significantly ($p < 0.05$) higher than those of other ratios. Moreover, sucrose (0.5 M) was added to the optimal ratio (6% glycerol / 6% DMSO) to investigate whether the sperm quality could be further improved after vitrified ad thawing. It was found that addition of sucrose (0.5 M) had significantly ($p < 0.05$) increased viability ($55.77 \pm 1.34\%$), acrosome integrity ($41.92 \pm 1.25\%$) and mitochondrial potential ($51.90 \pm 2.19\%$). It can be concluded that the combination of 6% glycerol, 6% DMSO and 0.5 M sucrose in diluent as cryoprotectant components is able to maintain a better sperm quality in vitrified-thawed goat semen.

Key words: Goat, French straw, Sperm vitrification.

(1) Contribution No. 2627 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Hengchun Branch, COA-LRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Physiology Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

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

不同比例稻殼及草炭墊料對白肉雞生長性狀、接觸性皮膚炎及欄舍氨氣濃度之影響⁽¹⁾

劉雅醇⁽²⁾⁽³⁾ 康獻仁⁽²⁾ 王紓愍⁽⁴⁾ 梁筱梅⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：108 年 11 月 28 日；接受日期：108 年 12 月 31 日

摘 要

本試驗旨在探討墊料材質對肉雞生長性能、排泄量及雞舍氨氣濃度之影響。採用 1 日齡 Ross 品系白肉雞 1,216 隻，逢機分配至 4 種不同稻殼及草炭混合比例的墊料處理組，即 100% 全稻殼 (R100 組)、70% 稻殼 + 30% 草炭 (R70 組)、55% 稻殼 + 45% 草炭 (R55 組) 及 40% 稻殼 + 60% 草炭 (R40 組)。每處理 4 欄，每欄 76 隻，飲水及飼糧皆採任飼，飼養至 35 日齡結束生長試驗。在墊料吸濕能力測定結果顯示，草炭及稻殼浸泡水中於 60 分鐘內，1 g 的草炭之吸濕能力為 1 g 稻殼吸濕能力的 2 倍，經浸泡水中達 90 分鐘後，草炭吸濕能力仍比稻殼吸濕能力為佳，二者吸濕能力相差 1.6 – 1.8 倍，顯示草炭確實具有良好的吸水性，可作為調節雞隻欄舍含水量的墊料材質。在肉雞生長性能之結果顯示，墊料有無添加草炭對肉雞生長性能並無顯著性影響。對肉雞接觸性皮膚炎之試驗結果顯示，R55 組對雞隻接觸性皮膚炎之足墊炎及踝關節灼傷病變情形顯著地 ($P < 0.05$) 低於 R100 組。在欄舍內氨氣濃度偵測結果顯示，墊料添加草炭對各組欄舍內的氨氣濃度均無顯著影響。綜上結果顯示，添加草炭部分取代稻殼作為白肉雞墊料，經估算草炭取代稻殼以 45% 為適當之取代比例。

關鍵詞：草炭、白肉雞、接觸性皮膚炎。

緒 言

平飼飼養雞隻使用之墊料具有吸收水分、保溫作用及提供雞隻自然之抓扒行為等功能 (Grimes *et al.*, 2002; Bilgili *et al.*, 2009; Shepherd and Fairchild, 2010)，然而墊料質地影響雞群健康、生產性能、屠體品質和動物福祉等 (Eichner *et al.*, 2007; Bilgili *et al.*, 2009; Garcês *et al.*, 2013)，因此在雞隻飼養過程中使用墊料的材質相當重要 (Zikic *et al.*, 2017)。目前作為雞隻墊料，包括：稻殼、玉米芯、木屑、粘土砂、椰子殼、幾內亞草、報紙、麥稈及油菜秸稈等 (Grimes *et al.*, 2002; Sirri *et al.*, 2007; Meluzzi *et al.*, 2008; Garcês *et al.*, 2013)，這些墊料各有優缺點，但主要會以飼養過程中雞隻接觸性皮膚炎的發生情形來評估墊料的好壞 (Shepherd and Fairchild, 2010)。雞隻常發生的接觸性皮膚炎 (Contact dermatitis) 包括足墊炎 (Food pad dermatitis, FPD)、踝關節灼傷 (Hock burn, HB) 及胸部水泡病變 (Breast blisters, BB) 等。研究顯示潮濕、結塊及質地過粗的墊料會造成雞隻發生接觸性皮膚炎，雞隻因疼痛而降低生長性能 (Kaukonen *et al.*, 2016)。目前國內大多使用稻殼作為雞隻墊料，然而我國加入國際貿易組織後，因產銷調節及配合休耕措施，稻殼產量銳減，間接導致稻殼量供應不足，因此需尋找養雞墊料替代物，以滿足養雞業之需 (劉等, 2009)。生物炭 (Biochar) 是用低成本的農業廢棄物在無氧環境下經熱裂解 (Pyrolysis) 後的產物，具有吸附污染物及增加土壤碳蓄積 (Carbon sink) 之能力，可用來改良土壤，幫助植物生長及提升土壤肥力 (Yu *et al.*, 2016)。王等 (2018) 為提高廢棄草包之附加價值，開發牧草炭窯，以炭化溫度約 500℃ 生產盤固草炭 (以下簡稱草炭; Grass biochar)，此類草炭與煤炭、焦炭、木炭等物質的本質類似，一般具有多孔隙及大比表面積 (Brunauer-Emmett-Teller, BET)，並有吸附能力。本研究希望藉由草炭吸附能力，調節墊料水分，吸收雞舍氨氣，降低墊料成本進而提高飼養雞隻收

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2628 號

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場。

(3) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

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

益，因此計算稻殼和牧草炭的重量比例後，添加部分草炭與稻殼作為白肉雞墊料，並分析添加草炭墊料對白肉雞生長、接觸性皮炎及欄舍氨氣濃度之影響，以評估草炭添加於雞隻墊料之效果。

材料與方法

I. 試驗動物與處理

(i) 試驗材料：

A. 稻殼：購自民間農戶之商用稻殼。

B. 草炭：由畜產試驗所恆春分所提供，依王等 (2018) 方法進行草炭生產。

(ii) 本試驗於 107 年 7 – 8 月進行，採用 1 日齡 ROSS 品系白肉雞 1,216 隻，公、母各半，逢機分配飼養於 4 種稻殼及草炭混合比例墊料材質之欄舍，分別為：100% 全稻殼 (R100 組)、70% 稻殼 + 30% 草炭 (R70 組)、55% 稻殼 + 45% 草炭 (R55 組) 及 40% 稻殼 + 60% 草炭 (R40 組) 等墊料材質處理組。每處理 4 欄，每欄 7.6 m²，飼養同性別雞隻 76 隻，以平飼方式飼養，平均每隻雞擁有 0.1 m² 的地板面積。入雛前及雞隻 11 日齡時分別鋪設 2 cm 及 1 cm 厚墊料，試驗進行 35 日結束。

(iii) 試驗期間，雞舍保持畜舍通風、乾淨、光線充足，並視天氣炎熱情況，啟動風扇裝置，以降低熱緊迫，24 小時施以光照。0 – 2 週齡提供保溫燈，並使用鐘型飲水器及圓形飼料淺盤，提供飲水及飼料，於 2 週後改用人工大水球及飼料用吊桶，直至試驗結束。

(iv) 本試驗於畜產試驗所高雄種畜繁殖場雞舍執行，動物之使用、飼養及實驗內容，皆依據畜產試驗所高雄種畜繁殖場動物實驗管理小組審查同意文件及試驗準則進行。

II. 測定項目

(i) 墊料吸濕能力測定：

取草炭及稻殼各 5 g 置入 200 mL 燒杯中，加入 100 g 水，分別浸泡水中達 30、60、90、120、150、180、210、240 及 270 分鐘後 (每個浸泡時間分別使用 9 重複)，以濾網過濾去除水分並瀝乾達 90 分鐘後，分別計算每公克草炭及稻殼之吸水重量百分率 (即浸泡水後瀝乾 90 分鐘之樣品重 - 浸泡前樣品重 = 樣品吸水重量，樣品吸水重量 / 樣品重量 = 每公克樣品吸水重量百分率)。

(ii) 墊料使用量估算：

以對照組欄位墊料高度為 3 公分，評估總墊料使用量，再據以計算各墊料處理組之稻殼及草炭使用量。

(iii) 生長性能測定：

雞隻試驗開始、1、3 及 5 週齡時以欄為單位秤重，記錄飼料攝食量及體重，計算平均日採食量、平均日增重及飼料效率。

(iv) 雞隻接觸性皮炎病變之評估：

依據 Eichner *et al.* (2007) 方法觀察 1、3 及 5 週齡雞隻之足墊炎、踝關節灼傷及胸部水泡等病變情況，並依輕重程度分為 0、1、2 三級計分。

A. 足墊炎評分：採以 0、1、2 計分，0 分代表無肉眼可見病變，表面光滑無變色；1 分代表表皮輕微損傷或糜爛、表皮變色且占足墊比例低於 1/2；2 分代表嚴重損傷或糜爛、膿傷且占足墊比例高於 1/2。

B. 踝關節灼傷評分：採以 0、1、2 計分，0 分代表無肉眼可見之紅腫病變；1 分代表表皮輕微紅腫無糜爛；2 分代表表皮明顯損傷或糜爛結痂。

C. 胸部水泡病變評分：採以 0、1、2 計分，0 分代表無肉眼可見病變；1 分代表表皮輕微損傷或糜爛且占胸部比例小於 1/2；2 分代表表皮嚴重損傷或糜爛且占胸部比例大於 1/2。

(v) 欄位內氨氣濃度測定：

雞隻第 19、26 及 33 日齡時，於燈罩下方、水槽側及飼槽側放置採氣罩，於墊料床上方約 5 cm 處，利用北川式ガス檢知管 (NH₃ 檢測範圍 0.2 – 20 ppm；光明里化學工業株式會社，神奈川縣，日本) 測定 NH₃ 濃度。試驗採樣以同地點取樣 3 次進行重複測定。

III. 統計分析

試驗資料以統計分析系統軟體 (SAS, 2004) 進行統計分析。經變異數分析 (analysis of variance, ANOVA)，若達顯著差異水準 ($P < 0.05$)，再以最小顯著差異 (least significance difference test, LSD)，比較各處理之平均值間差異顯著性。

結果與討論

I. 墊料吸濕能力分析

本試驗進行草炭吸濕能力測定並以稻殼作為對照組，其測定結果如圖 1。草炭及稻殼浸泡水中於 60 分鐘內，1 g 的草炭之吸濕能力為 1 g 稻殼吸濕能力的 2 倍，經浸泡水中達 90 分鐘後，草炭吸濕能力仍比稻殼吸濕能力為佳，2 者吸濕能力相差 1.6 – 1.8 倍。此結果顯示草炭確實具有良好的吸水性，可作為調節雞隻欄舍含水量的墊料材質。

墊料的溫度、含水量、pH 值和使用持續時間等因素會影響墊料中微生物的數量和活性，影響雞隻健康及生長情形 (Himathongkham and Riemann, 1999)，且潮濕的墊料會增加白肉雞足墊炎、踝關節灼傷及胸部水泡病變的情形 (Haslam *et al.*, 2007)。在選擇材質作為雞隻墊料時，材質的吸濕能力是重要的評估因子。

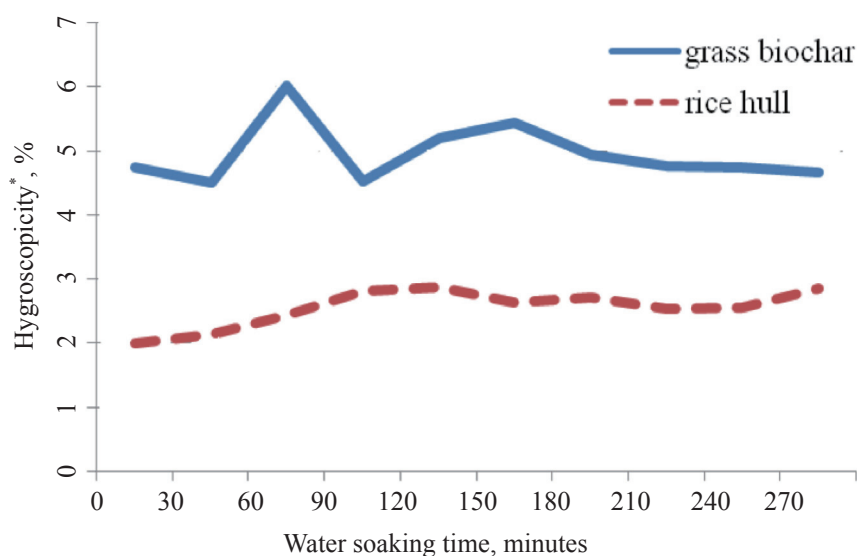


圖 1. 草炭及稻殼之吸濕能力。

Fig. 1. The hygroscopicity of grass biochar and rice hull.

* The materials were soaked in water for different times. After 90 minutes trickling, the hygroscopicity of material was calculated as the increased weight of each gram of material.

II. 墊料使用量與成本比較

於 7.6 m² 之欄位內預先在高度 3 cm 處做記號，將稻殼秤重後倒入，並利用工具刮平，當稻殼高度達記號處時，計算其總量為 25 kg，據以計算各墊料處理組之稻殼及草炭使用量如表 1。另以重量估算墊料成本，市售稻殼依品質價格約為每公斤 10 至 40 元不等，平均價格每公斤以 25 元計算；草炭經畜產試驗所恆春分所評估售價約為每公斤 40 元。則每公斤之草炭墊料成本較稻殼墊料成本高出 15 元。此結果顯示以草炭取代稻殼，將會增加墊料費用，如以飼養成本考量，可以考慮採用部分草炭來取代稻殼。

III. 墊料添加草炭對肉雞生長性能之影響

墊料添加不同比例草炭對肉雞生長性能之結果列於表 2。不論於 1 – 7 日齡、8 – 21 日齡及 22 – 35 日齡，各組雞隻之體重、平均隻日增重、平均隻日採食量及飼料效率均無顯著差異，且試驗期間各組育成率皆達 99% 以上，顯示墊料添加草炭對肉雞生長性能並無顯著影響。此結果與蘇等 (2015) 以稻殼和稻萵作為白肉雞墊料，對雞隻生長性能無顯著影響的結果相同，也和劉等 (2009) 以稻稈與椰殼之纖維介質取代稻殼作為墊料，用於飼養 8 – 18 週齡雞隻，墊料處理對雞隻生長性能亦無顯著影響之結果相同。然而本試驗飼養白肉雞為期 35 天，是否因飼養期短而造成無顯著效果，則有待日後進一步研究。

IV. 墊料添加草炭對雞隻接觸性皮炎病變之評估

Shepherd and Fairchild (2010) 指出可以檢視雞隻接觸性皮炎的發生情形來評估墊料的好壞。歐洲國家亦以足墊炎、踝關節灼傷與胸部水泡等接觸性皮炎病變的發生情形，作為評估動物福祉與飼養雞隻優劣的審查指標 (Haslam *et al.*, 2007)。因此本試驗針對雞群之足墊炎、踝關節灼傷及胸部水泡病變情形予以評分。

表 1. 試驗期間稻殼及草炭使用量與成本比較 (元 / 欄)

Table 1. Requirements and price of rice hull and grass biochar used in this experiment (NTD/ pen)

Items/treatment*	R100	R70	R55	R40
Before chick feeding				
Rice hull, kg	15.00	10.50	8.25	6.00
Grass biochar, kg	0	4.50	6.75	9.00
11 d-old				
Rice hull, kg	10.00	10.00	10.00	10.00
Price				
Rice hull, NTD	625.0	512.5	456.3	400.0
Grass biochar, NTD	0	180.0	270.0	360.0
Total price, NTD	625.0	692.5	726.3	760.0

* With different volume ratio of rice hull and grass biochar i.e., treatment R100 = 100% rice hull, treatment R70 = 70% rice hull + 30% grass biochar, treatment R55 = 55% rice hull + 45% grass biochar, treatment R40 = 40% rice hull + 60% grass biochar.

