

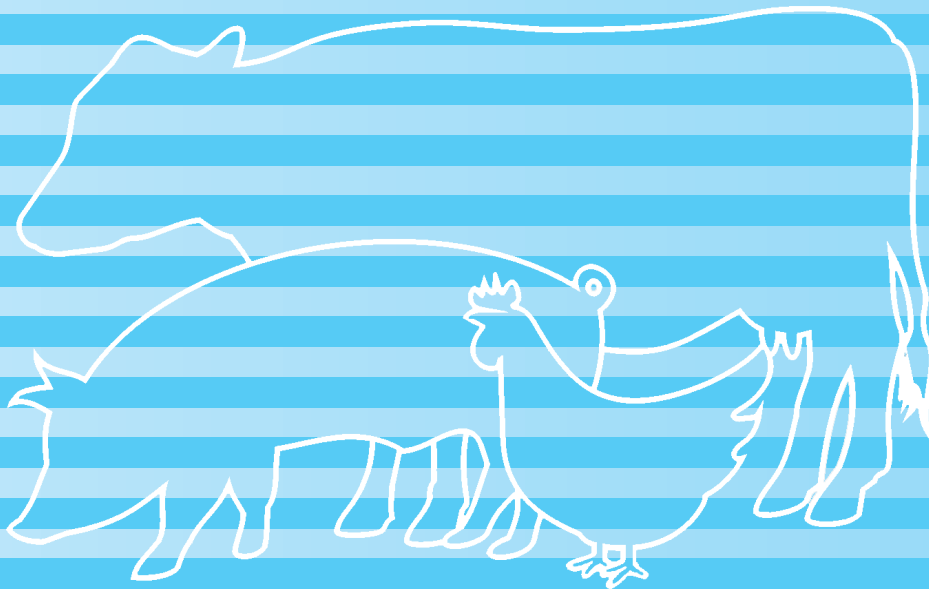
ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十六卷 第二期 中華民國一一二年 六月 季 刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 56 No. 2 June 2023



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：方珍玲 王佩華 王尚禮 王政騰 王珮華 王紓愍 王淑音 王勝德
王聖耀 王瀚聰 朱有田 朱志成 余 祺 余 碧 吳信志 吳勇初
吳建平 吳錫勳 李固遠 李欣蓉 李姿蓉 李恒夫 李國華 李淵百
李滋泰 沈朋志 周明顯 林幼君 林正斌 林正鏞 林怡君 林美峰
林義福 林德育 邱智賢 施意敏 洪靖崎 范耕榛 唐品琦 徐濟泰
張世融 張仲彰 張秀鑾 張怡穎 張啟聖 梁筱梅 章嘉潔 莊士德
許振忠 許晉賓 郭彥甫 郭卿雲 郭錕德 陳文賢 陳立人 陳志峰
陳志銘 陳怡兆 陳明汝 陳洵一 陳秋麟 陳嘉昇 陳億乘 黃大駿
黃永芬 黃英豪 楊國泰 楊深玄 楊鎮榮 萬一怒 萬添春 廖御靜
劉秀洲 劉振發 練慶儀 鄭永祥 鄭裕信 蕭振文 魏良原 譚發瑞
蘇天明 蘇忠楨
(以姓名筆劃為序)

編輯委員：李欣蓉 林幼君 林德育 洪哲明 張世融 郭卿雲 陳翠妙 廖御靜
(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:

C. L. FANG	P. H. WANG	S. L. WANG	C. T. WANG	P. H. WANG
S. M. WANG	S. Y. WANG	S. D. WANG	S. Y. WANG	H. C. WANG
Y. T. JU	C. C. CHU	C. YU	P. YU	H. C. WU
Y. C. WU	C. P. WU	H. H. WU	G. Y. LEE	S. S. LEE
T. R. LEE	H. F. LEE	K. H. LEE	Y. P. LEE	T. T. LEE
P. C. SHEN	M. H. CHOU	Y. C. LIN	J. B. LIN	C. Y. LIN
Y. C. LIN	M. F. LIN	Y. F. LIN	D. Y. LIN	C. H. CHIU
Y. M. SHY	C. C. HUNG	G. J. FAN	P. C. TANG	C. T. HSU
S. R. CHANG	S. C. CHANG	H. L. CHANG	Y. I. CHANG	C. S. CHANG
H. M. LIANG	C. C. CHANG	S. T. CHUANG	C. C. HSU	C. B. HSU
Y. F. KUO	C. Y. KUO	M. D. KUO	W. S. CHEN	L. R. CHEN
C. F. CHEN	C. M. CHEN	Y. C. CHEN	M. J. CHEN	H. I. CHEN
T. L. CHEN	C. S. CHEN	Y. C. CHEN	D. J. HUANG	Y. F. HUANG
I. H. HWANG	G. T. YANG	S. S. YANG	J. R. YANG	Y. N. WAN
T. C. WAN	Y. J. LIAO	H. C. LIU	J. F. LIU	C. Y. LIEN
Y. H. CHENG	Y. S. CHENG	J. W. SHIAU	L. Y. WEI	F. J. TANG
T. M. SU	J. J. SU			

EDITORS:

S. S. LEE	Y. C. LIN	D. Y. LIN	C. M. HUNG	S. R. CHANG
C. Y. KUO	T. M. CHEN	Y. J. LIAO		



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

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：www.tlri.gov.tw

編輯\印製者：沐福商行

電 話：0985-187287

出 版 日 期：中華民國 112 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：www.govbook.com.tw

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

DOI : 10.6991/JTLR

畜產研究

第 56 卷第 2 期

中華民國 112 年 6 月

目 錄

	頁
1. 肥育期餵飼高纖維飼糧對黑豬肉質之影響李秀蘭、林正鏞	88
2. 飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨生長性能與屠體性狀之影響林榮新、林正斌、李姿蓉、張以恆、鄭智翔、蘇晉暉、劉秀洲、林雅玲	97
3. 太陽熱能牧草乾燥室研發王紓愍、劉信宏、游翠凰、陳嘉昇	105
4. 馴化黑天鵝生長、繁殖及人工孵化之調查蕭智彰、練慶儀	112
5. 添加抗生素對肉雞腸道免疫之影響洪靖崎、陳保基、陳靜宜、朱盈安、黃懿儂、許晉賓	119
6. 大豆臺南 3 號及 4 號作為芻料利用之評估鍾 萍、李姿蓉	128
7. 玻璃化冷凍保護劑與冷凍解凍程序對山羊胚解凍後續發育能力之影響康定傑、曾楷扉、黃曲佑、陳裕信、曲鳳翔、林信宏、邢相媛、沈朋志	138
8. 不同冷凍保護劑對紐西蘭白兔精子性狀之影響蔡佩均、陳裕信、康定傑、陳立人	144

肥育期餵飼高纖維飼糧對黑豬肉質之影響⁽¹⁾

李秀蘭⁽²⁾⁽³⁾ 林正鏞⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：111 年 6 月 15 日；接受日期：112 年 3 月 9 日

摘 要

本研究旨在探討肥育期餵飼高纖維飼糧對黑豬肉質之影響。試驗選用 32 頭平均體重 57.8 kg 之雜交黑豬 (含 25% 梅山豬及 75% 杜洛克)，閹公豬及女豬各半，逢機分置於對照組 (粗纖維為 3%) 及高纖維飼糧組 (粗纖維為 14%)，每處理四重複，每重複 4 頭，試驗期間飼料及飲水採任食，試驗至平均體重達 117 kg 時結束。試驗結束後每組犧牲 12 頭進行屠宰，並測定肉質品質。結果顯示，餵飼高纖維組之背最長肌肌肉水分含量顯著較對照組低 ($P < 0.05$)，而肌肉大理石紋評分及背脂色澤之 a^* 與 b^* 值則顯著較對照組為高 ($P < 0.05$)。但背最長肌肌肉之風味、嫩度、多汁性及總接受性感官品評評分則顯著較對照組較低 ($P < 0.05$)。背最長肌肌肉之蛋白質與脂肪含量、 L^* 、 a^* 及 b^* 值、感官肉色與緊實度，背脂與背最長肌肌肉之堅實度及韌度於二處理組間並無顯著差異。綜合本試驗結果顯示，肥育期黑豬餵飼 14% 粗纖維飼糧雖有較高之背最長肌肌肉大理石紋評分及背脂之 a^* 與 b^* 值，但其背最長肌肌肉水分含量及各項感官評分卻較低。

關鍵詞：黑豬、高纖維飼糧、肉質品質。

緒 言

我國業於 109 年 6 月正式獲得世界動物衛生組織 (The World Organization for Animal Health, WOAH) 口蹄疫清淨區認定，我國生鮮豬肉出口機會將增加，也提升臺灣國產豬肉之國際競爭力。在豬肉市場開放自由進口後，黑豬肉品質好風味佳，仍深受國人消費青睞，在臺灣市場占有穩定比例，依 108 年養豬頭數調查報告指出目前黑豬飼養場達 2,361 場，飼養隻數達 694,593 頭，占總飼養頭數 12.7%。黑豬因其含桃園豬或梅山豬等血統，普遍存在體型不佳、生長緩慢、飼料利用效率差、背脂厚度厚、屠宰率、腰眼面積及瘦肉率較低等缺點，且普遍認為含本地種血統之黑豬具有較佳之耐粗性。而現階段豬隻的肥瘦度狀況仍主導著市場的價格 (張及林, 2004)。Mullan *et al.* (2009)、Serrano *et al.* (2009) 及 Wiecek *et al.* (2011) 等之研究顯示，於生長期或肥育期肉豬採限飼飼養較採用任飼者有較高之瘦肉率與較低的背脂厚度及肌肉脂肪含量。而許等 (2013) 指稱，於 60 – 115 kg 階段之高畜雜交黑豬以玉米青貯料取代 20% 飼料與全部餵飼飼料者比較，對日增重、屠體及肉質形狀並無不良影響。許等 (2014) 亦指出，以玉米青貯料取代 30% 飼料餵飼懷孕第 45 – 110 天之高畜黑豬，對分娩總仔豬數與活仔豬數、仔豬出生重與離乳仔豬重、哺乳仔豬育成率及母豬離乳時之體態均無不良影響。劉等 (2008) 於畜試黑豬之研究顯示，肥育期飼糧將粗纖維含量由 4% 提高至 6%，對日增重、飼料採食量、飼料利用效率、腰眼面積、背脂厚度、肌肉組成與感官品評等並無顯著影響。而廖等 (2002) 指出，當飼糧粗纖維含量達 6% 時，並不影響畜試黑豬之生長性能，但對肌肉感官品評有正面效果，其中在背最長肌嫩度、多汁性、風味與可接受度均較藍瑞斯肉豬為佳。林等 (2018) 指出，肥育期黑豬餵飼 14% 粗纖維飼糧，其可提升屠體等級與降低背脂厚度，但會影響生長性能及屠宰率。顏及戈 (1981) 指出，飼料纖維於一般豬隻的消化率約 45 至 55%。甜菜鹼為 N,N,N- 三甲基甘胺酸，是甘胺酸的甲基衍生物，是從甜菜中提取糖蜜的副產品 (Cholewa *et al.*, 2014)。Wen *et al.* (2019) 研究指出日糧中添加甜菜鹼可增強抗氧化能力來改善肉質。甜菜鹼可以適度增加肥育豬的瘦肉百分比，且降低背脂厚度和脂肪比例 (Matthews *et al.*, 2001; Siljander-Rasi *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017)。因此本試驗旨在探討於肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧 (纖維來源為大豆殼及甜菜渣粉)，飼糧含粗纖維 14%，其能量及蛋白質含量約為對照組飼糧 (粗纖維 3%) 的 85%，對黑豬肌肉品質及感官品評等之影響，以提供黑豬飼養業者及未來研究之參考。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2735 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 國立屏東科技大學生物資源研究所。

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

材料與方法

本試驗於行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場豬舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容，經畜產試驗所實驗動物管理小組以畜試動字第高實 108-7 號申請核准在案。

I. 試驗動物與試驗設計

- (i) 選取體重相近約 57 kg 之高畜黑豬雜交黑豬 (含 25% 梅山豬與 75% 杜洛克) 32 頭，闖公豬及肉女豬各半，逢機分置於對照組及高纖維飼糧組，每處理四重複，每重複 4 頭，試驗期間飼料及飲水採任食，試驗至平均體重達 117 kg 時結束。試驗結束後每組犧牲 12 頭 (闖公豬及肉女豬各半) 進行屠宰與肌肉組成及品質測定。
- (ii) 日糧以玉米及大豆粕為主，高纖維飼糧之纖維來源為大豆殼及乾甜菜渣粉，其蛋白質及代謝能濃度約為對照組的 85%，對照組之粗蛋白質為 14.43%，代謝能為 3,280 kcal/kg；高纖維飼糧組之粗蛋白質為 12.39%，代謝能為 2,846 kcal/kg。試驗飼料組成列示於表 1。

表 1. 試驗飼料組成

Table 1. The composition of experimental diet

Ingredients, %	Control	High fiber
Yellow corn	76.29	39.41
Soybean meal	19.00	8.74
Soybean hull		30.00
Beet pomace powder		20.00
Dicalcium phosphate	1.00	—
Limestone, pulverized	1.40	1.20
Choline chloride, 50%	0.06	—
Molasses	1.50	—
Salt	0.50	0.40
Vitamin premix ^a	0.10	0.10
Mineral premix ^b	0.15	0.15
Total	100	100
Feed cost, NT\$/kg		
Calculated value	12.86	11.10
Crude protein, %	14.43	12.39
Metabolizable energy, kcal/kg	3,280	2,846
Crude fiber, %	3.00	13.92
Analyzed value, %		
Crude protein	13.71	11.39
Crude fiber	2.72	14.69
Calcium	0.58	0.69
Total phosphorus	0.39	0.39

^a Supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 400 IU; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 2 mg; Vitamin B₁, 2.6 mg; Vitamin B₂, 2 mg; Pantothenic acid, 30 mg; Niacin, 30 mg; Pyridoxine, 3 mg; Vitamin B₁₂, 0.04 mg; Folic acid, 0.6 mg; Biotin, 0.2 mg.

^b Supplied per kilogram of diet: Supplied per kilogram of diet: Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 80 mg; Cu (CuSO₄ • 5H₂O), 5 mg; Mn (MnSO₄), 6 mg; Zn (ZnO), 45 mg; I (KI), 0.2 mg; Se(NaSeO₃), 0.1 mg; Co(CoSO₄ • H₂O), 0.35 mg.

II. 測定項目

- (i) 飼料營養組成分析

水分、粗蛋白質、粗脂肪及粗纖維之分析依中華民國國家標準—飼料檢驗法進行分析(行政院經濟部標準檢驗局, 1986)。

(ii) 肌肉外觀顏色、緊實度 (firmness) 及大理石紋 (marbling) 感官評分

豬隻經過屠宰後, 取背最長肌第 10/11 肋切開處, 放置於桌上曝氣呈色 20 分鐘後, 再根據美國豬肉生產者協會肉色標準板 (Pork Quality Standards, National Pork Producers Council, U.S.A., 1991) 作為評分標準, 肉色分數由 1 — 6 表示數值越低表示顏色越淡, 數值越高表示顏色越深; 大理石紋以分數 1 — 10 分表示, 分數越低表示大理石紋含量越少, 分數越高表示大理石紋含量越多。顏色分數區分為 6 級, 數值低表示淡色, 數值高表示深色, 即 1 表示淺灰色或灰白色; 3 表示櫻桃紅色; 5 表示暗紫紅色。大理石紋的分數區分 10 級, 數值低表示肉中肌肉脂肪少, 數值高表示肌肉脂肪含量多, 即 1 表示幾乎無大理石紋; 2 表示有少量大理石紋; 3 表示有中度大理石紋; 4 表示稍具多量大理石紋; 10 表示具有多量大理石紋。緊實度分數區分為 5 級, 1 表示非常軟及滲水嚴重; 2 表示軟及滲水; 3 表示微軟及滲水輕微; 4 表示具適中的堅實度及乾燥度; 5 表示堅實度及乾燥度高。

(iii) 背最長肌及背脂之色澤測定

依 Lyon *et al.* (1980) 之方法, 以色差計 (DrLange MC reflectance colorimeter, Germany) 測定第 10 — 11 肋骨間之背最長肌位置之肌肉與背脂, 背脂與肌肉之色澤, 以 Hunter L*、a*、b* 值代表肌肉之色度, L 值 (表明亮度, 範圍介於 0 — 100, 0 表示全黑, 100 表示全白)、a* 值 (正值代表紅色度、負值代表綠色度) 及 b* 值 (正值代表黃色度、負值代表藍色度)。

(iv) 背最長肌之堅實度 (firmness) 及韌度 (toughness)

參考 Lyon and Lyon (1996) 之方法, 取第 10 — 11 肋骨間之背最長肌位置之肌肉與背脂置於 4°C 冷藏, 於屠後 48 hr 內進行測定。將肌肉與背脂置於耐高溫密封袋中, 浸於 80°C 水浴槽中 25 分鐘, 再放在流水中冷卻 15 分鐘後, 將肉順著肌纖維之方向 (與肌纖維方向平行) 切成 $2 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ (長 × 寬 × 高) 之長方體肉塊, 肉塊以保鮮膜包裹直至測定為止。以肌肉物性測定儀 (Texture Analyser) (TA.XT-Plus, Stable Micro Systems, UK) 進行肌肉堅實度及韌度測定。測試套組使用 HDP/BS 利刀和 HDP/90 模具, 將長方體豬肉條穩固於模具平面, 測定速度為 5.0 mm/sec, 下壓距離 5.0 mm, 系統自動計算記錄堅實度 (firmness) 和韌度 (toughness)。

(v) 感官品評

切取各處理組之第 10 肋背最長肌約 200 g, 放置真空袋內, 略微真空封袋後置入恆溫槽內, 75°C, 30 分鐘, 取出分切成約 1.5 cm^3 , 由臺灣農畜產業股份有限公司 20 位品評人員進行評分, 對產品外觀、香氣、風味及總接受性進行喜好性品評, 品評人員進行風味、色澤、嫩度及總接受度評分, 官能品評分數為 1 — 5 分, 數字越高代表其官能品評越多汁、風味較佳、越香、越柔嫩和整體接受度越高, 多汁性定義為口腔中游離液增多的感覺, 風味定義為產品在口腔中透過化學感覺所感知的印象, 氣味定義為其揮發物進入鼻道而由嗅覺系統感知, 嫩度定義為透過舌頭、下顎或唇部等處肌肉的肌肉運動知覺所感覺之堅實度。

III. 統計分析

試驗資料利用 SAS (2014) 統計分析系統的一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行分析, 並以鄧肯氏新多次變域測定法 (Duncan's New Multiple Range Test), 比較不同飼糧處理組間各項分析項目之差異顯著性。

結果與討論

本試驗以大豆殼及甜菜渣粉作為纖維來源, 探討飼糧含高纖維 (14%) 對黑豬肌肉組成與品質及感官品評之影響。試驗結果如下述:

I. 背最長肌肌肉化學組成

表 2 列示肥育期豬隻飼高纖維飼糧對背最長肌肌肉化學組成成分之影響。結果顯示, 肌肉水分含量以高纖維飼糧組顯著 ($P < 0.05$) 較對照組為低, 而肌肉脂肪含量與蛋白質含量於二處理組間則無顯著差異, 但肌肉脂肪含量於高纖維飼糧組有較對照組為低之趨勢 ($P < 0.10$)。劉等 (2008) 於畜試黑豬之研究顯示, 肥育期飼糧之粗纖維含量由 4% 提高至 6%, 對背最長肌及小里肌之肌肉水分、蛋白質及脂肪含量無顯著影響。而 Mullan *et al.* (2009)、Serrano *et al.* (2009) 及 Wiecek *et al.* (2011) 等之研究顯示, 於生長期或肥育期肉豬採限飼飼養較採用任飼者有較低的肌肉脂肪含量。本試驗結果與前述報告結果相似。

表 2. 肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧對背最長肌肌肉化學組成之影響

Table 2. Effects of feeding finishing black pigs with high fiber diets on the chemical composition of *Longissimus dorsi* muscle

Items	Control	High fiber	SE
Moisture, %	75.69 ^a	74.26 ^b	0.92
Crude protein, %	22.01	22.96	0.15
Crude fat, %	2.30	2.78	0.14

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

II. 背最長肌感官肉色、緊實度及大理石紋外觀感官評分

豬隻背最長肌之感官顏色、緊實度及大理石評分乃為判斷豬肉品質優劣與否之重要指標，肥育期豬隻餵飼高纖維飼糧對豬隻背最長肌之感官肉色、緊實度及大理石紋評分之影響列示於表 3。結果顯示，餵飼高纖維飼糧組之背最長肌感官大理石紋評分顯著 ($P < 0.05$) 較對照組為高，肌肉顏色及緊實度於二組間則無顯著差異。劉等 (2008) 於畜試黑豬之研究顯示，肥育期飼糧之粗纖維含量由 4% 提高至 6%，對背最長肌之感官肉色、緊實度及大理石紋感官評分並無顯著之影響。本試驗感官肉色及緊實度感官評分介於 3 – 4 分間，為正常豬肉之顏色及緊實度之分數。肌肉脂肪也會受到豬隻的品種、性別、飼料與豬隻體重等因素的影響 (Segura and Lopez-Bote, 2014)。而消費者在挑選豬肉主要是看大理石紋，來判定豬肉的品質 (Cannata *et al.*, 2010)。而本試驗結果顯示，林等 (2018) 高纖維飼糧組之背脂厚度及屠體脂肪比例顯著較對照組低，為何高纖維飼糧組之肌肉大理石紋感官評分顯著較對照組高，其原因仍不清楚，有待進一步探討，但可能與其上市日齡延後 33 天有關。Brody (1945) 指出動物的生長呈現一個 S 型的曲線，越到後期成長緩慢，能量轉換由蛋白質轉為脂肪囤積；而 Gandemer *et al.* (1992) 指稱大理石紋為肉用家畜骨骼肌發育到一定的生理成熟階段，在小肌束之間形成的脂肪沉積。而吳等 (2012) 之研究顯示，在正常飼養下，大理石紋隨屠宰活體重 (上市日齡) 之增加而增加。

表 3. 肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧對背最長肌感官肉色、緊實度及大理石評分之影響

Table 3. Effects of feeding finishing black pigs with high fiber diets on the color, firmness and marbling score of *Longissimus dorsi* muscle

Items	Control	High fiber	SE
Color score	3.42	3.42	0.07
Marbling score	2.79 ^b	3.58 ^a	0.13
Firmness score	3.25	3.45	0.07

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

Color: 1 represents pale, 6 represents dark; Firmness score: 1 represents soft, 5 represents firm; Marbling: 1 represents rare, 10 represents plenty.

III. 背最長肌背脂與肌肉之 L*、a* 及 b* 值

L*、a* 及 b* 值常用於測定生鮮肉品或肉製品的色澤 (Miller, 1994) 經由光線的反射波長可用於測定肉品的色澤及肌肉色素含量，Hunter L* (亮度)、a* (紅色度) 及 b* (黃色度) 值即是利用光線反射測定原理來測定，是最常用於測定肌肉或肉品色澤之方法。肥育期餵飼高纖維飼糧與正常飼糧之背最長肌肌肉與背脂之肌肉色澤值差異比較，列示於表 4。結果顯示，背最長肌之肌肉 L*、a* 及 b* 值於二組間無顯著差異，但背脂之 a* 及 b* 值以高纖維飼糧組顯著 ($P < 0.05$) 較對照組為大。意即餵飼高纖維飼糧之背脂外觀顏色較餵飼正常飼糧者為黃及紅。Solberg (1968) 指稱，肉類色澤受肌肉中肌紅蛋白 (myoglobin) 與肌血紅蛋白 (myohemoglobin) 之影響。Hillebrand *et al.* (1996) 研究亦顯示，影響肉類色澤的直接與間接因素包括脂肪含量及肉中之色素含量。Lyon and Cason (1995) 之報告指出，肉中脂肪含量增加，導致肌肉中肌紅蛋白含量減少，會反射大部分光源，使肉色之 L* 值增加，a* 值減低。Miltenburg *et al.* (1992) 指稱，L* 值與肌肉中鐵及血肌質 (hematin) 含量呈顯著 ($P < 0.05$) 負相關，a* 值與肌肉中鐵及血肌質 (hematin) 含量呈顯著 ($P < 0.05$) 正相關。Hill and Dansky (1951) 亦證實，屠體脂肪含量與色素蓄積量成正相關。而本試驗使用之纖維來源為大豆殼及乾甜菜渣粉，其類胡蘿蔔素及其他植物色素含量較玉米高，且色素偏向脂溶性較易蓄積於脂肪中，此可能為高纖維組背脂之 a* 及 b* 值顯著較對照組為高之原因。Zhong *et al.* (2021) 研究指出，日糧中甜菜鹼含量增加其 a* 值含量也會增加，一般而言消費者喜愛硬而白的背脂，而不喜愛黃而軟的背脂。

表 4. 肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧對背最長肌肌肉與背脂色澤之影響

Table 4. Effects of feeding finishing black pigs with high fiber diets on the color values of *Longissimus dorsi* muscle and backfat

Items	Control	High fiber	SE
<i>Longissimus dorsi</i>			
L* value	53.87	55.03	0.41
a* value	3.12	3.35	0.17
b* value	7.85	7.70	0.12
Backfat			
L* value	77.82	77.03	0.36
a* value	2.15 ^b	3.51 ^a	0.20
b* value	8.17 ^b	9.90 ^a	0.22

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

VI. 背最長肌背脂與肌肉之堅實度及韌度

表 5 列示肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧與正常飼糧之背最長肌背脂與肌肉之堅實度與韌度之差異比較。韌度為表達樣品壓縮、折曲、扭曲與拉伸等之綜合性質，意即肌肉之韌度越大則表示其抵抗壓縮、折曲、扭曲與拉伸等不同型式之外力能力越強。堅實度為表達使樣品破裂所需之力量。結果顯示，背最長肌背脂與肌肉之堅實度與韌度於兩者間雖無顯著差異。Seideman(1986) 指出，肌肉物理性狀受肌肉組成之影響，主要為脂肪與膠原蛋白之含量。Nakamura *et al.* (1975) 指稱，肌肉中的膠原蛋白含量與熱殘存性膠原蛋白比例，隨動物飼養的時間而增加，而且膠原蛋白分子間的交聯鍵結也會逐漸增多，使肌肉嫩度變差。Sales(1995) 指稱，肌肉脂肪含量高者之剪切值較肌肉脂肪含量低者低。而背脂堅實度或韌度主要受脂肪酸組成之影響，飽和脂肪酸比例越高及多不飽和脂肪酸比例越低其堅實度越高。其他研究顯示，肌肉物理性狀之測定顯著受肌肉組成、屠宰年齡、熟成時間 (aging time)、僵直狀態 (rigor conditions)、加熱方法、死後去骨時間及操作人員之技術等之影響 (Stadelman *et al.*, 1966; Lyon and Wilson, 1986; Gerrard *et al.*, 1987; Lyon and Lyon, 1990; Lyon and Lyon, 1996)。

表 5. 肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧對背最長肌肌肉與背脂堅實度與韌度之影響

Table 5. Effects of feeding finishing black pigs with high fiber diets on the firmness and toughness of *Longissimus dorsi* muscle and backfat

Items	Control	High fiber	SE
<i>Longissimus dorsi</i>			
Firmness (kg)	3.31	3.59	0.14
Toughness (kg. sec)	5.71	6.09	0.24
Backfat			
Firmness (kg)	9.17	9.91	1.27
Toughness (kg. sec)	15.77	18.42	0.63

* Sensory panel test: 1 for dislike extensively and 5 for like extensively.

V. 背最長肌肌肉感官品評

Maltin *et al.* (1997) 和 Joo *et al.* (2013) 指出食用肉在吃的品質 (eating quality) 主要重視風味 (flavor)、嫩度 (tenderness) 與多汁性 (juiciness)。表 6 為肥育期豬隻餵飼高纖維飼糧對豬隻背最長肌肌肉之風味、嫩度、多汁性及總接受性感官品評之影響。結果顯示，無論在風味、嫩度、多汁性及總接受性之感官品評評分均以對照組 ($P < 0.05$) 顯著較高纖維飼糧組佳。一般來說，粗蛋白和肌內脂肪含量被認為是評估肉營養價值及多汁性有關 (Li *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2021)。此與高纖維飼糧組之肌肉脂肪含量較對照組低之趨勢，林等 (2018) 研究指出，餵飼高纖維組之滴水失重有較對照組高之趨勢，及蒸煮失重顯著較對照組高，且肌肉韌度較對照組高之結果一致。劉等 (2008) 於畜試黑豬之研究顯示，肥育期飼糧之粗纖維含量由 4% 提高至 6%，對背最長肌肌肉之風味、嫩度、多汁性及總接受性感官品評評分並無顯著之影響。而本試驗結果高纖維飼糧組之風味、嫩度、多汁性及總接受性之感官品評評分顯著較差之原因，可能與高纖維飼糧組之背脂厚度、屠體脂肪比例及肌肉脂肪含量顯

著較對照組低有關。因肌肉風味、嫩度及多汁性之感官品評評分與肌肉脂肪含量及脂肪酸組成有關，Wood *et al.* (1986) 及 Cameron *et al.* (1990) 發現肌肉脂肪含量高者較低者有較佳之肌肉嗜口性，特別在嫩度、多汁性、風味及芳香味 (aroma) 上。而 Fisher *et al.* (2000) 指稱脂肪酸中的飽和與單不飽和脂肪酸對於肉類的風味呈正相關，多不飽和脂肪酸則呈負相關，Cameron and Enser. (1991) 亦指出肌肉中之單不飽和脂肪酸比例增加，多不飽和脂肪酸比例減少，可改善肌肉適口性。

表 6. 肥育期黑豬餵飼高纖維飼糧對背最長肌感官品評評分之影響

Table 6. Effects of feeding finishing black pigs with high fiber diets on the sensory panel scores of *Longissimus dorsi* muscle

Items	Control	High fiber	SE
Flavor	3.73 ^a	3.48 ^b	0.04
Juiciness	3.44 ^a	2.95 ^b	0.06
Tenderness	3.71 ^a	3.15 ^b	0.07
Overall acceptability	3.62 ^a	3.24 ^b	0.05

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

結 論

肥育期黑豬餵飼高纖維 (14%) 飼糧，其能量及蛋白質含量約為正常飼糧的 85%。結果顯示，肥育期黑豬餵飼高纖維 (14%) 飼糧，其能量及蛋白質含量約為對照組飼 (粗纖維 3%) 的 85%，雖有較高之背最長肌肌肉大理石紋評分及背脂之 a 與 b 值，但其背最長肌肌肉水分含量及各項感官評分卻較低。

致 謝

試驗期間承行政院農業委員會畜產試驗高雄種畜繁殖場畜產科技系謝星龍先生、薛鳳鶯小姐、廖芳英小姐及羅凱駿先生協助現場飼養管理、臺灣農畜產工業股份有限公司協助豬隻屠宰及分切等與畜產試驗所加工組借用肌肉物性測定儀 (Texture Analyser) (TA.XT-Plus, Stable Micro Systems, UK)，特此感謝。

參考文獻

- 行政院經濟部標準檢驗局。1986。中華民國國家標準－飼料檢驗法。臺北市。
- 行政院農業委員會。2019。108 年養豬頭數調查報告。臺北市。
- 吳家輔、劉登城、林高塚、吳勇初。2012。屠宰時活體重對於 LYD 三品種雜交閩公豬屠體性狀之影響。中畜會誌 41：213-224。
- 林正鏞、王漢昇、黃憲榮、張以恆、張仲彰、李秀蘭。2018。餵飼高纖維飼糧對肥育期黑豬之生長性能、屠體性狀、肌肉滴水失重及蒸煮失重之影響。畜產研究 51：224-233。
- 許晉賓、王漢昇、李秀蘭、黃憲榮、王治華。2013。添加青貯料取代部分飼料對肥育期 DK 黑豬生長性能之影響。中畜會誌 42 (增刊)：302。
- 許晉賓、李秀蘭、王漢昇、黃憲榮、林正鏞、王治華。2014。玉米青貯料對高畜黑母豬繁殖性能之影響。中畜會誌 43 (增刊)：240。
- 張婷婷、林高塚。2004。家畜市場活體與屠體拍賣優缺點探討。動物保護公共論壇論文 pp. 205-208。
- 廖宗文、蘇天明、蔡金生、劉建甫、彭松鶴、王政騰。2002。不同粗纖維含量飼糧餵飼畜試黑豬一號肥育期肉豬對其生長性能及屠體性狀之效果評估。中畜會誌 31：87-97。
- 劉芳爵、徐阿里、李恆夫、許晉賓、鄭仁君、楊璿菁、吳勇初。2008。不同粗纖維來源與含量對肥育期畜試黑豬生長性能與屠體性狀之影響。畜產研究 41：173-185。
- 顏宏達、戈福江。1981。不同品種豬隻的消化率、生長性能與屠體品質之探討。中畜會誌 10：71-83。

- Brody, S. 1945. Bioenergetics and Growth. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Cameron, N. D., P. D. Warriss, S. J. Porter, and M. B. Enser. 1990. Comparison of Duroc and British Landrace pigs for meat and eating quality. *Meat Sci.* 27: 227-247.
- Cameron, N. D. and M. B. Enser. 1991. Fatty acid composition of lipid in *Longissimus dorsi* muscle of Duroc and British Landrace pigs and its relationship with eating quality. *Meat Sci.* 29: 295-307.
- Cannata S., T. E. Engle, S. J. Moeller, H. N. Zerby, A. E. Rodunz, M. D. Green, and P. D. Bass. 2010. Effect of visual marbling on sensory properties and quality traits of pork loin. *Meat Sci.* 85: 428-434.
- Cholewa, J. M., L. Guimaraes-Ferreira, and N. E. Zanchi. 2014. Effects of betaine on performance and body composition: a review of recent findings and potential mechanisms. *Amino Acids* 46: 1785-1793.
- Fisher, A. V., M. Enser, R. I. Richardson, J. D. Wood, G. R. Nute, E. Kurt, L. A. Sinclair, and R. G. Wilkinson. 2000. Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed production systems. *Meat Sci.* 55: 141-147.
- Gandemer, G., M. Viau, J. C. Caritez, and C. Legault. 1992. Lipid composition of adipose tissue and muscle in pigs with an increasing proportion of Meishan genes. *Meat Sci.* 32: 105-121.
- Gerrard, D. E., S. J. Jones, E. D. Aberle, R. P. Lemenager, M. A. Diekman, and M. D. Judge. 1987. Collagen stability, testosterone secretion and meat tenderness in growing bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 65: 1236-1242.
- Hill, F. W. and L. M. Dansky. 1951. The influence of diet on body composition of growing chicks. Page 27-32 in *Proc. Cornell Nutr. Conf.*
- Hillebrand, S. J. W., E. Lambody, and C. H. Veerkamp. 1996. The effects of alternative electrical and mechanical stunning methods on hemorrhaging and meat quality of broiler breast and thigh muscles. *Poult. Sci.* 75: 664-671.
- Joo, S. T., G. D. Kim, Y. H. Hwang, and Y. C. Ryu. 2013. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Sci.* 95: 828-836.
- Li, S., H. Wang, X. Wang, Y. Wang, and J. Feng. 2017. Betaine affects muscle lipid metabolism via regulating the fatty acid uptake and oxidation in finishing pig. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8: 72-78.
- Li, X. K., J. Z. Wang, C. Q. Wang, C. H. Zhang, X. li, and C. H. Tang. 2016. Effect of dietary phosphorus levels on meat quality and lipid metabolism in broiler chickens. *Food Chem.* 205: 289-296.
- 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.
- Lyon, C. E. and J. A. Cason. 1995. Effect of water chilling on objective color of bruised and unbruised broiler tissue. *Poult. Sci.* 74: 1894-1899.
- Lyon, B. G. and C. E. Lyon. 1990. Texture profile of broiler pectoralis major as influenced by post-mortem deboning time and heat method. *Poult. Sci.* 69: 329-340.
- Lyon, B. G. and C. E. Lyon. 1996. Texture evaluations of cooked, diced broiler breast samples by sensory and mechanical methods. *Poult. Sci.* 75: 812-819.
- Lyon, C. E. and R. L. Wilson. 1986. Effect of sex, rigor condition, and heating method on yield and objective texture of broiler breast meat. *Poult. Sci.* 69: 907-914.
- Maltin, C. A., C. C. Warkup, K. R. Matthews, C. M. Grant, A. D. Porter, and M. I. Delday. 1997. Pig muscle fibre characteristics as a source of variation in eating quality. *Meat Sci.* 47: 237-248.
- Miller, R. K. 1994. Quality characteristics. In: *Muscle food, meat, poultry and seafood technology*. Ed., D. M. Kinsman, A. W. Kotila, B. C. Breidenstein. Chapman and Hall, New York. pp. 325.
- Matthews, J. O., L. L. Southern, A. D. Higbie, M. A. Persica, and T. D. Bidner. 2001. Effects of betaine on growth, carcass characteristics, pork quality, and plasma metabolites of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 722-728.
- Miltenburg, G. A. J., Th. Wensing, F. J. M. Smulders, and H. J. Breukink. 1992. Relationship between blood hemoglobin plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *J. Anim. Sci.* 70: 2766-2772.
- Mullan, B. P., M. Trezona, D. N. D'Souza, and J. C. Kim. 2009. Effects of continual fluctuation in feed intake on growth performance response and carcass fat-to-lean ratio in grower-finisher pigs. *J. Anim. Sci.* 87: 179-188.
- Nakamura, R., S. Sekoguchi, and Y. Sato. 1975. The contribution of intramuscular collagen to the tenderness of meat from chickens with different ages. *Poultry Sci.* 54: 1604-1612.
- National Pork Producers Council. 1991. Procedures to evaluate market hogs. 3rd ed. National Pork Producers Council. USA,

pp. 230.

