

飼糧鈣含量與根黴菌發酵萃取物對公番鴨 精液性狀之影響⁽¹⁾

魏良原⁽²⁾ 徐小恆⁽⁴⁾ 張惠斌⁽²⁾ 陳志毅⁽³⁾ 蘇晉暉⁽²⁾ 張怡穎⁽²⁾ 林美峰⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 劉秀洲⁽²⁾

收件日期：110 年 8 月 31 日；接受日期：111 年 3 月 17 日

摘 要

改鴨場飼養的採精用公番鴨因隻數少，不易採購飼料，多以含鈣量較高的產蛋鴨料餵飼公番鴨，不利於生精作用，而根黴菌發酵萃取物對睪丸之生精作用及繁殖能力具有正面的幫助。本試驗探討飼糧中鈣含量及根黴菌發酵萃取物添加對公番鴨精液性狀的影響供產業參考。以採精訓練後之 29 週齡公番鴨 27 隻為試驗動物，隨機分成三組，各組 9 隻，分別餵飼 T1 飼料 (對照組，鈣含量 1.03%)、T2 (產蛋鴨料，鈣含量 3.03%) 與 T3 (鈣含量 1.03% + 根黴菌發酵萃取物 0.20%)，每隻每日固定餵飼 180 g。33 週齡起每週採精兩次並檢測精液量、精子濃度及總精子數至 56 週齡。每 4 週秤重一次，並檢測參試鴨隻精子存活率及形態正常率。試驗結果顯示，參試鴨隻自 30 至 54 週齡平均體重減少約 3.3 – 6.0%。T1、T2 及 T3 等 3 個組別的精液量分別為 1.32 ± 0.10 、 1.34 ± 0.11 及 1.50 ± 0.13 mL，以添加根黴菌發酵萃取物的 T3 組之精液量顯著高於其他二組 ($P < 0.05$)；精子濃度分別為 2.66 ± 0.23 、 2.36 ± 0.16 及 $2.53 \pm 0.27 \times 10^9$ spz/mL，總精子數分別為 3.55 ± 0.41 、 3.15 ± 0.33 及 $3.73 \pm 0.48 \times 10^9$ spz，T1、T3 等二組之精子濃度與總精子數皆顯著高於 T2 ($P < 0.05$)，各組間之活精子率及形態正常率皆無差異。綜上所述，以含鈣量較高之產蛋鴨料餵飼公番鴨會有較低的精子濃度及總精子數。在飼糧中添加根黴菌發酵萃取物，可增加性成熟公番鴨的精液量，但對精子存活率及精子形態正常率沒有影響。

關鍵詞：番鴨、鈣、根黴菌發酵萃取物、精液性狀。

緒 言

國內每年生產約 3,500 萬隻肉鴨，其中利用公番鴨 (Muscovy ducks) 與母改鴨 (Kaiya ducks) 以屬間雜交方式透過人工授精生產的土番鴨 (mule ducks) 約占肉鴨生產數的 76.8% 為最大宗 (行政院農業委員會，2020)。土番鴨為屬間雜交生產，其受精率不高，常成為商業化大量生產時之瓶頸 (Marie-Etancelin *et al.*, 2008)。為了維持高受精率，田間實際生產土番鴨時，平均每 3 – 4 天即需人工授精一次，因此公番鴨精液的質與量對該產業極為重要。已知營養因素會影響公番鴨精液品質 (李等，1996)，魏等 (2016) 進行國內改鴨場現況調查，平均每 1,000 隻母改鴨另需飼養 40 – 50 隻公番鴨，供精液採集後人工授精使用，以生產肉用土番鴨。受限於飼養規模，改鴨場之公番鴨飼養隻數少，不易另購買飼料，約有 87.5% 的改鴨場以母改鴨的產蛋期飼料餵飼場內採精用公番鴨。除此之外，種公禽的營養亦經常被忽視，主因為繁殖期間多採公母混合飼養以自然配種方式繁殖後裔作為商用世代，因此種公禽無法獨立飼餵，然而母種禽產蛋期的飼糧營養中，粗蛋白質和鈣是產蛋的兩種重要營養成分，此二營養素之需求高於種公禽所需，除了增加飼料成本外，這些營養過度餵養，甚至可能因相互作用或單獨對種公禽的精液品質及生育能力產生負面影響 (Tyler and Bekker, 2012)。美國國家研究委員會 (National Research Council, NRC) 並無推薦種公禽的營養需要量，且公番鴨之相關研究極少，許多公番鴨精液性狀的研究以鈣含量較高的產蛋期飼料餵予 (Etuk *et al.*, 2006)。鈣為維持動物生理重要的陽離子，缺乏易導致骨質疏鬆症、關節炎及高血壓等疾病，但過剩亦有不利影響，例如容易導致腎結石、高鈣血症及腎功能不全等 (Curhan *et al.*, 1993)。鈣離子可促進附睪成熟 (Jones, 1975)，刺激精子運動活性之功能 (Ashizawa and Wishart, 1987)，維持精子代謝和細胞膜的功能，且為授精過程中精子趨化性、超活

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2697 號。
(2) 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。
(3) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。
(4) 國立臺灣大學動物科學技術學系。
(5) 通訊作者，E-mail: mfin@ntu.edu.tw。

