

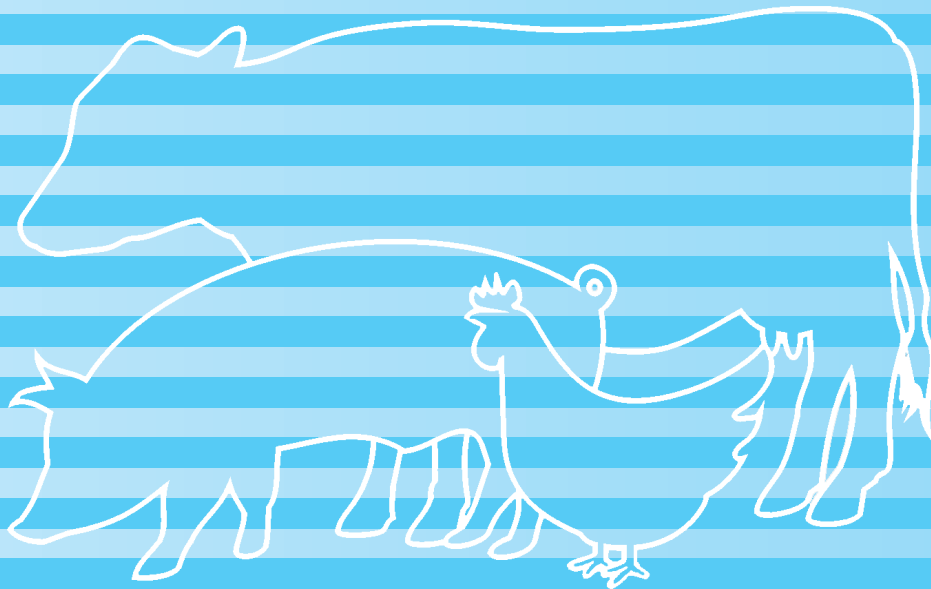
ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十五卷 第一期 中華民國一一一年 三月 季 刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 55 No. 1 March 2022



行政院農業委員會畜產試驗所

LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE,
COUNCIL OF AGRICULTURE, EXECUTIVE YUAN

畜產研究編審委員會

主任委員：黃振芳

審查委員：丁詩同 方珍玲 王佩華 王尚禮 王紓愍 王淑音 王勝德 成游貴
朱有田 朱志成 余 祺 余 碧 吳信志 吳勇初 吳錫勳 李固遠
沈朋志 沈韶儀 阮喜文 周明顯 林旻蓉 林俊臣 林義福 林德育
姜樹興 施宗雄 施意敏 唐品琦 徐阿里 徐濟泰 張秀鑾 張菊犁
梁筱梅 章嘉潔 莊士德 許振忠 許福星 郭卿雲 郭猛德 陳仁炫
陳文賢 陳志峰 陳宗禮 陳明造 陳洵一 陳秋麟 陳綵慈 黃文理
黃英豪 楊鎮榮 葉茂生 廖仁寶 廖宗文 劉世賢 劉秀洲 劉振發
劉登城 鄭裕信 盧虎生 盧啟信 蕭庭訓 蕭振文 謝清祥 謝豪晃
(以姓名筆劃為序)

編輯委員：林幼君 林德育 王斌永 洪哲明 郭卿雲 陳立人 廖仁寶
(以姓名筆劃為序)

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

J. F. HUANG, EDITOR-IN-CHIEF,
DIRECTOR GENERAL,
LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE, COUNCIL OF AGRICULTURE
HSINHUA, TAINAN, TAIWAN

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

S. T. DING	C. L. FANG	P. H. WANG	S. L. WANG	S. M. WANG
S. Y. WANG	S. D. WANG	Y. K. CHENG	Y. T. JU	C. C. CHU
C. YU	P. YU	H. C. WU	Y. C. WU	H. H. WU
G. Y. LI	P. C. SHEN	T. F. SHEN	S. I. SHEN	S. W. ROAN
M. J. LIN	C. C. LIN	Y. F. LIN	D. Y. LIN	S. H. CHIANG
C. H. SHIH	Y. M. SHY	P. C. TANG	A. L. HSU	C. T. HSU
H. L. CHANG	C. L. CHANG	H. M. LIANG	C. C. CHANG	S. T. CHUANG
C. C. HSU	F. H. HSU	C. Y. KUO	M. T. KUO	J. H. CHEN
W. S. CHAN	C. F. CHEN	C. L. CHEN	M. T. CHEN	H. I. CHEN
T. L. CHEN	T. T. CHEN	W. L. HUANG	I. H. HWANG	J. R. YANG
M. S. YEH	R. B. LIAW	C. W. LIAO	T. C. LIU	H. C. LIU
J. F. LIOU	S. S. LIU	Y. S. CHENG	H. S. LUR	C. H. LU
T. H. HSIAO	J. W. SHIAU	C. H. HSIEH	H. H. HSIEH	