- Sales, J. 1995. Ostrich meat review: a South African viewpoint. *Canadian Ostrich Magazine* 4: 20-25.
- SAS. 2014. SAS user guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC.
- Seideman, S. C. 1986. Methods of expressing collagen characteristics and their relationship to meat tenderness and muscle fiber types. *J. Food Sci.* 51: 273-276.
- Serrano, M. P., D. G. Valencia, A. Fuentetaja, R. Lazaro, and G. G. Mateos. 2009. Influence of feed restriction and sex on growth performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared indoors. *J. Anim. Sci.* 87: 1676-1685.
- Segura, J. and C. J. Lopez-Bote. 2014. A laboratory efficient method for intramuscular fat analysis. *Food Chem.* 145: 821-825.
- Sládek, L. and E. Dračková. 2020. The Effect of Genotype, Sex and Intramuscular Fat Content on the Colour of Pork. *Acta. Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 68: 101-108.
- Siljander-Rasi, H., S. Peuranen, K. Tiitonen, E. Virtanen, H. Kettunen, T. Alaviuhkola, and P. H. Simmins. 2016. Effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance, carcass quality and physiological parameters of pigs. *Anim. Sci.* 76: 55-62.
- Solberg, M. 1968. Factors affecting fresh meat color. *Proc. Meat Ind Res. Conf.* Page 32-40.
- Stadelman, W. J., G. C. Mostert, and R. B. Harrington. 1966. Effect of aging time, sex, strain, and age on resistance to shear of turkey meat. *Food Technol.* 20: 110-114.
- Wen C, Y. Chen, Z. Leng, L. Ding, T. Wang, and Y. Zhou. 2019. Dietary betaine improves meat quality and oxidative status of broilers under heat stress. *J. Sci. Food Agric.* 99: 620-623.
- Wiecek, J., A. Rekiel, M. Batorska, and J. Skomial. 2011. Effect of restricted feeding and realimentation periods on pork quality and fatty acid profile of *M. longissimus thoracis*. *Meat Sci.* 87: 244-249.
- Wood, J. D., R. C. D. Nones, M. A. Francombe, and O. P. Whelehan. 1986. The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. *Anim. Prod.* 43: 535-544.
- Zhang, I., M. Yin and X. Wang. 2021. Meat texture, muscle histochemistry and protein composition of *Eriocheir sinensis* with different size traits. *Food Chem.* 338: 127632-127638.
- Zhong, Y., Z. Yan, B. Song, C. Zheng, Y. Duan, X. Kong, J. P. Deng, and F. Li. 2021. Dietary supplementation with betaine or glycine improves the carcass trait, meat quality and lipid metabolism of finishing mini-pigs. *Anim. Nutr.* 7: 376-383.

Effects of high fiber diet on the meat quality of finishing black pigs ⁽¹⁾

Hsiu-Lan Lee ^{(2) (3)} and Cheng-Yong Lin ^{(2) (4)}

Received: Jun. 15, 2022; Accepted: Mar. 9, 2023

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of feeding with a high fiber diet on the meat quality of finishing black pigs. A total of thirty-two (16 barrows and 16 gilts) crossbred black pigs (25% Meishan × 75% Duroc) with an average body weight (BW) of 57.8 kg, were randomly divided into two groups which were fed with the control and high fiber diets, respectively. The crude fiber levels in the diets were 3% and 14%. Pigs were allocated into quadruplicate with 4 pigs in each pen. Water and feed were provided *ad libitum*. The experiment was terminated when the pigs weighed 117 kg. Twelve pigs from each group were sacrificed for meat quality analysis. The results showed that the moisture content of *Longissimus dorsi* muscle was significantly ($P < 0.05$) lower in the high fiber diet group. The marbling scores of the color values of a^* and b^* of backfat were higher ($P < 0.05$) in the high fiber diet group. In addition, the flavor, juiciness, tenderness and overall acceptability scores were significantly ($P < 0.05$) lower in the high-fiber diet group than in the control group. Besides, there were no differences in crude protein and fat, L^* , a^* , b^* values, muscle color, firmness and color values of *Longissimus dorsi* muscle between groups. Although the high-fiber diets group had higher marbling score and backfat of redness (a^*) and yellowness (b^*) values of *Longissimus dorsi* muscle, the water content and sensory evaluation of *Longissimus dorsi* muscle were lower.

Key words: Black pigs, High fiber diet, Meat quality.

(1) Contribution No. 2735 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Graduate Institute of Bioresources, National Pingtung University of Science and Technology.

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

飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨 生長性能與屠體性狀之影響⁽¹⁾

林榮新⁽²⁾ 林正斌⁽³⁾ 李姿蓉⁽³⁾ 張以恆⁽⁴⁾ 鄭智翔⁽²⁾ 蘇晉暉⁽²⁾ 劉秀洲⁽²⁾ 林雅玲⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：111 年 9 月 13 日；接受日期：112 年 3 月 9 日

摘 要

本試驗旨在探討飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨生長性能與屠體性狀之影響。0 – 3 週齡土番鴨飼養於育雛室內，滿 3 週齡後，逢機分成對照組（未添加紫色狼尾草粉）、添加 2、4 及 6% 紫色狼尾草粉組，共計 4 處理組；每處理組 3 重複，每重複 20 隻，公母各半，共計 240 隻。3 – 10 週齡的試驗飼糧含粗蛋白質 15.4% 及代謝能 2,890 kcal/kg，各組皆等蛋白質及等代謝能。並於 3、7 及 10 週齡時，測定鴨隻生長性能。於 10 週齡時，每處理組逢機挑選公、母各 3 隻犧牲，以測定鴨隻屠體性狀。試驗結果顯示各處理組 10 週齡體重介於 2,813 – 2,847 g 之範圍，各組間並無顯著差異，但以添加 6% 紫色狼尾草粉組體重為 2,847 g 有較其他三組為重之趨勢。各處理組 3 – 10 週齡之平均隻日採食量介於 148 – 152 g 之範圍，各組間並無顯著差異。各處理組 3 – 10 週齡飼料轉換率介於 3.08 – 3.13 之範圍，各組間並無顯著差異。各處理組 10 週齡主翼羽長度介於 15.9 – 17.0 cm 之範圍，但以飼糧中有添加紫色狼尾草粉組者皆顯著較對照組為長 ($P < 0.05$)。飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組胸肉 445 g 有較其他三組為重之趨勢。若同時考量體重、飼料轉換率、主翼羽長度及胸肉重等因素，建議土番鴨飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉為宜。

關鍵詞：屠體性狀、生長性能、土番鴨、紫色狼尾草。

緒 言

狼尾草為本地重要牧草之一，栽培面積 1,984 公頃，每公頃鮮草年產量 136.2 公噸為其他牧草之冠（行政院農業委員會，2022），可配合機械收穫及青貯調製，已使狼尾草成為國產牧草的重要草種（成等，1995；成等，1997）。2011 年行政院農業委員會畜產試驗所利用狼尾草臺畜草二號與臺灣野生之紫色狼尾草雜交，選育出紫色之狼尾草臺畜草五號，富含花青素等機能性成份。紫色種狼尾草可用於牧草上之特性，在於莖之乾物質消化率與粗蛋白質特性，於食用或健康食品上之特性，在於葉片之抗氧化能力等（成等，2003）。紫色狼尾草萃取物中含有矢車菊素-3-葡萄糖苷 (cyanidin-3-glucoside)、沒食子酸 (gallic acid)、綠原酸 (chlorogenic acid)、咖啡酸 (caffeic acid) 及鞣花酸 (ellagic acid) 等酚類物質，以此萃取物處理的小鼠巨噬細胞株 RAW264.7 細胞未觀察到細胞毒性作用，且對脂多醣 (Lipopolysaccharide, LPS) 誘發的 RAW264.7 細胞之腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、介白素-6 (interleukin-6, IL-6) 和介白素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等發炎介質具有顯著抑制效果（楊，2020）。狼尾草除供作草食動物之芻料用外，嫩莖可作為蔬菜使用，亦利用狼尾草臺畜草二號和狼尾草臺畜草五號分別開發出具不同特色的茶飲及烘焙食品，使得狼尾草利用更多元化（成等，2012；林等，2016）。林等 (2007) 指出餵飼飼糧並額外添加狼尾草臺畜草二號者，可降低白羅曼鵝胸肉之飽和脂肪酸百分比，有助於鵝肉品質之提升。羅等 (2011) 指出利用狼尾草與高粱酒糟調配完全混合飼糧飼養生長期駝鳥，可改善體增重及降低飼料成本，提高駝鳥肉的產量，並達到增加經濟效益之目的。林等 (2011) 指出基於經濟效益與動物福祉的考量，建議種鵝業者可以飼糧限飼並額外添加生鮮狼尾草的方式飼養種鵝，提升種蛋的受精率與孵化率。Hsu *et al.* (2000) 指出，在等熱能與蛋白質飼糧中，以粗糠為飼糧纖維來源，鵝隻 3 至 6 週齡的日增重隨飼糧中粗纖維含量增加而增加，而餵飼含 8.8% 粗纖維之飼糧者可

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2736 號。
(2) 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。
(3) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。
(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: linyaling165@tlri.gov.tw。

達到最佳增重。施等 (2009) 指出鵝隻於 2 – 5 週齡之間餵飼添加尼羅乾草，使粗纖維含量達 6 – 9% 時，其生長性能並不顯著影響。林等 (2013) 指出放養土雞於種植狼尾草臺畜草二號之地面上，可維持地表牧草之覆蓋率、增加公雞屠體重及減少被啄羽雞情形發生。楊等 (2019) 指出產蛋雞飼糧中添加 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。因此，本試驗取狼尾草臺畜草五號全株烘乾磨粉，擬探討飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨生長性能與屠體性狀之影響，以供肉鴨業者參考使用。

材料與方法

I. 試驗飼糧與試驗設計

試驗使用宜蘭分所育成的土番鴨 (公番鴨 × 母北京鴨)，鴨隻出生後給予育雛料含粗蛋白質 18.7% 及代謝能 2,890 kcal/kg (沈, 1988)，飼養於育雛室內。於滿 3 週齡後，將土番鴨逢機分成對照組 (未添加紫色狼尾草粉)、添加 2、4 及 6% 紫色狼尾草粉處理組，共計 4 處理組，每處理組 3 重複，每重複 20 隻，公母各半，試驗鴨隻共計 240 隻。3 – 10 週齡的試驗飼糧含粗蛋白質 15.4% 及代謝能 2,890 kcal/kg，其飼糧組成如表 1。本試驗使用粒狀飼料餵飼鴨隻，各組皆等蛋白質及等代謝能，試驗期間採自然通風、自由飲水及任食。依 AOAC (2000) 分析，紫色狼尾草粉含水分 22.3%，其風乾基中營養成分為粗蛋白質 7.2%，鈣 0.09%，總磷 0.82%，粗纖維 33.12%。試驗鴨舍為防止野鳥進入非開放式鴨舍，鴨舍大小為長 60.1 公尺、寬 15.3 公尺、高 4.7 公尺。各組床面皆為不銹鋼網，線徑為 0.5 公分、網目為 5 × 1.5 公分；各組水浴槽為 50 公分長、30 公分寬、15 公分深。試驗期間為 107 年 7 月 6 日起至 107 年 9 月 13 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 (畜試宜動字第 107011 號) 與試驗準則進行。

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 3 天，測定時間為上午 9 點，並將 3 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 及 10 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 與 10 週齡時，使用量尺測定鴨隻第 8 根主翼羽長度。
- (iii) 屠體性狀：於 10 週齡時，每欄逢機取樣公母各 1 隻以測定活體重、屠體重、屠宰率以及胸肉重。屠體重為放血、脫毛、去除腹脂及去除內臟之重量。屠宰率為屠體重除以活體重之百分比。胸肉重為鴨隻左胸部及右胸部之總重量。

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。

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 31.1℃、平均相對濕度為 67.1% (圖 1)。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。如夏季飼養肉鵝，因外部高溫常達 33 – 35℃，鵝隻因高溫造成採食量受限，上市體重相對較冬季輕，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 (張等, 2012)。蘇等 (2016) 指出為了降低夏季的熱緊迫，同時兼顧防疫與預防風災效果的密閉式禽舍可降低鴨隻飼養環境溫度約 3 至 4℃，是最有效降低環境溫度的方法，然而建築成本不斷提高，造成生產者興建此種鴨舍的意願較低。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

飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨生長性能之影響，如表 2 所示。於 7 週齡時，飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組體重為 2,095 g，顯著較對照組體重 1,982 g 為重 ($P < 0.05$)。於 10 週齡時，各處理組體重介於

2,813 – 2,847 g 之範圍，各組間並無顯著差異，但以添加 6% 紫色狼尾草粉組體重為 2,847 g 有較其他三組為重之趨勢。飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組導致土番鴨生長期 (3 – 7 週齡) 體重顯著較對照組重，其可能原因是高纖維含量飼料添加脂肪量多，能量轉換率較佳，有利於鴨隻生長；但土番鴨肥育期 (7 – 10 週齡) 因有補償性生長之現象，故於 10 週齡時則各組間體重並無顯著差異。

表 1. 土番鴨 3 – 10 週齡試驗飼糧組成

Table 1. The composition of experimental diets for mule ducks during 3-10 weeks of age

Ingredients	Treatment			
	Control	2% purple napiergrass powder	4% purple napiergrass powder	6% purple napiergrass powder
Yellow corn, ground	66.30	63.55	60.82	58.05
Purple napiergrass powder	—	2.0	4.0	6.0
Soybean meal, 43% CP	20.60	20.72	20.83	20.96
Wheat bran	8.71	8.77	8.80	8.84
Soybean oil	1.10	1.70	2.30	2.91
Iodized salt	0.30	0.30	0.30	0.30
Pulverized limestone	1.44	1.45	1.47	1.49
Dicalcium phosphate	0.90	0.85	0.81	0.76
DL-Methionine, 98%	0.02	0.03	0.03	0.05
L-Lysine • HCl, 99%	0.13	0.13	0.14	0.14
Vit-premix ^a	0.30	0.30	0.30	0.30
Min-premix ^b	0.20	0.20	0.20	0.20
	100	100	100	100
Calculated values				
CP, %	15.4	15.4	15.4	15.4
ME, kcal/kg	2,890	2,890	2,890	2,890
Crude fiber, %	4.79	5.37	5.94	6.52
Calcium, %	0.72	0.72	0.72	0.72
Available phosphorus, %	0.36	0.36	0.36	0.36
Lysine, %	0.90	0.90	0.90	0.90
Methionine + Cystine, %	0.57	0.57	0.57	0.57
Feed cost ^c , NT\$/kg	10.67	15.53	20.38	25.26

^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, 0.12 mg; folic acid, 2 mg.

^b Supplied per kilogram of diet: Mn (MnSO₄), 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.

^c Feed cost, NT\$/kg: yellow corn (ground), 8.47; purple napiergrass powder, 240; soybean meal (43% CP), 15.3; wheat bran, 6.3; Soybean oil, 45; iodized salt, 5; pulverized limestone, 3; dicalcium phosphate, 26; DL-Methionine (98%), 145; L-Lysine • HCl (99%), 65; vit-premix, 105; min-premix, 70.

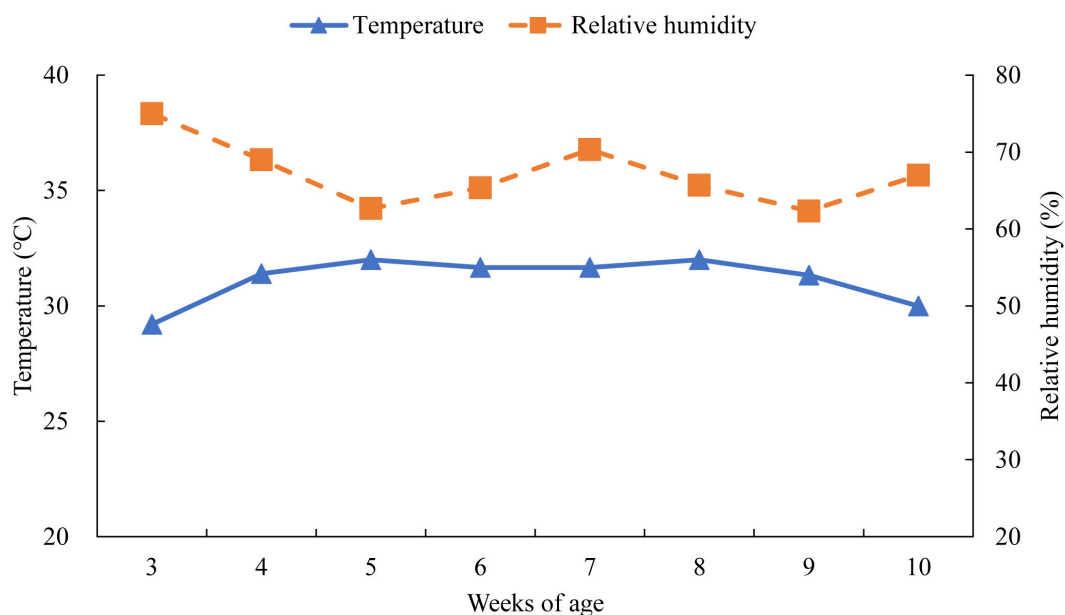


圖 1. 試驗期間上午 9 時鴨舍之溫濕度變化 (3 – 10 週齡)。

Fig. 1. Changes in temperature and relative humidity at 9:00 A.M. in the duck house environment during the experiment period (3 - 10 weeks of age).

表 2. 飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨生長性能之影響

Table 2. The effects of supplementing different ratios of purple napiergrass powder in the diet on the growth performance of the mule duck

	Control	2% purple napiergrass powder	4% purple napiergrass powder	6% purple napiergrass powder
Weeks of age	Body weight, g/duck			
3	445 ± 6	450 ± 7	445 ± 7	439 ± 7
7	1,982 ± 23 ^b	2,031 ± 18 ^{ab}	1,998 ± 22 ^b	2,095 ± 18 ^a
10	2,825 ± 30	2,813 ± 24	2,831 ± 26	2,847 ± 24
	Body weight gain, g/duck			
3 - 7	1,537 ± 24	1,582 ± 38	1,553 ± 22	1,655 ± 30
7 - 10	843 ± 38	782 ± 63	833 ± 41	752 ± 54
3 - 10	2,380 ± 24	2,364 ± 73	2,386 ± 57	2,408 ± 24
	Feed consumption, g/duck/day			
3 - 7	136 ± 3	134 ± 4	132 ± 2	137 ± 3
7 - 10	174 ± 4	173 ± 2	170 ± 2	171 ± 4
3 - 10	152 ± 1	151 ± 1	148 ± 1	152 ± 1
	Feed conversion ratio, feed/gain			
3 - 7	2.47 ± 0.09	2.37 ± 0.01	2.39 ± 0.02	2.32 ± 0.01
7 - 10	4.35 ± 0.28	4.83 ± 0.66	4.30 ± 0.22	4.82 ± 0.29
3 - 10	3.08 ± 0.06	3.13 ± 0.09	3.11 ± 0.10	3.08 ± 0.01
	Length of 8th primary feather, cm			
7	4.8 ± 0.4	5.3 ± 0.3	5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.2
10	15.9 ± 0.3 ^b	17.0 ± 0.2 ^a	16.9 ± 0.3 ^a	17.0 ± 0.2 ^a
	Feed cost, NT\$/per kg weight			
3 - 10	25.39	40.99	48.62	60.82

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

Means ± SE.

各處理組 3 – 7 週齡鴨隻增重介於 1,537 – 1,655 g 之範圍 (表 2)，各組間並無顯著差異。各處理組 7 – 10 週齡鴨隻增重介於 752 – 843 g 之範圍，各組間並無顯著差異。各處理組 3 – 10 週齡之增重介於 2,364 – 2,408 g 之範圍，各組間並無顯著差異。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 7 – 10 週齡時，則是土番鴨生長趨緩之時期故其增重差。

各處理組 3 – 7 週齡之平均隻日採食量介於 132 – 137 g 之範圍 (表 2)，各組間並無顯著差異。各處理組 7 – 10 週齡之平均隻日採食量介於 170 – 174 g 之範圍，各組間並無顯著差異。各處理組 3 – 10 週齡之平均隻日採食量介於 148 – 152 g 之範圍，各組間並無顯著差異。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，故各處理組鴨隻之日採食量皆不多，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 2.32 – 2.47 之範圍 (表 2)，各組間並無顯著差異。於 7 – 10 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 4.30 – 4.83 之範圍，各組間並無顯著差異。於 3 – 10 週齡時，各處理組飼料轉換率介於 3.08 – 3.13 之範圍，各組間並無顯著差異。探究其因，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，故各處理組鴨隻之日採食量皆相近，且其增重亦相似，故導致各組間並無顯著差異。

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 4.8 – 5.5 公分之範圍，各組間並無顯著差異 (表 2)。各處理組 10 週齡主翼羽長度介於 15.9 – 17.0 公分之範圍，但以飼糧中有添加紫色狼尾草粉組者皆顯著較對照組為長 ($P < 0.05$)。故由試驗結果得知，飼糧中有添加紫色狼尾草粉者是有利於主翼羽生長的。各處理組之主翼羽長度在 7 – 10 週齡時皆生長 11 公分以上，由此可知，7 – 10 週齡時是土番鴨主翼羽發育快速之時期。林等 (2019) 指出飼養在不同鴨床材質 10 週齡土番鴨主翼羽長度介於 14.9 – 16.3 cm，但以橡膠止滑床面組其主翼羽長度為 14.9 cm 有顯著較不銹鋼網狀床面、塑膠床面及木條床面等三組為短之現象，此可供養鴨業者參考。

以 4 處理組之飼料轉換率 (表 2) 與 4 處理組之飼料每公斤價格 (表 1) 估算出 4 處理組 3 – 10 週齡之每公斤增重飼糧成本 (表 2)。4 處理組 3 – 10 週齡之每公斤增重飼糧成本介於 25.39 – 60.82 元，其中以對照組每公斤增重飼糧成本 25.39 元為最低；以添加 6% 紫色狼尾草粉組之 60.82 元為最高。因此，飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組之每公斤增重飼糧成本最高。雖其每公斤增重飼糧成本最高，但試驗使用之紫色狼尾草為我國內自產自製，在目前國外進口飼料成本高漲情形下，其利用性將越來越高。另於鴨隻飼糧中添加牧草粉，亦可作為與消費者溝通的項目之一，因此雖然試驗添加的紫色狼尾草成本較高，仍有可能藉此添加讓飼養者生產的鴨隻成為特色化產品。Hollister *et al.* (1984) 指出愛姆登鵝 (Emden) 餵給添加 20% 肯達基藍草 (Kentucky blue grass) 及脫水苜蓿飼料，其飼料效率與對照組 (無添加牧草) 之間並無顯著差異，但卻能降低飼料成本，此可供業者參考。

III. 屠體性狀

飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨屠體性狀之影響，如表 3 所示。於 10 週齡時每處理組犧牲 6 隻鴨隻，各處理組屠體重介於 2,269 – 2,458 g 之範圍，各組間並無顯著差異；各處理組屠宰率介於 79.5 – 83.5% 之範圍，各組間並無顯著差異。林等 (2020) 指出飼養在複合型床面 12 週齡時土番鴨屠宰率介於 81.4 – 81.9%

表 3. 飼糧中添加不同比率紫色狼尾草粉對土番鴨屠體性狀之影響

Table 3. The effects of supplementing different ratios of purple napiergrass powder in the diet on the carcass traits of the mule duck

	Control	2% purple napiergrass powder	4% purple napiergrass powder	6% purple napiergrass powder
Body weight, g	2,839 ± 134	2,914 ± 104	2,808 ± 89	3,100 ± 131
Carcass weight, g	2,269 ± 122	2,342 ± 91	2,340 ± 79	2,458 ± 90
Dressing percentage, %	79.7 ± 1.8	80.2 ± 0.8	83.5 ± 1.2	79.5 ± 1.0
Breast weight, g	343 ± 36	391 ± 33	388 ± 10	445 ± 32

Means ± SE. (n = 6).

之範圍；本試驗結果與之相似。在胸肉重方面，各處理組胸肉重介於 343 – 445 g 之範圍，各組間並無顯著差異，但以飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組胸肉重為 445 g 有較其他三組為重之趨勢。

結 論

由本試驗結果得知：飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組 7 週齡體重為 2,095 g，顯著較對照組體重 1,982 g 為重 ($P < 0.05$)。各處理組 10 週齡主翼羽長度介於 15.9 – 17.0 公分之範圍，但以飼糧中有添加紫色狼尾草粉組者皆顯著較對照組為長 ($P < 0.05$)。在胸肉重方面，以飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉組胸肉重為 445 g 有較其他三組為重之趨勢。以體重、飼料轉換率、主翼羽長度及胸肉重等指標，建議飼糧中添加 6% 紫色狼尾草粉為宜。

參考文獻

- 成游貴、陳嘉昇、吳建福。1995。矮性狼尾草產量與品質之改良。畜產研究 28：285-294。
- 成游貴、黃耀興、陳嘉昇、李美珠。1997。地區性狼尾草品系選拔及飼養模式之研究。畜產研究 30：171-181。
- 成游貴、王紓愍、陳嘉昇。2003。狼尾草育種－紫色狼尾草種原性狀之研究。畜產研究 36：181-189。
- 成游貴、李姿蓉、林正斌、涂榮珍、陳曉菁。2012。狼尾草臺畜草五號之多元利用。畜產專訊 79：12-13。
- 行政院農業委員會。2022。110 年農業統計年報。行政院農業委員會，臺北市。
- 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。
- 林正斌、李姿蓉、劉曉龍、李春芳、顏素芬、成游貴。2013。狼尾草 (*Pennisetum purpureum*) 地放養土雞之探討。畜產研究 46：33-40。
- 林正斌、李姿蓉、張世融、李春芳、施意敏、顏素芬、吳錫勳、成游貴、盧啟信。2016。狼尾草臺畜草六號之選育。畜產研究 49：249-260。
- 林旻蓉、張仲彰、吳國欽、陳添福、賈玉祥、李舜榮、范揚廣。2007。飼糧輔以生鮮狼尾草與尼羅草對白羅曼鵝之飼養價值。中畜會誌 36：231-242。
- 林旻蓉、張仲彰、吳國欽、賈玉祥、范揚廣。2011。飼糧限飼與輔以生鮮狼尾草對白羅曼種鵝繁殖性狀之影響。畜產研究 44：323-336。
- 林榮新、蘇晉暉、林育安、曾再富、鄭智翔、劉秀洲。2019。不同鴨床材質對土番鴨生長性狀與屠體性狀之影響。畜產研究 52：114-121。
- 林榮新、林育安、曾再富、鄭智翔、劉秀洲、蘇晉暉。2020。複合型床面對二品種土番鴨生長性能與屠體性狀之影響。畜產研究 53：187-194。
- 施柏齡、劉士銘、林炳宏。2009。尼羅草對白羅曼鵝生長性狀及消化道功能發展之影響。畜產研究 42：151-162。
- 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。國立中興大學動物科學系。碩士論文。臺中市。
- 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 45：19-28。
- 楊深玄、莊璧華、塗建銘、成游貴、蘇安國。2019。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。畜產研究 52：91-99。
- 楊尚緯。2020。紫色狼尾草抗發炎試驗及有效成分分析。嘉南藥理大學保健營養系，碩士論文，臺南市。
- 羅國良、黃玉鴻、謝豪晃。2011。餵飼狼尾草與高粱酒糟調配完全混合飼糧對生長期駝鳥生長性能及屠體性狀之影響。中畜會誌 40：201-209。
- 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 43：71-80。
- 蘇晉暉、蕭掾瀚、鄭智翔、黃振芳、林榮新。2016。提高飼糧營養濃度應用於土番鴨抗熱緊迫效果之評估。畜產研究 49：91-98。
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis (14th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.

- Hollister, A. G., H. S. Nakaue, and G. H. Arscott. 1984. Studies with confinement-reared goslings: 1. Effects of feeding high levels of dehydrated alfalfa and Kentucky blue grass to growing goslings. *Poult. Sci.* 63: 532-537.
- Hsu, J. C., L. I. Chen, and B. Yu. 2000. Effects of levels of crude fiber on growth performances and intestinal carbohydrates of domestic goslings. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13: 1450-1454.
- 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.
- 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.

Effects of supplementing different ratios of purple napiergrass powder in the diet on mule duck's growth performance and carcass traits ⁽¹⁾

Jung-Hsin Lin ⁽²⁾ Jeng-Bin Lin ⁽³⁾ Tzu-Rung Li ⁽³⁾ I-Heng Chang ⁽⁴⁾ Chih-Hsiang Cheng ⁽²⁾
Chin-Hui Su ⁽²⁾ Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾ and Ya-Ling Lin ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Sep. 13, 2022; Accepted: Mar. 9, 2023

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the effects of supplementing different ratios of purple napiergrass powder in the diet on mule duck's growth performance and carcass traits. In this experiment 240 mule ducks from hatched to 3 weeks of age were raised in the brooding house. After 3 weeks of age, ducks were randomly allocated into control group (no purple napiergrass powder added), 2, 4 and 6% purple napiergrass powder added groups, totally 4 treatment groups, and 3 replicates in each group, 20 ducks half male and female per replicate. The diet fed from 3 to 10 weeks of age contained 15.4% crude protein and 2,890 kcal/kg of metabolizable energy. All treatments were isocaloric and isonitrogenous. The growth performance of ducks was determined at 3, 7 and 10 weeks of age. At 10 weeks of age, 3 male and 3 female ducks were randomly chosen in each treatment and were sacrificed for carcass traits determination. The experiment results showed that the body weight at 10 weeks of age of each treatment was in the range of 2,813 to 2,847 g. There was no significant difference between the treatments, through the body weight of the 6% purple napiergrass powder added group was 2,847 g, which had a trend of heavier than the other three groups. The average daily feed intake of ducks from 3 to 10 weeks of age in each treatment was in the range of 148-152 g, with no significant difference between the groups. The feed conversion ratio from 3 to 10 weeks of age in each treatment was in the range of 3.08 - 3.13, with no significant difference between the groups. The primary feather length at 10 weeks of age of each treatment was in the range of 15.9 to 17.0 cm, and ducks fed diets containing purple napiergrass powder had longer primary feathers than the control group ($P < 0.05$). The 445 g breast meat in the group supplemented with 6% purple napiergrass powder in the diet tended to be heavier than the other three groups. If body weight, feed conversion ratio, primary feather length and breast meat weight are considered simultaneously, it is recommended to add 6% purple napiergrass powder to the diet.

Key words: Carcass traits, Growth performance, Mule duck, Purple napiergrass.

(1) Contribution No. 2736 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Ilan Branch, COA-LRI, Ilan 26846, 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: linyaling165@tlri.gov.tw.