化、獲能和頂體反應所必需 (Kanyinji and Maeda, 2010; Rahman *et al.*, 2014)，惟 NRC (1994) 並無推薦需要量。Khalil *et al.* (2012) 建議，為了維持較佳的公禽精液品質，飼糧中鈣含量不應與種母禽相同，主因是攝食過量的鈣，會對公禽性腺造成負面影響，也會影響到精液量和精子的活力。根黴菌發酵萃取物 (*Rhizopus fermentation extract*, RE) 添加於蛋雞飼料時，可提高產蛋率及改善飼料利用效率，顯著降低蛋黃中膽固醇及提升蛋雞血清之 Follicle-stimulating hormone (FSH) 及 Luteinizing hormone (LH) 濃度，並可延長產蛋高峰期並顯著增加蛋重 (胡，2004；王等，2015)，對鵝鵝之生精作用及繁殖能力亦具有正面的幫助 (藍及林，2017)。有關以高鈣飼料餵飼種公禽對精液品質及繁殖效率影響的報告結果並不一致，公番鴨的相關試驗更少。本試驗旨在探討降低產蛋鴨料的鈣含量與根黴菌發酵萃取物添加，對公番鴨精液性狀之影響，以供產業參考應用。

材料與方法

I. 試驗動物

參試動物使用之白色番鴨畜試一號 (White Muscovy LRI 1)，經實驗動物照護及使用小組審查後同意使用 (畜試宜動字第 106011 號)。公鴨自 27 週齡起，連續 2 週，每週 2 次，以母番鴨供公鴨駕乘，進行人工採精訓練後隨機挑選可採得精液且精液性狀正常的公番鴨 27 隻為試驗鴨群。

(i) 飼養管理

參試公番鴨 0 至 3 週齡為育雛期，提供 24 h 之保溫設施，餵飼育雛期飼料 (粉狀，CP 18.9%、ME 2,940 kcal/kg)；4 至 28 週齡為育成生長期，餵飼育成生長期飼料 (粒狀，CP 13.6%、ME 2,680 kcal/kg)。0 – 10 週齡飼養於不鏽鋼高床，11 週齡上個別籠，試驗期間飼養於負壓式鴨舍。28 週齡之前，試驗鴨隻採自然光照，29 週齡後，每週增加人工光照 30 min 至光照時間達 17 h/d (魏，2010)，人工光照強度為 206 ± 34 Lux (159 – 264 Lux) (Digital Lux Meter, TES-1330A, Taiwan)。30 週齡起，每日餵飼的飼料量參採國內改鴨產業普遍給予之 180 g 餵飼以控制性成熟後公番鴨的體重至試驗結束。

(ii) 試驗處理

27 隻參試鴨隻於 29 週齡起，逢機分成三組，各組 9 隻，分別餵飼 T1：對照組 (飼糧鈣含量 1.03%)、T2 (高鈣組，產蛋鴨料，飼糧鈣含量 3.03%) 或 T3 (飼糧鈣含量 1.03% + 0.2% 根黴菌發酵萃取物) 等三種飼糧，每隻每日固定餵飼 180 g，其中根黴菌發酵萃取物為市售商品 (合臺，臺灣)，各組飼糧配方如表 1。29 週齡至 32 週齡為各處理組自育成生長期飼料轉換為試驗飼糧之適應期，33 週齡至 56 週齡，每週由具人工採集番鴨精液經驗的固定人員執行試驗公番鴨精液採集 2 次，並依鴨隻週齡，將所有試驗期間的試驗資料，分為 33 – 34、35 – 36、37 – 38、39 – 40、41 – 42、43 – 44、45 – 46、47 – 48、49 – 50、51 – 52、53 – 54 及 55 – 56 週齡等 12 組。

II. 測定項目

- (i) 體重：各處理組每隔 4 週，分別於 30、34、38、42、46、50 及 54 週齡秤重。
- (ii) 精液量 (semen volume, mL)：採集到精液後，以 1 mL 微量吸管測量其精液量。
- (iii) 精子濃度 (sperm concentration, spz/mL)：取 50 μ L 精液放入裝有 10 mL 的 0.9% 生理食鹽水的離心管中。使用渦旋混勻器 (Vortex-Genie 2, Taiwan) 以每分鐘 1,000 轉之轉速混勻 20 s 後，自離心管取 2 mL 稀釋後的精液，以分光光度計 (SP-830 +, Metertech Inc., Taiwan) 於 535 nm 波長下測其吸光值，將測得之數值以血球計數板計算之精子濃度與其相對吸光值所製作之迴歸直線公式計算精子濃度。
- (iv) 總精子數 (total spermatozoa number, spz)：精液量與精子濃度的乘積即為總精子數。
- (v) 活精子率 (live sperms, %)：以 1.6 g 伊紅 (eosin Y disodium salt, E6003) 及 6 g 苯胺黑 (nigrosin water soluble, N4754) 溶於 100 mL 的 0.9% 之生理鹽水中，配製成伊紅－苯胺黑染色液。取 10 μ L 精液樣品加 1 mL 染色液中，均勻混合後於室溫靜置 2 分鐘，取 5 μ L 被染色的精液滴在載玻片上，接著進行抹片，抹片乾燥後於位相差顯微鏡 (Axio Lab A1, Zeiss, USA) 下觀察，每個樣本隨機觀察 5 個視野檢測 300 隻精子之活精子率。
- (vi) 精子形態正常率：每個樣本隨機觀察五個視野檢測 300 隻精子之形態正常數目，依此方法計算出精子形態之正常率。

III. 統計分析

試驗所得之數據以統計分析系統套裝軟體 (SAS, 2011) 之 GENMOD 程序進行分析，再以卡方檢定 (Chi-Square Test) 檢視各不同試驗週齡間之最小平方平均值 (least squares means) 的差異顯著性，並以 $P < 0.05$ 為顯著水準。

表 1. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液性狀影響之試驗飼糧配方與營養成分計算值

Table 1. The ingredients and calculated nutrient levels of experimental diets with various calcium levels and RE supplementation for Muscovy drakes semen traits