EDITORS:

Y. C. LIN	D. Y. LIN	B. Y. WANG	C. M. HUNG	C. Y. KUO
L. R. CHEN	R. B. LIAW			



畜 產 研 究

編 者：行政院農業委員會畜產試驗所

發 行 人：黃振芳

發 行 所：行政院農業委員會畜產試驗所

地 址：臺南市新化區牧場 112 號

電 話：(06) 5911211

網 址：<http://www.tlri.gov.tw>

編輯\印製者：沐福商行

電 話：0985-187287

出 版 日 期：中華民國 111 年 3 月出版

定 價：新台幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五 南 文 化 廣 場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

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

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

畜產研究

第 55 卷第 1 期

中華民國 111 年 3 月

目 錄

	頁
1. 以模型槽探討高濃度養豬廢水處理蘇天明、鍾承訓、蕭庭訓	1
2. 畜試黑豬一號泌乳母豬飼養於分娩架之日數對其福祉及仔豬存活率之影響李恒夫、邱智偉	11
3. 飼糧鈣含量與根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液性狀之影響魏良原、徐小恆、張惠斌、陳志毅、蘇晉暉、張怡穎、林美峰、劉秀洲	22
4. 家禽始基生殖細胞之冷凍保存劉振發、劉瑞珍、張家語、陳立人	31
5. 棲架型式對紅羽土雞生長性能與福祉影響陳信宇、洪兮雯、楊深玄、蘇安國	40
6. 雞泌乳素接受體基因點突變多態性基因型檢測技術平台開發與應用 ...朱家德、林德育、賴永裕、梁筱梅、楊深玄、劉宗霖、張秀鑾、吳明哲、蕭振文	47
7. 有效益芻料作物甜高粱及燕麥之生產 II. 地區輪作模式之產量及品質評估陳勃聿、張世融	56
8. 消費者對於動物福祉友善豬肉之認知與願付價格分析洪兮雯、李佳蓉	68

以模型槽探討高濃度養豬廢水處理⁽¹⁾

蘇天明⁽²⁾⁽³⁾ 鍾承訓⁽²⁾ 蕭庭訓⁽²⁾

收件日期：110 年 6 月 2 日；接受日期：111 年 1 月 18 日

摘 要

本試驗應用模型槽以三段式處理高濃度養豬廢水，調查各處理階段之水質變化。使用平均體重 47 – 107 kg 的 LD 肉豬 12 頭飼養於代謝架上，試驗期間飼糧任飼、飲用水充分供應，每日收集糞便及尿液分別秤重後混合，依重量比調製糞尿：水 = 1 : 1 (A 廢水) 及 1 : 2.5 (B 廢水) 等 2 種不同濃度廢水，經固液分離處理後注入有效容積 200 L 的 6 個厭氧槽，水力停留時間 (HRT) 分別為 10、15 及 20 日，而後各組曝氣處理 HRT 皆為 1.5 日，調查各處理階段水質變化。結果廢水經三段式處理後，A 廢水的化學需氧量 (COD)、生化需氧量 (BOD)、懸浮固體 (SS)、總氮 (TN) 和總磷 (TP) 濃度分別為 904、298、638、488 和 420 mg/L，皆極顯著地高於 B 廢水。在水力停留時間的影響方面，經三段式處理後 HRT 10 日組的 COD、BOD、SS、TN 和 TP 濃度分別為 823、257、545、453 和 369 mg/L，皆較 HRT 15 日組及 HRT 20 日組為高 ($P < 0.001$)，而 HRT 15 日組除 COD 濃度外，其他水質濃度亦顯著地較 HRT 20 日組為高。試驗結果顯示，B 廢水經過厭氧處理 10 日再經 1.5 日的好氧處理，水質即符合放流水標準，而 A 廢水雖經過 20 日厭氧處理再經 1.5 日好氧處理，水質尚無法符合標準。綜上，高濃度廢水經三段式處理後 TN 和 TP 濃度仍高，在遵循法令及處理成本的雙重考量下，可予以再利用於農地施灌，供作作物營養源。