太陽熱能牧草乾燥室研發⁽¹⁾

王紓愍⁽²⁾⁽³⁾ 劉信宏⁽²⁾ 游翠凰⁽²⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：111 年 8 月 5 日；接受日期：112 年 3 月 9 日

摘 要

本研究的主要目的為進行小型牧草節能乾燥室研發，以豐富的太陽熱能為主要能量來源，減少石化能源與電力消耗，同時滿足高品質芻料調製與節能的需求。由實驗室乾燥建立基本資料作為系統條件之參照，在 50℃ 下苜蓿鮮草經 8 小時可乾燥至含水率 15% 以下。雛型乾燥室之基本設計包括乾燥室主架構及與輸送設備，可半自動進行牧草進料、乾燥及出料作業。由乾燥室現場實測溫度變化情形，晴天上午 9 點當戶外溫度為 28℃ 時，乾燥室內溫度已高達 50℃，且高溫可持續到下午 4 點，其間相對濕度低於 20%。熱風循環與排濕設計可提高室內環境之均勻度與乾燥效率，白天的苜蓿草平均乾燥速率可達 6.1%/h。太陽熱能乾燥室相對於電熱乾燥可節省 99% 的能源消耗與碳排放，在小規模牧草乾燥的應用上極具潛力，可以利用為寵物與實驗動物級等較優質且高單價之乾草生產。

關鍵詞：乾草、低碳能源、太陽熱能乾燥。

緒 言

牧草品質受多種因素影響，可概分為收穫前因素及收穫後因素。畜試所已進行多項大宗國產芻料品質研究，對季節、品系與收穫成熟度對品質的影響已充分認知 (陳及王，2005；2012；陳等，2018)，對溫帶草種之苜蓿、燕麥等利基性牧草在本地環境下的收穫前品質變動亦有掌握 (王等，2019；陳等，2021)，然因海洋性高濕度環境之故，在沒有人工乾燥的輔助之下欲穩定獲得高品質乾草的難度極高。

Rees (1982) 表示乾物質損失是乾草調製過程無可避免的問題，損失的程度依調製過程而異，在潮濕氣候下的乾物損失可超過 30%。Fonnesbeck *et al.* (1986) 的研究發現，苜蓿乾草的調製過程估計有 9.7% 的產量損失是由可溶性養分的流失造成，其中 18.8% 為碳水化合物、10.2% 為蛋白質、19.8% 為脂肪、14% 為礦物質，同時，下雨對乾草品質的影響大於成熟度。由 Rotz and Muck (1994) 的回顧報告中也顯示，乾草調製過程的損失是必然的，在正常情況下損失約 10% 以下，但如遇雨則平均乾物損失可達 30%，在嚴重的情形下損失甚至可達 50%；不同作物的影響程度不一，此外，下雨對乾燥後期的影響大於對乾燥初期的影響。因此，牧草在田間乾燥的時間愈短愈好。然而牧草收穫時的含水率高，如何在短時間內使水分快速散失，利用人工能源輔助乾燥是許多食用農產品常用的手段，但其成本過高，對多數牧草生產而言並不適用。

太陽熱源是相對便宜的能源，然而直接的日曬乾燥受氣候條件的影響大，缺點已如前述，若以太陽熱源輔以其他聚熱或貯熱裝置，則可以成為相當有效的乾燥設施。Bal *et al.* (2010) 及 Sharma *et al.* (2009) 的回顧中提出多種太陽乾燥的利用方式與設計概念，包括直接與間接的利用。Tiris *et al.* (1995) 表示，其所研發之太陽熱能加熱裝置可以顯著改善多種農產品的乾燥時間與乾燥品質。Arinze *et al.* (1999) 則表示太陽能乾燥裝置可以應用於高品質商業乾草的生產。因此，本研究以太陽熱能輔以自動化機械流程，設計適用於生產高品質乾草之節能乾燥室，並以多批苜蓿乾燥效率作為驗證，達到提昇品質與能源節約的雙重目標。

材料與方法

I. 牧草乾燥基礎資料建立

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2737 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

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

利用熱風循環烘箱 (臺製, 內部空間 $210 \times 190 \times 80$ cm) 進行苜蓿草乾燥模式模擬, 設定固定溫度 (50°C , 依溫室內多次晴天日間溫度平均) 及進料厚度 (10 cm, 依溫室進料厚度), 乾燥期間間隔每小時取樣, 調查水分含量變化, 直至含水率低於安全貯存水分以下 (15%), 繪製牧草含水率變化的時間曲線, 做為系統設計及乾燥作業參考。

II. 乾燥系統設計及建置

依牧草特性、乾燥模擬資料、配合現場作業需求設計乾燥系統, 包含乾燥室、內外物料輸送及通風系統以調控溫、濕度及排濕。以圓頂塑膠型溫室為基本主體之乾燥室架設於畜產試驗所恆春分所試驗區, 跨距 8 m、長 50 m、高 3 m, 設置方向為東西向, 被覆材料為聚乙烯。內部設計自動輸送層架 4 座, 層架為 4 層構造, 寬 1.6 m、長 40 m。建置完成後於乾燥室屋頂、各層之前、中、後區段 (約距層架前端 7、20 及 33 m 處) 與室外架設溫、濕度記錄器 (Hobo temp/RH logger), 調查各種天候下不同時間的溫、濕度變化。

III. 乾燥效率比較

為測試通風排濕循環系統之效果, 分為啟動與不啟動通風系統下各進行二批次的苜蓿草乾操作業。每批次作業於下午 5 時完成進料, 並於上、中、下層架之前、中、後區段共 9 個位置, 放置內裝 300 g 新鮮苜蓿的網袋 (將苜蓿自然平鋪約 10 cm 厚) 5 個, 翌日 10:30 起每隔一小時取一袋秤重, 至 14:30 止, 測定苜蓿含水率變化。

IV. 資料處理及統計

- 苜蓿含水率變化與乾燥效率: 將不同乾燥時間取樣的樣品稱重, 再將樣品烘乾至恆重, 計算各取樣點之含水率, 將含水率與取樣時間資料以 excel 軟體作圖並進行多項式迴歸, 另以含水率變化除以乾燥時間計算單位時間內的含水率變化。
- 溫室內外溫濕度變化為將記錄器資料匯入 excel 軟體作圖。

結果與討論

I. 牧草乾燥基本資料

圖 1 為鋪設厚度 10 公分、含水率 80% 的苜蓿鮮草在 50°C 烘箱中的含水率變化情形, 由烘箱數據可以得到 $y = -0.0004x^3 + 0.0152x^2 - 0.1828x + 0.8$ (y = 含水率, x = 乾燥時間, $R^2 = 0.9564$) 的乾燥曲線模式, 在溫度 50°C 的條件下, 乾燥約 6 – 7 小時即可達到目標含水率 (15% 以下), 起始 1 小時的含水率降低速度快, 高達 16.8%/h, 第 2 小時的降低為 14.0%/h, 隨乾燥時間增加含水率減少的速度遞減。依烘箱乾燥之溫度條件及含水率曲線作為系統設計及操作的參考。

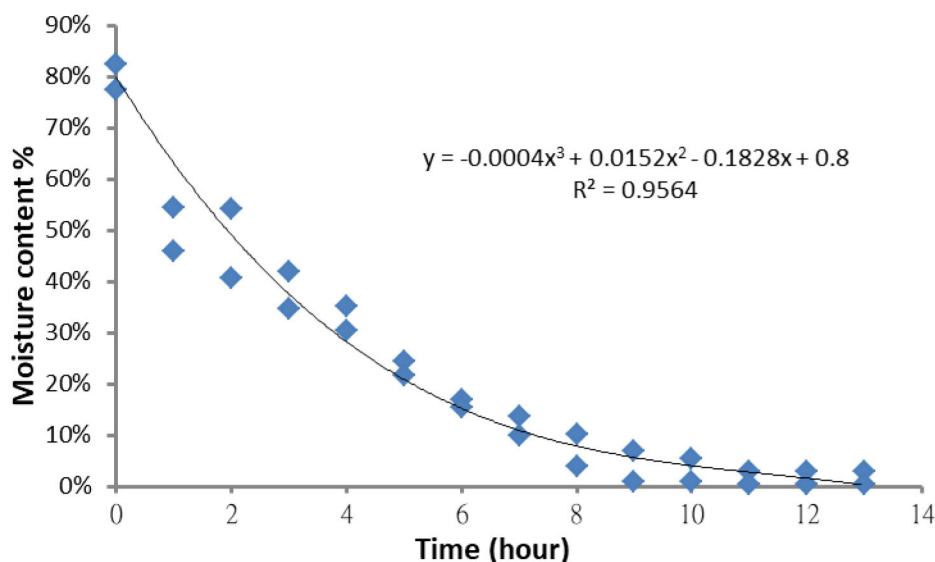


圖 1. 10 cm 厚苜蓿草層於 50°C 烘箱下的乾燥曲線。

Fig. 1. The drying curve of 10 cm thick alfalfa straw placed in an oven at 50°C .

II. 乾燥系統設計及建置

考慮牧草收穫時的高含水率及膨鬆體積，以及避免因乾燥時間過長及不均勻的不良影響，本系統以薄層乾燥模式進行設計。乾燥系統採熱風靜置式，牧草批次進料後靜置於乾燥室內，以乾燥室聚集太陽光輻射產生的熱能進行連續乾燥，直到牧草含水率低於安全保存範圍。為提高作業效能，系統設計包含乾燥室外之進、出料輸送設備、室內層架及層網翻轉系統（提高進、出料便利性），可半自動進行牧草之進料、出料及乾燥（圖 2）。作業時可依當時太陽聚熱情形設定送風循環時間，提高乾燥效能。為減少乾燥系統的碳排放，本系統之電力來自太陽能光電板及風力發電。本系統各部分之功能獨立，可簡化應用於不同產品時需求之調整與修改，利於推廣使用。

建置完成之乾燥室占地面積 200 m²，前門配合輸送機設計門寬，做為人員、物料及維修用出入口，乾燥室後方設置送風風扇。系統操作電力為 220 V 三相，各層輸送設備配置原動力 1/2 馬力之 50：1 減速機及設置限制開關控制相對位置，輸送設備可運作入料、乾燥、翻轉、出料等過程動作。完成之乾燥室批次作業量為 1,000 – 1,200 kg 之鮮草，視牧草種類及收穫時條件而異。



圖 2. 乾燥室外觀（左），右上為輸送系統（操作電力為 220 V 三相，各層輸送設備配置原動力 1/2 馬力之 50：1 減速機及設置限制開關控制相對位置），右下為風扇。

Fig. 2. The appearance of the drying room (left), the upper right is the conveying system (the operating power is 220 V three-phase, the conveying equipment on each floor is equipped with a 50:1 reducer with a driving force of 1/2 horsepower and the relative position is controlled by a switch), and the lower right is the fan.

III. 乾燥室之溫、濕度變化調查

乾燥室架構完成後於室外及室內不同位置進行溫、濕度測定，做為乾燥室調整參數與加強烘乾效率之依據。圖 3 為室內及室外連續 7 天的監測結果，圖 4 為室內不同高度在日間 12 小時的變化。圖 3 及圖 4 結果顯示乾燥室內的溫度與相對濕度變動幅度大於大氣環境。測量期間室外的溫度變化介於 17 – 37℃，平均溫度為 24℃，相對濕度介於 41 – 95%，平均相對濕度為 78%，日照時數介於 0.6 – 9 h。夜間，乾燥室內溫度與相對濕度的變化趨勢與室外一致，且差距不大；日間，室內較室外有極明顯的溫度上升及濕度降低的現象，溫度與濕度二者變化趨勢相反，溫度由日出後開始漸漸升溫，大約在上午 9 點左右溫度快速上升，至中午左右達日最高溫（介於 58 – 73℃，除一天外，均在 60℃ 以上）及最低相對濕度（介於 9 – 22%），之後溫度下降，相對濕度上升，至下午 5 點之後變動幅度減緩，夜間溫度接近大氣溫度而相對濕度可高達 90%。基本上，每日間的變化情形大致相似（圖 3），而其變動幅度與每日的日輻射變化相應，因當時的日照條件而改變。

除時間的變動外，圖 4 顯示，室內不同高度的溫度不同，愈接近頂部溫度愈高。一般晴天下，由上午 9 時至下午 3 時之間，乾燥室內環境可維持在相對穩定的高溫、低濕條件（溫度為 50℃ 上下、相對濕度為 20% 左右），是理想的乾燥時段。烘箱的試驗結果顯示維持 50℃ 的條件下，苜蓿的含水率可以在 6 – 7 小時內完成乾

燥，然而由實測期間資料了解，每日的較適乾燥時間是變動的(圖3的結果介於3.5—6小時)，如果考慮位置的影響則變動更大，因此利用乾燥室進行乾燥所需的時間會隨實際的天候狀況而改變。

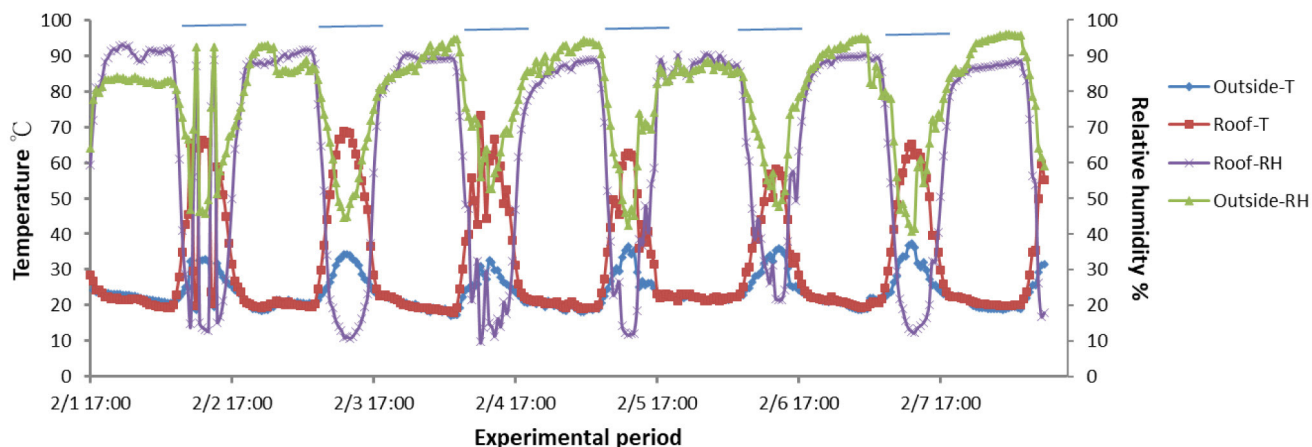


圖 3. 乾燥室內外溫濕度變化(7天)。T = 溫度(°C)、RH = 相對濕度(%)。圖中線段表示日間時間。

Fig. 3. The changes of temperature and relative humidity at outside and roof of the solar dryer during 7 days of experimental period. T = temperature (°C), RH = relative humidity (%), the line segment in the figure represents the day time.

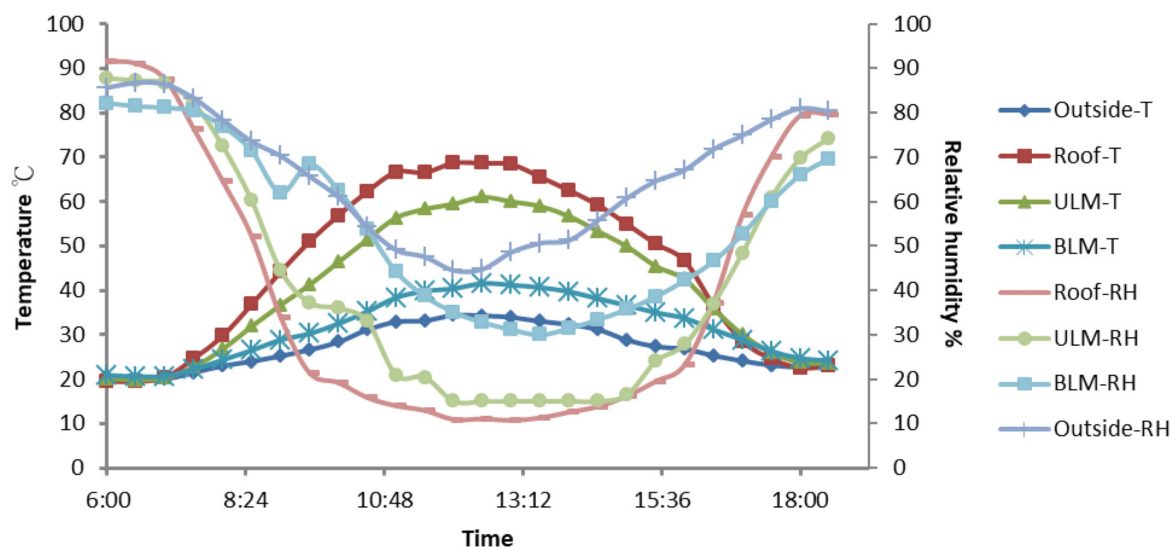


圖 4. 乾燥室不同位置之溫濕度變化(12小時—白天)。T = 溫度(°C)、RH = 相對濕度(%)。

Fig. 4. The changes of temperature and relative humidity at different locations of the solar dryer observed in 12 hours at day time. T = temperature (°C), RH = relative humidity (%), ULM: upper layer in middle section of dryer, BLM: bottom layer in middle section of dryer.

IV. 乾燥測試與效率比較

乾燥室的乾燥作業是依靠室內的高溫、低濕環境來促使牧草內的水分排出，如前所述，乾燥室內不同空間位置的溫、濕度條件是不均勻的(圖4)，由牧草乾操作業實測的結果也顯示不同空間位置的乾燥速率也是不均勻的，然而乾燥的均勻度會影響批次乾燥的時間，必須在最低效率處完成乾燥才可視為整批乾燥完成。

為改善乾燥效率與均勻度，本乾燥室設計於乾燥室後端裝設送風系統，引導熱空氣循環及排濕，並進行啟動與不啟動送風系統的乾燥效率比較。圖5為不送風與送風狀況下，上層架苜蓿在前、中、後段的含水率變化，不送風組的前段水分散失快而後段慢，區段間乾燥速率的差異較大；而送風的狀況下，中、後段的乾燥效率提高，區段的差異明顯降低，減少乾燥度不一的問題。

表1為統整四批次苜蓿乾燥調查之乾燥速率參數，取樣點組成為上、中、下層之前、中、後段共9個位置。不送風的情況下，乾燥室內各位置的差異大，二批次的乾燥速度變異範圍分別為1.4—5.4%/h與3.5—7.7%/h，平均乾燥率分別為2.9%/h與5.7%/h，變異係數為46.2%與25.5%；而送風的情形下，由變異範圍收窄

到 5.2 – 7.0%/h 與 5.5 – 6.7%/h，平均乾燥率均為 6.1%/h，變異係數為 14.0% 及 9.8%，顯示送風系統啟動後乾燥速率提升，而各位置間的變異性顯著降低，顯示送風系統對太陽熱能乾燥室均勻度與效率提升的重要性。

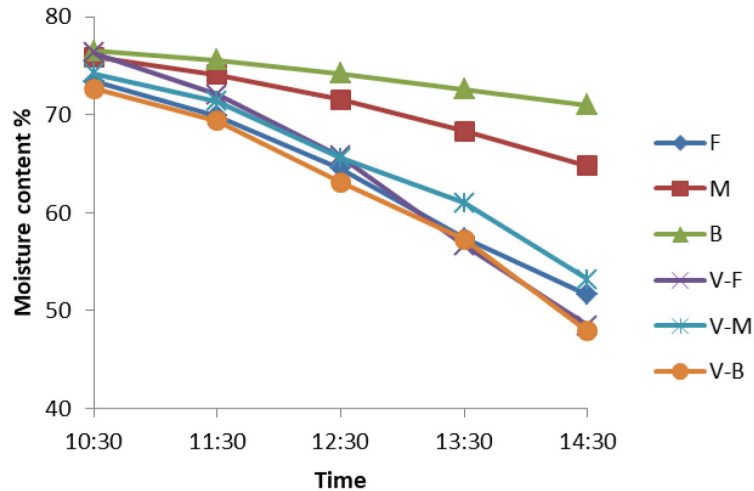


圖 5. 苜蓿在不通風與通風下的含水率變化。F 上層前段；M 上層中段；B 上層後段。V-F、V-M 及 V-B 為通風下前段、中段及後段。

Fig. 5. The changes of moisture contents of alfalfa under ventilated and non-ventilated conditions. F = front section of top layer, M = middle section of top layer, B = back section of top layer; V-F, V-M, V-B = front, middle and back section of top layer under ventilated condition.

表 1. 不通風與通風下苜蓿於乾燥室之乾燥速率平均值與變異性

Table 1. The means and variations of drying rates for alfalfa dried in the solar dryer under non-ventilated or ventilated condition

	Sample no.	----- %/h -----				Coefficient of variation %
		Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation	
Non-ventilation-1	9	1.4	5.4	2.9	1.4	46.2
Non-ventilation-2	9	3.5	7.7	5.7	1.4	25.5
Ventilation-1	9	5.2	7.0	6.1	0.9	14.0
Ventilation-2	9	5.5	6.7	6.1	0.6	9.8

太陽熱能幾乎可以視之為不竭的能源，在今日全球倡議節能減碳的此時，重新考量其應用性具有相當重要的意義。Belessiotis and Delyannis (2011) 與 VijayaVenkataRaman *et al.* (2012) 回顧太陽乾燥設施的發展並討論其應用性，表示利用溫室聚集太陽熱能是一種相當節能的乾燥方式，但效率會受制於設置區域的氣候條件及設計，另方位、通風、貯能等均有影響。以太陽熱能乾燥牧草之前人研究較有限，Arinze *et al.* (1999) 開發可容納 130 個小型方包乾草之太陽能乾燥設施，苜蓿草包含水率由 33% 降至 13% 需 4 天，由 25% 降至 11% 需 3 天，入料之厚薄、密度及水分都影響乾燥效率。本試驗同樣顯示實際的乾燥條件受天氣的影響明顯。實際操作下乾燥完成時間介於 1.5 – 3.5 天。

節能減碳是太陽熱能乾燥的極大優點，但同時也具有易受限於氣候影響的缺點，本研究進行期間即發現晴天的乾燥效率極佳，陰天或雨天時則會延長乾燥時間。氣候因子的影響雖無可避免，但可以利用調整設計為合併太陽熱能與輔助加熱設備來改善 (Jha and Tripathy, 2021)。

結 論

本試驗依前人研究與乾燥原則，開發適用於牧草之散裝薄層較快速乾燥設施。由試驗結果顯示，畜試所開發之牧草乾燥室能有效利用太陽熱能進行牧草乾燥，晴天日照下乾燥室內呈現高溫、低濕環境，可以迅速地降低牧草含水率，乾燥時間為 8 – 12 小時，過程中除風扇電力外，可以完全不需人工能源，是非常節能的設計，此外，乾

燥層架設計為網格狀、可翻轉並搭配輸送機以提高進出料效率。本乾燥室的批次處理量為 1,000 – 1,200 kg 鮮草，如以 1,000 kg 含水率 80% 的鮮草乾燥至 15% 估算，過程中需去除 764 kg 的水分，由經濟部能源局案例資料，熱風乾燥機蒸發每公斤水分的耗能為 1,300 Kcal，每度電的單位熱值為 860 Kcal/度，效率為 0.9，換算有效熱值為 774 Kcal (860×0.9)，因此如果以電熱乾燥將耗電千度以上 ($1,300 \text{ (Kcal/kg)} \times 764 \text{ (kg)} \div 774 \text{ (Kcal/度)} = 1,283 \text{ (度)}$)，相當於排放 786 kg 之二氧化碳當量 (每度電 0.612 kg CO₂e)，而本設施的主要耗能只有風扇，風扇的實測耗電量為 0.66 度/小時，即使連續操作 12 小時，消耗電能僅 7.92 度，相當於排放二氧化碳當量 4.84 kg，兩相比較之下，本設施可以較電熱乾燥節省 99% 的能源消耗與碳排放 ($1 - 7.92/1283 = 99\%$)。此外，本乾燥系統設計包含輸送設備，可以半自動化進行牧草進料、乾燥及出料作業，增加作業效率與方便性，適合於批次 1,000 kg 等較小規模的優質牧草乾燥，可以應用於實驗動物與寵物級的乾草生產。

參考文獻

- 王紓愍、劉信宏、游翠凰、陳嘉昇。2019。不同調製方式國產苜蓿之山羊適口性比較。畜產研究 52：146-152。
- 陳嘉昇、王紓愍。2005。盤固草試管真消化率的變動與預測。畜產研究 38：197-207。
- 陳嘉昇、王紓愍。2012。青割玉米營養成分的變動與相關性探討。畜產研究 45：287-302。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰、李璟好。2018。牧草適口性探討：II. 草種、乾燥度與調製法對山羊適口性的影響。中國畜牧學會會誌 47：197-207。
- 陳嘉昇、黃永芬、游翠凰、王紓愍。2021。芻料燕麥營養成分變動之探討。畜產研究 54：116-125。
- Arinze, E. A., G. J. Schoenau, and S. Sokhansanj. 1999. Design and experimental evaluation of solar dryer for commercial high-quality hay production. *Renew. Energy* 16: 639-642.
- Bal, L. M., S. Satya, and S. N. Nail. 2010. Solar dryer with thermal energy storage systems for drying agricultural food products: A review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14: 2298-2314.
- Belessiotis, V. and E. Delyannis. 2011. Solar drying. *Sol. Energy* 85: 1665-1691.
- Fonnesbeck, P. V., M. M. Garcia De Hernandez, J. M. Kaykay, and M. Y. Saiady. 1986. Estimating yield and nutrient losses due to rainfall on field-drying alfalfa hay. *Anim. Feed Sci. Tech.* 16: 7-15.
- Jha, A. and P. P. Tripathy. 2021. Recent advancements in design, application, and simulation studies of hybrid solar drying technology. *Food Eng. Rev.* 13: 375-410.
- Rees, D. V. H. 1982. A discussion of sources of dry matter loss during the process of haymaking. *J. Agric. Engin. Res.* 27: 469-479.
- Rotz, C. A. and R. E. Muck. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In *Forage quality, evaluation and utilization*. ed. Fahey, Jr. G. C. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA pp. 828-868.
- Sharma, A., C. R. Chen, and N. V. Lan. 2009. Solar-energy drying system: A review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 13: 1185-1210.
- Tiris, C., N. Ozbaita, M. Tiris, and I. Dincer. 1995. Thermal performance of a new solar air heater. *Int. J. Heat Mass Transf.* 22: 411-423.
- VijayaVenkataRamana, S., S. Iniyan, and R. Goic. 2012. A review of solar drying technologies. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16: 2652-2670.

Development of the drying room by solar thermal energy for hay production ⁽¹⁾

Shu-Min Wang ⁽²⁾⁽³⁾ Hsin-Hung Liu ⁽²⁾ Tsui-Huang Yu ⁽²⁾ and Chia-Sheng Chen ⁽²⁾

Received: Aug. 5, 2022; Accepted: Mar. 9, 2023

Abstract

The purpose of this study was to develop an energy-saving drying system for hay production by taking into account the forage quality and the energy efficiency. Solar thermal energy was a rich and green energy and was the major energy used in this drying system to reduce fossil energy and electricity consumption. From the result of drying simulation by laboratory oven, it showed that the moisture content of fresh alfalfa thatch with 10 centimeter thickness could be reduced to a safe storage standard level with moisture content 15% after 8 hours drying at 50°C in the solar dryer. The prototype drying system was designed to include forage loading, drying and unloading systems, and could be operated by semi-automatic way. According to the records in the drying room, the temperature in the drying room could reach 50°C and the high temperature could last until 4:00 pm, when the outdoor temperature was 28°C at 9:00 am. The relative humidity was below 20% during this period. The design of air circulation and dehumidification devices could improve the uniformity of the indoor environment and increase hay drying efficiency. The average drying rate of alfalfa during the day could reach 6.1%/h. Compared with electric drying, the drying room could save 99% of energy consumption and reduce carbon emission. It was suggested that the solar dryer might have used solar thermal energy with high potential applied in producing high quality hay for pets and experimental animals.

Key words: Hay, Low-carbon energy, Solar drying.

(1) Contribution No. 2737 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

馴化黑天鵝生長、繁殖及人工孵化之調查⁽¹⁾

蕭智彰⁽²⁾⁽³⁾ 練慶儀⁽²⁾

收件日期：111 年 9 月 5 日；接受日期：112 年 3 月 13 日

摘 要

本研究旨在調查馴化黑天鵝(以下簡稱黑天鵝)之生長、繁殖及人工孵化等基礎資料。調查分成二部分：一、利用黑天鵝雛鵝 20 隻(8 公與 12 母)調查舍內飼養之生長性狀；二、利用黑天鵝種鵝 20 隻(10 公與 10 母)，調查其於舍內飼養期間之繁殖性狀。以 41 枚黑天鵝種蛋進行人工孵化，並調查種蛋物理性狀。試驗結果顯示，生長性狀方面，不同性別之黑天鵝於 16 週齡體重有顯著差異，且公黑天鵝之體高較母黑天鵝高($P < 0.05$)。繁殖性狀方面，以自然孵化方式之種蛋受精率與受精蛋孵化率則分別為 45.6% 及 34.4%。人工孵化方面，孵化之溫、濕度分別為前期(1—14 天) 37.5℃、55%，中期(15—28 天) 37.2℃、60% 及後期(29—36 天) 36.6℃、65%，人工孵化種蛋受精率及受精蛋孵化率則分別為 61.1% 及 63.2%，人工孵化之受精蛋孵化率較自然孵化者高($P < 0.05$)。此外經產及初產母黑天鵝之種蛋在長徑、短徑及蛋重均以經產母黑天鵝顯著較初產母黑天鵝高，惟蛋形係數以初產母黑天鵝較高($P < 0.05$)。本調查結果顯示，人工孵化成績較自然孵化成績佳，相關飼養、繁殖技術可作為未來改善人工飼養黑天鵝之參考。

關鍵詞：人工孵化、黑天鵝、生長、繁殖。

緒 言

馴化黑天鵝(*Cygnus artatus*)係指經人工飼養於舍內之黑天鵝(以下簡稱黑天鵝)，其在生物學分類屬雁形目、鴨科的鳥禽，原產地為澳大利亞及紐西蘭。野生黑天鵝壽命約可存活 10 年以上(Black and Rees, 1984)，最高有 33 歲的紀錄(Brown *et al.*, 1992)。野生黑天鵝群落散佈在湖泊、溪流一帶，食物來源以穀物、水草、藻類為主(Mitchell and Wass, 1996)。臺灣尚無野生黑天鵝棲息報告，人工飼養則以桃園大溪後慈湖、臺北市立動物園、國軍退除役官兵輔導委員會武陵農場、某些私立休閒動物園及私人農場數量較多。

一般而言，孵化率和雛禽的品質會受到種蛋品質、種蛋貯存條件與種蛋孵化條件的影響(Reis *et al.*, 1997; Elibol *et al.*, 2002; Elibol and Brake, 2006)。尚等(2016)針對戶外黑天鵝人工飼養管理與四季繁殖提出建議，其黑天鵝蛋之人工孵化溫度為 99.5°F，濕度為 50—70%。而王等(2008)指出，鵝蛋孵化的溫度可分為 4 個階段，分別為 99.8 (第 1—7 天)、99.5 (第 8—25 天)、99.2 (第 26—28 天)、98.8°F (第 29—30 天)，搭配濕度自動控制器控制相對濕度，其相對濕度於 4 個孵化階段分別設定為 65、70、75、80%，可提高鵝蛋的孵化率。

國外天鵝之研究以疣鼻天鵝(*Cygnus olor*)為對象居多，主要聚焦於種群數量動態(Petrie and Francis, 2003)、繁殖行為與對環境生態可能危害性(Włodarczyk and Wojciechowski, 2001; Wood *et al.*, 2014)，然針對舍內飼養之黑天鵝生長、繁殖及人工孵化文獻尚付闕如。本調查之主要目的為舍內飼養之黑天鵝生長、繁殖及人工孵化之調查，透過人工飼養與觀察，並建立人工孵化參數，可作為未來改善舍內人工飼養技術之參考。

材料與方法

I. 試驗動物與飼養管理

調查一係以行政院農業委員會畜產試驗所彰化種畜繁殖場(以下簡稱彰化場)於民國 108 年 9 月至 109 年 2 月

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2738 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所彰化種畜繁殖場。

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

間舍內飼養之黑天鵝雛鵝 20 隻 (8 公與 12 母) 為調查對象, 收集其出生至 16 週齡舍內飼養期間之生長性狀。調查二係以彰化場於民國 108 年 7 月至 110 年 1 月間 (分別為 108 年 7 月至 109 年 2 月、109 年 7 月至 110 年 1 月) 飼養之黑天鵝種鵝 20 隻 (10 公與 10 母) 為調查對象 (年齡為 2 – 10 歲), 收集其舍內飼養期間之繁殖性能, 包括種蛋數、受精率及受精蛋孵化率等, 其中於 109 年及 110 年將同窩種蛋分成自然孵化與人工孵化, 種蛋於孵化前未經過儲存程序, 僅經簡易消毒後進行不同孵化方式比較, 並利用 3 個繁殖週期之初產種蛋 (計 46 枚) 及經產種蛋 (計 58 枚), 進行物理性狀測定。另透過種蛋人工孵化技術, 記錄其孵化參數及結果, 人工孵化係使用 RCOM 孵蛋機 (型號, PRO20, Korea), 該機可自動翻蛋及自動控制溫、濕度。人工孵化之溫、濕度分別為前期 (第 1 – 14 天) 37.5°C、55%, 中期 (第 15 – 28 天) 37.2°C、60% 及後期 (第 29 – 36 天) 36.6°C、65%, 此參數係參考吳 (1996) 及王等 (2008) 之人工孵化參數進行修正。種蛋均於孵化後 10 – 14 天進行照蛋, 剔除無精蛋。人工孵化 15 日後, 種蛋每日涼蛋 1 次, 時間 10 分鐘。黑天鵝均飼養於舍內, 種鵝飼養於泥土地面, 飼養場地之長、寬分別為 9 m × 5 m (共 3 欄, 每欄 1 公與 1 母) 與 4.5 m × 5 m (共 7 欄, 每欄 1 公與 1 母), 設有水池, 水池深度 40 – 60 cm, 並提供乾草讓黑天鵝築巢自然孵化使用。育成鵝亦飼養於泥土地面, 飼養場地之長、寬為 4.5 m × 5 m (共 2 欄, 每欄 10 隻), 亦設有水池, 水池深度同上。鵝鵝飼養於高床地面, 其床面結構體選用不鏽鋼材質, 床面高度 1 m, 周邊及底層以塑膠網或不鏽鋼網鋪蓋 1.1 × 1.1 cm 網目。飼養期間飼料及飲水均任食, 飼糧組成如表 1 所示。本試驗取得實驗動物同意書 (動物實驗申請表暨同意書編號: 畜試彰動字第 10704 號、畜試彰動字第 10804 號、畜試彰動字第 10903 號)。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. The composition of experimental diets

Ingredients	Brooding period	Growing period	Laying period	Resting period
Yellow Corn, ground	29.20	30.00	28.00	22.50
Soybean meal, 44%	27.90	20.00	22.00	7.30
Brown rice	29.20	30.00	28.00	22.50
Wheat bran	—	6.00	0.50	21.00
Rice hull	—	—	7.00	20.00
Alfalfa meal	2.00	7.00	4.00	—
Soybean oil	3.00	—	—	—
Molasses	1.00	4.00	4.00	4.00
Fish meal, 65%	5.00	—	—	—
Calcium carbonate	0.70	0.50	2.00	0.20
Dicalcium phosphate	1.00	1.50	1.50	1.30
Oyster shell	—	—	2.00	—
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline chloride, 50%	0.10	0.10	0.10	0.10
DL-Methionine	0.15	0.15	0.10	0.20
L-Lysine	0.05	0.10	0.10	0.30
Vitamin premix ¹	0.25	0.20	0.25	0.20
Mineral premix ²	0.15	0.15	0.15	0.10
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated value				
Crude protein, %	20.24	15.00	15.06	12.05
ME, kcal/kg	2,914.00	2,557.00	2,501.00	2,204.00

¹ Supplied per kilogram of diet: 10,000 IU vitamin A, 2,000 IU vitamin D₃, 20 IU vitamin E, 1 mg vitamin B₁, 4.8 mg vitamin B₂, 3 mg vitamin B₆, 0.01 mg vitamin B₁₂, 0.2 mg Biotin, 1.5 mg vitamin K₃, 10 mg D-calcium pantothenate, 0.5 mg Folic acid, 25 mg Nicotinic acid.

² Supplied per kilogram of diet: 80 mg Mn (Mn₃O₄), 50 mg Zn (ZnSO₄ · H₂O), 15.0 mg Cu (CuSO₄ · 5H₂O), 80 mg Fe (FeSO₄), 0.85 mg I (KIO₃), 0.25 mg Co (CoCO₃).