Item	T1	T2	T3
Ingredients (%)			
Corn	54.44	49.94	53.84
Soybean meal	26.50	27.00	26.50
Wheat bran	7.50	6.50	7.50
Yeast	2.00	2.00	2.00
Fish meal	2.00	3.30	2.00
Rice bran	4.00	0	4.00
Dicalcium phosphate	1.50	1.50	1.50
Limestone	1.40	6.60	1.40
Iodized salt	0.40	0.40	0.40
Soybean oil	0	2.50	0
DL-Methionine	0.05	0.05	0.05
Choline chlorides (50%)	0.08	0.08	0.08
<i>Rhizopus</i> fermentation extracts (33%)	0	0	0.60
Vitamin premix ¹	0.03	0.03	0.03
Mineral premix ²	0.10	0.10	0.10
Calculated composition			
Metabolizable Energy (kcal/kg)	2,714	2,692	2,714
Crude protein (%)	20.08	20.19	20.21
Ca (%)	1.03	3.03	1.03
Analyzed composition			
Crude Protein (%)	18.13	18.14	18.30
Ca (%)	1.05	3.06	1.03

¹ Supplied per kg diet: Vit A 15000 IU; Vit D₃ 3,000 IU; Vit E 22.5 IU; Vit K 6 mg; Vit B₁ 3 mg; Vit B₂ 9 mg; Vit B₆ 6 mg; Vit B₁₂ 0.03 mg; Biotin 0.03 mg; Folic acid 1.5 mg; L-Lysine 25 mg; Nicotinic acid 60 mg and Pantothenic acid 18 mg.

² Supplied per kg diet: Cu: 15 mg; Fe 90 mg; Zn 90 mg; Mn 100 mg; I 1 mg; Co 0.15 mg and Se 0.25 mg.

結果與討論

試驗期間各組公番鴨體重變化如表 2 所示。試驗公番鴨在 30 週齡時之體重介於 5.5 – 5.7 kg，與李 (1996) 所述公番鴨成熟體重可達 5.6 kg 一致。各組試驗鴨隻於 30 週齡起，每日餵飼的飼料量參採國內改鴨產業普遍給予之 180 g 餵飼，控制性成熟後公番鴨的體重，以提高整體生殖性能 (Romero-Sanchez *et al.*, 2007a)。各組體重自 30 至 54 週齡平均體重減少 185.9 – 341.7 g (3.3 – 6.0%) 差異不顯著。Zhang *et al.* (1999) 將白肉種雞分別於 28、32、36、40、46 及 52 週齡各採集精液 2 次，每 4 週秤重，評估育成期體重對產精能力，該研究結果指出，種雞射精之精子數與育成期之體重呈現負相關，隨著性成熟後，負相關逐漸減少，46 週齡後即呈現正相關。Romero-Sanchez *et al.* (2007b) 將白肉種雞自 27 到 32 週齡每週採精一次，33 – 64 週齡每 2 週採精一次，每 4 週秤重，評估飼養方式及蛋白質含量對產精能力之影響，試驗在 32 至 48 週齡以飼糧控制試驗動物體重下降，在 40 週齡後，種公雞產精能力快速下降，49 週齡後，再以每日增加 5 g 餵飼量後，可見產精能力逐漸恢復。許多研究也證實，每日攝食不足導致種雞飼養後期產精能力降低 (Bramwell *et al.*, 1996, Hocking and Bernard, 2000)。本試驗各組的每日餵飼量參採國內改鴨產業普遍給予之 180 g 以控制性成熟後公番鴨的體重，此結果顯示該餵飼量仍不足以維持種公番鴨所需。

鈣為維持動物生理重要的陽離子，缺乏易導致骨質疏鬆症、關節炎及高血壓等疾病，Nguyen *et al.* (2016) 指出禽鳥各種鈣轉運通道（儲存操作的 Ca^{2+} 通道和高壓激活通道）在觸發精子活力和頂體反應方面扮演重要的角色，顯示鈣離子對於調節精子生理機能的重要性，但過剩亦有不利影響，例如容易導致腎結石、高鈣血症及腎功能不全等 (Curhan *et al.*, 1993)。Namntu (2016) 以 3.05% 高鈣飼糧餵飼 32 – 41 週齡肉種雞，Shafey and McDonald (1991) 給予 16 日齡肉雞 2.62% 高鈣飼糧後，其結果不影響體重變化。本次試驗結果顯示根黴菌發酵萃取物的添加，似有較大體重之趨勢。藍等 (2015) 以 0.2% 根黴菌發酵萃取物混和飼糧餵飼土雞，對各飼養期皆無改善其生長。

表 2. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨於 30 至 54 週齡體重變化之影響

Table 2. Effects of dietary calcium level and RE supplementation on body weight of Muscovy drakes from 30 to 54 wks of age

Weeks of Age	Body Weight (g)		
	T1	T2	T3
30	5,537 ± 566	5,716 ± 353	5,691 ± 309
34	5,476 ± 526	5,571 ± 434	5,639 ± 577
38	5,421 ± 530	5,531 ± 550	5,698 ± 309
42	5,378 ± 543	5,416 ± 455	5,702 ± 278
46	5,362 ± 578	5,551 ± 504	5,696 ± 347
50	5,212 ± 586	5,386 ± 507	5,525 ± 451
54	5,212 ± 668	5,374 ± 569	5,505 ± 540
Weight gained (g)	-325 ± 59	-342 ± 80	-186 ± 86
Percentage of weight lost (%)	5.9	6.0	3.3

Mean ± SD, n = 9.

