

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 52 No. 2

June 2019

CONTENTS

	Page
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

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 第二期

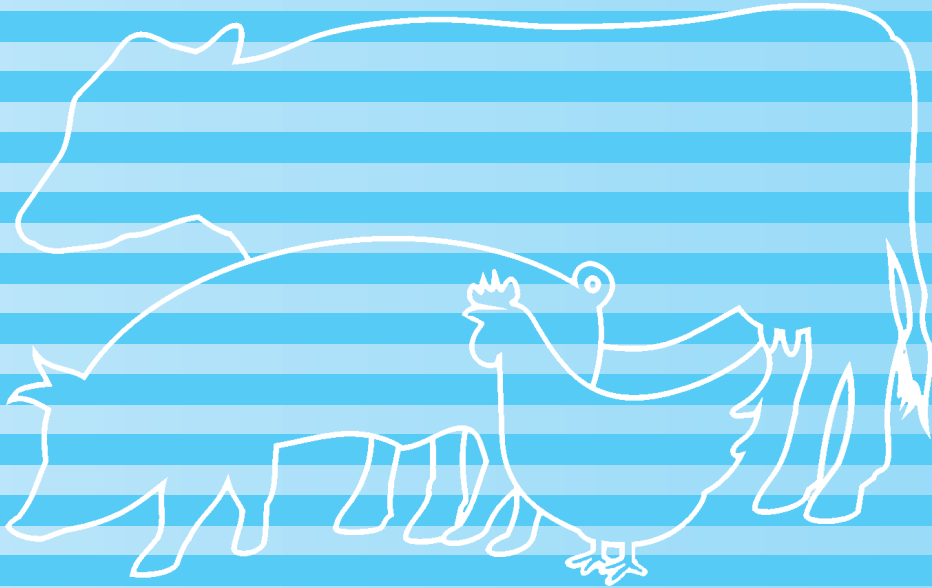
行政院農業委員會畜產試驗所

畜產研究

第五十二卷 第二期 中華民國一〇八年 六月 季刊

JOURNAL OF
TAIWAN LIVESTOCK
RESEARCH

Vol. 52 No. 2 June 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 6 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 2 期

中華民國 108 年 6 月

目 錄

	頁
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、涂柏安、楊深玄、李光復	122

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⁽¹⁾

劉芳爵⁽²⁾⁽⁴⁾ 林幼君⁽³⁾

收件日期：107 年 12 月 3 日；接受日期：108 年 4 月 25 日

摘 要

本試驗目的係評估以哥廷根 (Göttingen) 小型豬推薦飼料配方 (USDA 1160) 配製之飼料以增加或減少 10% 營養濃度之飼料對蘭嶼豬之生長與血液生化值之影響。試驗採用平均體重約 8 kg 蘭嶼豬 30 頭，公母各半，分為 3 組，每組 10 頭，飼糧有以哥廷根小型豬推薦飼料配製之飼料和該配方增加或減少 10% 營養濃度之飼料，共有三種。由 0 (開始日) - 2、3 - 6、7 - 10、11 - 12 與 13 - 16 週階段，分別提供每頭每日試驗豬 240、300、340、380 與 420 g 飼糧，試驗至平均體重達 25 kg 時結束，測定增重及血液性狀。結果顯示，當蘭嶼豬體重介於 8 - 16 kg 階段，以固定的每日飼糧餵飼量 240 - 340 g，餵飼以 USDA 1160 和增減 10% 營養濃度配製的飼糧，對蘭嶼豬的體增重，均無影響。但是當蘭嶼豬體重介於 16 - 25 kg 或 8 - 25 kg 期間，亦以每日飼糧餵飼量固定的方式，蘭嶼豬的體增重，以餵飼增加 10% USDA 1160 或 USDA 1160 飼糧組，顯著大於餵飼減少 10% 營養濃度飼糧組，而餵飼 USDA 1160 與增加 10% 營養濃度飼糧組，兩者間沒有顯著差異。在血液生化值方面，3 組飼糧間沒有顯著差異，但是均有降低血液總膽固醇與三酸甘油酯含量的現象。綜合試驗結果顯示，當蘭嶼豬體重介於 8 - 16 kg 階段，以固定每日飼糧餵飼量的方式，以 USDA 1160 或增減 10% 營養濃度配製的飼糧，均可適用於蘭嶼豬，但是考量飼料成本時，可以降低 10% USDA 1160 營養濃度配製之飼料餵飼；當體重介於 16 - 25 kg 或 8 - 25 kg 階段，以固定每日飼糧餵飼量的方式，餵飼 USDA 1160 或增加 10% 營養濃度配製之飼料，蘭嶼豬會有較大的體增重，但是考量飼料成本時，以 USDA 1160 營養濃度配製之飼料餵飼蘭嶼豬即有正常的生長。

關鍵詞：蘭嶼豬、體增重、血液生化值、實驗動物。

緒 言

蘭嶼豬早先由臺灣本島移入臺東縣蘭嶼鄉，並且繁衍成適應當地環境的小型黑色豬種 (陳，1997)。蘭嶼豬外表特徵為耳小直立，稱為小耳種豬，又因體型小，也被稱為迷你豬 (朱等，2009)。畜產試驗所 (簡稱本所) 為因應政府「發展豬隻供作醫學研究之用」的政策，於 1980 年自蘭嶼引種 4 公 16 母進行種原保存，作為蘭嶼豬的基礎種畜群 (臺東種畜繁殖場，1996；李，1998)。接續並完成新品種與新品系的選育與種畜登錄工作 (行政院農業委員會公告，2007)，規劃作為醫學實驗用豬隻品種，供應國內各大專院校進行生物醫學的研究 (邱等，2010)。蘭嶼豬目前尚未有專用飼糧，仍以國內一般肉用豬隻的飼料餵飼，常會造成豬隻過肥且腹脂肥厚，影響生物醫學實驗的操作。有關蘭嶼豬的營養需要量的研究並不多，李等 (2003) 研究發現，體重 30 - 50 kg 蘭嶼豬每日固定餵飼 1 kg 飼糧及任食狼尾草，可獲得和任食飼料組之小型豬相同的生長及飼料利用效率。Chen *et al.* (2017) 進行之蘭嶼豬最適營養生理探討與專用飼糧開發研究，結果發現，以粗蛋白 16% 飼糧餵飼蘭嶼豬，豬隻之增重及飼料轉換率皆優於餵飼粗蛋白質 13% 之飼糧者，而比較飼料代謝能 2,800 kcal/kg 及 3,100 kcal/kg，對蘭嶼豬的飼料攝食量、生長性能及背脂厚度則無影響，涼季時，蘭嶼豬的飼料攝食量及每日增重皆較熱季為大，然而背脂厚度在涼熱季間並無差異。歐美先進國家，已針對生醫用小型豬設計特定飼糧配方 (USDA 1160) 與建議每日餵飼量 (Loretsen, 2011)。因為蘭嶼豬的生長與生理性狀與國內一般肉用豬種不同，無論在體型、成熟體重與日齡、生長速率以及肉質特性，均不大

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2607 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(4) 通信作者，E-mail：fcliu@mail.tlri.gov.tw。

相同（劉及徐，2000；朱，2005；陳等，2011）。因此，本試驗目的在於比較以哥廷根小型豬飼料配方或增減 10% 粗蛋白質含量配製成的飼料與參考國外推薦的每日餵飼量，探討蘭嶼豬的生長性能及血液生化值的變化，藉以調整蘭嶼豬每日的營養供應量，以生產供國內生醫用之優質蘭嶼豬。

材料與方法

本試驗所使用之動物均通過行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護與使用小組之審核。

I. 試驗動物與飼料配方

試驗採用體重約 8 kg 之蘭嶼豬 30 頭，公母各半，分為 3 組，每欄飼養 1 公 1 母。飼糧部分，依據美國農業部 (United States Department of Agriculture) 小型豬推薦飼料配方 USDA 1160 配製或增減 10% 營養濃度配製之飼料，共 3 種飼糧。前述 3 種飼糧之粗蛋白質、可消化能與離胺酸含量，分別為 12.7%、3,329 kcal/kg、0.64% vs. 14.1%、3,327 kcal/kg、0.75% vs. 15.6%、3,326 kcal/kg、0.84% (如表 1 所示)。其中粗蛋白質與離胺酸含量分析，參照 Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) 以凱氏法分析飼料粗蛋白質、胺基酸分析儀分析飼料胺基酸與彈卡計分析能量。試驗期間豬隻餵飼每日固定之飼糧餵飼量參照 Lorentsen (2011)，由 0 (開始日) — 2、3 — 6、7 — 10、11 — 12 與 13 — 16 週，每日每頭試驗豬隻分別提供 240、300、340、380 與 420 g 飼糧 (如表 2)，並供給充分的清潔飲水。試驗豬隻飼養至平均體重達 25 kg 時結束，試驗期間每 2 週秤重一次，供分析豬隻體重與增重的變化。

表 1. 試驗飼糧之組成分

Table 1. Composition of experiment diets

Diets	Items	Crude protein, %		
		12.7 (0.9 × USDA1160)	14.1 (1.0 × USDA 1160)	15.6 (1.1 × USDA 1160)
Ingredient, %				
Corn, yellow		77.9	73.9	69.8
Soybean meal, 43%		13.9	17.9	22.0
Dicalcium phosphate		2.1	2.1	2.1
Limestone, pulverized		0.35	0.35	0.35
Salt, iodized		0.5	0.5	0.5
Vitamin premix ^a		0.1	0.1	0.1
Mineral premix ^b		0.15	0.15	0.15
Alfalfa meal		5	5	5
Total		100	100	100
Calculated value				
Crude protein, %		12.7	14.1	15.6
Digestible energy, kcal/kg		3,329	3,327	3,326
Lysine, %		0.64	0.75	0.86
Calcium, %		0.82	0.83	0.84
Phosphorus, %		0.70	0.71	0.73
Analyzed value				
Crude protein, %		13.1	14.4	15.7
Lysine, %		0.67	0.77	0.87

^a Vitamin premix provided the following vitamins per kg of diet: vitamin A, 8,000 IU; vitamin D₃, 800 IU; vitamin E, 30 IU; vitamin K₃, 1.0 mg; thiamin, 2.0 mg; riboflavin, 5.0 mg; vitamin B₁₂, 25 µg; Ca-pantothenate, 12 mg; niacin, 18 mg; folic acid, 0.4 mg; biotin, 0.06 mg and choline, 120 mg.

^b Mineral premix provided the following minerals per kg of diet: Cu, 10 mg; Fe, 100 mg; Zn, 100 mg; Mn, 10 mg and Se, 0.1 mg.

表 2. 蘭嶼豬每日餵飼量[§]

Table 2. The daily amount for fed Lanyu Minipig

Weeks	Body weight (kg)	Gender		Daily feed amount (g) [*]
		Males (g)	Females (g)	
0 – 2	5 – 9	240	220	240
3 – 6	9 – 13	240 – 300	220 – 280	300
7 – 10	13 – 17	300 – 340	280 – 320	340
11 – 12	17 – 21	340 – 380	320 – 360	380
13 – 16	21 – 25	380 – 420	360 – 400	420
> 16	25 – 35	420 – 600	400 – 600	600

[§] Depended on Animal welfare of the Gottingen Minipig (Loretsen, 2011).

^{*} Daily feed amount per minipig in the present experiment.

II. 血液生化值分析

試驗於開始日與結束日，以人工固定方式採集血液樣品，進行分析血液之總蛋白質、總膽固醇、三酸甘油酯、血漿尿素氮與肌酸酐等含量，均以血清生化分析儀 (Hitach 7170, Japan) 與以 Wako 公司所生產之血液生化值分析套組 (總蛋白值編號為 993-52901、總膽固醇編號為 21.862.1175、三酸甘油酯編號為 21.862.1705 以及肌酸酐編號為 277-10501) 進行測定。

III. 統計分析

試驗各項資料以 SAS (2005) 的統計軟體進行分析，並以 GLM 程序 (general linear model procedure) 進行變方分析，處理組平均值間之差異性分析，則以鄧肯氏新多變域測定法 (Duncan's new multiple range test) 進行比較，當 $P < 0.05$ 時，表示處理組間差異顯著。

結果與討論

I. 蘭嶼豬以不同蛋白質含量飼糧餵飼對其體重的影響

餵飼不同蛋白質含量飼糧對蘭嶼豬體重的影響，如表 3 所示。在開始日至第 10 週期間，蘭嶼豬體重介於 8 – 16 kg 階段，餵飼 USDA 1160 配製之飼料或增加或減少 10% 粗蛋白濃度配製之飼料對蘭嶼豬的體重與每日增重，均無顯著差異。當豬隻餵飼營養濃度較高的飼糧且採用任食的飼養方式，豬隻會有較大的體重或增重 (劉及徐，2000)，但是本試驗調配的 3 種飼糧，在可消化能含量類似狀況下，其粗蛋白質與離胺酸含量部分，增加與減少 10% 營養濃度之間的差異，雖達 2.9% 與 0.22%，但是每日可提供之粗蛋白質與離胺酸量差異，亦僅有 9.86 與 0.75 g。在 Chen *et al.* (2017) 文獻中，蘭嶼豬餵飼粗蛋白質 16% 比 13% (差異 3%)，有較高的增重，但是本試驗的每日餵飼量固定，且餵飼量僅約一般肉仔豬採食量的一半 (臺灣地區飼養標準—豬，1990)，可能因此造成蘭嶼豬的體重與增重沒有顯著差異。另外李等 (2003) 報告中，曾以固定餵飼量方式飼養蘭嶼豬，在體重的變化亦有類似的結果。因此，當蘭嶼豬體重介於 8 – 16 kg 階段，採用固定每日飼糧餵飼量於 240 – 340 g 範圍 (Loretsen, 2011)，餵飼以 USDA 1160 或增減 10% 粗蛋白含量配製的飼糧，不會影響蘭嶼豬的體重與增重變化。不過，亦可考量以降低 10% USDA 1160 粗蛋白含量配製之飼糧，藉以降低飼養蘭嶼豬的飼料成本，並不影響其正常的生長。

在試驗第 11 – 16 (體重介於 16 – 25 kg 階段) 或 0 – 16 (體重介於 8 – 25 kg 階段) 週期間，餵飼不同蛋白質含量飼糧對蘭嶼豬的體重與增重的影響，如表 3 所示。當每日飼糧餵飼量固定在 380 – 420 g (11 – 16 週) 或 240 – 420 g (0 – 16 週) 時，蘭嶼豬的體重與增重，以餵飼 USDA 1160 和增加 10% 營養濃度的飼糧組顯著高於餵飼減少 10% 營養濃度的飼糧組，但是餵飼 USDA 1160 與增加 10% 營養濃度配製之飼糧組間，並沒有顯著差異。此結果可能因餵飼增加 10% 營養濃度飼糧組豬隻比降低 10% 營養濃度飼糧組有較高的增重所致 (Chen *et al.*, 2017)。餵飼 USDA 1160 與增加 10% 營養濃度之飼糧之間，對蘭嶼豬的體重與增重並無差異，此現象在李等 (2003) 研究中，亦有類似的結果。因此，當蘭嶼豬體重介於 16 – 25 kg 或 8 – 25 kg 階段，採用 Loretsen (2011) 推薦之小型豬每日餵飼量，餵飼降低 USDA 1160 10% 營養濃度的飼糧組，蘭嶼豬的體重會較輕，而餵

飼 USDA 1160 或增加 10% 營養濃度配製的飼糧，蘭嶼豬的體重與增重較大。不過，考量飼料成本時，無論是 16 – 25 kg 或 8 – 25 kg 階段，餵飼 USDA 1160 營養濃度所配製之飼糧，即可滿足蘭嶼豬增重的營養需要。

II. 蘭嶼豬餵飼不同蛋白質含量飼糧對其血液生化值的影響

蘭嶼豬餵飼不同蛋白質含量飼糧對血液生化值的影響，如表 4 所示。在血液總蛋白質、總膽固醇、三酸甘油酯、尿素氮以及肌酸酐含量，在試驗開始日與結束日當天，3 組飼糧間無顯著差異。但是在表 4 所列之總膽固醇與三酸甘油酯含量，對比文獻所列的蘭嶼豬血液生化值均有略低現象 (85.3 vs. 119 mg/dL; 35.8 vs. 84 mg/dL) (臺東種畜繁殖場，1996；劉等，2002；潘等，2012)，其餘總蛋白、血漿尿素氮與肌酸酐含量則相近。對於血液總膽固醇與三酸甘油酯含量降低之現象，可能因採用 Lorentsen (2011) 的推薦量與飼糧使用植物性飼料原料(苜蓿粉)所致(李等，2003)。因此，在蘭嶼豬體重介於 8 – 25 kg 階段，以每日餵飼量固定的方式，餵飼 USDA 1160 或增減 10% 營養濃度之飼糧，對蘭嶼豬的血液生化值均無顯著影響，雖然血液的總膽固醇與三酸甘油酯含量有較低的現象，而總蛋白、血漿尿素氮與肌酸酐含量則不受影響。

表 3. 餵飼不同粗蛋白質含量飼糧對蘭嶼豬體重與增重的影響

Table 3. Effect of different dietary crude protein on body weight and daily gain of Lanyu Minipig

Body weight, kg	Crude protein, %		
	12.7	14.1	15.6
Initial	8.18 ± 0.22*	8.21 ± 0.28	7.63 ± 0.13
2-week	8.69 ± 0.26	8.89 ± 0.27	8.47 ± 0.18
4-week	10.21 ± 0.31	10.70 ± 0.42	10.08 ± 0.34
6-week	12.00 ± 0.32	12.65 ± 0.37	12.43 ± 0.23
8-week	13.84 ± 0.36	14.73 ± 0.32	14.76 ± 0.27
10-week	16.00 ± 0.37 ^b	17.12 ± 0.40 ^a	17.34 ± 0.34 ^a
12-week	18.32 ± 0.43 ^b	19.68 ± 0.43 ^a	20.29 ± 0.30 ^a
14-week	20.78 ± 0.44 ^b	22.53 ± 0.45 ^a	23.23 ± 0.37 ^a
16-week	23.16 ± 0.47 ^b	25.69 ± 0.47 ^a	26.45 ± 0.42 ^a
Daily weight gain, kg			
0-10 week	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.04	0.14 ± 0.04
11-16 week	0.17 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.02 ^a	0.22 ± 0.01 ^a
0-16 week	0.13 ± 0.01 ^b	0.17 ± 0.02 ^a	0.18 ± 0.02 ^a

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

* Mean ± SD.

表 4. 餵飼不同粗蛋白質含量飼糧對蘭嶼豬血液生化值的影響

Table 4. Effect of different dietary crude protein on blood characteristics of Lanyu Minipig

Periods	Crude protein, %		
	12.7	14.1	15.6
Initial day	8.18 ± 0.22*	8.21 ± 0.28	7.63 ± 0.13
Total protein, mg/dL	6.03 ± 0.42*	5.66 ± 0.63	5.73 ± 0.44
Total cholesterol, mg/dL	92.25 ± 6.11	84.63 ± 16.65	85.75 ± 10.81
Triglyceride, mg/dL	24.75 ± 11.06	33.25 ± 16.73	21.38 ± 3.81
BUN, mg/dL	10.96 ± 2.28	9.23 ± 1.92	8.89 ± 2.34
Creatinine, mg/dL	1.33 ± 0.10	1.24 ± 0.15	1.18 ± 0.10
Ending day	18.32 ± 0.43 ^b	19.68 ± 0.43 ^a	20.29 ± 0.30 ^a
Total protein, mg/dL	6.85 ± 0.69	6.81 ± 0.75	6.89 ± 0.47
Total cholesterol, mg/dL	84.88 ± 15.48	85.63 ± 16.94	85.50 ± 12.49
Triglyceride, mg/dL	32.13 ± 10.44	36.13 ± 10.68	39.13 ± 5.06
BUN, mg/dL	10.26 ± 2.47	9.46 ± 3.22	9.08 ± 1.10
Creatinine, mg/dL	1.53 ± 0.13	1.51 ± 0.08	1.52 ± 0.10

* Mean ± SD.

結 論

當蘭嶼豬體重於 8 – 16 kg 階段，可參照 Lorentsen (2011) 建議之每日餵飼量，餵飼 USDA 1160 或增減 10% 營養濃度的飼糧，均可滿足蘭嶼豬的營養需要量，但是如考量飼料成本時，可以餵飼調降 10% USDA 1160 營養濃度的飼糧，並不會影響此階段蘭嶼豬的正常生長與血液生化值。當蘭嶼豬體重於 16 – 25 kg 或 8 – 25 kg 階段，並參照 Lorentsen (2011) 建議之每日飼糧餵飼量，餵飼 USDA 1160 或增加 10% 營養濃度的飼糧，蘭嶼豬會有較大的體增重，但若不以較大的增重考量，則以 USDA 1160 營養濃度配製之飼糧餵飼蘭嶼豬，才是較為有利的飼養方式。

參考文獻

- 行政院農業委員會公告。2007。行政院公報。農業環保篇 13：30650-30654。
- 朱賢斌。2005。畜試所小型豬之選育與應用。行政院農業委員會畜產試驗所臺東種畜繁殖場。<https://www.angrin.tlri.gov.tw/indexs/nsmall.htm>。
- 朱賢斌、吳明哲、朱有田。2009。由蘭嶼豬談種原多樣性的維護。自然保育季刊 66：3-9。
- 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。
- 李啟忠、廖宗文、黃政齊、曾穎玉、朱賢斌、陳文誠、鄭連春。2003。蘭嶼豬餵飼飼料及狼尾草對其生長及屠體性能之影響。畜產研究 36(2)：157-164。
- 邱后妍、朱有田、黃靜瑩、郭春勇、李德南。2010。比較豬皮生長因子、轉形生長因子及其嵌合體蛋白之刺激細胞增殖活性。中畜會誌 39(2)：91-100。
- 陳文誠。1997。蘭嶼豬種。http://www.angrin.tlri.gov.tw/pig /lanyu.htm。
- 陳坤照、李坤城、林亮全、詹德芳、朱賢斌、張俊達。2011。蘭嶼豬、畜試迷彩豬與 LYD 商用豬肉質特性之探討。畜產研究 44(1)：1-12。
- 潘秀娟、陳坤照、林正鏞、范揚廣、朱賢斌、張俊達。2012。蘭嶼豬與畜試迷彩豬於不同屠宰體重之生長、屠體性狀及脂質生成酵素之比較。畜產研究 45(1)：29-42。
- 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。
- 臺灣地區飼養標準—豬。臺灣地區養豬標準編輯委員會。1990。行政院農業委員會出版。
- 劉芳爵、徐阿里。2000。飼糧離胺酸與消化能含量對臺灣黑豬和三品種雜交肉豬生長性能及屠體性狀之影響。畜產研究 33(2)：165-174。
- 劉振發、吳明哲、張釵如、陳洵一。2002。蘭嶼母豬於動情週期中血漿脂蛋白、膽固醇、三酸甘油酯和蛋白質分析。畜產研究 35(1)：57-67。
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (18th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA. Method Number 968.06, 994.12 and 991.28.
- Chen, L. C., L. W. Yang, M. H. Huang, H. P. Chu and C. W. Liao. 2017. Effect of dietary crude protein and metabolizable energy on growth performance and backfat thickness of Lanyu miniature pigs during cool and hot seasons. Taiwan Livestock Res. 50(1): 45-51.
- Lorentsen, H. 2011. Animal Welfare of the Gottingen Minipig. <http://minipigs.dk/fileadmin/filer/Education>.
- SAS. 2005. User's Guide: Statistic, Version 9.1 Edition. SAS Inc., Cary, NC.

Effect of different dietary crude protein on gain weight and blood chemistry of Lanyu Minipigs ⁽¹⁾

Fang-Chueh Liu ⁽²⁾⁽⁴⁾ and Yu-Chun Lin ⁽³⁾

Received: Dec. 3, 2018; Accepted: Apr. 25, 2019

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the feeding effect on Gottingen miniature pig with USDA feed and increased or decreased 10% nutrient in concentration to feed 30 heads Lanyu Minipigs of average bodyweight at 8 kg. The Minipigs were divide into 3 groups, each with 15 male and 15 female. A total of 5 trial stages that were 0 (starting day) - 2, 3-6, 7-10, 11-12 and 13-16 weeks and fed with 5 kinds of daily feed amount of 240, 300, 340, 380 and 420 g per pig respectively until their average body weight reached 25 kg. The results showed that the fixed daily feeding amount of diets from 240 to 340 g while body weight of the Lanyu Minipigs was between 8 and 16 kg, fed with USDA 1160 feed formula or increased/decreased 10% nutrient concentration of diets did not have a significant difference on their body weight and weight gain. The body weight of Lanyu Minipigs between 16 and 25 kg or between 8 and 25 kg (the whole of the period) had a higher body weight and gain weight fed with diet that increased 10% nutrition concentration of USDA 1160 than fed with diet decreased 10% nutrition concentration of USDA 1160. Yet it did not Showed difference significantly when fed with both of USDA 1160 and increased 10% nutrition concentration of diets. In the blood traits, there were no significant difference among these three kinds of diets, but had a lower concentrations of total cholesterol and triglyceride compared to blood Chemistry of Lanyu Minipigs. Therefore, from the previous results showed that when the Lanyu Minipigs bodyweight between 8 and 16 kg fixed with the daily feeding amount, fed with those of diets prepared by USDA 1160 or by increased/ decreased 10% nutrient concentration of USDA 1160 could apply to feed Lanyu pig, but when considering the cost of feed could apply decreased 10% nutrient concentration of USDA 1160 of diet to feed them. The body weight was between 16 and 25 kg or 8 and 25 kg and fixed with daily feeding amount, fed with the nutrient concentration UDSA 1160 or increase 10% the nutrient concentration USDA 1160 of diets would have a higher bodyweight and gain weight. But considering the cost of feed applying USDA 1160 of diet to feed Lanyu pigs, should match the nutritional requirement for their growth and did not have any impact on blood chemistry of Lanyu Minipigs.

Key words: Lanyu Minipigs, Gain weight, Blood Chemistry, Experimental animal.

(1) Contribution of No. 2607 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

抗氧化劑添加於豬精液冷凍保存之影響⁽¹⁾

章嘉潔⁽²⁾⁽³⁾ 吳昇陽⁽²⁾

收件日期：108 年 2 月 21 日；接受日期：108 年 4 月 25 日

摘 要

本試驗探討三種抗氧化劑 α -生育醇 (α -tocopherol)、丁羥基甲苯 (butylated hydroxytoluene, BHT) 及麩胱甘肽 (glutathione, GSH)，添加於豬冷凍稀釋液對解凍後精液品質之影響。收集 5 頭杜洛克公豬之新鮮精液，以 Lactose-egg yolk (LEY) 之冷凍精液稀釋液稀釋，精子最終稀釋濃度為 5×10^8 cells/mL。試驗一之分組分為對照組 (LEY 組)、添加 5 mM GSH、1 mM BHT 及 200 μ g/mL α -tocopherol 入冷凍稀釋液等 4 組，以評估解凍後精子活力、精子前進式活力、精子活力各項移動參數，及精子頭帽完整性等項目之差異。結果顯示精液解凍後體外培養 2 至 6 小時，5 mM GSH 添加組精子活力及精子快速前進式活力均較 200 μ g/mL α -tocopherol 添加組差 ($P < 0.05$)。200 μ g/mL α -tocopherol 或 1 mM BHT 添加組與對照組進行比較，統計無顯著差異。在精子活力各項移動參數方面，精液解凍後培養 5 分鐘，5 mM GSH 添加組精子活力移動參數 VAP、VSL 及 VCL 均較 1 mM BHT 組呈顯著低之現象 ($P < 0.05$)。添加濃度 1 mM BHT 或 200 μ g/mL α -tocopherol 於解凍後精子頭帽完整率，與對照組或 5 mM GSH 添加組比較，結果呈顯著改善 ($P < 0.05$)。試驗二之分組分為對照組 (LEY 組)、添加 300、400 或 500 μ g/mL α -tocopherol 濃度加入冷凍稀釋液等 4 組，評估解凍後的精子活力、精子前進式活力及精子活力各項移動參數，結果顯示精子活力及精子快速前進式活力及精子活力等各項移動參數，於對照組與不同濃度 α -tocopherol 添加組間均無顯著差異。本研究冷凍稀釋液中添加 5 mM GSH、1 mM BHT 及 200、300、400 與 500 μ g/mL α -tocopherol 組之解凍後豬精子的相關活力參數並未見顯著改善效果。

關鍵詞：豬、冷凍精液、抗氧化劑。

緒 言

精液冷凍保存過程易產生活性含氧物 (reactive oxygen species, ROS) (Chatterjee and Gagnon, 2001)，ROS 是生物氧化代謝過程之副產物，包括超氧化物、過氧化氫、氫氧自由基及過氧化物自由基等，由於存在未成對電子，化學性質相當活躍，當 ROS 過高時會對細胞結構造成氧化性傷害。豬精細胞原生質膜之不飽和脂肪酸含量較一般家畜高，且較缺乏抗氧化物，故易發生脂質過氧化現象，損傷精子活力、存活率及影響後續受精能力 (Cerolini *et al.*, 2001; Roca *et al.*, 2004; Buranaamnuay *et al.*, 2011)。許多研究探討如何改善製作冷凍精液過程所造成的氧化傷害，選擇添加天然或人工合成之抗氧化劑不失為有效緩解精液冷凍製作過程 ROS 生成所造成損傷的一種方式。抗氧化劑添加至家畜精液冷凍稀釋液者，如丁羥基甲苯 (butylated hydroxytoluene, BHT) (Bamba and Cran, 1992; Trzcińska *et al.*, 2015)、 α -生育醇 (α -tocopherol) (Satorre *et al.*, 2009; Xia *et al.*, 2012; Mendez *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2015) 及麩胱甘肽 (glutathione, GSH) (Estrada *et al.*, 2014; Yeste *et al.*, 2014; Giaretta *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016) 等，均可有效改善解凍後之精液品質如精子活力、精子頭帽完整性及提升卵受精之能力。

抗氧化劑依其化學組成不同，各具其理化特性及功能，與 ROS 之交互作用機制原理亦有所不同。正常公豬精液之精漿成分含有一定濃度的抗氧化劑，可有效減緩 ROS 等對精子傷害 (Strezezek *et al.*, 1999; Strezezek, 2002)。但製備冷凍精液之過程中需去除精漿，則會造成精子失去抗氧化劑之保護 (Breininger *et al.*, 2011)；此外，冷凍保存過程，精子受損及死亡數目會增加，亦造成 ROS 來源量增多，引起精子的過氧化損傷導致精子結構破壞。因此本試驗探討不同抗氧化劑添加於冷凍稀釋液，評估豬冷凍精液解凍後的精子活力、精子前進式活力及精子活力各項移動參數，及頭帽完整性等項目之差異，俾提供日後製作豬冷凍精液時，抗氧化劑添加的相關參考。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2608 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。

材料與方法

I. 精液採集與處理

本試驗選擇生殖能力正常，平均年齡 1.5 歲之杜洛克公豬 5 頭，每週採集公豬精液一次。精液採集後於 37°C 下靜置 30 分鐘後，選取存活率 80% 以上與活力 75% 以上的精液進行冷凍保存。使用 Beltsville thawing solution (BTS: 37.0 g/L glucose, 1.25 g/L EDTA, 6.0 g/L sodium citrate, 1.25 g/L sodium bicarbonate 及 0.75 g/L potassium chloride) (Johnson *et al.*, 2000) 進行精液稀釋。冷凍精液製作參考 Westendorf *et al.* (1975) 之方式，稀釋之精液冷卻至 15°C，於 800 × g 離心 10 分鐘，去除上清液後加入冷凍稀釋液。冷凍稀釋液的組成及製備過程簡述如下：取乳糖 11 g 加入蒸餾水至 100 mL 後，試驗一分別添加以 5 mM GSH、1 mM BHT 或 200 µg/mL α -tocopherol 之不同抗氧化劑測試；試驗二分別添加以 300、400 或 500 µg/mL α -tocopherol 之不同抗氧化劑測試。新鮮精液於 4°C 下平衡 3 小時後，按 1:2 的比例加入含不同抗氧化劑冷凍稀釋液，並添加甘油使其最終濃度為 3% (v/v)，稀釋精子最終濃度為 5×10^8 cells/mL，裝填於 0.5 mL 之麥管 (Minitüb, Tiefenbach, Germany)，並以封口粉封住末端。然後將麥管移置於電腦程式控制儀 (Ice cube 14S, GmbH, Austria) 內，以下列冷卻條件執行冷凍程式降溫進行凍存：從 5°C 至 -5°C，降溫速率以 -6°C/min；從 -5°C 到 -80°C，以 40°C/min 速率降溫；於 -80°C 保持 30 s 後，由 -80°C 到 -150°C，降溫速率 -60°C/min；最後再將完成冷凍之麥管移入液氮桶內貯存 (Yeste *et al.*, 2014)。

II. 冷凍精液之解凍過程

備妥解凍用 BTS 精液稀釋液，回溫至 25°C。冷凍精液於液氮桶保存兩週後，取出所需之冷凍精液麥管，以 40°C、30 秒水浴進行解凍；隨後擦乾麥管表面，剪開麥管讓精液流至 2 mL 解凍稀釋液 (BTS) 中，並於 37°C 5% CO₂ 培養箱靜置 30 min 至 6 h，進行解凍後之精液性狀測試，所有過程儘可能避免精液受到溫度變化及光線傷害。