關鍵詞：水力停留時間、養豬廢水、廢水濃度。

緒 言

臺灣地區主要的水源來自降雨，但由於地形坡陡水資源蓄存不易，且隨著氣候變遷、極端氣候的影響下，水資源欠缺問題日趨嚴重。另外畜牧業放流水已從民國 106 年開始依照放流量及其水質徵收水污染防治費 (行政院環境保護署，2018)，豬隻節水飼養是養豬產業永續經營後續必循路徑。

夏 (2001) 指出，以飼養 100 頭母豬規模的一貫作業豬場而言，實地面豬舍每日需用水量約 189 m³，條狀地面用水量則約需 113 m³，條狀地面每日需用水量約為實地面豬舍的 60%，顯示養豬場沖洗水用量愈少，廢水量相對減少。但廢水量減少，相對的廢水中污染物的濃度將隨之提高。蘇等 (2016；2018) 將肉豬飼養於實地面 (SOF 組)、部分條狀地面 (PSF 組) 及全條狀地面 (TSF 組) 等 3 種地面結構豬欄，結果不同地面結構對生長肥育期豬隻的採食量和飼料效率皆無顯著影響。在熱季 PSF 及 TSF 組豬隻的沖洗水用量分別僅為 SOF 組的 74 – 84 及 35 – 43%，廢水量則為 SOF 組的 65 – 85 及 38 – 49% (蘇等，2016)，在涼季 (蘇等，2018) PSF 及 TSF 組的沖洗水用量分別僅為 SOF 組的 61 – 77 及 41 – 51%，廢水量則為 SOF 組的 61 – 78 及 41 – 53%。顯示豬舍地面結構採取部分條狀或全條狀地面，可有效節省豬舍沖洗的用水量及減少廢水產量，如果把處理後的水回收再利用於沖洗糞尿溝，更能大幅減少沖洗水使用量。此外，為了擴大畜牧糞尿水資源化永續利用，行政院農業委員會與行政院環境保護署相繼修正農業事業廢棄物再利用管理辦法 (2013) 及水污染防治措施及檢測申報管理辦法 (2015；2017) 等法令，積極推動畜牧廢水回歸農田作為農糧作物肥分使用，以及水資源澆灌植物等政策，且皆已明定時間表，養豬場亦必須予以遵循。

臺灣省畜產試驗所 (1993) 係以實地面豬舍 (糞 + 尿：沖洗水 = 1 : 5) 進行養豬廢水處理設施規劃，估計每一動物單位 (體重 100 kg 肉豬) 的廢水量以 30 L/d，厭氧及曝氣階段的水力停留時間分別為 10 日及 1.5 日，但養豬節水飼養後廢水量減少，廢水濃度勢必提高，宜研發適當處理方式，以供業者參酌應用。由於試驗在養豬場內進行可能衍生因處理後水質無法符合放流水標準受罰問題，因此本試驗參考蘇等 (2016；2018) 試驗結果，模擬豬隻飼養在部

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2695 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所經營組。

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

分條狀地面及全條狀地面之糞尿與沖洗水用量的比例，調製 2 種濃度廢水，應用模型槽並在厭氧處理階段予以不同水力停留時間，探討高濃度養豬廢水應用三段式處理的水質變化。