T1: Ca 1.0%; T2: Ca 3.0%; T3: Ca 1.0% + RE 0.2%.

各組試驗公番鴨精液量、精子濃度及總精子數於試驗期間之變化趨勢如圖 1 – 3。長日照期間為番鴨主要的繁殖季節，約為每年農曆清明到白露（3 – 9 月）。公番鴨於 29 週齡可開始進行人工採集精液（魏等，2019），30 – 32 週齡可達性成熟，至 55 週齡後開始呈現性腺萎縮狀態；雖然調控人工光照長短能促進番鴨性成熟，但在其於性成熟後對光照的敏感度不如溫帶鳥類 (Jacquet and Sauveur, 1995)。魏等 (2019) 報告番鴨週齡顯著影響精液量及總精子數，精液量自 29 週齡起，隨週齡略為增加，53 週齡後顯著下降；精子濃度以 29 至 32 週齡於番鴨繁殖初期時顯著低於其餘週齡。總精子數可代表公番鴨繁殖期間精子產精的能力，以繁殖初期的 29 至 32 週齡最低，隨後逐漸增加，至 53 週齡後再下降，與本試驗有相近趨勢。

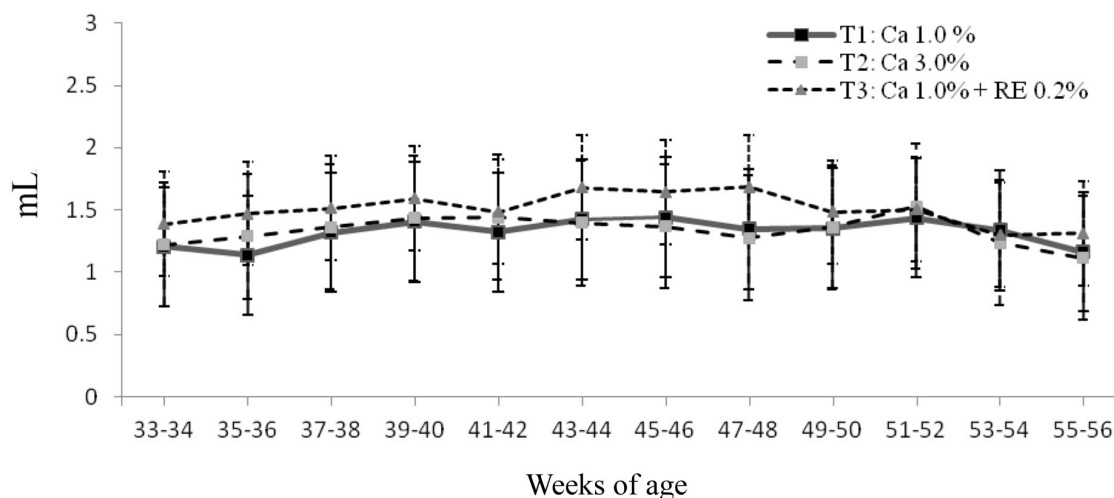


圖 1. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液量之影響。

Fig. 1. Effects of dietary calcium level and RE supplementation on semen volume of Muscovy drakes.

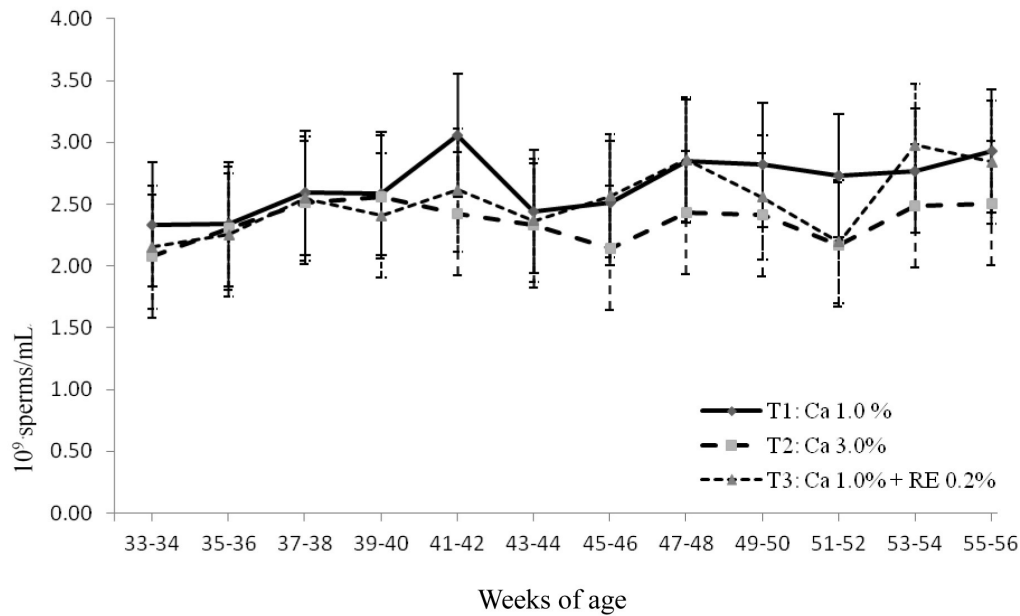


圖 2. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精子濃度之影響。

Fig. 2. Effects of dietary calcium level and RE supplementation on sperm concentration of Muscovy drakes.