III. 精液性狀評估

解凍後精液以電腦輔助精子分析 (computer-assisted sperm analysis, CASA) 系統 (VideoTessT-Sperm 2.1, Russia) 進行分析，分析校正係參考 Dziekońska *et al.* (2013) 之方法，評估分析項目包括精子活力 (motility)、前進式活力 (progressive motility, PM)、平均移動路徑 (velocity average path, VAP)、直線移動速率 (velocity straight line, VSL)、曲線移動速率 (curvilinear velocity, VCL)、精子頭部擺動振幅 (lateral head displacement, ALH)、精子頭部擺動與平均路徑交叉的次數 (beat cross frequency, BCF)、直線前進之比率 (linearity, LIN)、直線趨勢 (straightness, STR) 等移動能力參數。

IV. 精子頭帽完整性評估

以免疫螢光染色技術評估精子頭帽完整性，其步驟係依據 Zeng and Terada. (2001) 之方法稍作修正。取精液樣品 30 µL 塗抹於載玻片上，經空氣乾燥後以甲醇固定 10 分鐘。取 30 µL 含螢光素異硫氰酸鹽結合花生凝集素 Fluorescein isothiocyanate-conjugated peanut agglutinin (FITC-PNA) (Sigma -Aldrich, St, Louis, MO, USA) 之 PBS 溶液，滴置於載玻片上，再移於可控制濕度之 37°C 培養箱內靜置 30 分鐘後，再以 PBS 沖洗，並經空氣乾燥後使用 5 µL 的 Antifade 溶液 (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR) 封片，以保持螢光效果。精子頭帽完整性評估使用光學螢光顯微鏡 (DM 2500, Leica) (1,000 ×, 油鏡)，以激發波長 480 nm、射出波長 530 nm 進行鏡檢，隨機計數約 100 個細胞，且每一樣品重覆計算數 6 次。在顯微鏡下觀察豬精子頭帽染色及形態，其判讀方式如下：(i) 精子頭帽顯現完整密集明亮螢光表示頭帽完整；(ii) 精子頭帽僅顯現部份螢光表示頭帽部分受損；(iii) 精子頭帽未顯現螢光表示頭帽之細胞膜及外頭帽膜完全受損。

V. 統計分析

豬冷凍精液解凍後，於 37°C 下靜置 6 h，並每間隔 2 h 評估其精子活力、精子前進式活力及精子活力各項移動參數，精子頭帽完整率則於解凍後立即評估，藉以探討上述評估值於個試驗處理間之差異；試驗資料均以平均值 ± 標準差表示，並以變異數分析 (ANOVA) 檢驗差異之顯著性，當 ANOVA 檢測出現差異時，再以鄧肯多變域分析法 (Duncan's multiple range test) 評估各處理間之差異性，所有處理組間差異性以 $P < 0.05$ 表示。

結果與討論

試驗一條比較冷凍稀釋液添加 5 mM GSH、1 mM BHT 及 200 µg/mL α -tocopherol，對解凍後精子活力及精子快

速前進式活力之影響，結果如表 1 及表 2 所示。精液解凍後體外培養 2 至 6 小時，添加 5 mM GSH 組精子活力及精子快速前進式活力均較添加 200 µg/mL α -tocopherol 組差，200 µg/mL α -tocopherol 或 1 mM BHT 添加組與對照組進行比較，結果無顯著差異。另就解凍後精子活力各項移動參數結果如表 3 所示，精液解凍後 30 分鐘及體外培養 6 小時，冷凍稀釋液添加 5 mM GSH 之 VAP、VCL 及 VSL 精子活力移動參數均明顯低於其他組 ($P < 0.05$)，另添加 5 mM GSH、1 mM BHT 及 200 µg/mL α -tocopherol，對解凍後精子的各項運動參數未見顯著改善。

表 1. 精液稀釋液添加不同抗氧化劑對豬精液冷凍解凍後精子活力之影響

Table 1. Effects of different type of antioxidant added to extender on sperm motility of the frozen-thawed boar semen

Types	After thawing			
	30 min	2 h	4 h	6 h
Control	80.6 \pm 9.0 ^{a*}	62.6 \pm 9.1 ^a	50.9 \pm 7.5 ^{ab}	40.8 \pm 7.4 ^{ab}
GSH [#]	61.6 \pm 5.9 ^b	51.5 \pm 4.7 ^b	43.3 \pm 5.5 ^b	35.7 \pm 6.6 ^b
BHT	76.1 \pm 8.8 ^a	63.6 \pm 5.5 ^a	51.2 \pm 8.9 ^{ab}	41.9 \pm 6.9 ^{ab}
α -tocopherol	73.8 \pm 4.2 ^a	59.9 \pm 5.1 ^a	51.9 \pm 4.3 ^a	44.3 \pm 5.2 ^a

*a, b Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

[#]GSH, 5 mM glutathione; BHT, 1 mM butylated hydroxytoluene; α -tocopherol, 200 µg/mL α -tocopherol.

表 2. 精液稀釋液添加不同抗氧化劑對豬精液冷凍解凍後精子前進式活力之影響

Table 2. Effects of different type of antioxidant added to extender on sperm progressive motility of the frozen-thawed boar semen

Types	After thawing			
	30 min	2 h	4 h	6 h
Control	61.7 \pm 9.4 ^{a*}	47.4 \pm 8.3 ^{ab}	26.3 \pm 6.5 ^{ab}	16.8 \pm 7.1 ^{ab}
GSH	48.6 \pm 7.1 ^b	38.8 \pm 6.2 ^b	22.6 \pm 6.7 ^b	15.2 \pm 6.9 ^b
BHT	59.3 \pm 8.7 ^a	48.8 \pm 8.0 ^a	28.0 \pm 7.4 ^a	17.8 \pm 6.3 ^{ab}
α -tocopherol	56.6 \pm 5.6 ^{ab}	47.8 \pm 7.7 ^a	27.6 \pm 7.7 ^a	18.4 \pm 7.1 ^a

*a, b Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

[#]GSH, 5 mM glutathione; BHT, 1 mM butylated hydroxytoluene; α -tocopherol, 200 µg/mL α -tocopherol.

精子頭帽內富含許多促進卵子結合之成分，故鑑別家畜精液品質常以頭帽完整性作為選項，以評估冷凍精液品質良窳 (Garner and Johnson, 1995)。經由顯微鏡觀察判別精子頭帽在添加不同抗氧化劑於冷凍解凍後之受損情形，精子頭帽完整性評估結果如表 4。結果顯示，冷凍精液稀釋液中添加 1 mM BHT 或 200 µg/mL α -tocopherol，其解凍後精子頭帽完整率均顯著優於對照組或添加 5 mM GSH 組 ($P < 0.05$)。

GSH 是由麩胺酸、胱胺酸和半甘胺酸所組成三胜肽鏈，為體內主要非蛋白質硫醇化物，可維持細胞內氧化還原平衡 (Jacob *et al.*, 2003)，具抗氧化及調節細胞增殖與生長等作用 (Lu, 2009)。GSH 廣泛存在於所有細胞，學者研究精液冷凍保存過程中去除精漿步驟，會造成 GSH 濃度降低達 68% (Gadea *et al.*, 2011)，恐造成精液品質不利之影響。另外，於精液冷凍過程中會引起精子活力降低，及精細胞膜結構之組成分改變，而導致 GSH 含量更顯著降低 (Gadea *et al.*, 2004; Stradaoli *et al.*, 2007)。曾有研究以 1 至 5 mM 濃度的 GSH 添加於精液之稀釋液中，結果添加 1 mM GSH 組相較添加 5 mM GSH 組，解凍後之精子的活力與存活率顯著提升，使用 CASA 分析解凍精子的各項移動參數均明顯提高，非獲能精子數目亦增加，顯示以添加 1 mM GSH 組對精子有很好的保護效果 (Gadea *et al.*, 2004; 2005)。

Estrada *et al.* (2014) 添加 2 mM GSH 所製作之冷凍精液經解凍培養 240 分鐘，精子頭帽完整性比例顯著改善，授精後分娩率由 67.2 \pm 3.4% 提升至 92.7 \pm 5.5%，產仔數由 7.5 \pm 2.4 頭提升至 13.0 \pm 1.0 頭 ($P < 0.05$)，可抵消解凍過程所造成精子損傷，改善公豬精液冷凍保存品質，同時也顯著提高冷凍精液的受精能力。另有研究將採集精液區分為耐凍性佳及耐凍性差精液 (Casas *et al.*, 2009)，證明添加 5 mM 的 GSH 可改善冷凍耐受性差之精液，而冷凍耐受性佳之精液添加 2 mM GSH 即可達成顯著改善精液品質之效果，顯示使用 GSH 改善精液品質之效果與 GSH 添加量及精液之冷凍耐受性有關 (Yeste *et al.*, 2014)。本試驗添加 2 mM GSH 於冷凍稀釋液之結果，解凍後之精子活力、前進式活力與精子活力各項移動參數之評估值，在統計上均無顯著改善之效果，或許日後可以提高 GSH 濃度再進一

步測試。

表 3. 精液稀釋液添加不同抗氧化劑對豬精液冷凍解凍精子移動參數之影響

Table 3. Effects of different types of antioxidants added to extender on the motion characteristic of the frozen-thawed boar semen

Parameter	Freezing media (LEY)	30 min	6 h
VAP ($\mu\text{m/s}$)*	Control	47.4 ± 10.5^a	38.2 ± 10.0^a
	GSH	39.0 ± 8.9^b	35.4 ± 6.0^a
	BHT	48.7 ± 8.5^a	35.8 ± 12.9^a
	α -tocopherol	46.6 ± 6.6^a	35.9 ± 8.2^a
VSL ($\mu\text{m/s}$)	Control	23.3 ± 5.3^a	18.8 ± 5.0^a
	GSH	19.0 ± 4.4^b	17.1 ± 4.3^a
	BHT	24.0 ± 4.3^a	17.4 ± 6.3^a
	α -tocopherol	23.2 ± 3.2^a	17.5 ± 4.0^a
VCL ($\mu\text{m/s}$)	Control	74.6 ± 17.6^a	57.3 ± 12.5^a
	GSH	60.4 ± 16.0^b	54.1 ± 6.8^a
	BHT	75.8 ± 17.6^a	53.7 ± 19.3^a
	α -tocopherol	67.0 ± 16.1^a	55.4 ± 6.4^a
ALH ($\mu\text{m/s}$)	Control	2.5 ± 0.5	2.0 ± 0.5
	GSH	2.1 ± 0.5	1.8 ± 0.3
	BHT	2.6 ± 0.5	1.9 ± 0.7
	α -tocopherol	2.3 ± 0.5	2.0 ± 0.6
BCF (Hz)	Control	8.5 ± 0.2	8.4 ± 0.2
	GSH	8.5 ± 0.2	8.4 ± 0.3
	BHT	8.5 ± 0.3	8.4 ± 0.2
	α -tocopherol	8.5 ± 0.2	8.4 ± 0.3
STR (%)	Control	96.0 ± 1.2	96.5 ± 1.2
	GSH	97.1 ± 1.1	96.3 ± 0.6
	BHT	97.3 ± 1.5	96.0 ± 0.8
	α -tocopherol	96.2 ± 1.1	95.9 ± 0.8
LIN (%)	Control	41.1 ± 4.4	40.5 ± 3.4
	GSH	42.6 ± 6.0	39.7 ± 5.5
	BHT	44.2 ± 4.1	39.1 ± 3.6
	α -tocopherol	42.1 ± 6.5	40.2 ± 5.1

*VAP, average path velocity; VSL, straight line (progressive) velocity; VCL, curvilinear velocity; ALH, lateral head displacement; BCF, cross-beat frequency; STR, straightness; LIN, linearity; CASA, computer-assisted sperm analysis; SEM, standard error of the mean.

GSH, 5 mM glutathione; BHT, 1 mM butylated hydroxytoluene; α -tocopherol, 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol.

表 4. 添加不同抗氧化劑於稀釋液對豬精液冷凍解凍後頭帽完整性之評估

Table 4. Effects of different type of antioxidant added to extender on acrosome integrity of the frozen-thawed boar semen

	Sperm frozen with			
	Control	GSH	BHT	α -tocopherol
Acrosome integrity (%)	52.3 ± 5.3^b	54.5 ± 8.1^b	63.3 ± 6.7^a	66.1 ± 6.6^a

*GSH, 5 mM glutathione; BHT, 1 mM butylated hydroxytoluene; α -tocopherol, 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol

^{#a, b} Values with different superscripts in the row is significantly different ($P < 0.05$).

BHT 是一種人工合成的脂溶性抗氧化劑，其作用為防止不飽和脂肪及脂類氧化。冷凍稀釋液中添加 BHT 可減少 ROS 形成，阻止 ROS 對精子之不利影響 (Ghorbani *et al.*, 2015)，可改善牛 (Shoae and Zamiri, 2008)、豬 (Roca *et al.*, 2004) 及山羊 (Memon *et al.*, 2011) 等之冷凍精液品質。Bamba and Crank (1992) 於豬精液稀釋液中添加 0.05 至 0.10 mM 的 BHT 冷藏 5°C 保存，可顯著提高精子之活力及頭帽完整性，但添加 2 mM 的 BHT 於精液稀釋液則造成精子活力下降，評估頭帽完整性亦未具改善。Roca *et al.* (2004) 研究 BHT 添加對豬冷凍精液解凍後之影響，檢測解凍後 0.5 小時與 2.5 小時之精液，結果發現稀釋液中添加 BHT 濃度為 0.2、0.4 及 0.8 mM 組之精子存活率顯著提升 ($P < 0.05$)；其中添加 0.4 mM BHT 可使受精卵發育到囊胚比率由 16% 顯著提升至 29% ($P < 0.05$)。Trzcińska *et al.* (2015) 於冷凍稀釋液中分別添加 BHT 0.5、1.0 及 2.0 mM，解凍後 20 分鐘培養觀察精子活力、前進式活力，及頭帽完整比率均顯著改善 ($P < 0.001$)，其中 1.0 mM BHT 者分娩率由 45.4% 提升至 86.7%，產仔數由 8.2 ± 2.2 頭提升至 10.8 ± 1.6 頭具顯著改善；而添加 BHT 1.0 及 2.0 mM 兩組，其分娩率及產仔數並無顯著差異。而本研究於豬精液稀釋液中添加 1 mM BHT，冷凍解凍後精子之活力、前進式活力、精子活力各項移動參數評估值等方面，與對照組比較均無顯著之改善效果。冷凍精液稀釋液中添加 1 mM BHT 其解凍後精子頭帽完整率均顯著優於與對照組或添加 5 mM GSH 組 ($P < 0.05$)；添加 BHT 可能有利於減少 ROS 的形成，和防止 ROS 對精子的不利影響功能 (Ghorbani *et al.*, 2015)，是否與改善精子頭帽完整性有關，仍待更多探討。

α -tocopherol 為常見之抗氧化劑，可保護精細胞膜抵抗脂質過氧化反應 (Jeong *et al.*, 2009; Breininger *et al.*, 2011)。 α -tocopherol 使用於改善精液品質方法通常為下列兩種，其一為直接添加在家畜之飼料中，如研究指出公豬給予 400 mg/kg α -tocopherol (α -tocopherol acetate)，可顯著改善精子前進式活力 ($P < 0.05$) (Liu *et al.*, 2015)。另一種為直接添加豬精液冷凍稀釋液，最早 Polge (1956) 測試使用 α -tocopherol 添加濃度範圍 200 至 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ，結果指出以 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 的添加量可顯著改善解凍後精子活力。Satorre *et al.* (2009) 添加 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 於冷凍稀釋液，解凍後 10 分鐘觀察可顯著改善精子活力和頭帽完整性，並降低精子之類獲能反應現象。Breininger *et al.* (2011) 添加相同濃度之精子解凍後培養 4 小時觀察，可見活力顯著改善，但其精子存活率和頭帽完整性評估值並未有顯著差異。

Jeong *et al.* (2009) 於豬冷凍精液解凍後培養 3 小時觀察，指出冷凍稀釋液添加 100 及 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 組，較 400、600 或 800 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 組可顯著改善精子活力及存活率，添加 100 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 組精子活力移動 VCL 參數值顯著降低 ($P < 0.05$)，添加 α -tocopherol 800 $\mu\text{g/mL}$ 組精子活力移動 VCL 及 VSL 參數值明顯高於其他組 ($P < 0.05$)。添加 400 和 800 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 組，精子活力移動 VAP 參數值與新鮮精液未見顯著差異，另評估精子頭帽完整添加 α -tocopherol 不同劑量均有助於改善。本研究在精液之稀釋液中添加 200 $\mu\text{g/mL}$ 之 α -tocopherol，試驗結果在解凍後之精子活力、精子前進式活力及精子活力各項移動參數等項目並無統計上之差異。後續於冷凍稀釋液中分別提高添加 α -tocopherol 濃度至 300、400 及 500 $\mu\text{g/mL}$ ，試驗結果評估解凍後精子活力如表 5、精子前進式活力如表 6 及精子活力各項移動參數如表 7 所示，統計上均無顯著之差異。結果顯示，冷凍精液稀釋液中添加 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol，其解凍後精子頭帽完整率均顯著優於與對照組或添加 5 mM GSH 組 ($P < 0.05$)。研究添加 α -tocopherol 會破壞 ROS 與細胞膜脂肪酸側鏈形成之共價連接，減少冷凍保存期間過量 ROS 生成所造成細胞膜損傷 (Jeong *et al.*, 2009)，推測目前添加 200 $\mu\text{g/mL}$ α -tocopherol 其解凍後有益於精子頭帽完整可能為改善之因素。

綜合言之，本研究所探討不同抗氧化劑之添加未能提升豬精液冷凍解凍後之品質，可能導因於豬精子之原生質膜所含有的不飽和脂肪酸較其他家畜高，且較缺乏抗氧化物，致使本研究所使用之抗氧化劑種類及濃度並未達最適化，因此，應再深入探討抗氧化劑之添加策略，如多種抗氧化劑之搭配及不同抗氧化劑搭配濃度之調整，此或是改善豬精液冷凍保存效率之重要方向。

表 5. 精液稀釋液添加不同濃度 α -tocopherol 對豬精液冷凍解凍後精子活力之影響

Table 5. Effects of different concentrations of α -tocopherol added to extender on sperm motility of the frozen-thawed boar semen

α -tocopherol conc. ($\mu\text{g/mL}$)	After thawing			
	30 min	2 h	4 h	6 h
Control	78.0 ± 8.7	65.6 ± 9.2	54.6 ± 7.3	45.2 ± 5.9
300	80.7 ± 6.8	67.0 ± 6.4	55.4 ± 5.7	43.0 ± 6.8
400	78.5 ± 6.6	64.5 ± 5.8	53.8 ± 6.4	44.4 ± 6.2
500	79.7 ± 5.8	68.7 ± 5.9	57.9 ± 5.1	46.5 ± 4.7

No significant differences between treatments.

表 6. 精液稀釋液添加不同濃度 α -tocopherol 對豬精液冷凍解凍後精子前進式活力之影響Table 6. Effects of different concentrations of α -tocopherol added to extender on sperm progressive motility of the frozen-thawed boar semen

α -tocopherol conc. ($\mu\text{g/mL}$)	After thawing			
	30 min	2 h	4 h	6 h
Control	60.5 \pm 9.8	50.9 \pm 8.2	29.3 \pm 5.3	18.9 \pm 3.4
300	63.8 \pm 6.4	50.7 \pm 5.9	30.2 \pm 3.9	18.1 \pm 3.7
400	62.1 \pm 7.4	48.1 \pm 5.9	28.0 \pm 3.6	18.2 \pm 2.9
500	62.3 \pm 5.5	52.2 \pm 6.6	30.0 \pm 2.5	19.0 \pm 2.7

No significant differences between treatments.

表 7. 精液稀釋液添加不同濃度 α -tocopherol 對豬精液冷凍解凍精子移動參數之影響Table 7. Effects of different concentrations of α -tocopherol added to extender on the motion characteristic of the frozen-thawed boar semen

Parameter	α -tocopherol conc. ($\mu\text{g/mL}$)	30 min	6 h
VAP ($\mu\text{m/s}$)	Control	51.9 \pm 5.9	40.8 \pm 6.2
	300	56.0 \pm 7.3	40.9 \pm 4.6
	400	54.8 \pm 6.6	41.3 \pm 3.2
	500	53.8 \pm 7.9	41.3 \pm 3.8
VSL ($\mu\text{m/s}$)	Control	25.3 \pm 2.9	19.8 \pm 3.1
	300	27.3 \pm 3.8	19.8 \pm 2.3
	400	27.7 \pm 3.3	20.2 \pm 1.5
	500	26.4 \pm 3.9	20.2 \pm 2.0
VCL ($\mu\text{m/s}$)	Control	76.3 \pm 5.8	63.3 \pm 9.9
	300	77.7 \pm 13.7	64.8 \pm 9.8
	400	80.4 \pm 15.6	64.2 \pm 12.0
	500	78.3 \pm 14.4	68.7 \pm 10.4
ALH ($\mu\text{m/s}$)	Control	2.7 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3
	300	2.9 \pm 0.3	2.3 \pm 0.2
	400	2.9 \pm 0.4	2.2 \pm 0.3
	500	2.7 \pm 0.4	2.3 \pm 0.3
BCF (Hz)	Control	8.2 \pm 0.2	8.3 \pm 0.3
	300	8.1 \pm 0.3	8.3 \pm 0.2
	400	8.2 \pm 0.2	8.4 \pm 0.2
	500	8.3 \pm 0.2	8.5 \pm 0.2
STR (%)	Control	96.0 \pm 0.7	95.9 \pm 0.8
	300	96.0 \pm 1.8	95.7 \pm 0.8
	400	96.4 \pm 1.5	96.0 \pm 0.8
	500	97.1 \pm 0.7	96.3 \pm 0.7
LIN (%)	Control	42.8 \pm 4.9	40.0 \pm 4.2
	300	44.5 \pm 6.9	39.3 \pm 2.7
	400	42.9 \pm 5.8	38.0 \pm 6.4
	500	42.5 \pm 4.5	36.4 \pm 5.4

*VAP, average path velocity; VSL, straight line (progressive) velocity; VCL, curvilinear velocity; ALH, lateral head displacement; BCF, cross-beat frequency; STR, straightness; LIN, linearity; CASA, computer-assisted sperm analysis; SEM, standard error of the mean.

#No significant differences between treatments.

誌 謝

本試驗承農委會科技計畫 (106 農科 -2.1.1- 畜 -L3) 經費補助，試驗期間並承遺傳育種組吳明哲組長商借儀器設備，特此一併致謝。

參考文獻

- Bamba, K. and D. G. Cran. 1992. Effects of treatment with butylated hydroxytoluene on the susceptibility of boar spermatozoa to cold stress and dilution. *J. Reprod. Fertil.* 95: 69-77.
- Breining, E., A. Descalzo, L. Rossetti, D. Abramovich and M. T. Beconi. 2011. Boar sperm functionality is related to α -tocopherol content after freezing-thawing. *Andrologia* 43: 409-415.
- Buranaamnuay, K., R. Grossfeld, C. Struckmann and D. Rath. 2011. Influence of cryoprotectants glycerol and amides, combined with antioxidants on quality of frozen-thawed boar sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 127: 56-61.
- Casas, I., S. Sancho, M. Briz, E. Pinart, E. Bussalleu, M. Yeste and S. Bonet. 2009. Freezability prediction of boar ejaculates assessed by functional sperm parameters and sperm proteins. *Theriogenology* 72: 930-948.
- Cerolini, S., A. Maldjian, F. Pizzi and T. M. Gliozzi. 2001. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction* 121: 395-401.
- Chatterjee, S. and C. Gagnon. 2001. Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. *Mol. Reprod. Dev.* 59: 451-458.
- Dziekońska, A., L. Fraser, A. Majewska, M. Lecewicz, Ł. Zasiadczyk and W. Kordan. 2013. Effect of commercial long-term extenders on metabolic activity and membrane integrity of boar spermatozoa stored at 17°C. *J. Vet. Sci.* 16: 517-525.
- Estrada, E., J. E. Rodríguez-Gil, L. G. Rocha, S. Balasch, S. Bonet and M. Yeste. 2014. Supplementing cryopreservation media with reduced glutathione increases fertility and prolificacy of sows inseminated with frozen-thawed boar semen. *Andrology* 2: 88-99.
- Gadea J., E. Selles, M. A. Marco, P. Coy, C. Matas, R. Romar and S. Ruiz. 2004. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology* 62: 690-701.
- Gadea, J., F. García-Vazquez, C. Matás, J. C. Gardón, S. Cánovas and D. Gumbao. 2005. Cooling and freezing of boar spermatozoa: supplementation of the freezing media with reduced glutathione preserves sperm function. *J. Androl.* 26: 396-404.
- Gadea J., M. Molla, E. Selles, M. A. Marco, F. A. Garcia-Vazquez and J. C. Gardon. 2011. Reduced glutathione content in human sperm is decreased after cryopreservation: effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Cryobiology* 62: 40-46.
- Garner, D. L. and L. A. Johnson. 1995. Viability assessment of mammalian sperm using SYBR-14 and propidium iodide. *Biol. Reprod.* 53: 276-284.
- Ghorbani, M., I. Amiri, I. Khodadadi, A. Fattahi, M. Atabakhsh and H. Tavilani. 2015. Influence of BHT inclusion on post-thaw attributes of human semen. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 61: 57-61.
- Giaretta, E., E. Estrada, D. Bucci, M. Spinaci, J. E. Rodríguez-Gil and M. Yeste. 2015. Combining reduced glutathione and ascorbic acid has supplementary beneficial effects on boar sperm cryotolerance. *Theriogenology* 83: 399-407.
- Jacob, C., G. I. Giles, N. M. Giles and H. Sies. 2003. Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angew. Chem.* 42: 4742-4758.
- Jeong, Y. J., M. K. Kim, H. J. Song, E. J. Kang, S. A. Ock, B. M. Kumar, S. Balasubramanian and G. J. Rho. 2009. Effect of α -tocopherol supplementation during boar semen cryopreservation on sperm characteristics and expression of apoptosis related genes. *Cryobiology* 58: 181-189.
- Johnson, L. A., K. F. Weitze, P. Fiser and W. M. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 143-172.
- Liu, Q., Y. F. Zhou, R. J. Duan, H. K. Wei, S.W. Jiang and J. Peng. 2015. Effects of dietary n-6: n-3 fatty acid ratio and vitamin E on semen quality, fatty acid composition and antioxidant status in boars. *Anim. Reprod. Sci.* 162: 11-19.
- Lu, S. C. 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Mol. Asp. Med.* 30: 42-59.

- Ma, H., D. Liu, W. Wang, L. Wang, B. Fu, Z. Li and X. He. 2015. Effect of semen extender supplementation with trehalose, vitamin c and e on post-thaw min pig sperm qualities. *Cryo. Letters*. 36: 308-312.
- Memon, A. A., H. Wahid, Y. Rosnina, Y. M. Goh, M. Ebrahimi, F. M. Nadia and G. Audrey. 2011. Effect of butylated hydroxytoluene on cryopreservation of boer goat semen in tris egg yolk extender. *Anim. Reprod. Sci.* 129: 44-49.
- Mendez, M. F., M. G. Zangeronimo, L. G. Rocha, B. G. Faria, B. A. Pereira, C. D. Fernandes, B. R. Chaves, L. D. Murgas and R.V. Sousa. 2013. Effect of the addition of IGF-I and vitamin E to stored boar semen. *Animal* 7: 793-798.
- Polge, C. 1956. Artificial insemination in pigs. *Vet. Rec.* 68: 62-76.
- Roca, J., M. A. Gil, M. Hernandez, I. Parrilla, J. M. Vazquez and E. A. Martinez. 2004. Survival and fertility of boar spermatozoa after freeze-thawing in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *J. Androl.* 25: 397-405.
- Satorre, M. M., E. Breininger, M. T. Beconi and N. B. Beorlegui. 2009. Protein tyrosine phosphorylation under capacitating conditions in porcine fresh spermatozoa and sperm cryopreserved with and without alpha tocopherol. *Andrologia* 41: 184-192.
- Shoae, A. and M. J. Zamiri. 2008. Effect of butylated hydroxytoluene on bull spermatozoa frozen in egg yolk-citrate extender. *Anim. Reprod. Sci.* 104: 414-418.
- Stradaioli, G., T. Noro, L. Sylla and M. Monaci. 2007. Decrease in glutathione (GSH) content in bovine sperm after cryopreservation: comparison between two extenders. *Theriogenology* 67: 1249-1255.
- Strezezek, J., S. Lapkiewicz and M. Lecewicz. 1999. A note on antioxidant capacity of boar seminal plasma. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17: 181-188.
- Strezezek, J. 2002. Secretory activity of boar seminal vesicle glands. *Reprod. Biol.* 2: 243-266.
- Trzcińska, M., M. Bryła, B. Gajda and P. Gogol. 2015. Fertility of boar semen cryopreserved in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *Theriogenology* 83: 307-313.
- Westendorf, P., L. Richter and H. Treu. 1975. Zur Tiefgefrierung von Ebersperma Labor- und Besamungsergebnisse mit dem Hulsenberger Pailletten-Verfahren. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 82: 261-267.
- Xia, C., W. Xia, S. Yang, L. An, X. Li, Z. Wu, J. Zhang, Z. Wang and J. Tian. 2012. Effect of antioxidant supplementation on function and fertility of sex-sorted boar spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 136: 108-114.
- Yeste, M., E. Estrada, E. Pinart, S. Bonet, J. Miró and J. E. Rodríguez-Gil. 2014. The improving effect of reduced glutathione on boar sperm cryotolerance is related with the intrinsic ejaculate freezability. *Cryobiology* 68: 251-226.
- Zeng, W. X. and T. Terada. 2001. Protection of boar spermatozoa from cold shock damage by 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Theriogenology* 55: 615-627.
- Zhang, X. G., Q. Liu, L. Q. Wang, G. S. Yang and J. H. Hu. 2016. Effects of glutathione on sperm quality during liquid storage in boars. *Anim. Sci. J.* 87: 1195-1201.

Effect of antioxidants supplementation on boar semen cryopreservation ⁽¹⁾

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

Received: Feb. 21, 2019; Accepted: Apr. 25, 2019

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of three antioxidants α -tocopherol, butylated hydroxytoluene (BHT) and glutathione (GSH) were added to freezing extender on the quality of frozen-thawed boar semen. Semen collected from five Duroc boars were diluted with Lactose-egg yolk (LEY) extender as control group, which it brought to 5×10^8 cell/mL in the final concentration. In the first experiment, four groups were divided with adding 5 mM GSH, 1mM BHT and 200 μ g/mL α -tocopherol into freezing extenders. The percentage of sperm motility, rapid progressive motility, motility kinetic variables parameters and acrosome integrity were evaluated. The results showed that the percentage of total motility and rapid progressive motility in 5mM GSH supplemented freezing extender after thawing for 2-6 hrs were lower than in 200 μ g/mL α -tocopherol group ($P < 0.05$). No significant differences in the percentage of total motility and rapid progressive motility were observed either between control group and 200 μ g/mL α -tocopherol or 1mM BHT supplemented. The results showed that the percentage of sperm motion parameters (VAP, VSL and VCL) of semen cryopreserved with freezing extender after thawing for 5min were lower in 5 mM GSH group than in the 1mM BHT group ($P < 0.05$). Acrosome integrity results demonstrated that the intact acrosome was significantly higher in the 1mM BHT or 200 μ g/mL α -tocopherol group than that in the control or than that in 5 mM GSH group ($P < 0.05$). In the second experiment, the experimental designs are separated into 4 groups, inclusive of control group, and the 300, 400 or 500 μ g/mL α -tocopherol supplementation group in the boar semen extender during cryopreservation on post-thawed sperm motility, rapid progressive motility and motility kinetic variables parameters. There is no significant difference between the α -tocopherol supplemented and control group. In conclusion, the addition of 5 mM GSH, 1 mM BHT and 200, 300, 400 or 500 μ g/mL α -tocopherol to the freezing extender demonstrate no any improvement in sperm motility parameters.

Key words: Boar, Frozen Semen, Antioxidant.

(1) Contribution No. 2608 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.