材料與方法

I. 厭氧槽與曝氣槽型式及污泥馴養

- (i) 從 2016/2/22 開始，由行政院農業委員會畜產試驗所產業組豬場載回固液分離後廢水，每日各注入 20 L 廢水於 6 個有效容積約 200 L 之不銹鋼製厭氧槽 (槽體規格：長 × 寬 × 高 = 200 × 30 × 40 cm；有效容積：長 × 寬 × 高 = 200 × 30 × 33.5 cm)，進行厭氧污泥培養。
- (ii) 收集厭氧後廢水注入 6 個壓克力製曝氣槽，2 個 X 槽、2 個 Y 槽，以及 2 個 Z 槽之有效容積分別為 30、20 及 15 L (槽體內規格：X 槽：長 × 寬 × 高 = 25 × 36 × 40 cm；Y 槽：20 × 30 × 40 cm；Z 槽：17.5 × 26 × 40 cm)，有效容積高度皆為 33.5 cm，使用小型曝氣機連接曝氣槽底部之曝氣器全日提供空氣，進行活性污泥馴養。

II. 糞尿收集及處理

- (i) 在 2016/3/21 至 2016/5/29 期間進行，將平均體重 47.4 kg 的 LD (Landrace ♀ × Duroc ♂) 肉豬共 12 頭、閩公豬與肉女豬各半，飼養於代謝架上。每日上、下午分別餵飼飼糧 (表 1) 1 次，隔餐飼料槽中尚存飼糧於餵飼前收集秤重記錄以扣除，飲用水以碗式飲水器連接自來水充分供應，在平均體重 107.7 kg 時下架。

表 1. 實驗豬隻飼糧組成

Table 1. Dietary compositions for experimental pig

Items	% (as fed basis)
Ingredients	
Corn meal, CP 7.8%	73.32
Soybean meal, CP 43.8%	19.00
Wheat bran	3.00
Molasses	2.00
Limestone, pulverized	1.00
Dicalcium phosphate	1.00
Choline chloride, 50%	0.08
Salt	0.40
Vitamin premix ¹	0.10
Mineral premix ²	0.10
Total	100.00
Calculated value	
Digestible energy, kcal/kg	3,369
Crude protein, %	15.16
Cu, mg/kg	12.5
Zn, mg/kg	85.9

¹ Vitamin premix provided per kilogram of diet as following: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D3, 800 IU; Vitamin B₁₂, 0.02 mg; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 4 mg; Riboflavin, 4 mg; Pantothenic acid, 16 mg; Niacin, 30 mg; Pyridoxine, 1 mg; Folic acid, 0.5 mg; and Biotin, 0.1 mg.

² Mineral premix provided per kilogram of diet as following: Fe (FeSO₄ · 7H₂O), 140 mg; Cu (CuSO₄ · 5H₂O), 7 mg; Mn (MnSO₄), 20 mg; Zn (ZnO), 70 mg; and I (KI), 0.45 mg.

- (ii) 每日收集個別豬隻糞便及尿液秤重後混合，依重量比分別加入 1 倍 (A 廢水，糞 + 尿：沖洗水 = 1：1；模擬全條狀地面廢水) 及 2.5 倍 (B 廢水，糞 + 尿：沖洗水 = 1：2.5；模擬 1/3 部分條狀地面廢水) 的沖洗水 (用於平時清潔豬舍的農塘水)，調製總固形物 (total solids, TS) 含量平均分別為 2.33 及 1.63% 的 2 種不同濃度

廢水。

- (iii) 試驗動物飼養於行政院農業委員會畜產試驗所經營組豬場內，動物之使用、飼養及實驗內容，經「行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護及使用小組」審查同意（畜試動字第 105 - 11 號）。

III. 廢水處理流程及分組

- (i) 調製後的廢水以孔隙 0.20 mm 之分離桶進行固液分離。
- (ii) 收集 (i) 廢水以 2×3 複因子設計，分別注入污泥馴養完成之有效容積約 200 L 不銹鋼製厭氧槽，其中 AX、AY 及 AZ 槽注入 A 廢水（糞 + 尿：水 = 1：1），BX、BY 及 BZ 則注入 B 廢水（糞 + 尿：水 = 1：2.5），AX 與 BX 槽、AY 與 BY 槽及 AZ 與 BZ 槽的水力停留時間 (hydraulic retention time, HRT) 分別為 10、15 及 20 日，即每日分別注入 20、13.4 及 10 L 固液分離後廢水，共形成 2 種廢水濃度 $\times$ 3 種 HRT 的 6 個處理組。
- (iii) 厭氧處理後之廢水，以孔隙 0.20 mm 之分離桶過濾後，將污泥廢棄。
- (iv) 厭氧廢水過濾後，注入活性污泥馴養完成後之壓克力製槽體。為控制各組的 HRT 皆約為 1.5 日而採取批式進水，即每 6 小時 1 批次、每日 4 批次，利用蠕動馬達抽入曝氣槽，每小時約抽入 0.9 L 過濾後廢水，並以小型曝氣機連接曝氣槽底部之曝氣器保持全日提供空氣。AX 與 BX 槽、AY 與 BY 槽及 AZ 與 BZ 槽之有效容積分別為 30、20 及 15 L，每批次分別抽取 5.25、3.50 及 2.50 h 之廢水進入曝氣槽，即每日進入曝氣槽的廢水分別約 18.9、12.6 及 9.0 L。各處理組使用之廢水種類及操作設定，示於表 2。為考量各曝氣槽活性污泥量恐有差異，試驗期間每週二、五測定污泥沉降比 SV30，再調整各槽的活性污泥量使相近。