表 2. 墊料添加不同比例草炭對肉雞生長性能之影響

Table 2. Effect of adding different proportion grass biochar litter on growth performance of broilers

Items/treatment*	R100	R70	R55	R40	SE
Number of birds					
Birth weight, g/bird	38.88	39.24	38.68	39.21	0.11
1 week old					
7 day Body weight, g/bird	176.05	184.63	181.71	183.12	1.64
Average daily gain, g/day	19.60	20.77	20.43	20.56	0.23
Average daily feed intake, g/day	26.85	27.34	27.32	27.21	0.11
Gain/feed	0.73	0.76	0.75	0.76	0.01
3 weeks old					
21 day Body weight, g/bird	832.89	840.46	819.18	861.35	11.46
Average daily gain, g/day	46.92	46.85	45.53	48.45	0.84
Average daily feed intake, g/day	59.43	61.96	59.22	60.23	0.54
Gain/feed	0.79	0.76	0.77	0.80	0.01
5 weeks old					
35 day Body weight, g/bird	1,895.60	1,940.97	1,912.48	1,892.89	25.97
Average daily gain, g/day	75.91	78.61	78.09	73.68	1.72
Average daily feed intake, g/day	123.29	126.21	123.18	122.38	1.92
Gain/feed	0.62	0.62	0.63	0.60	0.01

* With different volume ratio of rice hull and grass biochar i.e., treatment R100 = 100% rice hull, treatment R70 = 70% rice hull + 30% grass biochar, treatment R55 = 55% rice hull + 45% grass biochar, treatment R40 = 40% rice hull + 60% grass biochar.

(i) 足墊炎評分

本試驗將墊料添加草炭後，進行雞隻足墊炎病變情形之評分，其結果列於表 3。結果顯示，飼養雞群 35 天，不論是全稻殼墊料或是添加草炭墊料，各組均有發生足墊炎之情形，然而其中以 R100 組雞群發生足墊炎的數量達 58.75% 顯著最高 ($P < 0.05$)，且病變程度評分為 2 分之比亦最高 (14.52%)。添加 R70 組，其雞群足墊炎發生比例仍達 49.17%，惟病變嚴重評分為 2 分之比 (4.95%) 較 R100 組為低；而 R55 及 R40 組，其雞群足墊炎發生比例分別降低為 20.27 及 20.72%，且病變嚴重評分為 2 分之比分別為 1.66 及 1.97%，顯示添加部分草炭具有減低全稻殼對雞隻足墊健康不利影響之效果，而以添加 45% 草炭取代稻殼

之墊料組 (R55 組) 效果最好。

(ii) 踝關節灼傷評分

本試驗將墊料添加草炭後，進行雞隻踝關節灼傷病變情形之評分，其結果列於表 3。結果顯示，飼養雞群 35 天，不論是全稻殼墊料或是添加部分草炭墊料，各組均有發生踝關節灼傷之情形，然而其中以 R100 組雞群發生踝關節灼傷的數量達 61.72% 顯著最高 ($P < 0.05$)；添加 R70 組，其雞群踝關節灼傷發生比例仍達 46.20%，病變嚴重評分爲 2 分之比例 (19.47%) 高於其他各組；而 R55 及 R40 組，其雞群踝關節灼傷發生比例則分別降低爲 8.97 及 26.64%，且病變嚴重評分爲 2 分之比例分別爲 2.99 及 4.28%。顯示添加 45% 草炭取代稻殼之墊料處理 (R55 組)，具有減低全稻殼墊料造成雞隻踝關節灼傷之效果。Kestin *et al.* (2001) 曾指出，白肉雞生長快速且體重過重而增加足部損傷情形，含降低雞隻行動能力。本試驗之 R70 組雞群，是否有因體重過重而導致踝關節灼傷病變嚴重情形，經檢視 R70 組雞群之體重顯示，並未顯著過重。因此，可推測墊料中草炭之比例增加，具減低雞隻踝關節灼傷病變之效果。

(iii) 胸部水泡病變評分

本試驗期間各處理處均未發現雞隻有胸部灼傷之情形發生。

引發足墊炎發生的因子眾多，如品種、皮膚構造、體重、性別等雞隻個體因素，以及飼糧營養濃度、墊料品質、禽舍溫濕度等飼養環境的因素 (蘇等, 2018)。De Jong *et al.* (2014) 在白肉雞的墊料上灑水，增加墊料的含水量，發現會造成嚴重的足墊炎，顯示潮濕的墊料被認爲是造成足墊炎最有可能的原因。較早期 Greene *et al.* (1985) 研究結果顯示，以潮濕墊料飼養白肉雞會增加雞群足墊炎的發生率與嚴重程度，並指出足墊炎是一種因接觸而導致的皮膚炎，而墊料品質不佳是主要原因。近期研究顯示足墊炎、踝關節灼傷及胸部水泡病變均屬於細菌性感染，因墊料顆粒及粗細程度引起表皮增生和過度角質化，如未改善隨之造成真皮層炎症，更嚴重則形成潰瘍病變 (Zikic *et al.*, 2017)。因此指出墊料質地磨損雞隻皮膚程度及含水量增加細菌感染等是增加足墊炎、踝關節灼傷及胸部水泡病變等接觸性皮膚炎之主要因子 (Shepherd and Fairchild, 2010; Zikic *et al.*, 2017)。本試驗雖未對草炭粗細質地進行分析，但草炭的吸濕能力評估結果較稻殼高達 1.6 倍以上，顯示在飼養過程中添加草炭比稻殼更能有效降低墊料含水量，試驗結果顯示，添加 45% 草炭取代稻殼之墊料 (R55 組)，具有減低使用全稻殼對雞隻足墊炎及踝關節灼傷病變之效果。

表 3. 墊料添加草炭對雞隻足墊炎及踝關節灼傷病變之評分

Table 3. Lesion scores on foot pads and hock burn of broilers at 35 days of age

Items/treatment*	R100	R70	R55	R40
Food pad dermatitis lesion scores				
0 percentage**, (%)	41.25	50.82	79.73	79.27
1 percentage, (%)	44.22	44.22	18.60	18.75
2 percentage, (%)	14.52	4.95	1.66	1.97
FPD total percentage (%)	58.75 ^a	49.17 ^a	20.27 ^b	20.72 ^b
Hock burn lesion scores				
0 percentage**, (%)	38.28	53.80	91.03	73.36
1 percentage, (%)	43.23	26.73	5.98	22.37
2 percentage, (%)	18.48	19.47	2.99	4.28
HB total percentage, (%)	61.72 ^a	46.20 ^b	8.97 ^d	26.64 ^c

* With different volume ratio of rice hull and grass biochar i.e., treatment R100 = 100% rice hull, treatment R70 = 70% rice hull + 30% grass biochar, treatment R55 = 55% rice hull + 45% grass biochar, treatment R40 = 40% rice hull + 60% grass biochar.

** Scoring scale was from 0 =healthy, 1 = slight lesion, 2 = severe lesion.

^{a, b, c, d} Means within the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

V. 雞欄內氨氣濃度測定

在雞隻第 19、26 及 33 日齡，於燈罩下方、水槽側及飼槽側放置採氣罩，於墊料床上方約 5 cm 處採樣測定 NH₃ 濃度，其結果列於表 4。由於雞群不會固定處於燈罩下方、水槽側及飼槽側，而是在欄內自由活動，因此試驗以三處採樣分析後之平均值來代表欄內氨氣濃度。結果顯示，各組欄舍內平均氨氣濃度隨雞隻日齡增加而

呈有增加的趨勢，且於 19 日、26 日及 33 日齡時，R55 組之欄舍氨氣濃度為各組之最低，但統計上未具顯著性，且各組欄舍內平均氨氣濃度均無顯著差異。此結果與劉等 (2009) 利用稻萁、粉碎椰殼纖維及稻殼作為墊料，發現各組氨氣濃度均無顯著差異之結果相同。研究指出生物炭分成 2 個組成，含碳之有機成分及灰分之無機成分，而含碳成分具有較大的比表面積及孔隙結構等形態，與吸附氨氣能力無直接關係，反而是生物炭中灰分中的無機成分具有吸附氨氣之重要作用 (Zheng *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2016)。如生物炭無機物質中的鉀元素，在吸付氨氣後，因和氨氣交換，導致生物炭內的鉀離子降低，而其他生物炭灰分中的矽酸鹽和碳酸鹽亦具有交換吸附氨氣之作用，且使用不同的草料和不同熱裂解條件產生的生物炭組成比例不同，吸附氨氣的能力亦不同 (Zheng *et al.*, 2013)。由於本試驗未對使用的草炭進行無機物成分分析，因此無法確切評估本次使用之草炭對氨氣濃度吸附的具體效果。試驗結果亦可能是因採樣時，欄舍內空氣流通率影響氨氣偵測的準確度所致。Kaukonen *et al.* (2016) 以 30 g 的墊料加上 270 mL 的水均質處理後，使用比色法測定墊料所吸附之氨氣，以評估墊料品質。日後或可參考 Kaukonen *et al.* (2016) 之方法以排除欄舍空氣流通因子，將更能準確分析生物炭墊料對氨氣吸附之效果。

表 4. 墊料中添加不同比例草炭對雞欄內氨氣濃度之影響

Table 4. Effect of grass biochar litter on ammonia concentration inside the broiler pens

Items/treatment*	R100	R70	R55	R40	SE
----- mg/m ³ -----					
19 day of age					
Under lamp	14.77	15.53	11.26	11.11	0.94
Feeder side	15.53	17.51	13.85	16.29	0.98
Cistern side	19.07	15.37	15.53	14.77	0.74
Mean	16.45	16.14	13.55	14.06	0.55
26 day of age					
Under lamp	16.92	18.74	14.46	14.16	0.89
Feeder side	11.23 ^b	13.20 ^{ab}	12.94 ^b	17.20 ^a	0.78
Cistern side	22.45	19.88	17.35	19.64	0.92
Mean	16.87	17.27	14.92	17.00	0.65
33 day of age					
Under lamp	20.25	20.47	19.03	18.34	0.83
Feeder side	23.21 ^a	13.93 ^{ab}	9.97 ^b	11.42 ^{ab}	1.86
Cistern side	23.67 ^a	19.18 ^{ab}	17.51 ^b	22.76 ^a	0.97
Mean	22.38	17.86	15.50	17.51	0.86

* With different volume ratio of rice hull and grass biochar i.e., treatment R100 = 100% rice hull, treatment R70 = 70% rice hull + 30% grass biochar, treatment R55 = 55% rice hull + 45% grass biochar, treatment R40 = 40% rice hull + 60% grass biochar.

^{a, b} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

結 論

草炭確實具有良好的吸水性，可作為調節雞隻欄舍墊料含水量之基質。本試驗結果顯示，添加 45% 草炭取代稻殼之墊料對雞隻生長及欄舍內氨氣濃度雖無顯著影響，但具有減低全稻殼對雞隻足墊炎及踝關節灼傷等病變之效果，推薦以 45% 為適當之草炭取代稻殼之比例。然而，此處理組之墊料成本較對照組高出 101.3 元 / 欄。