接種乳酸桿菌對水稻穀粒青貯品質之影響⁽¹⁾

陳柏佑⁽²⁾ 侯金日⁽²⁾ 盧啟信⁽³⁾ 林正斌⁽⁴⁾⁽⁵⁾

收件日期：108 年 3 月 7 日；接受日期：108 年 4 月 26 日

摘 要

本試驗以臺南區農業改良場嘉義分場提供之臺中秈 17 號 (TCS17) 水稻品種之穀粒為材料，探討添加畜產試驗所恆春分所提供之不同乳酸桿菌 (*Lactobacillus* spp.) 對水稻穀粒青貯料之營養成分與發酵品質的影響，以供草食動物食用芻料之參考。將試驗水稻穀粒青貯調製 30 及 60 天後，分析其粗蛋白質、水溶性碳水化合物、中洗纖維、酸洗纖維、澱粉與磷、鉀及鎂等。青貯發酵品質之分析項目包括酸鹼值 (pH) 與乳酸、乙酸、丁酸等有機酸含量，並計算費氏品質評分 (Fieg's scores)。結果顯示，接種乳酸桿菌在進行青貯 30 天後的水稻穀粒青貯料之 pH 值 3.8 顯著 ($P < 0.05$) 低於只噴水不添加乳酸菌之對照組之 pH 4.4，接種處理亦顯著提高乳酸含量至 1.1%，並抑制丁酸之產生，故所有接種乳酸菌處理之 Fieg's scores 評定為優良之 80 分以上，其中 ST15 乳酸菌品系的處理可達 89 分，大幅高於對照組之 23 分；青貯 60 天的處理亦有相同的結果。因此，為提升水稻穀粒青貯料品質，建議可接種乳酸桿菌 ST15 品系後青貯，可獲得優良的水稻穀粒青貯料。

關鍵詞：稻穀青貯料、乳酸桿菌、費氏青貯品質評分。

緒 言

水稻 (*Oryza sativa* L.) 為亞洲國家主要的糧食作物，含有大量碳水化合物，提供熱量來源。臺灣位於亞熱帶與熱帶季風氣候區，氣候非常適合水稻生長，1975 年水稻栽培面積達到最高峰為 790,248 公頃，平均產量 3,156 公斤 / 公頃 (臺灣農業年報, 1977)，2016 年水稻種植面積為 273,837 公頃，平均產量 5,798 公斤 / 公頃 (行政院農業委員會, 2017)，種植比 1975 年的減少了將近 65.3%。國人的稻米食用量亦由 1975 年之 130.39 公斤 / 年 / 人，降低至 2016 年之 44.48 公斤 / 年 / 人，減少 65.9% (農業統計資料查詢, 2018)，但單位面積產量卻由 1977 年之 3,156 公斤 / 公頃提升至 2016 年的 5,798 公斤 / 公頃，但由於國民所得增加、飲食習慣改變，導致水稻有生產過剩問題。政府為了照顧種植水稻的農民收入，持續辦理收購價格較糧商高之「保價收購制度」，導致每年發生公糧爆倉的現象，儲存的公糧在大量卻無處銷售的情況下，時常超過保存期限，導致過期且低品質的公糧只能碾碎，並以市價三分之一之低價釋出。近年來由於石化能源逐漸枯竭，世界主要穀物出口國例如美國，已將部分農地改種植能源作物，再加上地球環境的劇烈變遷，導致穀物產量大幅減少，帶動全球穀物與國內飼料價格上揚，所以未來勢必得提高國內糧食和飼料的自給率，維持國家糧食的穩定供應。

青貯 (ensiling) 為一種保存芻料的方式，主要目的為保存芻料營養，使能長期供應餵飼草食動物。青貯料主要的保存原理是在厭氧 (anaerobic) 的環境下，厭氧性微生物利用發酵性碳水化合物 (fermentable carbohydrate)，產生包含乳酸 (lactic acid, LA) 等揮發性有機酸，最後這些有機酸會降低青貯料的 pH 值，並抑制雜菌的生長，減少物質與能量的損失 (Ki *et al.*, 2009)。乳酸菌 (lactic acid bacteria, LAB) 在濕潤的芻料作物之保存過程中相當重要，特別是同質發酵 (homofermentative) 乳酸菌會將一分子葡萄糖分解成兩分子乳酸；而異質發酵 (heterofermentative) 乳酸菌只能

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2609 號。

(2) 國立嘉義大學農藝學系。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所技術服務組。

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

將一分子葡萄糖轉變成一分子乳酸，並伴隨著乙酸、乙醇和二氧化碳等副產物；除此之外，酵母菌能將一分子葡萄糖分解成兩分子乙醇及兩分子二氧化碳；酪酸菌則分解醣類與乳酸鹽成酪酸，因為酪酸無法降低青貯料的 pH 值，而且乳酸被分解，故青貯料的 pH 值將無法降低。如果在發酵過程中同質發酵乳酸菌佔優勢，將可減少能量損失和蛋白質降解 (Nishino *et al.*, 2004)。而水稻穀粒在青貯過程中，添加不同比例水分 (陳等, 2016) 及穀粒破裂程度不同 (陳等, 2019) 均會影響青貯品質的好壞。

為了創造國產農產品的多元化利用，並建立優良水稻穀粒青貯料調製方法，本研究的主要目的為利用水稻品種 (系) 之穀粒為材料，評估接種乳酸菌對其青貯發酵品質的影響，以評估水稻穀粒供作草食動物芻料之參考。

材料與方法

I. 材料來源

- (i) 水稻品種：由行政院農業委員會臺南區農業改良場嘉義分場提供之臺中秈 17 號 (TCS17) 水稻穀粒，水分含量為 14%。
- (ii) 乳酸菌菌種：行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所提供之 ST3 (*Lactobacillus alimentarius* BCRC19669)、ST12 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* BCRC19667)、ST15 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* BCRC19668) 冷凍菌粉。

II. 青貯料之製作方法

- (i) 乳酸菌的準備：取 300 μ L 二次活化之菌液接種於 300 mL 滅菌之 MRS Broth，置於 35°C 恆溫靜置培養 24 小時後，利用分光光度計測量波長 600 nm 下之吸光值，再參照 log CFU 與 OD 600 生長曲線之迴歸方程式，添加蒸餾水將菌液稀釋為 1×10^8 CFU/mL 備用。
- (ii) 青貯製程：將水稻穀粒置入輕便型粉碎機 (DJ-4S, 原泰奇機械, 臺灣) 中，瞬間開關 3 次將穀粒切斷，秤取 60 g 碾碎穀粒材料並加入 40 mL 蒸餾水後接種 1 mL 之稀釋菌液，並分為青貯 30 天與 60 天兩種開封日期，每種開封日期之處理有：未接種乳酸菌 (CKW)、接種 ST3 (ST3)、接種 ST12 (ST12)、接種 ST15 (ST15)、接種三菌株之等量混合菌液 (MIX) 及添加 5 g 上一批 CKW 之穀粒青貯料 (乳酸含量為 0.24%、乙酸含量為 0.96%) (JO) 等 6 種處理，每處理 3 重複，利用深槽式真空封口包裝機 (J-V002D, New Diamond Vac, 臺灣) 封口，密封後貯存於室溫下 (23 – 33°C) 開始封存，於青貯後第 30 與第 60 天開封取樣。

III. 青貯品質分析

青貯樣品於開封後立即取樣，測量鮮重並同時取 10 g 新鮮青貯料測定酸鹼值、有機酸及 Flieg's scores (許等, 1995; Flieg, 1938) 分析。

- (i) 酸鹼度測定：將 10 g 新鮮青貯料加蒸餾水 100 mL，利用均質機 (Osterizer Listed 564A, Oster, USA) 打碎過濾後以酸鹼度計測定 (pH/Ion meter, SP-2500, SUNTEX Company, 臺灣)。
- (ii) 有機酸分析：利用濾紙 (No.5B 110 mm, Advantec, Japan) 過濾測定酸鹼值的濾液，再利用針筒過濾器進行第二次的過濾，冰存於 4°C 冰箱備用。以針筒吸取 10 μ L 濾液打入高效能液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC, HITACHI Pump L-2130, Japan)，測定乳酸等揮發性脂肪酸含量，移動相為 95% 50 mM 磷酸二氫鉀 (potassium dihydrogen phosphate) 與 5% 乙腈 (acetonitrile) 之混和物，流速 1 mL/min，偵測器為 UV detector (HITACHI Diode Array Detector L-2450, Japan)，波長為 210 nm，分離管柱為 Thermo Aquasil C18, 250 \times 4.6 mm。

IV. 芻料化學成分分析

取青貯料於 80°C 下烘乾 48 小時，秤其乾重後，利用輕便型粉碎機 (DJ-4S, 原泰奇機械, 臺灣) 磨粉後，進行植體成分分析，分析方法依 AOAC 所述分析粗蛋白質 (crude protein, CP)、水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrate, WSC)、酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 及中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 等。磷含量以鉬藍法比色測定 (Olsen and Dean, 1965)，鉀及鎂含量以原子吸光儀測定 (Thomas, 1985)。

V. 統計分析

本試驗之全部測定資料，包括各青貯品質指標：pH 值、乳酸、乙酸、丁酸、乳酸、乙酸與丁酸含量總和；營養成分含量：乾物率、水溶性碳水化合物、澱粉、粗蛋白質、磷、鉀、鎂，利用 SAS 統計軟體 (SAS, Version 9.1, 2004) 進行 ANOVA 分析及最小顯著性測驗 (t-test)，比較上述各種特性在不同處理間之差異。

結 果

I. 接種乳酸菌後對水稻穀粒青貯料營養成分之影響

表 1 為接種乳酸桿菌後對臺中秈 17 號穀粒青貯料營養成分之變方分析表，不同乳酸菌處理極顯著影響乾物質率 (DM)、粗蛋白 (CP) 含量、水溶性碳水化合物 (WSC) 含量、中洗纖維 (NDF) 含量、酸洗纖維 (ADF) 含量及鎂含量 ($P < 0.01$)；乳酸桿菌處理亦顯著影響水稻穀粒青貯料之鉀含量 ($P < 0.05$)。顯示在製作水稻穀粒青貯料時，接種乳酸桿菌與否，將影響最後的水稻穀粒青貯料之化學品質。青貯期顯著影響水稻穀粒青貯料之澱粉含量 ($P < 0.05$)；青貯期亦極顯著影響粗蛋白與鉀及鎂含量 ($P < 0.01$)。此外乳酸菌處理與青貯期在中洗纖維含量方面有極顯著交互效應 ($P < 0.01$)。

表 1. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料營養成分之變方分析

Table 1. ANOVA of nutrition contents of Taichung Sen 17 rice grain silage inoculated with lactic acid bacteria

Source	DF [#]	Mean Square								
		DM	CP	WSC	NDF	ADF	Starch	P	K	Mg
LAB treatment (L)	5	17.19**	0.41**	2.03**	17.95**	1.13**	0.19	0.0220	0.0037*	0.0003**
Month (M)	1	0.002	0.61**	0.38	6.30	0.59	0.63*	0.0009	0.0321**	0.0002**
L × M	5	0.06	0.15	0.23	21.49**	0.22	0.24	0.0173	0.0012	0.00004
Error	24	0.19	0.06	0.35	4.36	0.29	0.10	0.0236	0.0012	0.00001

[#] DF, degree of freedom; DM, dry matter; CP, crude protein; WSC, water soluble carbohydrate; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; P, phosphorus; K, potassium; Mg, magnesium; LAB, lactic acid bacteria.

*,** Significant different was at 5% and 1% levels, respectively.

青貯期為 30 天時，所有接種乳酸菌處理之乾物質含量皆顯著高於對照組 (CKW) (表 2)；青貯期為 60 天時，接種 ST15 乳酸菌處理顯著高於對照組，且添加上一批水稻穀粒青貯料處理 (JO) 的乾物質含量亦顯著低於對照組，顯示對水稻穀粒接種乳酸菌，在青貯後可保持較多的乾物質；對照組之乾物質有可能是因敗壞分解，而較低於接種乳酸菌的處理。所有接種乳酸菌處理之粗蛋白質及水溶性碳水化合物含量低於對照組，可能原因為接種乳酸菌與微生物數量增加，因此消耗較多之蛋白質與碳水化合物。青貯 30 天時，所有接種乳酸菌處理之中洗纖維含量低於對照組，且乳酸桿菌品系 ST3 與 ST15 處理顯著高於只添加水的對照組；當青貯期延長為 60 天時，三個菌株混合菌液 (MIX) 組處理與添加上一批水稻穀粒青貯料處理之中洗纖維含量顯著高於對照組。青貯 30 天時，接種 ST3 與 ST15 乳酸桿菌處理之酸洗纖維含量顯著低於 JO 處理與對照組處理。青貯 30 天時，對照組與 JO 處理之澱粉含量顯著高於接種乳酸桿菌品系 ST12 處理；青貯 60 天時，對照組與接種 ST15 處理之澱粉含量顯著高於接種品系 ST3。礦物質含量方面，青貯 30 天時，所有添加物處理的鉀及鎂含量顯著低於對照組，如對照組中鉀含量為 0.60% 但所有處理組則介於 0.50 – 0.54% 達顯著性差異，鎂含量於對照組為 0.01%，其餘處理組為 0.07 – 0.08% 亦達顯著性差異；當青貯期延長為 60 天，各處理間鉀含量無顯著差異。在鎂含量方面，所有添加物處理組之鎂含量顯著低於對照組，當青貯期延長為 60 天時也有類似的趨勢，且 30 及 60 天均達顯著性差異。

II. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料中有機酸含量之影響

接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯品質之變方分析 (表 3)，顯示接種乳酸桿菌處理極顯著影響 pH 值、乳酸含量、乙酸含量、丁酸含量與乳酸、乙酸、丁酸含量之總和及費氏青貯品質評分，且乳酸與貯存天數亦達極顯著差異 ($P < 0.01$)；不同青貯時間顯著影響乙酸含量 ($P < 0.05$)，且在乳酸含量與乳酸、乙酸、丁酸含量之總和有極顯著之影響 ($P < 0.01$)；乳酸菌處理與不同青貯期在乙酸含量則有顯著交互效應 ($P < 0.05$) (表 3)。青貯 30 天時所有接種乳酸菌處理之乳酸含量顯著高於對照組與添加上一批稻穀粒之青貯料處理；青貯 60 天時仍是接種乳酸菌處理有較高的乳酸含量 (圖 1 上)，其中品系 ST12 處理 60 天後，其乳酸可達 1.45%；30 天亦可達 1.3%，顯示接種乳酸菌可使穀粒青貯料乳酸發酵程度增加，而品系 ST12 處理 60 天的效果較佳。接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料乙酸含量之影響 (圖 1 下)，青貯 30 天時所有添加物處理之乙酸含量均顯著低於對照組之 0.9% 乙酸含量，且添加上一批水稻穀粒青貯料之 MIX 處理之乙酸含量與接種乳酸菌處理幾乎無顯著

差異；雖然青貯 60 天時對照組、品系 ST12 與 ST15 處理之間無顯著差異，但仍可看出添加處理有較低乙酸含量的趨勢（圖 1 下）。接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料丁酸含量之影響（圖 2 上），只有對照組、添加上一批水稻穀粒青貯料（JO）處理與青貯 30 天之 ST12 處理檢測出含有丁酸，其餘接種乳酸菌處理皆無檢測出丁酸，顯示接種乳酸菌可大幅降低丁酸的產生（圖 2 上）。接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料乳酸、乙酸與丁酸含量總和之影響（圖 2 下），青貯 30 天與 60 天添加乳酸桿菌品系 ST12 處理與 ST15 處理與其他處理相比有較高之有機酸含量。

表 2. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料營養成分之影響

Table 2. Effects of lactic acid bacteria inoculation on the nutrition contents of Taichung Sen 17 rice grain silage

Ensiling day	Treatment	DM [#]	CP	WSC	NDF	ADF	Starch	P	K	Mg
		---- % ----	----- % of DM -----							
30	CKW	50.54 ^b	5.56 ^a	3.01 ^a	26.40 ^{ab}	16.16 ^{ab}	15.67 ^a	1.052 ^a	0.599 ^a	0.099 ^a
	ST3	51.17 ^a	4.89 ^{bc}	2.11 ^{bc}	22.43 ^c	15.26 ^c	15.48 ^{ab}	1.053 ^a	0.517 ^b	0.071 ^b
	ST12	51.67 ^a	4.76 ^c	1.34 ^d	23.77 ^{bc}	15.05 ^c	15.16 ^b	1.021 ^a	0.542 ^b	0.074 ^b
	ST15	51.72 ^a	4.80 ^c	1.51 ^{cd}	22.32 ^c	15.49 ^{bc}	15.50 ^{ab}	1.046 ^a	0.542 ^b	0.077 ^b
	MIX	51.33 ^a	4.98 ^{bc}	1.88 ^{bcd}	24.35 ^{bc}	15.52 ^{bc}	15.46 ^{ab}	1.030 ^a	0.515 ^b	0.076 ^b
	JO	47.139 ^c	5.37 ^{ab}	2.46 ^{ab}	28.48 ^a	16.45 ^a	15.85 ^a	1.025 ^a	0.504 ^b	0.074 ^b
	LSD	0.62	0.49	0.70	3.17	0.67	0.50	0.058	0.044	0.008
60	CKW	50.63 ^b	5.19 ^a	3.04 ^a	26.69 ^a	15.72 ^{ab}	16.13 ^a	0.981 ^a	0.618 ^a	0.084 ^a
	ST3	51.14 ^{ab}	4.42 ^c	1.69 ^b	22.55 ^{abc}	15.96 ^{ab}	15.45 ^b	1.259 ^a	0.615 ^a	0.071 ^b
	ST12	51.33 ^{ab}	4.66 ^{bc}	1.72 ^b	24.98 ^{ab}	15.42 ^b	15.86 ^{ab}	0.999 ^a	0.576 ^a	0.074 ^b
	ST15	51.68 ^a	5.03 ^{ab}	1.43 ^b	26.36 ^{ab}	15.78 ^{ab}	16.14 ^a	0.979 ^a	0.611 ^a	0.074 ^b
	MIX	51.54 ^{ab}	4.80 ^{abc}	1.39 ^b	19.65 ^c	15.96 ^{ab}	15.60 ^{ab}	0.977 ^a	0.589 ^a	0.073 ^b
	JO	47.34 ^c	4.71 ^{bc}	1.80 ^{ab}	22.49 ^{bc}	16.63 ^a	15.54 ^{ab}	0.973 ^a	0.567 ^a	0.069 ^b
	LSD	0.92	0.41	1.31	4.19	1.17	0.62	0.382	0.075	0.008

[#] DM, dry matter; CP, crude protein; WSC, water soluble carbohydrate; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; P, phosphorus; K, potassium; Mg, magnesium; CKW, just adding water; ST3, *Lactobacillus alimentarius*; ST12, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; ST15, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; Mix, mix ST3, ST12, ST15; JO, contain 5 g of the rice grain silage (the lactic acid and acetic acid concentration was 0.2404% and 0.9645%, respectively) from prior batch.

^{a, b, c, d} Means in the same ensiling day within the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

表 3. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料 pH 值及揮發性脂肪酸含量之變方分析

Table 3. ANOVA of pH value and contents of volatile fatty acids of Taichung Sen 17 rice grain silage inoculated with lactic acid bacteria

Source	DF [#]	Mean Square					
		pH	Lactic acid	Acetic acid	Butyric acid	L + A + B	Flieg's score
LAB treatment (L)	5	0.38 ^{**}	0.746 ^{**}	0.082 ^{**}	0.18000 ^{**}	0.723 ^{**}	3,821.4 ^{**}
Month (M)	1	0.04	0.439 ^{**}	0.029 [*]	0.00034	0.144 ^{**}	93.4
L × M	5	0.01	0.024	0.015 [*]	0.00026	0.012	88.4
Error	24	0.01	0.038	0.005	0.00419	0.020	94.0

[#] DF, degree of freedom; pH, pH value; L + A + B, sum of lactic acid, acetic acid and butyric acid; LAB, lactic acid bacteria.

^{*}, ^{**} Significant different was at 5% and 1% levels, respectively.

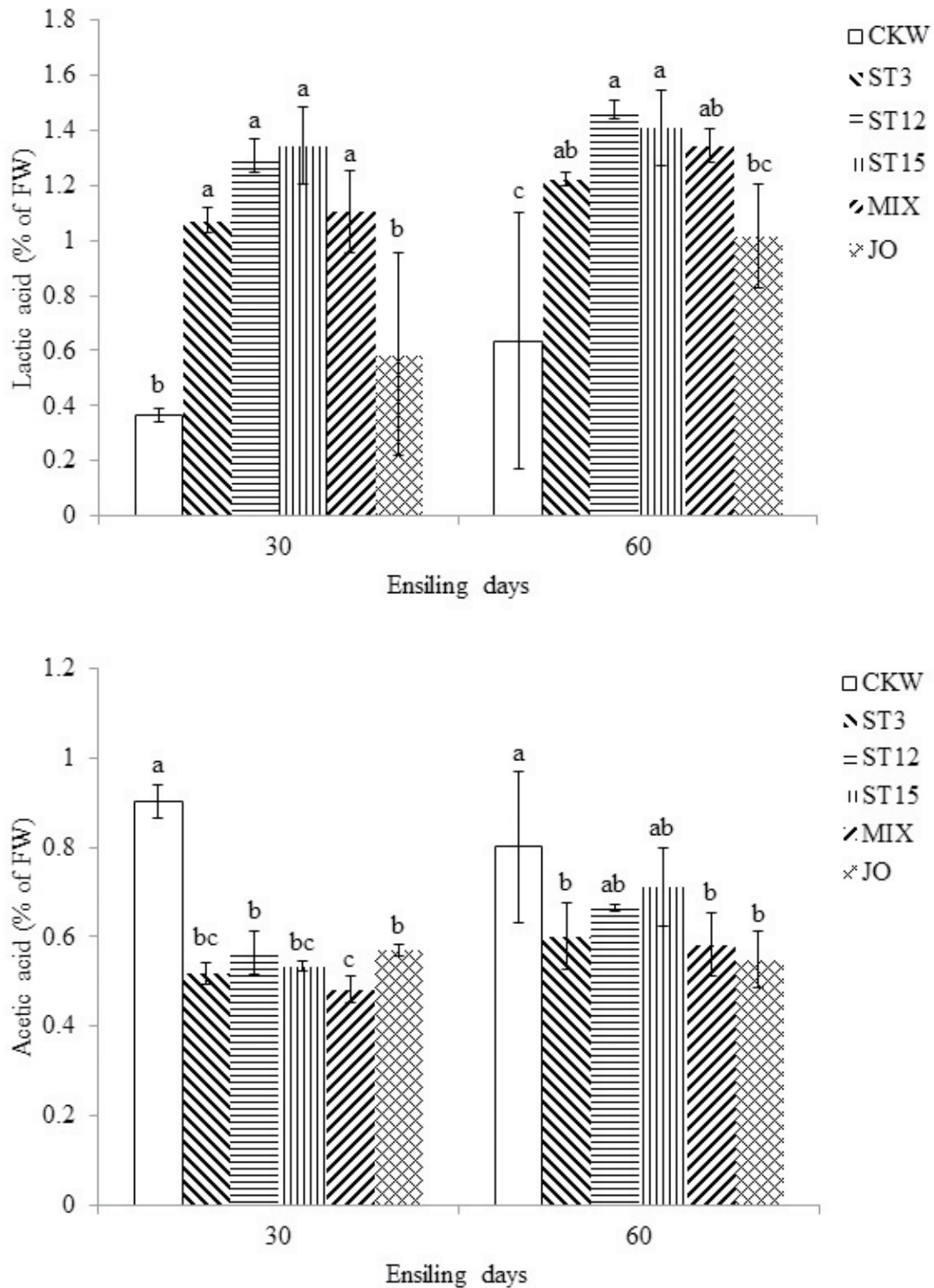


圖 1. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料乳酸 (上)、乙酸 (下) 含量之影響。

Fig. 1. Effects of lactic acid bacteria inoculation on the lactic acid (up) and acetic acid (down) contents of Taichung Sen 17 rice grain silage.

CKW, adding water; ST3, *Lactobacillus alimentarius*; ST12, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; ST15, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; Mix, mix ST3, ST12, ST15; JO, contain 5 g of the rice grain silage (the lactic acid and acetic acid concentration was 0.24% and 0.96%, respectively) from prior batch. a, b, c Means in the same ensiling day with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

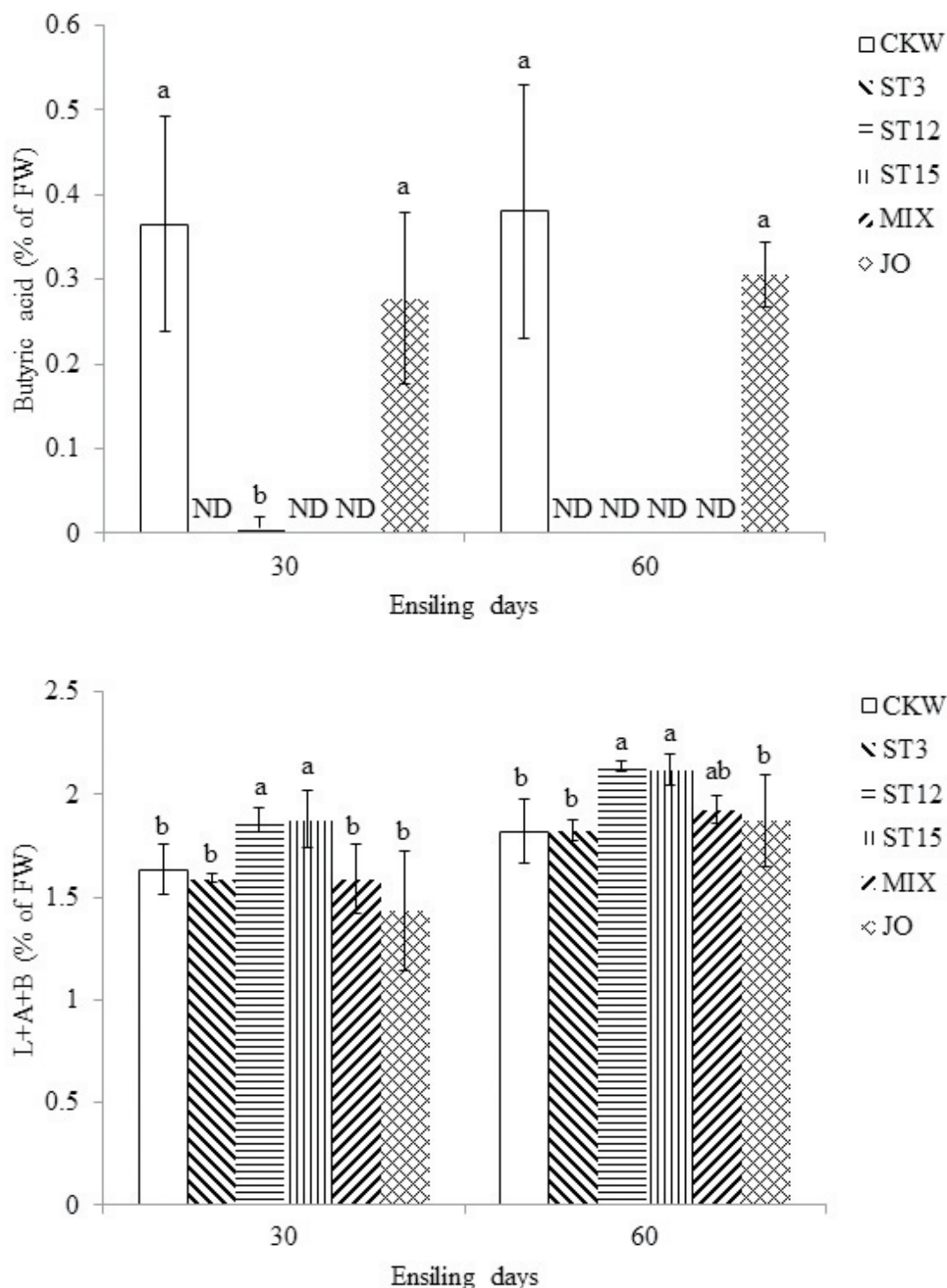


圖 2. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料丁酸 (上) 及乳酸、乙酸與丁酸含量總和 (下) 之影響。

Fig. 2. Effects of lactic bacteria inoculation on butyric acid (up) and sums of lactic acid, acetic acid and butyric acid contents (down) of Taichung Sen 17 rice grain silage.

CKW, adding water; ST3, *Lactobacillus alimentarius*; ST12, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; ST15, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; Mix, mix ST3, ST12, ST15; JO, contain 5 g of the rice grain silage from prior batch; ND, no detect. a, b Means in the same ensiling day with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料 Flieg's scores 之影響，顯示在青貯 30 天時所有接種乳酸菌處理之 Flieg's scores 顯著高於 CKW 與 JO 處理 (圖 3 上)，如青貯 30 天則之對照組 Flieg's scores 約為 22 分，JO 處理約為 Flieg's scores 35 分，其餘處理均可達 80 分以上，顯示如果在製作水稻穀粒青貯料時接種乳酸菌，在青貯 30 天時其青貯品質已達到 Flieg's scores 品質「良好」等級，且青貯 60 天有相同之結果。

接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料 pH 值之影響，顯示青貯 30 天時 CKW 有最高的 pH 值 4.45，所有添加物處理 pH 值約 3.8 左右，皆顯著低於 CKW (圖 3 下)；在 60 天時所有接種乳酸菌處理的 pH 值顯著低於 CKW 組之 pH 4.4，因添加上 JO 處理之 pH 值些微降低，只剩下接種 ST3 處理與 JO 處理有差異，顯示接種乳酸桿菌品系 ST3、ST12、ST15 及 MIX 組合均可促使穀粒青貯料 pH 值降低並穩定青貯品質。

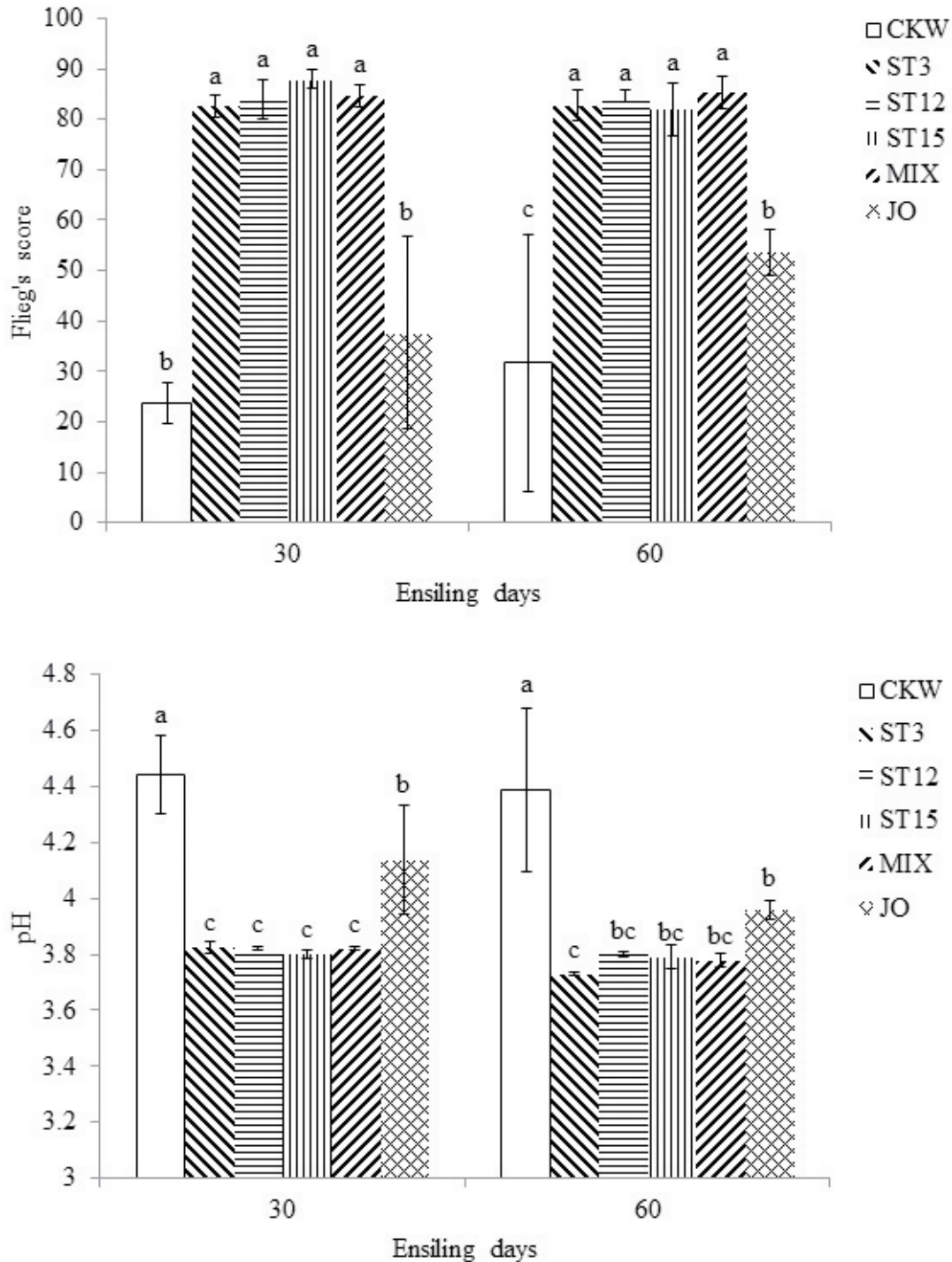


圖 3. 接種乳酸菌對臺中秈 17 號水稻穀粒青貯料 Flieg's scores (上) 及 pH 值 (下) 之影響。

Fig. 3. Effects of lactic acid bacteria inoculation on the Flieg's scores (up) and pH value (down) of Taichung Sen 17 rice grain silage.