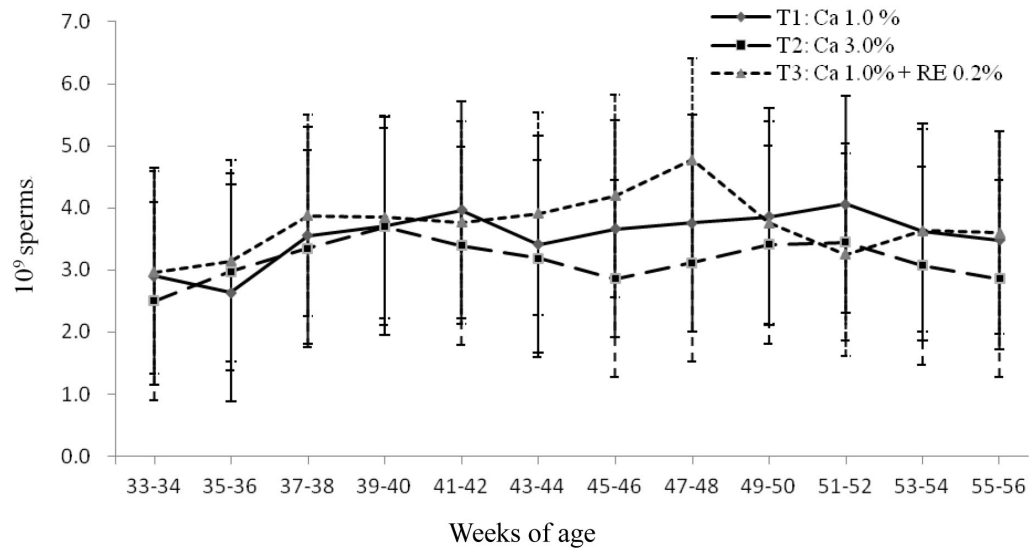


圖 3. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨總精子數之影響。

Fig. 3. Effects of dietary calcium level and RE supplementation on ejaculated sperms of Muscovy drakes.

表 3. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液性狀之影響

Table 3. Effects of dietary calcium level and RE supplementation on semen characteristics of Muscovy drakes

Semen characteristics	T1	T2	T3
Semen volume (mL)	1.32 ± 0.10 ^b	1.34 ± 0.11 ^b	1.50 ± 0.13 ^a
Sperm concentration (10 ⁹ /mL)	2.66 ± 0.23 ^a	2.36 ± 0.16 ^b	2.53 ± 0.27 ^a
Ejaculated spermatozoa (10 ⁹)	3.55 ± 0.41 ^a	3.15 ± 0.33 ^b	3.73 ± 0.48 ^a
Viability (%)	94.8 ± 1.3	94.5 ± 1.9	94.6 ± 2.9
Normal morphology (%)	92.3 ± 5.1	90.1 ± 3.7	92.5 ± 5.7

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

Mean ± SD, n = 12.

T1: Ca 1.0%; T2: Ca 3.0%; T3: Ca 1.0% + RE 0.2%.

各組公番鴨精液量、精子濃度、總精子數、活精子率及形態正常率於試驗期間之結果如表 3。三個組別的精液量以 T3 的 1.50 mL 顯著高於另二組的平均 1.33 mL ($P < 0.05$)；精子濃度分別為 2.66 ± 0.23 、 2.36 ± 0.16 及 $2.53 \pm 0.27 \times 10^9$ spz/mL，以 T1 及 T3 組之精子濃度顯著高於 T2 組 ($P < 0.05$)；總精子數分別為 3.55 ± 0.41 、 3.15 ± 0.33 及 $3.73 \pm 0.48 \times 10^9$ spz，以 T1、T3 等二組之總精子數顯著高於 T2 組 ($P < 0.05$)，各組間之活精子率及形態正常率皆無差異。

I. 飼糧中鈣含量之影響

Wilson *et al.* (1969) 於種雞飼糧中添加鈣 0.2 – 3% 飼 36 週齡白色來亨種雞，給予 3% 鈣飼糧組之雞隻精液量顯著低於 0.7% 鈣飼糧組，而在精子濃度、精子死活比、受精率及孵化率，則無顯著差異。Eltohamy and Takahara (1985) 給予 12 週齡白色來亨雞 5.6% 高鈣飼糧，飼 12 週後之體重、睪丸、雞冠重量顯著減少，睪丸組織學切片檢查亦發現精子發生受損。Kanyinji and Maeda (2010) 在肉種雞飼糧中添加 4% 鈣，其結果顯著抑制精子活力且導致具功能障礙粒線體之精子的比例提高。Kappleman *et al.* (1982) 研究指出，給予種公雞不同濃度鈣 (6.2、3.1、1.0 及 0.5%) 之飼糧，不影響其精液量、精子濃度、血清鈣水準及受精率，但精液及糞便中鈣含量隨著飼糧鈣濃度增加而增加。Fontana *et al.* (1990) 在給予 20 週齡公雞不同鈣含量飼糧飼至 65 週齡的研究發現，3.13% 鈣含量組與 0.89% 鈣含量組之生育力以及精子濃度並無顯著差異。前述研究顯示飼糧中高鈣含量對家禽精液品質，並無一致的結果，一般認為過高的飼糧鈣含量，對精液品質及繁殖效率可能有負面影響。Hansson *et al.* (2008) 以過量的氯化鈣導致瞬時鈣流入，改變了細胞的氧化還原電位，誘導睪丸組織之形成活性氧物質，降低睪丸麩胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPx)，超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和麩胺基硫轉移酶 (glutathione-S-transferase, GST) 抗氧化物活性，造成睪丸內產生過多之自由基 (Canpolat *et al.*, 2006)，此會導致 DNA 碎裂，蛋白質降解，導致生殖細胞凋亡，亦會抑制精子之形成與睪丸之發育 (Rao and Shaha, 2000)。攝食過量的鈣會對大鼠雄性生殖系統造成破壞，在給予 1.5% 鈣飼 26 日，發現睪丸重量減少，血清皮質素 (corticosterone) 濃度顯著升高，睪丸中 SOD、過氧化氫酶 (catalase, CAT) 抗氧化物活性顯著減少，睪丸脂質過氧化情況顯著增加。睪丸中 3β - 羥基類固醇脫氫酶 (3β -hydroxysteroid dehydrogenase, 3β -HSD) 和 17β - 羥基類固醇脫氫酶 (17β -hydroxysteroid dehydrogenase, 17β -HSD) 的活性顯著降低，血清睪固酮濃度顯著減少。附睪之精子數目顯著減少。生精細管中之生殖細胞出現退化之情形 (Chandra *et al.*, 2012)。前人研究指出，高鈣飼糧會影響大鼠雄性生殖系統及睪丸正常發育，但高鈣飼糧對精液品質影響之研究甚少。家禽精漿富含麩胺酸，在輸精管中麩胺酸可以使精子中粒線體通過 N- 甲基-D- 天門冬胺酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 通道攝取鈣離子，精子粒線體攝取過量鈣離子會引起粒線體通透性轉換孔 (permeability transition pore, PTP) 的形成，導致粒線體功能障礙的發生 (Froman *et al.*, 2006)。Rosa *et al.* (2010) 認為種公雞提供鈣含量 0.90% 的飼糧，足以維持精液量、總精子數和受精率等繁殖效率。Tyler *et al.* (2021) 以不同蛋白質及鈣含量的 4 種飼糧，包括 HP:LC (14.5% CP, 1.02% Ca)、HP:HC (14.7% CP, 3.04% Ca)、LP:LC (11.9% CP, 0.74% Ca) 及 LP:HC (12.4% CP, 3.05% Ca) 飼 31 – 60 週齡之肉種雞檢測各組之精液品質，結果顯示飼糧粗蛋白含量對任何週齡的精子濃度都沒有顯著影響，但在 42 週齡和 57 週齡飼食高鈣的公種禽中，精子濃度顯著降低，精子濃度最差的結果為 60 週齡時飼高粗蛋白和高鈣的組合，此與本試驗所得結果，鈣含量較高的飼糧處理，其精子濃度顯著較低有相近的結果。