誌 謝

本試驗由行政院農業委員會科技計畫—動物保健計畫之經費挹注，承蒙高雄種畜繁殖場畜產經營系同仁及大專院校暑期實習生協助現場飼養管理，特此感謝。

參考文獻

- 王舒愍、劉信宏、游翠鳳、陳嘉昇。2018。盤固草生物炭的特性研究與對牧草生長的影響。畜產研究 51：209-216。
- 劉曉龍、林義福、陳添福、洪哲明、謝昭賢、鄭裕信、蔡銘洋、蕭庭訓、蘇天明、沈韶儀、郭猛德。2009。土雞粗糠墊料替代料(物)之評估。畜產研究 42：121-130。
- 蘇天明、翁義翔、鍾承訓、蕭庭訓、程梅萍。2015。墊料材質對雞糞墊料堆肥化處理之影響。畜產研究 49：230-239。
- 蘇晉暉、鄭智翔、林榮新、劉秀洲。2018。家禽足墊炎的成因與其對動物福祉的影響回顧。中畜會誌 47：183-195。
- Bilgili, S. F., M. A. Alley, J. B. Hess, J. P. Blake, K. S. Macklin, and J. L. Sibley. 2009. Influence of bedding material on footpad dermatitis in broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 18: 583-589.
- De Jong, I. C., H. Gunnick and J. Van Harn. 2014. Wet litter not only induces footpad dermatitis but also reduces overall welfare, technical performance, and carcass yield in broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 23: 51-58.
- Eichner, G., S. L. Vieira, C. A. Torres, J. L. B. Coneglian, D. M. Freitas and O. A. Oyarzabal. 2007. Litter moisture and foot pad dermatitis as affected by diets formulated on an all-vegetable basis or having the inclusion of poultry by-product. *J. Appl. Poult. Res.* 16: 344-350.
- Garcês, A., S. M. S. Afonso, A. Chilundo and C. T. S. Jairoce. 2013. Evaluation of different litter materials for broiler production in a hot and humid environment: 1. Litter characteristics and quality. *J. Appl. Poult. Res.* 22: 168-176.
- Greene, J. A., R. M. McCracken and R. T. Evans. 1985. A contact dermatitis of broilers-Clinical and pathological findings. *Avian Pathol.* 14: 23-38.
- Grimes, J. L., J. Smith and C. M. Williams. 2002. Some alternative litter materials used for growing broilers and turkeys. *World Poult. Sci. J.* 58: 515-526.
- Haslam, S. M., T. G. Knowles, S. N. Brown, L. J. Wilkins, S. C. Kestin, P. D. Warriss and C. J. Nicol. 2007. Factors affecting the prevalence of foot pad dermatitis, hock burn and breast burn in broiler chicken. *Br. Poult. Sci.* 48: 264-275.
- Himathongkham, S. and H. Riemann. 1999. Destruction of salmonella typhimurium, escherichia coli o157: h7 and listeria monocytogenes in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS. Microbiol. Lett.*, 171: 179-182.
- Kaukonen, E., M. Norring and A. Valros. 2016. Effect of litter quality on foot pad dermatitis, hock burns and breast blisters in broiler breeders during the production period. *Avian Pathol.* 45: 667-673.
- Kestin, S. C., S. Gordon, G. Su and P. Sørensen. 2001. Relationship in broiler between lameness, liveweight, growth rate and age. *Vet. Rec.* 148: 195-197.
- Meluzzi, A., C. Fabbri, E. Folegatti and F. Sirri. 2008. Survey of chicken rearing conditions in Italy: Effects of litter quality and stocking density on productivity, foot dermatitis and carcass injuries. *Br. Poult. Sci.* 49: 257- 264.
- SAS. 2004. SAS User's Guide. Statistical. Version 7th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
- Shepherd, E. M and B. D. Fairchild. 2010. Footpad dermatitis in poultry. *Poult. Sci.* 89: 2043-2051.
- Sirri, F., G. Minelli, E. Folegatti, S. Lolli and A. Meluzzi. 2007. Foot dermatitis and productive traits in broiler chickens kept with different stocking densities, litter types and light regimen. *Ital. J. Anim. Sci.* 6: 734-736.
- Yu, Q., X. Dong, H. Li, L. Ke, Y. Wang, H. Wang, Y. Zheng and Q. Li. 2016. Effectiveness and mechanisms of ammonium adsorption on biochars derived from biogas residues. *RSC Adv.* 6: 88373-88381.
- Zheng, H., Z. Wang, X. Deng, J. Zhao, Y. Luo, J. Novak, S. Herbert and B. Xing. 2013. Characteristics and nutrient values of biochars produced from giant reed at different temperatures. *Bioresour. Technol.* 130: 463-471.
- Zikic, D., M. Djukic-Stojcic, S. Bjedov, L. Peric, S. Stojanovic and G. Uscebrka. 2017. Effect of litter on development and severity of footpad dermatitis and behavior of broiler chickens. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 19: 247-254.

Effects of different ratio of rice hull and grass biochar as litter materials on the growth performance, contact dermatitis and ammonia concentrations of chicken house for broiler ⁽¹⁾

Ya-Chun Liu ⁽²⁾⁽³⁾ Shann-Ren Kang ⁽²⁾ Shu-Min Wang ⁽⁴⁾ and Hsiao-Mei Liang ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Nov. 28, 2019; Accepted: Dec. 31, 2019

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of litter material on the growth performance and contact dermatitis of broiler and ammonia concentration of chicken house. A total of 1,216 one-day-old Ross commercial broilers were assigned to four litter treatments with different ratio of rice hull and grass biochar, i.e. rice hull 100% (group R100), rice hull 70% plus grass biochar 30% (group R70), rice hull 55% plus grass biochar 45% (group R55) and rice hull 40% plus grass biochar 60% (group R40), respectively. Each treatment had four pens and each pen raised 76 chicks. Feed and water were provided ad libitum during the experimental period from 1 to 35 days of age. The results showed that within 60 minutes of immersing in water, the hygroscopicity of 1 gram grass biochar has double hygroscopicity of that the 1 gram rice hull. After 90 minutes of immersing in water, the hygroscopicity of 1 gram grass biochar still has 1.6-1.8 times of hygroscopicity of 1 gram rice hull. It shows that the grass biochar has larger hygroscopicity and can be used for adjusting the water content of the litter. There were no effects of different litter materials on the average daily gain, average daily feed intake, gain/feed of the broilers and the ammonia concentrations of chicken pens. Furthermore, chicks in the R55 group had a significantly ($P < 0.05$) lower incidence of footpad dermatitis and hock burn than in those of the group R100. The recommended ratio of grass biochar and rice hull as the broiler litter was 45% and 55%.

Key words: Grass biochar, Broiler, Contact dermatitis.

(1) Contribution No. 2628 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Kaohsiung Animal Propagation Station, COA-LRI, Pingtung 91247, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of animal science, National Pingtung University of Science and Technology, 1, Shuefu Road, Neipu, Pingtung 91201, Taiwan, R. O. C.

(4) Hengchun Branch, COA-LRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: hliang@mail.tlri.gov.tw.

純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分的名次分級 之間相關性探討⁽¹⁾

顏念慈⁽²⁾⁽⁵⁾ 蔡秀容⁽²⁾ 賴永裕⁽²⁾ 陳佳萱⁽²⁾ 林正祥⁽³⁾ 陳培梅⁽⁴⁾ 吳明哲⁽²⁾

收件日期：108 年 11 月 22 日；接受日期：109 年 1 月 6 日

摘 要

本研究目的為探討純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分名次之相關性。試驗豬隻來自 2011 年 3 月 23 日至 2019 年 5 月 22 日期間，在財團法人中央畜產會中央檢定站，於各期完檢後之選拔指數合格且有腳蹄評分名次之 460 頭種豬。純種豬檢定指數達 100 以上者進行體型評鑑，若豬隻同品種與同性別內，體型評鑑有入選 2 頭以上，再進行腳蹄評分，體型評鑑與腳蹄評分由不同人員進行。每個項目依照名次分成三組，再應用卡方分布、皮爾遜 (Pearson) 簡單相關及斯皮爾曼順位相關係數 (Spearman's Rank Correlation Coefficient) 分析。試驗結果如下：1. 體型評鑑、選拔指數及腳蹄評分三者之名次皆非獨立，就名次而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的 Cramer's V 測定值分別為 0.51、0.61 及 0.54，皆屬中高強度相關；2. 就 Pearson 簡單相關係數而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與指數及腳蹄評分與體型評鑑的係數分別為 0.357、0.428 及 0.348。斯皮爾曼順位相關係數而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑的係數分別為 0.747、0.783 及 0.752，腳蹄評分、選拔指數及體型評鑑三者之間之斯皮爾曼順位相關係數呈高的正相關，本研究結果顯示有優良的性能選拔指數名次的種豬必有好的體型評鑑與高的腳蹄評分名次。

關鍵詞：種豬、選拔指數名次、體型評鑑名次、腳蹄評分名次、相關性測定。

緒 言

養豬先進國家無不重視種豬產業，重視種豬產業也才能使養豬產業永續經營。財團法人中央畜產會中央檢定站 (以下簡稱中央檢定站) 每年舉辦性能檢定 8 期，每期送檢仔豬以 13 – 17 日齡，體重 4.0 – 7.0 公斤為限。送檢豬隻以同胎公豬送檢 2 至 5 頭為主。生長檢定豬為 70 日齡仔豬於新化中央檢定站進行生長性能及飼料效率檢定至體重 110 kg 或 168 日齡、並於 225 日齡拍賣前完成採精測試及體型評鑑。體型評鑑相關資料 (包括完檢後、體型評鑑後與豬隻優點部位之影像) 於拍賣會前同步公布於網路養豬網站 <http://www.angrin.tlri.gov.tw>，供標購者上網參考。

腳蹄問題是種豬遭淘汰的三大主因之一 (Knecht *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017; USDA., 2006)，種豬有腳蹄問題後不能負重，影響採食量，造成營養不良，會引起繁殖障礙。豬蹄病的原因除物理性因素、管理疏失、營養失衡外 (Piedrafita *et al.*, 1991; Hacker *et al.*, 1994; Jørgensen, 2000; Anil *et al.*, 2005)，先天遺傳的腳蹄結構缺失亦是主因 (Draper *et al.*, 1991, 1992; Huang *et al.*, 1995; Schulze 1998)，歐美種豬站姿與體型評分項目所用之評分系統與名詞不是十分統一，歐洲系統分項較細，美國則較簡要 (Van Steenberge, 1989; Jørgensen and Vestergaard, 1990)。過去種豬選種工作，多依經驗法則將腳蹄結構，以主觀意識納入選留參考，因此畜產試驗所在 2010 年參考養豬先進國之評分制度，建立了一套臺灣豬腳蹄評分方法，若豬隻同品種與同性別內，體型評鑑有入選 2 頭以上，再進行腳蹄評分。

王等 (2004) 應用 2002 年 1 月至 2004 年 3 月期間，採取中央檢定站於各期完檢後之合格種豬共計 1,602 頭 (公豬 1,438 頭；女豬 164 頭) 進行外貌體型評鑑，並自各品種檢定合格頭數中選取其 1/2 至 1/3 頭數排名評等。另將外

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2629 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(3) 中央畜產會種豬檢定站。

(4) 行政院農業委員會畜牧處。

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

貌體型評鑑之評等排名與其選拔指數達 100 以上之順位序列，進行斯皮爾曼順位相關係數 (Spearman's Rank Correlation Coefficient) 分析研究。由杜洛克種公豬之斯皮爾曼順位相關顯示，選拔指數與外貌體型評鑑之相關性高 ($r = 0.73$)，顯示其生長性能 (選拔指數) 與優異外貌體型之遺傳有頗高之相關性；另綜觀藍瑞斯公豬之斯皮爾曼順位相關係數偏大，其原因可能為公系用種公豬與母系用種公豬之體型有所區隔之故。王等 (2004) 研究只應用 4 年資料，且無腳蹄資料供參，本試驗的目的是對 2011 年至 2019 年止，共 460 頭中央檢定站完檢之有腳蹄評分名次種豬，進行獨立性檢驗，了解其選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分之名次非獨立有關聯後，再應用斯皮爾曼簡單相關性及斯皮爾曼順位相關係數分析，對杜洛克公豬與藍瑞斯公豬之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分名次分級進行相關性探討。

材料與方法

I. 試驗豬隻

自 2011 年 3 月 23 日至 2019 年 5 月 22 日止，共 460 頭中央檢定站完檢之有腳蹄評分名次種豬頭數，包含杜洛克 243 公 21 母與藍瑞斯 118 公 35 母及約克夏 42 公 1 母。

II. 資料收集

(i) 選拔指數名次

生長檢定豬為 70 日齡仔豬於新化中央檢定站進行生長性能及飼料效率檢定至體重 110 kg 或 168 日齡止，運用 2005 年起採用的個檢選拔指數 (Selection Index)，杜洛克 $I = 100 + 120 \text{ ADG} - 55 \text{ FE} - 50 \text{ BF}$ ；經濟加權 (日增重：飼料效率：背脂厚度 = 1：-1：-0.5)，藍瑞斯 $I = 100 + 140 \text{ ADG} - 60 \text{ FE} - 30 \text{ BF}$ ；經濟加權 (日增重：飼料效率：背脂厚度 = 1：-1：-0.2)，計算生長性能指數，當期指數最高者名次為 1，第二高者為 2，以此類推。

(ii) 體型評鑑名次

對檢定指數 100 以上之純種豬進行體型評鑑，組織體型評鑑小組進行體型評鑑試評，期建立完整的體型評鑑標準程序。試評方法依品種、公母取完檢頭數的三分之一進行排名，由評鑑人員就完檢豬群最多以每 9 頭為一組，目視體型做第一次分組初排名，將各評鑑員的各組排名平均後，取每組前三名為入圍豬，入圍豬再進行第二次的總排名，並針對入圍豬優點部位 (分頭頸、體軀、四肢與尾根) 給予適當評語與排名，並酌選優良等級豬 (賴等，2002)。

(iii) 腳蹄評分名次

腳蹄評分與體型評鑑由不同人員進行，其評分表如表 1。評分總分為 100 分，前肢占 40%、後肢占 60%，前肢評分包括膝關節、前觀、繫部及蹄四部分，後肢包括飛節、後觀、繫部及蹄四部分。三位評鑑小組人員進行種豬腳結構及腳蹄評分，分品種性別，評分最高者為第 1 名，每品種性別按體型評鑑入選頭數的三分之一，進行排名，各分 1、2、3 名 (顏等，2010)。

III. 選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分之名次分類

選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分之名次每個項目依照名次分成三組如表 2，腳蹄評分名次之分類：第 1 名為第一級，第 2 名為第二級，第 3 名為第三級；選拔指數名次之分類：1 - 4 名為第一級，5 - 8 名為第二級，8 以上為第三級；體型評鑑名次之分類：1、2 名為第一級，3 - 6 為第二級，6 以上為第三級。名次之分類第一級 (1) 為最優，第二級 (2) 為次優，第三級 (3) 為良。

IV. 統計分析

(i) 獨立性檢驗

對於卡方檢定 (Chi-Square test, χ^2) 而言，最常使用的強度檢定稱為克雷莫 V 係數 (Cramer's V Coefficient)，這個係數是一個指標，目的在衡量兩個類別變項間的相關程度。應用 χ^2 與克雷莫 V 係數值，進行體型、指數及腳蹄三者之名次獨立性檢驗。其計算公式如下：

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n(k-1)}}$$

n: sample size, k: number of rows or columns.

表 1. 種豬腳蹄評分表

Table 1. Foot hoof score sheet for breeding pig

































Breed		Ear No.		Sex		Farmer			
Fore Leg (40 points)				Hind Leg (60 points)					
Item		Code	Feature	Points	Item		Code	Feature	Points
Angle at the hock joint (10)		1	Extremely buckled		Angle at the hock joint (15)		1	Extremely buckled	
		2	Buckled				2	Buckled	
		3	Straight				3	Straight	
		4	Normal				4	Normal	
		5	Sickled				5	Sickled	
Legs turning (10)		1	O shaped		Legs turning (15)		1	O shaped	
		2	Standing inwards				2	Standing inwards	
		3	Normal				3	Normal	
		4	Standing outwards				4	Standing outwards	
		5	X shaped				5	X shaped	
Condition of the pasterns (10)		1	Extremely buckled		Condition of the pasterns (15)		1	Extremely buckled	
		2	Straight				2	Straight	
		3	Normal				3	Normal	
		4	Weak				4	Weak	
		5	Extremely Weak				5	Extremely weak	
Size and uniformity of claws (10)		1	3	5	Size and uniformity of claws (15)		1	3	5
	small	normal	uneven	small		normal	uneven		
Referee			date	Y/	M/	D	Total score		

表 2. 選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分之名次分類

Table 2. Each trait, foot hoof evaluation, selection index, and body type evaluation was divided into three levels according to the ranking

Level	Foot hoof evaluation ranking	Selection index ranking	Body type evaluation ranking
1	1 (224)*	1 – 4 (185)	1 – 2 (201)
2	2 (128)	5 – 8 (105)	3 – 6 (89)
3	3 (108)	> 8 (170)	> 6 (170)

* (): sample size.