CKW, adding water; ST3, *Lactobacillus alimentarius*; ST12, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; ST15, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*; Mix, mix ST3, ST12, ST15; JO, contain 5g of the rice grain silage from prior batch. a, b, c Means in the same ensiling day with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

討 論

在製作青貯料時，無不以成本為考量的因素之一，在眾多添加物中，因添加乳酸菌可使青貯料中的乳酸菌數增多，成為較優勢的菌種，使封存後之青貯料乳酸含量增加，pH 值迅速降低並抑制丁酸的產生。其中，乳酸菌種類與接種的濃度皆為需要進行試驗的項目。以全株水稻為例，如將收穫的全株水稻材料直接進行青貯，通常只能獲得依照 Flieg's scores 品質分級之「可接受」(Flieg's scores 40 – 60 分)等級之青貯料(王及陳，2008；Maruyama *et al.*, 2005; Sung *et al.*, 2011)。學者亦曾以水稻穀粒添加至 20% 水分含量，則水稻穀粒青貯料可達 Flieg's scores 50 – 78 分(陳等，2016)。陳等(2019)亦指出水稻穀粒破裂程度能降低水稻穀粒青貯料之 pH 值、增加有機酸含量、提高發酵程度。Tohno *et al.* (2012) 使用四個乳酸桿菌 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*) 進行全株水稻青貯料試驗，結果顯示雖然四個乳酸菌皆為相同亞種 (subspecies) 菌株，但其品系特性 (strain-dependent) 仍然有差異，並提出應該依材料選擇適合的菌株接種到材料中，才可維持高品質青貯料。本研究使用乳酸菌為行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所從青貯料、醃漬食品、酸乳、水果、堆肥及動物糞便中分離之優良乳酸菌：ST3、ST12 與 ST15，且在王等(2014)水稻全株青貯料試驗中有良好之添加效果。經過乳酸菌生長曲線試驗顯示，其生長速率由快至慢分別為 ST12 > ST15 > ST3，如果能更快速的生長表示其能更快的產生大量的乳酸，ST12、ST15 處理的乳酸含量與乳酸、乙酸與丁酸含量總和略高於 ST3 處理，推測這生長速率的差異可能會造成接種不同菌株處理間青貯品質的差異。無論在青貯 30 天或 60 天皆可以觀察到接種乳酸菌處理之粗蛋白含量、水溶性碳水化合物與中纖維含量低於只添加水的對照組(表 2)。陳等(2000)指出，青貯過程中於發酵期時，微生物發酵會造成乾物質 3 – 8% 損失。此等結果亦與王及陳(2014)分析青刈玉米青貯後其乾物質呈現下降的結果一致。本試驗接種乳酸菌處理之 pH 值皆至 4.0 以下，顯示雖然接種乳酸菌消耗些許營養成分，但會增加水稻穀粒青貯料之發酵程度。造成 pH 下降之因素為顯著提高的乳酸含量，且因為生長速率的差異可能導致 ST12、ST15 處理的乳酸含量與乳酸、乙酸與丁酸含量總和略高於 ST3 處理(圖 1、圖 2)。這些快速且大量的乳酸也確實抑制了丁酸菌的生長，所以在接種乳酸菌處理的水稻穀粒青貯料中，檢測不到丁酸含量(圖 4)。因為接種乳酸菌處理之乳酸含量高、丁酸含量低，參照許等(1995)整理之 Flieg's scores 評分表，所有接種乳酸菌處理之費氏青貯品質評分皆為優良之 80 分以上，顯示乳酸菌為提升並穩定水稻穀粒青貯品質的必要因素。本試驗將水稻穀粒接種乳酸菌後青貯 30 天，可降低水稻穀粒青貯料的 pH 值、增加乳酸含量並抑制丁酸的產生，此與 Uegaki *et al.* (2010)、Inoue *et al.* (2013) 提出將水稻穀粒粉碎並添加乳酸菌進行青貯，能有效地提高水稻穀粒青貯料發酵品質之論點符合。

結 論

本研究旨在探討水稻穀粒青貯料的製作方法，並以其營養成分變化與有機酸含量多寡，探討其發酵結果，並改善其發酵品質。接種乳酸菌處理後，可以增加水稻穀粒青貯料之乳酸含量，並抑制丁酸的產生。因此，為了調製優良水稻穀粒青貯料，可接種乳酸菌後再進行封裝，青貯 30 天後則可獲得費氏青貯品質評分 80 分以上之優良水稻穀粒青貯料。

誌 謝

本試驗期間承臺南區農業改良場嘉義分場提供水稻品種、畜產試驗所恆春分所提供乳酸菌品系及畜產試驗所飼料作物組前組長許福星博士及成游貴博士之建議，謹申萬分謝忱。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇。2008。成熟度、接種處理與青貯保存時間對全株水稻青貯品質的影響。畜產研究 41：153-162。
- 王紓愍、陳嘉昇。2014。堆積、裝填密度與貯存時間對玉米青貯發酵品質及開封後穩定性的影響。畜產研究 47：187-194。
- 王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2014。接種篩選乳酸菌對水稻全株青貯發酵品質的影響。畜產研究 47：17-24。
- 行政院農業委員會。2017。中華民國 105 年農業統計年報：稻米。臺北市。p. 24。

- 行政院農業委員會。2018。農業統計資料查詢。agric.coa.gov.tw。
- 臺灣農業年報。1977。光復後歷年主要農作物生產情形比較。農復會。臺北市。p. 4。
- 許福星、成游貴、李美珠。1995。芻料作物生產及利用。臺灣省畜產試驗所專輯第 25 號。臺南市。p. 28。
- 陳嘉昇、張定偉、王紓愍、成游貴。2000。牧草品質與品質快速測定。行政院農業委員會畜產試驗所專輯第 72 號。臺南市。p. 11。
- 陳柏佑、侯金日、盧啟信、林正斌。2016。水稻穀粒添加不同水分含量之影響。畜產研究 49：278-284。
- 陳柏佑、侯金日、盧啟信、林正斌。2019。粉碎水稻穀粒對青貯發酵品質之影響。中華民國雜草學會會刊(刊印中)。
- Flieg, O. 1938. A key for the evaluation of silage samples. Futterbau und Gierfutterbereitung 1: 112-128.
- Inoue, H., M. Tohno, H. Kobayashi, M. Matsuo, Y. Kojima, T. Ibuki and R. Uegaki. 2013. Effects of moisture control, addition of glucose, inoculation of lactic acid bacteria and crushing process on the fermentation quality of rice grain silage. Grassland Sci. 59(2): 63-72.
- Ki, K. S., M. A. Khan, W. S. Lee, H. J. Lee, S. B. Kim, S. H. Yang, K. S. Baek, J. G. Kim and H. S. Kim. 2009. Effect of replacing corn silage with whole crop rice silage in total mixed ration on intake, milk yield and its composition in Holsteins. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22: 516-519.
- Maruyama, S., I. Yokoyama, H. Asai, S. Sakaguchi, T. Ohtani, H. Yokota and K. Kita. 2005. Influence of ripening stages on the quality of whole crop silage and grain silage of fodder rice. Asian-austral. J. Anim. Sci. 18(3): 340-344.
- Nishino, N., H. Wada, M. Yoshida and H. Shiota. 2004. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. J. Dairy Sci. 87(8): 2563-2570.
- Olsen, S. R. and L. A. Dean. 1965. Phosphorus. In: Method of Soil Analysis. part 2. eds Black, C. A.. Am. Soc. Agrono. Inc., Madison, Wisconsin, pp. 1035-1048.
- Thomas, G. W. 1985. Exchangeable cation. In: Method of Soil Analysis. part 2. eds Page, A. L.. Am. Soc. Agron0. Inc., Madison, Wisconsin. pp. 159-165.
- SAS Institute. 2004. SAS for Windows, version 9.1. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sung, G. C., J. B. Lin, S. R. Chung, J. C. Lo and T. L. Chen. 2011. Evaluating silage quality of rice genotypes for forage use. Crop, Environ. Bioinf. 8(1): 39-44.
- Tohno, M., H. Kobayashi, K. Tajima and R. Uegaki. 2012. Strain-dependent effects of inoculation of *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* on fermentation quality of paddy rice (*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*) silage. FEMS Microbiol. Lett. 337(2): 112-119.
- Uegaki, R., K. Shigeta, M. Ogawa, H. Kobayashi, M. Tohno and Y. Cai. 2010. Effect of processing on fermentative quality of forage rice plants as rice soft grain silage. Nihon Chikusan Gakkaiho 81: 353-362. (In Japanese with English abstract.)

Effect of *Lactobacillus* spp. inoculation on the silage quality of rice (*Oryza sativa* L.) grain ⁽¹⁾

Bo-You Chen ⁽²⁾ Chin-Jin Hou ⁽²⁾ Chi-Hsin Lu ⁽³⁾ and Jeng-Bin Lin ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Received: Mar. 7, 2019; Accepted: Apr. 26, 2019

Abstract

In order to improve the problem of sale public stock rice grains as feeds source which had been stored for a long time and the quality of grains became bad. The grains of Taichung Sen 17 (TCS17) were ensiled for 30 and 60 days used to investigate the influence of lactic acid bacteria (*Lactobacillus* spp.) inoculated for rice grain ensiling to provide information for ruminant farmers. The nutrition contents analysis of rice grain silage were determined 30 and 60 days after ensiling, respectively. Analysis included crude protein (CP), water soluble carbohydrate (WSC), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), starch and phosphorous, potassium and magnesium of mineral content. The pH value and the volatile fatty acid i.e. lactic acid, acetic acid and butyric acid were determined. The results showed that the pH 3.8 of inoculated with *Lactobacillus* spp. was lower than pH 4.4 of control with water (CKW) treatment. The lactic acid reached to 1.1% and inhibited the butyric acid to produce when *Lactobacillus* spp. was inoculate to grain before ensiling. The pH value and Flieg's scores of rice grain silage were about 3.80 and 80 points 30 days after ensiling, respectively. The Flieg's scores of grain silage inoculated with line ST15 of *Lactobacillus* spp. was 89 points higher than that of CKW treatment with 23 points. Results of ensiling for 60 days of all treatments were the same as those of ensiling for 30 days. The results suggested that inoculation with *Lactobacillus* spp. on ensiling could effectively enhance the quality of rice grains silage .

Key words: Rice grain silage, *Lactobacillus* spp., Flieg's scores.

(1) Contribution paper No. 2609 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Department of Agronomy, National Chyiai University, Taiwan, R.O.C.

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

(4) Technical Service Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

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

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⁽¹⁾

楊深玄⁽²⁾ 莊璧華⁽²⁾ 塗建銘⁽³⁾ 成游貴⁽⁴⁾ 蘇安國⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：108 年 2 月 14 日；接受日期：108 年 5 月 6 日

摘 要

本研究旨在探討伊莎 (Isa) 蛋雞日糧中添加狼尾草粉與苜蓿顆粒粉對其產蛋性狀、蛋黃顏色及血液生化值之影響。試驗採用 21 週齡之伊莎蛋雞 90 隻分別飼養於長 36 cm × 寬 30 cm × 高 42 cm 之個別籠中，並逢機均分為 3 個處理組，每處理組 3 重複，每重複 10 隻。分別餵飼添加 5% 狼尾草粉 (A 組)、添加 5% 苜蓿顆粒粉 (B 組) 及玉米—大豆粕為主之基礎飼糧 (C 組，對照組)，三組均為含 CP 17.0% 與 ME 3,000 kcal/kg 之等蛋白質與等代謝能的飼糧。試驗期為 21 — 40 週齡，水與飼料採任食並記錄其採食量、體重及個別產蛋數，於第 25、29、33、37 週齡收集蛋，供分析蛋品質與蛋黃顏色。並於第 25 與 40 週齡採集血樣，進行血液生化值之分析。結果顯示，三組間雞隻之死亡率、採食量、平均體重、隻日產蛋率及平均蛋重均無顯著差異。羅氏蛋黃比色扇值惟在蛋雞 25 週齡時，採食添加狼尾草粉組顯著較其他二組為高 ($P < 0.05$)。在蛋黃 L、a 及 b 值方面，僅 L 值在 25、29 及 33 週齡時，以狼尾草粉組者為最明亮 ($P < 0.05$)。在三組血液生化值方面，僅血中總鈣濃度於三組間有顯著差異 ($P < 0.05$)，採食添加苜蓿顆粒粉組者之蛋雞，有最低的血中總鈣濃度。此外，採食添加苜蓿顆粒粉組者之蛋雞，有較低的血中總膽固醇、三酸甘油酯、高密度膽固醇及低密度膽固醇濃度之趨勢。另在蛋黃內含葉黃素與 β -胡蘿蔔素濃度方面，採食 5% 苜蓿顆粒粉與 5% 狼尾草粉組者，含葉黃素與 β -胡蘿蔔素濃度遠多於對照組 1 — 2 倍以上 ($P < 0.05$)。本研究結果顯示，添加 5% 狼尾草粉或 5% 苜蓿顆粒粉於蛋雞飼糧中，對伊莎蛋雞產蛋性狀與血液生化值均無顯著影響。惟在蛋雞的生產階段，其蛋黃內含 β -胡蘿蔔素濃度顯著較多，是具有推廣潛力可做為提升蛋黃色素添加物之替代方案。

關鍵詞：伊莎蛋雞、狼尾草粉、苜蓿顆粒粉、蛋黃顏色。

緒 言

一般而言，蛋黃顏色之深淺受飼料中所含的類胡蘿蔔素 (Carotenoid) 成分 (NRC, 1994) 或是類葉黃素 (Xanthophyll) 成分所影響，而以葉黃素 (Lutein) 與玉米黃素 (Zeaxanthin) 等成分貯存於蛋黃之中 (Hadden *et al.*, 1999; Helen *et al.*, 2012; Sandeski *et al.*, 2014)，此係蛋雞本身無法自行合成類胡蘿蔔素所致。類胡蘿蔔素可以提供家禽蛋黃橘黃顏色之呈色 (Galobart *et al.*, 2004)，也提供皮膚、腳脛及鳥喙等之顏色表現，惟飼糧中額外添加類胡蘿蔔素僅些微百分比即可改變蛋黃顏色 (NRC, 1994)，且消費者在採購雞蛋時，均偏好蛋黃顏色較深之蛋品 (Blount *et al.*, 2000; Herber-McNeill and Van Elswyk, 1998; Spada *et al.*, 2016)。

在現今消費者追求健康食材的年代中，添加天然類葉黃素原料於蛋雞飼料中已蔚為研究趨勢。過去報告顯示，在蛋雞飼糧中添加 30 — 40 mg/kg 金盞花粉可有效改善蛋黃之呈色 (Kanda *et al.*, 2011)。利用銀合歡葉與牧草葉提供 10 — 20 mg/kg dihydroxyxanthophyll (DHX) 於蛋雞飼糧中，可使雞蛋蛋黃顏色之羅氏蛋黃比色扇值 (Roche Color Score) 與 β -胡蘿蔔指數 (Beta carotene equivalent, Bce) 有顯著性的差異 (Berry and D'Mello, 1981)。一般而言，深綠色植物葉株含相當多的葉黃素，因此常被使用於放牧蛋雞生產模式中以增加雞蛋的附加價值。家禽飼糧使用脫水苜蓿粉，係因含有豐富的胡蘿蔔素、葉黃素、玉米黃素、維生素 K、E 及其他維生素，除了提供肉雞皮膚與腿肉色澤及

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2610 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(3) 行政院農業委員會畜牧處。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。

(5) 通訊作者，Email：aksu@mail.tlri.gov.tw。

提供雞蛋蛋黃所需的呈色，亦可阻止人類眼睛因老化所造成的黃斑退化 (Macular degeneration) 發生，故利用天然色素提高蛋黃呈色除可增加賣相外，亦可提升蛋品的附加價值及保健功能。此外，苜蓿碎屑因其含有高量纖維與原料較近於蛋雞後期所需之蛋白質百分比，而常被用於蛋雞換羽期間飼料原料之一 (Dunkley *et al.*, 2008)。若於鴨隻飼糧中添加苜蓿粉，其鮮鴨蛋與鹹蛋之羅氏蛋黃比色扇值與隻日產蛋率，皆以添加 9% 苜蓿粉處理組最高且有顯著差異。但對於蛋重、產蛋飼料轉換率、飼料採食量及蛋殼強度，各處理組間無顯著差異 (陳等, 2003)。Laudadio *et al.* (2014) 發現在伊莎蛋雞前期飼糧中，以短纖苜蓿草取代飼糧大豆粕蛋白質來源時，不會影響其產蛋率與蛋品品質，但卻顯著影響蛋黃顏色、蛋黃百分比及 β -carotene 濃度，也減少血中膽固醇濃度，此與 Carrasco *et al.* (2016) 以苜蓿青貯打粒後，飼養蛋雞所得蛋黃低膽固醇濃度與高飽合脂肪酸的結果相似。Deng *et al.* (2011) 利用萃取苜蓿之液體添加於蛋雞飼糧發現，其可改善蛋殼強度，且其血液與蛋黃中之高密度膽固醇、三酸甘油酯均比不添加的對照組為低，惟其採食量隨苜蓿液體之添加量增多而減少，此可能為苜蓿皂素的苦澀影響其採食量所致。Fan *et al.* (2018) 以 120 mg/kg 苜蓿皂素添加於蛋雞飼糧時發現，苜蓿皂素確可降低蛋雞血液中高密度膽固醇與三酸甘油酯之濃度，此是藉由苜蓿皂素增加調節蛋雞肝中的運輸因子所致。爰此，本試驗擬添加狼尾草粉與苜蓿粒粉於蛋雞飼糧中，期能以自然的色素，改善蛋雞雞蛋呈色，提升其產品附加價值，增加業者收益。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗設計

使用 90 隻伊莎 (Isa) 蛋雞為試驗動物，以個別籠飼飼養，飼養籠大小為長 36 cm × 寬 30 cm × 高 42 cm，試驗期自 21 週齡起至 40 週齡，供給照度 10 – 20 lux 16 小時之長光照 (16L:8D)。蛋雞逢機均分為三組，分別餵飼添加 5% 狼尾草粉 (臺畜草三號，於 55°C 烘乾 48 小時，磨粉) (A 組)、添加 5% 苜蓿顆粒粉 (B 組) 及玉米—大豆粕基礎飼糧之對照組 (C 組) 等三組試驗處理組。

試驗期間飼料及飲水任食，基礎飼糧依 NRC (1994) 與 Isa 商用蛋雞營養需求手冊建議量調配 (表 1)，三組飼糧計算值接近等蛋白質 CP 17.0% 與等代謝能 ME 3,000 kcal/kg。記錄採食量、產蛋率、蛋重及產蛋等性狀。並於第 25、29、33、37 週齡，收集雞蛋檢測其蛋品品質，並於第 25 與 40 週齡採集血樣進行血液生化值分析。

II. 檢測項目與方法

- (i) 試驗飼糧依照 AOAC (1995) 進行飼料一般成分分析。
- (ii) 記錄試驗期間每隻雞之產蛋性能與測量蛋重，以計算產蛋率及平均蛋重。
- (iii) 試驗期間每隔 4 週各處理組逢機抽取 10 顆蛋進行蛋品質分析，共計測量 30 顆蛋。
- (iv) 蛋形指數測定：以電子數位游標卡尺測量蛋之小端至大端之距離為長軸，蛋中間位置最寬之距離為短軸，而蛋形指數 (egg shape index) 依 Romanoff and Romanoff (1949) 所述為 $100 \times (\text{短軸} / \text{長軸})$ 。
- (v) 蛋殼性狀：以蛋殼強度計 (Model HT-8116, Hung Ta Instrument Co., LTD.) 測定之。破蛋後取出蛋殼秤重，並以 FHK 蛋殼厚度計逢機選取 3 個點測量蛋殼厚度。
- (vi) 蛋黃顏色評分測定：採用羅氏蛋黃比色扇 (Roche Color Fan, 1 – 15 級) 測定，由目視判定各組之蛋黃級數，並依蛋黃顏色由淺至深，給予 1 – 15 級。除了目視判定外亦採用 Lyon *et al.* (1980) 之方法，另以色差計 (Super color SP-80, Tokyo Denshoku Co., Japan) 測定蛋黃顏色，色差評定根據國際照明委員會 (The International Commission on Illumination, CIE) 推薦的標準色差公式併採用儀器測量計算，以精確的數字來表示。以 L 值代表亮度 (lightness)，a 值代表紅綠方向顏色變化，+a 表示向紅色方向變化，-a 表示向綠色方向變化。b 值代表黃藍方向顏色變化，+b 表示向黃色方向變化，-b 表示向藍色方向變化。
- (vii) 蛋白豪氏單位 (Haugh unit)：測定方法是破蛋後置於平板上，測定濃厚蛋白高度 (mm)，再與蛋重比較，以計算式算出數值，其公式為 $HU = 100 \times \log (H - 1.7 W^{0.37} + 7.6)$ 。
- (viii) 試驗期間 37 週齡時各組逢機選取 3 顆樣蛋，以高效能液相層析 (high performance liquid chromatography, HPLC) 測定蛋黃中葉黃素與 β -胡蘿蔔素含量，質譜分析主要是利用游離步驟將樣品中的化合物斷裂成快速移動的氣態離子，然後根據其質量電荷比 (m/z) 加以分離得質譜，檢測方法參照行政院衛生署於 97 年 12 月 5 日署授食字第 0971800459 號令發布酒類中葉黃素檢測方法。
- (ix) 血液生化值分析：試驗於 25 與 40 週齡，每處理組取 6 隻；以經肝素 (heparin) 處理之注射針筒，由翼下靜脈採血 5 mL。採得血液經遠心分離機 (Kubota 5800) 4°C、3,000 rpm，15 分鐘離心所得之血漿貯存於 -20°C 冷凍櫃中，血清中之總膽固醇 (total cholesterol, T-Chol)、三酸甘油酯 (triglyceride)、高密度膽固醇 (high

density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度膽固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、總蛋白質 (total protein)、白蛋白 (albumin)、總鈣 (calcium, Ca)、總磷 (phosphorus, P) 等濃度及丙酮酸轉胺酶 (glutamic phosphate transaminase, GPT) 酵素活性, 均以乾式血清生化分析儀 (Spotchem SP-4410, Arkray, Japan) 及其各項生化套組測定之。

III. 統計分析

試驗所得之各項資料使用統計分析系統 (Statistical Analysis System; SAS, 2003) 的套裝軟體, 以 GLM (General Linear Models) 程序進行變方分析, 並以最小平方平均值 (Least Squares Means) 估計並比較處理組間平均值的差異顯著性。迴歸分析則用 SAS (2003) 之 REG 程序 (Regression Procedure) 進行分析。

結果與討論

本試驗基礎飼糧配方之營養組成是參考 NRC (1994) 與 Isa 商用蛋雞營養需求手冊建議量調配 (表 1), 本試驗進行期間並無蛋雞死亡, 故不同飼糧處理組間雞隻之死亡率並無差異。飼糧中添加 5% 狼尾草粉與 5% 苜蓿顆粒粉組, 對伊莎蛋雞的採食量與產蛋性狀之影響如表 2 所示。結果顯示, 在三組蛋雞每日飼料採食量方面, 飼糧中添加 5% 狼尾草粉、5% 苜蓿顆粒粉組及對照組其分別為 106.5 g、105.2 g、104.4 g, 其組間無差異存在, 此與陳等 (2003) 在鴨隻飼糧添加 9% 苜蓿粉之結果相似。惟有添加植物碎粉之處理組, 其採食量似乎有高於對照組之趨勢。在雞隻飼糧中添加植物碎粉, 可增進雞隻食慾與飼料消化率。然添加苜蓿植株可能因其植株內所含之皂素苦澀影響其採食量 (Deng *et al.*, 2011), 惟本試驗所使用是苜蓿顆粒粉, 在苜蓿粒製作過程中可能因苜蓿植株經由磨粉打粒擠壓後, 降低了苜蓿皂素的影響程度。在產蛋性狀方面, 三組蛋雞從 21 – 40 週齡之產蛋期間其體重均有增加情況產生, 其分別為 260.7 g/bird、311.7 g/bird、366.2 g/bird, 其組間無差異存在, 惟採食對照組者, 似乎體重有較重之趨勢, 其原因可能因其飼糧全為精料, 粗纖維含量較低或許因此有較佳的飼糧粗蛋白質與代謝能利用率所致。

在產蛋率與平均蛋重方面, 如表 2 所示, 三組分別為 81.5% 與 60.5 g、84.0% 與 60.5 g 以及 84.3% 與 59.7 g, 其組間均無差異存在, 此與苜蓿粉使用於鴨隻飼糧與茶渣使用於蛋雞飼糧之試驗結果相似 (陳等, 2003; Kaya and Yildirim, 2011)。在蛋殼品質方面, 如表 3 所示, 三組之蛋殼強度、殼重比例及殼厚度在第 25、29、33 及 37 週齡時均無顯著差異, 此與陳等 (2003) 之結果相以, 採食飼糧添加 5% 植物碎粉組者, 在 25 – 37 週之產蛋期間其蛋殼品質並無隨產蛋週齡增加而漸減。一般而言, 蛋雞在定量採食鈣質供應下, 隨著年齡漸增而產下較大的蛋, 致使蛋殼品質就會逐漸下降 (Roland *et al.*, 1975)。本試驗組之蛋殼品質無下降之趨勢, 其可能原因為飼糧中之 5% 植物碎粉, 雖有草酸鈣鍵結之疑慮, 唯尚可些微補充部分外源鈣質之來源所致。

在蛋品質方面, 各階段週齡之平均蛋形指數、蛋黃百分比及蛋白豪氏單位, 如表 4 所示。蛋形指數與蛋黃百分比, 在三組間無統計上差異。在蛋白豪氏單位方面, 試驗蛋雞於 25 與 29 週齡之階段其組間有差異存在 ($P < 0.05$)。蛋雞採食對照組飼糧者, 在前期其蛋白豪氏單位顯著優於兩試驗組。其結果與 Kara *et al.* (2016) 使用 6% 葡萄渣飼養蛋雞之蛋白豪氏單位優於對照組之結果相似 (85.87 vs. 82.71)。

羅氏蛋黃比色扇評分在 25、29、33 及 37 週齡各處理組間, 僅於試驗之第 25 週有顯著差異 ($P < 0.05$)。採食添加 5% 狼尾草粉與 5% 苜蓿顆粒粉組對 Isa 蛋雞羅氏蛋黃比色扇評分, 在上述採樣週齡時有較優於對照組之趨勢。在蛋黃 L、a 及 b 值方面, L 值在 25、29 及 37 週齡, 三組間有顯著差異 ($P < 0.05$), 採食添加 5% 狼尾草粉者, 其蛋黃明亮度顯著高於其他二組。a 及 b 值在本試驗之調查週齡期間, 均無組間差異存在 (表 5), 惟採食添加 5% 狼尾草粉者, 其所生產的雞蛋蛋黃似乎有較紅且較黃之趨勢。

在 25 與 40 週齡三組之血液生化值分析結果如表 6 所示, 僅血中總鈣濃度於 40 週齡時三組間有顯著差異 ($P < 0.05$), 對照組顯著高於其他二組試驗組。而其餘如丙酮酸轉氨酶、總膽固醇、三酸甘油酯、高密度膽固醇、低密度膽固醇、總蛋白質及白蛋白等在各處理組間均無顯著差異 (表 6)。顯示, 蛋雞分別餵以添加 5% 狼尾草粉、添加 5% 苜蓿顆粒粉及玉米-大豆粕為基礎日糧之對照等飼料並不會影響血液生化值之變化。

雞蛋 37 週齡之試驗結果, 蛋黃內葉黃素三組分別為 13.2、14.6、11.7 μg 與 β -胡蘿蔔素濃度 4.3、5.1、1.8 μg 。顯示兩試驗組之雞蛋蛋黃內葉黃素濃度與 β -胡蘿蔔素濃度皆顯著 ($P < 0.05$) 高於對照組 (表 7)。此結果與以綠花椰菜莖餵飼蛋雞時發現, 其可增加蛋黃內葉黃素之試驗相似 (Hu *et al.*, 2011)。本試驗結果顯示, 飼糧中添加 5% 狼尾草粉或 5% 苜蓿顆粒粉, 在蛋黃中皆含有較高濃度的葉黃素與 β -胡蘿蔔素, 可能可以成為生產健康蛋品之蛋雞飼料原料, 是具有推廣生產健康蛋品的潛力方法之一。

表 1. 產蛋期試驗飼糧配方

Table 1. The composition of the experimental diets trial during laying period

Items	A	B	C
	----- % -----		
Corn	35.5	37.0	51.5
Full fat whole soybean	12.0	11.0	9.0
Soybean meal	19.5	19.0	23.0
Dicalcium phosphate	1.6	1.6	1.7
Oyster Shell	9.1	9.1	9.0
Oil	6.5	6.5	5.0
Salt	0.5	0.5	0.5
Vitamin premix ^a	0.1	0.1	0.1
Mineral premix ^b	0.1	0.1	0.1
Methionine	0.1	0.1	0.1
Rice bran	10.0	10.0	0.0
Alfalfa pellet powder	0.0	5.0	0.0
Napier grass powder	5.0	0.0	0.0
Analyzed			
Dry matter, %	91.1	90.8	90.6
Crude protein, %	17.3	16.9	17.0
MEc, kcal	3,028	3,012	3,000
Crude fiber, %	6.0	4.5	3.1
Ca, %	3.9	4.0	4.1
TP, %	0.7	0.7	0.6
AP, %	0.4	0.4	0.4

A = Napier grass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

^a Provided the following contents per kg of diet: Vitamin A, 10,000 IU; Vitamin D₃, 1,000 IU; Vitamin E, 25 IU; Vitamin K, 3 mg; thiamin 3 mg; riboflavin, 5 mg; pyridoxine, 3 mg; Vitamin B₁₂, 0.03 mg; Ca-pantothenate, 10 mg; niacin, 50 mg; biotin (1.0%), 0.1 mg; folic acid, 3 mg.

^b Provided the following contents per kg of diet : Mn, 60 mg (MnSO₄H₂O); Zn, 60 mg (ZnO); Cu, 5 mg (CuSO₄5H₂O); Fe, 70 mg (FeSO₄7H₂O); Se, 0.1 mg (Na₂SeO₃).

表 2. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎蛋雞產蛋性狀之影響 (21 — 40 週齡)

Table 2. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on laying proformanc of Isa hens (21-40 weeks) n = 30

Items	A	B	C	SE
Mortality, %	0	0	0	
Days in trail, d	147	147	147	
Start egg production rate, %	70.0	73.3	70.0	
Start egg weight, g	56.3 ± 5.3	55.4 ± 6.0	57.3 ± 6.8	6.0
Start body weight, g	1,624.5 ± 99.1	1,588.9 ± 89.7	1,595.7 ± 66.4	85.1
End body weight, g	1,885.2 ± 132.2	1,900.6 ± 206.7	1,961.9 ± 186.9	175.3
Body weight gain, g/bird	260.7 ± 154.1	311.7 ± 182.5	366.2 ± 193.5	76.7
Daily feed intake, g/hen/day	106.5 ± 13.1	105.2 ± 12.1	104.4 ± 8.1	11.1
Average egg production rate*, %	81.5 ± 4.1	84.0 ± 8.2	84.3 ± 9.1	7.1
Average egg weight, g/egg	60.5 ± 7.6	60.5 ± 8.1	59.7 ± 6.5	7.4
Average egg mass**, g/egg	49.3 ± 6.9	50.8 ± 8.3	50.3 ± 8.2	7.7

A = Napiergrass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

* Average egg production rate = (egg number / egg days) × 100.

** Average Egg mass = (egg number × egg weight) / egg days.

表 3. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎蛋雞蛋殼品質之影響

Table 3. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on the egg shell quality of Isa hens

Weeks of age	A	B	C	SE
----- Egg shell strength , kg/cm ² -----				
25	3.8 ± 1.1	3.7 ± 1.0	3.7 ± 1.0	1.0
29	4.0 ± 0.8	3.7 ± 1.1	3.8 ± 1.0	1.0
33	3.7 ± 0.9	3.8 ± 0.8	3.8 ± 0.7	0.8
37	3.9 ± 0.8	3.9 ± 0.8	3.4 ± 0.7	0.8
----- Egg shell percentage (egg shell weight/egg weight) , % -----				
25	10.1 ± 1.0	9.7 ± 1.4	10.2 ± 1.2	1.2
29	10.2 ± 1.3	9.9 ± 1.2	10.0 ± 0.9	1.1
33	9.7 ± 0.7	9.7 ± 0.9	9.4 ± 0.8	0.8
37	9.7 ± 0.7	9.6 ± 0.91	9.4 ± 0.8	0.8
----- Egg shell thickness, mm -----				
25	0.39 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.03
29	0.40 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.04
33	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.03
37	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.03

A = Napier grass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

表 4. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎蛋雞蛋品質之影響

Table 4. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on the egg quality of Isa hens

Weeks of age	A	B	C	SE
----- Egg shape index [*] , % -----				
25	78.3 ± 2.3	77.8 ± 2.2	78.3 ± 2.7	2.4
29	79.2 ± 3.0	79.1 ± 2.5	77.8 ± 2.6	2.7
33	79.0 ± 2.7	79.2 ± 2.1	79.2 ± 2.9	2.5
37	80.1 ± 2.3	78.8 ± 2.2	79.0 ± 2.5	2.3
----- Yolk percentage (yolk weight /egg weight), % -----				
25	22.3 ± 2.3	21.6 ± 2.7	21.5 ± 2.4	2.4
29	22.6 ± 1.9	22.0 ± 1.4	21.2 ± 2.4	1.9
33	22.9 ± 3.4	22.7 ± 2.0	23.8 ± 1.9	2.4
37	23.6 ± 2.0	23.7 ± 2.1	25.1 ± 2.0	2.0
----- Haugh unit ^{**} -----				
25	80.2 ± 9.5 ^b	87.0 ± 7.4 ^{ab}	91.3 ± 8.2 ^a	8.4
29	79.0 ± 8.8 ^b	80.8 ± 10.1 ^b	91.7 ± 8.2 ^a	9.0
33	94.1 ± 7.3	95.4 ± 7.9	90.4 ± 6.5	7.2
37	95.7 ± 6.2	96.8 ± 6.8	83.3 ± 6.2	6.4

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

A = Napier grass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

^{*} Egg shape index % = 100 × (minor axis / long axis).^{**} HU = 100 × log (white height - 1.7w^{0.37} + 7.6).