II. 調查項目與分析方法

- (i) 生長性狀：測定黑天鵝出生、1、2、4、8、12 及 16 週齡生長性狀，測定方式說明如下：
 1. 體重 (body weight)：活體重量 (kg)。
 2. 體長 (body length)：前胸外緣至尾根部之長度 (cm)。
 3. 體高 (body height)：正常站立時，頭頂至地面高度 (cm)。
 4. 頸長 (neck length)：頭蓋骨下緣至鎖骨緣之長度 (cm)。
- (ii) 繁殖性狀：於每次產蛋週期 (clutch) 結束後 10 日進行照蛋，並調查產蛋週期之平均產蛋數、受精率及受精蛋孵化率等，計算方式如下：
 1. 產蛋週期平均產蛋數 (average egg production of clutches)：繁殖季黑天鵝所生產總蛋數 (枚) / 母黑天鵝產蛋週期數 (次)。
 2. 受精率 (fertilization rate)：受精蛋占親鵝孵化蛋數之百分率 (%)。
 3. 受精蛋孵化率 (hatching rate of fertilized egg)：雛天鵝孵出數占受精蛋數之百分率 (%)。
 4. 蛋重 (egg weight)：每一枚蛋的重量 (g)。
 5. 蛋之長徑與短徑 (egg length and egg width)：蛋之長端距離 (mm) 及蛋之短端距離 (mm)。
 6. 蛋形係數 (egg shape index)：蛋之短徑 / 長徑的比值之百分比。

III. 統計分析

試驗所得資料利用統計分析系統 (SAS, 2004) 進行統計分析，依一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，再以 Tukey's Studentized Range Test 比較處理組間之差異顯著性。

結果與討論

I. 生長性狀

於舍內飼養之黑天鵝出生至 16 週齡體重分析結果如表 2，不同性別之黑天鵝體重於 12 週齡前無顯著差異，惟公黑天鵝 16 週齡體重較母黑天鵝為重 ($P < 0.05$)。蕭等 (2011) 指出，戶外飼養黑天鵝，公母鵝 12 週齡前，體重差異不顯著，至 14 週齡以後，則公黑天鵝體重顯著較母黑天鵝重，顯示黑天鵝於戶外或舍內飼養並不影響生長性狀。戶外飼養之黑天鵝育成率 75 – 80%，死亡大都發生在 10 週齡以前，而 10 週齡時公黑天鵝體重為 2,067 g；母黑天鵝為 1,763 g。本次調查顯示，雛鵝於出生至 1 週齡前生長緩慢，2 週齡後體重逐步增加，到 8 週齡時公黑天鵝體重為 2,290 g；母黑天鵝為 2,063 g，此與孫等 (2013) 調查戶外黑天鵝雛鵝生長發育結果相似。另黑天鵝體型資料列於表 3。黑天鵝體高以公黑天鵝較母黑天鵝高 ($P < 0.05$)，惟體長與頸長於公母鵝間無顯著差異。孫等 (2013) 指出，120 日齡戶外黑天鵝體長約為 96.5 ± 3.2 cm，與本調查結果相似。黑天鵝屬性單形動物 (sexual monomorphism species)，外觀上不易分辨其公母 (林等，2006)，故常難以辨別雌雄，藉由測量身體各部位之形態，由公母鵝間體型之些微差異，用於初步性別鑑定 (吳，1996；趙等，2011；Griffiths *et al.*, 1998)。另王等 (2012) 指出，黑天鵝透過泄殖腔性別識別法鑑定，其準確率可達 95%，然操作人員需經過專業訓練的技術人員才能成功鑑定性別。

表 2. 黑天鵝出生至 16 週齡之體重

Table 2. The comparison of body weight at birth to 16 weeks of age in black swans

Age(wk)	Body weight (g)	
	Cob (n = 8)	Pen (n = 12)
Birth	143.3 ± 18.4	155.4 ± 14.6
1	256.9 ± 53.2	252.4 ± 44.7
2	485.5 ± 50.2	392.4 ± 68.8
4	1,032.0 ± 489.0	984.0 ± 446.0
8	2,290.0 ± 748.0	2,063.0 ± 621.0
12	3,229.0 ± 753.0	2,917.0 ± 520.0
16	4,149.0 ± 695.0 ^a	3,528.0 ± 396.0 ^b

Mean ± SD.

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

表 3. 黑天鵝 16 週齡體長、體高及頸長

Table 3. The comparison of body length, body height and neck length in black swans at 16 weeks of age

Item	Cob (n = 8)	Pen (n = 12)
Body length (cm)	61.4 ± 2.7	59.3 ± 2.6
Body height (cm)	95.3 ± 3.1 ^a	92.0 ± 3.5 ^b
Neck length (cm)	51.5 ± 3.2	49.4 ± 2.3

Mean ± SD.

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

II. 繁殖性狀

(i) 自然孵化

舍內飼養之黑天鵝繁殖季主要在 7 月至翌年 1 月，每季有 1 – 3 個產蛋週期，每週可產蛋 1 – 6 枚、平均產蛋數 5.1 枚；以自然孵化之孵化期約 35 – 38 天，種蛋受精率與受精蛋孵化率分別為 45.6% 和 34.4% (表 4)，此結果與蕭等 (2020) 調查結果相似，其中 9 – 12 月份產蛋數占全年度 70 – 80%。蕭等 (2011) 調查戶外飼養黑天鵝繁殖性狀，種蛋受精率與受精蛋孵化率則分別為 42.3% 及 26.1%，與本研究以舍內飼養之舍內調查結果相似，顯示黑天鵝於戶外或舍內飼養並不影響繁殖性狀。Jaime and Claudio (2021) 指出，黑頸天鵝於戶外自然孵化繁殖成功比例不高，僅 11.1 – 17.3%，其主要因受到環境影響。另有研究指出，在一夫一妻制配對的候鳥中，彼此至少需相處 12 – 24 個月才有較佳的繁殖性狀 (Claire *et al.*, 2017)，且尚等 (2016) 則指出，要提高戶外黑天鵝受精率、雛天鵝數及其育成率是改善黑天鵝繁殖性能的關鍵。孵化期間黑天鵝於理毛時，利用濕潤羽毛提供馴化黑天鵝種蛋濕度，且在孵化後期會將中止蛋踢出巢外，此與廖 (1997) 之調查結果相似。

表 4. 2019 – 2021 年黑天鵝不同孵化方式之比較

Table 4. The comparison of reproductive performances in black swans from 2019 to 2021

Year	Incubation	Total egg number (n)	Fertilization rate (%)	Hatchability (%)
2019.7 – 2020.2	Nature	64	53.7 ± 34.6	34.5 ± 30.6
2019.7 – 2020.2	Artificial	19	47.6 ± 29.5	64.3 ± 47.6
2020.7 – 2021.1	Nature	86	40.7 ± 35.8	34.3 ± 38.1
2020.7 – 2021.1	Artificial	41	70.5 ± 22.1	62.5 ± 30.5
2019.7 – 2021.2	Nature	150	45.6 ± 35.3	34.4 ± 34.9 ^b
2019.7 – 2021.2	Artificial	60	61.1 ± 27.2	63.2 ± 37.0 ^a

Mean ± SD.

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

(ii) 人工孵化

以 19 枚及 41 枚種蛋分別進行 2 年度 (109 年與 110 年) 之人工孵化試驗，孵化之溫、濕度分別為前期 (1 – 14 天) 37.5℃、55%，中期 (15 – 28 天) 37.2℃、60%，後期 (29 – 36 天) 36.6℃、65%，109 年及 110 年種蛋受精率與受精蛋孵化率分別為 47.6%、64.3% 和 70.5% 和 62.5% (表 4)。種蛋受精率介於 0 – 100% (部分馴化黑天鵝為初次生產)，受精蛋孵化率亦介於 0 – 100%。由 109 年與 110 年利用人工孵化與自然孵化之比較 (表 4)，人工孵化種蛋受精率及受精蛋孵化率則分別為 61.1% 及 63.2%，人工孵化之受精蛋孵化率較自然孵化者高 ($P < 0.05$)，顯示黑天鵝種蛋人工孵化可行性。趙等 (2011) 指出，黑天鵝種蛋孵化之溫、濕度分別為前期 (1 – 10 天) 38.5℃、55%，中期 (11 – 20 天) 37.8℃、60%，後期 (21 – 32 天) 37.8℃、65%，入發生機時則為 (33 – 36 天) 37℃、75%，其受精蛋孵化率可達 50% 以上，與本試驗結果相似。另黑天鵝種蛋於孵化 8 – 9 天後，整窩蛋以人工孵化，可有效提高孵化率並刺激黑天鵝種鵝產蛋量，其主要因是未自然孵化而持續生產。另中國深圳市野生動物園趙及趙 (2000) 亦指出，黑天鵝種蛋人工孵化之溫度為 97.7 °F，第 0 – 33 天，濕度為 55 – 65%，第 34 天 – 出殼，其濕度 65 – 70%。採自然孵化者 12 日以上受精蛋結合人工孵化，可以有效提高戶外黑天鵝的產蛋數和出雛數。而孵化中後期濕度增加，可使破殼機率增加，顯示濕度扮演重要角色，可呼應本調查前段結果。另人工孵化期間，每日涼蛋 10 分鐘，對黑天鵝種

蛋人工孵化有必要性。Salamon (2020) 指出，鵝蛋於孵化期間，因胚胎發育及其新陳代謝產生熱量，因此蛋的溫度持續高於孵化器內的溫度，適當涼蛋時間，有助於提升受精蛋孵化率。

(iii) 黑天鵝種蛋物理性狀

不同產次黑天鵝種蛋之比較如表 5 所示。由表中可以看出，經產之種蛋的長徑、短徑及蛋重均有顯著較初產者高 ($P < 0.05$)，而蛋形係數則以初產種蛋較高 ($P < 0.05$)，顯示經產種蛋較初產大且蛋形較長。馮及許 (1999) 指出，蛋形係數會影響孵化率，鴛鳥的蛋形係數在 0.79 – 0.83 間，以 0.82 有較佳孵化率，而雞蛋的蛋形係數為 0.72 時有較佳的孵化率 (林等, 2019)。本調查中黑天鵝的蛋形係數在 0.63 – 0.65 間，與吳 (1996) 及趙等 (2011) 研究結果相似。

表 5. 不同產次黑天鵝種蛋物理性狀之比較

Table 5. The comparison of egg physical characteristics at different laying periods in black swans

Item	First laying period (n = 46)	Second laying period (n = 5)
Egg weight (g)	223.9 ± 0.5 ^b	267.3 ± 2.2 ^a
Egg length (mm)	99.9 ± 1.2 ^b	109.9 ± 0.7 ^a
Egg width (mm)	65.1 ± 0.8 ^b	69.8 ± 0.5 ^a
Egg shape index	0.65 ± 0.1 ^a	0.63 ± 0.2 ^b

Mean ± SD.

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

結 論

本調查結果顯示，舍內飼養黑天鵝之生長及繁殖性狀與舍外飼養之結果相似，且人工孵化結果較自然孵化者佳，相關飼養、繁殖技術可作為未來改善人工飼養黑天鵝之參考。

誌 謝

本調查承蒙行政院農業委員會科技計畫 (109 農科 -2.5.1- 畜 -L1) 經費支持，感謝陳長貴先生、詹志立先生、張琦彰先生及現場工作人員的協助，使調查工作如期完成，特此致謝。

參考文獻

- 王佩華、許欣安、林恩仲、袁孝維、丁詩同。2012。鳥類性別辨識方法之探討。中畜會誌 41：15-32。
- 王錦盟、李舜榮、吳國欽、賈玉祥。2008。不同濕度控制法對種鵝蛋孵化率之影響。畜產研究 41：145-151。
- 尚昱樸、張春旺、劉雪晴、劉冰許、郭凌。2016。黑天鵝飼養管理與四季繁殖。河南林業科技 36：18-21。
- 林德育、劉瑞珍、陳若菁、吳國欽、張秀鑾、吳明哲。2006。澳洲黑天鵝性別鑑定遺傳標記。畜產研究 39：281-288。
- 林正鏞、郭曉芸、張以恆。2019。產蛋期代謝能餵飼量對籠飼褐殼蛋雞產蛋性能及雞蛋品質之影響。畜產研究 52：182-190。
- 吳國欽。1996。天鵝繁殖性能調查。第四屆野生動物及動物園經營管理實務論文集，臺北市，pp. 204-209。
- 孫傳東、趙芳菊、高志瑾、拱萬里、田秀華。2013。黑天鵝雛鳥生長發育研究。野生動物 34：215-218。
- 馮誠萬、許振忠。1999。鴛鳥種蛋物理性狀與孵化率關係之研究。中畜會誌 28 (增刊)：68。
- 廖炎發。1997。黑天鵝飼養與繁殖的初步研究。鳥禽天地 25：37-41。
- 趙芳菊、拱萬里、田秀華。2011。黑天鵝人工繁育研究。野生動物 32：324-328。
- 趙春喜、趙云華。2000。黑天鵝的人工孵化。廣東畜牧獸醫科學 25：40-41。
- 蕭智彰、賈玉祥、陳盈豪。2011。臺灣人工飼養澳洲黑天鵝生長與繁殖性能之觀察。中畜會誌 40 (增刊)：79。
- 蕭智彰、王勝德、練慶儀。2020。人工飼養黑天鵝繁殖與行為調查。畜產研究 53：25-30。

- Black, J. M. and E. C. Rees. 1984. The structure and behavior of the whooper swan population wintering at Caerlaverock, Dumfries and Galloway, Scotland: An introductory study. *Wildfowl* 35: 21-36.
- Brown, M. J., E. Linton, and E. C. Rees. 1992. Cause of mortality among wild swans in Britain. *Wildfowl* 43: 70-79.
- Claire, S. T., J. C. Sarah, and M. Thomas. 2017. Birds choose long-term partners years before breeding. *Anim. Behav.* 134: 147-154.
- Elibol, O. and J. Brake. 2006. Effect of flock age, cessation of egg turning, and turning frequency through the second week of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 85: 1498-1501.
- Elibol, O., S. D. Peak, and J. Brake. 2002. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 81: 945-950.
- Griffiths, R., M. C. Double, K. Orr, and R. J. Dawson. 1998. A DNA test to sex most birds. *Mol. Ecol.* 7: 1071-1075.
- Jaime, R. R. and T. Claudio. 2021. Reproductive ecology of the Black-necked Swan *Cygnus melancoryphus* in a marine wetland of southern Chile. *Marine Ornithology* 49: 205-209.
- Mitchell, S. F. and R. T. Wass. 1996. Grazing by black swans (*Cygnus atratus* Latham), physical factors, and the growth and loss of aquatic vegetation in a shallow lake. *Aquat. Bot.* 55: 205-215.
- Petrie, S. A. and C. M. Francis. 2003. Rapid increase in the Lower Great Lakes population of feral mute swans: a review and a recommendation. *Wildl. Soc. Bull.* 31: 407-416.
- Reis, L. H., L. T. Gama, and M. C. Soares. 1997. Effects of short storage conditions and broiler breeder age on hatchability, hatching time, and chick weights. *Poult. Sci.* 76: 1459-1466.
- Salamon, A. 2020. Fertility and hatchability in goose eggs: a review. *Int. J. Poult. Sci.* 19: 51-65.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT Guide for Personal Computers. Version 9.1. SAS Inst. Cary, NC.
- Włodarczyk, R. and Z. Wojciechowski. 2001. The breeding ecology of the mute swan (*Cygnus olor*) in central Poland. *Wildfowl*. 52: 157-168.
- Wood, K. A., R. A. Stillman, F. Daunt, and, M. T. O. Hare. 2014. Chalk streams and grazing mute swans. *Brit. Wildl.* 25: 171-176.

Investigation on growth, reproduction and artificial hatching in domestic black swans ⁽¹⁾

Chih-Chang Hsiao ⁽²⁾⁽³⁾ and Ching-Yi Lien ⁽²⁾

Received: Sep. 5, 2022; Accepted: Mar. 13, 2023

Abstract

The aim of the current study was to investigate the growth, reproduction and artificial hatching in domestic black swans. The investigation combined two parts: I. An investigation of the growth performances for 20 cygnets (8 cobs and 12 pens) in house feeding. II. The twenty breeders black swans (10 cobs and 10 pens) were used to investigate the reproductive performances during in-house rearing period. The 41 hatching eggs with artificial incubation were used to invest in physical characteristics. The results showed that the body weight at 16 weeks of age differed significantly in sexes, whereas the cobs were taller than the pens ($P < 0.05$). The average fertilization rate and the hatching rate of fertilized eggs were 45.6% and 34.4%, respectively. In artificial incubation, optimum temperature and humidity were 37.5°C and 55% in early phase (1-14 d), 37.5°C and 60% in metaphase (15-28 d) and 36.6°C and 65% in late phase (29-36 d). The fertilization and hatching rate of fertilized eggs were 61.1% and 63.2%, respectively. The hatching rates of fertilized eggs were taller than the natural incubation ($P < 0.05$). The length, width and weight of eggs were significantly longer and heavier in the second laying period compared with the first laying period. However, the egg shape index was significantly higher in the first laying period ($P < 0.05$). The results of artificial incubation were better than those of natural hatching. Our funding could be the reference for improving the artificial feeding technology.

Key words: Artificial incubation, Black swan, Growth, Reproduction.

(1) Contribution No. 2738 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Changhua Animal Propagation Station, COA-LRI, Changhua 52149, Taiwan, R. O. C.

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

添加抗生素對肉雞腸道免疫之影響⁽¹⁾

洪靖崎⁽²⁾ 陳保基⁽³⁾ 陳靜宜⁽³⁾ 朱盈安⁽³⁾ 黃懿儂⁽³⁾ 許晉賓⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：111 年 8 月 18 日；接受日期：112 年 3 月 9 日

摘 要

本試驗探討飼糧中添加不同抗生素對肉雞腸道免疫能力之影響。使用 192 隻 1 日齡愛拔益加肉雞，隨機分為對照組 (control)、枯草菌素 (bacitracin) 55 ppm、六肽黴素 (nisiheptide) 2.5 ppm 及羥四環黴素 (oxytetracycline, OTC) 55 ppm 共四組。於 3 週與 6 週時，進行腸道免疫之測定。結果顯示在腸道免疫功能上，利用西方點墨方法發現，3 週齡雞隻迴腸的溶菌酶含量在六肽黴素組中較對照組為低 ($P < 0.05$)，枯草菌素及羥四環黴素處理組則與對照組無顯著差異。添加三種抗生素對雞隻迴腸中 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體 ($\gamma\delta$ T cell receptor) 的含量及脾臟淋巴球增生反應無顯著影響。添加六肽黴素組於 6 週齡時，顯著減少血液中 IgA 含量 ($P < 0.05$)，對枯草菌素及羥四環黴素則無顯著影響。添加三種抗生素對 3 與 6 週齡雞隻血液中 IgG 與 IgM 與對照組相比無顯著影響。綜上所述，不同的抗生素對於免疫調控模式可能不一致，雞隻飼糧添加六肽黴素可能通過改變溶菌酶及 IgA 來調節雞隻的免疫反應，因飼糧中可添加抗生素種類業已限縮，應積極開發具類似抑菌功能之飼料添加物以替代抗生素。

關鍵詞：抗生素、肉雞、腸道免疫、T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體。

緒 言

抗生素於家畜禽產業用於治療疾病、促進生長及降低死亡率。然而，抗生素殘留或抗生素耐藥病原體可能是由於在飼料中使用抗生素生長促進劑 (antibiotic growth promoters, AGPs) 造成的。歐盟已禁止使用抗生素促進生長 (EC, 2003)，進而促使業者積極尋找替代抗生素的飼料添加物，因此，如果要減少家禽生產中對抗生素的依賴，就必須瞭解抗生素對雞隻的作用機制，以作為抗生素替代物質研發之參考。

抗生素抑制亞臨床感染並減少炎症，進而降低免疫系統的代謝成本 (Niewold, 2007; Buret, 2010)。目前仍然未能完全瞭解飼料添加抗生素之作用機制，但推測與雞隻免疫反應有關，Al-Ankari and Homeida (1996) 指出添加 50 ppm 羥四環黴素 (oxytetracycline)，降低華氏囊及胸腺重，抑制血漿中溶菌酶的活性，並減少血液、脾臟中的白血球及 IL-2-dependent T cell blasts 數目，產生免疫抑制之效果。Nikolov *et al.* (1966b) 指出了氯四環素 (chlortetracycline)、羥四環黴素、四環素 (tetracycline) 抑制脾細胞中的抗體形成 (Gottlieb and Shaw, 1967)。Baba *et al.* (1998a, b) 則指出餵飼 140 ppm 泰黴素 (tylosin) 於 4 週齡來航蛋雞，顯著促進脾臟淋巴細胞增生，增加綿羊紅血球及 brucella abortus 的抗體力價，同時也會增加抗體生成細胞的數目，對免疫能力有促進之效果，但其添加劑量遠超過促進生長用之劑量。

促進生長用之抗生素，大多添加於飼料中口服或飲水，對腸道黏膜免疫可能具有直接的影響。因此，本研究選擇了家禽養殖使用之三種抗生素。枯草菌素、六肽黴素及羥四環黴素具有不同的抗菌圖譜，它們通常用於治療呼吸道、腸道細菌性下痢及促進生長，並促進家畜禽業的發展 (Diarra and Malouin, 2014)。評估雞隻飼糧中添加生長促進用之劑量，探討對腸道免疫、體液性免疫及細胞性免疫的影響。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2739 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 國立臺灣大學動物科學技術系。

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

材料與方法

I. 試驗動物與飼養管理

自商業孵化場購入日齡白肉雞 192 隻，逢機分為四組，分別為對照組 (control, CON)、枯草菌素 (bacitracin) 添加組 (55 ppm)、六肽黴素 (nisiheptide, NHT) 添加組 (2.5 ppm) 與羥四環黴素 (oxytetracycline, OTC) 添加組 (55 ppm) 等處理組，公母混飼，每處理組 4 重複，每重複 12 隻，試驗為期六週，試驗期間飲水與飼料皆任飼，飼糧組成如表 1。所有實驗動物程序均經國立臺灣大學實驗動物管理與使用委員會批准，並符合 96 年含藥物飼料添加物使用規範。

表 1. 飼料組成分

Table 1. Composition of basal diets

Ingredients	0 – 3 wk	3 – 6 wk
	----- % -----	
	48.70	57.30
Soybean meal, 44%	34.88	29.64
Fish meal, 65%	5.00	2.80
Soybean oil	7.65	6.40
Dicalcium phosphate	1.10	1.38
Calcium carbonate	1.30	1.31
DL-methionine	0.30	0.32
Choline-chloride, 50%	0.07	0.05
Vitamin premix ^a	0.30	0.30
Mineral premix ^b	0.20	0.20
Salt	0.50	0.30
Total	100	100
Calculated analysis		
Crude protein, %	23.00	20.05
ME, kcal/kg	3,202	3,205
Calcium, %	1.03	1.00
Available phosphorus, %	0.46	0.45

^a Vitamin premix supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 12,000 IU; Vitamin D₃, 3,125 ICU; Vitamin E, 37.5 IU; Vitamin K₃, 6.25 mg; Vitamin B₁, 3.75 mg; Vitamin B₂, 12.5 mg; Vitamin B₆, 10.0 mg; Ca-pantothenate, 18.8 mg; Niacin, 50 mg; Biotin, 0.06 mg; Folic acid, 1.25 mg; Vitamin B₁₂, 0.05 mg.

^b Mineral premix supplied per kilogram of diet: Cu (CuSO₄ · 5H₂O, 25.45% Cu), 6 mg; Fe (FeSO₄ · 7H₂O, 20.09% Fe), 50 mg; Mn (MnSO₄ · H₂O, 32.49% Mn), 40 mg; Zn (ZnO, 80.35% Zn), 60 mg; Se (NaSeO₃, 45.56% Se), 0.075 mg.

II. 樣品收集

試驗進行分別於第 21 天和第 42 天，每個處理組隨機選擇 8 隻雞進行安樂死。用無菌剪刀取出脾臟進行淋巴細胞增殖分析。於第 21 天取雞隻遠端迴腸 (迴盲腸交界處往迴腸方向 3 公分處取樣 3 公分之迴腸) 進行 T 細胞受體 $\gamma\delta$ (T cell receptor $\gamma\delta$, TCR $\gamma\delta$) 和溶菌酶 (lysozyme) 測定。在第 21 天和第 42 天每個處理組隨機選擇 8 隻雞，收集血液至到肝素化的真空採血管 (Becton Dickinson, Rutherford, NJ) 中，並在 4°C 下以 3,000 × g 離心 10 分鐘。血液樣品儲存在 -80°C 直到免疫球蛋白及淋巴球增生分析。

III. 測定項目及方法

(i) 腸道上皮內 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體 ($\gamma\delta$ T cell receptor, TCR $\gamma\delta$) 及溶菌酶分析

依據 Kirsch *et al.* (2000) 方法，於第 21 天取雞隻迴腸末端，縱向剪開腸道後，洗去管腔中的食糜，置於 1.5 mL 離心管中，放入液態氮中急速冷凍，置於 -80°C 儲存，以西方點墨法分析迴腸上皮內淋巴細胞 T $\gamma\delta$ 受器和溶菌酶含量。

1. SDS- 聚丙烯胺凝膠電泳法 (SDS-polyacrylamide slab gel electrophoresis)

利用 SDS- 聚丙烯胺凝膠電泳法進行腸道上皮內 TCR $\gamma\delta$ 淋巴細胞受器及溶菌酶。先製備下層凝膠，依序加入 2.4 mL 二次水、2.5 mL 1.5M Tris pH 8.8、5 mL 29% acrylamide-bis-acrylamide、0.1 mL 10% 十二烷基硫酸鈉 (Sodium dodecyl sulfate, SDS)、0.05 mL 10% 過硫酸銨 (ammonium persulfate, sigma)、5 μ L 四甲基乙二胺混合均勻後，緩緩加入 1.0 mm 厚度的 Bio-Rad (USA) 直立式電泳膠臺座中，加到約距膠臺頂端 2 公分處，緩慢加入水以壓平下膠，於靜置約 30 分鐘後，開始製備 4% 層凝膠，依序加入 6.1 mL 二次水、2.5 mL 0.5 M Tris pH 6.8、1.3 mL 29% acrylamide-bis acrylamide、0.1 mL 10% SDS、10 μ L 四甲基乙二胺混合均勻後，緩緩加入已插入 1.0 mm 厚度的梳狀版，靜置約 30 分鐘後待凝固小心取出梳狀膠片，之後將樣品蛋白溶液定量為 5 mg/mL 後，以 95°C 加熱 5 分鐘，再立即放入冰上冷卻，避免蛋白結構再度恢復。再取 1:1 的蛋白質樣品比電泳指示劑 (loading dye) 混合後，每個 well 加入濃度為 37.5 μ g/mL 之樣品，以 65 伏特電壓分析電泳 30 分鐘使樣品集聚於上下膠之交界處，再改以 100 伏特分析電泳 1 小時。

2. SDS-PAGE 的轉漬及抗體偵測

準備聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜，用甲醇浸潤一下約 15 秒，再改以二次水清洗 10 分鐘。將分析完畢的電泳片小心取下，同時在電泳片的上下各平鋪上 2 張的 3M 濾紙，一起浸泡在緩衝液中約 1 分鐘，利用濕式轉漬器 (Transfer, Bio-Rad, USA) 以 100 mV 的條件下進行 60 分鐘，使膠上的蛋白質由負極往正極的方向轉移到 PVDF 膜。將轉漬完成的 PVDF 膜浸泡在含有 5% 脫脂奶粉的 1X Tris 緩衝鹽水 (Tris-buffered saline, TBS) 中，於室溫下搖晃 1 小時，進行 blocking 1 小時，加入一級抗體 TCR $\gamma\delta$ (mouse monoclonal antibody, Santa Cruz, USA) 或 Rabbit polyclonal to lysozyme (abcam, UK)，於 4°C 下 60 rpm 搖晃一個晚上，次日取出轉漬膜，以 1X TBS buffer 在室溫下清洗 4 次，分別為 15 分鐘一次及 5 分鐘 3 次。再加入二級抗體 anti-mouse IgG-HRP (sigma) 或 anti-rabbit IgG-HRP (Cell signaling, USA)，於室溫下搖晃一小時，重覆清洗步驟後。加入呈色劑將催化 HRP，偵測影像，並使用 Gel Doc MultiImager 軟體 (Bio-Rad, USA) 來偵測條帶密度。

(ii) 脾臟淋巴細胞增生反應

當抗原進入人體，淋巴細胞會與其專一性抗原結合而被活化，產生增殖反應。因此，淋巴細胞的增殖能力，可作為檢視淋巴細胞功能的指標之一；T 淋巴細胞及 B 淋巴細胞可被不同的 mitogens 活化，其中 concanavalin A (Con A)，可刺激 T 淋巴細胞分裂增生，而 lipopolysaccharide (LPS)，可刺激 B 淋巴細胞分裂生長。本試驗依據 Shan *et al.* (2007) 方法進行淋巴細胞增生反應分析。

(iii) 血液免疫球蛋白濃度測定

利用酵素聯結免疫附著套組測定 (ELISA Quantitation Kit; E30-103, E30-102, E30-104)，購自 Bethyl Laboratories Inc. (USA)。依據 Bartell and Batal (2007) 方法進行雞隻血漿中免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM)、免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 及免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 之測定。

IV. 統計分析

實驗所獲得之資料使用 SAS 統計分析軟體 (Statistical Analysis System, Ver. 9.1.3 for Windows, XP) (SAS Institute, 2003)，以一般線性模式 (GLM, General Linear Models Procedure) 進行變方分析，再以鄧肯氏新多變域測定法 (Duncan's new multiple range test)，進行平均值比較，檢測其差異之顯著性。資料皆以平均值 \pm 標準偏差表示。

結果與討論

I. 抗生素對腸道上皮內 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體 (TCR $\gamma\delta$) 及溶菌酶的影響

在腸道免疫功能結果顯示，利用西方點墨方法發現，三組抗生素處理對於迴腸中 TCR $\gamma\delta$ 皆無顯著影響 (圖 1)。三週齡雞隻迴腸的溶菌酶含量在六肽黴素組中顯著較對照組低 ($P < 0.05$)，而枯草菌素及經四環黴素與對照組無顯著影響 (圖 2)。

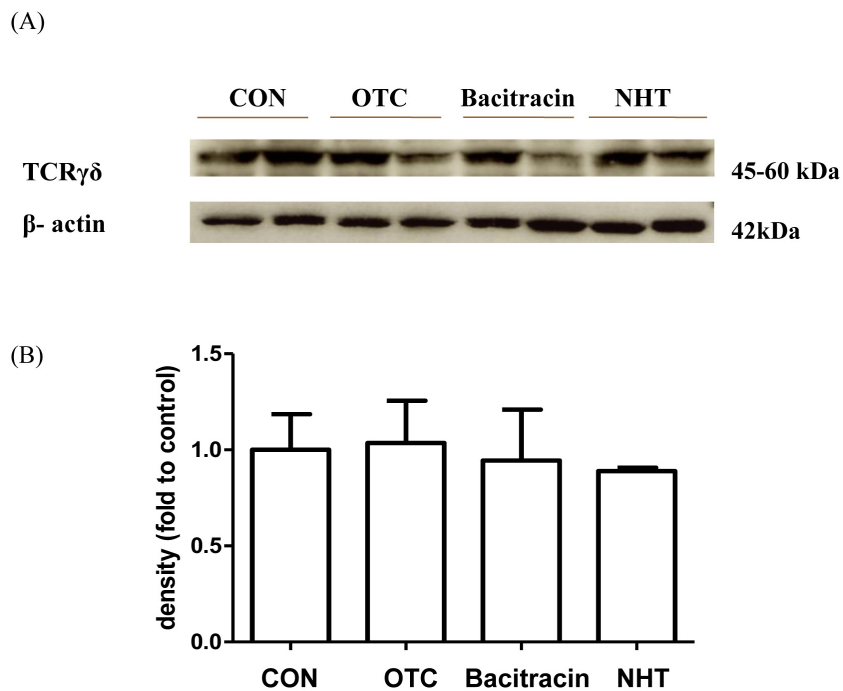


圖 1. 添加抗生素對 3 週齡雞隻迴腸 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 之影響。(A) 西方點墨法分析迴腸上皮內 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體總量 (B) 迴腸內 T 淋巴細胞 $\gamma\delta$ 受體定量分析。(n = 8)。

Fig. 1. Effect of dietary antibiotic supplement on T cell receptor $\gamma\delta$ in ileum of broiler at 3 weeks of age. (A) T cell receptor $\gamma\delta$ level; (B) Densitometry assay of T cell receptor $\gamma\delta$ level. CON, control; OTC, oxytetracycline; NHT, nosiheptide.

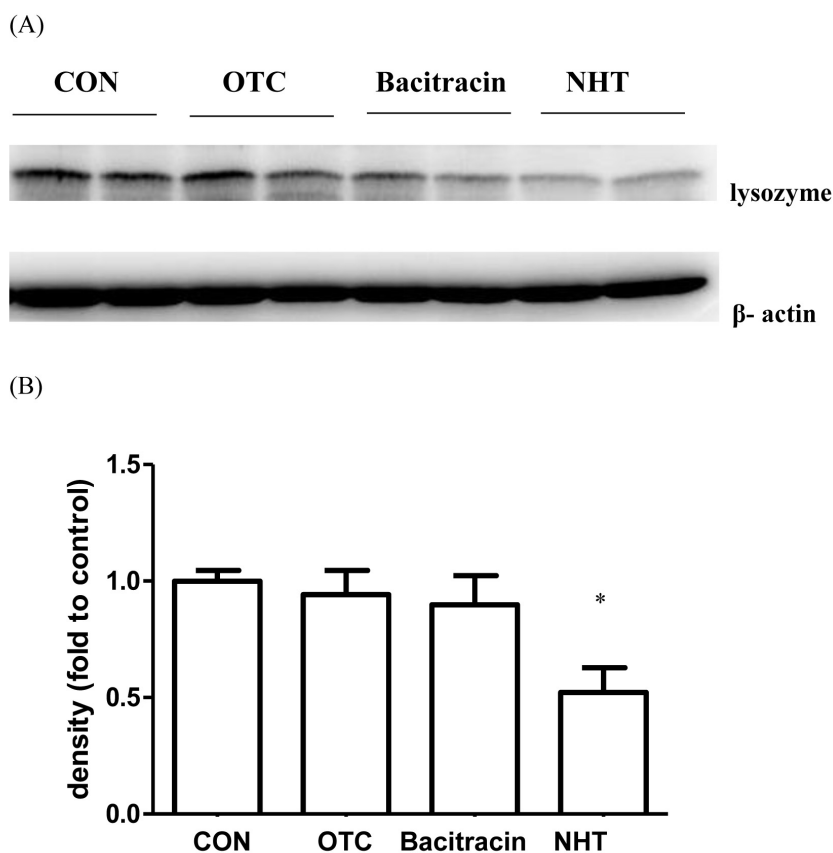


圖 2. 添加抗生素對 3 週齡雞隻迴腸溶菌酶之影響 (A) 西方點墨法分析迴腸溶菌酶含量 (B) 西方點墨法分析迴腸溶菌酶定量分析。(n = 8)。

Fig. 2. Effect of dietary antibiotic supplement on lysozyme in ileum of broiler at 3 weeks of age. (A) antimicrobial lysozyme level; (B) Densitometry assay of antimicrobial lysozyme level. *P < 0.05. CON, control; OTC, oxytetracycline; NHT, nosiheptide.