II. 飼糧中添加根黴菌發酵萃取物之影響

本試驗用根黴菌發酵萃取物為商品化產品，主要用根黴菌孢子接種於大豆進行固態發酵，再以熱水萃取所得到的產品，其中包含部分根黴菌菌體、菌體代謝物及發酵過程中產生的各種複雜衍生物等 (廖, 2016)。藍及林 (2017) 報告指出，公鵝於 22 日齡添加 0.2% 萃取物能提升早期睪丸發育、分泌能力及睪丸組織精子數等，對鵝睪丸之生精作用及繁殖能力具有正面的幫助。牛越 (1970) 給予 1 日齡公鵝根黴菌發酵萃取物飼養至 30 日齡，處理組的睪丸重量也明顯較對照組增加，睪丸組織形態評分也高於對照組。而給予 1 日齡公來航雞 (Leghorn) 8% 的根黴菌發酵產物之飼糧，飼養至 78 日齡，添加根黴菌發酵萃取物組之平均睪丸重量是對照組的 4 倍。藍等 (2015) 研究發現根黴菌發酵萃取物能促進動物睪丸發育，亦能增加睪固酮濃度及第二性徵表現。藍及林 (2017) 以添加不同劑量 (0、0.02 及 0.20%) 根黴菌發酵萃取之飼糧飼 5 日齡日本鵝至 40 日齡，發現 30 日齡之 0.2% 添加組有顯著較大之鵝泄殖腔面積及睪丸重量的趨勢，35 日齡時有最高的形態評分及生精細管直徑，且睪丸精子數顯著增加，60 日齡之睪丸形態評分及睪丸精子數亦皆顯著高於對照組。就繁殖性狀而言，前述試驗結果顯示添加根黴菌發酵萃取物之最適劑量為 0.2%，添加根黴菌萃取物不僅能於動物發育期促進性腺成熟，且對性成熟之動物亦有促進生精作用之功效。本試驗中較低鈣含量 (1%) 的 T1 與 T3 處理組比較，添加 0.2% 根黴菌發酵萃取物的 T3 組之精液量顯著 ($P < 0.05$) 高於未添加的 T1，總精子數亦以 T3 組較高，惟其差異不顯著。

結 論

採精用公番鴨每日餵飼 180 g，自 30 至 54 週齡平均體重減少約 3.3 – 6.0%，顯示該餵飼量不足以維持種公番鴨所需，宜依種公番鴨體型酌增飼料餵飼量避免體重下降。以種母鴨產蛋飼糧 (含 Ca 3.0%) 餵飼公番鴨，會有較低的精子濃度及總精子數。在含 Ca 1.0% 飼糧中添加根黴菌發酵萃取物，可增加性成熟後公番鴨的精液量，不影響其精子存活率及精子形態正常率。綜上所述建議改鴨場之採精用公番鴨應降低飼糧鈣含量到約 1%，額外添加根黴菌發酵萃取物 0.2%，則可提升精液量，增加現場實務操作中可注精的母鴨數。