表 5. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎蛋雞蛋黃顏色之影響

Table 5. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on the egg yolk color of Isa hens

Weeks of age	A	B	C	SE
----- Roche yolk color fan score ¹ -----				
25	7.2 ± 0.8 ^a	6.6 ± 0.9 ^{bc}	6.8 ± 0.7 ^b	0.8
29	7.1 ± 0.9	7.1 ± 1.1	7.2 ± 1.1	1.0
33	7.5 ± 0.9	7.6 ± 0.9	7.4 ± 0.7	0.8
37	7.8 ± 0.9	6.7 ± 0.7	6.8 ± 0.6	0.7
----- L value -----				
25	62.5 ± 4.7 ^a	58.1 ± 6.8 ^c	60.8 ± 4.7 ^{ab}	5.4
29	57.2 ± 7.7 ^a	51.0 ± 7.1 ^a	42.6 ± 4.8 ^b	6.5
33	54.7 ± 6.6 ^b	58.9 ± 3.2 ^a	58.7 ± 4.3 ^a	4.7
37	57.5 ± 7.0	59.2 ± 6.3	62.6 ± 5.0	6.1
----- a value -----				
25	0.0 ± 1.4	1.2 ± 2.5	1.0 ± 2.5	2.1
29	0.1 ± 1.9	-1.3 ± 3.6	-1.3 ± 1.9	2.5
33	0.0 ± 2.6	-1.3 ± 2.1	-0.1 ± 3.8	2.8
37	-0.8 ± 1.5	-3.2 ± 1.7	-4.0 ± 1.2	1.5
----- b value -----				
25	50.7 ± 8.2	38.8 ± 7.6	41.2 ± 6.9	7.6
29	42.3 ± 6.6	37.0 ± 7.5	36.6 ± 5.8	6.6
33	44.3 ± 8.2	41.0 ± 5.9	41.2 ± 5.6	6.5
37	45.3 ± 4.8	41.2 ± 3.8	40.5 ± 3.4	4.0

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

A = Napiergrass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

¹ Roche yolk color fan score, 1-15.

表 6. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎蛋雞血清生化值之影響

Table 6. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on the serum biochemical values of Isa hens

Weeks of age	A	B	C	SE
----- GPT (U/L) -----				
25	6.3	5.5	5.0	1.2
40	7.3	7.2	7.8	0.6
----- Cholesterol (mg/dL) -----				
25	132.8	134.3	133.3	19.8
40	113.8	111.7	120.0	17.2
----- Triglyceride (mg/dL) -----				
25	588.8	656.8	690.8	121.2
40	639.8	624.5	642.7	63.6
----- HDL-C, mg/dL -----				
25	16.7	20.7	14.8	6.7
40	15.2	14.7	16.2	1.6
----- LDL-C, mg/dL -----				
25	15.8	25.0	13.0	13.4
40	14.2	11.8	16.2	4.6
----- P, g/dL -----				
25	5.4	5.1	5.0	0.9
40	5.1	4.8	5.6	1.2
----- ALB, g/dL -----				
25	2.0	1.9	2.0	0.2
40	2.0	2.0	2.0	0.2
----- Ca, mg/dL -----				
25	22.2	20.6	23.9	5.8
40	23.2 ^{ab}	21.8 ^b	26.4 ^a	4.1

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

A = Napiergrass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

表 7. 飼糧添加狼尾草粉與苜蓿粉對伊莎雞蛋蛋黃內之葉黃素及 β -胡蘿蔔素之影響Table 7. Effect of adding Napiergrass powder or Alfalfa pellet powder on the Lutein and β -carotene content in egg yolk of Isa hens

Items	A	B	C	SE
37 wks of age				
Lutein, $\mu\text{g/g}$	13.2 ^b	14.6 ^a	11.7 ^c	1.3
β -carotene, $\mu\text{g/g}$	4.3 ^b	5.1 ^a	1.8 ^c	0.8

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

A = Napiergrass powder, B = Alfalfa pellet powder, C = control.

結 論

本研究結果顯示，添加 5% 狼尾草粉或 5% 苜蓿顆粒粉於蛋雞飼糧中，對其產蛋性能、蛋黃 a 值與 b 值及血液生化值均無顯著影響，惟在狼尾草粉組者於部分時段之蛋黃呈色之 L 值（明亮度）較高。此外，添加狼尾草粉或苜蓿顆粒粉組均有顯著較高的蛋黃中葉黃素與 β -胡蘿蔔素含量。顯示在以玉米—大豆粕為主的蛋雞飼糧中添加 5% 狼尾草粉或 5% 苜蓿顆粒粉，在不影響蛋雞健康與產蛋性能下，其雞蛋之蛋黃 L 值較高，並提高蛋黃之葉黃素與 β -胡蘿蔔素含量，可吸引部分消費者購買，是值得推廣農民使用。

誌 謝

試驗期間承本場畜產科技系吳斌劍先生、陳金龍先生及吳柔螢小姐協助現場管理與畜產試驗所飼料作物組許進德先生協助提供試驗用狼尾草粉，特此感謝。

參考文獻

- 行政院衛生署。2008。酒類中葉黃素檢驗方法，署授食字第 0971800459 號令訂定。
- 陳盈豪，馮誠萬，潘鳳美。2003。苜蓿粉含量對菜鴨產蛋性能及鴨蛋品質之影響。中畜會誌 32：197-203。
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 12th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, pp. 4.1-4.17.
- Berry, S. and J. P. F. D'Mello. 1981. A of leucaena leucocephala and grass meals as sources of yolk pigments in diets for laying hens. Trop. Anim. Prod. 6: 2.
- Blount, J. D., D. C. Houston and A. P. Moller. 2000. Why yolk is yellow. Trends Ecol. Evol. 15: 47-49.
- Carrasco, S., J. Wüstholtz and G. Bellof. 2016. The effect of chopped, extruded and pelleted alfalfa silage on the egg quality of organic laying hens. Anim. Feed. Sci. Technol. 219: 94-101.
- Deng, W., X. F. Dong, J. M. Tong, T. H. Xie and Q. Zhang. 2011. Effects of an aqueous alfalfa extract on production performance, egg quality and lipid metabolism of laying hens. J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr. 96: 85-94.
- Dunkley, C. S., T. H. Friend, J. L. McReynolds, W. K. Kim, K. D. Dunkley, L. F. Kubena, D. J. Nisbet and S. C. Ricke. 2008. Behavior of laying hens on alfalfa crumble molt diets. Poult. Sci. 87: 815-822.
- Fan, W., X. L. Zhang, P. Shi, J. Li, C. Z. Wang, D-F Li and X.-Y. Zhu. 2018. Effects of dietary alfalfa saponins on laying performance, egg cholesterol concentration, and TP-binding cassette transporters G5 and G8 expression in laying hens. J. Appl. Anim. Res. 46: 1051-1058.
- Galobart, J., R. Sala, X. Rincon-Carruyo, E. G. Manzanilla, B. Vil and J. Gasa. 2004. Egg yolk color as affected by saponified of different natural pigmenting sources. J. Appl. Poult. Res. 13: 328-334.
- Hadden, W. L., R. H. Watkins, L. W. Levy, E. Regalado, D. M. Rivadeneira, R. B. van Breemen and S. J. Schwartz. 1999. Carotenoid composition of marigold (*Tagetes erecta*) flower extract used as nutritional supplement. J. Agric. Food Chem. 10 (47): 4189-4194.

- Helen, M. R., T. Muzhingi, E. M. R. Eggert and E. J. Johnson. 2012. Lutein, zeaxanthin, meso-zeaxanthin content in egg yolk and their absence in fish and seafood. *J. Food Comp. Anal.* 27: 139-144.
- Herber-McNeill, S. M. and M. E. Van Elswyk. 1998. Dietary marine algae maintains egg consumer acceptability while enhancing yolk color. *Poult. Sci.* 77: 493-496.
- Hu, C. H., A. Y. Zuo, D. G. Wang, H. Y. Pan, W. B. Zheng, Z. C. Qian and X. T. Zuo. 2011. Effects of broccoli stems and leaves meal on production performance and egg quality of laying hens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170: 117-121.
- Kanda, L., K. Yamauchi, T. Komori and K. Saito. 2011. Enhancement of yolk color in raw and boiled egg yolk with lutein from marigold flower meal and marigold flower extract. *Poult. Sci.* 48: 25-32.
- Kara, K. B. K. Güçlü, E. Baytok and M. Sentürk. 2016. Effects of grape pomace supplementation to laying hen diet on performance, egg quality, egg lipid peroxidation and some biochemical parameters. *J. Appl. Anim. Res.* 44: 303-310.
- Kaya, S. and H. Yildirim. 2011. The effect of dried sweet potato (*Ipomea batatas*) vines on egg yolk color and some egg yield parameters. *Int. J. Agric. Biol.* 15: 766-770.
- Laudadio, V., E. Ceci, N. M. B. Lastella, M. Introna and V. Tufarelli. 2014. Low-fiber alfalfa (*Medicago sativa* L.) meal in the laying hen diet: Effects on productive traits and egg quality. *Poult. Sci.* 93: 1868-1874.
- Lyon, L. E., B. G. Lyon, C. E. Davis and W. E. Townsend. 1980. Texture profile analysis of patties made from mixed and flake-cut mechanically deboned. *Poult. Sci.* 59: 69-76.
- NRC. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, 8th rev. ed. Washington, D. C. National Academy Press.
- Roland, D. A., D. R. Sloan and R. H. Harms. 1975. The ability of hens to maintain calcium deposition in the egg shell and egg yolk as the hen ages. *Poult. Sci.* 54: 1720-1723.
- Romanoff, A. L. and A. J. Romanoff. 1949. The avian egg. P, 918. New York : John Wiley & Sons, Inc. , London: Chapman & Hall, Ltd.
- Sandeski, L. M., E. H. G. Ponsano and M. G. Neto. 2014. Optimizing xanthophyll concentrations in diets to obtain well-pigmented yolks. *J. Appl. Poult. Res.* 23: 409-417.
- SAS. 2003. SAS User's Guide. Statistical Institute, Inc., Cary. N.C.
- Spada, F. P., M. M. Selani, A. A. D. Coelho, V. J. M. Savino, A. A. Rodella, M. C. Souza, F. S. Fischer, D. E. A. Lemes and S. G. Canniatti-Brazaca. 2016. Influence of natural and synthetic carotenoids on the color of egg yolk. *Sci. Agric.* 73: 234-242.

Effect of adding Napiergrass powder and alfalfa pellet powder in the diet on the egg production, yolk color and blood parameter of ISA hen ⁽¹⁾

Shen-Shyuan Yan ⁽²⁾ Pi-Hua Chuang ⁽²⁾ Chien-Ming Tu ⁽³⁾ Yu-Kuei Cheng ⁽⁴⁾ and An-Kuo Su ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Feb. 14, 2019; Accepted: May 6, 2019

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of dry Napiergrass powder and alfalfa pellet powder for egg production traits on the yolk color and serum biochemical values in laying hens. Ninety ISA laying hens were carried out in the cages at 21 weeks of age and randomly allotted into the 3 different treatments, which were fed with adding 5% Napier grass powder diet (group A), 5% alfalfa pellet powder diet (group B) and control diet (group C). The egg was collected at 25, 29, 33 and 37 weeks of age, while blood sampling were collected at 25 and 40 weeks of age. The hens were fed at *ad libitum* and the number of egg production was recorded. The result showed that there were no significant difference among groups on mortality, daily feed intake, average body weight, average egg production rate, average egg weight and egg quality on experimental hens. In the egg yolk color experiment, there was also no significant difference among groups on the score of Roche yolk color, a value and b value of yolk at different sampling weeks. However, the hens, which consumed 5% Napier grass powder, had more brighter than that of in another two groups in part of stages ($P < 0.05$). Meanwhile, there was only significant difference among groups on the calcium at blood at experimental hens. In addition, the egg yolk, which produced from 5% Napiergrass powder group or 5% alfalfa pellet powder group, had significant 1 to 2 times higher lutein and β -carotene concentration than these of in the control group ($P < 0.05$). In conclusion, the feeds added with 5% Napiergrass powder or 5% alfalfa pellet powder did not affect the egg production traits and serum biochemical values. However, the yolk color of hen which consumed 5% Napiergrass powder had significant brightest than that of in another two groups.

Key words: ISA hen, Napiergrass powder, Alfalfa pellet powder, Yolk color.

(1) Contribution No. 2610 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Hualien Animal Propagation Station, COA-LRI, Hualien 97362, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of Animal Industry, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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⁽¹⁾

張俊達⁽²⁾ 蕭宗法⁽²⁾ 吳鈴彩⁽³⁾⁽⁷⁾ 陳怡璇⁽⁴⁾ 李春芳⁽⁵⁾ 林義福⁽⁶⁾

收件日期：108 年 3 月 4 日；接受日期：108 年 5 月 21 日

摘 要

本試驗旨在探討於飼糧中補充有機鋅、銅與錳對荷蘭泌乳牛之乳成分及血液性狀之影響。將 24 頭泌乳中期荷蘭乳牛依體重、乳量、胎次與泌乳天數逢機分成兩組，分別於基礎日糧中補充 0 (對照組) 及每天每頭補充 360 mg 鋅、125 mg 銅及 200 mg 錳 (試驗組)。試驗期間每 30 天進行生乳與血液之採集與分析，試驗共進行 120 天。試驗結果顯示，飼糧補充有機鋅、銅及錳 30 天有提高乳糖率與總固形物率之趨勢；而補充 60 天後有提升乳脂肪率、總固形物率及乳尿素態氮率之傾向。其餵飼後 90 天及 120 天之乳成分未受到試驗處理影響。血液性狀部分，飼糧補充有機鋅、銅及錳有減少餵飼後 30 天之血液丙胺酸胺基轉移酶與乳酸去氫酶之傾向，同時也有顯著提高膽固醇含量。但是在餵飼後 60 天則是有減緩丙胺酸胺基轉移酶、肌酸激酶、乳酸去氫酶及提高超氧化物歧化酶含量之傾向。餵飼後 90 天及 120 天補充有機鋅、銅及錳皆有顯著提高血液膽固醇含量，其餘血液各性狀無差異。試驗結果顯示，飼糧中補充有機鋅、銅與錳雖然對乳成分無顯著影響，但是對血中麩胺酸草乙酸轉胺酶、肌酸磷酸激酶與乳酸脫氫酶等酵素活性及超氧化物歧化酶之抗氧化活性有改善之現象。

關鍵詞：血液性狀、荷蘭泌乳牛、有機銅、有機錳、有機鋅。

緒 言

微量元素鋅、銅及錳為泌乳牛維持健康重要元素 (NRC, 2001)，且在蛋白質合成、身體代謝及免疫系統扮演者重要角色 (Griffiths *et al.*, 2007)。且這些微量元素也存在某些金屬酶 (metalloenzyme) 並參與抗氧化過程 (Nazirolu and Yürekli, 2013)。儘管微量礦物質大都以硫酸鹽 (sulfate salts) 形式等無機形式螯合且廣泛的被應用 (Ward *et al.*, 1996)，但是吸收效率很低 (NRC, 2001)。而微量礦物質以有機形式比無機形式能更有效地被吸收、儲存、代謝和轉移 (Rabiansky *et al.*, 1999)。

於飼糧中補充複合微量礦物質是泌乳牛營養計劃中常見的做法。補充有機鋅於泌乳牛飼糧中可降低牛乳體細胞數、增加產乳量並改善腳蹄組織的完整性 (Tomlinson *et al.*, 2004; Bicalho *et al.*, 2007)。此外，如果有機鋅再額外補充有機錳及銅，則發現產乳量，繁殖性能和腳蹄的完整性有進一步的改善 (Nocek *et al.*, 2000)。許多研究也指出，於反芻動物飼糧中補充有機鋅、銅及錳有改善繁殖性能、免疫反應和腳蹄的健康 (Hutcheson, 1990; Chirase *et al.*, 1991; Campbell *et al.*, 1999; Nocek *et al.*, 2000; Lucy, 2001)。但是鮮少探討補充有機鋅、銅及錳對牛隻血中與緊迫或氧化壓力有關酵素如麩胺酸草乙酸轉胺酶 (glutamic oxaloacetic transaminase)、麩胺酸丙酮酸轉胺酶 (glutamic pyruvate transaminase)、肌酸磷酸激酶 (creatine phosphokinase) 及乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase) 等之研究報告。Kaneko *et al.* (1997) 指出，血中任何單一酵素可間接反映在細胞的濃度、細胞損傷程度或正常細胞死亡的程度。正常情況下，酵素都會圍繞在細胞膜且不容易通過細胞膜到達血中，但是在特殊情況下如緊迫，可能會改變細胞的滲透性，文獻指出動物在熱緊迫下會使血中諸如麩胺酸草乙酸轉胺酶、麩胺酸丙酮酸轉胺酶等活性增加 (Li *et al.*, 2001)。因此，本試驗探討於飼糧中補充有機鋅、銅與錳對荷蘭泌乳牛隻乳成分及血液性狀之影響。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2611 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所加工組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(5) 行政院農業委員會畜產試驗所副所長室。

(6) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(7) 通訊作者，E-mail：wlt@mail.tlri.gov.tw。

材料與方法

本試驗所使用之動物均通過行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護與使用小組之審核。

I. 試驗動物及飼養管理

使用荷蘭泌乳牛，飼養在行政院農業委員會畜產試驗所產業組傳統牛舍，選擇每日產乳量平均為 26.62 ± 5.71 kg 的荷蘭泌乳牛 24 頭，依照乳量、胎次、泌乳天數與體重均分為兩組，於完全混合日糧 (total mixed ration, TMR) 車配製飼糧，使每天每頭補充 0 (對照組) 及 360 mg 有機鋅、125 mg 有機銅及 200 mg 有機錳 (試驗組)，試驗組之微量礦物質於 TMR 配製期間混合後餵飼。試驗設計採完全逢機試驗為期約 120 天。泌乳牛飼糧依 NRC (2001) 泌乳牛營養標準配製之 TMR，組成包括盤固乾草、苜蓿乾草、青貯玉米、大豆殼粒、高粱酒粕、啤酒粕及以玉米與大豆粕為主之精料，每日配製兩次，分別於上午 7:00 配製 1/3 量及下午 3:00 配製 2/3 量，其飼糧組成如張等 (2018)。另以自動給水槽提供乾淨飲水及礦鹽任食。

II. 測定項目

- (i) 乳樣分析：每日擠乳兩次，分別為清晨 5:00 與下午 3:30，試驗期間每 30 天採集試驗個別牛隻乳樣三天，混合個別牛各日上下午乳樣後，送至行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所 DHI 乳樣檢驗中心使用乳成分與體細胞測定儀 (MilkoScan™ FT+, Denmark) 進行分析，分析項目包括乳脂率、乳糖率、乳蛋白質率、無脂固形物率、總固形物率、尿素氮以及體細胞數等分析。
- (ii) 血液生化值分析測定：於試驗採樣期間，每 30 天以不含抗凝劑之血液採集管採集試驗牛隻尾靜脈血液 10 mL，靜置後以 $3,000 \times g$ 離心 15 分鐘 (Hayirli *et al.*, 2001) 分離血清，於 -80°C 冷凍保存供爾後使用。採用全自動血液分析儀 (Cobas C-702, Roche, Germany) 測定血中之麩胺酸草乙酸轉胺酶、麩胺酸丙酮酸轉胺酶、鹼性磷酸酶、膽固醇、肌酸磷酸激酶及乳酸脫氫酶之分析，而超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 則依據 Balikci (2016) 使用商業 SOD 套組進行分析。

III. 統計分析

試驗所得資料以統計分析系統套裝軟體 (SAS, 2002) 進行統計分析，並使用一般線性模式 (general linear model) 進行有 / 無變積校正的完全逢機設計 (completely randomized design) 統計分析，再以 stderr pdiff 法比較各組平均值間差異之顯著性， $P < 0.05$ 即代表差異顯著性。

結果與討論

飼糧補充有機鋅、銅及錳對荷蘭泌乳牛乳成分之影響如表 1。試驗結果顯示，飼糧補充鋅銅錳有提高餵飼後 30 天之乳糖率 ($P = 0.14$) 與總固形物率 ($P = 0.17$)，及提高餵飼後 60 天之乳脂率 ($P = 0.13$) 與總固形物率 ($P = 0.14$) 與尿素氮 ($P = 0.14$) 之趨勢，但是在餵飼後 90 天及 120 天後之乳成分各處理之間無顯著差異。其總固形物率之增加可能是與乳脂率或乳糖率的增加有關。Ballantine *et al.* (2002) 於經產泌乳牛飼糧中不論補充有機形式或無機形式的鋅、銅、錳及鈣，發現對乳脂率、乳蛋白質率、總固形物率及體細胞數無顯著影響。Siciliano-Jones *et al.* (2008) 於分娩前 3 週於飼糧中補充有機鋅、銅、錳及鈣發現也未對乳脂率、乳蛋白質率、體細胞數及乳尿素氮產生影響，但是有提升每天乳脂量、乳蛋白質量、乳蛋白質量及乳固形物量。Ramos *et al.* (2012) 則是探討在放牧模式下，於初產女牛之泌乳早期飼糧中補充有機鋅、銅、錳及鈣 90 天，結果指出，補充有機微量礦物質並未影響乳產量、乳脂肪量、乳蛋白質量及體細胞數，但是有提高乳脂率的傾向。Zhao *et al.* (2015) 於泌乳早期飼糧中補充有機之鋅、銅及錳之混合型微量元素，發現有降低乳脂率之現象，此部分可能是因為補充有機形式的微量礦物質有提高乳產量的趨勢，而產生稀釋效應 (dilution effect)，使乳脂率降低。造成上述結果之不同，可能是受到不同試驗模式 (例如產前狀態、泌乳時期或放牧狀態等)、不同的飼糧組成及微量礦物質的補充劑量多寡而有所差異。Rabiee *et al.* (2010) 則指出微量礦物質的補充形式 (有機形式 vs. 無機形式) 及分娩前後補充期間是否與其他補充劑 (supplements) 搭配使用，可能是影響產乳性狀的主要因素。

飼糧補充有機鋅、銅及錳對荷蘭泌乳牛血液性狀之影響如表 2。飼糧補充鋅銅錳有減少餵飼後 30 天之血液麩胺酸草乙酸轉胺酶 ($P = 0.12$) 與乳酸去氫酶 ($P = 0.04$) 之現象 (表 2)，同時有提高膽固醇含量 ($P = 0.18$) 之趨勢。但是在餵飼後 60 天則是有減緩麩胺酸草乙酸轉胺酶 ($P = 0.13$)、肌酸激酶 ($P = 0.13$)、乳酸去氫酶 ($P = 0.04$) 及增加超氧化物歧化酶含量 ($P = 0.13$) 之傾向。而餵飼後 90 及 120 天則有提高血中膽固醇 ($P = 0.05$) 之現象，其餘麩胺酸草

乙酸轉胺酶與丙胺酸胺基轉移酶等分析項目無明顯差異。麩胺酸草乙酸轉胺酶與麩胺酸丙酮酸轉胺酶為肝細胞損傷 (hepatocellular injury) 的主要兩項指標 (Kauppinen, 1984)。麩胺酸草乙酸轉胺酶與麩胺酸丙酮酸轉胺酶參與蛋白質代謝過程中胺基的轉換，當牛隻肝臟損傷時，血中的麩胺酸草乙酸轉胺酶與麩胺酸丙酮酸轉胺酶活性會升高。Stojević *et al.* (2005) 指出健康泌乳牛隻 (泌乳期 90 天至泌乳期結束) 之血中 GPT 與 GOT 數值分別為 44.91 ± 6.93 與 20.08 ± 3.74 。本試驗之牛隻於試驗期間其對照組的血中 GPT 與 GOT 數值分別為 88.5 與 24.0 較 Stojević *et al.* (2005) 所述健康泌乳牛 GPT 與 GOT 數值為高，顯示可能有緊迫現象所致。本試驗於泌乳飼糧中補充有機鋅、銅及錳有減緩餵飼後 30 及 60 天血中麩胺酸草乙酸轉胺酶的傾向，推測於補充有機鋅、銅及錳可能有助於保護肝臟。

表 1. 飼糧補充有機鋅、銅及錳對荷蘭泌乳牛乳成分之影響

Table 1. Effect of organic Zn, Cu, and Mn supplementation on milk composition of Holstein dairy cows

	Dietary treatments		SEM	P
	Control	Zn + Cu + Mn		
30 days after feeding				
Fat, %	3.52	3.74	0.13	0.23
Protein, %	3.29	3.24	0.03	0.28
Lactose, %	4.83	4.88	0.25	0.14
Solid of non-fat, %	8.81	8.83	0.03	0.69
Total solid, %	12.31	12.62	0.12	0.17
Urea Nitrogen, mg/dL	15.21	15.54	0.41	0.70
Somatic cell counts, 10,000/mL	26.12	15.45	6.63	0.27
60 days after feeding				
Fat, %	3.53	3.75	0.12	0.13
Protein, %	3.29	3.35	0.08	0.69
Lactose, %	4.83	4.82	0.05	0.92
Solid of non-fat, %	8.82	8.87	0.08	0.66
Total solid, %	12.35	12.61	0.15	0.14
Urea Nitrogen, mg/dL	13.41	14.97	0.73	0.14
Somatic cell counts, 10,000/mL	21.82	17.21	5.64	0.58
90 days after feeding				
Fat, %	3.68	3.53	0.13	0.42
Protein, %	3.39	3.38	0.08	0.98
Lactose, %	4.72	4.69	0.06	0.76
Solid of non-fat, %	8.80	8.78	0.07	0.87
Total solid, %	12.52	12.31	0.16	0.57
Urea Nitrogen, mg/dL	13.72	15.45	0.88	0.23
Somatic cell counts, 10,000/mL	23.83	17.97	5.03	0.40
120 days after feeding				
Fat, %	3.74	3.76	0.16	0.94
Protein, %	3.50	3.38	0.08	0.35
Lactose, %	4.69	4.73	0.08	0.76
Solid of non-fat, %	8.88	8.83	0.09	0.75
Total solid, %	12.61	12.65	0.19	0.99
Urea Nitrogen, mg/dL	14.93	15.23	1.03	0.89
Somatic cell counts, 10,000/mL	28.12	22.61	10.0	0.70

表 2. 飼糧補充有機鋅、銅及錳對荷蘭泌乳牛血液性狀之影響

Table 2. Effect of organic Zn, Cu, and Mn supplementation on blood trait of Holstein dairy cows

	Dietary treatments		SEM	P
	Control	Zn + Cu + Mn		
30 days after feeding				
Glutamic-oxal acteic transminase (IU/L)	93.2	70.7	9.52	0.12
Glutamate-pyruvate transiniase (IU/L)	27.2	24.7	2.58	0.51
Alkaline phosphatase (IU/L)	47.7	49.7	5.71	0.81
Cholesterol (mg/dL)	191.7	231.0	19.6	0.18
C.P.K. (U/L)	292.8	220.0	128.8	0.69
Lactate dehydrogenase (U/L)	1,137.8	930.1	59.8	0.04
SOD (U/gHb)	1,988.7	2,065.5	146.1	0.72
60 days after feeding				
Glutamic-oxal acteic transminase (IU/L)	93.7	65.8	11.78	0.13
Glutamate-pyruvate transiniase (IU/L)	22.8	23.5	1.14	0.69
Alkaline phosphatase (IU/L)	45.5	48.5	5.23	0.69
Cholesterol (mg/dL)	182.5	205.2	20.0	0.44
C.P.K. (U/L)	220.3	123.3	41.4	0.13
Lactate dehydrogenase (U/L)	1,146.5	924.2	65.8	0.04
SOD (U/gHb)	1,751.3	2,105.8	151	0.13
90 days after feeding				
Glutamic-oxal acteic transminase (IU/L)	88.5	63.5	13.4	0.22
Glutamate-pyruvate transiniase (IU/L)	24.0	23.8	1.67	0.43
Alkaline phosphatase (IU/L)	33.0	39.3	4.29	0.32
Cholesterol (mg/dL)	115.8	189.2	23.2	0.05
C.P.K. (U/L)	147.5	105.5	33.5	0.40
Lactate dehydrogenase (U/L)	1,070.5	965.5	73	0.33
SOD (U/gHb)	2,191.4	2,210.4	185	0.94
120 days after feeding				
Glutamic-oxal acteic transminase (IU/L)	88.5	63.5	13.4	0.22
Glutamate-pyruvate transiniase (IU/L)	24.0	23.8	1.67	0.43
Alkaline phosphatase (IU/L)	33.0	39.3	4.29	0.32
Cholesterol (mg/dL)	115.8	189.2	23.2	0.05
C.P.K. (U/L)	147.5	105.5	33.5	0.40
Lactate dehydrogenase (IU/L)	1,070.4	965.5	73	0.33
SOD (U/gHb)	2,191.2	2,210.7	185	0.94

本試驗期間之平均溫濕度指數均大於 72 以上 (張等, 2018), 顯示牛隻皆處於熱緊迫狀態 (Chase, 2006)。張等 (2018) 於高溫多濕指數 (大於 72) 下於飼糧中額外補充有機鋅、銅及錳, 其牛隻乾物質採食量隨著連續補充 30 天、60、90 及 120 天有增加之趨勢, 且牛隻行動分數也在連續餵飼後 30 天、60、90 及 120 天有減少之趨勢。熱季使血漿中鹼性磷酸激酶活性降低 (Abeni *et al.*, 2007)。Abeni *et al.* (2007) 指出熱季會造成生理功能在於催化體內磷酸酯的合成或水解, 即磷酸化或去磷酸化作用, 因此是體內最重要的能量代謝反應之一的關鍵酵素, 牛隻遇熱緊迫時會減少採食, 而鹼性磷酸酶活性被認為與飼料利用影響因子有關 (Kunkel *et al.*, 1953)。肌酸磷酸激酶為肌肉中熱緊迫敏感酵素指標 (Li *et al.*, 2004), 本試驗餵飼後 60 天有降低血中肌酸磷酸激酶活性之傾向, 推測飼糧中補充有機鋅、

銅及錳可能有助減緩肌肉組織的損傷，進而有益於肌肉組織。通常動物在有氧代謝 (aerobic metabolism) 下無法提供能量需要，需透過厭氧途徑 (anaerobic pathway) 得所需能量，期間會伴隨著乳酸的產生與蓄積，同時也會使乳酸脫氫酶活性增加 (Lai *et al.*, 2009)。而本試驗補充有機鋅、銅及錳有降低餵飼後 30 及 60 天血中乳酸脫氫酶之現象。Mohammadian (2011) 檢測 35 頭健康泌乳牛群的 LDH，平均為 867.16 U/L，而檢測 25 頭亞臨床性乳房炎之 LDH 則為 1,524.04 U/L。而本試驗對照組牛隻於試驗期其血中 LDH 介於 1,070 至 1,146 U/L，而試驗組補充有機鋅、銅及錳牛隻血中 LDH 有減少至 924 至 965 U/L。通常熱季會使血中膽固醇的濃度降低，此部分可能與熱緊迫下採食量減少有關 (Scharf *et al.*, 2010)。張等人 (2018) 在高溫多溼期間於泌乳牛飼糧補充有機鋅、銅及錳有增加乾物質採食量之趨勢。推測於高溫多溼期間下補充有機鋅、銅及錳可能藉由改善肝臟功能 (麩胺酸草乙酸轉胺酶活性下降)、肌肉組織 (乳酸脫氫酶活性減少) 及抗氧化能力 (超氧化物歧化酶的提升) 等相關路徑，使減緩牛隻熱緊迫狀態，進而促進牛隻乾物質採食量之提升。

鋅、銅及錳在抗氧化過程中扮演著重要的角色 (Naziroglu and Yürekli, 2013)，在抗氧化系統 (antioxidant system) 中鋅、銅及錳是鋅、銅及錳-超氧化物歧化酶 (Zn-Cu-Mn-SOD) 的組成分，可清除超氧陰離子自由基 (superoxide anion) (Tapiero and Tew, 2003; Lean *et al.*, 2013)。Zhao *et al.* (2015) 指出跛腳牛隻有較高的氧化狀態 (oxidant status)，但是於飼糧中補充有機鋅、銅及錳，發現可顯著恢復酵素型 (穀胱甘肽過氧化物酶及超氧化物歧化酶) 抗氧化系統的水平。許多研究也指出 (Miller *et al.*, 1993; Campbell and Miller, 1998) 補充有機鋅銅錳可降低氧化緊迫 (oxidative stress)。但是 Cope *et al.* (2009) 發現泌乳牛飼糧中補充有機鋅並未提高血中超氧化物歧化酶活性，這可能是因為只提供單一有機微量礦物質有關。在健康的動物中，自身的抗氧化系統可以減少自由基並防止自由基破壞細胞和代謝物質。但是，在緊迫期間，其自由基產生的速率可能超過自身抗氧化系統中和自由基的速率，因此可能導致細胞內脂質、碳水化合物和蛋白質的氧化損傷 (Miller *et al.*, 1993)。而產犢、感染和熱緊迫等皆為易產生氧化緊迫的階段 (Miller *et al.*, 1993; Bernabucci *et al.*, 2002)。因此，牛隻於氧化壓力狀態下，適度的補充有機鋅、銅及錳可能有助減少對細胞和代謝物的氧化損傷，而有益於牛隻健康。

結 論

飼糧補充有機鋅、銅及錳對泌乳牛產乳性狀無明顯影響，但是對血中麩胺酸草乙酸轉胺酶、麩胺酸丙酮酸轉胺酶、肌酸磷酸激酶與乳酸脫氫酶等酵素活性及超氧化物歧化酶之抗氧化活性有改善之現象。因此，本試驗之結果可提供酪農於牛隻飼養管理之改善與牛隻營養補充之參考依據。

誌 謝

本試驗承行政院農業委員會經費補助 [106 農科 -2.1.1- 畜 -L2(1)]，試驗期間承畜產試驗所產業組同仁的現場飼養管理及營養組的飼料化驗分析，謹致謝忱。

參考文獻

- 張俊達、蕭宗法、王思涵、吳鈴彩、蔡銘洋、李春芳、林義福。2018。飼糧中補充鋅、銅與錳對高溫濕度指數期間荷蘭泌乳牛行動分數與性能表現之影響。畜產研究 51(3): 201-208。
- Abeni, G., L. Calamari, and L. Stefanini. 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. Int. J. Biometeorol. 52(2): 87-96.
- Balikci, E. 2016. Antidermatophyte and antioxidant activities of *Nigella sativa* alone and in combination with enilconazole in treatment of dermatophytosis in cattle. Veterinarni Medicina. 61 (10): 539-545.
- Ballantine, H. T., M. T. Socha, D. J. Tomlinson, A. B. Johnson, A. S. Fielding, J. K. Shearer and S. R. Van Amstel. 2002. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. Prof. Anim. Sci. 18(3): 211-218.
- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. J. Dairy Sci. 85(9): 2173-2179.