腸道健康對於家禽和牲畜的生長、整體健康和福利至關重要，而腸道免疫調節在維持腸道健康提供重要的角色 (Ducatelle *et al.*, 2018)。T 細胞表面存在許多標記， $\gamma\delta$ T 細胞 ($\gamma\delta$ T cells) 表面的 T 細胞受體 (T cell receptor, TCR) 是由 γ 鏈和 δ 鏈組成的異二聚體 (TCR $\gamma\delta$)，主要分佈於腸道、呼吸道以及泌尿生殖道等黏膜和皮下組織，是構成腸道黏膜組織上皮內淋巴細胞 (intraepithelial lymphocyte, IEL) 的主要成分之一 (Ma *et al.*, 2021)。產生細胞毒性是 $\gamma\delta$ T 細胞的主要免疫作用 (Oliveras-Villagómez and Van Kaer, 2018)，研究顯示雞隻感染產氣莢膜梭菌、沙門氏菌和艾美球菌， $\gamma\delta$ T 細胞會增加來提升免疫反應 (Choi and Lillehoj, 2000; Sarson *et al.*, 2009; Holt *et al.*, 2010)。抗生素如第二代頭孢子素 (cefotaxime) 或恩氟奎林羧酸 (enrofloxacin) 通過增加盲腸中的 $\gamma\delta$ T 細胞數量來提升免疫調節功能 (Strzēpa *et al.*, 2017)。Lee *et al.* (2012) 指出沙利黴素 (salinomycin) 誘導肉雞腸道和脾臟中 $\gamma\delta$ T 細胞產生白細胞介素 17F (interleukin 17F) 的表達，在啟動炎症反應、調節中性顆粒細胞和單核細胞的擴增與募集中起著重要的作用 (Cua and Tato, 2010; Pantelyushin *et al.*, 2012)。於健康動物，免疫系統所耗費的能量佔基礎代謝能的 1 – 3% (Romanyukha *et al.*, 2006)。Martin *et al.* (2003) 指出免疫活動在代謝上是昂貴的。Demas *et al.* (1997) 指出使用鎖孔帽貝血藍素 (Keyhole Limpet Hemocyanin) 進行免疫挑戰的小鼠，使將靜態代謝率 (Resting Metabolic Rate) 增加了 27%，這表明免疫活化增加了能量需求。抗生素具有抗發炎作用 (Matzneller *et al.*, 2017)，亞治療劑量 (subtherapeutic) 的黏菌 (colistin) 和泰黴素藉由降低仔豬 B 淋巴細胞和 CD4⁺ CD8⁺ T 細胞的百分比，並通過脂多糖 (lipopolysaccharide) 感染上調細胞因子來調節免疫反應 (Er *et al.*, 2010; Mazutti *et al.*, 2016)。本試驗研究顯示 TCR $\gamma\delta$ 的總量在抗生素處理組與對照組間無顯著差異 (圖 1)，顯示三種抗生素添加，不會誘導 $\gamma\delta$ T 細胞大量產生，間接減少後續免疫調控所消耗之代謝成本。

溶菌酶被認為是先天免疫系統的重要防禦分子，能有效地水解細菌細胞壁的肽聚糖 (Ferraboschi *et al.*, 2021)。研究指出四環素 (tetracycline)、氯四環黴素 (chlortetracycline) 和羥四環黴素可以結合溶菌酶裂隙 (cleft) 並與活性位置 (active site) 相互作用，導致溶菌酶活性產生競爭性抑制 (Chi and Liu, 2012)。我們的研究顯示，添加羥四環黴素及枯草菌素對 3 週齡雞隻未影響迴腸溶菌酶活性 (圖 2)，這與 Long *et al.* (2016) 的研究一致，但是在六肽黴素組雞隻迴腸的溶菌酶較對照組顯著降低 (圖 2)，同時我們亦發現六肽黴素處理組對 3 週齡雞隻腸道大腸桿菌有增加之趨勢 (六肽黴素組 $7.06 \pm 0.47 \log \text{ cfu/g}$ vs. 對照組 $6.49 \pm 0.28 \log \text{ cfu/g}$, $P = 0.91$) (未發表)。溶菌酶是 1, 4- β -N-乙酰胞壁質酶 (1, 4- β -N-acetylmuramidase)，可裂解革蘭氏陽性細菌 (gram-positive bacteria) 細胞壁中肽聚糖間的糖苷鍵 (glycosidic) (Arabski *et al.*, 2015)，Huang *et al.* (2018) 指出溶菌酶對革蘭氏陰性菌 (gram-negative bacteria) 細胞壁的破壞不如革蘭氏陽性菌嚴重。推測六肽黴素添加，無法利用溶菌酶來抑制大腸桿菌增生，需要進一步的研究來了解溶菌酶與不同細菌抗菌作用的相關性。

II. 抗生素對脾臟淋巴細胞增生及血液免疫球蛋白的影響

飼糧添加三種抗生素處理不影響 3 及 6 週齡雞隻以 Con A 或以 LPS 刺激脾臟之淋巴細胞之增生反應 (表 2)。添加六肽黴素組於 6 週齡時，顯著減少血液中 IgA 含量，但對枯草菌素及羥四環黴素無顯著影響，添加三種抗生素不影響 3 及 6 週齡雞隻血液中 IgG 及 IgM。

淋巴細胞的增殖能力，可作為檢視淋巴細胞功能的指標之一，飼糧中添加抗生素對血液淋巴球增生之影響如表 2，抗生素處理組對於由 Con A 所刺激 T 淋巴細胞之增生，或由 LPS 所刺激 B 淋巴細胞皆無顯著之影響，表示此三種不同的抗生素對於 B 及 T 淋巴球之增生，無促進或抑制之作用。Al-Ankari and Homeida (1996) 指出添加 50 ppm 羥四環黴素，會減少血液、脾臟中的白血球及 IL-2-dependent T cell blasts 數目，Nikolov *et al.* (1966a) 也指出氯四環黴素、羥四環黴素和四環素都能抑制脾臟細胞的抗體形成，推測雞隻飼糧中羥四環黴素抗生素的添加，似乎會抑制免疫功能。本試驗結果顯示，羥四環黴素添加於肉雞飼料中，並不會影響由 Con A 或 LPS 所刺激之 B 淋巴細胞及 T 淋巴細胞增生。

雞隻的血漿免疫球蛋白水平顯示了對抗各種感染的抗體產生。免疫球蛋白分為 5 類，其中 IgG、IgM 和 IgA 主要代表宿主的體液免疫反應 (Salim *et al.*, 2013)。IgA 是腸黏膜中抵禦病原體的主要保護工具，防止病原菌貼附於腸道上皮細胞，具有中和毒性之作用 (Heller and Duchmann, 2003)，無菌動物的固有層 IgA 陽性細胞和腸道 IgA 水平均顯著降低，證明腸道微生物群在其調節中的作用 (Broom, 2018)。Cebra (1999) 也指出 IgA 是腸道屏障的重要組成部分，腸道微生物群高度影響腸道 IgA 的產生。本試驗添加六肽黴素減少肉雞第 42 天血液 IgA 含量；本研究團隊同時也發現六肽黴素減少迴腸大腸桿菌數量 (六肽黴素 $5.66 \pm 1.62 \log \text{ cfu/g}$ vs. 對照組 $6.34 \pm 0.78 \log \text{ cfu/g}$)，但枯草菌素及羥四環黴素添加則無顯著差異 (洪等, 2007)，顯示六肽黴素的添加減少腸道大腸桿菌可能與 IgA 下調有關。

表 2. 飼糧中添加抗生素對脾臟淋巴細胞增生之影響 (n = 8)

Table 2. Effect of dietary antibiotic supplement on lymphocyte proliferation of spleen in broilers

Item	Control	Oxytetracycline	Bacitracin	Nosiheptide
3 wk	----- PI -----			
Con A	1.01 ± 0.01	1.06 ± 0.05	1.14 ± 0.12	1.19 ± 0.15
LPS	1.02 ± 0.02	1.02 ± 0.09	1.11 ± 0.09	1.45 ± 0.31
6 wk				
Con A	1.06 ± 0.04	1.12 ± 0.16	1.08 ± 0.06	1.09 ± 0.04
LPS	1.07 ± 0.07	1.18 ± 0.35	1.05 ± 0.06	1.05 ± 0.09

The lymphoid proliferation response is presented as proliferation index (PI).

表 3. 飼糧中添加抗生素對肉雞血液免疫球蛋白之影響 (n = 8)

Table 3. Effect of dietary antibiotic supplement on immunoglobulin level in blood of broilers

	Control	Oxytetracycline	Bacitracin	Nosiheptide
3 week, µg/ mL				
IgA	284 ± 122	323 ± 200	246 ± 107	251 ± 72.4
IgG	1,092 ± 626	1,021 ± 593	1,253 ± 723	873 ± 557
IgM	229 ± 90.6 ^{ab}	264 ± 80.3 ^a	218 ± 101 ^{ab}	168 ± 75.2 ^b
6 week, µg/ mL				
IgA	690 ± 223 ^a	612 ± 243 ^a	625 ± 290 ^a	513 ± 213 ^b
IgG	3,391 ± 301	3,289 ± 1,311	3,143 ± 1,933	3,060 ± 1,574
IgM	338 ± 212	315 ± 220	467 ± 119	415 ± 133

^{a, b} Means (number of observations) within the same row without the same superscripts differ significantly (p < 0.05).

綜上所述，抗生素對於免疫調控不完全具有一致性，雞隻飼糧添加六肽黴素於 6 週齡時，可通過改變溶菌酶及 IgA 來調節雞隻的免疫反應，有益於雞隻健康。由於這三種促生長抗生素在本研究之後已被禁用，因此，應積極開發具有類似抗菌功能的飼料添加劑，以取代促進生長用抗生素之使用。

參考文獻

- 洪靖崎、朱盈安、黃懿儂、魏恆巍、余佳慧、陳保基。2007。肉雞腸道生理及免疫之發展。中國畜牧學會會誌 36 (增刊): 283。
- Al-Ankari, A. S. and A. M. Homeida. 1996. Effect of antibacterial growth promoters on the immune system of broiler chicks. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 53: 277-283.
- Arabski, M., I. Konieczna, E. Tusińska, S. Wąsik, I. Relich, K. Zajac, Z. J. Kamiński, and W. Kaca. 2015. The use of lysozyme modified with fluorescein for the detection of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Res.* 170: 242-247.
- Baba, T., N. Yamashita, H. Kodama, M. Mukamoto, M. Asada, K. Nakamoto, Y. Nose, and E. D. McGruder. 1998a. Effect of tylosin tartrate (Tylan Soluble) on cellular immune responses in chickens. *Poult. Sci.* 77: 1306-1311.
- Baba, T., N. Yamashita, H. Kodama, M. Mukamoto, M. Asada, K. Nakamoto, Y. Nose, and E. D. McGruder. 1998b. Effect of tylosin tartrate on humoral immune responses in chickens. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 45: 279-286.
- Bartell, S. M. and A. B. Batal. 2007. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poult. Sci.* 86: 1940-1947.
- Broom, L. J. 2018. Gut barrier function: Effects of (antibiotic) growth promoters on key barrier components and associations with growth performance. *Poult. Sci.* 97: 1572-1578.
- Buret, A. G. 2010. Immuno-modulation and anti-inflammatory benefits of antibiotics: the example of tilmicosin. *Can. J. Vet. Res.* 74: 1-10.

- Cebra, J. J. 1999. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *The Am. J. Clin. Nutr.* 69: 1046s-1051s.
- Chi, Z. and R. Liu. 2012. New insights into the characterization of the binding of tetracycline analogues with lysozyme: A biophysical study. *Chemosphere* 86: 92-97.
- Choi, K. D. and H. S. Lillehoj. 2000. Role of chicken IL-2 on $\gamma\delta$ T-cells and *Eimeria acervulina*-induced changes in intestinal IL-2 mRNA expression and $\gamma\delta$ T-cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 73: 309-321.
- Cua, D. J. and C. M. Tato. 2010. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat. Immunol.* 10: 479-489.
- Demas, G. E., V. Chefer, M. I. Talan, and R. J. Nelson. 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *Am. J. Physiol.* 273: R1631-R1637.
- Diarra, M. S. and F. Malouin. 2014. Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives. *Front. Microbiol.* 5: 1-15.
- Ducatelle, R., E. Goossens, F. De Meyer, V. Eeckhaut, G. Antonissen, F. Haesebrouck, and F. Van Immerseel. 2018. Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. *Vet. Res.* 49: 1-9.
- EC. 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition.
- Er, A., E. Yazar, K. Uney, M. Elmas, F. Altan, and G. Cetn. 2010. Effects of tylosin on serum cytokine levels in healthy and lipopolysaccharide-treated mice. *Acta Vet. Hung.* 58: 75-81.
- Ferraboschi, P., S. Ciceri, and P. Grisenti. 2021. Applications of lysozyme, an innate immune defense factor, as an alternative antibiotic. *Antibiotics* 10: 1534.
- Gottlieb, D. and P. D. Shaw. 1967. *Antibiotics: Volume I Mechanism of Action*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- Heller, F. and R. Duchmann. 2003. Intestinal flora and mucosal immune responses. *Int. J. Med. Microbiol.* 293: 77-86.
- Holt, P. S., L. E. Vaughn, and R. K. Gast. 2010. Flow cytometric characterization of Peyer's patch and cecal tonsil T lymphocytes in laying hens following challenge with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 133: 276-281.
- Huang, G., X. Li, D. Lu, S. Liu, X. Suo, Q. Li, and N. Li. 2018. Lysozyme improves gut performance and protects against enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Vet. Res.* 49: 20.
- Kirsch, T., G. Harrison, E. E. Golub, and H. D. Nah. 2000. The roles of annexins and types II and X collagen in matrix vesicle-mediated mineralization of growth plate cartilage. *J. Biol. Chem.* 275: 35577-35583.
- Lee, K. W., Y. Ho Hong, S. H. Lee, S. I. Jang, M. S. Park, D. A. Bautista, G. Donald Ritter, W. Jeong, H. Y. Jeoung, D. J. An, E. P. Lillehoj, and H. S. Lillehoj. 2012. Effects of anticoccidial and antibiotic growth promoter programs on broiler performance and immune status. *Res. Vet. Sci.* 93: 721-728.
- Long, Y., S. Lin, J. Zhu, X. Pang, Z. Fang, Y. Lin, L. Che, S. Xu, J. Li, Y. Huang, X. Su, and D. Wu. 2016. Effects of dietary lysozyme levels on growth performance, intestinal morphology, non-specific immunity and mRNA expression in weanling piglets. *Anim. Sci. J.* 87: 411-418.
- Ma, H., Y. Qiu and H. Yang. 2021. Intestinal intraepithelial lymphocytes: maintainers of intestinal immune tolerance and regulators of intestinal immunity. *J. Leukoc Biol.* 109: 339-347.
- Martin, L. B., A. Scheuerlein, and M. Wikelski. 2003. Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proc. Biol. Sci.* 270: 153-158.
- Matzneller, P., S. Strommer, C. Drucker, K. Petroczi, C. Schörghofer, E. Lackner, B. Jilma, and M. Zeitlinger. 2017. Colistin Reduces LPS-Triggered Inflammation in a Human Sepsis Model In Vivo: A Randomized Controlled Trial. *Clin. Pharmacol. Ther.* 101: 773-781.
- Mazutti, K., L. B. Costa, L. V. Nascimento, T. Fernandes Filho, B. C. B. Beirão, P. C. Machado Júnior, and A. Maiorka. 2016. Effect of colistin and tylosin used as feed additives on the performance, diarrhea incidence, and immune response of nursery pigs. *Semina Ciênc. Agrár.* 37: 1947-1962.
- Niewold, T. A. 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poult. Sci.* 86: 605-609.
- Nikolov, T., B. Stanchev, and S. Boyadjiev. 1966a. The Mg^{2+} -influence on the antibody biosynthesis in vitro inhibited by tetracyclines and chloramphenicol. *Nauchni. Tr. Vissh. Med. Inst. Sofia.* 45: 15-20.

- Nikolov, T. K., B. D. Stantchev, and S. I. Boyadjiev. 1966b. Influence of antibiotics on antibody formation in vitro. I. Comparative study of the inhibitory influence of tetracyclines and chloramphenicol. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 110: Suppl: 181-185.
- Olivares-Villagómez, D. and L. Van Kaer. 2018. Intestinal intraepithelial lymphocytes: sentinels of the mucosal barrier. *Trends Immunol.* 39: 264-275.
- Pantelyushin, S., S. Haak, B. Ingold, P. Kulig, F. L. Heppner, A. A. Navarini, and B. Becher. 2012. Ror γ t⁺ innate lymphocytes and $\gamma\delta$ T cells initiate psoriasiform plaque formation in mice. *J. Clin. Invest.* 122: 2252-2256.
- Romanyukha, A. A., S. G. Rudnev, and I. A. Sidorov. 2006. Energy cost of infection burden: an approach to understanding the dynamics of host-pathogen interactions. *J. Theor. Biol.* 241: 1-13.
- Salim, H. M., H. K. Kang, N. Akter, D. W. Kim, J. H. Kim, M. J. Kim, J. C. Na, H. B. Jong, H. C. Choi, O. S. Suh, and W. K. Kim. 2013. Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 92: 2084-2090.
- Sarson, A. J., Y. Wang, Z. Kang, S. E. Dowd, Y. Lu, H. Yu, Y. Han, H. Zhou, and J. Gong. 2009. Gene expression profiling within the spleen of *Clostridium perfringens*-challenged Broilers fed antibiotic-medicated and non-medicated diets. *BMC Genomics*. 10: 260.
- SAS institute. 2003. SAS User's Guide. Version 9.1 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Shan, T., Y. Wang, Y. Wang, J. Liu, and Z. Xu. 2007. Effect of dietary lactoferrin on the immune functions and serum iron level of weanling piglets. *J. Anim. Sci.* 85: 2140-2146.
- Strzępa, A., M. Majewska-Szczepanik, F. M. Lobo, L. Wen, and M. Szczepanik. 2017. Broad spectrum antibiotic enrofloxacin modulates contact sensitivity through gut microbiota in a murine model. *J. Allergy Clin. Immunol.* 140: 121-133.e123.

Effects of antibiotics on intestinal immunity in broilers ⁽¹⁾

Ching-Chi Hung ⁽²⁾, Bao-Ji Chen ⁽³⁾, Ching-Yi Chen ⁽³⁾, Ying-An Chu ⁽³⁾,
I-Nung Huang ⁽³⁾ and Chin-Bin Hsu ⁽²⁾⁽⁴⁾

Received: Aug. 18, 2022; Accepted: Mar. 9, 2023

Abstract

This study was to investigate the effect of antibiotics on intestinal immune response. One hundred and ninety-two broilers were randomly allocated to 4 treatments with 4 replicates of 12 birds each. The 4 treatments were: control, bacitracin 55 ppm, nisin 2.5 ppm, and oxytetracycline 55 ppm supplements. Intestinal mucosal immunity was measured at 3 and 6 wk of age. In the intestinal mucosal immunity, the nisin supplemented group significantly decreased the expression of mucosal antimicrobial lysozyme level at 3 weeks of age ($P < 0.05$), but had no effect on the bacitracin and oxytetracycline groups. The three antibiotic supplements had no significant differences in T cell receptor $\gamma\delta$, ileum and lymphocyte proliferation of blood. The nisin supplementation group had lower blood IgA levels ($P < 0.05$) at 6 wk of age, but did not affect the bacitracin and oxytetracycline groups. Antibiotic administration did not alter plasma IgG and IgM at 6 wk of age. In conclusion, different antibiotics may be inconsistent in immune regulation. Supplementation of nisin in chicken diets modulates the immune response of chickens by downregulating lysozyme and IgA.

Key words: Antibiotics, Broilers, Intestinal immunity, $\gamma\delta$ T cell receptor.

(1) Contribution No. 2739 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, No. 50, Lane 155, Sec. 3, Keelung Road, Taipei 106, Taiwan, R. O. C.

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

大豆臺南 3 號及 4 號作為芻料利用之評估⁽¹⁾

鍾萍⁽²⁾⁽³⁾ 李姿蓉⁽²⁾

收件日期：111 年 3 月 17 日；接受日期：112 年 3 月 9 日

摘 要

國內已選育多種優良的禾本科牧草，但受限於地理環境與氣候因素，苜蓿等優質的豆科芻料不易在臺灣生產，因此國內豆科芻料大多依賴進口，使得酪農芻料成本居高不下，發展國產豆科作物作為替代性之豆科牧草，為降低酪農生產成本的重要課題。本試驗將國內自行選育之子實用大豆臺南 3 號及綠肥大豆臺南 4 號，進行春作及秋作之芻料利用評估，並以苜蓿中東品系為對照品種，調查不同生長日數春作 60、90 及 120 日，秋作 60 及 90 日之產量、農藝性狀及芻料品質。結果顯示大豆臺南 3 號在春作 90 天及 120 天的乾物產量與粗蛋白質含量相近，且水溶性碳水化合物、中洗纖維及酸洗纖維含量以春作 90 天最佳，另在秋作，其 60 天仍為營養生長期尚未結莢，非適合作為芻料利用的收穫階段，且 90 天的豆莢占全株乾重比例高，建議大豆臺南 3 號在春作及秋作皆以 90 天收穫為宜；大豆臺南 4 號在春作 120 天及秋作 90 天，其乾物產量及豆莢占全株乾重比例表現較佳，可提供較高的單位面積蛋白質產量，建議大豆臺南 4 號分別在春作 120 天及秋作 90 天收穫為宜。本試驗顯示大豆臺南 3 號及 4 號可提供作為國產豆科芻料來源之一，有望降低對進口豆科芻料的依賴，並穩定國產芻料的供應。

關鍵詞：芻料利用、豆科芻料、大豆。

緒 言

國內已選育多種品質優良的芻料作物包括多年生的狼尾草臺畜草 1 至 8 號 (成等, 1992; 成等, 1995; 成等, 1997; 蕭等, 2000)、尼羅草臺畜草 1 至 3 號 (蕭等, 2002; 陳等, 2017a; 陳等, 2019) 及指草墾丁 1 號; 短期芻料作物蘇丹草臺畜草 1 號 (蕭等, 1997)、甜高粱臺畜 1 號 (陳等, 2017b)、青割玉米墾丁 1 號 (陳等, 2013) 及芻料用高粱墾丁 1 號 (張及廖, 2019) 及 2 號。每一品種均有其特色，適用不同栽培環境，提供國內酪農多樣化的牧草選擇，然上述歷年所選育之各品種芻料，均為禾本科牧草，其最大缺點為蛋白質含量不足。芻料中以豆科牧草含蛋白質較豐富，然豆科牧草的適應性不如禾本科牧草 (王, 1956)，臺灣氣候多雨，更不利於苜蓿 (*Medicago sativa*) 和三葉草屬 (*Trifolium*) 等豆科草種常年性生產。畜產發展需芻料穩定供應，為因應臺灣氣候多雨，除生產與利用模式改變外，尋求發展國產替代性之豆科牧草為重要課題之一。苜蓿為多年生之重要豆科芻料作物，於臺灣夏季栽培中，易遇到生育期淹水而影響苜蓿根部澱粉的累積，進而影響其生育、品質及產量 (王, 1956; 林等, 2007)。大豆因具有固氮能力且蛋白質含量高，早期即由中國引進美國且被視為良好的芻料作物 (Hackleman, 1924)，在選擇適當的品種及生產方式下，大豆的營養價值可與苜蓿不相上下 (Hintz *et al.*, 1992)。大豆除了營養價值高，能適應於較熱帶氣候地區之生產 (Foster *et al.*, 2009)，又屬於栽培週期短、土地利用彈性佳之芻料作物 (Heitholt *et al.*, 2004; Seiter *et al.*, 2004)。對於地處熱帶及亞熱帶、全年土地可耕作期長的臺灣，大豆可作為豆科芻料利用的選擇。

朱等 (2020) 研究以不同品種 (系) 的大豆探討秋作不同播種時期對於芻料產量與品質的影響，試驗結果顯示大豆的株高與乾物質產量隨著播種期愈晚而下降，但粗蛋白質含量提升且纖維含量降低。芻料品質雖然隨著播種期愈晚而愈佳，但乾物質產量的減少造成粗蛋白質產量下降，說明秋作大豆的播種期不可過晚，否則會因光週期縮短與氣溫下降，降低大豆作為芻料生產的價值。另隨著春作的播種月份愈晚，雖有助於產量的提升，但卻對品質造成影響。豆莢占全株乾重比例較高的品種有助於芻料品質的提升，但仍需要搭配較高的全株產量才利於芻料生產 (朱及陳, 2016)。大豆臺南 3 號係臺南區農業改良場於民國 87 年 5 月育成之品種，其種皮黑色，子葉綠色，高度 45 —

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2740 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所飼料作物組。

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

77 公分，豆粒的品質優良，外觀色澤、香味及食用風味均優於進口黑豆，生育屬於晚熟型，對光期敏感，春作播種期應提早至 2 月上旬，若延遲播種會受到感光的影響而延遲成熟，然由於其籽粒小及鮮草產量高，亦適合作為夏季綠肥作物 (連等, 1998)。大豆臺南 4 號係臺南區農業改良場於民國 88 年 12 月育成之品種，其具有籽粒小、生長快速、鮮草量高及覆蓋期長之特性，對光期敏感，在春夏季長日照下植株發育為無限型，莖葉生育旺盛，鮮草產量高，秋季短日照下則為有限型，可正常開花結莢產生種子，且成熟期趨一致而落葉性良好，易於機械採收，因此適合春夏作綠肥栽培及秋作採種之用途 (連等, 2000)。

芻料用大豆的產量與品質會受到品種、播種期、栽培管理方式與採收期等因素影響 (Hintz *et al.*, 1992; Chang *et al.*, 2012)。在品種方面，由於芻料用大豆考量的是全株乾物質產量與營養組成的綜合表現，因此芻料用大豆通常具有較籽粒用大豆高株、高產且成熟期晚的特性 (Darmosarkoro *et al.*, 2001; Rao *et al.*, 2005)。Darmosarkoro *et al.* (2001) 與 Açıkgöz *et al.* (2013) 的試驗均指出子實用大豆豆莢占全株乾重之比例高於芻料用大豆品種，雖然子實用大豆在 R7 (豆莢變黃，達成熟期) 生育階段作為芻料具有良好的品質 (Hintz *et al.*, 1992)，但多數子實用大豆的營養生長期短於芻料用大豆。因此，造成在相同收穫時間下，芻料用大豆因莖葉茂盛而產量較高，子實用大豆則芻料產量較低，但因種子占全株比重較高而芻料品質較佳。此外，不同品種的芻料用大豆其產量與品質的表現亦有所差異 (Darmosarkoro *et al.*, 2001; Sheaffer *et al.*, 2001)。

相較於國外對大豆作為芻料利用的育種及研究甚深入，國內目前尚未有芻料用大豆品種之育成，且受限於臺灣的氣候條件，國外優質的豆科草種不易生長，而國內豆科芻料大部分倚賴進口，造成酪農芻料成本居高不下。因此本研究以單年生豆科—大豆臺南 3 號及 4 號，分別於春作及秋作不同生長日數下收穫，調查其地上部植株之農藝性狀、產量及營養成分，以初步評估其作為芻料利用之可行性。

材料與方法

I. 試驗材料

參試品種為子實用大豆臺南 3 號 (TN3) 及綠肥大豆臺南 4 號 (TN4)，並以苜蓿中東 (Middle-east) 品系作為對照品種。

II. 田間設計與栽培管理

參試品種於 2018 年 3 月 (春作) 及 9 月 (秋作) 在畜產試驗所新化種植。試驗田區採逢機完全區集設計 (randomized complete block design, RCBD)，每一試驗小區面積為 9 m² (3 m × 3 m)，大豆臺南 3 號及 4 號行距 50 cm，每小區 6 行，苜蓿行距 30 cm，每小區 9 行，採條播方式種植，三重複。肥料以祥寶複合肥料 1 號 (N : P₂O₅ : K₂O = 20 : 5 : 10) 每公頃基肥施用量 300 公斤。試驗期間視植株生長及土壤狀況適度灌溉，並以中耕及人工除草控制雜草。

III. 收穫取樣與調查

大豆臺南 3 號及 4 號於春作種植 60 天 (2018 年 5 月)、90 天 (2018 年 6 月)、120 天 (2018 年 7 月) 後及秋作種植 60 天 (2018 年 11 月)、90 天 (2018 年 12 月) 後採收調查，每次調查面積為 3 m²，調查項目包含株高、莖徑、乾物率、鮮重、乾重及豆莢占全株乾重比例等農藝性狀。苜蓿於春作種植 60 天 (2018 年 5 月)、90 天 (2018 年 6 月)、120 天 (遇連續降雨而死亡，故無法進行調查) 後，秋作種植 60 天 (2018 年 11 月) 以及 2018 年 12 月青刈完再生 70 天 (2019 年 3 月) 後採收，每次採收調查面積為 3 m²，調查項目包含株高、莖徑、乾物率、鮮重及乾重等農藝性狀。

- (i) 株高 (plant height)：從植株莖基部至葉頂之長度，單位：cm。
- (ii) 莖徑 (stem diameter)：以游標尺量測每株中間節位的莖部直徑，單位：mm。
- (iii) 鮮草產量 (fresh yield)：每次調查面積收穫的全部新鮮植株重量，單位：mt/ha。
- (iv) 乾物產量 (dry matter yield)：每次調查面積收穫的新鮮植株於 65℃ 下烘乾 96 小時後之植株重量，單位：mt/ha。
- (v) 乾物率 (dry matter percentage)：植株乾重除以鮮重之百分比。
- (vi) 豆莢占全株乾重比例 (dry matter percentage of pods per plant)：每次調查面積收穫的大豆中隨機選取 10 株，將其豆莢與莖葉分離，烘乾後測量豆莢占全株乾重比例。

IV. 營養成分分析

採樣全株於 65℃ 下烘乾 96 小時後磨粉，保存於 4℃ 冷藏庫備用。粗蛋白質 (crude protein, CP) 含量分析：以 Kjeldahl 方法測定植體全氮 (N) (Bremner and Mulvaney, 1982)，再將 $N \times 6.25$ 推估粗蛋白質含量。酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF)、中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 含量則依照 Goering and Van Soest (1970) 之方法測定。水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrate, WSC) 測定方法，修正自 Nelson-Somogyi 所提之方法 (Nelson, 1944; Somogyi, 1945; Chitoshi and Kobara, 1980)。

- V. 試驗所得資料以變方分析檢定不同品種及生長日數下的差異顯著性，若達顯著差異，再以最小顯著差異性 (least significant difference test) 比較處理間的差異，以 $P < 0.05$ 為顯著差異水準；統計分析軟體為 SAS-EG7.1 版 (SAS, 2014)。

結果與討論

I. 春作及秋作之生長概況

芻料中以豆科含蛋白質最豐富，但臺灣氣候多雨不利引進之豆科草種全年性生長，故尋求發展國產豆科作物作為替代性之豆科牧草，為降低酪農芻料成本的重要課題之一。除了品種之外，氣候的差異也是影響大豆芻料產量與品質的重要因素，試驗期間 (2018 年 3 月－2019 年 3 月) 之每月累積降雨量及累積日照時數如圖 1，顯示降雨量主要集中在 6、7 及 8 月份，其中 8 月份的累積日照時數又偏低，可能是受到降雨的影響。大豆臺南 3 號於春作 60 天植株葉片翠綠茂盛，仍為營養生長期，至 90 天開始陸續結豆莢，進入生殖生長期，其中大多數的豆莢呈青綠色尚未成熟，其種子仍在充實飽滿期 (如圖 2B 箭號所示)，而至 120 天時豆莢已變黃達成熟期。秋作生長期則較春作為短，60 天植株與春作相似，葉片翠綠茂盛，仍為營養生長期，然至 90 天時葉片已黃化，進入生殖生長期，豆莢已變黃達成熟期 (如圖 2D 箭號所示)。大豆臺南 4 號之春作及秋作生長期皆與臺南 3 號類似，於春作 60 天植株葉片翠綠茂盛，仍為營養生長期，至 90 天已陸續結豆莢，進入生殖生長期，此時多數豆莢呈青綠色，其種子仍在充實飽滿期 (如圖 3B 箭號所示)，至 120 天部分豆莢已變黃達成熟期。秋作 60 天植株葉片翠綠茂盛，仍為營養生長期，至 90 天葉片黃化，進入生殖生長期，豆莢也已變黃達成熟期 (如圖 3D 箭號所示)。Hintz *et al.* (1992) 之研究指出大豆在 R6 (種子充實飽滿期) 至 R7 (豆莢變黃，達成熟期) 生育階段收穫，其產量與品質最適合作為芻料利用，且 R7 亦是大豆調製成青貯品質最佳的生育階段 (Chang *et al.*, 2012)。然大豆臺南 3 號及 4 號在秋作 90 天的豆莢皆已變黃達成熟期，故未再進行秋作 120 天的芻料利用評估。另外苜蓿在春作 60 天、90 天及秋作 60 天、再生 70 天之生長概況如圖 4，其中在春作約 110 天時，因遇到連續降雨而死亡，故無法進行春作 120 天的芻料利用評估，且苜蓿在春作 90 天的部分葉片已黃化，植株開始老化的情形出現，故苜蓿在秋作僅進行種植 60 天與青刈完再生 70 天的芻料利用評估。

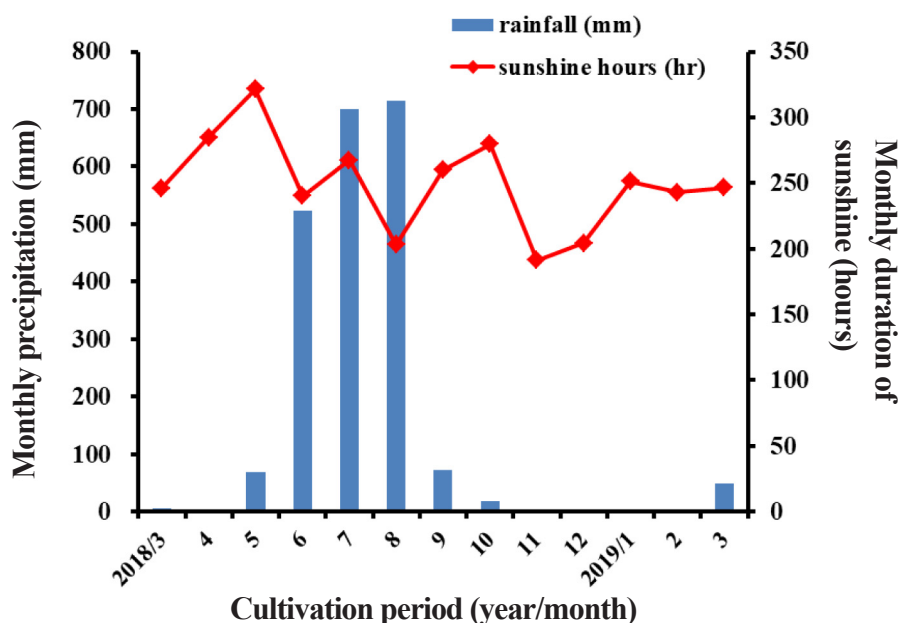


圖 1. 2018 年 3 月至 2019 年 3 月臺南地區的每月累積降雨量及累積日照時數。

Fig. 1. Monthly precipitation and duration of sunshine in Tainan from March 2018 to March 2019.

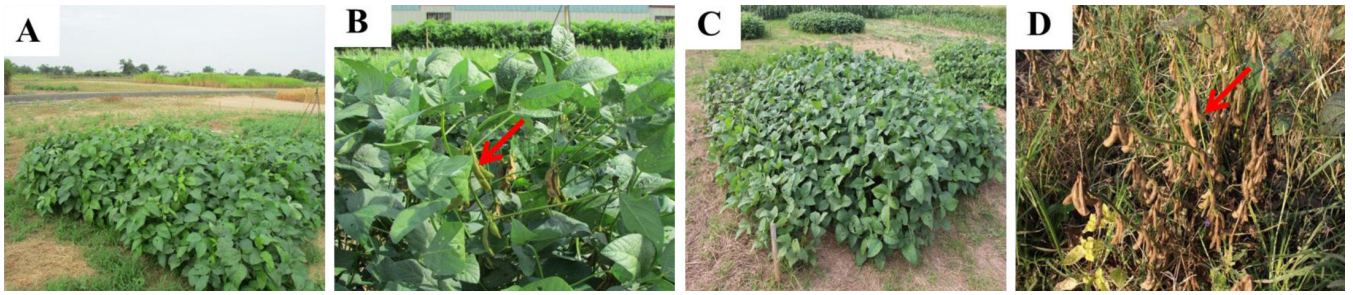


圖 2. 大豆臺南 3 號 (TN3) 春作 60 天 (A)、90 天 (B) 及秋作 60 天 (C)、90 天 (D) 之生長概況。箭號代表豆莢成熟狀態。

Fig. 2. The growth situation of soybean Tainan No. 3 (TN3) for 60 days (A), 90 days (B) in spring crop and 60 days (C), 90 days (D) in fall crop. Arrow indicated the maturity state of pods.