參考文獻

- 王淑音、陳孟賢、廖郁銘。2015。根黴菌發酵萃取物對蛋雞之生長與產蛋性能的影響。第十二屆兩岸三地優質雞改良生產暨發展研討會論文集，第 108-111 頁。世界家禽學會臺灣分會。臺北市。
- 行政院農業委員會。2020。農業統計年報。https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx。
- 李育才、潘金木、陳添福、林誠一。1996。飼糧蛋白質供糧量對種用番鴨性成熟及產精性能之影響。畜產研究 29：289-296。
- 胡肇嘉。2004。Rhizopus 發酵產物對蛋雞產蛋性能蛋黃中膽固醇含量及血液性狀之影響。國立屏東科技大學動物科學與畜產系，碩士論文，屏東縣。
- 廖郁銘。2016。建立根黴菌發酵萃取物新式品質分析之研究。國立臺北科技大學，碩士論文，臺北市。
- 藍鈺登、陳雪玲、林美峰。2015。根黴菌萃取物於土雞飼糧添加之應用。第十二屆兩岸三地優質雞改良生產暨發展研討會論文集，第 95-98 頁。世界家禽學會臺灣分會。臺北市。
- 藍鈺登、林美峰。2017。根黴菌發酵萃取物對公日本鵝鵝性徵表現之影響。中國畜牧學會會誌 46：343-360。
- 魏良原。2010。傳統潔淨級番鴨的照養管理。實驗用畜禽生產標準化生產供應作業指南。行政院農業委員會，臺北市，第 113-124 頁。
- 魏良原、蘇晉暉、張怡穎、劉秀洲。2016。畜產種原活用技術網及產業應用之研究。行政院農業委員會畜產試驗所 105 年度科技計畫研究報告 (未發表資料)。
- 魏良原、張惠斌、陳志毅、蘇晉暉、張怡穎、徐小恆、林美峰、劉秀洲。2019。臺灣公番鴨精液性狀與其血清睪酮濃度之調查。畜產研究 52：51-57。
- 牛越郁夫。1970。間腦系を經由して下垂体を刺激する物質を多量に含有する物質の製造法。日本特許公報昭 45-12754。
- Ashizawa, K., and G. Wishart. 1987. Resolution of the sperm motility-stimulating principle of fowl seminal plasma into Ca^{2+} and an unidentified low molecular weight factor. J. Reprod. Fertil. 81: 495-499.
- Bramwell, R. K., C. D. McDaniel, W. H. Burke, J. L. Wilson, and B. Howarth. 1996. Influence of male broiler breeder dietary energy intake on reproduction and progeny growth. Poult. Sci. 75: 765-775.
- Canpolat, I., S. Gur, C. Gunay, S. Bulut, and H. Eroksuz. 2006. An evaluation of the outcome of bull castration by intratesticular injection of ethanol and calcium chloride. Rev. Med. Vet. 157: 420.
- Chandra, A. K., P. Sengupta, H. Goswami, and M. Sarkar. 2012. Excessive dietary calcium in the disruption of structural and functional status of adult male reproductive system in rat with possible mechanism. Mol. Cell. Biochem. 364: 181-191.
- Curhan, G. C., W. C. Willett, E. B. Rimm, and M. J. Stampfer. 1993. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. New Engl. J. Med. 328: 833-838.
- Eltohamy, M. M. and H. Takahara. 1985. Effects of dietary calcium levels on testicular function in the White Leghorn cocks. J. Fac. Agr. Kyushu. Univ. 30: 125-134.
- Etuk, I. F., G. S. Ojewola, and E. N. Nwachukwu. 2006. Effect of management systems on semen quality of Muscovy drakes. Int. J. Poult. Sci. 5: 482-484.
- Fontana, E., W. Weaver, and H. V. Krey. 1990. Effects of various feeding regimens on reproduction in broiler-breeder males. Poult. Sci. 69: 209-216.
- Froman, D., J. Wardell, and A. Feltmann. 2006. Sperm mobility: deduction of a model explaining phenotypic variation in roosters (*Gallus domesticus*). Biol. Reprod. 74: 487-491.
- Hansson, M. J., R. Månsson, S. Morota, H. Uchino, T. Kallur, T. Sumi, N. Ishii, M. Shimazu, M. F. Keep, and A. Jegorov.