- Bicalho, R. C., F. Vokey, H. N. Erb, and C. L. Guard. 2007. Visual locomotion scoring in the first seventy days in milk: impact on pregnancy and survival. *J. Dairy Sci.* 90: 4586-4591.
- Campbell, M. H. and J. K. Miller. 1998. Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *J. Dairy Sci.* 81(10): 2693-2699.
- Campbell, M. H., J. K. Miller, and F. N. Schrick. 1999. Effect of additional cobalt, copper, manganese, and zinc on reproduction and milk yield of lactating dairy cows receiving bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 82(5): 1019-1025.
- Chase, L. E. 2006. Climate change impacts on dairy science. In: *Climate change and Agriculture: Promoting Practical and Profitable Responses*, held at March 7th, Baltimore, MD, USA.
- Chirase, N. K., D. P. Hutcheson, and G. B. Thompson. 1991. Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Anim. Sci.* 69(10): 4137-4145.
- Cope, C. M., A. M. Mackenzie, D. Wilde, and L. A. Sinclair. 2009. Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *J. Dairy Sci.* 92(5): 2128-2135.
- Griffiths, L. M., S. H. Loeffler, M. T. Socha, D. J. Tomlinson and A. B. Johnson. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137(1-2): 69-83.
- Hayirli, A., D. R. Bremmer, S. J. Bertics, M. T. Socha, and R. R. Grummer. 2001. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84(5): 1218-1230.
- Hutcheson, D. 1990. Nutrition critical in getting calves started right. *Feed Stuffs* 62: 14-17.
- Kaneko, J. J., J. W. Harvey, and L. M. Brass. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th Ed. Academic Press, London, pp: 303-305.
- Kaappinen, K. 1984. ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT, activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows. *Zbl. Vet. Med.* 31(1-10): 567-576.
- Kunkel, H. O., D. K. Stokes, Jr., W. B. Anthony, and M. F. Futrell. 1953. Serum alkaline phosphate activity in European and Brahman breeds of cattle and their crossbred types. *J. Anim. Sci.* 12(4): 765-770.
- Lai, A. Q., Z. S. Wang and A. G. Zhou. 2009. Effect of chromium picolinate supplementation on early lactation performance, rectal temperatures, respiration rates and plasma biochemical response of Holstein cows under heat stress. *P. J. Nutr.* 8(7): 940-945.
- Lean, I. J., C. T. Westwood, H. M. Golder, and J. J. Vermunt. 2013. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. *Livest Sci.* 156(1-3): 71-87. doi: 10.1016/j.livsci.2013.06.006.
- Li, J. J., R. Z. Sang, S. J. Tian, Y. B. Ma and Z. M. Zhou, 2001. Heat stress and variation of blood component in cattle. *Ecology of Domestic Anim.* 22: 56-59.
- Li, Q. F., J. Z. Li and Y. L. Han. 2004. Effects of dietary cation-anion balance on performance and blood biochemical parameters of dairy cows in hot environment. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 35: 498-504.
- Lucy, M. C., 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 84(6): 1277-1293.
- Miller, J. K., E. Brzezinska-Slebodzinska, and F. C. Madsen. 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 76(9): 2812-2823.
- Mohammadian, B. 2011. The Effect of Subclinical Mastitis on Lactate Dehydrogenase in Dairy Cows. *Int. J. Anim. Vet. Adv.* 3(3): 161-163.
- Naziroglu, M. and V. A. Yürekli. 2013. Effects of antiepileptic drugs on antioxidant and oxidant molecular pathways: Focus on trace elements. *Cell Mol. Neurobiol.* 33(5): 589-599.
- NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th Ed. Washington, DC: The National Academy Press.
- Nocek, J. E., A. B. Johnson, and M. T. Socha. 2000. Digital characteristics in commercial dairy herds fed metal-specific amino acid complexes. *J. Dairy Sci.* 83(7): 1553-1572.
- Rabiansky, P. A., L. R. McDowell, J. Velasquez-Pereira, N. S. Wilkinson, S. S. Percival, F. G. Martin, D. B. Bates, A. B. Johnson, T. R. Batra, and E. Salgado-Madriz. 1999. Evaluating copper lysine and copper sulfate sources for heifers. *J. Dairy Sci.* 82(12): 2642-2650.
- Rabiee, A. R., I. J. Lean, M. A. Stevenson, and M. T. Socha. 2010. Effects of feeding organic trace minerals on milk

- production and reproductive performance in lactating dairy cows: a metaanalysis. *J. Dairy Sci.* 93(9): 4239-4251.
- Ramos, J. M., C. Sosa, G. Ruprechter, P. Pessina, and M. Carriquiry. 2012. Effect of organic trace minerals supplementation during early postpartum on milk composition, and metabolic and hormonal profiles in grazing dairy heifers. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10(3): 681-689.
- SAS. 2002. SAS User's guide: basics, 2002 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- Scharf, B., J. A. Carrol, D. G. Riley, C. C. Chase, S. W. Coleman, D. H. Keilser, E. E. Werber, and D. E. Spiers. 2010. Evaluation of physical and blood serum differences in heat tolerant (Romosinuano) and heat susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. *J. Anim. Sci.* 88(7): 2321-2336.
- Siciliano-Jones, J. L., M. T. Socha, D. J. Tomlinson and J. M. DeFrain. 2008. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity, and fertility of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91(5): 1985-1995.
- Stojević, Z., J. Piršljn, S. Milinković-Tur, M. Zdelar-Tuk, and B. B. Ljubić. 2005. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Vet Arh.* 75: 67-73.
- Tapiero, H. and K. D. Tew. 2003. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed. Pharm.* 57(9): 399-411.
- Tomlinson, D. J., C. H. Mülling and T. M. Fakler. 2004. Invited review: Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87(4): 797-809.
- Ward, J. D., J. W. Spears, and E. B. Kegley. 1996. Bioavailability of copper proteinate and copper carbonate relative to copper sulfate in cattle. *J. Dairy Sci.* 79(1): 127-132.
- Zhao, X. J., Z. P. Li, J. H. Wang, X. M. Xing, Z. Y. Wang, L. Wang and Z. H. Wang. 2015. Effects of chelated Zn/Cu/Mn on redox status, immune responses and hoof health in lactating Holstein cows. *J. Vet. Sci.* 16(4): 439-446.

Effect of Zn and Cu and Mn supplementation on milk composition and blood traits of Holstein cows ⁽¹⁾

Chun-Ta Chang ⁽²⁾ Tzong-Faa Shiao ⁽²⁾ Ling-Tsai Wu ⁽³⁾⁽⁷⁾ Yi-Hsuan Chen ⁽⁴⁾
Churng-Faung Lee ⁽⁵⁾ and Yih-Fwu Lin ⁽⁶⁾

Received: Mar. 4, 2019; Accepted: May 21, 2019

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of dietary supplementation of Zn, Cu and Mn on milk composition and blood traits of Holstein lactating cows. A total of 24 Holstein lactating cows were randomly divided into two groups according to their body weight, milk yield, parity and days in milk. Cows received diets adding 0 (control) or 360 mg organic zinc, 125 mg organic copper and 200 mg organic manganese (head/day). The raw milk and blood were analyzed and collected every 30 days and the trial was carried out for 120 days. The results showed that dietary supplementation of organic zinc, copper and manganese for 30 days had a tendency to increase milk lactose percentage and total solids percentage. After 60 days of supplementation, there was a tendency of increase in milk fat percentage, total solids rate, and milk urea nitrogen rate. The milk composition at 90 days and 120 days after feeding were not affected by treatment. The dietary supplementation of organic zinc, copper and manganese reduced in a tendency of decrease in blood alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase 30 days after feeding, and also significantly increased cholesterol content. However, 60 days after feeding, there was a decrease in alanine aminotransferase, creatine kinase, lactate dehydrogenase, and an increase in superoxide dismutase contents. Supplementation of organic zinc, copper and manganese for 90 days and 120 days after feeding significantly increased blood cholesterol levels, but there was no significant difference in other blood traits. In conclusion, it was known that supplementation of organic zinc, copper and manganese in diet could have no significant effect on the milk component, but it could improve alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase, creatine kinase and superoxide dismutase contents in antioxidant function.

Key words: Blood trait, Holstein lactating cows, Organic copper, Organic manganese, Organic Zinc, Temperature-humidity index.

(1) Contribution No. 2611 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

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

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

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

飼料添加芽孢桿菌對離乳仔豬生長表現的影響⁽¹⁾

吳鈴彩⁽²⁾ 林幼君⁽³⁾ 張俊達⁽⁴⁾ 王錦盟⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 劉芳爵⁽⁴⁾

收件日期：108 年 4 月 8 日；接受日期：108 年 5 月 21 日

摘 要

添加於畜禽飼料中的抗生素種類逐年縮減為國際及國內未來之趨勢，因應此趨勢，開發芽孢桿菌作為經濟動物保健用飼料添加物，取代飼料中抗生素的添加為一項可行策略。本試驗以 30 頭 28 日齡離乳仔豬為試驗動物，隨機分為 3 組，分別為對照組、添加凝結芽孢桿菌 R6 組 (*Bacillus coagulans* R6) 及芽孢桿菌 S10 組 (*B. coagulans* S10)。試驗期間測定採食量、增重、飼料效率及糞便中大腸桿菌群與乳酸菌菌落。試驗結果，三組之仔豬採食量分別為 0.40 ± 0.05 、 0.47 ± 0.06 及 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet。顯示補充芽孢桿菌 R6 與 S10 可提高仔豬採食量 ($P < 0.05$)。對照組、R6 與 S10 處理組仔豬的日增重，分別為 0.22 ± 0.01 、 0.23 ± 0.05 與 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet，添加芽孢桿菌組的日增重均高於對照組的趨勢 ($P = 0.064$ / R6 組； $P = 0.067$ / S10 組)，在飼料效率方面則無顯著差異。另外，補充 R6 與 S10，並未顯著提高糞便中大腸桿菌或乳酸菌數。綜合所述，飼料中添加 R6 或 S10，均可增加離乳仔豬的採食量及日增重，但對飼料效率、糞便大腸桿菌群及乳酸菌數，則均無顯著影響。

關鍵詞：芽孢桿菌、飼料添加物、離乳仔豬。

緒 言

益生菌 (probiotics) 早在數百年前，歐洲人便以優酪乳或發酵乳的形式食用。但是當時並不了解它對健康的效益。一直到 1908 年，由俄國諾貝爾獎得主 Elie Metchnikoff 首次描述益生菌的效益，他指出發酵後的牛乳中所含的乳酸菌對人體的健康具有益處。一般而言，理想的益生菌需能抵抗胃酸與膽鹽的破壞、無病原、需能定殖於腸道上皮細胞且能進行繁殖及調節腸道之免疫反應 (黃及陳, 2009)。歐盟及美國分別於 2006 及 2017 年禁止飼料添加抗生素生長促進劑，我國目前政策也朝向此項國際的趨勢，逐年刪減有關具抗生素之含藥飼料添加物的品項。因此，開發新型式的「抗生素生長促進劑替代品」，其中益生菌的動物用飼料添加物可能扮演非常重要角色，強化畜禽的生長性能、免疫力及健康管理，以作為提升國內畜禽產品衛生安全的一項可行策略。

飼料添加物的芽孢桿菌產品為內生孢子形態，由於孢子較能耐酸鹼、高溫及高壓，在飼料加工和儲存過程中較不易失去活性。該類細菌為好氧性或兼氧性細菌，經由耗氧作用而幫助厭氧菌的生長，在維持腸道微生物平衡發揮重要的作用 (Hooge, 2003)。本試驗分別以劉等 (2015) 篩選自牛隻瘤胃液與豬隻糞便的 2 株芽孢桿菌，探討作為飼料添加物之益生菌菌種來源，進行仔豬飼料添加物飼養試驗，評估仔豬飼料中添加芽孢桿菌對仔豬生長性能的影響。

材料與方法

I. 芽孢桿菌來源

以篩選自牛隻瘤胃液與豬隻糞便得到的 4 株與 2 株芽孢桿菌，經菌種鑑定、耐酸 (pH2)、耐膽鹽 (2%)、耐高溫 (90°C) 及具產孢子的能力測試後，選取 *B. coagulans* R6 與 *B. coagulans* S10 芽孢桿菌，並進行發酵生產菌粉供試驗用。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2612 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所加工組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

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

II. 動物試驗

使用 4 週齡 LD 二品種離乳仔豬 30 頭依體重及性別逢機分成 3 組，每組 5 欄 / 重複，豬隻飼養於高床傳統豬舍。包括對照組 (給飼 CP 20.0% 及 ME 3,163 kcal/kg 保育料，表 1)、添加 R6 組及 S10 組，使保育料中芽孢桿菌數達 10^8 CFU/kg，試驗於自 2018 年 7 月 5 日開始為期 3 週。試驗期間採任食，並充分供應清潔飲水。每週量秤體重與記錄採食量一次。

表 1. 仔豬基礎飼糧配方組成

Table 1. The compositions of the basal diet for the piglets

Item	%
Ingredients	
Corn meal	62.00
Soybean meal	25.75
Fish meal	5.00
Dicalcium phosphate	1.60
Limestone, pulverized	0.80
Skimmed milk powder	2.00
Whey powder	2.00
Salt	0.50
Choline, chloride, 50%	0.10
Premix-Vit ^a	0.15
Premix-Min ^b	0.10
Total	100.00
Calculated values	
CP, %	19.90
ME, kcal/kg	3,163
Calcium, %	0.95
Available phosphate, %	0.59
Lysine, %	1.30

^a Supplied the following vitamins per kg of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 800 IU; Vitamin E, 20 mg; Vitamin K₃, 4 mg; Vitamin B₂, 4 mg; Vitamin B₆, 1 mg; Vitamin B₁₂, 0.02 mg; Niacin, 30 mg; Calcium pantothenate, 16 mg; Folic acid, 0.6 mg; Biotin, 0.01 mg; Choline chloride, 50 mg.

^b Supplied the following minerals per kg of diet: Fe, 140 mg; Cu, 7 mg; Mn, 20 mg; Zn, 120 mg; I, 0.45 mg.

III. 糞便微生物測定

離乳仔豬於試驗結束時 (7 週齡)，採集每頭仔豬的糞便，用 Chromagar (CHROMagar company, French) 建議的方法，使用 MRS 培養基檢測糞便中大腸桿菌與乳酸菌數量 (劉等，2017)。

IV. 統計分析

本試驗採完全逢機設計，試驗測定結果使用 SAS 統計套裝軟體 (Statistical Analysis System, SAS, 2002) 利用一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行變方分析，並以 Tukey's Studentized Range Test 比較處理組間之差異顯著性。

結果與討論

I. 仔豬生長表現

(i) 仔豬飼料採食量

飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬採食量的影響，如表 2。雖然補充 R6 或 S10 於 5 及 6 週齡時之飼料採食

量，無顯著差異，但是於 7 週齡時之飼料採食量皆顯著高於對照組 ($P < 0.05$)。R6 組及 S10 組之全期平均飼料採食量皆顯著 ($P < 0.05$) 高於對照組，其三組之採食量分別為 0.40 ± 0.05 、 0.47 ± 0.06 及 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet。顯示飼料中添加 R6 或 S10 均有提升仔豬採食量的效應。依據 Pu *et al.* (2018) 於飼料中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌，可增加仔豬的採食量 (405.59 vs. 486.36 g/day/piglet)，本試驗具類似結果。在大豬上則不具增加豬採食量的結果 (Chen *et al.*, 2006)，推測飼料中添加芽孢桿菌對提升仔豬飼料採食量的效應高於大豬。

表 2. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬採食量 (kg/day/piglet) 的影響

Table 2. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on feed intake (kg/day/piglet) of the piglets

Group	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	$0.24 \pm 0.05^{**}$	0.41 ± 0.08	0.55 ± 0.04^b	0.40 ± 0.05^b
R6*	0.24 ± 0.06	0.50 ± 0.06	0.67 ± 0.09^a	0.47 ± 0.06^a
S10*	0.28 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.73 ± 0.04^a	0.50 ± 0.03^a

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

* R6, the feed contains *Bacillus coagulans* R6 1×10^8 CFU/kg, S10, the feed contains *Bacillus coagulans* S10 1×10^8 CFU/kg.

** means \pm SD ($n = 5$).

(ii) 仔豬日增重

一般而言，益生菌可用作抗生素的可行替代品，這可能與腸道微生物群和免疫狀態的改善有關。部份益生菌可產生多種酵素幫助仔豬消化飼料，進而改善仔豬的增重、採食量與飼料效率 (曾等, 2017)。由 Guerra *et al.* (2006) 的結果指出，仔豬飼料中添加乳酸桿菌具有可提升仔豬的日增重的效果。而飼料中添加乳酸桿菌的代謝產物亦具有提升仔豬日增重的結果 (Thu *et al.*, 2011)。根據 Pu *et al.* (2018) 指出凝結芽孢桿菌可以通過改善腸粘膜屏障完整性來減緩大腸桿菌的攻擊，促進仔豬的生長表現和減輕腹瀉。在大豬方面，亦得到提高日增重 (11%) 的結果 (Chen *et al.*, 2006)。

本試驗三組全期之日增重分別為 0.22 ± 0.01 、 0.23 ± 0.05 及 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet (表 3)。飼料中添加 R6 或 S10 之日增重有較對照組 (C) 高的趨勢 ($P = 0.064/A$ 組; $P = 0.067/B$ 組)。就全期而言，添加 R6 或 S10 的日增重依然有較高的趨勢 ($P < 0.1$)。顯示本試驗提升仔豬日增重的結果與上述文獻添加乳酸菌或芽孢桿菌提升豬隻日增重的研究結果相似。

表 3. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬增重 (kg/day/piglet) 的影響

Table 3. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on body weight gain (kg/day/piglet) of the piglets

Group*	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	$0.09 \pm 0.02^{***}$	0.25 ± 0.11	0.31 ± 0.05	0.22 ± 0.01
R6**	0.09 ± 0.04	0.32 ± 0.07	0.29 ± 0.04	0.23 ± 0.05
S10**	0.12 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.07	0.27 ± 0.04

* The piglets' body weight at 4 weeks of age of control, R6 and S10 groups were 7.44 ± 0.42 , 7.44 ± 0.66 and 7.15 ± 0.31 kg/piglet, respectively.

** R6, S10, the same as in Table 2.

*** means \pm SD ($n = 5$).

(iii) 飼料利用效率

三組之全期飼料利用效率 (body weight gain/feed) 分別為 0.55 ± 0.06 、 0.49 ± 0.09 及 0.54 ± 0.08 ，各組間無顯著差異 (表 4)。一些相關文獻，如 Wu *et al.* (2018) 於仔豬飼糧中添加芽孢桿菌對離乳仔豬飼料效率無顯著影響、Guo *et al.* (2006) 於仔豬飼糧中分別添加枯草桿菌 MA139 對離乳仔豬增重與飼料效率無顯著差異、在乳酸桿菌方面，飼糧中分別添加乳酸桿菌對仔豬飼料效率各組間並無明顯差異 (Yu *et al.*, 2008) 以及飼糧

中添加液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*) 對離乳仔豬日採食量與飼料效率無顯著改善 (曾等, 2017)。本試驗亦具類似結果。

Pu *et al.* (2018) 之結果指出, 飼糧中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌對經大腸桿菌攻毒仔豬的飼料效率有改善的效果, 同時減少仔豬發生下痢的比例, 並指出芽孢桿菌可以通過改善腸粘膜屏障完整性來減緩大腸桿菌的攻擊, 促進仔豬的生長表現和減輕腹瀉。本試驗之仔豬於試驗期間未發生細菌性下痢, 因此推測飼料效率無明顯差異。

表 4. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬飼料利用效率 (feed intake/body weight gain) 的影響

Table 4. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on feed conversion rate (feed intake/body weight gain) of the piglets

Group	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	0.40 ± 0.09**	0.62 ± 0.30	0.57 ± 0.14	0.55 ± 0.06
R6*	0.39 ± 0.20	0.63 ± 0.13	0.43 ± 0.04	0.49 ± 0.09
S10*	0.42 ± 0.11	0.73 ± 0.04	0.46 ± 0.10	0.54 ± 0.08

* R6, S10, the same as in Table 2.

** means ± SD (n = 5).

II. 離乳仔豬糞便大腸桿菌與乳酸菌

芽孢桿菌可能改變腸道內 pH 或引起敏感細胞離子流失而發揮其抗微生物的活性 (Riazi *et al.*, 2012)。依據 Lievin *et al.* (2000) 指出, 雙歧桿菌於宿主腸道中產生有機酸如醋酸及乳酸, 酸化腸道環境並有助於抑制腸道中病原菌生長。Choi *et al.* (2011) 指出益生菌可增加腸道中有益微生物, 並減少有害微生物菌落。

由 Pu *et al.* (2018) 之結果亦顯示, 飼糧中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌, 對大腸桿菌攻毒仔豬糞便中大腸桿菌數無顯著影響, 但在飼糧中添加苯甲酸、凝結芽孢桿菌及牛至油 (oregano oil), 則可顯著降低仔豬糞便中大腸桿菌數。本試驗結果與 Pu *et al.* (2018) 之結果相類似, 離乳仔豬給飼含芽孢桿菌飼糧 3 週後, 各組糞便中大腸桿菌與乳酸菌數無顯著差異 (表 5)。此現象推測單一益生菌的添加, 較不易得到降低糞便中大腸桿菌數的結果, 若再加上其它益生物質則可得到加成的效果。

表 5. 添加不同芽孢桿菌組之仔豬糞便中大腸桿菌群及乳酸菌菌落數

Table 5. The colonies of Coliform and Lactobacillus in the piglets feces between addition of *Bacillus coagulans*

Group	Coliform, log CFU/g	Lactobacillus, log CFU/g
Control	6.37 ± 1.05**	10.64 ± 0.26
R6*	7.86 ± 1.35	10.75 ± 0.23
S10*	7.40 ± 0.62	10.85 ± 0.09

* R6, S10, the same as in Table 2.

** means ± SD (n = 5).

結 論

飼料中添加 R6 或 S10 芽孢桿菌均可增加離乳仔豬的採食量及日增重, 但對飼料利用效率及糞便大腸桿菌群與乳酸菌菌落則無顯著影響。本試驗之結果可提供豬農於豬隻飼養管理之改善與豬隻營養補充之參考依據。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會經費補助【107 農科 -22.1.1- 畜 -L1(6)】、畜產試驗所產業組全體同仁協助, 謹此誌謝。

參考文獻

- 曾國富、林志勳、余祺、方文德、龔琳舒。2017。液化澱粉芽孢桿菌對離乳仔豬生長性能、腸道菌相及血液免疫球蛋白之影響。中畜會誌 46(4)：311-319。
- 黃宗賢、陳麗芳。2009。益生菌之臨床應用。藥學雜誌電子報，第 99 期 (<http://jtp.taiwan-pharma.org.tw/099/096-102.html>)。
- 劉芳爵、林幼君、許晉賓。2015。耐熱型芽孢桿菌對麩皮與脫脂米糠固態發酵時左旋乳酸產量之影響。104 農科-2.3.1-畜-L1(7) 研究報告。
- 劉芳爵、鍾承訓、林幼君。2017。液態與凝膠化仔豬人工乳對哺乳仔豬之生長性狀、免疫球蛋白含量及糞便微生物數量之影響。畜產研究 50：244-249。
- Chen, Y. J., B. J. Min, J. H. Cho, O. S. Kwon, K. S. Son, H. J. Kim and I. H. Kim. 2006. Effects of dietary bacillus-based probiotic on growth performance, nutrients digestibility, blood characteristics and fecal noxious. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 19: 587-592.
- Choi, J. Y., P. L. Shinde, S. L. Ingale, J. S. Kim, Y. W. Kim, K. H. Kim, I. K. Kwon and B. J. Chae. 2011. Evaluation of multi-microbe probiotics prepared by submerged liquid or solid substrate fermentation and antibiotics in weaning pigs. Livest. Sci. 138: 144-151.
- Guerra, N. P., P. F. Bernardez, J. Mendez, P. Cachaldora and L. P. Castroa. 2006. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets. Anim. Feed Sci. Technol. 134: 89-107.
- Guo, X. H., D. F. Li, W. Q. Lu, X. S. Piao and X. L. Chen. 2006. Screening of bacillus strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. Antonie van Leeuwenhoek 90: 139-146.
- Hooge, D. M. 2003. Bacillus spores may enhance broiler performance. Feedstuffs 75: 28-31.
- Lievin, V., I. Peiffer, S. Hudault, F. Rochat, D. Brassart, J. R. Neeser and A. L. Servin. 2000. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal will microflora exert antimicrobial activity. Gut 47: 646-52.
- Pu, J., D. Chen, G. Tian, J. He, P. Zheng, X. B. Mao, J. Yu, Z. Q. Huang, L. Zhu, J. Q. Luo, Y. H. Luo and B. Yu. 2018. Protective effects of benzoic acid, *Bacillus coagulans*, and oregano oil on intestinal injury caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned piglets. Biomed Res Int. Aug, 27: Article ID 1829632, 12 pages.
- Riazi, S., S. E. Dover and M. L. Chikindas. 2012. Mode of action and safety of lactosporin, a novel antimicrobial protein produced by *Bacillus coagulans* ATCC 7050. J. Appl. Microbiol. 113: 714-722.
- SAS Institute, 2002. Guide for Personal Computers. Version 8.0.1, SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA.
- Thu, T. V., T. C. Loh, H. L. Foo, H. Yaakub and M. H. Bejo. 2011. Effects of liquid metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faeces characteristics, intestinal morphology and diarrhoea incidence in postweaning piglets. Trop. Anim. Health Prod. 43: 69-75.
- Wu, T., Y. Zhang, Y. Lv, P. Li, D. Yi, L. Wang, D. Zhao, H. Chen, J. Gong and Y. Hou. 2018. Beneficial impact and molecular mechanism of *Bacillus coagulans* on piglets' intestine. Int J Mol Sci. 19: 2084.
- Yu, H. F., A. N. Wang, X. J. Li and S. Y. Qiao. 2008. Effect of viable *Lactobacillus fermentum* on the growth performance, nutrient digestibility and immunity of weaned pigs. J. Anim. Feed Sci. 17: 61-69.

The effect of applying *Bacillus coagulans* on the growth performance of weaned piglets ⁽¹⁾

Ling-Tsai Wu ⁽²⁾ Yu-Chun Lin ⁽³⁾ Chun-Ta Chang ⁽⁴⁾ Chin-Meng Wang ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ and Fang-Chueh Liu ⁽⁴⁾

Received: Apr. 8, 2019; Accepted: May 21, 2019

Abstract

The variety of antibiotics that can be added to livestock feed have been reduced in the following years, which is a trend for the international and domestic future. In response to this new trend, *Bacillus* has been developed as a feed additive for economic animal health. In this study, total of 30 heads of 28-day-old piglets was used, which was divided into control, R6 and S10 groups, each group with 5 repeats. The piglets of control group were given the normal feed. The R6 and S10 groups were added *Bacillus coagulans* R6 and S10 (10^8 CFU/kg), respectively. The results showed that the feed intake of the piglets in groups control, R6 and S10 was 0.40 ± 0.05 , 0.47 ± 0.06 and 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet, respectively. The feed intakes of the *Bacillus* added groups (R6 and S10) were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). It was shown that the addition of *Bacillus coagulans* R6 or S10 in the feed could increase feed intake of the piglets. On body weight gain of the piglets in the control, R6 and S10 groups were 0.22 ± 0.01 , 0.23 ± 0.05 and 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet, respectively. The daily weight gain of the *Bacillus* added groups (R6 and S10 groups) was higher than that of control group ($P = 0.064$ / R6 group; $P = 0.067$ / S10 group). But there was no significant effects on the feed efficiency. In addition, the addition of *Bacillus* (R6 and S10) in feed had no significant effects on the colonies of Coliform or Lactobacillus in the feces. We concluded that the piglets were fed with the *Bacillus coagulans* R6 or S10 feed, which had higher feed intake and body weight gain, but no significant effect on the feed efficiency, and also had no significant effects on the colonies of Coliform and Lactobacillus in the piglets feces.

Key words: *Bacillus coagulans*, Feed additives, weaned piglet.