(ii) 相關性分析

應用皮爾遜簡單相關性及斯皮爾曼順位相關係數分析進行相關性分析。斯皮爾曼順位相關係數分析是先將每頭種豬體型評鑑、選拔指數及腳蹄評分每個項目依照名次分成三個等級，然後每頭種豬體型評鑑、選拔指數及腳蹄評分兩兩相減得到差值 (di)，求得 d 的平方值 (di²)，將 460 頭種豬的 d² 累加後除以 460，所得之值依斯皮爾曼順位相關係數計算，斯皮爾曼相關係數 (ρ)：

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

n = 3 n: ranking levels.

結果與討論

I. 獨立性檢驗

獨立性檢驗試驗結果如表 3，體型評鑑、選拔指數及腳蹄評分三者之名次皆非獨立，就名次而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的 Cramer's V 測定值分別為 0.51、0.61 及 0.54，皆屬中高強度關聯。

表 3. 指數、體型及腳蹄三者名次等級間之 χ^2 與 Cramer's V test 數值

Table 3. χ^2 values and Cramer's V test values among the ranking levels of selection index, body type evaluation, and foot hoof evaluation

Traits	χ^2	Significance	Cramer's V test
Selection index- body type evaluation	60.8	***	0.51
Selection index- foot hoof evaluation	84.9	***	0.61
Body type evaluation - foot hoof evaluation	67.5	***	0.54

*** Significant at P < 0.001 level.

II. 相關性分析

臺灣區種豬產業協會約有 31 會員場，從 2011 年 3 月 3 日至 2019 年送檢定或展示拍賣之會員場約有 19 場，畜產試驗所腳蹄評分工作已進行超過 8 年，從 2010 年 3 月 3 日至 2018 年 12 月 24 日止腳蹄結構檢測結果，腳蹄評分第一名獎頭數共 492 頭 (含中央檢定站與種豬產業協會拍賣之種豬)，入選腳蹄評分第一名總頭數在 10 頭 (含) 以上之種豬場有 11 場，獲得第一名獎總頭數前三名者所占百分比分別占 41.67% (205/492)、8.94% (44/492) 及 8.13% (40/492)，顯示場主對種豬腳蹄結構的重視。

相關性分析結果如表 4，就皮爾遜簡單相關係數而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的值分別為 0.357、0.428 及 0.348，皆屬中度相關。就斯皮爾曼順位相關係數而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的值分別為 0.747、0.783 及 0.752，皆屬高度相關。就整體而言，腳蹄評分與選拔指數的相關係數值兩相關係數值都最高有一致性 (0.428 與 0.783)。一般而言，皮爾遜相關常用來呈現連續型 (continuous) 變數之間的關聯性，尤其在變數符合常態分配的假設下，最為精確；而斯皮爾曼相關則不需符合常態，僅要求變數的資料型態至少為有序的 (ordinal)。另一個選擇上的重點為在資

料具有離群值時 (outliers)，以斯皮爾曼相關來呈現會是較佳的選擇，因為其不受離群值的影響 (這是因為斯皮爾曼相關是以排序值 (rank) 來計算相關係數) (Lehman, 2005)，故應用斯皮爾曼順位相關係數進一步進行品種分析，杜洛克公豬之體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的值分別為 0.752、0.740 及 0.718，藍瑞斯公豬之體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的係數分別為 0.608、0.767 及 0.659。本試驗體型評鑑與選拔指數的斯皮爾曼順位相關係數值，藍瑞斯公豬比杜洛克公豬之體型評鑑與選拔指數的值較差 (0.608 與 0.752)，此與王等 (2004) 之研究結果一致，且與其杜洛克種公豬檢定指數與外貌體型評鑑之斯皮爾曼順位相關性 ($r = 0.73$) 相近，顯示其經濟生長性能 (選拔指數) 與優異外貌體型之遺傳有頗高之相關性。中央檢定站完檢豬隻先有選拔指數名次，其次有體型評鑑名次 (選擇有選拔指數名次頭數的 1/3)，最後才有腳蹄評分名次 (選擇有體型評鑑名次頭數的 1/3，也就是選擇有選拔指數名次頭數的 1/9)，每期檢定頭數以杜洛克公豬最多，每期杜洛克公豬腳蹄評分名次會有第 1、2 名或第 1、2、3 名，有時一期參檢之藍瑞斯公豬不大於 18 頭，故取體型評鑑名次不大於 6 頭，藍瑞斯公豬腳蹄評分名次就只有第 1 或第 1、2 名，沒有第 3 名，資料不對稱，造成杜洛克公豬與藍瑞斯公豬在腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的相關係數值高低不同 (0.740 與 0.767，0.718 與 0.659)。本試驗應用皮爾遜簡單相關係數，是先了解純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分名次的相關趨勢，結果皆屬中度相關。由於純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分名次皆是有序的，且資料變數為非常態分配，斯皮爾曼相關性分析對此資料是較佳的分析方法。

表 4. 選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分三者名次等級間之皮爾遜簡單相關及斯皮爾曼順位相關係數

Table 4. Pearson simple correlation and Spearman's rank correlation coefficient among the ranking levels of selection index, body type evaluation, and foot hoof evaluation

Traits	Correlation coefficient			
	Pearson (All)	Spearman		
		All	Duroc ♂	Landrace ♂
Selection index-body type evaluation	0.357	0.747	0.752	0.608
Selection index- foot hoof evaluation	0.428	0.783	0.740	0.767
Body type evaluation - foot hoof evaluation	0.348	0.752	0.718	0.659

結 論

由於純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分名次皆是有序的，且資料變數非常態分配，使用斯皮爾曼相關性分析是較佳的選擇，就斯皮爾曼順位相關係數而言，體型評鑑與選拔指數、腳蹄評分與選拔指數及腳蹄評分與體型評鑑之間的值分別為 0.747、0.783 及 0.752，雖體型評鑑與腳蹄之評分人員不同，但腳蹄評鑑、指數選拔及體型評鑑三者名次間之斯皮爾曼順位相關係數呈高的正相關，本研究結果可推論有優良的性能選拔指數名次的種豬必有好的體型與高的腳蹄評分名次。

參考文獻

- 王佩華、賴永裕、宋永義、王旭昌、朱慶誠。2004。種豬中央檢定與外貌體型評鑑相關性探討。中畜會誌 33 (增刊)：98。
- 賴永裕、宋永義、王佩華、王旭昌、李世昌、張秀鑾。2002。性能檢定站種豬體型評鑑。中畜會誌 31(增刊)：105。
- 顏念慈、黃鈺嘉、陳佳萱、劉桂柱、林克育、吳連福、吳明哲。2010。種豬腳蹄結構性狀之檢測。中畜會誌 39 (增刊)：195。
- Anil, S. S., L. Anil and J. Deen. 2005. Evaluation of patterns of removal and associations among culling because of lameness and sow productivity traits in swine breeding herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 226: 956-961.
- Draper, D. D., M. F. Rothschild and L. L. Christian. 1991. Effects of Divergent Selection for limb weakness on bone and muscle cross-sectional areas in Duroc swine. Am. J. Vet. Res. 52: 164-168.

- Draper, D. D., M. F. Rothschild and L. L. Christian. 1992. Effects of divergent selection for leg weakness on muscle and bone characteristics in Duroc swine. *Genet. Sel. Evol.* 24: 363-374.
- Hacker, R. R., Z. Du. and C. J. D'arcy. 1994. Influence of penning type and feeding level on sexual behavior and feet and leg soundness in boars. *J. Anim Sci.* 72(10): 2531-2537.
- Huang, S. Y., H. L. Tsou, M. T. Kan, W. K. Lin and C. S. Chi. 1995. Genetic study on leg weakness and its relationship with economic traits in central tested boars in subtropical area. *Livest. Prod. Sci.* 44: 53-59.
- Jørgensen, B. 2000. Longevity of breeding sows in relation to leg weakness symptoms at six months of age. *Acta Veter. Scan.* 41: 105-121.
- Jørgensen, B. and T. Vestergaard. 1990. Genetics of leg weakness in boars at the Danish pig breeding stations. *Acta Agric Scand.* 40: 59-69.
- Knecht, D., A. Jankowska-Mąkosa and K. Duziński. 2017. Analysis of the lifetime and culling reasons for AI boars. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8: 49-57
- Lehman, A. 2005. *JMP For Basic Univariate and Multivariate Statistics: A Step-by-step Guide*. Cary, NC: SAS Press. p. 123.
- Li, Z. L., Y. X. Zhao., J. D. Liao., and S. J. Huang. 2017. Analysis of the factors affecting boar culling in commercial boar studs in Southern China. *Indian J. Anim. Res.* B-773: 1-8.
- Piedrafitá, J., M. F. Rothschild and L. L. Christian. 1991. Differential response to restricted feeding in 2 divergent lines of Duroc swine selected for front-leg structure. *J. Anim. Breed. Genet.* 108: 139-146.
- Schulze, V., R. Roehe., H. Looft and E. Kalm. 1998. Genetic improvement of exterior and leg soundness in swine [German] *Zuchtungskunde* 70: 43-60.
- Stern, S., N. Lundeheim., K. Johansson and K. Andersson. 1994. Osteochondrosis and leg weakness in pigs selected for lean tissue growth rate. *Livest. Prod. Sci.* 44: 45-52.
- USDA. 2006. Section I: Population Estimates A. Sow and Gilt Management. *Swine 2006 Part III: Reference of Swine Health, Productivity, and General Management in the United States*, p. 5.
- Van Steenberg, E. J. 1989. Description and evaluation of a linear scoring system for exterior traits in pigs. *Livest. Prod Sci.* 23:163-181.

Study on the correlation of ranks among selection index, body type evaluation and foot hoof evaluation under swine purebred growth performance test ⁽¹⁾

Neim-Tsu Yen ⁽²⁾⁽⁵⁾ Hsiu-Rong Tsai ⁽²⁾ Yung-Yu Lai ⁽²⁾ Chia-Hsuan Chen ⁽²⁾
Cheng-Hsiang Lin ⁽³⁾ Pei-Mei Chen ⁽⁴⁾ and Ming-Che Wu ⁽²⁾

Received: Nov. 22, 2019; Accepted: Jan. 6, 2020

Abstract

The purpose of this study was to examine the relationship of ranks among selection index, body type evaluation, and hoof evaluation. This study contained 460 purebred pigs with rank of hoof evaluation, which came from the Central Performance Test Station of National Animal Industry Foundation. The performance test period was from March 3, 2011 to May 22, 2019. We evaluated body type from those purebred pigs with selection index larger than 100. If body type evaluation had selected more than two purebred pigs at the same breed and gender, then to conduct foot hoof evaluation. Body type evaluation and foot hooves were evaluated by different personnel group. We divided the ranking of each item into three grades. The analysis tool was the Chi-Squared Test, Pearson simple correlation and Spearman's rank correlation coefficient. The results were as follows: (1) According to Chi-Squared Test analysis, we rejected the hypothesis that the rank are independent among test index, body type evaluation, and foot hoof evaluation. As for ranks, the Cramer's V test values of X² between selection index and body type evaluation, selection index and foot hoof evaluation and body type evaluation and foot hoof evaluation were 0.51, 0.61 and 0.54, respectively. There was moderate high relationship among these three items. (2) The Pearson rank correlation coefficient of ranks between selection index and body type evaluation, selection index and foot hoof evaluation, and body type evaluation and foot hoof evaluation were 0.357, 0.428 and 0.348, respectively. The Spearman's rank correlation coefficient of ranks between selection index and body type evaluation, selection index and foot hoof evaluation, and body type evaluation and foot hoof evaluation were 0.747, 0.783 and 0.752, respectively. Spearman's rank correlation coefficient among selection index, body type evaluation, and foot hoof evaluation showed a high positive correlation. The results of this study indicated that the breeding pigs, with high performance selection index ranking, had high ranking of body type evaluation and foot hoof.

Key words: Breeding pigs, Rank of selection index, Rank of body type evaluation, Rank of foot hoof evaluation, Correlation test.

(1) Contribution No. 2629 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture Executive Yuan.

(2) Breeding and Genetics Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Swine Growth Performance Test Station, National Animal Industry Foundation.

(4) Animal Industry Division, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(5) Corresponding author, E-mail: ntyen@mail.tlri.gov.tw.

狼尾草台畜草 8 號對泌乳山羊飼養價值的評估⁽¹⁾

范耕榛⁽²⁾⁽³⁾ 施柏齡⁽²⁾ 李姿蓉⁽⁴⁾ 蕭宗法⁽⁵⁾ 李滋泰⁽³⁾ 李春芳⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾

收件日期：108 年 12 月 4 日；接受日期：109 年 1 月 9 日

摘 要

狼尾草 (*Pennisetum purpureum*) 為國內草食動物主要芻料作物之一。為促進國產牧草的推廣，本次研究目的在評估 107 年正式命名的狼尾草台畜草 8 號在泌乳山羊之飼養價值。狼尾草台畜草 8 號屬中高莖型，以狼尾草台畜草 2 號及 3 號為親本而選育，以改良 2 號草易老化及倒伏之缺點和 3 號草產量略低之缺點。將生長 10 週之台畜草 2 號及台畜草 8 號，分別切短製作成 20 kg 桶裝青貯草。選擇 21 頭乳量 2 kg 以上的阿爾拜因與撒能乳山羊，逢機分成三組，飼養於高架個別欄，分別餵飼玉米青貯料飼糧、狼尾草台畜草 2 號青貯料飼糧或台畜草 8 號青貯料飼糧，進行二期各 28 日之飼養試驗。玉米青貯料飼糧組之芻料以玉米青貯料為主（占飼糧乾基 25%），兩組試驗組則分別以台畜草 2 號及台畜草 8 號青貯料等乾重置換玉米青貯料，同時補充玉米粉以調整三組飼糧能量相近，其餘飼料原料及比例都相近。飼養試驗結果得知，三處理組之羊隻採食量（依序為 1.77、1.69 及 1.63 kg）、乳量（依序為 2.20、2.19 及 2.28 kg）、乳脂率（依序為 3.50、3.61 及 3.39%）、乳蛋白質率及乳總固形物濃度皆相近，顯示狼尾草台畜草 8 號可以做為良好的泌乳羊芻料來源，在補充少許玉米粉提高飼糧能量後，其飼養價值可與玉米青貯料飼糧相當。

關鍵詞：乳山羊、泌乳性能、狼尾草台畜草 8 號。

緒 言

草食動物需要足夠的牧草纖維以維持反芻功能與瘤胃健康，因此牧草是草食動物飼糧中的主要組成之一，其能提供有效纖維外同時也可提供蛋白質等重要營養分。飼糧中的碳水化合物與蛋白質等營養分，會由瘤胃微生物分解產生揮發性脂肪酸與菌體蛋白質，提供反芻動物能量與蛋白質需要量的 2/3，因此，主要組成牧草飼養價值的提升，可以有效提升酪農產業的經營效率。