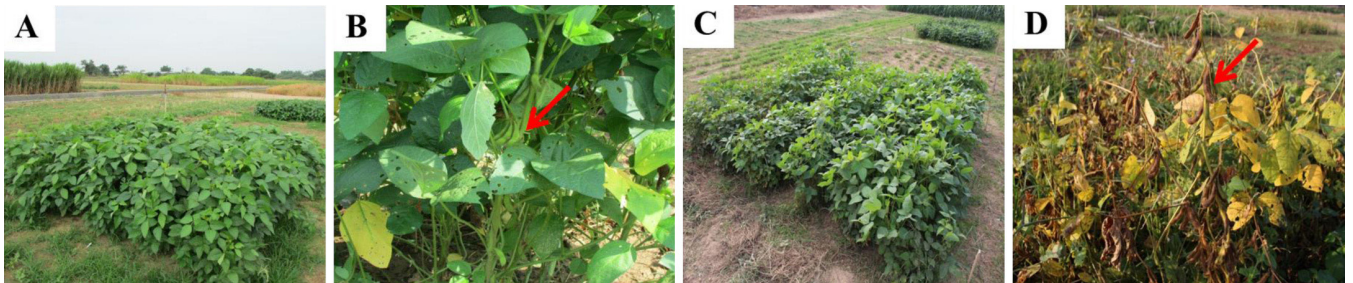


圖 3. 大豆臺南 4 號 (TN4) 春作 60 天 (A)、90 天 (B) 及秋作 60 天 (C)、90 天 (D) 之生長概況。箭號代表豆莢成熟狀態。

Fig. 3. The growth situation of soybean Tainan No. 4 (TN4) for 60 days (A), 90 days (B) in spring crop and 60 days (C), 90 days (D) in fall crop. Arrow indicated the maturity state of pods.

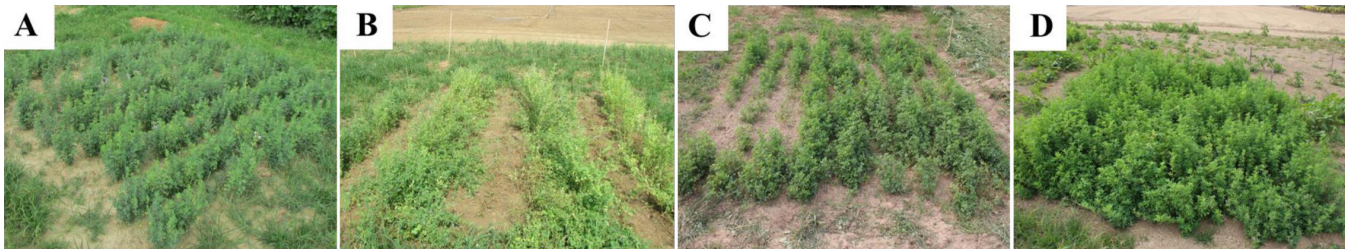


圖 4. 苜蓿春作 60 天 (A)、90 天 (B) 及秋作 60 天 (C)、再生 70 天 (D) 生長概況。

Fig. 4. The growth situation of alfalfa for 60 days (A), 90 days (B) in spring crop and 60 days (C), regrowth for 70 days (D) in fall crop.

II. 農藝性狀調查結果

苜蓿、大豆臺南 3 號及 4 號於春作、秋作種植後，其農藝性狀調查結果分別如表 1、2。在春作的平均株高及平均鮮草產量均以綠肥用大豆臺南 4 號表現較佳，而平均豆莢占全株乾重比例則以子實用大豆臺南 3 號的表現較佳，另在春作及秋作的平均莖徑均以苜蓿的表現較差。大豆臺南 3 號的株高在春作 60、90 及 120 天之間並無顯著性差異，鮮草產量、乾物率及乾物產量在春作 90 及 120 天時顯著高於春作 60 天，然株高、莖徑及乾物產量在秋作 60 與 90 天之間並無顯著性差異，鮮草產量在秋作 60 天時顯著高於秋作 90 天，另莖徑在春作、乾物率在秋作與豆莢占全株乾重比例在春作及秋作皆隨生長日數增加而有顯著性的增加。大豆臺南 4 號的株高及鮮草產量在春作 90 及 120 天時顯著高於春作 60 天，而乾物率在春作 120 天時顯著高於春作 60 天，然株高、莖徑及鮮草產量在秋作 60 與 90 天之間並無達顯著差異，另莖徑在春作、乾物率在秋作及乾物產量、豆莢占全株乾重比例在春作與秋作皆隨生長日數的增加而有顯著性的增加。苜蓿的株高、鮮草產量及乾物產量在春作與秋作、莖徑在秋作皆隨生長日數增加而有顯著性的增加，然莖徑在春作 60 及 90 天之間與乾物率在秋作 60 及青刈完再生 70 天之間皆無顯著性差異。

表 1. 參試品種於春作不同生長期的農藝性狀及產量調查結果

Table 1. The agronomic traits and forage yield of entries in spring crop

Cultivar ^{&}	Gp	Ph	Sd	Dmp	Fy	Dmy	Dmpp
	days	cm	mm	%	----- mt/ha -----	-----	%ofDm
Soybean Tainan No.3	60	78.3	4.7 ^c	24.9 ^b	12.2 ^b	3.0 ^b	0.0 ^c
	90	88.4	6.6 ^b	37.2 ^a	29.8 ^a	9.9 ^a	15.7 ^b
	120	83.2	8.8 ^a	35.8 ^a	32.7 ^a	9.6 ^a	22.3 ^a
Soybean Tainan No.4	60	96.5 ^b	5.3 ^c	22.1 ^b	14.8 ^b	2.8 ^c	0.0 ^c
	90	123.0 ^a	8.0 ^b	28.5 ^{ab}	34.2 ^a	10.9 ^b	0.7 ^b
	120	117.2 ^a	10.0 ^a	34.5 ^a	43.2 ^a	17.2 ^a	9.5 ^a
Middle-east alfalfa	60	41.5 ^b	2.0	24.0 ^b	5.0 ^b	1.3 ^b	—
	90	59.7 ^a	2.1	32.5 ^a	12.4 ^a	3.4 ^a	—

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

[&] Gp: Growth periods; Ph: Plant height; Sd: Stem diameter; Dmp: Dry matter percentage; Fy: Fresh yield; Dmy: Dry matter yield; Dmpp: Dry matter percentage of pods.

表 2. 參試品種於秋作不同生長期的農藝性狀及產量調查結果

Table 2. The agronomic traits and forage yield of entries in fall crop

Cultivar ^{&}	Gp	Ph	Sd	Dmp	Fy	Dmy	Dmpp
	days	cm	mm	%	----- mt/ha -----	-----	%ofDm
Soybean Tainan No.3	60	77.8	4.4	25.8 ^b	15.0 ^a	3.9	0.0 ^b
	90	70.4	5.7	59.1 ^a	6.8 ^b	4.0	75.1 ^a
Soybean Tainan No.4	60	75.7	5.0	21.3 ^b	13.8	2.9 ^b	0.0 ^b
	90	76.4	5.2	40.0 ^a	12.6	5.0 ^a	65.1 ^a
Middle-east alfalfa	60	29.2 ^b	1.4 ^b	23.4	3.6 ^b	0.8 ^b	—
	70	57.7 ^a	3.3 ^a	21.7	24.4 ^a	5.3 ^a	—

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

[&] As shown in Table 1.

III. 芻料品質分析結果

苜蓿、大豆臺南 3 號及 4 號於春作及秋作種植後，其植體營養成分分析結果分別如表 3、4。在春作的鉀平均含量及鈣平均含量均以苜蓿表現較高；然秋作的水溶性碳水化合物平均含量則以大豆臺南 4 號表現較佳。大豆臺南 3 號的春作磷含量及秋作鉀含量隨生長日數增加而有顯著性的增加，鈣含量在春作 90 天時顯著高於春作 60 及 120 天，鎂含量在春作 60 天時顯著高於春作 120 天，而水溶性碳水化合物含量在春作 90 天時顯著高於春作 60 及 120 天，且在秋作 90 天亦顯著高於秋作 60 天，另中洗纖維及酸洗纖維含量在春作 120 天時顯著高於春作 60 及 90 天。粗蛋白質及鉀含量在春作 60、90 及 120 天之間與粗蛋白質、中洗纖維及酸洗纖維含量在秋作 60 及 90 天之間皆未達顯著性差異，然磷、鈣及鎂含量在秋作 60 天時顯著高於秋作 90 天。大豆臺南 4 號的粗蛋白質含量在春作 120 天時顯著低於春作 60 及 90 天，但在秋作 60 天時顯著高於秋作 90 天；鈣含量在春作 90 天時顯著高於春作 60 及 120 天，但在秋作 60 天時顯著高於秋作 90 天；鎂含量在春作及秋作皆隨生長日數增加而顯著性降低；水溶性碳水化合物含量在春作及秋作 90 天時均顯著較高；然中洗纖維及酸洗纖維含量在春作 120 天會有顯著性的增加，另中洗纖維及酸洗纖維含量在秋作 90 天時均顯著高於秋作 60 天；然磷及鉀含量在春作 60、90 及 120 天之間與鉀含量在秋作 60 及 90 天之間皆無達顯著性差異，但其中磷含量在秋作 60 天時顯著高於秋作 90 天。苜蓿的粗蛋白質含量在春作 60 天最高，之後隨生長日數的增加而顯著性的降低，但水溶性碳水化合物、中洗纖維及酸洗纖維含量則隨春作及秋作的生長日數增加而顯著性的增加；然磷、鉀及鎂含量在春作 60 及 90 天之間則無顯著性差異，但其中磷含量在秋作 60 天時顯著高於 70 天，其餘粗蛋白質、鉀、鈣及鎂含量在秋作 60 及 70 天之間則未達顯著性差異。

表 3. 參試品種於春作不同生長期的營養成分

Table 3. The nutrient contents of entries in spring crop

Cultivar ^{&}	Growth day	CP	WSC	NDF	ADF	P	K	Ca	M
	day	----- % DM -----							
Soybean Tainan No.3	60	17.0	3.7 ^b	44.0 ^b	27.3 ^b	0.9 ^c	1.9	0.6 ^b	0.6 ^a
	90	16.3	6.5 ^a	40.5 ^b	25.9 ^b	1.0 ^b	2.0	0.9 ^a	0.5 ^{ab}
	120	15.6	4.0 ^b	50.0 ^a	35.8 ^a	1.2 ^a	1.5	0.2 ^c	0.5 ^b
Soybean Tainan No.4	60	14.9 ^a	1.9 ^c	46.5 ^b	30.5 ^b	1.0	1.8	0.8 ^b	0.6 ^a
	90	14.4 ^a	6.8 ^a	47.8 ^b	32.4 ^{ab}	1.0	1.8	1.0 ^a	0.5 ^b
	120	11.3 ^b	4.7 ^b	54.7 ^a	37.6 ^a	1.1	1.4	0.2 ^c	0.4 ^c
Middle-east alfalfa	60	18.3 ^a	2.4 ^b	37.6 ^b	23.0 ^b	1.0	1.9	1.0 ^b	0.5
	90	13.4 ^b	3.9 ^a	45.3 ^a	30.9 ^a	1.0	1.9	1.5 ^a	0.5

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

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

表 4. 參試品種於秋作不同生長期的營養成分

Table 4. The nutrient contents of entries in fall crop

Cultivar ^{&}	Growth day	CP	WSC	NDF	ADF	P	K	Ca	M
	day	----- % DM -----							
Soybean Tainan No.3	60	18.9	2.4 ^b	43.9	27.7	1.4 ^a	1.3 ^b	1.4 ^a	0.5 ^a
	90	16.0	4.5 ^a	44.0	30.4	1.1 ^b	1.6 ^a	0.2 ^b	0.4 ^b
Soybean Tainan No.4	60	18.3 ^a	3.0 ^b	45.9 ^b	30.6 ^b	1.3 ^a	1.2	1.6 ^a	0.6 ^a
	90	12.1 ^b	4.8 ^a	49.1 ^a	37.2 ^a	1.1 ^b	1.2	0.3 ^b	0.4 ^b
Middle-east alfalfa	60	17.9	2.3 ^b	42.2 ^b	29.2 ^b	1.3 ^a	1.4	0.6	0.3
	70	14.3	4.1 ^a	49.6 ^a	39.4 ^a	1.1 ^b	1.4	0.5	0.3

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

[&] As shown in Table 3.

IV. 芻料利用評估

朱及陳 (2016) 的研究指出，播種期為 3 月份且在最適於芻料利用的 R7 生育階段進行收穫，春作大豆臺南 4 號的株高高於大豆臺南 3 號，春作大豆臺南 3 號的豆莢占全株乾重比例高於大豆臺南 4 號，春作大豆臺南 3 及 4 號的酸洗纖維及粗蛋白質含量均無顯著差異，且由品種間的比較發現豆莢比例的多寡會影響粗蛋白質及纖維含量，隨著春作播種期愈晚，莖葉生長旺盛的品種在單位面積乾物產量及粗蛋白質產量的優勢愈顯著。另朱等 (2020) 的研究指出，在秋作 (播種期 9 月) 最適於芻料利用的 R7 生育階段進行收穫，秋作大豆臺南 3 及 4 號的株高、乾物產量、粗蛋白質含量及酸洗纖維含量均無顯著差異，然秋作大豆臺南 3 號的豆莢占全株乾重比例高於大豆臺南 4 號，而在中洗纖維含量方面則以秋作大豆臺南 4 號高於大豆臺南 3 號，且隨著秋作的播種期愈晚，因光週期縮短與氣溫下降，大豆的株高與乾物質產量會隨著下降，但其粗蛋白質含量反而提升且纖維含量會降低，顯示雖然品質隨著播種期愈晚而愈佳，但乾物質產量的減少會造成粗蛋白質產量隨之下降，降低大豆作為芻料生產的價值。而本試驗春作的株高在大豆臺南 4 號也有相同趨勢，可能由於綠肥大豆臺南 4 號屬莖葉生長旺盛的品種，對光週期敏感，在春作長日下生育旺盛，為無限型生長，因此其株高有顯著提升；但在秋作大豆臺南 4 號的株高不及在春作的生長表現，可能因為秋作日照時間較短及氣溫偏低，造成株高下降。

芻料大豆莖稈的粗蛋白質含量平均為 12 至 14%，葉為 19 至 20%，豆莢依成熟度由 12 至 27% (Miller *et al.*, 1973)，故於 R7 生育階段收穫的豆莢粗蛋白質含量高，Sheaffer *et al.* (2001) 亦指出大豆豆莢 (含種子) 的蛋白質含量，高於莖及葉之含量，故豆莢占全株乾重比例的多寡會影響大豆的芻料品質，而豆莢占全株乾重之比例愈高，大豆全株之粗蛋白質含量將愈高。大豆在溫帶作為芻料，其 R7 生育階段收穫之全株粗蛋白質含量為 15.7

至 23.0% (Hintz *et al.*, 1992; Açikgöz *et al.*, 2013)，本試驗春秋作在 R7 生育階段收穫的豆莢占全株乾重比例，均以大豆臺南 3 號的 22.38% (春作 120 天) 及 75.14% (秋作 90 天) 高於大豆臺南 4 號的 9.51% (春作 120 天) 及 65.10% (秋作 90 天)，且大豆臺南 3 號在 R7 生育階段收穫的全株粗蛋白質含量亦隨之提高，在春作 120 天及秋作 90 天時，分別為 15.61% 及 16.08%，但大豆臺南 4 號在春作 120 天及秋作 90 天時，僅分別為 11.33% 及 12.14%，說明不論春作及秋作，均以大豆臺南 3 號作為芻料生產較 4 號具有理想之粗蛋白質含量。

豆莢占全株乾重比例較高的品種有助於芻料品質的提升，但仍需要搭配較高的全株產量才利於芻料生產。Rogers *et al.* (2017) 指出，大豆在 R6 的粗蛋白質含量以豆莢最高 (23.4 – 26.9%)，葉次之 (17.8 – 21.2%)，莖最低 (7.6 – 8.1%)。纖維含量則是葉與豆莢相近，酸洗與中洗纖維分別為 24.1 – 28.5% 與 30.5 – 36.3%，而莖的纖維含量較高，酸洗與中洗纖維分別為 54.6 – 55.7% 與 64.2 – 65.3%。雖然本研究未分拆莖、葉與豆莢分析，但在 R7 生育階段 (春作 120 天、秋作 90 天) 下，相較於綠肥大豆臺南 4 號，子實用大豆臺南 3 號在春作及秋作的粗蛋白質含量均較高，而酸洗及中洗纖維含量均較低，推測子實用大豆臺南 3 號具有較佳的芻料品質可能來自於有較高的豆莢占全株乾重比例；然而子實用大豆臺南 3 號的粗蛋白質含量雖然較高，但在春作其鮮草產量及乾物質產量低於綠肥用大豆臺南 4 號，造成綠肥用大豆臺南 4 號在春作的粗蛋白質產量 (1.96 mt/ha) 優於子實用大豆臺南 3 號 (1.50 mt/ha)，相對的可供應在單位面積的芻料營養價值較佳，但在秋作綠肥用大豆臺南 4 號的粗蛋白質產量 (0.61 mt/ha) 則與子實用大豆臺南 3 號 (0.65 mt/ha) 差異不大，估算單位面積粗蛋白質年總產量，大豆臺南 4 號可達 2.57 mt/ha，大豆臺南 3 號可達 2.15 mt/ha，然盤固草約 1.50 mt/ha，狼尾草則可達 3 – 4 mt/ha，說明大豆臺南 3 號及 4 號均具有作為豆科芻料利用之潛力，有望緩解倚賴進口豆科芻料的問題。許等 (2009) 研究指出綠肥大豆臺南 4 號於盛花期 (50% 開花) 收割時，其化學成分不受生長季節及地區之影響而有很大的變化，而株高及乾物質產量在臺南、屏東及臺東均以春作較秋作為高，另吳及連 (2004) 報告中說明綠肥大豆臺南 4 號之鮮草產量為 20 – 37 mt/ha，若換算為乾物質產量則為 5.4 – 9.9 mt/ha，本試驗大豆臺南 3 號及 4 號在臺南春秋作不同生長日數下收割，其中綠肥用大豆臺南 4 號在春作的平均表現 (株高 112.26 cm、鮮草產量 34.23 mt/ha 及乾物質產量 10.38 mt/ha) 均較秋作 (株高 76.11 cm、鮮草產量 13.26 mt/ha 及乾物質產量 3.98 mt/ha) 為佳，而子實用大豆臺南 3 號在株高、鮮草產量及乾物質產量的平均表現，亦有相同的趨勢，可能由於大豆對光週期敏感，在春作長日照下莖葉生育旺盛，但在秋作日照時間短及氣溫偏低下，易抑制大豆的營養生長；然大豆臺南 3 號及 4 號之平均植體化學成分含量，如粗蛋白質、水溶性碳水化合物、酸洗纖維及中洗纖維在春秋作之間則沒有很大的變化。

蕭等 (2003) 的研究指出，中東苜蓿具有高產、高品質及再生能力強之潛力，但若在高溫多雨下，其生長亦易受阻甚至造成死亡，在中南部於秋冬雨水較少的季節可開發為臺灣豆科牧草的來源。本試驗由於中東苜蓿在春作 90 天的割期過長，且植株已有老化的情形，導致春作中東苜蓿的平均株高及平均乾物質產量之表現均偏低，而中東苜蓿在秋作 12 月青刈完再生 70 天後收割，此時苜蓿再生速度快，有利於提高產量，故其鮮草產量及乾物質產量均顯著提升，雖然其秋作平均株高亦低於大豆臺南 3 號及 4 號，但其平均乾物質產量與大豆臺南 3 號及 4 號相近；然春作及秋作的粗蛋白質、水溶性碳水化合物、酸洗纖維及中洗纖維平均含量在大豆臺南 3 號、4 號及中東苜蓿之間均沒有太大的變化。大豆作為芻料使用並非僅著重子實產量，雖然較高的豆莢占全株乾重比例有助於芻料品質的提升，但仍需要搭配較高的全株產量，以提供較高的單位面積粗蛋白質產量及適當的纖維含量，才能發揮豆科作為芻料利用之目的。大豆臺南 3 號的豆莢占全株乾重比例以春作 120 天 (相當於 R7 生育階段) 最高，但其在 90 天 (相當於 R6 生育階段) 及 120 天的乾物產量與粗蛋白質含量相近，且水溶性碳水化合物、中洗纖維及酸洗纖維含量在春作 90 天最佳，另秋作 60 天及 90 天的乾物產量、粗蛋白質、水溶性碳水化合物、中洗纖維及酸洗纖維含量相近，但其 60 天仍在營養生長期尚未結莢，非適合作為芻料利用的收穫階段，然 90 天 (相當於 R7 生育階段) 的豆莢占全株乾重比例較高，推論大豆臺南 3 號在春作及秋作皆以 90 天收穫為宜；大豆臺南 4 號的乾物產量及豆莢占全株乾重比例，皆以相當於 R7 生育階段的春作 120 天及秋作 90 天表現較佳，可提供較高的單位面積蛋白質產量，推論大豆臺南 4 號分別在春作 120 天及秋作 90 天收穫為宜。另以全開花苜蓿的相對飼養價值 (relative feed value, RFV) 為 100，估算大豆臺南 3 號及 4 號在春、秋作不同生長日數下的相對飼養價值，結果顯示大豆臺南 3 號及 4 號在春秋作各生長日數下皆有達 100 以上，其中大豆臺南 3 號在春作 90 天的相對飼養價值較高 (157.8)，而在春作 120 天的相對飼養價值較低 (113.3)，然大豆臺南 4 號則在春作 60 天較高 (130.3)，120 天較低 (101.3)；大豆臺南 3 號及 4 號在秋作皆以 60 天的相對飼養價值較高，分別為 142.5 及 131.5；另在相同期作別及相同生長日數下比較，均以大豆臺南 3 號的相對飼養價值高於 4 號。國內目前尚缺乏芻料大豆品種，相關研究僅指出具有高產特性的綠肥大豆可供作芻料使用 (Chang *et al.*, 2012)，而豆科作物之粗蛋白質含量較高，酸鹼緩衝能力高，且水溶性碳水化合物相對較低，因此青貯調製時，若密封不

良，易產生氨，致 pH 值不易下降，易使青貯料品質變劣，建議適當混合添加玉米粉或禾本科牧草，能夠改善大豆不易製成良好青貯料的問題 (Chang *et al.*, 2012；張等，2011；王及陳，2015)。本研究僅以新鮮收割的豆科作物進行農藝性狀、產量及植體營養成分之初步評估，顯示國產子實用大豆臺南 3 號及綠肥用大豆臺南 4 號可提供作為豆科芻料使用，然芻料利用模式多元，其適合的利用模式則有待更進一步的研究探討。

結 論

目前在臺灣地區主要種植的綠肥作物如綠肥大豆和田菁，除生長良好外，亦可經由調製生產品質優良的芻料。而大豆臺南 3 號及 4 號對臺灣氣候的適應性良好，機械栽培制度也已建立完全，由試驗結果得知春作及秋作的大豆臺南 3 號及 4 號在營養成分如粗蛋白質、水溶性碳水化合物、酸洗纖維及中洗纖維之平均含量與優質豆科芻料中東苜蓿差異不大，且在 R7 生育階段（春作 120 天、秋作 90 天）收穫時，皆以大豆臺南 3 號較 4 號具有理想的粗蛋白質含量。本試驗芻料利用可行性初步評估結果顯示，在相同期作別及相同生長日數下，均以大豆臺南 3 號的相對飼養價值高於 4 號，又大豆臺南 3 號在春作及秋作皆以 90 天收穫為宜，而大豆臺南 4 號分別在春作 120 天及秋作 90 天收穫為宜。國內目前雖缺乏芻料用大豆品種，但藉由評估國產優良豆科作物作芻料利用，搭配合適的品種及播種期，可補充國內豆科芻料來源之不足，並作為國產芻料用大豆品種選育之參考。

參考文獻

- 王啟柱。1956。苜蓿之生態及其在臺灣之栽培。科學農業 4(4)：141-154。
- 王紓愍、陳嘉昇。2015。不同禾豆科組合之青貯料品質及營養成分。畜產研究 48(2)：100-106。
- 朱明宏、陳嘉昇。2016。播種期及品種對春作大豆作為芻料利用之影響。畜產研究 49(4)：304-311。
- 朱明宏、陳嘉昇、林汶鑫。2020。不同品種與播種期對於秋作大豆作為芻料之影響。臺灣農學會報 21(1)：55-67。
- 成游貴、吳建福、羅國棟、唐清岑、張溪泉、陳文、黃耀興。1992。狼尾草育種改良。畜產研究 25(2)：151-170。
- 成游貴、陳嘉昇、吳建福。1995。矮性狼尾草產量與品質之改良。畜產研究 28(4)：285-294。
- 成游貴、黃耀興、陳嘉昇、李美珠。1997。地區性狼尾草品系選拔及飼養模式之研究。畜產研究 30(2)：171-181。
- 林正斌、楊翎、劉景平。2007。淹水對苜蓿產量、品質及根部組織之影響。畜產研究 40(3)：193-202。
- 吳昭慧、連大進。2004。豆科綠肥在休耕田的栽培利用。臺南區農業專訊第 50 期：p8-12。
- 連大進、游添榮、吳昭慧、吳振碩、王裕權。1998。黑豆新品種臺南 3 號之育成。臺南區農業改良場研究彙報 35：14-24。
- 連大進、吳昭慧、黃山內、游添榮、王裕權。2000。綠肥大豆新品種臺南 4 號之育成。臺南區農業改良場研究彙報 37：1-16。
- 許福星、張世融、陳玉燕、張溪泉、陳文、顏素芬。2009。綠肥作物供作芻料利用之評估 I. 綠肥作物之產量及化學成分分析。畜產研究 42(1)：55-62。
- 陳嘉昇、王紓愍、張敏郎、朱明宏。2013。青割玉米「墾丁 1 號」之育成。中畜會誌 (增刊) 42：272。
- 陳勃聿、許進德、蕭素碧。2017a。尼羅草臺畜草二號之育成。畜產研究 50(3)：207-212。
- 陳勃聿、許進德、蕭素碧。2017b。甜高粱臺畜一號之育成。畜產研究 50(1)：37-44。
- 陳勃聿、許進德、蕭素碧。2019。尼羅草臺畜草 3 號之育成。畜產研究 52(4)：227-233。
- 張世融、盧啟信、陳玉燕、張溪泉、陳文、顏素芬、許福星。2011。綠肥作物供作芻料利用之評估 II. 綠肥作物之青貯品質研究。畜產研究 44(2)：105-114。
- 張敏郎、廖麗貞。2019。芻料高粱墾丁一號之育成。畜產研究 52(3)：153-164。
- 蕭素碧、羅國棟、許福星、洪國源、盧啟信、陳坤照、金文蔚、陳文、陳玉燕、張溪泉、黃耀興。1997。蘇丹草臺畜草一號之育成。畜產研究 30(4)：337-350。
- 蕭素碧、許福星、成遊貴、陳振耕、何千里。2000。國產芻料作物品種簡介。行政院農業委員會畜產試驗所專輯第 69 號：1-3。
- 蕭素碧、林正斌、金文蔚、陳文、陳玉燕、張溪泉、顏素芬。2002。尼羅草臺畜草一號之育成。畜產研究 35(2)：91-100。
- 蕭素碧、林正斌、許進德。2003。臺灣引進豆科牧草產量與品質之評估。畜產研究 36(1)：45-52。

- Açikgöz, E., M. Sincik, G. Wietgreffe, M. Sürmen, S. Çeçen, T. Yavuz, C. Erdurmuş, and A. T. Göksoy. 2013. Dry matter accumulation and forage quality characteristics of different soybean genotypes. *Turk. J. Agric. For.* 37: 22-32.
- Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. In: *Method of Soil Analysis. Part 2.* 2nd ed. AL Page (ed.) Amer. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, USA. pp. 610-613.
- Chang, S. R., C. H. Lu, H. S. Lur, and F. H. Hsu. 2012. Forage yield, chemical contents and silage quality of manure soybean. *Agron. J.* 104: 130-136.
- Chitoshi, H. and K. Yoshiaki. 1980. Determination of glucose by a modification of Somogyi-Nelson method. *Agric. Biol. Chem.* 44 (12): 2943-2949.
- Darmosarkoro, W., M. M. Harbur, D. R. Buxton, K. J. Moore, T. E. Devine, and I. C. Anderson. 2001. Growth development and yield of soybean lines developed for forage. *Agron. J.* 93: 1028-1034.
- Foster, J. L., A. T. Adesogan, J. N. Carter, L. E. Sollenberger, A. R. Blount, R. O. Myer, S. C. Phatak, and M. K. Maddox. 2009. Annual legumes for forage systems in the United States Gulf Coast region. *Agron. J.* 101: 415-421.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Application). In: *Agric. Handbook No. 379.* ARS-USDA. Washington, DC, USA. pp. 8-9.
- Hackleman, J. C. 1924. The future of the soybean as a forage crop. *Agron. J.* 16: 228-236.
- Heitholt, J. J., D. Kee, J. B. Farr, J. C. Read, S. Metz, and C. T. MacKown. 2004. Forage from soybean provides an alternative to its poor grain yield in the southern Great Plains. *Crop Manage.*
- Hintz, R. W., K. A. Albrecht, and E. S. Oplinger. 1992. Yield and quality of soybean forage as affected by cultivar and management practices. *Agron. J.* 84: 795-798.
- Miller, M. D., R. T. Edwards, and W. A. Williams. 1973. Soybean for forage and green manure. p. 60-63. In B. H. Beard and P. F. Knowels (ed.) *Soybean research in California.* California Agric. Exp. Stn. Bull. 862.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153: 375-380.
- Rao, S. C., H. S. Mayeux, and B. K. Northup. 2005. Performance of forage soybean in the southern great plains. *Crop Sci.* 45 (5): 1973-1977.
- Rogers, J., L. Florez-Palacios, P. Chen, M. Orazaly, L. M. Jaureguy, A. Zheng, and C. Wu. 2017. Evaluation of diverse soybean germplasm for forage yield and quality attributes. *Crop Sci.* 57(2): 1020-1026.
- SAS Institute. 2014. *SAS User's Guide: Statistics, Version 13.2 Edition.* SAS Inst. Inc., Cary, NC. USA.
- Seiter, S., C. E. Altemose and M. H. Davis. 2004. Forage soybean yield and quality responses to plant density and row distance. *Agron. J.* 96: 966-970.
- Sheaffer, C. C., J. H. Orf, T. F. Devine, and J. G. Jewett. 2001. Yield and quality of forage soybean. *Agron. J.* 93: 99-106.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* 160: 61-68.

Evaluation of soybean Tainan No. 3 and No. 4 for forage use ⁽¹⁾

Ping Chung ⁽²⁾⁽³⁾ and Tzu-Rung Li ⁽²⁾

Received: Mar. 17, 2022; Accepted: Mar. 9, 2023

Abstract

Many cultivars of excellent gramineous forages have been selected and bred in Taiwan, but it is not easy to produce legume forages with high quality such as alfalfa due to geographical and climatic factors in Taiwan. Therefore, domestic leguminous forages were mostly dependent on imports, which caused the cost of forages to increase. In order to reduce the cost of production for dairy farmers, it was important to develop domestic legume crops as alternative legume forages. Domestic breeding soybean Tainan No. 3 (TN3) and green manure soybean Tainan No. 4 (TN4) were evaluated for the forage use in spring and fall crops. Alfalfa line Middle-east was used as a control variety. The agronomic traits, forage yield and quality of the legume forages with different growth days 60, 90 and 120 days in spring crop, and 60 and 90 days in fall crop were determined. The results showed that the dry matter yield and crude protein content at 90 and 120 days were similar to TN3 in the spring crop. The contents of water-soluble carbohydrates, neutral detergent fiber and acid detergent fiber were the best at 90 days in the spring crop. The soybean was still in the vegetative growth stage without pod formation at 60 days in the fall crop, which was not a harvest stage suitable for use as feed. The pod dry matter percentage of pods per soybean was high at 90 days in the fall crop. It was suggested that TN3 could be harvested at 90 days in both spring and fall crops. However, TN4 might be harvested at 120 days in the spring crop and 90 days in the fall crop to produce a higher protein yield. It was recommended that TN3 and TN4 might be used as domestic legume feed, which could help reduce the dependence on imported legume feed and stabilize the supplementation of domestic feed in Taiwan.

Key words: Forage use, Leguminous forage, Soybean.