(1) Contribution No. 2612 from Livestock Research Institute. Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

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

不同鴨床材質對土番鴨生長性能與屠體性狀之影響⁽¹⁾

林榮新⁽²⁾ 蘇晉暉⁽²⁾⁽⁵⁾ 林育安⁽³⁾ 曾再富⁽⁴⁾ 鄭智翔⁽²⁾ 劉秀洲⁽²⁾

收件日期：108 年 3 月 29 日；接受日期：108 年 5 月 29 日

摘 要

本試驗旨在探討不同鴨床材質對土番鴨生長性能、屠體性狀、主翼羽長度及足墊損傷之影響，以評估舍內高床飼養土番鴨之可行性。0—3 週齡三品種土番鴨飼養於育雛室內，於飼養滿 3 週齡後，將土番鴨逢機分成 4 處理組，飼養於 4 種不同高床床面，分別為不銹鋼網狀床面、塑膠床面、木條床面及橡膠止滑床面，每處理組三重複，每重複 20 隻，各組皆等蛋白質及等代謝能。在試驗鴨隻第 3、7、10 及 12 週齡時，測定鴨隻個別體重及各組飼料消耗量，以計算鴨隻之採食量、增重、飼料轉換率等生長性能及測定主翼羽長度與足墊損傷情況，並於 12 週齡每處理組犧牲 6 隻，測定鴨隻之屠體性狀。試驗結果顯示：各處理組 12 週齡活體重介於 2,663—2,875 g 之範圍，但飼養在木條床面組鴨隻活體重為 2,875 g 與飼養在不銹鋼網狀床面組為 2,862 g，皆顯著較飼養在橡膠止滑床面組 2,663 g 為重 ($P < 0.05$)。於 12 週齡時測定，得知不銹鋼網狀床面組的足墊損傷評分為 1.80 分顯著較塑膠床面組 3.25 分、木條床面組 2.67 分及橡膠止滑床面組 3.58 分為佳 ($P < 0.05$)。各處理組 3—12 週齡飼料轉換率介於 3.45—3.78 之範圍，各組間並無顯著差異，但以飼養在木條床面組其飼料轉換率為 3.45，有較其它三組為佳之趨勢。各處理組 12 週齡主翼羽長度介於 19.0—21.1 cm 之範圍，但以飼養在橡膠止滑床面其主翼羽長度為 19.0 cm，有較其它三組為短之現象。各處理組屠宰率介於 80.3—82.7% 之範圍，各組間並無顯著差異。各處理組胸肉重介於 412—504 g 之範圍，各組間亦無顯著差異。綜合本試驗結果顯示若同時考量活體重、飼料轉換率及足墊損傷等因素，室內鴨舍建議採用不銹鋼網狀床面為宜。

關鍵詞：鴨床材質、土番鴨、生長性能、屠體性狀。

緒 言

臺灣位於亞熱帶地區，夏季高溫多濕的環境不利畜產動物的生長。北京鴨之飼養環境溫度超過 25℃ 時，會有喘氣現象；如鴨隻飼養於環境溫度 29℃ 時，每日增重顯著較飼養於 18.3℃ 者減少 30% (Bouverot *et al.*, 1974)。Hester *et al.* (1981) 指出北京鴨在遭受熱緊迫時，其腎上腺會膨大。Zanobini *et al.* (1997) 比較番鴨於熱季與涼季下對其生產性能之影響，結果顯示高溫僅對採食量下降有顯著影響，而對體重及飼料效率則無顯著影響，然而屠體皮下脂肪及腹脂則顯著下降，顯示高溫可能影響番鴨體內脂質代謝。高溫環境會造成動物體溫上升，降低其採食量、飼料效率、體重及生長速度等 (Allemana and Leclercq, 1997; Geraert *et al.*, 1996; Pope and Emmert, 2002)。而舍內鴨舍的使用，不只可以降低鴨隻飼養所遭受的熱緊迫，也可以隔絕外在病原的接觸，以減少感染禽流感等疾病的風險。

水禽產業部分，過去張等 (2010) 指出涼季飼養肉鵝時，以每平方公尺飼養 0.8 隻的肉鵝，其體重顯著較飼養密度為 1.6 隻者重；然於夏季飼養肉鵝時，不同飼養密度於各階段生長性狀則無顯著性影響。張等 (2012) 的試驗結果顯示，於熱季期間每平方公尺飼養 1.2、1.5 及 1.8 隻肉鵝，其各組的體重與飼料轉換率並無顯著差異。此外，林等 (2014) 建議鵝隻飼養密度每平方公尺小於 1.2 隻較為適當。黃 (2008) 利用水簾舍飼養肉鵝發現，其可改善 9—11 週齡鵝隻之飼料採食量及飼料效率，亦可增加鵝隻日增重，然整期 (9—13 週) 之生長性能則無差異。蘇等 (2013) 建議水簾式鴨舍之三品種土番鴨飼養密度，若僅考量增重，以每平方公尺飼養 1.5 隻為佳。黃等 (1993) 利用不同飼養環境飼養三品種土番鴨發現，3—10 週齡飼料轉換率以水池組 3.32 有較高床組 3.49 與墊料組 3.95 為佳之趨勢，

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2613 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。

(3) 國立宜蘭大學生物技術與動物科學系。

(4) 國立嘉義大學動物科學系。

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

但各組間無顯著差異；而跛腳率以高床組 9.7% 顯著較墊料組 3.1% 與水池組 0.2% 為高 ($P < 0.05$)。鄭等 (2015) 指出有水浴池之處理組其北京鴨在 7 週齡及 9 週齡時有較高的體重及採食量 ($P < 0.05$)；且在 9 週齡時，有水浴池之處理組其鴨隻主翼羽長度亦較長 ($P < 0.05$)。由以上文獻探討得知，適當的飼養環境與條件對於生產業者來說，不僅可提供動物良好的生長環境、兼顧動物福祉，並可減少因高密度飼養導致的種種性狀不良表現。因此，本試驗針對土番鴨進行試驗，以評估舍內不同鴨床材質對土番鴨生長性能、屠體性狀、主翼羽長度及足墊損傷之影響，進一步建立土番鴨之舍內飼養模式，提供業者參採。

材料與方法

I. 試驗飼糧與試驗設計

土番鴨飼糧依鴨隻營養分需要量手冊 (沈, 1988) 推薦之營養標準餵飼 (表 1)。0—3 週齡三品種土番鴨飼養於育雛室內，於飼養滿 3 週齡後，飼養於 4 種不同高床床面 (分別為不銹鋼網狀床面、塑膠床面、木條床面及橡膠止滑床面)，每處理組三重複，每重複 20 隻，共 240 隻供試驗。各組皆等蛋白質及等代謝能，且試驗期間採自由飲水及任食。試驗期間為 107 年 6 月 15 日起至 107 年 9 月 6 日止。本研究涉及之動物試驗於行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所執行，動物之使用、飼養及實驗內容皆依行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所實驗動物管理委員會批准之文件與試驗準則進行。

表 1. 土番鴨 0—12 週齡試驗飼糧組成

Table 1. The composition of the experimental diets for mule ducks during 0-12 weeks of age

Ingredients	0-3 weeks	3-12 weeks
Yellow corn	55.3	66.3
Soybean meal, 43% CP	25.3	20.6
Barley	9.97	-----
Yeast powder	3.0	-----
Fish meal, 60%	2.0	-----
Wheat bran	-----	8.71
Soybean oil	1.1	1.1
Pulverized limestone	1.1	1.44
Dicalcium phosphate	1.1	0.9
Iodized salt	0.3	0.3
Choline choride, 50%	0.2	-----
L-Lysine • HCl-98%	0.08	0.13
DL-Methionine-98%	0.05	0.02
Vit- premix ^a	0.3	0.3
Min-premix ^b	0.2	0.2
Total	100	100
Calculated values		
CP, %	18.91	15.40
ME, kcal/kg	2,892	2,890
Ca, %	0.74	0.72
TP, %	0.68	0.60
L-Lysine, %	1.12	0.90
DL-Methionine + Cystine, %	0.70	0.57

^a Supplied per kilogram of diet: vitamin A, 24,000 IU; vitamin D, 5,000 IU; vitamin E, 50 IU; vitamin K, 6 mg; thiamin, 6 mg; riboflavin, 18 mg; pyridoxine, 14 mg; vitamin B₁₂, 0.06 mg; ca-pantothenate, 30 mg; niacin, 120 mg; biotin (1.0%), 0.12 mg; folic acid, 2 mg.

^b Supplied per kilogram of diet: Mn (Mn₃O₄), 100 mg; Zn (ZnSO₄ • H₂O), 90 mg; Cu (CuSO₄ • 5H₂O), 8 mg; Se (Na₂SeO₃), 0.2 mg; Fe (FeSO₄), 100 mg; I (KIO₃), 0.5 mg; Co (CoCO₃), 0.1 mg.

II. 測定項目

- (i) 鴨舍環境之溫濕度：使用溫濕度計 (TFA, A9SG - 452001, Germany) 於試驗期間每週測定三天，測定時間為上午 9 點，並將三天之數據加以平均，作為該週之溫濕度。
- (ii) 生長性能：在鴨隻 3、7、10 及 12 週齡時，測定各組鴨隻體重及飼料採食量，以計算飼料轉換率。主翼羽長度之測定為鴨隻第 7、10 及 12 週齡時，使用量尺測定鴨隻第 8 根主翼羽長度。足墊損傷之測定是依照鴨隻足底肉墊損傷程度給予評分。評分方式參考 Hocking *et al.* (2008) 應用於火雞的評分機制，並由原本 0 分至 4 分的評分方式調整為 0 分至 5 分，因火雞飼養期較長，與目前國內水禽飼養的情況相似，故參考使用。各項分數之評分說明如表 2 及圖 1 所示。
- (iii) 屠體性狀：於 12 週齡時，每欄逢機犧牲 2 隻鴨以測定活體重、屠體重、屠宰率 (屠體重 / 活體重) 以及胸肉重。

III. 統計分析

試驗數據經 SAS (Statistical Analysis System, 2011) 套裝軟體之一般線性程序 (GLM procedure) 進行變方分析，再以特奇公正顯著差異法 (Tukey's honest significant difference)，比較各組平均值間之差異顯著性。

表 2. 試驗鴨隻足墊評分標準

Table 2. External foot pad scoring system for use in experimental ducks

Score	Description of foot pad
0	No external signs of Foot pad disease. The skin of the foot pad feels soft to the touch and no swelling or necrosis is evident.
1	The pad feels harder and denser than a non affected foot. The central part of the pad is raised, reticulate scales are separated and small black necrotic areas may be present.
2	Marked swelling of the foot pad. Reticulate scales are black, forming scale shaped necrotic areas. The scales around the outside of the black areas may have turned white. The area of necrosis is less than one quarter of the total area of the foot pad.
3	Swelling is evident and the total foot pad size is enlarged. Reticulate scales are pronounced, increased in number and separated from each other.
4	As score 3, The amount of necrosis extends to the foot pad, but with less than half the foot pad covered by necrotic cells.
5	As score 4, but with more than half the foot pad covered by necrotic cells.

結果與討論

I. 鴨舍環境之溫濕度變化

在試驗期間，鴨舍環境之平均溫度為 31.4℃、平均最高溫度 31.7℃、平均最低溫度 30.4℃、平均相對濕度為 65.5% (圖 2)。在水禽飼養的過程中，雖可應用戲水池來幫助動物降低熱緊迫。例如張等 (2012) 及林等 (2014) 夏季飼養肉鵝，外面環境溫度對鵝隻的生長影響甚大，因外部高溫常達 33 – 35℃，鵝隻因高溫造成採食量受限，生長速度較慢，常發生體重達不到市場需求的情形 (一般上市體重需達 5.1 kg 以上)。因此，鵝農常以抽取地下水至水池內，做為降低水池中之溫度，此做法可減緩鵝隻熱緊迫，但效果有限。來航雞於熱緊迫環境下，其體溫顯著升高、產蛋率下降、卵巢重量增加及大濾泡數量亦較多 (Rozenboim *et al.*, 2007)。此外，蘇等 (2014) 指出土番鴨長期處於 35℃ 的環境溫度時，其體重、飼料採食量會降低且直腸溫度會上升。

II. 生長性能

不同鴨床材質對三品種土番鴨生長性能之影響，如表 3 所示。木條床面組 7 週齡活體重為 1,841 g，顯著較其它三組為重 ($P < 0.05$)。木條床面組 10 週齡活體重為 2,618 g 亦顯著較塑膠床面組 2,448 g 與橡膠止滑床面組 2,449 g 為重 ($P < 0.05$)。12 週齡時各處理組活體重介於 2,663 – 2,875 g 之範圍，但木條床面組活體重為 2,875 g 與不銹鋼網狀床面為 2,862 g 皆顯著較橡膠止滑床面組 2,663 g 為重 ($P < 0.05$)。探究其因，鴨舍清潔後橡膠止滑床面較潮濕，鴨隻受驚嚇時會奔跑而跌倒，因而導致橡膠止滑床面組其活體重較輕。

各處理組 3 – 7 週齡鴨隻增重介於 1,348 – 1,496 g 之範圍，且以木條床面組增重為 1,496 g，有較其它三組為佳之趨勢 (表 3)。統計各處理組 10 – 12 週齡增重則介於 214 – 374 g 之範圍，各組間並無顯著差異。如分

析各處理組 3 – 12 週齡之增重則介於 2,328 – 2,529 g 之範圍，各組間亦無顯著差異。由以上試驗結果得知，於 3 – 7 週齡時，是土番鴨快速生長期故其增重佳；但於 10 – 12 週齡時，則是土番鴨生長趨緩之時期，故其增重減少。胡等 (1999) 指出影響番鴨體重之因素，除考慮品種及營養原因外，其他極可能係飼養管理造成之差異，因據本分所歷年檢定之番鴨體重成績，發現鴨床亦為影響生長性能重要因子之一，此可供養鴨業者參考。



圖 1. 試驗鴨隻足墊評分示意圖 (自左上、右上、左中、右中、左下到右下分別為 0 到 5 分)。

Fig. 1. The illustration of different damage scores of footpad for experimental ducks.

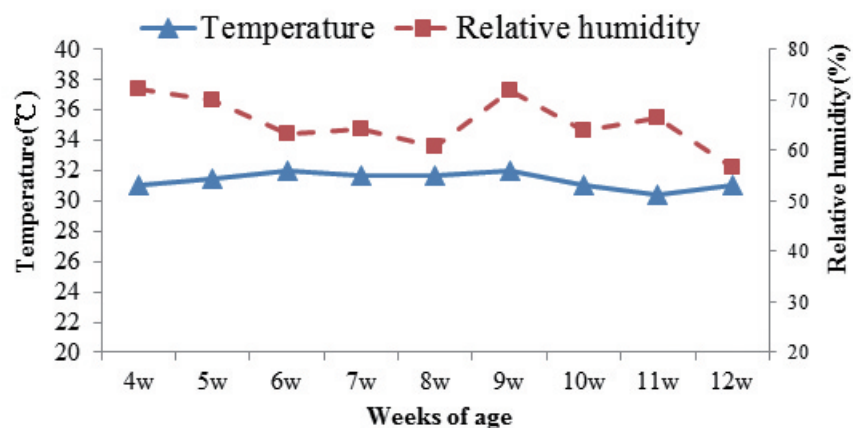


圖 2. 試驗期間鴨舍環境之溫濕度變化 (4 – 12 週齡)。

Fig. 2. Changes in temperature and relative humidity in the duck house environment during the experiment period (4-12 weeks of age).

表 3. 不同鴨床材質對三品種土番鴨生長性能之影響

Table 3. The effects of different floor materials on the growth performance of the three-way crossbred Mule ducks

Item	Treatments			
	Stainless steel mesh floor	Plastic floor	Wooden slats floor	Rubber anti-slip floor
Weeks of age	Body weight, g/ bird			
3	344 ± 8	338 ± 8	345 ± 8	335 ± 7
7	1,744 ± 30 ^b	1,700 ± 22 ^b	1,841 ± 29 ^a	1,683 ± 22 ^b
10	2,519 ± 61 ^{ab}	2,448 ± 24 ^b	2,618 ± 41 ^a	2,449 ± 32 ^b
12	2,862 ± 49 ^a	2,774 ± 26 ^{ab}	2,875 ± 43 ^a	2,663 ± 43 ^b
	Body weight gain, g/bird			
3-7	1,387 ± 53	1,362 ± 11	1,496 ± 46	1,348 ± 31
7-10	788 ± 41	748 ± 57	777 ± 16	766 ± 28
10-12	341 ± 71	374 ± 52	257 ± 11	214 ± 33
3-12	2,517 ± 113	2,483 ± 15	2,529 ± 70	2,328 ± 36
	Feed consumption, g/bird/day			
3-7	131 ± 4	130 ± 1	134 ± 2	132 ± 2
7-10	142 ± 5	132 ± 1	133 ± 2	143 ± 3
10-12	152 ± 6	161 ± 7	155 ± 5	150 ± 1
3-12	139 ± 1	137 ± 2	138 ± 2	140 ± 1
	Feed conversion ratio, feed/gain			
3-7	2.64 ± 0.03 ^{ab}	2.66 ± 0.04 ^{ab}	2.51 ± 0.05 ^b	2.74 ± 0.03 ^a
7-10	3.79 ± 0.19	3.75 ± 0.27	3.61 ± 0.03	3.92 ± 0.09
10-12	6.95 ± 1.75	7.07 ± 0.74	8.46 ± 0.05	10.35 ± 1.69
3-12	3.50 ± 0.19	3.55 ± 0.01	3.45 ± 0.04	3.78 ± 0.07
	Length of 8th primary feather, cm			
7	3.9 ± 0.2 ^a	3.6 ± 0.2 ^{ab}	4.0 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.2 ^b
10	16.2 ± 0.4 ^a	16.3 ± 0.2 ^a	16.3 ± 0.4 ^a	14.9 ± 0.3 ^b
12	20.9 ± 0.2 ^a	21.1 ± 0.2 ^a	21.1 ± 0.3 ^a	19.0 ± 0.4 ^b
	Footpad damage, Score			
7	0.98 ± 0.11 ^d	1.93 ± 0.12 ^b	1.42 ± 0.11 ^c	3.02 ± 0.10 ^a
10	1.38 ± 0.15 ^c	2.97 ± 0.14 ^a	2.02 ± 0.15 ^b	3.43 ± 0.14 ^a
12	1.80 ± 0.13 ^c	3.25 ± 0.12 ^a	2.67 ± 0.14 ^b	3.58 ± 0.14 ^a

^{a, b, c, d}Means in the same row without a common superscript differ ($P < 0.05$).

Means ± SE.

各處理組 3 – 7 週齡之平均隻日採食量介於 130 – 134 g 之範圍，7 – 10 週齡之平均隻日採食量介於 132 – 143 g 之範圍，10 – 12 週齡之平均隻日採食量介於 150 – 161 g 之範圍，各組間並無顯著差異（表 3）。合計 3 – 12 週齡之平均隻日採食量介於 137 – 140 g 之範圍。由以上試驗結果得知，可能是飼養於高溫環境下，各處理組鴨隻之生理狀況與食慾皆不佳，故各處理組鴨隻採食量皆不多，導致各組間並無顯著差異。黃 (2008) 利用水簾舍飼養肉鵝結果發現，其可改善 9 – 11 週齡鵝隻之飼料採食量及飼料效率，亦可增加鵝隻日增重，然 9 – 13 週之生長性能無差異。文獻指出熱緊迫會導致動物體的體增重與飼糧採食量的下降 (Lesson, 1986; Teeter and Belay, 1996; Yahav, 2000)，所以，建議土番鴨飼養於較涼爽的環境下將能獲得較佳之體重。

在飼料轉換率方面，於 3 – 7 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 2.51 – 2.74 之範圍，但以橡膠止滑床面組其飼料轉換率為 2.74 顯著較木條床面組 2.51 為差，究其因鴨舍清洗後橡膠止滑床面較潮濕，小鴨因驚嚇於橡膠止滑床面奔跑容易因止滑設計而跌倒，而影響其增重（表 3）。於 7 – 10 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 3.61 – 3.92 之範圍，各組間並無顯著差異；於 10 – 12 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 6.95 – 10.35 之範圍，各組

間亦無顯著差異。其原因可能為鴨隻長大後驚嚇狀況就會減少，且體重較重後其奔跑速度相對較慢，亦會較少跌倒，致使各組間增重正常，故各組間飼料轉換率並無顯著差異。合計 3 – 12 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 3.45 – 3.78 之範圍，各組間並無顯著差異，但木條床面組其飼料轉換率為 3.45，有較其它三組為佳之趨勢。探討其因，可能是木條床面組 3 – 12 週齡時增重為 2,529 g 有較不銹鋼網狀床面組 2,517 g、塑膠床面組 2,483 g 與橡膠止滑床面組 2,328 g 等三組為佳之現象，且各處理組鴨隻之採食量皆相似介於 137 – 140 g 之範圍，故導致其飼料轉換率為 3.45 有較其它三組為佳之現象。

在主翼羽長度方面，於 7 週齡時，測定各處理組主翼羽長度介於 3.2 – 4.0 cm 之範圍，但以橡膠止滑床面組其主翼羽長度為 3.2 cm 有顯著較不銹鋼網狀床面組 3.9 cm 與木條床面組 4.0 cm 為短之現象 (表 3)。各處理組 10 週齡主翼羽長度介於 14.9 – 16.3 cm 之範圍，但以橡膠止滑床面組其主翼羽長度為 14.9 cm 有顯著較其它三組為短之現象；各處理組 12 週齡主翼羽長度介於 19.0 – 21.1 cm 之範圍，但以橡膠止滑床面組其主翼羽長度為 19.0 cm 有顯著較其它三組為短之現象。究其因，鴨舍清潔後橡膠止滑床面較潮濕，鴨隻受驚嚇時會奔跑而跌倒，且跌倒時會損傷鴨隻主翼羽，而導致橡膠止滑床面組其主翼羽長度有較短之現象。由試驗結果得知，於 7 – 10 週齡時是土番鴨主翼羽發育快速之時期，各處理組之主翼羽在此時期皆生長 11 cm 以上。

在足墊損傷評分方面，於 7 週齡時測定，得知不銹鋼網狀床面組的足墊損傷評分為 0.98 分顯著較塑膠床面組 1.93 分、木條床面組 1.42 分及橡膠止滑床面組 3.02 分為佳 ($P < 0.05$) (表 3)。於 10 週齡時之測定結果，顯示不銹鋼網狀床面組的足墊損傷評分為 1.38 分顯著較塑膠床面組 2.97 分、木條床面組 2.02 分及橡膠止滑床面組 3.43 分為佳 ($P < 0.05$)。至於 12 週齡時之測定結果，經統計分析得知不銹鋼網狀床面組的足墊損傷評分為 1.80 分亦顯著較較塑膠床面組 3.25 分、木條床面組 2.67 分及橡膠止滑床面組 3.58 分為佳 ($P < 0.05$)。由以上試驗結果得知，室內鴨舍使用不銹鋼網狀床面飼養鴨隻可降低鴨隻足墊之損傷。

III. 屠體性狀

在屠體性狀方面，12 週齡時每處理組犧牲 6 隻鴨隻，各處理組屠體重介於 2,309 – 2,509 g 之範圍，各組間並無顯著差異 (表 4)。在屠宰率方面，各處理組屠宰率介於 80.3 – 82.7% 之範圍，各組間亦無顯著差異。蘇等 (2013) 指出 12 週齡時水簾式鴨舍土番鴨屠宰率介於 80.2 – 82.7% 之範圍，本試驗結果與之相似。在胸肉重方面，12 週齡時各處理組胸肉重介於 412 – 504 g 之範圍，各組間均無顯著差異。蘇等 (2013) 報告顯示 12 週齡時屠宰三品種土番鴨，得知其胸肉重介於 398 – 499 g 之範圍，本試驗之結果與之亦頗為一致。而針對足底損傷與福祉性狀的部分，Bujis 等 (2009) 的研究顯示，白肉雞足底損傷的嚴重程度會隨著飼養密度增加而增加。Karcher 等 (2013) 的研究比較塑膠條狀地面與松木屑墊料對北京鴨的影響，結果顯示這兩種床面飼養出來的北京鴨，在羽毛潔淨程度、移動能力、足底損傷表現皆相當良好。

表 4. 不同鴨床材質對三品種土番鴨屠體性狀之影響

Table 4. The effects of different floor materials on the carcass traits of the three-way crossbred Mule ducks

Item	Treatments			
	Stainless steel mesh floor	Plastic floor	Wooden slats floor	Rubber anti-slip floor
Body weight, g	3,044 ± 121	2,967 ± 76	3,039 ± 56	2,795 ± 56
Carcass weight, g	2,444 ± 105	2,444 ± 22	2,509 ± 72	2,309 ± 60
Dressing percentage, %	80.3 ± 1.7	82.6 ± 2.1	82.7 ± 2.6	82.6 ± 1.0
Breast weight, g	494 ± 52	504 ± 25	503 ± 20	412 ± 25

Means ± SE. (n = 6)

結 論

由本試驗結果得知：在 12 週齡活體重方面，各處理組之體重介於 2,663 g 至 2,875 g 之範圍，但木條床面組活體重為 2,875 g 與不銹鋼網狀床面為 2,862 g 皆顯著較橡膠止滑床面組 2,663 g 為重。在 3 – 12 週齡飼料轉換率方面，木條床面組為 3.45 有較其它三組為佳之現象。不銹鋼網狀床面組 12 週齡的足墊損傷評分為 1.80 分顯著較塑膠床面組 3.25 分、木條床面組 2.67 分及橡膠止滑床面組 3.58 分為佳。若同時考量活體重、飼料轉換率、足墊損傷及生物安全等因素，室內鴨舍建議採用不銹鋼網狀床面為宜。

誌 謝

本試驗承行政院農業委員會經費支持 (107 農科 -2.2.1- 畜 -L1(2))。試驗期間承蒙楊瑞琳、陳麗晴、鐘欣婷及李寶雲等宜蘭分所同仁協助現場工作及文書處理，特此誌謝。

參考文獻

- 沈添富。1988。鴨隻營養分需要量手冊。國立臺灣大學畜牧學系，臺北市。
- 林旻蓉、張仲彰、賈玉祥、范揚廣。2014。飼養密度與飼糧營養濃度對白羅曼鵝生長性能與飛機翼發生之影響。中畜會誌 43(3)：45-56。
- 胡怡浩、戴謙、王政騰。1999。大型番鴨之選育 II. 肉用番鴨生長性能檢定。畜產研究 32(1)：63-70。
- 張雁智、王錦盟、胡見龍、黏碧珠、賈玉祥。2010。高床鵝舍飼養密度對肉鵝生長性能之影響。畜產研究 43(1)：51-58。
- 張仲彰、林旻蓉、賈玉祥、譚發瑞、范揚廣。2012。水簾舍及傳統鵝舍的飼養密度對肉鵝生長性能與其成本之影響。畜產研究 45(1)：19-28。
- 黃振芳、李舜榮、林達德、陳保基、王政騰。1993。不同飼養環境對三品種土番鴨生長及屠體之影響。畜產研究 26(3)：203-211。
- 黃信又。2008。飼養環境、飼糧能量含量與添加抗壞血酸對白羅曼鵝生長性能與屠體性狀之影響。碩士論文，國立中興大學。
- 鄭智翔、吳勇初、林榮新、黃振芳、蘇晉暉。2015。水浴條件及飼養密度對舍飼北京鴨生長性能之影響。畜產研究 48(1)：53-59。
- 蘇晉暉、曾再富、林育安、鄭智翔、黃振芳、林榮新。2013。水簾式鴨舍飼養密度對土番鴨生長性能之影響。畜產研究 46(4)：219-227。
- 蘇晉暉、鄭智翔、黃振芳、林榮新。2014。提高飼糧中油脂含量對土番鴨抗熱緊迫效果之評估。中畜會誌 43(3)：71-80。
- Allemana, F. and B. Leclercq. 1997. Effect of dietary protein and environmental temperature on growth performance and water consumption of male broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 38: 607-610.
- Bouverot, P., B. Hildwein and D. LeGoff. 1974. Evaporative water loss, respiratory pattern, gas exchange and acid-base balance during thermal panting in Pekin ducks exposed to moderate heat. *Respir. Physiol.* 21: 255-269.
- Bujis, S., L. Keeling, S. Rettenbacher, E. Van Poucke and F. A. M. Tuytens. 2009. Stocking density effects on broiler welfare: identifying sensitive ranges for different indicators. *Poult. Sci.* 88: 1536-1543.
- Geraert, P. A., J. C. F. Padilha and S. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. *Br. J. Nutr.* 75: 195-204.
- Hester, P. Y., F. A. Pison, E. K. Wilson, R. L. Adams and W. J. Stadlman. 1981. Feed/gain ratios of white Pekin ducks as affected by age and environment temperature. *Poult. Sci.* 60: 2401-2406.
- Hocking, P. M., R. K. Mayne, R. W. Else, N. A. French and J. Gatcliffe. 2008. Standard European footpad dermatitis scoring system for use in turkey processing plants. *World's Poult. Sci. J.* 64:323-328.
- Karcher, M., M. M. Makagon, G. S. Fraley, S. M. Fraley and M. S. Lilbrun. 2013. Influence of raised plastic floors compared with pine shaving litter on environment and Pekin duck condition. *Poult. Sci.* 92: 583-590.
- Lesson, S. 1986. Nutritional considerations of poultry during heat stress. *World's Poult. Sci. J.* 42: 69-81.
- SAS. 2011. SAS user guide: Statistics, SAS Inst., Cary, NC.
- Pope, T. and J. L. Emmert. 2002. Impact of phase-feeding on the growth performance of broilers subjected to high environmental temperatures. *Poult. Sci.* 81: 504-511.
- Rozenboim, I., E. Tako, O. Gal-Garber, J. A. Proudman and Z. Uni. 2007. The effect of heat stress on ovarian function of laying hens. *Poult. Sci.* 86: 1760-1765.
- Teeter, R. G. and T. Belay. 1996. Broiler management during heat stress. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58: 127-142.
- Yahav, S. A. 2000. Domestic fowl-strategies to confront environment conditions. *Avian Poult. Biol. Rev.* 11: 81-95.
- Zanobini, S., I. Romboli and C. D'Ascenzi. 1997. Effect of environmental temperature on growth, carcass, traits, breast pH and skin chemical composition of Muscovy ducklings. *Proceeding of the 11th European Symposium on Waterfowl in Nantes, France*, pp. 619-624.

The effects of different floor materials on the growth performance and carcass traits of Mule duck ⁽¹⁾

Jung-Hsin Lin ⁽²⁾ Chin-Hui Su ⁽²⁾⁽⁵⁾ Yu-An Lin ⁽³⁾ Tsai-Fuh Tseng ⁽⁴⁾
Chih-Hsiang Cheng ⁽²⁾ and Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾

Received: Mar. 29, 2019; Accepted: May 29, 2019

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the effects of different floor materials on the growth performance, carcass traits, main feather length development and footpad damage of the Mule duck to evaluate the feasibility of the indoor production model of mule duck. 240 three-way crossbred mule ducks were raised in the brooding house from hatched to 3 weeks of age. After 3 weeks of age, the Mule ducks were divided into 4 treatment groups, with the floor materials being stainless steel mesh, plastic wooden slats and rubber anti-slip and three replicates per treatment, 20 ducks per replicate. Diet was isocaloric and isonitrogenous in each group. The individual body weight and the feed consumption of each group were determined to calculate the growth performance such as feed intake, body weight gain, feed conversion ratio, and the development of the main feather length, damage of the footpad were also determined. When ducks were at 3, 7, 10 and 12 weeks of age, six ducks were selected from each treatment and sacrificed at 12 weeks of age for carcass traits determination. The results showed that the average temperature and relative humidity in the duck house were 31.4°C and 65.5%. In terms of body weight, the body weight of each treatment was ranged from 2,663-2,875 g at 12 weeks of age. Yet the results of the wood slat floor and stainless steel mesh floor treatments were 2,875 g and 2,862 g which were significantly higher than 2,663 g of the rubber anti-slip floor treatment ($P < 0.05$). The damage score of footpad indicated that stainless steel mesh floor treatment was 1.80 which were significantly better than plastic floor (3.25), wooden slats floor (2.67) and rubber anti-slip floor (3.58) treatments at 12 weeks of age ($P < 0.05$). In terms of body weight gain, the body weight gain of ducks from 3 to 7 weeks of age in each treatment were ranged from 1,348 to 1,496 g. The body weight gain of the wood slat floor group was 1,496 g which was better than that of the other three groups; However, the body weight gain of each treatment were ranged from 2,328-2,529 g at 3-12 weeks of age and there was no significant difference between the treatments. The average daily feed consumption of each treatment were ranged from 137 to 140 g at 3-12 weeks of age, with no significant differences between the treatments. The feed conversion ratio of each treatment were ranged from 3.45 to 3.78 at 3-12 weeks of age and there was no significant difference between the groups, but the feed conversion ratio of the wood slat floor group was 3.45 which was showed better trend than the other three groups. With regard to the length of the 8th primary feather at 12 weeks of age, the length of the main feathers of each treatment group were ranged from 19.0 to 21.1 cm, and there was no significant difference between the treatments. The dressing percentage of each treatment were ranged from 80.3 to 82.7% and there was no significant difference between the treatments. The weight of breast meat in each treatment were ranged from 412 to 504 g, and there was no significant difference between the treatments. According to the results of this experiment, it is recommended to use stainless steel mesh floor for indoor duck house if ducks body weight, feed conversion rate and footpad damage are taken into concern simultaneously.

Key words: Floor material, Mule duck, Growth performance, Carcass traits.

(1) Contribution No. 2613 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Department of Biotechnology and Animal Science, National Ilan University, 260, Ilan, Taiwan, R. O. C.

(4) Department of Animal Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, R. O. C.