牧草的育種工作也因應各種需求而不斷被研究，狼尾草即為其中一例。狼尾草原產於熱帶非洲，引入國內後不斷進行改良與選拔，與青割玉米及盤固拉草同為目前國內主要自產牧草。狼尾草多以青割方式進行餵飼應用，自最早的台畜草 1 號 (Napiergrass cv. Taishiu No. 1, NP cv. TS1) (Cheng, 1991; 成等, 1995)、高產的 2 號、多葉的 3 號、高纖維生質能源開發的 4 號、具抗氧化功能的紫色 5 號、寵物適用的 6 號、由 3 號再改進的 7 號到 107 年由 2 號 3 號再改進的 8 號 (范等, 2018)。

民國 85 年底選育出的高莖狼尾草台畜草 2 號 (NP cv. TS2) (成等, 1997)，具高產特性，葉鞘毛少，開花期晚，適應性廣，是目前國內主要狼尾草栽種的品種。為改善台畜草 2 號的消化率，研究人員於 98 年育成叢生型矮性狼尾草，命名為狼尾草台畜草 3 號 (NP cv. TS3)，其植株矮（約 150 公分），葉莖比高，營養成分高，但葉片多和莖稈幼嫩的特性，使機械採收時可能塞住噴管或葉片飛散，且產量遠較台畜草 2 號為低，因此育成方向再調整朝向品質良好且適於機械收割的方向努力，107 年以狼尾草台畜草 2 號和狼尾草台畜草 3 號為親本育成新品系台畜草 8 號，8 號為中高株品系，其營養品質優於狼尾草台畜草 2 號，產量優於狼尾草台畜草 3 號，同時兼具二個品種之特色。為瞭解新品種狼尾草台畜草 8 號對反芻動物之飼養價值，本研究以國內酪農常用之玉米青貯料為對照組，試驗組分別以狼尾草台畜草 2 號及狼尾草台畜草 8 號 (NP cv. TS8) 替換對照組之玉米青貯料，再補充少量玉米粉調整飼糧之

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2630 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 國立中興大學動物科學系。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。

(5) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(6) 行政院農業委員會畜產試驗所副所長室。

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

能量後進行泌乳山羊飼養試驗。

材料與方法

本試驗於行政院農業委員會畜產試驗所營養組試驗羊舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容經畜產試驗所實驗動物管理小組以畜試動字第 104025 號申請核准在案。

I. 狼尾草農藝性狀調查和青貯料的製備

本試驗使用之狼尾草為台畜草 2 號及台畜草 8 號，兩種狼尾草於 103 年 10 月完成田間種植，採完全逢機區集設計，兩個品種各三重覆。每小區 $8\text{ m} \times 8\text{ m}$ ，行株距 $1\text{ m} \times 1\text{ m}$ ，以每 60 天為割期定期收割，其餘栽培方法同一般狼尾草管理方式。農藝性狀調查為每次收割前分取每種狼尾草 10 枝，分別秤取莖和葉之鮮重，於 60°C 烘乾至恆重，換算莖葉比和乾物質率。再秤取每小區總重，推估每公頃之年產量，農藝特性整理列於表 1。由於製作青貯料時因遇雨季，延後採收割後再生長 10 週的鮮草為材料，兩種狼尾草分別切短至 $5 - 8\text{ cm}$ 經萎凋半日後，以機械力填入小塑膠桶並壓實密封，每桶狼尾草重量約 20 kg，置於室溫下存放備用。狼尾草青貯 30 天後陸續開封進行動物試驗，於羊隻飼養第三週及第四週期間，採樣每種狼尾草青貯料各 4 桶，進行青貯品質與營養成分分析。

表 1. 狼尾草台畜草 2 號與 8 號之農藝性狀與產量預估

Table 1. Agronomic characteristics and predicted forage yield of Napiergrass cv.TS2 and Napiergrass cv.TS8

Variety	Plant height	Leaf/stem ¹	Morphology	Fresh yield	DW yield ²
				mt/ha/yr	
NP cv. TS 2	Tall	0.68	Smooth and hairless on leaf sheath and blade	285	48.2
NP cv. TS 8	Mid-tall	0.93	Smooth and hairless on leaf sheath and blade	252	38.4

II. 泌乳山羊飼養試驗設計

將 21 頭泌乳山羊（阿爾拜因 18 頭、撒能 3 頭），依乳量、品種及泌乳月數逢機分成三組，試驗開始前連續測乳量與採樣測乳成分兩日，做為試驗變異校正用及分組之依據。試驗開始前，參試的撒能及阿爾拜因乳山羊的平均性能每日乳量 $2.72 \pm 0.57\text{ kg}$ 。羊隻在個別欄飼養進行二次各 28 日之試驗，前 14 天為適應期，第 3 及 4 週為正式期，進行各組飼糧採樣、個別羊隻採食剩料採樣、乳量測定及乳成分測定。

試驗飼糧的營養分提供以體重 60 kg、每日產乳量 2.2 kg 及日增重 73 g 為基礎，依 NRC (2007) 乳山羊之營養需要量進行調配，對照組飼糧主要由玉米青貯料、盤固乾草及苜蓿乾草（分別約占飼糧乾基的 25.1%、4.1% 及 6.3%）、大豆殼等副產物（約占飼糧之 31.2%）及穀類精料（約占飼糧乾基 33.3%）組，兩狼尾草試驗組分別以 2 號或 8 號青貯料等乾重置換對照組之玉米青貯料，同時補充玉米粉（80 g，約占飼糧乾基之 3%）以使三組飼糧能量等營養組成相近。

III. 泌乳山羊飼養管理

羊隻逢機分成 3 組後，依序循環安置於羊舍內同一排高架個別羊欄內，每個羊欄均有飼槽及自動飲水碗，羊群飼養管理依標準作業流程進行。每日分別於上午 7:00 與下午 3:30 擠乳。每天分上下午兩次餵飼，餵飼量約為上午 8:00 的 40% 及下午 3:00 的 60%，觀察羊隻每餐剩料量作為其餵飼量調整之依據，使隔日上午剩料約為總日提供量的 5 - 10%，以達任食。各組使用相同之精料，每期配製一次並冷藏備用。三組飼糧分別以混合車混合各項原料後，再依餵飼量秤入羊隻個別飼槽餵飼。每日巡洗飲水碗。

IV. 測定項目

(i) 狼尾草青貯品質與營養成分分析

秤取 10 g 青貯料中加入蒸餾水 200 mL，攪拌打碎後以 1 號濾紙過濾，使用酸鹼度計測定濾液酸鹼值，再以 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ PTFE 薄膜過濾，以液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC, L-2450, HITACHI, Japan) 分析乳酸、乙酸、丙酸和丁酸（范等，2018）。依青貯料中乙酸、丁酸和乳酸占測定總當量數的百分比的得分合計即為其青貯品質評分 (Flieg's score)，評分 40 - 60 分為可接受，60 - 80 分為良好青貯料 (McCullough, 1978)。青貯料樣品於 55°C 烘乾 48 小時，經 1 mm 磨細後依 AOAC (2000) 以 Kjeldahl 方

法分析粗蛋白質 (crude protein, CP)，以 Ankom 200 纖維分析器分析中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 及酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY)，水溶性碳水化合物依 Morris (1948) 的 anthrone 呈色法分析。試管乾物質消化率 (*in vitro* dry matter digestibility, IVDMD) 依李及蕭 (2007) 修正方法進行。

(ii) 乳山羊性能測定

1. 體重：於試驗開始與結束的連續兩日上午 8：00 餵飼前空腹過磅。
2. 飼糧組成：於試驗的第 3 週及第 4 週，各連續 4 日採集各項飼糧原料，先以 -20℃ 保存，日後以 55℃ 烘乾 48 小時，計算乾物質率，將每項原料的 8 個乾燥後樣品均勻再採樣以混合成 1 個樣品，依前述狼尾草青貯樣品磨細與分析方法進行檢驗。計算各組飼糧的非纖維性碳水化合物含量 (non-fibrous carbohydrates, NFC = 100 – CP – NDF – Ether extract – Ash)。
3. 採食量：飼糧提供羊隻任食。每日記錄羊隻飼糧上下午的提供量與隔日上午剩餘量。於試驗第 3 週及第 4 週，各連續 4 日採集個別羊隻剩料，先行冷凍保存後再烘乾如飼料原料之處理。所有剩料烘乾計算乾物質率，與飼糧乾物質供應量，進行計算個別羊隻 8 日的平均乾物質採食量。
4. 泌乳量：試驗開始前 2 日，連續記錄個別羊隻乳量並採集個別乳樣送驗，作為羊隻變積期性能數據。於試驗第 25 日到第 28 日，連續 4 日測定個別羊隻的每日泌乳量；於試驗第 26 日到第 28 日，連續 3 日採集個別羊隻的上下午乳樣，依其乳量比例 (約 2：1) 混合成一日乳樣，送本所新竹分所牛乳檢驗室以全自動多功能乳製品成分分析儀 (MilkScan™ FT⁺, Foss, Denmark) 分析一般乳成分，包括乳脂率、乳蛋白質率、乳糖率與乳總固形物濃度等。

V. 統計分析

羊隻泌乳量與乳成分以有變積分析的完全隨機設計 (completely randomized design (CRD) with covariance analysis) 統計分析，以消除羊隻個體差異；體重變化與採食量採用 CRD 統計分析；試驗所得資料以 SAS 統計軟體 (2005) 進行一般線性模式 (general linear model, GLM) 分析，若變方分析達顯著差異水準，再以最小平方均值 (least squares means, LSM) 比較處理組間的差異，本次試驗以 $P < 0.05$ 為顯著差異水準。

結果與討論

I. 青貯品質與營養成分

本次試驗所評估的狼尾草台畜草 2 號與 8 號的農藝性狀 (表 1)，顯示新育成的中大型 8 號可較 2 號增加 37% 的葉莖比 (0.93 vs. 0.68)，但減少 20% 的預估乾物質產量 (38.4 vs. 48.2 公噸 / 公頃 / 年)。經青貯 30 天後，其品質及營養組成整理於表 2。兩種狼尾草青貯料含水量皆偏高，達 82.7% 與 81.7%，pH 值皆低於 4.0 (3.86 vs. 3.89)，有乙酸生成 (1.483 vs. 0.865%)，丁酸皆未測得，乳酸含量偏低 (0.72 vs. 0.77%)。8 號乙酸含量較 2 號為低且乳酸稍高，因此換算得到之青貯品質評分良好級的低限 65，優於 2 號 53 的可接受級 (McCullough, 1978)。由於乳酸具有較低的解離常數 ($pK_a = 3.86$)，是負責降低青貯料 pH 值最重要的有機酸，一般推薦良好青貯料的乳酸含量需要達到乾物質的 3% 以上 (McDonald *et al.*, 1991)，McDonald *et al.* (1991) 論述青貯品質時，提出當青貯原料水分高達 70% 以上時，容易造成梭菌的二次發酵，使分解碳水化合物、乳酸及胺基酸，產生丁酸及氨而危及青貯品質；另外青貯料的丁酸濃度低於乾基的 1% 時，被認為是良好的青貯料 (Muck, 1988)，青貯料 pH < 4.0 也被認為較能維持良好青貯狀態。本次試驗兩種狼尾草青貯料可能因低 pH 而維持良好青貯狀態，但高達 80% 以上的含水率，使青貯品質評分僅在可接受到良好範圍之間。

狼尾草台畜草 2 號與 8 號青貯料的營養組成十分相近，8 號的高葉莖比雖未能明顯提升其營養組成，然而試管乾物質消化率仍顯示 8 號有高於 2 號之結果 (表 2)。成等 (1997) 比較不同收穫時期之狼尾草品質變化，顯示隨著生育期之增加，狼尾草之乾物質、水溶性碳水化合物、酸洗及中洗纖維亦隨之增加，但粗蛋白質含量則下降，綜合各項指標後，建議狼尾草之收穫期以生長 8 週後收穫較適宜，且狼尾草台畜草 2 號單獨青貯的青貯品質評分仍於 74 – 80 之間，因此建議狼尾草可單獨青貯調製；范等 (2018) 以 10 週生長期四種品種的狼尾草單獨進行青貯，其青貯料乾物質含量為 13.6% – 17.2%，青貯品質評分為 75 至 81，水分較高者青貯評分會略低；本試驗狼尾草臺畜 2 號與 8 號的乾物質為 17.3% 與 18.3% 與前述文獻相近，但青貯後分數較低。狼尾草植體內的水溶性碳水化合物含量變動大是關鍵因素 (王等, 2000)，一般以夏季、晴天及下午時之水溶性碳水化合物含量較高 (王等, 2002)；另外雖萎凋常用來降低青貯材料的水分含量，但狼尾草萎凋降低水分作用有限，而水溶性

碳水化合物易因牧草萎凋期間繼續呼吸而損失，狼尾草收穫後堆積及萎凋效果並不利於狼尾草青貯，反而有青貯品質變劣情形 (彭等, 2000)，此也可能是導致本次狼尾草遇雨延後收割與短時間萎凋處理所帶來青貯品質評分較低的原因。

表 2. 泌乳羊飼養試驗的青貯料品質與成分比較

Table 2. Comparisons of silage quality and compositions used in lactating goat feeding trial

Items	Corn silage	NP cv. TS 2	NP cv. TS 8
H ₂ O, %	72.5	82.7	81.7
pH	—	3.86	3.89
Flieg's score ¹	—	53	65
----- Dry matter basis, % -----			
Acetic acid	—	1.48	0.87
Butyric acid	—	0.00	0.00
Lactic acid	—	0.72	0.77
Crude protein	8.54	8.06	8.28
Neutral-detergent fiber	59.3	65.1	66.4
Acid-detergent fiber	31.9	40.2	40.5
Water soluble carbohydrate	0.53	1.27	1.00
IVDMD ²	57.54	48.87	51.17

II. 泌乳羊生產性能評估

飼糧配方與營養組成結果整理於表 3。兩種狼尾草組的營養組成相近，等乾重置換對照組的玉米青貯料，三種芻料皆占約飼糧乾基 25%。三組飼糧組成顯示，乾物質率維持在 42.5 — 48.0%，粗蛋白質率 15.1 — 16.0%，乾物質率與粗蛋白質率皆以二狼尾草組較低於玉米青貯料組，狼尾草兩組的中洗纖維含量相近而高於玉米青貯料組 (50.8 vs. 48.4%，增加約 5%)，酸洗纖維也是同樣趨勢，以狼尾草兩組高於玉米青貯料組 (28.4 vs. 24.4%，增加 16%)，狼尾草組補充約 80 g 玉米粉但補充量似乎尚不足，二狼尾草組的非纖維性碳水化合物仍低於玉米青貯料組 7.5% (24.6 vs. 26.6%)。