(1) Contribution No. 2740 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

玻璃化冷凍保護劑與冷凍解凍程序對山羊胚 解凍後續發育能力之影響⁽¹⁾

康定傑⁽²⁾⁽⁶⁾ 曾楷屏⁽⁴⁾ 黃曲佑⁽²⁾ 陳裕信⁽³⁾ 曲鳳翔⁽³⁾ 林信宏⁽⁴⁾ 邢相媛⁽⁵⁾ 沈朋志⁽⁶⁾⁽⁷⁾

收件日期：111 年 6 月 13 日；接受日期：112 年 3 月 25 日

摘 要

本研究之目的係比較二種胚玻璃化冷凍劑組成及冷凍程序，對不同發育階段山羊胚經冷凍解凍後之體內及體外發育能力之影響。試驗共觀察到 99 個黃體，回收 71 個胚（桑葚胚 18 個，囊胚 36 個，發育中止胚 17 個），分為兩組進行，每組之冷凍程序各含兩個階段，第一組為 ethylene glycol (EG)+ dimethyl sulfoxide (DMSO) 與 0.5 M 海藻糖 (trehalose) 組（7 個桑葚胚，15 個囊胚）：第一階段冷凍配方為 10% EG，10% DMSO，平衡時間為 5 min；第二階段 16.5% EG、16.5% DMSO 及 0.5 M trehalose，平衡時間 45 s。第二組方法為 EG + PG 組（11 個桑葚胚，21 個囊胚）：第一階段為 2% EG、2% 丙二醇 (propylene glycol, PG) 0.4 M 海藻糖，平衡時間 12 min；第二階段為與 17.5% EG、17.5% PG 及 0.4 M 海藻糖，平衡時間 30 s 結果顯示 EG + PG 組於囊胚解凍後於 38.8℃、5% CO₂ 及 100% 飽和濕度條件之培養箱中進行培養 2 h 後形態恢復率顯著較 EG + DMSO 組佳 (76.0 ± 2.0% vs. 66.7 ± 23.6%; P < 0.05)；另外，以 EG + PG 組處理之桑葚胚及囊胚後續經胚移置後第 45 天之懷孕率 (66.7 ± 28.8% vs. 66.7 ± 57.7%) 及胚移置效率 (60.0 ± 15.0% vs. 55.6 ± 19.2%) 則無顯著差異。綜合試驗結果顯示以 EG + PG 組處理冷凍囊胚，解凍後經 2 h 培養的恢復率較 EG + DMSO 組為佳；惟經 EG + PG 組處理之桑葚胚及囊胚於移置後 45 天之懷孕率及移置胚發育率則無差異。EG + PG 之處理方法及策略可替代高毒性 DMSO 之使用，並可用於桑葚胚及囊胚之冷凍及胚移置。

關鍵詞：胚移置、胚玻璃化冷凍、山羊。

緒 言

在輔助生殖技術 (assisted reproductive technology, ART) 中，胚冷凍保存可讓胚的利用最大化。但在胚冷凍保存過程中，對胚造成諸多的傷害，直接影響到胚冷凍解凍後之存活率，其中最具破壞性的是細胞內冰晶的形成 (Kasai, 1996, 2002)。為防止細胞內冰晶形成的第一個策略便是使用較低濃度的冷凍保護劑和較長的降溫時間，這種慢速冷凍方法已被證實對多種哺乳動物的胚有效。在早期使用慢速冷凍方式進行胚冷凍時，最常使用的冷凍保護劑是蔗糖、甘油和丙二醇 (Lassalle *et al.*, 1985)；然而，慢速冷凍仍然很難避免冰晶形成造成的傷害，且長時間將胚儲存於液態氮中 (Hartshorne *et al.*, 1991; Menezo *et al.*, 1992)，增加了污染以及氧化傷害的可能性。Rall and Fahy (1985) 首創玻璃化冷凍方法，試驗以 20.5% (w/v) dimethyl sulfoxide 搭配 15.5% (w/v) 乙醯胺 (acetamide)、10% (w/v) propylene glycol 及 6% (w/v) EG 為冷凍保護劑，以快速降溫方式 (2,500°C min⁻¹) 達到減少冰晶形成，確保胚在冷凍過程中冰晶傷害可降到最低。玻璃化冷凍複雜之處在於使用高濃度冷凍保護劑時，其毒性會對胚造成傷害。為了防止這種情況，通常使用兩步驟平衡，胚先在較低濃度 4 – 10% 冷凍保護劑溶液中平衡，然後將胚移至高濃度 25 – 35% 冷凍保護劑中，經 30 – 60 s 短暫暴露後旋即置入液態氮中冷凍。玻璃化冷凍過程中胚平衡時間取決於冷凍保護劑濃度和溫度，因為冷凍保護劑的滲透性和毒性受溫度的影響。因此胚冷凍策略即為影響胚解凍後存活率與發育能力的關

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2741 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場。

(5) 國立中興大學生物醫學研究所。

(6) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。

(7) 通訊作者，E-mail: pcshen@mail.npust.edu.tw。

鍵 (Menezo *et al.*, 1992)。本研究以不同冷凍保護劑種類、濃度搭配、平衡時間及解凍溫度，並以胚移置來驗證新策略對山羊桑椹胚及囊胚玻璃化冷凍解凍後之胚移置效率。

材料與方法

I. 試驗動物申請

試驗所使用之動物均依法申請，經行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所實驗動物照護及使用小組審查通過，核准編號畜試恆動字第 110003(LRI IACUC 110003)。

II. 供胚、受胚母羊及發情同期化處理

本試驗使用之供胚母羊為恆春分所自行繁殖，年齡介於 2 至 3 歲齡之臺灣黑山羊恆春品系，每頭羊至少經過 1 個產次。試驗使用 10 頭供胚母羊，進行 15 頭次取胚手術，其中 5 頭取胚 2 次。發情同期化處理使用 CIDR® (controlled internal drug release, CIDR®, EAZI-breed, Rydalmere, Australia)，搭配孕馬血清激性腺素 (pregnant mare's serum gonadotropin, PMSG, Prospec-Tany, Israel) 及 前列腺素 F2α (prostaglandin F2α, PGF2α, analogue cloprostenol, Estrumate, Vet Pharma Friesoythe GmbH) 進行。CIDR® 植入陰道為第 0 天，第 9 天肌肉注射 PGF2α (5.3 mg/0.5 mL) 及 PMSG 700 IU，第 11 天移除 CIDR®，並於 CIDR® 移除後 12 小時觀察母羊發情狀況，若有發情徵候即移入公羊進行複次配種 (第一次成功配種 6 h 後再進行第二次配種)。配種後第 19 天進行外科手術胚收集。

III. 山羊胚收集與移置

(i) 動物麻醉

每頭母羊於術前肌肉注射 0.2 mg/kg xylazine (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Germany) 與 0.025 mg/kg 硫酸阿托品 (atropine sulfate, 信東生技股份有限公司, 臺灣)，先行基礎鎮靜 10 min 後，續以靜脈注射 0.75 mg/kg 之舒泰 50® (Zoletil 50, Zolazepam base, 25 mg/mL, Virbac, French) 進行先導麻醉，後以異氟醚 (Isoflurane, Piramal Healthcare, India) 進行氣體麻醉。

(ii) 外科手術胚收集

供胚羊經上述處理後於第 19 天進行腹腔外科手術。首先檢視卵巢外觀 (圖 1)，觀察並記錄卵巢上之排卵點後，以含 1% fetal bovine serum 之 dulbecco's phosphate-buffered saline 沖胚液，由繖部沖洗，於子宮角及子宮體交接處收集，左右兩側沖洗液分別收集於 50 mL 無菌離心試管中靜置沈澱，經以無菌吸管吸取其下層含沉澱物液體，移置解剖顯微鏡下進行胚收集。收集之體內發育山羊胚，再以含 5% FBS 之 M-199 (Media 199, Thermo Fisher Scientific Inc, United States) 至少清洗 3 次後，依據 Putney *et al.* (1988) 所述桑椹期或囊胚期進行胚分級後，進行玻璃化冷凍保存。

IV. 山羊胚玻璃化冷凍及解凍

(i) 玻璃化冷凍

本研究使用兩種玻璃化冷凍配方及策略進行山羊胚之玻璃化冷凍。玻璃化冷凍均使用兩階段平衡冷凍。第一組為 ethylene glycol + DMSO 組：第一階段冷凍配方為 10% EG，10% DMSO，0.5 M trehalose，平衡時間 5 min；第二階段 16.5% EG、16.5% DMSO 及 0.5 M trehalose，平衡時間 45 s。第二組為 EG + PG 組：第一階段 2% EG、2% PG 及 0.4 M trehalose，平衡時間 12 min；第二階段 17.5% EG、17.5% PG 及 0.4 M trehalose，平衡時間 30 s。平衡完後之山羊胚依據胚期進行分組後以每個冷凍板 (Cryotop®, No. 81111, KITAZATO, Japan) 放置 3 個胚的方式直接插入液態氮中進行冷凍。

(ii) 解凍

冷凍山羊胚自液態氮移出後，即依照不同處理組程序進行解凍。解凍方式會隨著冷凍方式而有不同亦分成兩組，EG + DMSO 組：含 0.5 M trehalose 之 20% FBS M-199，溫度 38.5°C，平衡 30 s 後，移入含 0.2 M trehalose 之 20% FBS M-199，溫度 38.5°C，平衡 2 min，再移入含 0.1 M trehalose 之 20% FBS M-199，溫度 38.5°C，平衡 5 min。最後再移入含 5% FBS 之 M-199 胚培養液中，於 38.5°C、5% CO₂ 及 100% 濕度條件之培養箱中進行培養 2 h 進行形態恢復觀察後進行胚移置。另 EG + PG 組：將 0.4 M trehalose 之 20% FBS M-199 解凍液置於 3.5 cm 培養皿 (No. 150326, Thermo Scientific™ Cell Culture Dishes, Massachusetts, United States)，並置於 42°C 加熱板上 (HI1220, Leica, Illinois, United States) 至少 20 min 平衡。胚自液態氮移出後置入 42°C 解凍液解凍 5 s，隨後將胚移至溫度 38°C 之含 0.2 M trehalose 之 20% FBS M-199 培養液，平衡 1 min，續移至溫度 38°C 含 0.1 M trehalose 之 M-199 (含 20% FBS) 培養液平衡 1 min 後，再移入溫度

38℃含 0.05 M trehalose 之 M-199 (含 20% FBS) 培養液平衡 1 min (Tamas *et al.*, 2014)。最終移入含 5% FBS 之 M-199 胚培養液中，於 38.8℃、5% CO₂ 及 100% 濕度條件之培養箱中進行培養 2 h。進行形態恢復觀察後進行胚移置 (圖 2)。



圖 1 供胚羊卵巢黃體。

Fig. 1. The corpus luteum of the donor ovary.

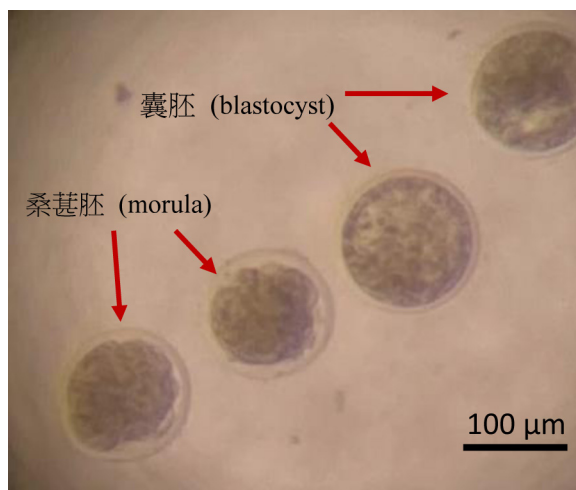


圖 2. EG + PG 處理組山羊胚解凍 2 h 後之形態。

Fig. 2. Morphological restoration of the frozen-thawed embryos 2 h after cultured in the EG + PG treatment group.

V. 懷孕檢測

移胚後 45 及 72 天以超音波掃描儀 (Aloka, SSD-500, Japan) 配合直腸探棒 (Aloka, Transrectal probe, linear type, 3.5 MHz, Japan)，經由子宮腔內宮阜與胎兒影像確診懷孕之母羊。

VI. 資料統計

本試驗各處理組以 SAS(statistical analysis system, SAS, 2012) 套裝軟體中 t-test 進行變異分析 (analysis of variance, ANOVA)，各處理組性能表現平均值間之差異顯著性以 $P < 0.05$ 為具差異顯著性。

結果與討論

本研究以不同之山羊胚玻璃化冷凍保護劑組合及程序，評估其對山羊胚玻璃化冷凍解凍後品質與後續發育之影響。供胚羊以外科腹腔手術進行體內胚收集，收集之山羊胚均分後依不同組別設計進行處理。在 15 次供胚羊腹腔外科手術中，共觀察 99 黃體，收集 71 個山羊胚，包含桑葚胚 18 個 (25.4%)，囊胚 36 個 (50.7%)，未受精、退化或發育停滯胚 17 個 (23.9%) (表 1)。

比較不同冷凍配方 (EG + DMSO, EG + PG) 處理之桑葚胚及囊胚經過冷凍解凍後，於 38.8℃、5% CO₂ 及 100% 濕度條件下進行 2 h 之培養，結果顯示利用 EG + DMSO 組及 EG + PG 組的桑葚胚於解凍後培養 2 h 之形態恢復率分別為 $55.6 \pm 9.6\%$ vs. $63.9 \pm 12.7\%$ ；囊胚之恢復率則為 $66.7 \pm 23.6\%$ vs. $76.0 \pm 2.0\%$ ，EG + PG 組在囊胚解凍後恢復率表現上明顯優於 EG + DMSO 組 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 1. 山羊胚收集時之黃體數、胚回收率及各胚期胚數

Table 1. The number of corpus luteum, the recovery rate and developmental stage of harvested goat embryos

No. of corpus luteum	No. of embryos recovered (%) [*]	No. of embryo development (%)		
		Morula	Blastocyst	Developmental arrest
99	71 (71.7)	18 (25.4)	36 (50.7)	17 (23.9)

^{*} 10 does with 15 times surgical embryo recovery.

表 2. 不同處理組冷凍胚數量及解凍後 2 h 胚形態恢復百分比

Table 2. The effect of different cryopreservation methods on the morphological restoration rate of morula and blastocyst embryos 2 h after post-thawing culture

Treatment group	No. of frozen embryos and stage		No. of retorted embryos and the developmental stage	
	Morula	Blastocyst	Morula (%) ¹	Blastocyst (%) ¹
EG + DMSO	7	15	4 (55.6 ± 9.6%)	10 (66.7 ± 23.6%) ^b
EG + PG	11	21	7 (63.9 ± 12.7%)	16 (76.0 ± 2.0%) ^a

^{a, b} Values without the same superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

¹ No. of morphologically restored embryos 2 h after culture/ no. of frozen-thawed embryos.

Alex and Higgins (2013) 研究指出，EG、DMSO 和 PG 在 21℃ 時的滲透率分別為 6.4、8.4 和 4.0 $\mu\text{m}/\text{min}$ 。一般正常情況下，水分子在 20 – 25℃ 條件下的擴散速率是 0.195 – 1.150 $\mu\text{m}/\text{min}$ ，若是滲透速率過高則會導致細胞膜內外滲透壓差太大而受到損傷。DMSO 已被證明會引起卵母細胞紡錘體聚合，從而增加多倍體形成的可能性 (Kola *et al.*, 1988)，因此常會以 1:1 的方式搭配 EG 或 PG 使用以降低風險 (Gupta *et al.*, 2010)。本研究 EG + PG 組使用了較低的第一階段冷凍保護劑總濃度 (2% EG + 2% PG)，並以較長的時間 (12 min) 予以平衡，使冷凍保護劑能擁有較為充裕的時間置換入細胞內，減緩了細胞膜內外滲透壓差造成的傷害。使胚於冷凍平衡時不須在短時間內 (3 – 5 min) 再受到第二階段高濃度冷凍保護劑衝擊，藉以降低傷害。此做法相較於一般常見與羊胚冷凍時第一階段冷凍保護劑總濃度為 20% (林等, 2018; Vajta *et al.*, 1998) 者不同，解凍後培養 2 h 的恢復率亦較林等 (2018) 為佳 (76.0% vs. 47.7 – 66.6%)。在評估胚存活率，最直接的方法便是進行胚移置，然而移置前藉由胚解凍後恢復形態之時間與其後續發育至孵化囊胚之能力，或可為初步的評估指標 (Kim, 2003; Kim, 2004)。

在解凍溫度上，本試驗中 EG + PG 處理組之冷凍胚解凍溫度為 42℃ 停留 5 s，使用之溫度異於一般 37 – 38.5℃ (林等, 2018)。希望藉由較高的解凍溫度減少胚承受解凍傷害的時間，減少損害影響。在解凍晚期胚，如桑葚胚及囊胚階段，冷凍損傷的評估變得非常複雜，一般可接受的胚存活率及胚移置標準為冷凍處理後，解凍後至少有 50% 胚存活。然而即便是符合胚移置標準，多數胚解凍後經過後續體外培養，在細胞數上均不及體內胚，這表示解凍後之囊胚雖然還活著，但是發育能力已經受損，導致胚移置的成功率相對降低 (Guerif *et al.*, 2002)。

在探討不同胚期的胚對冷凍解凍及胚移置的影響試驗中，以 EG + PG 組處理之桑葚胚及囊胚進行解凍後之胚移置，結果顯示移置後 45 天以超音波進行懷孕檢測之懷孕率分別為 66.7 ± 28.8% vs. 66.7 ± 57.7%；而在胚移置效率上桑葚胚及囊胚為 60.0 ± 15.0% vs. 55.6 ± 19.2%，桑葚胚及囊胚移置後之懷孕率及移置胚發育率均無顯著差異 (表 3)。於體外受精及培養的胚發現，在原核期進行冷凍解凍後的胚，存活率較囊胚期進行冷凍者佳，此一現象在豬 (Gupta *et al.*, 2010)，牛 (Lim *et al.*, 1991) 及人 (Al-Hasani *et al.*, 2007) 之研究上均有相似之結果。Fonseca *et al.* (2018) 以冷凍解凍後之桑葚胚與囊胚進行移置後之移置效率為 38.5% 及 62.5%，結果較本試驗的桑葚胚移置效率 (55.6%) 稍差外，囊胚 (60.0%) 移置效率則相似。

表 3. 以 EG + PG 組處理方法進行不同期別之山羊冷凍胚解凍後經移置之懷孕率與胚發育率

Table 3. The pregnancy rate and embryo development rate of different stages frozen-thawed goat embryos after embryo transfer with EG + PG group treatment

Embryo stage	No. of recip-ients	No. of embryos transferred	Pregnancy rate (n) ¹	Kidding rate (n) ²
Morula	5	15	66.7 ± 28.8 (3)	60.0 ± 15.0 (9)
Blastocyst	3	9	66.7 ± 57.7 (2)	55.6 ± 19.2 (5)

¹ No. of recipient pregnancies / no. of recipients (based on ultrasonographic detection on day 45 after embryo transfer).

² No. of offspring / no. of embryos transferred.

綜合上述結果，以 EG + PG 組處理方式進行之山羊胚玻璃化冷凍，在囊胚解凍後經體外培養 2 h 之形態恢復程度上較 EG + DMSO 組稍佳。因此使用本研究中冷凍保護劑 EG + PG 組合、以及冷凍解凍程序可替代使用 DMSO 為抗凍劑之諸多不良影響，提升解凍後囊胚形態恢復之效率。

參考文獻

- 林信宏，黃政齊，康定傑，王得吉，郭廷雍，康獻仁，劉世賢，劉炳燦，彭劭于，沈朋志。2018。冷凍方式對源自體內發育山羊囊胚解凍後發育能力之影響。畜產研究 51(2)：126-133。
- Alex, M. V and A. Z. Higgins. 2013. Membrane permeability of the human granulocyte to water, dimethyl sulfoxide, glycerol, propylene glycol and ethylene glycol. *Cryobiology* 68: 35-42.
- Al-Hasani, S., B. Ozmen, N. Koutlaki, B. Schoepper, K. Diedrich, and A. Schultze-Mosgau. 2007. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? *Reprod. Biomed. Online* 14: 288-293.
- Fonseca, J. F., R. I. T. P. Batista, J. M. G. Souza-Fabjan, M. E. F. Oliveira, F. Z. Brandão, and J. H. M. Viana. 2018. Freezing goat embryos at different developmental stages and quality using ethylene glycol and a slow cooling rate. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 70: 1489-1496.
- Guerif, F., R. Bidault, V. Cadoret, M. L. Couet, J. Lansac, and D. Royere. 2002. Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal. *Hum Reprod.* 17: 1321-1326.
- Gupta, M. K., S. J. Uhm, and H. T. Lee. 2010. Effect of vitrification and beta-mercaptoethanol on reactive oxygen species activity and *in vitro* development of oocytes vitrified before or after *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril.* 93: 2602-2607.
- Hartshorne, G. M., K. Elder, and R. G. Edwards. 1991. The influence of in-vitro development upon post-thaw survival and implantation of cryopreserved human blastocysts. *Hum. Reprod.* 6: 136- 141.
- Kasai, M. 1996. Simple and efficient methods for vitrification of mammalian embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 67-75.
- Kasai, M. 2002. Advances in the cryopreservation of mammalian oocytes and embryos: development of ultrarapid vitrification. *Reprod. Med. Biol.* 1: 1-9.
- Kim, E. Y. 2003. Effect of vitrification method on the *in vitro*/*in vivo* development of bovine follicular oocytes [dissertation]. Konkuk Univ. Seoul. Korea.
- Kim, Y. M. 2004. Development of a new vitrification container of bovine embryo freezing [dissertation]. Konkuk Univ. Seoul. Korea.
- Kola, I., C. Kirby, J. Shaw, A. Davey, and A. Trounson. 1988. Vitrification of mouse oocytes results in aneuploid zygotes and malformed fetuses. *Teratology* 38: 467-474.
- Lassalle, B., J. Testart, and J. P. Renard. 1985. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1, 2 propanediol. *Fertil. Steril.* 44: 645-651.
- Lim, J. M., Y. Fukui, and H. Ono. 1991. The post-thaw developmental capacity of frozen bovine oocytes following *in vitro* maturation and fertilization. *Theriogenology* 35: 1225-1235.
- Menezo, Y., B. Nicollet, and D. Andr. 1992. Freezing cocultured human blastocysts. *Fertil. Steril.* 58: 977-980.
- Putney, D. J. M. Dorst, and W. W. Thatcher. 1988. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between Days 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 30: 195-209
- Rall, W. F. and G. M. Fahy. 1985. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature* 313: 573-575.
- SAS, 2012. SAS User's Guide: Statistics, SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA.
- Schiewe, M. C., M. Bush, L. S. Stuart, and D. E. Wildt. 1984. Laparoscopic embryo transfer in domestic sheep: A preliminary study. *Theriogenology* 22: 675-682.
- Tamas, S., K. Yoshioka, F. Tanihara, H. Kaneko, J. Noguchi, N. Kashiwazaki, T. Nagai, and K. Kikuchi. 2014. Generation of live piglets from cryopreserved oocytes for the first time using a defined system for *in vitro*. *PLoS One* 9: e97731.
- Vajta, G., P. Holm, M. Kuwayama, P. J. Booth, H. Jacobsen, T. Greve, and H. Callesen. 1998. Open pulled straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 51: 53-58

Effects of cryoprotectants frozen-thawed procedures on the development of vitrified goat embryos ⁽¹⁾

Ting-Chieh Kang ⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾ Kai-Fei Tseng ⁽⁴⁾ Qu-You Huang ⁽²⁾ Yu-Hsin Chen ⁽²⁾
Fung-Hsiang Chu ⁽³⁾ Hsin-Hung Lin ⁽³⁾ Hsiang-Yuan Hsing ⁽⁵⁾ and Perng-Chih Shen ⁽⁶⁾⁽⁷⁾

Received: Jun. 13, 2022; Accepted: Mar. 25, 2023

Abstract

The aim of this study was to compare the effects of two vitrified cryoprotective methods on the developmental competence of goat embryos after freezing and thawing. In the first experiment, the collected embryos were divided into two groups, ethylene glycol (EG)+ dimethyl sulfoxide (DMSO) group (7 morulas, 15 blastocysts). The first stage frozen formula was 10% EG, 10% DMSO, 0.5 M trehalose and the equilibration time was 5 min. For the second stage 16.5% EG, 16.5% DMSO and 0.5 M trehalose, the equilibration time was 45 sec. EG + PG group (11 morulas, 21 blastocysts): the first stage was 2% EG, 2% PG and 0.4 M trehalose. The equilibration time was 15 min; the second stage was 17.5% EG, 17.5% PG and 0.4 M trehalose. The equilibration time was 30 sec. A total of 99 corpus luteum were observed and 71 embryos were recovered (18 morulas, 36 blastocysts, and 17 aborted embryos). The experimental results showed that regardless of the EG + DMSO group or the EG + PG group, there was no significant difference in the morphological recovery rate after culturing in the incubator under the conditions of 38.8°C, 5% CO₂ and 100% humidity for 2 h (morula: 55.6 ± 9.6% vs. 63.9 ± 12.7%, blastocyst: 66.7 ± 23.6% vs. 76.0 ± 2.0%). In addition, the morulas and blastocysts treated with the EG + PG were subsequently subjected to embryo transfer. Again, there were also no significant differences in the pregnancy rate and embryo transfer efficiency of morulas and blastocysts (66.7 ± 28.8% vs. 66.7 ± 57.7%, 60.0 ± 15.0% vs. 55.6 ± 19.2%). The comprehensive experimental results showed that the efficiency of the combination of EG and PG was similar to the recovery efficiency after thawing with the EG and DMSO. There was no significant difference in the pregnant rate and embryo transfer efficiency of the morula and blastocyst treated with the EG and PG after transfer. The treatment method and strategy of EG + PG can replace the use of highly toxic DMSO, and can be used for freezing and embryo transfer of morula and blastocyst.

Key words: Embryo transfer, Embryo vitrification, Goat.

(1) Contribution No. 2741 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

(5) Institute of Biomedical Science, National Chung Hsing University, Taichung, 40227, Taiwan, R. O. C.

(6) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, 91201, Taiwan, R. O. C.

(7) Corresponding author, E-mail: pcshen@mail.npust.edu.tw..

不同冷凍保護劑對紐西蘭白兔精子性狀之影響⁽¹⁾

蔡佩均⁽²⁾⁽⁵⁾ 陳裕信⁽³⁾ 康定傑⁽⁴⁾ 陳立人⁽²⁾

收件日期：111 年 9 月 14 日；接受日期：112 年 3 月 25 日

摘 要

本研究的目的是比較不同兔精液冷凍保存步驟，以找出最適合的冷凍方法，提升解凍後精子之活動力 (motility)、存活率 (vitality) 及精子前進值 (progressive motility) 等性狀表現。試驗將採樣自不同個體的兔精液先在 5°C 降溫後，以含有 0.5% BSA (bovine serum albumin) 與 0.1 M 或 0.058 M sucrose 之 Tris-citrate-glucose (TCG) 為基礎液，添加 6、10 或 16% DMSO (dimethyl sulfoxide)、4% Ficoll70 或 10% LDL (low-density-lipoprotein) 等不同組合冷凍稀釋液 (extender) 稀釋混合。再將此等精液混合液充填入 0.25 mL 之麥管在 5°C 中平衡 45 min，然後放置於液態氮蒸氣 (距液面 5 cm 處) 進行冷凍降溫 10 min，最後再移入液態氮中保存。冷凍解凍後以電腦輔助精子分析儀進行包含精子活力、精子存活率、精子前進值等性狀之分析。試驗結果顯示，最佳的兔精液冷凍操作條件為使用含 10% DMSO 作為冷凍保護劑，且以單一步驟冷凍法進行操作可以獲致解凍後於兔精子最佳活力 ($40.19 \pm 7.65\%$)、存活率 ($31.45 \pm 6.6\%$) 及精子前進值 ($15.23 \pm 2.77\%$) 之結果。

關鍵詞：冷凍保護劑、兔、精液冷凍保存。

緒 言

精子之冷凍保存技術可保存珍貴動物之遺傳資源及解決長途運送精子的問題。然而，由於兔之冷凍精液受精率遠低於冷藏者，故尚未被商業化應用在兔之人工授精 (artificial insemination, AI) (López and Alvarino, 2000; Mocé and Vicente, 2009; Kubovicova *et al.*, 2021)。冷凍保存極易改變精子中粒線體膜的特性與增加其自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的含量，導致 DNA 斷裂而發生細胞凋亡 (apoptosis)，而降低精子存活率 (Kubovicova *et al.*, 2021)。此外，在精子冷凍解凍的過程中，冷凍降溫及解凍回溫時因滲透壓與溫度改變所造成的緊迫，以及細胞內冰晶 (crystal) 形成的傷害，乃為最終導致精子死亡的主要因子 (Holt, 2000)。使用具有細胞滲透性 (permeable) 且可使細胞脫水之冷凍保護劑 (cryoprotectants, CPAs)，可避免精子內冰晶之形成。不論是可滲透性的冷凍保護劑如甘油 (glycerol)、二甲基亞砷 (dimethyl sulfoxide, DMSO)、乙二醇 (ethylene glycol)、醯胺 (amide) 與非滲透性的 (non-permeable) 冷凍保護劑，如醣類 (saccharide)、脂蛋白 (lipoprotein)、水溶性聚蔗糖 (Ficoll) 等都常被加入精子冷凍稀釋液。精子保存方法因不同物種而異，其遺傳特性影響精子大小、型態、膜特性及頭帽 (acrosome) 組成等，故對於冷凍傷害有不同耐受性 (Kulíková *et al.*, 2017)。

用於哺乳動物精子冷凍保存的技術傳統上採用 Polge 等人所研發的慢速冷凍方法 (Polge *et al.*, 1949)，即精液以含有 20% 甘油之卵黃－檸檬酸緩衝液 (egg-yolk-citrate buffer) 稀釋混合，採用慢速降溫進行冷凍保存。兔精子慢速冷凍保存所使用的稀釋液大都以 Tris-citrate-glucose (TCG) 當作基礎液並含有蛋黃、DMSO 或乙醯胺 (acetamide) 作為冷凍保護劑 (Mocé and Vicente, 2009)。此外，大部分試驗步驟是先於 5°C 中平衡，隨後以液態氮氣相層 (vapor phase) 降溫到 -125°C 後移置到液態氮中保存。含不同冷凍保護劑成分稀釋液的降溫速率不同，解凍則通常在 37°C 或更高溫度中以水浴法進行 (Mocé and Vicente, 2009)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2742 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

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

玻璃化法 (vitrification) 則利用高濃度冷凍保護劑配合急速降溫，以避免冰晶形成 (Isachenko *et al.*, 2003)。Rossato and Iaffaldano (2013) 以僅稀釋於 TCG 基礎液，而不含任何冷凍保護劑之兔精子懸浮液 (最終濃度 5×10^7 精子/mL)，直接滴入液態氮中進行急速降溫冷凍，解凍得到相當低之精子存活率 (1.8%)。經改善後，Rossato and Iaffaldano (2013) 使用玻璃化法配合一般慢速冷凍法，發現添加 BSA (bovine serum albumin) 及適當比例之蔗糖 (sucrose) 或海藻糖 (trahalose) 做為精子滲透壓保護劑時，DMSO 是最好的可滲性冷凍保護劑，且 10% DMSO 為毒性最低的劑量，可保留公兔精子最大之解凍存活率。其中 BSA/ 蔗糖的組合優於 BSA/ 海藻糖的組合。另外，Kubovicova *et al.* (2021) 在冷凍稀釋液中僅添加 BSA，0.1 M BSA 與 0.25 M 蔗糖或 BSA 與 0.25 M 海藻糖作為冷凍保護劑，可使玻璃化法冷凍的兔精子在解凍後具較高的活動力與細胞膜完整性。

兔精子呈現低滲水性以及高活化能，低滲水性意味著兔精子冷凍稀釋液需要使用較低分子量的冷凍保護劑如 DMSO，或較高滲水性之冷凍保護劑如醯胺，而非較高分子量的甘油或較低滲水性的卵黃 (egg yolk) (Curry *et al.*, 1995)。DMSO 在兔精冷凍過程中有避免細胞內及細胞外冰晶形成的作用。Viudes-De-Castro *et al.* (2014) 研究指出使用含 23.44% (即 3 M) DMSO，配合 0.1 M 非滲透性的冷凍保護劑之蔗糖之組合添加作為冷凍保護劑，比添加蛋黃作為兔精液冷凍保護劑有較佳的效果。Di Iorio (2014) 比較 DMSO (4% 及 8%) 及 DMA (dimethylacetamide) (4% 及 8%) 添加於以 TCG 當作基礎液的冷凍稀釋液中進行兔精子冷凍，結果顯示解凍後的兔精子活動力及存活率以 8% DMSO 組最優 (42.63%, 47.09%)，且頭帽完整性可達 92.02%。Hall *et al.* (2017) 在比較解凍後兔精液之活動力、存活率及體外受精 (in vitro fertilization, IVF) 之結果，指出 7% DMSO 及 17% 卵黃添加於 Tris-glucose-glycerol-saccharide (TGGS) 含 25 mM 葡萄糖 (glucose) 及 25 mM 蔗糖之配方為冷凍保存紐西蘭大白兔精子最有效的配方。

此外，Ficoll70 (Sigma, F2878) 添加於冷凍稀釋液是作為非滲透性冷凍保護劑之用，能夠改善解凍後兔精子之品質。Iaffaldano *et al.* (2014) 評估與蔗糖合併添加時，Ficoll70 當作第二個非滲透性冷凍保護劑對兔精子解凍後的效果，進行人工授精測試後，發現其仔兔出生率與以新鮮精液人工授精後結果很相近；且冷凍解凍後之兔精子頭帽及細胞膜完整度均比僅添加蔗糖者顯著較佳。推測 Ficoll70 之添加提高了冷凍稀釋液的黏稠度，在冷凍過程中可穩定精子之細胞膜、減少冰晶形成與機械性的傷害，因而提高精子存活率 (Iaffaldano *et al.*, 2014)。Kulíková *et al.* (2015) 將 Ficoll70 加入兔玻璃化精子冷凍稀釋液中當作非滲透性精子保護劑，發現對精子性能有大幅增進效果，特別是用 37°C 解凍後 30 min 內，Ficoll70 添加組之兔精子表現出顯著較高的精子活動力、存活率及精子前進值，且精子頭帽完整性也顯著高於對照組。基於前人研究結果，本試驗選用不同濃度的 DMSO 配合其他冷凍保護劑進行兔精液冷凍，以比較不同配方的冷凍保護劑及不同冷凍操作對於紐西蘭白兔精子冷凍解凍後性狀的影響。

材料與方法

I. 試驗動物之飼養管理

試驗用之紐西蘭大白兔來自行政院農業委員會畜產試驗所兔舍，飼養於半開放式兔舍，籠架長 90 cm，寬 45 cm，高 50 cm；採自然光照，無冷氣空調控制溫濕度，飲水由自動給水裝置供應，飼料由畜產試驗所提供，飼料餵飼採任飼，公及母兔在 5 週齡離乳，為避免打鬥受傷，公兔於 3 月齡以上開始單獨飼養。本研究之動物試驗於行政院農業委員會畜產試驗所執行，動物之使用、飼養及實驗內容皆合乎行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護之規定，並經使用小組審查同意進行 (動物實驗申請表暨同意書編號：106-1)。

II. 精液採集

因兔精液量及精液品質受氣溫影響甚鉅 (Marai *et al.*, 2002)，在臺灣熱帶地區半開放式的養兔環境下，本試驗在 10 月底及 2 月中進行 (氣溫範圍 18 – 27°C)。選定 9 隻 7 個月齡以上性成熟之紐西蘭白公兔，及 6 月齡以上外陰部紅腫的紐西蘭白母兔，利用預熱 50°C 之假陰道 (圓筒形矽膠套上 1.5 mL 離心管，圖 1)，待公兔駕乘母兔時套在公兔陰莖進行精液收集。採到的兔精液，正常者為白色至米白色，若呈黃色為尿液污染，呈紅棕色則為血液污染，污染者不進行後續分析。

III. 精子性狀分析

兔精子性狀分析係參考 Rosato and Iaffaldano (2013) 之步驟進行，將新鮮或解凍後的兔精液使用電腦輔助精子分析儀 (Computer Assisted Sperm Analyzer, CASA, microptic S.L., Spain) 之精子分類分析器 (Sperm Class Analyzer®, SCA evolution) 檢測分析精子活動力及前進值。亦即，將精液原液以 TCG 基礎液 (250 mM TRIS-hydroxymethylaminomethane, 88 mM citric acid, 47 mM glucose, pH 6.9) 稀釋成 10^6 sperm/mL，再於 37°C 加熱活化 7 min 後取 3 μ L 注入分析玻片 (standard count 4 chamber slide, Leja, 301115, Netherland)，於顯微鏡 (ECLIPSE Ci,

Nikon, Japan) 下對焦後在 CASA 系統中選取 mot (即活動力) 測定，讓 CASA 系統同時換算出精子濃度並分析其活動力及前進值。而精子存活率測定則是將精子以 1 $\mu\text{g/mL}$ 之 Hoechst33342 (Sigma-Aldrich, B2261, USA) (藍色螢光 EX/EM = 355/465 nm) 及 0.2 mM 之 propidium iodide (Life, L7011, USA) (紅色螢光 EX/EM = 488/615 nm) 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下染色 5 min；精子呈現藍色為存活，橘紅色則為死亡，染色後精子則在螢光顯微鏡下利用濾鏡 Green filter/ Bandpass filter (UV-2A, EX 330-338, DM:400, BA:420) 以 CASA 進行分析，計算出存活率百分比。



圖 1. 採集兔精液之假陰道，一端接 1.7 mL 微量離心管。
Fig. 1. Artificial vagina for rabbit semen collection. One end connects a 1.7 mL microcentrifuge tube.