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

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⁽¹⁾

許佳憲⁽²⁾ 蘇安國⁽³⁾ 涂柏安⁽⁴⁾ 楊深玄⁽³⁾ 李光復⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：108 年 1 月 18 日；接受日期：108 年 5 月 30 日

摘 要

本分所肉牛種原聖達 (Santa Gertrudis, SG)、布拉曼 (Brahman, BR) 及德國黃牛 (Gelbvieh, GV) 四種不同配種組合 (SG × SG, BR × BR, GV × SG, GV × BR) 的六十頭母牛進行為期兩年的泌乳性能調查，以瞭解含不同比例溫、熱帶牛血統的產後母牛於本地氣候、環境下，其泌乳性能之表現及乳量對離乳前階段仔牛生長的影響。調查結果顯示：含溫帶牛 (*Bos taurus*) 血統比例最高 (81.25%) 的德國黃牛 × 聖達雜種 (GV × SG) 間隔 4 h 後泌乳量最高 (0.89 × 0.34 kg)，而含 100% 熱帶牛 (*Bos indicus*) 血統的純種布拉曼 (BR × BR) 間隔 4 h 後泌乳量最低 (0.70 × 0.20 kg)，二者間有顯著之差異 ($P < 0.05$)。母牛之泌乳量亦對仔牛之離乳體重與離乳前之平均日增重有顯著的影響，離乳體重及平均日增重較重的仔牛其母牛之泌乳量有較高之現象 ($P < 0.05$)；但仔牛性別對母牛泌乳量之影響並無顯著性差異。

關鍵詞：聖達、布拉曼、德國黃牛雜種、泌乳量、仔牛生長。

緒 言

母牛乃肉牛事業中最主要之生產單位，利用對不同品種母牛性能之瞭解，有助生產者在雜交育種計畫中，選擇適當的品種以獲得雜交生產之最大利益。再者，在肉牛的生產過程中，仔牛的離乳體重為一重要性狀，受母牛乳量及雙親生長速率的遺傳組成之影響。有報告指出，仔牛離乳體重之 60 – 66% 受母牛產乳量之影響 (Rutledge *et al.*, 1971; Ghenette and Frahm, 1981)。仔牛離乳體重或離乳前之增重受泌乳量之影響見之於諸多報告 (Totusek *et al.*, 1973; Reynolds *et al.*, 1978; Long, 1980; Boggs *et al.*, 1980; Mondragon *et al.*, 1983; Marston *et al.*, 1992)，而離乳體重或離乳前之增重與泌乳量之相關係數在 0.2 – 0.9 (Koch, 1972; Totusek *et al.*, 1973; Marshall *et al.*, 1976) 與 0.36 – 0.8 (Clutter and Nielson, 1987; Daley *et al.*, 1987)，於不同品種間母牛產乳量之差異或雜交優勢為 15 – 30% (Notter *et al.*, 1978; Long, 1980; McMorris and Wilton, 1986)。

為利用恒春分所原有之聖達牛及自國外引進之布拉曼牛為基礎牛群，除各自進行純種繁殖之外，本試驗主要目的在於調查不同品種間母牛泌乳性能之表現及其對仔牛離乳前生長之影響。

材料與方法

I. 性狀調查

於同年調查四種品種 60 頭母牛計有純種聖達 (Santa Gertrudis, SG × SG) 12 頭，純種布拉曼 (Brahman, BR × BR) 17 頭，德國黃牛 (Gelbvieh) × 聖達 (GV × SG) 14 頭，德國黃牛 × 布拉曼 (GV × BR) 17 頭，其中，17 頭 BR

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2614 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花蓮種畜繁殖場。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(5) 通訊作者，Email：gfli@mail.tlri.gov.tw。

× BR 中分別有 13 頭、3 頭及 1 頭為初產、第 2 胎及第 3 胎；17 頭 GV × BR 中分別有 13 頭及 4 頭為初產及第 2 胎；14 頭 GV × SG 中分別有 12 頭及 2 頭為初產及第 2 胎；SG × SG 12 頭中分別有 10 頭及 2 頭為初產及第 2 胎，母牛分別以冷凍精液進行配種，最多人工授精 2 次。母牛均於產後平均 60、90、120、150、180 及 205 天進行測乳，仔牛離乳日齡為平均 205 天。母牛平時放牧於盤固草之牧區，在測乳當日上午將牛群驅趕至作業欄並將母仔隔離。測乳約 10 時開始，為使受測乳牛乳汁排出乾淨，盡可能不留殘乳，受測母牛先給予肌肉注射催產素 (oxytocin, 中國化學製藥) 50 IU/ 頭，20 — 30 秒後以搾乳機將乳搾乾，所得之乳不予稱重。經 4 h 後 (下午 2 時) 重覆相同方法搾乳，稱乳量重，得到間隔 4 h 之乳量 (4 h interval milk yield)。受測母牛於上午搾乳時，均給予編號，下午測乳時即照編號依序趕入母牛，以確保每頭受測母牛均有 4 h 之泌乳間隔。母牛若有仔牛死亡或身體狀況過於消瘦情形，則不參加測乳。試驗期間仔牛與母牛於草原放牧，仔牛自然哺乳，期間每月磅重一次，仔牛於出生後 205 天離乳。

II. 統計分析

各項調查資料分別進行變方分析及差異性比較，平均值間差異顯著性採用 Duncan's Multiple Range Test 加以檢測。

結果與討論

胎次效應於本試驗中對於泌乳量的影響並無顯著差異，而不同雜交品種則對於每日 ($P < 0.05$) 及不同泌乳期間 ($P < 0.05$) 之泌乳量具有顯著差異。

不同品種間之母牛於 205 天泌乳期之平均泌乳量如表 1 所示。德國黃牛 × 聖達有較高的產乳量 (0.89 ± 0.34 公斤)，布拉曼牛之泌乳能力則較差 (0.70 ± 0.20 公斤)，二者間有統計上之顯著性差異 ($P < 0.05$)；德國黃牛 × 布拉曼 (0.83 ± 0.24 公斤) 與純種聖達 (0.73 ± 0.28 公斤) 則介於中間。由表 1 之結果可以看出，肉牛品種間含溫帶牛血統高的牛，例如聖達牛含有 62.5% 溫帶牛 (Shorthorn) 血統，確實較熱帶牛有較好的泌乳能力 (GV × SG 對 BR × BR)，而且雜交種牛亦比純種牛的產乳量有較高的趨勢 (GV × SG 對 SG × SG 與 GV × BR 對 BR × BR)。Daley *et al.* (1987) 調查了 128 頭 *Bos taurus* 及 *Bos indicus* × *Bos taurus* 母牛於分娩後 60、105 及 150 天之乳成分及泌乳量，結果顯示，對於泌乳量而言，品種因素在每個泌乳階段皆為最大的影響因子，其中平均每 24 h 之泌乳量：海弗牛 (Hereford) 為 7.3 kg；紅色無角牛 (Red Poll) 為 9.1 kg；海弗牛 × 紅色無角牛為 9.1 kg；紅色無角牛 × 海弗牛為 9.1 kg；安格斯牛 (Angus) × 海弗牛為 8.6 kg；安格斯牛 × 夏洛萊牛 (Charolais) 為 9.3 kg；布拉曼牛 (Brahman) × 海弗牛為 7.3 kg；布拉曼牛 × 安格斯牛為 8.3 kg。母牛每日平均泌乳量僅有布拉曼牛 × 安格斯牛之組合隨泌乳期增加而提高，其他品種組合之每日平均泌乳量則僅維持或是下降。海弗牛與紅色無角牛的雜交組合之 24 小時泌乳量及乳成分 (乳脂肪、乳蛋白質、乳糖及無脂固形物) 呈現顯著之雜交優勢 ($P < 0.05$)。Chenette and Frahm (1981) 則分析了 71 頭 4 歲齡共 8 個品種雜交組合之泌乳量及乳成分：海弗牛 × 安格斯牛、安格斯牛 × 海弗牛、西門塔牛 (Simmental) × 安格斯牛、西門塔牛 × 海弗牛、瑞士黃牛 (Brown Swiss) × 安格斯牛、瑞士黃牛 (Brown Swiss) × 海弗牛、娟珊牛 (Jersey) × 安格斯牛及娟珊牛 × 海弗牛。當注射 50 IU 的 oxytocin 後，由搾乳機搾乾後之泌乳量有顯著差異 ($P < 0.05$)，娟珊牛 × 安格斯牛及瑞士黃牛 × 安格斯牛泌乳量最高 (平均 8.09 ± 0.41 kg/ 天)；娟珊牛 × 海弗牛、瑞士黃牛 × 海弗牛、西門塔牛 × 安格斯牛及西門塔牛 × 海弗牛泌乳量居中 (平均 7.38 ± 0.41 kg/ 天)；海弗牛及安格斯牛的正反交母牛泌乳量最差 (平均 6.52 ± 0.40 kg/ 天)。

這些研究顯示，品種的組合效應對母牛泌乳量有顯著影響；且除非仔牛吮乳的刺激，否則母牛不易下乳 (milk let down) (Syrstad, 1986)。本試驗四個品種中，GV × SG 含有最高比例的溫帶牛血統 (81.25%)，其次為 SG × SG 的 62.5%、GV × BR 的 50%，而 BR × BR 則為 100% 的熱帶牛血統。GV × SG 如預期地有較高乳量，SG × SG 雖然含溫帶牛血統較 GV × BR 稍多，但乳量反而較低，主要原因可能為 GV × BR 有雜交優勢的關係。Syrstad (1985) 在其報告中指出，以遺傳距離較遠的 *Bos taurus* 品種與 *Bos indicus* 品種來雜交，其雜交優勢遠大於 *Bos taurus* 或 *Bos indicus* 內不同品種間之雜交。而德國黃牛原屬一乳肉兼用品種，且其雜交後代之母牛產乳能力優於其他雜交種 (Cundiff *et al.*, 1982)，由此可知其泌乳潛能甚佳，故 GV × BR 之泌乳量有較 SG × SG 為高的傾向。表 1 中，可將純種牛與雜交種牛之間加以區隔，即前者的產乳量在 0.75 kg 以下，後者在 0.80 kg 以上。聖達母牛的后代中，與德國黃牛雜交者有 25% 的母畜雜交優勢；布拉曼母牛的后代中，與德國黃牛雜交者有 18.7% 的母畜雜交優勢。本試驗中，乳量雜交優勢的範圍與 Syrstad (1985) 相符，而較 McMorris and Wilton (1986) 及 Notter *et al.* (1978) 為高。雖然統計上並無顯著之差異性存在，但雜種牛仍較純種牛有高產乳之趨勢。

表 1. 不同品種母牛於產後進行測乳之間隔 4 小時平均泌乳量

Table 1. Milk yield of different breeds of cow with 4-hr interval postpartum

SG × SG (n = 12)	BR × BR (n = 17)	GV × SG (n = 14)	GV × BR (n = 17)
0.73 ± 0.28 ^{ab}	0.70 ± 0.20 ^b	0.89 ± 0.34 ^a	0.83 ± 0.24 ^{ab}

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

SG: Santa Gertrudis; BR: Brahman; GV: Gelbvieh.

圖 1 為不同品種母牛之泌乳曲線。乳量高的 GV × SG 其泌乳高峰持續一段相當的時間 (產後 60 – 120 天)，且乳量維持於高水平，120 天之後迅速的滑落。純種聖達與布拉曼有類似的泌乳曲線，均於產後 90 天出現泌乳高峰，然後逐漸下降。GV × BR 泌乳高峰出現稍遲 (產後 120 天)，後亦緩慢下滑，但在泌乳後期，乳量分泌下降較為緩慢。Notter *et al.* (1978) 曾指出，對大部分品種而言，泌乳曲線均類似，但高泌乳牛的下跌幅度較大。圖 1 中的 GV × SG 泌乳曲線與前述報告相似。

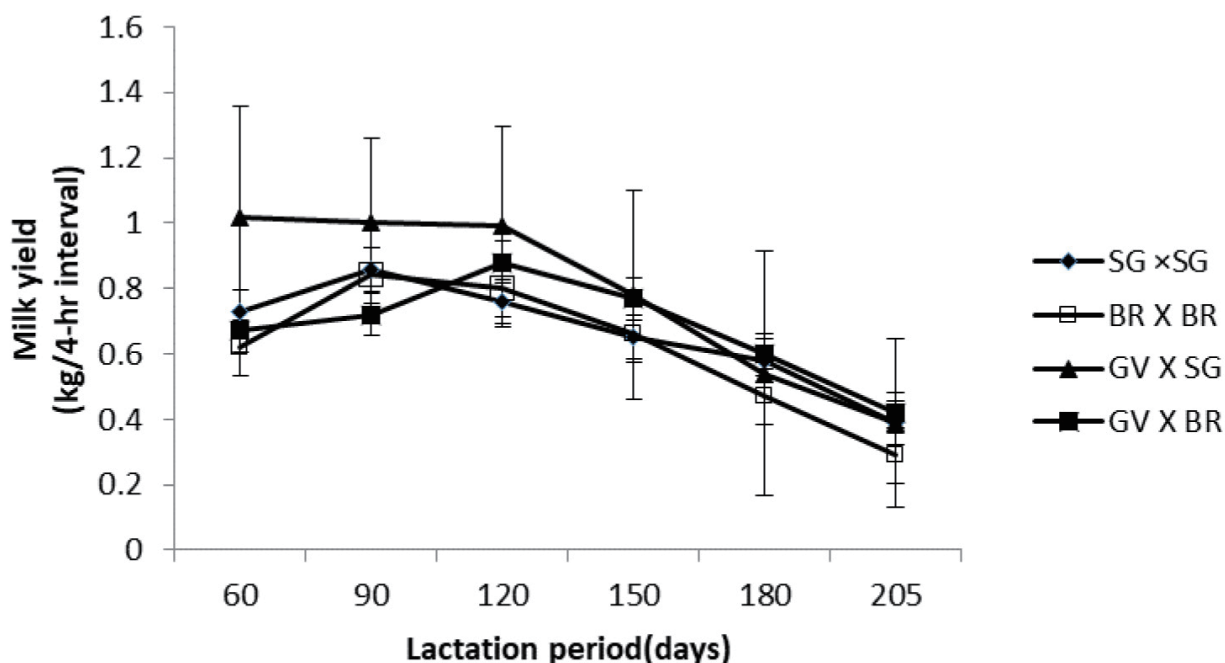


圖 1. 不同品種母牛之泌乳曲線。

Fig 1. Lactation curve of different breeds of cow.

(SG: Santa Gertrudis; BR: Brahman; GV: Gelbvieh.)

本試驗不同生長速率的仔牛所反映的母牛產乳量如圖 2 所示。根據分析結果，離乳體重或日增重較重的仔牛，其母牛的泌乳量較高；離乳體重或日增重較輕的仔牛，其母牛的泌乳量亦較低。與前人 Reynolds *et al.* (1978) 探討母牛泌乳量對純種及雜交品種仔牛離乳前生長之影響結果類似，收集 3 年期間布蘭格斯 (Brangus)、布拉曼、非洲牛 × 安格斯 (Africander-Angus) 母牛之泌乳量及其與安格斯或布拉曼公牛所生仔牛之生長速率，同時收集純種布蘭格斯及布拉曼、非洲牛 × 安格斯母牛及仔牛之泌乳量及生長速率數據進行比較；泌乳量以間隔 16 h 擠乳估計，分析結果顯示品種效應對於泌乳量影響極顯著 ($P < 0.01$)，平均泌乳量布蘭格斯母牛 3.8 kg、安格斯母牛 3.3 kg、非洲牛 × 安格斯母牛 3.2 kg 及布拉曼母牛 2.8 kg，布蘭格斯母牛泌乳量顯著高於安格斯、非洲牛 × 安格斯母牛及布拉曼母牛 ($P < 0.05$)；安格斯及非洲牛 × 安格斯母牛泌乳量之間無顯著差異但顯著高於布拉曼母牛 ($P < 0.05$)；雜交品種母牛平均較安格斯及布拉曼母牛之泌乳量多出 0.50 kg ($P < 0.01$)，增加約 16% 泌乳量；非洲牛 × 安格斯雜交品種的仔牛之平均攝乳量較其純種仔牛高出 0.84 kg ($P < 0.01$)；以布拉曼公牛配種布蘭格斯及非洲牛 × 安格斯母牛之雜交仔牛平均攝乳量較以安格斯公牛配種之雜交仔牛高出 0.68 kg ($P < 0.01$)。所有品種組合平均離乳前日增重 0.73 kg，雜交品種日增重皆比純種仔牛高 ($P < 0.05$)；且在每個品種組合中，母牛泌乳量與仔牛日增重為高度相關，不同品種之相關係數介於 0.42 – 0.54 ($P < 0.05$)，母牛泌乳量與仔牛增重率之相關係數為：安格斯 0.54、布拉曼 0.42、布蘭格斯 0.53 及非洲牛 × 安格斯 0.52。

仔牛離乳體重在 200 kg 以上的母牛泌乳量，顯著高於其他各組 ($P < 0.05$)。180 – 200 kg 者亦顯著高於體重最輕的兩組 ($P < 0.05$)，但與 160 – 180 kg 這組無顯著性差異。離乳體重在 160 – 180 kg 的母牛泌乳量與體重 140 – 160 kg 者無差異，但與 140 kg 以下者有明顯差異 ($P < 0.05$)。關於母牛泌乳量對仔牛離乳前生長之影響，國外已有許多研究人員進行過調查，在 Boggs *et al.* (1980) 的報告中指出，對 51 頭春季出生的無角海弗牛進行飲乳量及採食量的調查，出生仔牛出生後分為三階段，每頭每天平均飲乳量自 4 月齡起至 4 月齡從 6.14 kg 降至 3.37 kg，其中第二階段仔牛飲乳量顯著較高 ($P < 0.05$)，牧草乾物質採食量則自 5 月齡起至 9 月齡從每頭每天平均 0.44 kg 增至 3.52 kg，依照前述 5 組體重比例換算之牧草乾物質採食量分別為 0.62、1.46、1.51、1.75 及 2.2%，不同生長階段之日增重並無顯著差異；顯示仔牛三月齡以上時，超過二分之一的能量來自母乳之外；而放牧之仔牛有 20% 的能量來自芻料。Koch (1972) 評估了肉牛的母方環境效應對於仔牛生長的影響，性狀直接來自母方與父方遺傳成分，都有潛力產生雜交優勢，因此雜交優勢可以分成個體的、母方的與父方的，母方雜交優勢是後裔性能由雜種母畜較純種母畜增加的部分；父方雜交優勢是後裔性能由雜種父畜較純種父畜增加的部分。永久環境效應為對個體的某性狀的多次表現（如母牛各個胎次的產乳量）都產生影響的環境效應。研究結果顯示母方遺傳與永久環境效應成分對於仔牛出生體重影響約佔 15 – 20% 的變因，且世代間的母方效應相關性不高；而母方環境效應對於出生至離乳的日增重影響約佔 35 – 45% 的變因，且對於出生至離乳的日增重則有顯著影響。McMorris and Wilton (1986) 探討海弗牛、西門塔牛之母牛體重及泌乳量對牛肉生產系統的影響，其中母牛體重 (332 – 925 kg) 及泌乳量 (1.2 – 19.0 kg/天) 之增加可顯著增加仔牛離乳體重 ($P < 0.05$)，而教槽料採食量對於仔牛離乳體重也有顯著關係 ($P < 0.05$)。多數前人的研究結果顯示母牛泌乳量對仔牛離乳前之生長有顯著的影響。

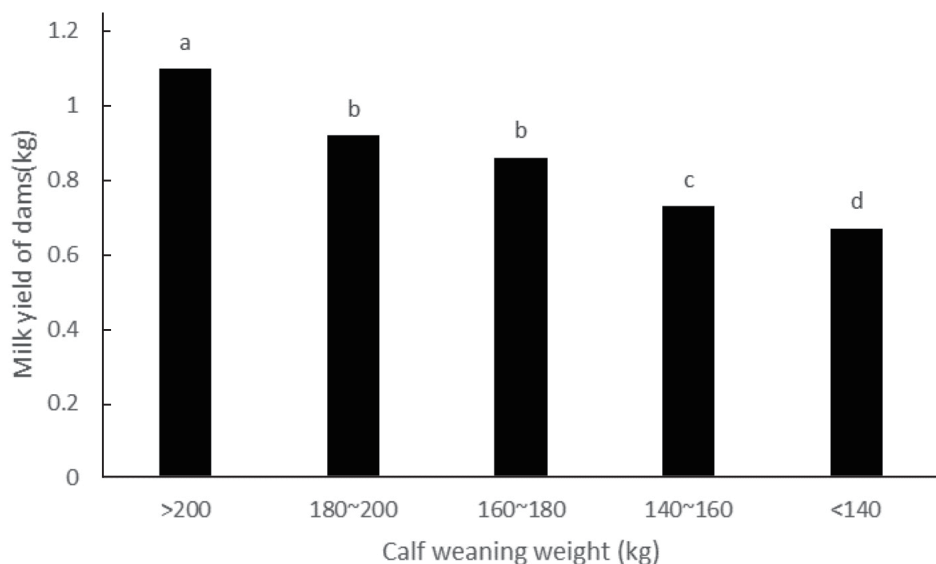


圖 2. 母牛泌乳量對仔牛離乳體重之影響。

Fig 2. Effect of milk yields of dams on weaning weights of calves.

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

除 Boggs *et al.* (1980) 外，Clutter and Nielson (1987) 探討肉用母牛泌乳量對於仔牛離乳前後生長性狀的影響，將相似日齡及成熟體重母牛依照泌乳量分為 3 組，並以 205 天校正乳量及仔牛飲乳量評估離乳前後生長性狀，發現 205 天校正泌乳量較高的組，其泌乳量分別較泌乳量中及低的組別高出 186 kg 及 561 kg，且各組泌乳量的差異隨著泌乳天數增加而上升，統計結果顯示仔牛飲乳量與 205 天增重呈正相關，相關係數為 0.6。泌乳量較低母牛的組別，其仔牛對於教槽料的需求更早也更大，但由於營養價值的差異，仔牛離乳體重於母牛泌乳量高組別仍然較母牛泌乳量低組別重 16.9 kg ($P < 0.05$)，顯示母方環境因素對於仔牛離乳體重的影響甚大，且母牛泌乳量高的組別其仔牛相較於母牛泌乳量低的組別，其在離乳後仍可維持 63% 的體重及生長優勢直到屠宰日。Marshall *et al.* (1976) 對於 2 – 4 歲安格斯牛、夏洛萊牛及其正反交母牛後裔表現影響因子進行了評估，牛隻每月進行磅重，並收集生長、營養利用及繁殖等數據，母牛以海弗牛配種後所生後裔仔牛，共收集 157 頭分娩紀錄及 122 頭離乳紀錄。結果顯示母畜品種對於母畜本身及仔牛的總可消化營養分 (TDN) 採食量及體重有顯著影響；對於仔牛增重效率之影響因子則以仔牛性別及母牛泌乳量最為顯著，而母牛體重則對於 TDN 採食量及仔牛離乳體重有顯著影響 ($P < 0.01$)。迴歸分析結果顯示，母牛體重及泌乳量佔仔牛增重效率變因的 24%；對於仔牛增重效率而言，母牛體重及泌乳量、仔牛離乳體重、年齡及性別佔 74% 的變因。此外，安格斯母牛及其安格斯雜交母牛較夏洛萊母牛可生產更多仔牛

($P < 0.05$)，同時受到母牛體重及泌乳量的影響 ($P < 0.05$)，且母牛的產乳量與仔牛離乳體重有中等之相關 ($r = 0.44$)。Marston *et al.* (1992) 對於安格斯牛及西門塔牛之母牛乳產量及仔牛離乳體重進行調查，其目的為了解母牛泌乳量及其乳成分含量對於仔牛離乳體重的影響；114 頭安格斯牛及 82 頭西門塔牛在產後 35、60、104、145 及 196 天以榨乳機進行榨乳，並繪製泌乳曲線；結果顯示，安格斯牛及西門塔牛的 205 天校正泌乳量以及 205 天校正離乳體重相關係數分別為 0.30 ($P < 0.001$) 及 0.47 ($P < 0.001$)，且安格斯母牛每增加 1 kg 泌乳量便可增加 0.014 ± 0.006 kg 的仔牛離乳體重 ($P < 0.001$)，西門塔母牛每增加 1 kg 泌乳量便可增加 0.032 ± 0.009 kg 的仔牛離乳體重 ($P < 0.001$)。Mondragon *et al.* (1983) 以 270 頭以安格斯及西門塔公牛配種並分娩 1—3 胎的母牛，測定分娩後 6、14 及 22 天之泌乳量及乳成分。結果顯示，初產泌乳量於 3 次測定無顯著差異，但第二及第三胎之泌乳量則會隨泌乳天數增加而降低 ($P < 0.05$)，第一胎至第二胎之泌乳量顯著上升 ($P < 0.05$)。

另外，本調查結果亦顯示，哺育仔公牛之母牛 4 h 泌乳量為 0.77 kg，哺育仔女牛之母牛 4 h 泌乳量為 0.80 kg，仔牛的性別對母牛泌乳期的平均 4 h 泌乳量並無影響。而 Daley *et al.* (1987)、Marshall *et al.* (1976) 及 Reynolds *et al.* (1978) 等亦有相同的結果，而且仔公牛或仔女牛互有攝乳量多於對方的情形。

綜觀上述之結果，不同品種間的牛，含溫帶牛血統比例的多寡與雜交優勢對母牛的產乳量有影響。母牛的泌乳量則對仔牛離乳前之生長有影響，但仔牛之性別差異對母牛乳量無影響。Long (1980) 的評估肉牛雜交生產系統的研究結果顯示，生產雜交肉牛的品種選擇、正反交及雜交優勢對於各項生產效率性狀的提升十分重要，其中雜交品種的選擇影響最大，顯示適當運用品種效應可以應用於滿足肉牛生產系統中各項需求。正反交效應則主要影響於產仔率、分娩難易度、仔牛存活率及體型大小等特性；此外，正反交效應及雜交優勢之效應也會影響屠體性狀、性成熟日齡、產仔率及仔牛離乳體重。因此商業肉牛生產系統應盡量選擇正確的品種組合及雜交優勢以提高獲利。故瞭解不同品種之雜交母牛的泌乳表現來選擇適當的品種，以更為有效率地生產肉牛，為肉牛雜交育種中極為重要的一項工作。

參考文獻

- Boggs, D. L., E. F. Smith, R. R. Schalles, B. E. Brent, L. R. Corah and R. J. Pruitt. 1980. Effects of milk and forage intake on calf performance. *J. Anim. Sci.* 51: 550-553.
- Chenette, C. G., and R. R. Frahm. 1981. Yield and composition of milk from various two-breed cross cows. *J. Anim. Sci.* 52: 483-492.
- Clutter, A. C. and M. K. Nielson. 1987. Effect of level of beef cow milk production on pre- and postweaning calf growth. *J. Anim. Sci.* 64: 1313-1322.
- Cundiff, L. V., K. E. Gregory and R. M. Koch. 1982. Cattle germ plasm evaluation program. Progress Report. No. 9. USDA-ARS. Clay Center, NE, pp. 19-25.
- Daley, D. R., A. McCuskey and C. M. Bailey. 1987. Composition and yield of milk from beef-type *Bos taurus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* dams. *J. Anim. Sci.* 64: 373-384.
- Ghenette, C. G. and R. R. Frahm. 1981. Yield and composition of milk from various two-breed cross cows. *J. Anim. Sci.* 52: 483-492.
- Koch, R. M. 1972. The role of maternal effects in animal breeding: VI. maternal effects in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 35: 1316-1323.
- Long, C. R. 1980. Crossbreeding for beef production: experimental results. *J. Anim. Sci.* 51: 1197-1223.
- Marshall, D. A., W. R. Parker and C. A. Dinkel. 1976. Factors affecting efficiency to weaning in Angus, Charolais and reciprocal cross cows. *J. Anim. Sci.* 43: 1176-1187.
- Marston, T. T., D. D. Simms, R. R. Schalles, K. O. Zoellner, L. C. Martin and G. M. Fink. 1992. Relationship of milk production, milk expected progeny differences, and calf weaning weight in Angus and Simmental cow-calf pairs. *J. Anim. Sci.* 70: 3304-3310.
- McMorris, M. R. and J. W. Wilton. 1986. Breeding system, cow weight and milk yield effects on various biological variables in beef production. *J. Anim. Sci.* 63: 1361-1372.
- Mondragon, I., J. W. Wilton, O. B. Allen and H. Song. 1983. Stage of lactation effects, repeatabilities and influences on weaning weights of yield and composition of milk in beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 63: 751-761.
- Notter, D. R., L. V. Cundiff, G. M. Smith, D. B. Laster and K. E. Gregory. 1978. Characterization of biological types of

- cattle. VII. milk production in young cows and transmitted and maternal effects on preweaning growth of progeny. J. Anim. Sci. 46: 908-921.
- Reynolds, W. L., T. M. DeRouen and R. A. Bellows. 1978. Relationships of milk yield of dam to early growth rate of straightbred and crossbred calves. J. Anim. Sci. 47: 584-594.
- Rutledge, J. J., O. W. Robison, W. T. Ahlschwede and J. E. Legates. 1971. Milk yield and its influence on 205-day weight of beef calves. J. Anim. Sci. 33: 563-568.
- Syratsd, O. 1985. Heterosis in *Bos taurus* × *Bos indicus* crosses. Livestock Production Science. 12: 299-307.
- Syratsd, O. 1986. Utilization of heterosis in *Bos taurus* × *Bos indicus* crosses from milk production. World Rev. of Anim. Prod. 22: 22-25.
- Totusek, R., D. W. Arnett, G. L. Holland and J. V. Whiteman. 1973. Relation of estimation method, sampling interval and milk composition to milk yield of beef cows and calf gain. J. Anim. Sci. 37: 153-158.

Lactating performance and calf weaning weight of straightbred Santa Gertrudis, and Brahman cows and their crossbred cows sired by Gelbvieh ⁽¹⁾

Jia-Shian Shiu ⁽²⁾ An-Kou Su ⁽³⁾ Po-An Tu ⁽⁴⁾ Shyuan-Chuen Yang ⁽³⁾ and Guang-Fuh Li ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Jan. 18, 2019; Accepted: May 30, 2019

Abstract

The purpose of this study was to investigate lactating performance of cows with various combinations of *Bos taurus* and *Bos indicus*, and whether milk yields of dams had any influences on the preweaning growth of calves under local environment. Lactating performance of sixty cows in four different breeds (straightbred Santa Gertrudis, SG × SG; straightbred Brahman, BR × BR; Gelbvieh × Santa Gertrudis, GV × SG; Gelbvieh × Brahman, GV × BR) were evaluated by 4-hr interval milk yield. The GV×SG crossbred cows which contain 81.25% *Bos taurus* blood, had highest milk yield (0.89 ± 0.34 kg), while straightbred Brahman (*Bos indicus*) cows had lowest milk yield (0.70 ± 0.20 kg). There was significant difference between the above two breeds ($P < 0.05$). Milk yields of dams had influence on both calf weaning weight and preweaning average daily gain (ADG). Calves with heavier weaning weights and higher preweaning ADG received more milk ($P < 0.05$). No effect was found on dam milk yield between calf sex.

Key words: Santa Gertrudis, Brahman, Gelbvieh crossbred, Milk production, Calf growth.

(1) Contribution No. 2614 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Hualien Animal Propagation Station, COA-LRI, Hualien 97362, Taiwan, R. O. C.

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

(5) Corresponding author: gfli@mail.tlri.gov.tw.

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)

- I. 本刊為純學術性刊物，發表有關畜牧原始性研究報告及調查報告之用，但亦歡迎綜合性專題論著。
- II. 本刊每年出版 4 次，在 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、結果、討論(結果與討論亦可合為一節寫)、與參考文獻。如以中文撰寫者，須另附英文摘要(Abstract)，英文撰寫者，須另附中文摘要。(中英文摘要均包括關鍵詞)。關鍵詞 3 至 8 字，另外每篇請加 Running title(請勿超過 20 字)。
- IV. 文稿之書寫：
 - (i) 中英文稿請用 A4 紙電腦橫打，並加標點。不論中英文稿務求清楚整潔，審查通過後，另通知繳交電子檔。
 - (ii) 題目宜簡短，英文題目僅句首大寫，通訊作者須附電子郵件信箱。
 - (iii) 文字敘述之編號 :I、(i)、1、(1)、A、(a)。圖表以圖 1，表 1 等順序表示。中文稿圖表標題請附英文，圖表內文字請僅用英文，並請打字以完稿方式提出。文字敘述用英文者，圖表中文字僅用英文。
 - (iv) 數字與單字：
 1. 文字敘述中之數字，除單位數外，均請用阿拉伯數字表示。
 2. 單位用公制。習見之符號，如 kg、mg、m、mL、ppm、pH 等不必用中文。專門名詞無適當譯名者，從原文。
 - (v) 統計表差異顯著性如英文 a, b, c.... 上標表示時，表下方說明請參考下列表示方式。abc Means with the different superscript differ significantly ($P < 0.05$).
 - (vi) 照片限於原始攝影者。照片圖畫如有模糊不清，得請投稿人重新製備，如投稿人不能重新製備，則恕不接受投稿。
 - (vii) 參考文獻：
 1. 正文須書出參考文獻之作者姓氏與年份：
 - (1) 西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. 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、頁數等依次寫明。例如：
 - (1) 期刊類
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(2)：141-148。
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(2)：133-140。
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
李登元。1979。乳牛學。台灣商務印書館，台北，pp. 300-322。
Tai, C. 1985. Duck breeding and artificial insemination in Taiwan. In: Duck Production Science and Practice. eds. Farrell, D. J. and Stapleton, P. University of New England, pp. 193-203.
Wang, Y. C. 1985. Regrowth ability of napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumacher) in the dry, cold season in Taiwan, Proceeding of the XV international grassland congress in Kyoto, Japan, 1985. pp. 1239-1241.

American Oil Chemists Society. 1980. Official and Tentative Methods of the American Oil chemists Society. 3rd. ed. American Oil Chemists Society, Champaign, IL. USA.

3. 中日文者以姓氏筆劃多少為序，西文以著者之拼音先後排列。並按中文、日文、西文之次序排列。
 4. 西文雜誌名稱請用縮寫。縮寫之方法以美國出版之 **Biological Abstract** 為準。
 5. 參考文獻皆不編號。
- V. 稿件文字必須盡量修潤簡潔，否則本刊編輯委員會有權修改與退稿。如有疑問時，得商請投稿人修正之。
- VI. 本刊亦接受速報 (包括預報、追試、短報)。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 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，或需修改後始可刊載。
- VIII. 稿件接受刊載後，該稿件之全部或部份，不得再投稿其他刊物發表，即以不同文字投稿其他刊物 (如在本刊用中文，在其他刊物用英文) 亦所不許。
- IX. 來稿請寄一式兩份，逕寄 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收，聯絡電話：06-5911211 轉 256。
- X. 自九十三年度開始實施之計畫、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。