2008. Calcium-induced generation of reactive oxygen species in brain mitochondria is mediated by permeability transition. *Free Radical Biol. Med.* 45: 284-294.
- Hocking, P. M. and R. Bernard. 2000. Effects of the age of male and female broiler breeders on sexual behavior, fertility, and hatchability of eggs. *Br. Poult. Sci.* 41: 370-376.
- Jacquet, J. M. and B. Sauveur. 1995. Photoperiodic control of sexual maturation in muscovy drakes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12: 189-195.
- Jones, R. 1975. Interrelationships between spermatozoa, the epididymis and epididymal plasma. The biology of the male gamete. *Biol. J. Linn. Soc.* 7: 367-384.
- Kanyinji, F. and T. Maeda. 2010. Additional dietary calcium fed to Barred Plymouth Rock roosters reduces blood cholesterol, elevates seminal calcium, and enhances sperm motility, thermo-tolerance and cryosurvivability. *Anim. Reprod. Sci.* 120: 158-165.
- Kapplerman, J. A., G. R. McDaniel, and D. A. Roland. 1982. The effect of four dietary calcium levels on male broiler breeder reproduction. *Poult. Sci.* 61: 1383.
- Khalil, H. M., A. A. El-Sahn, M. M. Khalifah, and E. H. A. Shahein. 2012. Role of body's calcium: it's effect on the semen quality and fertility percentage in some local chicken strains. *Egypt Poult. Sci.* 32: 613-623.
- Marie-Etancelin, C., H. Chapuis, J. M. Brun, C. Larzul, M. M. Mlalon-Richard, and R. Rouvuer. 2008. Genetics and selection of mule ducks in France: a review. *World Poult. Sci. J.* 64: 187-208.
- Namntu, M. 2016. The effect of crude protein and calcium intake on fertility of male broiler breeders. Master Diss. Univ. of KwaZulu - Natal, Pietermaritzburg.
- National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, D. C.
- Nguyen, T. M. D., A., Duittoz, C., Praud, Y. Combarnous, and E. Blesbois, 2016. Calcium channels in chicken sperm regulate motility and the acrosome reaction. *FEBS J.* 283: 1902-1920.
- Rahman, M. S., W. S. Kwon, and M. G. Pang. 2014. Calcium influx and male fertility in the context of the sperm proteome: an update. *BioMed. Res. Int.* 2014: 13.
- Rao, A. K. and C. Shaha. 2000. Role of glutathione S-transferases in oxidative stress-induced male germ cell apoptosis. *Free Rad. Biol. Med.* 29: 1015-1027.
- Romero-Sanchez, H., P. Plumstead, and J. Brake. 2007a. Feeding Broiler Breeder Males. 1. Effect of feeding program and dietary crude protein during rearing on body weight and fertility of broiler breeder males. *Poult. Sci.* 86: 168-174.
- Romero-Sanchez, H., P. W. Plumstead, N. Leksrisonpong, and J. Brake. 2007b. Feeding Broiler Breeder Males. 2. Effect of cumulative rearing nutrition on body weight, shank length, comb height, and fertility. *Poult. Sci.* 86: 175-181.
- Rosa, A. P., M. Pilecco, W. Lucca, and R. Uttpatel. 2010. Calcium levels in the performance of broiler breeder males with and without comb. *Cienc. Rural* 40: 2174-2180.
- SAS. 2011. SAS user guide: Statistics, SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Shafey, T. and M. McDonald. 1991. The effects of dietary calcium, phosphorus, and protein on the performance and nutrient utilization of broiler chickens. *Poult. Sci.* 70: 548-553.
- Tyler, N. and H. Bekker. 2012. The effect of dietary crude protein on the fertility of male broiler breeders. *South African J. Anim. Sci.* 42: 304-309.
- Taylor, N. C. M. Namntu, and M. Ciacciariello. 2021. Research note: The effect of crude protein and calcium intake on fertility of male broiler breeders. *Poult. Sci.*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101284>.
- Wilson, H., J. Persons, L. Rowland Jr, and R. Harms. 1969. Reproduction in White Leghorn males fed various levels of dietary calcium. *Poult. Sci.* 48: 798-801.
- Zhang, X., W. D. Berry, G. R. McDaniel, D. A. Roland, P. Liu, C. Calvert, and R. Wilhite. 1999. Body weight and semen production of broiler breeder males as influenced by crude protein levels and feeding regimens during rearing. *Poult. Sci.* 78: 190-196.

Effects of dietary calcium level and *Rhizopus* fermentation extract supplementation on semen traits of Muscovy drake ⁽¹⁾

Liang-Yuan Wei ⁽²⁾ Xiao-Heng Xu ⁽⁴⁾ Wei-Beng Chang ⁽²⁾ Jih-Yih Chen ⁽³⁾ Chin-Hui Su ⁽²⁾
Yi-Ying Chang ⁽²⁾ Mei-Fong Lin ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ and Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾

Received: Aug. 31, 2021; Accepted: Mar. 17, 2022

Abstract

Due to the small population of Muscovy drake breeders, complete commercial feed for drake breeders is not available and infeasible for farm owners to formulate the optimal feeds independently. As a result, the most of drakes are fed with egg-laying duck feed in Kaiya duck farms, which may exert a negative effect on spermatogenesis. The *Rhizopus* fermentation extract (RE) benefits spermatogenesis and reproductive function in some avian species. This study aimed to investigate the effect of dietary calcium level and RE supplementation on semen traits of Muscovy drake breeders. The 27 Muscovy drakes at 29 weeks of age after semen collection training were divided randomly into three groups, with 9 animals of each treatment including 3.03% Ca (T1), 1.03% Ca (T2) and 1.03% Ca + 0.2% RE (T3). Animals were fed with 180 g of fixed ration every day. Semen was collected twice a week from 33 to 56 weeks of age while the semen volume, sperm concentration and total spermatozoa number were measured. Animals were weighed every 4 weeks, and the live sperms rate and normal morphology sperms rate were assessed. The results showed a decline of body weight by about 3.3% - 6.0% from 30 to 54 weeks of age without any differences among the 3 groups. The semen volume of the T1, T2, and T3 were 1.34 ± 0.11 , 1.32 ± 0.10 and 1.50 ± 0.13 mL respectively and the T3 group was significantly greater than that of the other two groups ($P < 0.05$). The sperm concentration was 2.36 ± 0.16 , 2.66 ± 0.23 and $2.53 \pm 0.27 \times 10^9$ spz/mL, and total sperm number was 3.15 ± 0.33 , 3.55 ± 0.41 and $3.73 \pm 0.48 \times 10^9$ spz, respectively, in which T1 and T3 group had significantly higher sperm concentration and number than those of T2 ($P < 0.05$). There was no differences in the live sperms rate and normal morphology sperms rate among the groups. The semen volume in the T3 group was significantly ($P < 0.05$) higher than that of the T2. In summary, feeding Muscovy breeders drakes with egg-laying diets lowered sperm concentration and total sperm number. Dietary supplementation of adding *Rhizopus* fermentation extract can increase the semen volume of Muscovy drakes after sexual maturity without affecting their semen concentration, total sperm count, live sperms rate and normal morphology sperms rate.

Key words: Muscovy drakes, Calcium, *Rhizopus* fermentation extracts, Semen traits.

(1) Contribution No. 2697 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Ilan Branch, COA-LRI, Ilan 26846, Taiwan, R. O. C.

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

(4) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: mflin@ntu.edu.tw.