不同青貯料對山羊泌乳性能之影響則列於表 4，玉米青貯料、狼尾草 2 號及 8 號三組飼糧，對羊隻採食量 (平均 1.70 kg/d)、實際泌乳量與 3.5% 乳脂校正乳量 (平均 2.22 kg/d)、泌乳效率 (乳量 / 乾物質採食量，平均 1.32)、乳脂率 (平均 3.50%)、乳蛋白質率 (平均 3.07%)、乳糖率 (平均 4.21%)、乳總固形物率 (平均 11.48%) 及血中尿素氮 (平均 28.2 mg/dL) 等的影響都相近，其中體重變化雖然因變異大沒達顯著差異 (平均 0.33 g/d)，但採食狼尾草台畜草 8 號羊隻有 30 g 的日增重，另二組每日則平均失重 14.5 g，顯示台畜草 8 號飼糧的養分除可維持羊隻乳量外，也能轉移到體組織上。乳中尿素氮濃度反應飼糧蛋白質組成及能量採食平衡與否，體液中高濃度尿素會降低產乳之代謝效率 (Tyrrell and Moe, 1975)，對健康 (Ørskov *et al.*, 1987) 及生殖 (Ropstad and Refsdal, 1987) 亦有負面之影響，本次試驗結果顯示三組羊隻乳中尿素氮濃度相近，推論三種飼糧的快速可發酵碳水化合物、飼糧蛋白質及能量採食、瘤胃降解蛋白質與瘤胃未降解蛋白質比例應都相近。綜合乳山羊飼養試驗結果顯示，狼尾草台畜草 8 號、2 號飼糧，經少量玉米粉補充後，可以支持羊隻泌乳性能表現與玉米青貯料飼糧相當，各組飼糧營養組成上的差異並不影響乳量 2.2 kg 羊隻性能反應，狼尾草台畜草 8 號可做為泌乳羊飼糧中良好的芻料來源。狼尾草之生長期及氣候因素皆會影響採收時之品質，狼尾草台畜草 8 號育種目標為提升狼尾草台畜草 2 號之營養成分，但在本試驗因雨延後 2 週採收，致使台畜草 8 號之青貯料粗蛋白質只略高於台畜草 2 號約 0.2%，試管乾物質消化率上僅有 2.3% 提升 (表 2)，因此調製飼糧後二組成分差異並不明顯，餵飼乳羊之表現上有小幅改善趨勢，但與台畜草 2 號組之反應相近 (表 4)。

反芻動物飼糧中纖維含量與營養供應之間的平衡非常重要。在高產泌乳山羊中，飼糧纖維採食量對預防乳脂肪低下有著重要作用，建議飼糧中需含 18 — 20% 的 ADF 或 41% 的 NDF (Lu *et al.*, 2005)。一般而言，採食量與飼糧中洗纖維含量呈負相關性 (Mertens, 1987)，飼糧中洗纖維較高時會影響在瘤胃之消化過程的排空率，故通常以飼糧中洗纖維含量預估反芻動物之採食量，並以酸洗纖維含量預估飼糧消化率。Church (1979) 亦指出當牧草採食量偏高或酸洗纖維含量較高時，其飼糧中蛋白質等成分之消化率會降低。李等 (1995) 以矮性狼尾草 (台

畜草一號)、高莖狼尾草(台畜草 2 號)、新鮮盤固草及盤固乾草(A254)進行泌乳羊試驗,結果顯示矮性狼尾草之採食量比高莖狼尾草低,但其泌乳量與高莖狼尾草組相當,推論是因矮性狼尾草的酸洗纖維含量較低,致其營養分之吸收較好所致。黃等(2012)以平均日產乳量 2.55 kg 之努比亞山羊 32 頭,使用 TMR 餵飼方式比較狼尾草台畜草 2 號及葉莖比高的台畜草 3 號對泌乳性能之影響,結果顯示台畜草 3 號組之山羊乾物質採食量顯著高於台畜草 2 號組達 0.15 kg/日 (1.79 vs. 1.64 kg),乳量亦顯著提高 0.29 kg/日 (2.86 vs 2.57 kg),此應與 3 號草纖維含量較低營養價值較高所致。范等(2018)比較狼尾草台畜草 2 號、3 號、7 號及 4 號對泌乳羊飼養價值,其結論當狼尾草作為飼糧乾基組成 30% 來餵飼泌乳羊,2 號、3 號及 7 號皆可以單獨製作成良好的青貯草,葉莖比較高的狼尾草台畜草 3 號,纖維含量低而消化率高,羊隻有最高採食量及較低的乳中尿素氮濃度;中高型的狼尾草台畜草 7 號,則有較佳的泌乳效率。以上飼養試驗結果與 Mertens (1987) 及 Church (1979) 的論述一致,即牧草纖維含量低應有助於提升動物的表現。然而本次試驗,玉米青貯料飼糧的纖維含量較狼尾草組低,理論上羊隻應有較高之採食量、較高之消化率與較高之乳量,但試驗結果各處理組在乾物質採食量、乳量及乳成分上表現都相近,是否顯示此三組之纖維含量皆已高於推薦量甚多(18 – 20% 的 ADF 或 41% 的 NDF, Lu *et al.*, 2005),因此並未帶來明顯性能表現的差異,這也是一般在國內以長纖禾本科為主要芻料時,經常遇到的飼糧纖維含量偏高的問題。

表 3. 泌乳羊狼尾草台畜草 2 號及台畜草 8 號飼養試驗之飼糧配方與成分(%, 乾基)

Table 3. Diet formula and compositions in Napiergrass cv. TS2 and Napiergrass cv. TS8 feeding trial fed to lactating dairy goats (%, dry matter basis)

Ingredients/Compositions	Corn silage	NP cv. TS2	NP cv. TS8
Corn silage	25.09	—	—
Napiergrass silage (NP cv. TS2)	—	25.15	—
Napiergrass silage (NP cv. TS8)	—	—	24.64
Pangolagrass hay	4.12	3.94	3.97
Alfalfa hay	6.25	5.98	6.02
Wet brewer's grains	8.1	7.75	7.8
Soybean hull pellet	14.61	14.04	14.13
Wheat bran	4.17	3.99	4.01
Wet sorghum distillers	4.26	4.08	4.11
Corn, ground	—	3.15	3.17
Grain mixture ^{1,2}	33.40	31.92	32.15
Total	100.0	100.0	100.0
TDN, kg	1.48	1.49	1.49
Dry matter (n = 8) ³	48.0	42.5	43.8
Crude protein (n = 2) ³	16.0	15.1	15.3
Neutral-detergent fiber	48.4	51.3	50.4
Acid-detergent fiber	24.4	28.6	28.1
Acid-detergent lignin	3.68	4.61	4.10
Crude fat	2.60	2.75	2.66
Non-fibrous carbohydrates ⁴	26.6	24.3	24.8
Calcium	0.62	0.69	0.59
Phosphorus	0.32	0.38	0.37

¹ Grain mixture was same for three groups. It included ground corn 57.00%, soybean meal (CP 43%) 28.50%, fish meal (CP 65%) 3.10%, molasses 2.50%, salt 1%, limestone 2%, dicalcium phosphate 0.4%, potassium carbonate 1%, sodium bicarbonate 2%, magnesium oxide 0.6%, urea 1%, vitamin premix 0.65%, and mineral premix 0.25%. (as fed basis).

² Each gram of vitamin premix contained 10,000 IU of vitamin A, 2,000 IU of vitamin D₃, and 55 IU of vitamin E. Each kilogram of mineral premix contained 16 gm of Cu, 15 gm of Mn, 0.2 gm of Co, 53 gm of Zn, 1 gm of I, and 0.5 gm of Se.

³ During the 3rd and 4th wk of trial, consecutive four diet samples from each group were collected weekly, frozen stored, dried and pooled into one sample for analyses (n = 2), except for the dry matter analyses (n = 8).

⁴ Non-fibrous carbohydrates = 100 – CP – NDF – Ether extract – Crude ash.

表 4. 狼尾草台畜草 2 號及台畜草 8 號飼糧對乳山羊泌乳性能之影響

Table 4. Effects of Napiergrass cv.TS2 and Napiergrass cv.TS8 diet on milking performance of lactating dairy goats

Items	Corn silage	NP cv. TS2	NP cv. TS8	SEM
n	14	14	14	—
Dry matter intake, kg/d	1.77	1.69	1.63	0.08
BW change, g/d ¹	-17	-12	30	15
Milk production, kg/d	2.20	2.19	2.28	0.06
3.5% FCM, kg/d ¹	2.20	2.24	2.23	0.06
Milk efficiency (M/I) ¹	1.25	1.33	1.39	0.07
Milk fat, %	3.50	3.61	3.39	0.08
Milk protein, %	3.09	3.09	3.04	0.03
Milk lactose, %	4.24	4.20	4.19	0.04
Milk total solid, %	11.54	11.59	11.30	0.11
MUN, mg/dL ¹	28.7	28.8	27.2	0.60

All performance traits were not affected by dietary forage sources ($P > 0.05$).

¹ BW: body weight; 3.5% FCM: 3.5% fat-corrected milk; Unit for milk efficiency: Milk/DMI; and MUN: milk urea nitrogen.

結 論

狼尾草台畜草 8 號青貯料，以取代飼糧中占 25% 的玉米青貯料並補充少量玉米粉的方式，調配飼糧餵飼泌乳山羊群，可以支持泌乳羊乾物質採食量、乳量及乳成分等的性能表現，因此狼尾草台畜草 8 號可以做為良好的泌乳羊芻料來源，其對泌乳羊的飼養價值良好。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇、成游貴。2000。狼尾草品系水溶性碳水化合物含量與青貯品質之關係。畜產研究 33：352-361。
- 王紓愍、陳嘉昇、成游貴。2002。熱帶牧草水溶性碳水化合物含量的日變化研究。畜產研究 35：69-75。
- 成游貴、陳嘉昇、吳建福。1995。矮性狼尾草產量與品質之改良。畜產研究 28：285-294。
- 成游貴、黃耀興、陳嘉昇、李美珠。1997。地區性狼尾草品系選拔及飼養模式之研究。畜產研究 30：171-181。
- 李美珠、黃森源、徐阿里、許福星、程中江。1995。狼尾草與盤固草對乳山羊泌乳量及乳成分之影響。畜產研究 28：199-205。
- 李春芳、蕭宗法。2007。反芻動物飼料試管乾物質消化率 (IVDMD) 方法之修改。畜產研究 40：59-65。
- 范耕榛、李姿蓉、蕭宗法、李春芳。2018。青貯狼尾草台畜草 3 號與 7 號對泌乳山羊飼養價值的評估。畜產研究 51：8-15。
- 黃憲榮、成游貴、許晉賓、王治華。2012。狼尾草台畜草 3 號及 2 號品種對乳羊泌乳性能之影響評估。畜產研究 45：217-226。
- 彭炳戊、張定偉、王紓愍、成游貴。2000。小型香腸式青貯法於牧草及啤酒粕之應用。畜產研究 33：320-327。
- ANKOM Technology Corp. 2016. <https://www.ankom.com/analytical-methods-support/fiber-analyzer-a200>.
- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Cheng, Y. K. 1991. Forage breeding in Taiwan. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 4: 203-209.
- Church, D. C. 1979. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Vol. I Digestive Physiology. 2nd ed. pp. 61-292. Oxford Press, Oregon.
- Lu, C. D., J. R. Kawas and O. G. Mahgoub. 2005. Fiber digestion and utilization in goats. Small Rumin. Res. 60: 45-52.
- McCullough, M. E. 1978. Silage - some general considerations. In: Fermentation of Silage - A Review. ed. McCullough, M. E. Nat. Feed Ingredients Assoc., West Des Moines, IA. pp. 1-26.

- McDonald, P., A. R. Henderson and S. J. E. Heron. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Chalcombe Publ., Bucks, England, UK.
- Mertens, D. R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Anim. Sci.* 64: 1548-1558.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Sci.* 107: 254-255.
- Muck, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Sci.* 71: 2992-3002.
- National Research Council. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants*. Nat. Acad. Sci., Washington, DC.
- Ørskov, E. R., G. W. Reid and C. A. G. Tait. 1987. Effect of fish meal on the mobilization of body energy in dairy cows. *Anim. Prod.* 45: 345-348.
- Ropstad, E. and A. O. Refsdal. 1987. Herd reproductive performance related to urea concentration in bulk milk. *Acta Vet. Scand.* 28: 55-63.
- SAS. 2005. *User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition*. SAS Inc., Cary, NC.
- Tyrrell, H. C. and P. W. Moe. 1975. Effect of intake on digestive efficiency. *J. Dairy Sci.* 58: 1151-1163.

Evaluation of the feeding value of Napiergrass cv. TS8 for lactating dairy goats ⁽¹⁾

Geng-Jen Fan ⁽²⁾⁽³⁾ Bor-Ling Shih ⁽²⁾ Tzu-Rung Li ⁽⁴⁾ Tzong-Faa Shiao ⁽⁵⁾
Tzu-Tai Lee ⁽³⁾ and Churng-Faung Lee ⁽²⁾⁽⁶⁾

Received: Dec. 4, 2019; Accepted: Jan. 9, 2020

Abstract

Napiergrass (*Pennisetum purpureum*) is one of the major forages for ruminant in Taiwan. To promote the utilization of domestic forage, this study was aimed to evaluate the feeding value of newly selected Napiergrass variety TS8 (Napiergrass cv. Taishiu No. 8, NP cv. TS8) for lactating goats. TS8 is a medium-height type Napiergrass bred from NP cv. TS2 and NP cv. TS3 to improve the forage quality and yield. Ten-wk-old NP cv. TS2 and NP cv. TS8 were chopped short and ensiled in 20-kg pails separately. A total of 21 head of Saanen and Alpine goats with daily milk yield above 2 kg were assigned into three treatments and individually fed in two replicate feeding trials for 28 days each. Diets constituting 25% of corn silage, NP cv. TS2 or NP cv. TS8 were formulated in dry matter basis. A small quantity of corn meal was supplemented into two Napiergrass diets to resemble the dietary energy level. Results showed that three diets could support goats to have similar daily dry matter intake (1.77, 1.69, and 1.63 kg), daily milk yield (2.20, 2.19, and 2.28 kg), and milk compositions, including % of milk fat (3.50, 3.61, and 3.39%), protein, lactose, and total solid. It is suggested NP cv. TS8 could be as a good forage source for lactating goats. After compensating dietary energy by corn meal, its feeding value for lactating goats is comparable to that of corn silage diet.

Key words: Dairy goat, Lactating performance, Napiergrass TS8.

(1) Contribution No. 2630 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture Executive Yuan.

(2) Nutrition Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of Animal Science, National Chung Hsing University, 145 Xingda Road, Taichung 40249, Taiwan, R.O.C.

(4) Forage Crops Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(5) Animal Industry Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(6) Deputy Director Office, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(7) Corresponding author, E-mail: cflee@mail.tlri.gov.tw.