IV. 兔精液冷凍

(i) 冷凍稀釋液配製：

兔精液冷凍稀釋劑係以為 TCG 基礎液，添加 DMSO (6、10 或 16%)、低密度脂蛋白 (low-density-lipoprotein, LDL) (10%)、蔗糖 (0.1 M 或 0.058 M) 或 4% Ficoll 70 等不同組合之冷凍稀釋液，並調整 pH 值至 6.9 供試。

(ii) 單一步驟冷凍法操作：

將兔新鮮精液放入 5 $^{\circ}\text{C}$ 隔水降溫 90 min，接著分 3 次每次 15 min (共 45 min) 徐徐加入已預冷至 5 $^{\circ}\text{C}$ 之冷凍稀釋液 (配方詳如表 1)，稀釋一倍後，接著將精液混合液填充入 0.25 mL 麥管 (mini straw, 006429, IMV Technologies, France)，再以封口粉 (straw powder, 018816, IMV Technologies, France) 封口，先在 5 $^{\circ}\text{C}$ 冷房中平衡 15 min 後，至於液態氮上方 5 cm 處 (約 -125 – -130 $^{\circ}\text{C}$) 降溫 10 min，再將麥管以 5 支為單位置入鋁製保存管移入液態氮桶中備用。

表 1. 單一步驟冷凍稀釋液配方

Table 1. The composition of the one-steps extender

Ingredients	6% DMSO + 0.1M Sucrose	10% DMSO + 0.1M Sucrose	16% DMSO + 0.058 M Sucrose	10% DMSO + 0.058 M Sucrose	10% DMSO + 0.058 M Sucrose + 4% Ficoll70
Tris, mM	250	250	250	250	250
Citric acid, mM	88	88	88	88	88
Glucose, mM	47	47	47	47	47
Sucrose, M	0.1	0.1	0.1	0.058	0.058
BSA, %	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
DMSO, %	6	10	16	10	10
Ficoll70, %	—	—	—	—	4

(iii) 兩階段式冷凍法操作步驟：

將兔新鮮精液加 4 倍體積的第一階段稀釋液 (TCG 基礎液加 0.1 M sucrose, 0.5% BSA, 配方如表 2 所示) 放入 5°C 隔水降溫 120 min 形成 A 液；之後分 3 次 (每次 10 min) 加入已預先降溫為 5°C 之第二階段稀釋液，使其總體積為 A 液之 2 倍，即精液被稀釋 10 倍。接著將精液混合液填充入 0.25 mL 麥管，再以封口粉封口，在 5°C 冷房中平衡 15 min 後，以液態氮蒸氣降溫 10 min。之後全程於液態氮中操作，將麥管以 5 支為單位塞入鋁製保存管儲存於液態氮桶中。

表 2. 兩階段式冷凍稀釋液配方

Table 2. The composition of the 2 steps extender

Ingredients	First step extender	Second step extender				
		4% DMSO + 10% LDL	10% DMSO + 10% LDL	16% DMSO + 10% LDL	10% DMSO	16% DMSO
Tris, mM	250	250	250	250	250	250
Citric acid, mM	88	88	88	88	88	88
Glucose, mM	47	47	47	47	47	47
Sucrose, M	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
BSA, %	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
LDL, %	10	10	10	10	—	—
DMSO, %	—	4	10	16	10	16

V. 精液解凍

將麥管從液態氮桶中拿出，隨即放入 37°C 水浴槽中加熱 30 s 或 50°C 加熱 10 s，剪開麥管，無去除抗凍劑，直接將解凍精液置於離心管中避光備用。

VI. 統計分析

試驗結果以 SAS (2009) 套裝軟體 (SAS 9.3) 進行統計分析，使用一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，再以最小平方平均法 (least square means, LSMEANS) 比較其差異，並以 $P < 0.05$ 者為具顯著差異之依據。

結 果

I. 精液採集

兔精液採集月份選在氣候較涼爽的 10 月底至 2 月中旬，試驗期間共採集 18 次兔精液。體積、濃度、活動力、存活率及精子前進值數據如表 3。

表 3. 新鮮採集紐西蘭白兔精性狀 (平均值 ± 標準偏差)

Table 3. Characters of freshly collected New Zealand rabbit semen (Mean ± SD)

Volume, mL	Concentration, M/mL	Motility, %	Vitality, %	Progressive motility, %
1.2 ± 0.4	672 ± 366	69.5 ± 15.1	62.5 ± 13.6	31.1 ± 8.0

II. 兔精液單一步驟冷凍之 DMSO 最適添加濃度測試

以 TCG 當基礎稀釋液，添加 0.058 M sucrose、0.5% BSA 兩種非滲透性冷凍保護劑時，採單一步驟冷凍法，比較添加不同濃度之 6、10、16% DMSO 對解凍後兔精子性狀之影響的結果如圖 2 所示。試驗結果顯示，以

10% DMSO 作為冷凍保護劑較 6% 及 16% 者其解凍後精子之活動力 (28.61 ± 3.59 vs. 24.84 ± 3.75 vs. 22.79 ± 4.41) 及精子前進值 (7.37 ± 2.03 vs. 5.27 ± 2.43 vs. 4.32 ± 2.45) 均顯著地有比較佳之表現 ($P < 0.05$)；惟精子存活率方面只有 16% DMSO 數值 (15.38 ± 4.14) 顯著較其他兩種濃度低 ($P < 0.05$)，而 6% DMSO 及 10% DMSO 兩者 (20.42 ± 4.84 vs. 21.69 ± 6.12) 無顯著差異，顯示 10% DMSO 為最佳可滲性冷凍保護劑之添加濃度 (圖 2)。

III. 兔單一步驟冷凍精液解凍最適條件測試

當以 10%DMSO 作為冷凍保護劑時，利用單一步驟冷凍之兔精液採不同解凍的溫度及時間組合，對解凍後精子性狀影響之試驗結果如圖 3 所示。結果顯示，雖然兔冷凍精液於 50°C 作用 10 秒組 (50°C 10 s)，解凍後之精子活動力 (30.36 ± 2.24 vs. 20.87 ± 6.17)、存活率 (31.83 ± 8.8 vs. 27.18 ± 8.08) 及前進值 (24.56 ± 5.6 vs. 15.24 ± 4.4) 雖與 37°C 作用 30 秒組 (37°C 30 s) 間無統計之顯著差異，但卻有較佳趨勢。因此於後續試驗之解凍步驟將均以 50°C 作用 10 s 的條件進行之。

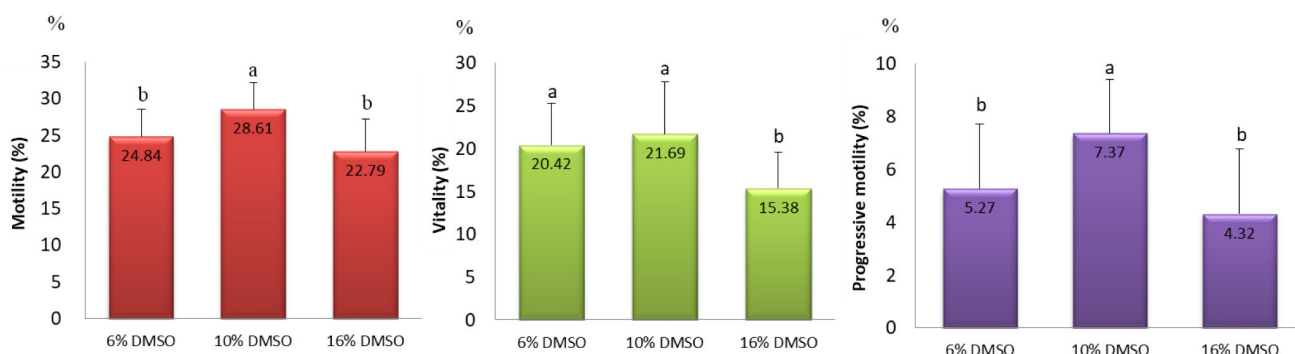


圖 2. 不同濃度 DMSO 對冷凍解凍後紐西蘭白兔精子活動力、存活率及精子前進值的影響。

^{a, b} 表示兩組間有顯著差異 ($P < 0.05$)。

Fig. 2. The effect of different concentration of DMSO on the New Zealand rabbit sperm motility, vitality and progressive motility after frozen-thawed procedure.

^{a, b} Means differ within groups ($P < 0.05$).

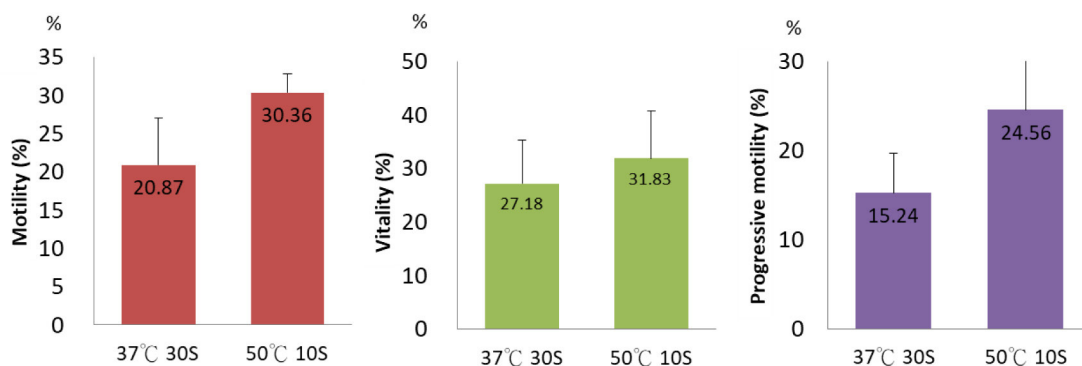


圖 3. 不同解凍溫度和時間對紐西蘭白兔冷凍精液解凍後之精子活動力、存活率及前進值的影響。

Fig. 3. The effect of different thawing temperature and time on the rabbit sperm motility, vitality and progressive motility after frozen-thawed procedure.

IV. 單一步驟冷凍操作下，調整非滲透性冷凍保護劑之測試

以含 10% DMSO 與 0.5% BSA 之 TCG 作為兔精液單一步驟冷凍之基礎冷凍稀釋液，並調整冷凍稀釋液中 sucrose 或額外添加大分子 Ficoll70，對於冷凍解凍後兔精子性狀的影響結果如圖 4 所示。其中，在解凍後兔精子活動力的比較上，添加 0.058 M sucrose 組 ($40.19 \pm 7.1\%$)，顯著 ($P < 0.05$) 高於添加 0.1 M sucrose 組 ($33.35 \pm 2.77\%$) 以及同時添加 0.058 M sucrose 與 4% Ficoll70 組 ($33.35 \pm 3.33\%$)，且添加 0.1 M sucrose 組和同時添加 0.058 M sucrose 與 4% Ficoll70 組之間則無顯著差異。然而，冷凍解凍後精子的存活率和前進值，在添加 0.058 M sucrose 組、添加 0.1 M sucrose 組及添加 0.058 M sucrose 與 4% Ficoll70 組分別為 $31.45 \pm 6.6\%$ 、 $26.5 \pm 3.84\%$ 、 $31.38 \pm 4.36\%$ 與 $15.23 \pm 2.77\%$ 、 $11.99 \pm 1.47\%$ 、 $13.58 \pm 3.37\%$ ，各處理間沒有顯著的差異。

V. 使用兩階段式方法進行兔精液冷凍及解凍

以調整 LDL、DMSO 濃度及添加 4% Ficoll70 與否組合成不同稀釋液配方 (詳如表 2) 進行兩階段式兔精液冷凍之結果如圖 5 所示。其中冷凍解凍後的精子活動力以 16% DMSO + 4% Ficoll70 組顯著最佳 ($20.57 \pm 4.4\%$, $P < 0.05$)；然而在解凍後精子存活率方面，則是以添加 10% LDL 的兩組最佳 ($34.48 \pm 4.9\%$ and $31.79 \pm 2.16\%$, $P < 0.05$)；另在精子前進值方面，4 組間則無顯著差異。

VI. 含不同濃度之 DMSO 之稀釋液對解凍後兔精子品質之影響

以含 6、10 及 16% 三種不同 DMSO 濃度之 TCG 冷凍稀釋液，並以單一步驟冷凍保存至少 7 天解凍之兔精液，在 37°C 下放置 30、60、90 及 120 min 比較分析其活動力、存活率及精子前進值之結果如圖 6 所示。結果顯示，以含 10% DMSO 之 TCG 冷凍稀釋液解凍後之兔精子在 37°C 下放置 90 min 尚可保持較高於其他 DMSO 組的精子活動力 ($28.72 \pm 4.74\%$ vs. $25.09 \pm 3.42\%$ vs. $20.86 \pm 2.77\%$, $P < 0.05$) 及精子前進值 ($7.91 \pm 3.28\%$ vs. $4.91 \pm 1.62\%$ vs. $3.22 \pm 1.33\%$, $P < 0.05$)，且均具有顯著性差異。而解凍後處在 37°C 下含 6、10 及 16% DMSO 之 TCG 持續放置 120 min 後的兔精子之存活率均隨之急遽下降到 22.4% 以下。雖然在含 10% DMSO 之 TCG 組之精子活力與前進值在 37°C 下放置 90 min 後有持續提升的趨勢，但整體而言，當 TCG 冷凍稀釋液中之 DMSO 含量為 6–16% 時，冷凍解凍後的兔精液維持在 37°C 下超過 90 min 其品質即急速劣化。因此，冷凍解凍後的公兔精液，保持於 37°C 的時間不宜太長，應儘速進行人工授精操作，以確保精液品質。且含 10% DMSO 的 TCG 能夠在 37°C 中保持至少 90 min 較佳的精子活力、存活率及精子前進值等，為製作冷凍精液配方較佳的選擇。

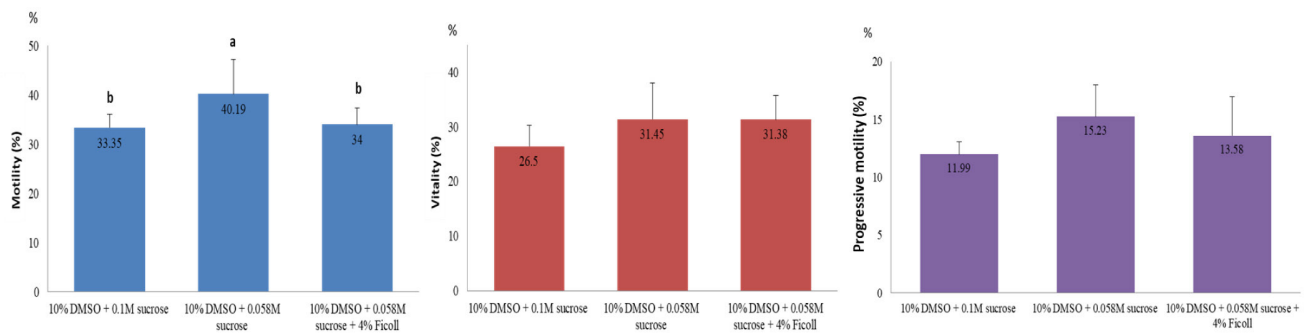


圖 4. 調整非滲透性冷凍保護劑對解凍後紐西蘭白兔精子活動力、存活率及前進值之影響。

^{a, b} 表示兩組間有顯著差異 ($P < 0.05$)。

Fig. 4. The effect of different no-permeable cryoprotectants on the New Zealand rabbit sperm motility, vitality and progressive motility in one-step cryopreservation method.

^{a, b} Means differ within groups ($P < 0.05$).

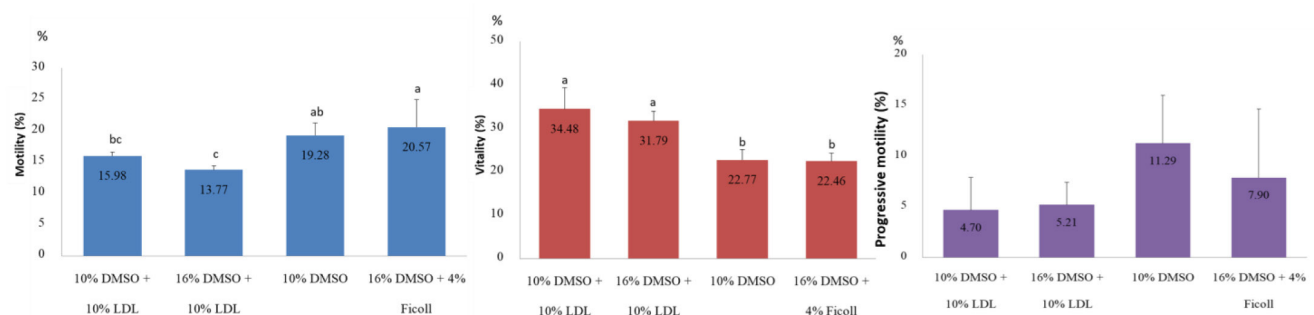


圖 5. 以兩階段式方法進行液態氮冷凍，測試不同稀釋液配方對精子活動力、存活率及精子前進值之影響。

^{a, b} 表示兩組間有顯著差異 ($P < 0.05$)。

Fig. 5. The effect of different extender formulas on the rabbit sperm motility, vitality and progressive motility in two-step liquid nitrogen cryopreservation method.

^{a, b} Means differ within groups ($P < 0.05$).

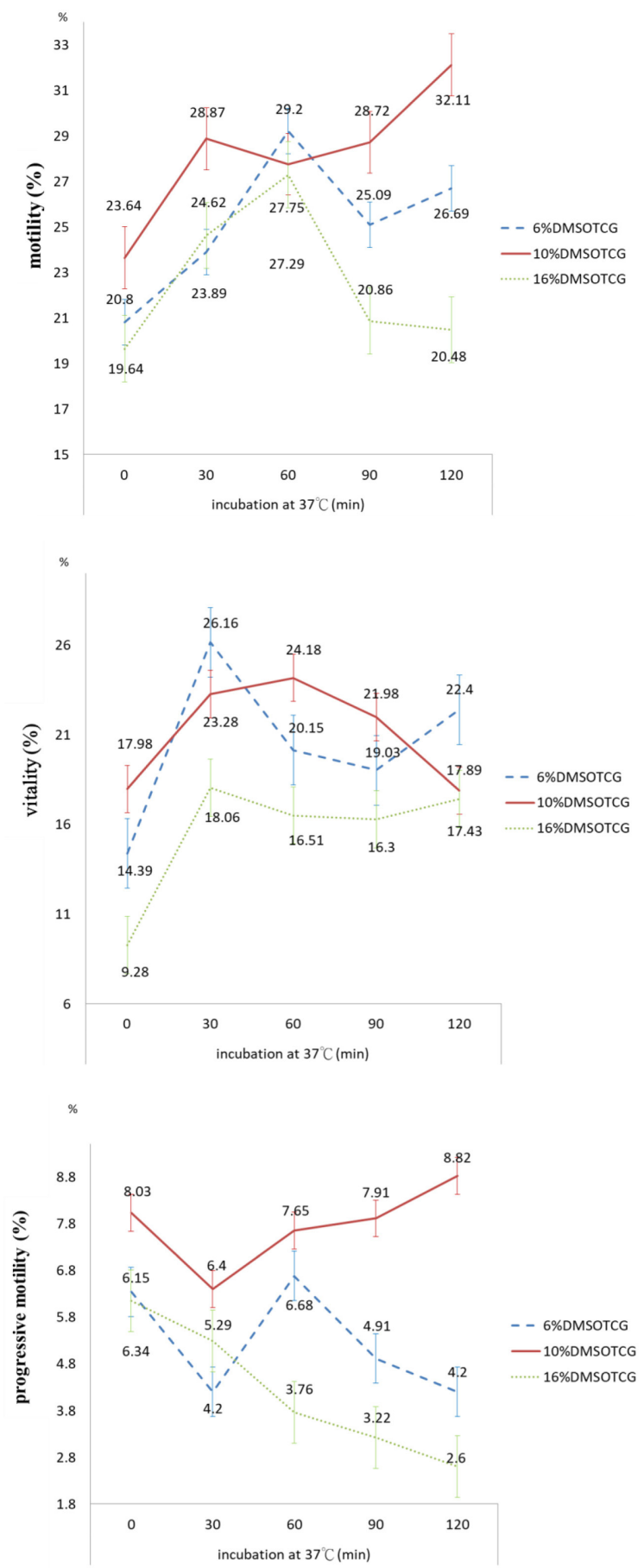


圖 6. 不同 DMSO 含量稀釋液中的紐西蘭白兔精子解凍後於 37°C 置放 30、60、90 及 120 min 對精子性狀之影響。
Fig. 6. The effect of maintaining thawed New Zealand rabbit semen in TCG with 6, 10, and 16% DMSO at 37°C for 30, 60, 90, and 120 minutes on sperm characteristics.

討 論

在此研究中先用單一步驟法確定在紐西蘭白兔精液冷凍中最廣為使用之可滲透性冷凍保護劑 DMSO 的最佳使用濃度為 10% (圖 2)，在此濃度下常規的冷凍解凍方式對精子的傷害是最小的，此與 Rosato and Isalfaldano (2013) 的研究相符 (10% DMSO > 5% DMSO > 5% DMA)。其後，則進行最佳解凍溫度與時間的測試，已知解凍步驟對於解凍後精液品質十分重要。當冷凍之樣品回復到室溫，冷凍步驟的逆轉開始進行，解凍的速率視冷凍速率而定。在低溫長時間之慢速解凍時，冷凍時形成的小冰晶開始融化 (melt) 重組成大冰晶，此稱為再結晶現象，會傷害精子細胞；反之，而在高溫短時間之快速解凍過程中，通過再結晶時間較短暫，可減少大冰晶的形成，而增加了細胞的存活率 (Watson, 1995)。冷凍精液解凍一般都是在 37 – 39°C 或 50°C 進行 10 至 12 s，甚至還有提高溫度到 70°C 進行 10 至 12 s (Mocé and Vicente, 2009)；不過與 50°C 相比，70°C 解凍後精液進行人工授精之活仔數較低 (5 vs. 7.1) (Mocé *et al.*, 2003)，故本研究只測試了 37°C 30 s 及 50°C 10 s，結果並無統計上之差異 (圖 3)。

Rosato and Isffalfano (2013) 指出在 BSA 存在下，並添加 0.1 M sucrose 或 0.05 M sucrose 經慢速冷凍，其解凍後之兩者精子性狀並無顯著差異。本試驗以單一步驟冷凍下，最佳的非滲透性冷凍保護劑配方之研究如圖 4 所示，在 10% DMSO 及 0.5% BSA 之 TCG 作為基準冷凍稀釋液時添加 0.058 M sucrose 組冷凍兔精液解凍後之精子活力顯著高於添加 0.058 M sucrose 再加上 Ficoll70 以及添加 0.1 M sucrose 等之組合相比。

以兩階段冷凍方式探討非滲透性冷凍保護劑 LDL 與 Ficoll70 相較於 DMSO 對冷凍解凍後兔精子性狀的影響的結果如圖 5 所示，顯示加了 LDL 後，將導致精子活動力及精子前進值下降，此結果與 Di Iorio (2014) 與 Viudes-de Castro *et al.* (2014) 的結果相符。然而本研究中添加了 LDL 提高精子解凍後之存活率，與 Di Iorio (2014) 者不符，但與 Hall *et al.* (2017) 的結果相同。此外，Curry *et al.* (1995) 也指出兔精子所需之冷凍稀釋液不適合添加卵黃。因此使用 LDL 作為冷凍保護劑之效果有待進一步研究。另外，本研究結果顯示 Ficoll70 的添加對於冷凍解凍後精子的活動力有增進效果，此與 Di Iorio (2014) 及 Iaffalfano *et al.* (2014) 者相近，而 Di Iorio (2014) 指出 Ficoll70 的添加可增進解凍後精子在 37°C 中加熱 30 min 後的活力及精子的前進值，則有待進一步驗證。

Di Iorio (2014) 建議以 TCG 含 16% DMSO、2% 蔗糖 (0.058 M) 與 4% Ficoll70 作為冷凍稀釋液保存精子，其解凍後精子活力最佳，人工授精後受胎率及出生率也最佳。本試驗結果亦顯示，最佳的兔精子冷凍保存為以 TCG 當基礎液，添加 0.058 M 蔗糖與 10% DMSO，且以單一步驟操作僅以一比一稀釋精液者，可獲得到最佳的活動力、存活率及精子前進值。

結 論

綜而言之，本研究雖未進行單一步驟與兩階段冷凍操作之比較，但就採用單一步驟冷凍操作的兔精子，在 3 種不同配方條件冷凍解凍後，其精子活動力與存活率的數值均高於以兩階段冷凍操作者之事實。因此，考量操作步驟的簡繁度、所需的時間以及解凍後的精子性狀，仍建議採用單一步驟冷凍法保存紐西蘭白兔精液。

誌 謝

試驗期間承蒙本組兔舍陳念琪小姐、林明村先生及孫碧月小姐協助試驗動物照顧及試驗資料整理，特此誌謝。

參考文獻

- Curry, M. R., B. J. Redding, and P. F. Watson. 1995. Determination of water permeability coefficient and its activation energy for rabbit spermatozoa. *Cryobiology* 32: 175-181.
- Di Iorio, M. 2014. Cryopreservation of rabbit semen: effectiveness of different permeable and non-permeable cryoprotectants on post-thaw sperm quality and reproductive performances. Thesis, University of Molise, Italy.
- Hall, S. E., C. Negus, D. Jokinke, and R. Bathgate. 2017. Adjusting cryodiluent composition for improved post-thaw quality of rabbit spermatozoa. *PLoS One* 12: e0175965.
- Holt, W. V. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences.

- Theriogenology 53: 47-58.
- Iaffaldano, N., M. Di Iorio, M. P. Rosato, and A. Manchisi. 2014. Cryopreservation of rabbit semen using non-permeable cryoprotectants: Effectiveness of different concentrations of low-density lipoproteins (LDL) from egg yolk versus egg yolk or sucrose. *Anim Reprod Sci* 151: 220-228.
- Isachenko, E., V. Isachenko, I. I. Katkov, S. Dessole, and F. Nawroth. 2003. Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past practical difficulties to present success. *Reprod. BioMed. Online* 6: 191-200.
- Kubovicova, E., A. V. Makarevich, A. Balazi, J. Vasicek, and P. Chrenek. 2021. Factors affecting rabbit sperm cryopreservation: a mini-review. *Zygote* 30: 1-8.
- Kulíková, B., M. Di Iorio, E. Kubovicova, L. Kuzelova, N. Iaffaldano, and P. Chrenek. 2015. The cryoprotective effect of Ficoll on the rabbit spermatozoa quality. *Zygote* 23: 785-794.
- Kulíková, B., M. Oravcová, A. Baláži, P. Supuka, and P. Chrenek. 2017. Factors affecting storage of Slovak native rabbit semen in the gene bank. *Zygote* 25: 592-600.
- López, F. and J. Alvaríño. 2000. Effects of added caffeine on results following artificial insemination with fresh and refrigerated rabbit semen. *Anim. Reprod. Sci.* 58: 147-154.
- Marai, I. F. M., A. A. M. Habeb, and A. E. Gad. 2002. Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest. Prod. Sci.* 78: 71-90.
- Mocé, E., J. S. Vicente, and R. Lavara. 2003. Effect of freezing–thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination. *Theriogenology* 60: 115-123.
- Mocé, E. and J. S. Vicente. 2009. Rabbit sperm cryopreservation: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 110: 1-24.
- Polge, C., A. U. Smith, and A. S. Parkes. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164: 666.
- Rosato, M. P. and N. Iaffaldano. 2013. Cryopreservation of rabbit semen: comparing the effects of different cryoprotectants, cryoprotectant-free vitrification, and the use of albumin plus osmoprotectants on sperm survival and fertility after standard vapor freezing and vitrification. *Theriogenology* 79: 508-516.
- SAS. 2009. SAS User's guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Viudes-De-Castro, M. P., R. Lavara, H. Safaa, F. Marco-Jiménez, G. Mehaisen, and J. S. Vicente. 2014. Effect of freezing extender composition and male line on semen traits and reproductive performance in rabbits. *Animal* 8: 765-770.
- Watson, P. F. 1995. Recent development and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil.* 7: 871-891.

Effects of different cryoprotectants on semen traits in New Zealand rabbits ⁽¹⁾

Pei-Chun Tsai ⁽²⁾⁽⁵⁾ Yu-Hsin Chen ⁽³⁾ Ting-Chieh Kang ⁽⁴⁾ and Lih-Ren Chen ⁽²⁾

Received: Sep. 14, 2022; Accepted: Mar. 25, 2023

Abstract

The aim of this study was designed to identify a suitable freezing protocol for rabbit semen by comparing the effects of different operating procedures. In our study, pooled semen was diluted 1:1 or 1:4 (v:v) with a freezing extender composed of Tris-citrate-glucose solution [containing 0.5% BSA (bovine serum albumin) and 0.1 M or 0.058 M sucrose] and 6, 10, or 16% DMSO (Dimethyl sulfoxide), 4% Ficoll70 or 10% LDL (low-density-lipoprotein) after cooling down to 5°C. The semen suspension was then loaded into 0.25 mL plastic straws and equilibrated at 5°C for 45 minutes before freezing in liquid nitrogen vapor (5 cm above the liquid nitrogen surface). The sperm characteristics evaluated after thawing were sperm motility, vitality, and progressive motility. The best results of rabbit sperm freezing could be obtained by using 1:1 (v:v) dilution with the freezing extender consisting of 10% DMSO which contributed to the sperm characteristics after thawing of motility ($40.19 \pm 7.65\%$), vitality ($31.45 \pm 6.6\%$), and progressive motility ($15.23 \pm 2.77\%$).

Key words: Cryoprotectant, Rabbit, Semen cryopreservation.

(1) Contribution No. 2742 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

(5) Corresponding author, E-mail: pctsai@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)

(民國 108 年 12 月修訂)

(民國 111 年 11 月修訂)

- I. 本刊為學術性刊物，刊載有關畜產科學原創性研究報告及學術性專題論著。
- II. 本刊為季刊，每年 3 月、6 月、9 月及 12 月底出版。
- III. 文稿之排列順序為標題、摘要、緒言、材料與方法 (學術性專題論著可略)、結果、討論 (結果與討論可合為一節)、結論 (可略)、誌謝 (可略) 及參考文獻。以中文撰寫者，須附英文摘要 (Abstract)，以英文撰寫者，則附中文摘要。中英文摘要以不超過五百字為原則，須列中英文相對應之 3 至 6 個關鍵詞。
- IV. 文稿書寫格式，主要參考 Journal of Animal Science：
 - (i) 文稿請用 Word 檔 A4 紙張格式，內文以 12 號字型繕打，中文採新細明體，英文採 Times New Roman，圖表置於內文之後。行距採用行距 1.5，版面設定中等邊界 (上下 2.54cm，左右 1.91cm)，並編碼連續行號。
 - (ii) 文字敘述之編號依序為 I、(i)、1、(1)、A、(a)。圖表以圖 1、表 1 等順序表示。中文稿件之圖表標題及圖說請中英並列，圖表內文字請以英文呈現。文字敘述用英文者，圖表中之文字僅用英文。
 - (iii) 本刊以黑白印刷為原則，圖表務求印刷後可清楚分辨標示，並請以電腦繪製，以利排版。
 - (iv) 單位及縮寫：
 1. 單位使用公制，習見之符號及縮寫不必另附中文。專門名詞無適當譯名者可從原文。
 2. 以下常用之縮寫可直接撰寫於本刊稿件不須另作定義：
 - (1) 長度：km、m、cm、mm、 μm 。
 - (2) 重量：kg、g、mg、 μg 。
 - (3) 體積：L、mL、 μL 。
 - (4) 時間：wk、d、h、min、s。
 - (5) 其他： $^{\circ}\text{C}$ 、pH、cal、rpm。
 - (v) 統計分析達顯著差異性請以 *、^a、^b、^c 等上標標示，並於表下方說明。
 - (vi) 參考文獻：
 1. 正文中須書出參考文獻之作者姓氏與年份：
 - (1) 西文文獻之作者僅一人者，書一人之姓如 (Johnson, 1991)；作者為二人者，書二人之姓如 (Johnson and Hobbs, 1991)；作者為三人或以上者，用第一人之姓後再書 *et al.* 如 (Johnson *et al.*, 1991)。
 - (2) 中文文獻之作者僅一人者，書一人之姓氏如 (趙, 1990)；作者為二人者，書二人之姓氏如 (趙及錢, 1990)；作者為三人或以上時，則於第一人姓氏後再加一等字如 (趙等, 1990)。
 2. 參考文獻列示以確經引用者為限，排列次序為作者、年份、題目、發表刊物名稱、卷數、頁數等依次書寫，例如：
 - (1) 期刊類
王政騰、朱慶誠。1991。土番鴨繫留、電昏、放血、燙毛等屠宰條件之探討。畜產研究 24：133-140。
胡怡浩、姜延年、陳銘正、潘金水。1991。北京鴨雜交品系與商業品系肉鴨之生長及屠體性能之比較。畜產研究 24：141-148。
Ayub, M. and M. Shoaib. 2009. Studies on fodder yield and quality of sorghum alone and in mixture with guar under different planting techniques. Pak. J. Agri. Sci. 46: 25-29.
Hsu, F. H., C. J. Nelson, and A. G. Matches. 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. Crop Sci. 25: 215-220.

(2) 書本類

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

(3) 其他類

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

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 56 No. 2

June 2023

CONTENTS

	Page
1. Effects of high fiber diet on the meat quality of finishing black pigs <i>Hsiu-Lan Lee and Cheng-Yong Lin</i>	88
2. Effects of supplementing different ratios of purple napiergrass powder in the diet on mule duck's growth performance, and carcass traits <i>Jung-Hsin Lin, Jeng-Bin Lin, Tzu-Rung Li, I-Heng Chang, Chih-Hsiang Cheng, Chin-Hui Su, Hsiu-Chou Liu, and Ya-Ling Lin</i>	97
3. Development of the drying room by solar thermal energy for hay production <i>Shu-Min Wang, Hsin-Hung Liu, Tsui-Huang Yu, and Chia-Sheng Chen</i>	105
4. Investigation on growth, reproduction and artificial hatching in domestic black swans <i>Chih-Chang Hsiao and Ching-Yi Lien</i>	112
5. Effects of antibiotics on intestinal immunity in broilers <i>Ching-Chi Hung, Bao-Ji Chen, Ching-Yi Chen, Ying-An Chu, I-Nung Huang, and Chin-Bin Hsu</i>	119
6. Evaluation of soybean Tainan No. 3 and No. 4 for forage use <i>Ping Chung and Tzu-Rung Li</i>	128
7. Effects of cryoprotectants frozen-thawed procedures on the development of vitrified goat embryos <i>Ting-Chieh Kang, Kai-Fei Tseng, Qu-You Huang, Yu-Hsin Chen, Fung-Hsiang Chu, Hsin-Hung Lin, Hsiang-Yuan Hsing, and Perng-Chih Shen</i>	138
8. Effects of different cryoprotectants on semen traits in New Zealand rabbits <i>Pei-Chun Tsai, Yu-Hsin Chen, Ting-Chieh Kang, and Lih-Ren Chen</i>	144

行政院新聞局出版事業登記證
警字第一八號執登
為字第六七七號
誌交寄

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN: 2005200015

定價：新臺幣二〇〇元