第五十二卷作者索引

Author Index to Volume 52

- An-Kuo Su (蘇安國) 10, 91, 122, 191
 Bor-Ling Shih (施柏齡) 165, 256
 Bo-You Chen (陳柏佑) 81
 Cheng-Hsiang Lin (林正祥) 249
 Cheng-Yung Lin (林正鏞) 182
 Chia-Chieh Chang (章嘉潔) 72, 198
 Chia-Hsuan Chen (陳佳萱) 249
 Chia-Sheng Chen (陳嘉昇) 146
 Chien-Lung Hu (胡見龍) 176
 Chien-Ming Tu (塗建銘) 91
 Chih-Chang Hsiao (蕭智彰) 45
 Chih-Hsiang Cheng (鄭智翔) 27, 114
 Chi-Hsin Lu (盧啟信) 81, 129
 Ching-Yi Lien (練慶儀) 45
 Chin-Hui Su (蘇晉暉) 27, 51, 114
 Chin-Jin Hou (侯金日) 81
 Chin-Meng Wang (王錦盟) 45, 108, 176
 Chin-Te Hsu (許進德) 227
 Chun-Ta Chang (張俊達) 100, 108, 137, 165
 Churng-Faung Lee (李春芳) 100, 165, 256
 Fang-Chueh Liu (劉芳爵) 66, 108
 Fung-Hsiang Chu (林秀蓮) 234
 Geng-Jen Fan (范耕榛) 165, 256
 Guang-Fuh Li (李光復) 1, 122
 Ho-tsung Chu (朱何宗) 10
 Hsiao-Mei Liang (梁筱梅) 241
 Hsiao-Yun Kuo (郭曉芸) 182
 Hsin-Hung Liu (劉信宏) 146
 Hsiu-Chou Liu (劉秀洲) 27, 51, 58, 114
 Hsiu-Lien Lin (曲鳳翔) 234
 Hsiu-Rong Tsai (蔡秀容) 249
 Hsi-Wen Hung (洪兮雯) 191
 Hung-Yi Wu (吳弘毅) 27
 I-Ching Chou (周宜靜) 19
 I-Heng Chang (張以恆) 182
 Jeng-Bin Lin (林正斌) 81, 129
 Jenn-Fa Liou (劉振發) 215
 Jenwen Shiau (蕭振文) 137
 Jen-Wen Shiau (蕭振文) 215
 Jia-Shian Shiu (許佳憲) 1, 122
 Jih-Yi Chen (陳志毅) 58
 Jih-Yih Chen (陳志毅) 51
 Jung-Hsin Lin (林榮新) 27, 114
 Kai-Fei Tseng (曾楷扉) 1, 19, 234
 Liang-Yuan Wei (魏良原) 51, 58
 Lih-Ren Chen (陳立人) 215
 Li-Jen Liao (廖麗貞) 153
 Ling-Tsai Wu (吳鈴彩) 100, 108
 Mei-Fong Lin (林美峰) 51
 Meng-Ru Lee (李孟儒) 206
 Ming-Che Wu (吳明哲) 249
 Min-Jung Lin (林旻蓉) 45
 Min-Lang Chang (張敏郎) 153
 Neim-Tsu Yen (顏念慈) 249
 Pei-Mei Chen (陳培梅) 249
 Pi-Hua Chuang (莊璧華) 10, 91, 191
 Po-An Tu (涂柏安) 122
 Po-Yu Chen (陳勃聿) 37, 227
 Ruei-Han Yeh (葉瑞涵) 19
 Rung-Jen Tu (涂榮珍) 206
 Shann-Ren Kang (康獻仁) 241
 Sheng-Der Wang (王勝德) 45
 Sheng-Yang Wu (吳昇陽) 72, 198
 Shen-Shyuan Yan (楊深玄) 10, 19, 91, 122

- Shu-Fen Yan (顏素芬) 129
- Shu-Min Wang (王紓愍) 146, 165, 241
- Shyh-Rong Chang (張世融) 129
- Sue-Pea Shaug (蕭素碧) 227
- Szu-Han Wang (王思涵) 137
- Ting-Chieh Kang (康定傑) 1, 19, 234
- Tsai-Fuh Tseng (曾再富) 114
- Tsui-Huang Yu (游翠凰) 146
- Tsung-Yi Lin (林宗毅) 45
- Tzong-Faa Shiao (蕭宗法) 100, 165, 256
- Tzu-Rung Li (李姿蓉) 129, 256
- Tzu-Tai Lee (李滋泰) 256
- Wei-Beng Chang (張惠斌) 51
- Wen-Shyan Chan (陳文賢) 206
- Wey-Peng Chang (張惠斌) 58
- Xiao-Heng Xu (徐小恆) 51
- Ya-Chun Liu (劉雅醇) 241
- Yen-Chih Chang (張雁智) 176
- Yih-Fwu Lin (林義福) 100
- Yi-Hsuan Chen (陳怡璇) 100
- Yi-Ting Chen (陳蕙婷) 191
- Yi-Ying Chang (張怡穎) 51, 58
- Yow-Ling Shiue (薛佑玲) 215
- Yu-An Lin (林育安) 114
- Yu-Chun Lin (林幼君) 66, 108
- Yu-Hsin Chen (陳裕信) 215, 234
- Yu-Kuei Cheng (成游貴) 91, 129
- Yung-Yu Lai (賴永裕) 249
- Yu-Shine Jea (賈玉祥) 176

第五十二卷中文主題索引

- 土番鴨 114, 206
小型豬 198
山羊 19, 234
天然色素 10
仔牛生長 122
代謝能 181, 182
北京鴨 58, 206
台畜草 3 號 227
尼羅草 227
布拉曼 122
甘藷等外品 165
生化檢測值 198
生長性能 114
白肉雞 241
伊莎蛋雞 91
成長 191
有機銅 100
有機鋅 100
有機錳 100
自體吮乳 19
血液 198
血液生化值 66
血液性狀 100
血液參數值 137
行為 191
冷凍精液 72
助孕素 1
抗氧化劑 72
乳山羊 256
乳脂率 165
乳酸桿菌 81
初乳品質 137
受精蛋數 58
泌乳牛 137
泌乳性能 256
泌乳量 122
法式麥管 234
牧草 129
芽孢桿菌 108
青貯 37, 146
非纖維性碳水化合物 165
相關性測定 249
紅面番鴨 206
苜蓿 146
苜蓿顆粒粉 91
韭菜 10
消毒 27
狼尾草 129
狼尾草台畜草 8 號 256
狼尾草台畜草七號 129
狼尾草粉 91
胸肉 206
芻料品質 37
芻料高粱 153
草炭 241
高粱 37
屠體性狀 114
巢內蛋 45
巢箱 45
接觸性皮炎 241
理化分析 206
產後 1

- 產蛋性能 182
產量 37
粗蛋白質 181
荷蘭泌乳牛 100, 165
蛋黃顏色 10, 91
嵌合體 215
植物萃取物 19
番鴨 51
費氏青貯品質評分 81
黑絨烏骨雞 215
新品種 153, 227
鞣固酮 51
聖達 122
腳蹄評分名次 249
農藝性狀 153
飼料添加物 108
飼料資源 165
實驗動物 66
種蛋 27
種豬 249
精液性狀 51
精液玻璃化冷凍 234
臺灣黃牛 1
誘導多能性幹細胞 215
德國黃牛雜種 122
稻穀青貯料 81
褐色萊鴨 27
褐殼蛋雞 182
豬 72
適口性 146
選育 153
選拔指數名次 249
遺傳表現 58
鴛鳥 191
鴨床材質 114
總生菌數 45
繁殖 1
雞蛋品質 182
離乳仔豬 108
鵝 45, 181
麵包樹葉 10
蘭嶼豬 66
體型評鑑名次 249
體增重 66

Subject Index to Volume 52

- Agronomic character 164
Alfalfa 152
Alfalfa pellet powder 99
Antioxidant 80
Bacillus coagulans 113
Behavior 197
Biochemical parameter 205
Black silk chicken 226
Blood 205
Blood Chemistry 71
Blood parameters 145
Blood trait 107
Boar 80
Brahman 128
Breadfruit leaf 18
Breast meat 214
Breeding Egg 36
Breeding pigs 255
Broiler 248
Brown layers 190
Brown Tsaiya duck 36
Calf growth 128
Carcass traits 121
Chimera 226
Chive sheath 18
Colostrum quality 145
Contact dermatitis 248
Correlation test 255
Crude protein 176
Dairy goat 263
Disinfection 36
Egg production 190
Egg quality 190
Ensiling 152
Experimental animal 71
Feed additives 113
Feed resource 175
Fertile eggs 65
Flieg's scores 90
Floor material 121
Forage 136
Forage quality 44
Forage sorghum 164
French straw 240
Frozen Semen 80
Gain weight 71
Geese 50
Gelbvieh crossbred 128
Genetic performance 65
Goat 26, 240
Goose 176
Grass biochar 248
Growing 197
Growth performance 121
Holstein lactating cow 175
Holstein lactating cows 107
Induced pluripotent stem cells 226
ISA hen 99
Lactating cow 145
Lactating performance 263
Lactobacillus spp. 90
Lanyu Minipigs 71
Metabolizable energy 176, 190
Milk fat 175

- Milk production 128
- Minipig 205
- Mule duck 121, 214
- Muscovy 214
- Muscovy duck 57
- Napiergrass 136
- Napiergrass powder 99
- Napiergrass TS8 263
- Natural pigment 18
- Nest box 50
- Nest egg 50
- New variety 164, 233
- Nilegrass 233
- NL cv. TS3 233
- Non-fibrous carbohydrate 175
- NP cv. TS 7 136
- Organic copper 107
- Organic manganese 107
- Organic Zinc 107
- Ostrich 197
- Palatability 152
- Pekin duck 65, 214
- Physicochemical analysis 214
- Plant extract 26
- Postpartum 9
- Progesterone 9
- Rank of body type evaluation 255
- Rank of foot hoof evaluation 255
- Rank of selection index 255
- Reproduction 9
- Rice grain silage 90
- Santa Gertrudis 128
- Selection 164
- Self-sucking 26
- Semen characteristics 57
- Silage 44
- Sorghum 44
- Sperm vitrification 240
- Sub-quality sweet potato 175
- Taiwan Yellow cattle 9
- Temperature-humidity index 107
- Testosterone 57
- Total plate count 50
- weaned piglet 113
- Yield 44
- Yolk color 18, 99

第五十二卷中文目錄

第一期

1. 臺灣黃牛產後助孕素之分泌與其繁殖特性 曾楷扉 許佳憲 康定傑 李光復.....	1
2. 添加地區性農業天然色素資材改善伊莎褐殼蛋雞蛋黃顏色之研究 楊深玄 莊璧華 朱何宗 蘇安國.....	10
3. 精料混拌植物萃取物對山羊採食意願之影響 周宜靜 葉瑞涵 楊深玄 曾楷扉 康定傑.....	19
4. 不同消毒處理對褐色萊鴨種蛋微生物與孵化之影響 鄭智翔 蘇晉暉 吳弘毅 劉秀洲 林榮新.....	27
5. 以栽培種高粱作為芻料生產之評估 陳勃聿.....	37
6. 巢箱型式對白羅曼鵝巢內蛋比率之影響 王錦盟 練慶儀 王勝德 林旻蓉 蕭智彰 林宗毅.....	45
7. 臺灣公番鴨精液性狀與其血清睪固酮濃度之調查 魏良原 張惠斌 陳志毅 蘇晉暉 張怡穎 徐小恆 林美峰 劉秀洲.....	51
8. 經 11 代受精持續性選拔後之北京鴨受精蛋數遺傳表現探討 陳志毅 魏良原 張惠斌 張怡穎 劉秀洲.....	58

第二期

1. 不同飼糧粗蛋白質含量對蘭嶼豬體增重與血液生化值之影響 劉芳爵 林幼君.....	66
2. 抗氧化劑添加於豬精液冷凍保存之影響 章嘉潔 吳昇陽.....	72
3. 接種乳酸桿菌對水稻穀粒青貯品質之影響 陳柏佑 侯金日 盧啟信 林正斌.....	81
4. 伊莎蛋雞飼糧中添加狼尾草粉與苜蓿顆粒粉對其產蛋性狀、蛋黃呈色及血液生化值之影響 楊深玄 莊璧華 塗建銘 成游貴 蘇安國.....	91
5. 飼糧中補充鋅、銅與錳對荷蘭泌乳牛乳成分與血液性狀之影響 張俊達 蕭宗法 吳鈴彩 陳怡璇 李春芳 林義福.....	100
6. 飼料添加芽孢桿菌對離乳仔豬生長表現的影響 吳鈴彩 林幼君 張俊達 王錦盟 劉芳爵.....	108
7. 不同鴨床材質對土番鴨生長性能與屠體性狀之影響 林榮新 蘇晉暉 林育安 曾再富 鄭智翔 劉秀洲.....	114
8. 純種聖達、布拉曼母牛及其與德國黃牛雜交母牛泌乳性能及仔牛離乳體重之調查 許佳憲 蘇安國 柏安 楊深玄 李光復.....	122

第三期

1. 狼尾草台畜草七號之育成	
李姿蓉 林正斌 張世融 盧啟信 成游貴 顏素芬.....	129
2. 不同胎次荷蘭母牛初乳品質與母仔牛週齡體重及血液參數值變化之研究	
王思涵 張俊達 蕭振文.....	137
3. 不同調製方式國產苜蓿之山羊適口性比較	
王紓愍 劉信宏 游翠凰 陳嘉昇.....	146
4. 芻料高粱墾丁一號之育成	
張敏郎 廖麗貞.....	153
5. 甘藷等外品青貯料作為荷蘭泌乳牛飼糧之可行性評估	
李春芳 范耕榛 施柏齡 王紓愍 蕭宗法 張俊達.....	165
6. 飼糧粗蛋白與代謝能含量對 4 至 8 週齡白羅曼肉鵝生長表現的影響	
王錦盟 張雁智 胡見龍 賈玉祥.....	176
7. 產蛋期代謝能餵飼量對籠飼褐殼蛋雞產蛋性能及雞蛋品質之影響	
林正鏞 郭曉芸 張以恆.....	182
8. 駝鳥成長期行為觀察	
莊璧華 洪兮雯 陳蕙婷 蘇安國.....	191

第四期

1. 不同小型豬血液生化值與品種間之差異	
吳昇陽 章嘉潔.....	198
2. 商用土番鴨、北京鴨和紅面番鴨胸肉理化分析	
李孟儒 陳文賢 涂榮珍.....	206
3. 烏骨雞誘導多能性幹細胞株體外分化能力之探討	
劉振發 陳裕信 蕭振文 薛佑玲 陳立人.....	215
4. 尼羅草台畜草 3 號之育成	
陳勃聿 許進德 蕭素碧.....	227
5. 稀釋液中甘油與二甲基亞砷比例對玻璃化冷凍解凍後山羊精子品質之影響	
康定傑 陳裕信 曲鳳翔 林秀蓮 曾楷扉.....	234
6. 不同比例稻殼及草炭墊料對白肉雞生長性狀、接觸性皮膚炎及欄舍氨氣濃度之影響	
劉雅醇 康獻仁 王紓愍 梁筱梅.....	241
7. 純種豬檢定之選拔指數、體型評鑑及腳蹄評分的名次分級之間相關性探討	
顏念慈 蔡秀容 賴永裕 陳佳萱 林正祥 陳培梅 吳明哲.....	249
8. 狼尾草台畜草 8 號對泌乳山羊飼養價值的評估	
范耕榛 施柏齡 李姿蓉 蕭宗法 李滋泰 李春芳.....	256

Contents to Volume 52

Vol. 52 No. 1

1. Postpartum progesterone levels and reproductive characteristics of Taiwan Yellow Cattle <i>Kai-Fei Tseng, Jia-Shian Shiu, Ting-Chieh Kang and Guang-Fuh Li</i>	1
2. Study on the addition of natural pigment from local agricultural products in the ration for improving the coloration of the ISA egg yolk <i>Shen-Shyuan Yan, Pi-Hua Chuang, Ho-tsung Chu and An-Kuo Su</i>	10
3. Effects of concentrate and plant extracts mixture on intake willingness in goat <i>I-Ching Chou, Ruei-Han Yeh, Shen-Shyuan Yang, Kai-Fei Tseng and Ting-Chieh Kang</i>	19
4. Effects of different disinfection treatments on microorganisms and hatchability of Brown Tsaiya ducks' eggs <i>Chih-Hsiang Cheng, Chin-Hui Su, Hung-Yi Wu, Hsiu-Chou Liu and Jung-Hsin Lin</i>	27
5. Evaluation of Sorghum Cultivar for Forage Production <i>Po-Yu Chen</i>	37
6. The effect of the nest type on the nest egg ratio of the white Roman geese <i>Chin-Meng Wang, Ching-Yi Lien, Sheng-Der Wang, Min-Jung Lin, Chih-Chang Hsiao and Tsung-Yi Lin</i>	45
7. Assessment of semen characteristics and blood testosterone levels of Muscovy drakes in Taiwan <i>Liang-Yuan Wei, Wei-Beng Chang, Jih-Yih Chen, Chin-Hui Su, Yi-Ying Chang, Xiao-Heng Xu, Mei-Fong Lin and Hsiu-Chou Liu</i>	51
8. The genetic performance of fertile eggs in Pekin duck after eleven generations of selection for the duration of fertility <i>Jih-Yi Chen, Liang-Yuan Wei, Wey-Peng Chang, Yi-Ying Chang and Hsiu-Chou Liu</i>	58

Vol. 52 No. 2

1. Effect of different dietary crude protein on gain weight and blood chemistry of Lanyu Minipigs <i>Fang-Chueh Liu and Yu-Chun Lin</i>	66
2. Effect of antioxidants supplementation on boar semen cryopreservation <i>Chia-Chieh Chang and Sheng-Yang Wu</i>	72
3. Effect of <i>Lactobacillus</i> spp. inoculation on the silage quality of rice (<i>Oryza sativa</i> L.) grain <i>Bo-You Chen, Chin-Jin Hou, Chi-Hsin Lu and Jeng-Bin Lin</i>	81
4. Effect of adding Napiergrass powder and alfalfa pellet powder in the diet on the egg production, yolk color and blood parameter of ISA hen <i>Shen-Shyuan Yan, Pi-Hua Chuang, Chien-Ming Tu, Yu-Kuei Cheng and An-Kuo Su</i>	91
5. Effect of Zn and Cu and Mn supplementation on milk composition and blood traits of Holstein cows <i>Chun-Ta Chang, Tzong-Faa Shiao, Ling-Tsai Wu, Yi-Hsuan Chen, Churng-Faung Lee and Yih-Fwu Lin</i>	100
6. The effect of applying <i>Bacillus coagulans</i> on the growth performance of weaned piglets <i>Ling-Tsai Wu, Yu-Chun Lin, Chun-Ta Chang, Chin-Meng Wang and Fang-Chueh Liu</i>	108
7. The effects of different floor materials on the growth performance and carcass traits of Mule duck <i>Jung-Hsin Lin, Chin-Hui Su, Yu-An Lin, Tsai-Fuh Tseng, Chih-Hsiang Cheng and Hsiu-Chou Liu</i>	114
8. Lactating performance and calf weaning weight of straightbred Santa Gertrudis, and Brahman cows and their crossbred cows sired by Gelbvieh <i>Jia-Shian Shiu, An-Kou Su, Po-An Tu, Shyuan-Chuen Yang and Guang-Fuh Li</i>	122

Vol. 52 No. 3

1. Breeding of Napiergrass (*Pennisetum purpureum*) cv. Taishiu No.7 (NP cv.TS 7)
Tzu-Rung Li, Jeng-Bin Lin, Shyh-Rong Chang, Chi-Hsin Lu, Yu-Kuie Cheng and Shu-Fen Yan 129
2. The study on the colostrum quality at different parities of Holstein cows and the weekly change of body weight and blood parameters of the calf
Szu-Han Wang, Chun-Ta Chang and Jenwen Shiau 137
3. Comparison of palatability by goat fed on domestic alfalfa processed by different conditions
Shu-Min Wang, Hsin-Hung Liu, Tsui-Huang Yu and Chia-Sheng Chen 146
4. Breeding of the new forage sorghum variety “SB cv. KT1”
Min-Lang Chang and Li-Jen Liao..... 153
5. Feasibility assessment of sub-quality sweet potato silage as a feed resource for Holstein lactating cows
Churng-Faung Lee, Geng-Jen Fan, Bor-Ling Shih, Shu-Min Wang, Tzong-Faa Shiao and Chun-Ta Chang 165
6. Effects of dietary crude protein and metabolizable energy levels on the growth performance of White Roman Geese between 4 and 8 weeks of age
Chin-Meng Wang, Yen-Chih Chang, Chien-Lung Hu and Yu-Shine Jea..... 176
7. The effect of metabolizable energy intake on the egg production and egg quality for brown layers in cage during laying period
Cheng-Yung Lin, Hsiao-Yun Kuo and I- Heng Chang 182
8. The investigation of ostrich behaviors during the growing periods
Pi-Hua Chuang, Hsi-Wen Hung, Yi-Ting Chen and An-Kuo Su 191

Vol. 52 No. 4

1. Reference values of biochemical parameters among minipigs of difference breeds
Sheng-Yang Wu and Chia-Chieh Chang 198
2. Physicochemical analysis for breast meat of Commercial Mule duck, Pekin duck and Muscovy in Taiwan
Meng-Ru Lee, Wen-Shyan Chan and Rung-Jen Tu 206
3. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* differentiation capability of induced pluripotent stem cell lines from the black silkie chicken
Jenn-Fa Liou, Yu-Hsin Chen, Jen-Wen Shiau, Yow-Ling Shiue and Lih-Ren Chen..... 215
4. Breeding of the new variety of Nilegrass cv. Taishi No. 3
Po-Yu Chen, Chin-Te Hsu and Sue-Pea Shaug 227
5. The effects of different glycerol and dimethyl sulfoxide ratios in diluent on the goat sperm quality after tube-type vitrified-thawed
Ting-Chieh Kang, Yu-Hsin Chen, Fung-Hsiang Chu, Hsiu-Lien Lin and Kai-Fei Tseng..... 234
6. Effects of different ratio of rice hull and grass biochar as litter materials on the growth performance, contact dermatitis and ammonia concentrations of chicken house for broiler
Ya-Chun Liu, Shann-Ren Kang, Shu-Min Wang and Hsiao-Mei Liang 241
7. Study on the correlation of ranks among selection index, body type evaluation and foot hoof evaluation under swine purebred growth performance test
Neim-Tsu Yen, Hsiu-Rong Tsai, Yung-Yu Lai, Chia-Hsuan Chen, Cheng-Hsiang Lin, Pei-Mei Chen and Ming-Che Wu..... 249
8. Evaluation of the feeding value of Napiergrass cv. TS8 for lactating dairy goats
Geng-Jen Fan, Bor-Ling Shih, Tzu-Rung Li, Tzong-Faa Shiao, Tzu-Tai Lee and Churng-Faung Lee..... 256

行政院農業委員會畜產試驗所「畜產研究」稿約

(民國 94 年 3 月修訂)

(民國 108 年 12 月修訂)

- I. 本刊為學術性刊物，刊載有關畜產科學原創性研究報告、調查報告及學術性專題論著。
- II. 本刊為季刊，每年 3 月、6 月、9 月及 12 月底出版。
- III. 文稿之排列順序為標題、摘要、緒言、材料與方法(學術性專題論著可略)、結果、討論(結果與討論可合為一節)、結論(可略)、誌謝(可略)及參考文獻。以中文撰寫者，須附英文摘要(Abtract)，以英文撰寫者，則附中文摘要。中英文摘要以不超過五百字為原則，須列中英文相對應之 3 至 6 個關鍵詞。
- IV. 文稿書寫格式，主要參考 Journal of Animal Science：
 - (i) 文稿請用 Word 檔 A4 紙張格式，內文以 12 號字型繕打，中文採新細明體，英文採 Times New Roman，圖表置於內文之後。行距採用單行間距，版面設定中等邊界(上下 2.54 cm，左右 1.91 cm)，並編碼連續行號。
 - (ii) 文字敘述之編號依序為 I、(i)、1、(1)、A、(a)。圖表以圖 1、表 1 等順序表示。中文稿件之圖表標題及圖說請中英並列，圖表內文字請以英文呈現。文字敘述用英文者，圖表中之文字僅用英文。
 - (iii) 本刊以黑白印刷為原則，圖表務求印刷後可清楚分辨標示，並請以電腦繪製，以利排版。
 - (iv) 單位及縮寫：
 1. 單位使用公制，習見之符號及縮寫不必另附中文。專門名詞無適當譯名者可從原文。
 2. 以下常用之縮寫可直接撰寫於本刊稿件不須另作定義：
 - (1) 長度：km、m、cm、mm、 μm 。
 - (2) 重量：kg、g、mg、 μg 。
 - (3) 體積：L、mL、 μL 。
 - (4) 時間：wk、d、h、min、s。
 - (5) 其他： $^{\circ}\text{C}$ 、pH、cal、rpm。
 - (v) 統計分析達顯著差異性請以 *、^a、^b、^c 等上標標示，並於表下方說明。
 - (vi) 參考文獻：
 1. 正文中須書出參考文獻之作者姓氏與年份：
 - (1) 西文文獻之作者僅一人者，書一人之姓如 (Johnson, 1991)；作者為二人者，書二人之姓如 (Johnson and Hobbs, 1991)；作者為三人或以上者，用第一人之姓後再書 *et al.* 如 (Johnson *et al.*, 1991)。
 - (2) 中文文獻之作者僅一人者，書一人之姓氏如 (趙, 1990)；作者為二人者，書二人之姓氏如 (趙及錢, 1990)；作者為三人或以上時，則於第一人姓氏後再加一等字如 (趙等, 1990)。
 2. 參考文獻列示以確經引用者為限，排列次序為作者、年份、題目、發表刊物名稱、卷數、頁數等依次書寫，例如：
 - (1) 期刊類
王政騰、朱慶誠。1991。土番鴨繫留、電昏、放血、燙毛等屠宰條件之探討。畜產研究 24：133-140。
胡怡浩、姜延年、陳銘正、潘金水。1991。北京鴨雜交品系與商業品系肉鴨之生長及屠體性能之比較。畜產研究 24：141-148。
Ayub, M. and M. Shoaib. 2009. Studies on fodder yield and quality of sorghum alone and in mixture with guar under different planting techniques. Pak. J. Agri. Sci. 46: 25-29.
Hsu, F. H., C. J. Nelson, and A. G. Matches. 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. Crop Sci. 25: 215-220.

(2) 書本類

- 朱純燕。2001。水禽類小病毒蛋白基因之分子選殖及抗原性分析。國立中山大學生物科學系，博士論文，高雄市。
- 李登元。1979。乳牛學。臺灣商務印書館，臺北市，第 300 - 322 頁。
- American Oil Chemists Society (AOCS). 1980. Official and Tentative Methods of the American Oil chemists Society. 3rd ed. Am. Oil Chem. Soc., Champaign, IL, USA.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.
- Tai C. 1985. Duck breeding and artificial insemination in Taiwan. Duck Production Science and World Practice, pp. 193-203. University of New England, Armidale, Australia.
- Wang, Y. C. 1985. Regrowth ability of Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schamach) in the dry, cold season in Taiwan. Proceedings of the XV International Grassland Congress, pp. 1239-1241. Kyoto, Japan.

(3) 其他類

- 行政院農業委員會。2018。農業統計年報。<https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 行政院農業委員會。2017。農委會農業資料統計查詢。<http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/maintenance/Announce.aspx>。
- SAS. 2015. SAS/STAT® 14.1. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- SPSS. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. SPSS Inc., Chicago, IL. USA.
3. 中日文獻以第一作者姓氏筆劃多少為序，西文以第一作者姓氏之拼音先後排列，並按中文、日文、西文之次序排列。
4. 西文期刊名稱請用縮寫，縮寫請參照美國國家醫學圖書館線上資料庫 (NLM Catalog) 之 IOS (Information and documentation) 縮寫。
5. 參考文獻皆不編號。
- V. 本刊編輯委員會保有修改與退稿之權利。稿件經本刊接受後，作者進行出刊校稿時，不得擅自更改內容及數據。
- VI. 本刊亦接受短報 (short communication) 與速報 (rapid report)。其寫法亦遵照本稿約之規定，稿長包括圖、表、相片等不得超過 4 個印刷面。
- VII. 稿件經本刊委員會轉請專家審查，編輯委員會根據專家審查意見通知投稿人，是否接受刊載，或須修改後始可刊載。本刊無提供稿費。
- VIII. 稿件經本刊接受後，該稿件之全部或部份，不得投稿其他刊物，以不同語文投稿其他刊物亦所不許。本刊具專屬版權，刊登權屬發行單位畜產試驗所所有，非經本所書面同意，不得轉載或轉移他處發表。如有上述情事，相關法律責任由作者自負，本刊有拒絕接受其投稿之權利。
- IX. 來稿請寄 71246 臺南市新化區牧場 112 號，「行政院農業委員會畜產試驗所技術服務組畜產研究編輯委員會」收，聯絡電話：06-5911211。投稿請以 A4 紙列印，確認收件後，另通知繳交電子檔。
- X. 自民國 93 年開始實施之計畫，其論文如涉及使用脊椎動物進行科學應用計畫者，請撰稿者檢附該計畫經所屬機構動物實驗管理小組審議認可之文件。