表 2. 各處理組使用之廢水種類及操作設定

Table 2. Types of wastewater used by each treatment group and operation settings

Items	A ¹			B		
	X	Y	Z	X	Y	Z
Anaerobic tank						
Amount of added, L/day	20	13.4	10	20	13.4	10
HRT ² , day	10	15	20	10	15	20
Aeration tank ³						
Time of added, hr/batch	5.25	3.50	2.50	5.25	3.50	2.50
Amount of added, L/batch	4.73	3.15	2.25	4.73	3.15	2.25
Amount of added, L/day	18.9	12.6	9.0	18.9	12.6	9.0
HRT ² , day	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

¹ Manure and washing water were mixed to have A and B wastewater at 1:1 and 1:2.5 by weight ratio, respectively.

² HRT: hydraulic retention time.

³ Each batch was 6 hr, and influent rate was 0.9 L/h.

IV. 調查與測定項目

- (i) 豬隻上架及下架分別秤重，記錄每日採食量，計算生長性能。
- (ii) 每 2 週採集調製完成的廢水與固液分離後廢水，以及各處理組厭氧處理後、厭氧廢水過濾後與曝氣處理後樣品，分析水質的氫離子濃度（pH 值）與電導度 (electrical conductivity, EC)，以及化學需氧量 (chemical oxygen demand, COD)、生化需氧量 (biochemical oxygen demand, BOD)、懸浮固體 (suspended solids, SS)、總氮 (total nitrogen, TN) 與總磷 (total phosphorus, TP) 濃度 1 次。

V. 分析分法

- (i) pH 值、EC、COD、BOD 及 SS 濃度：分別依照行政院環境保護署公告之 NIEA W424.53A（行政院環境保護署環境檢驗所，2019a）、NIEA W203.51B（行政院環境保護署環境檢驗所，2000）、NIEA W515.55A（行政院環境保護署環境檢驗所，2018）、NIEA W510.55B（行政院環境保護署環境檢驗所，2011）及 NIEA W210.58A（行政院環境保護署環境檢驗所，2013）方法分析之。
- (ii) 總氮：參照行政院環境保護署公告之 NIEA W423.52C（行政院環境保護署環境檢驗所，2004）方法計算之。水中總氮濃度 = 水中硝酸鹽氮濃度 + 水中亞硝酸鹽氮濃度 + 水中凱氏氮濃度。水中硝酸鹽氮、亞硝酸鹽氮

及凱氏氮之測定，分別參照行政院環境保護署環境檢驗所 NIEA W419.51A (2006a)、NIEA W418.53C (2019b) 及 NIEA W451.51A (2006b) 方法分析之。

- (iii) 總磷：參照行政院環境保護署公告之 NIEA W423.52C27.53B (行政院環境保護署環境檢驗所，2010) 方法分析之。

VI. 統計分析

試驗豬隻生長性能及糞尿排泄量平均值及標準偏差以 Excel 2019 計算。其他分析資料利用 SAS 統計分析套裝軟體的一般線性模式程序 (general linear model procedure) 進行變方分析 (SAS, 2002)，若有處理效應 ($P < 0.05$)，再以鄧肯氏新多域測驗法 (Duncan's new multiple range test)，檢定不同廢水濃度和不同水力停留時間對厭氧及曝氣處理後水質成分的差異顯著性，以及廢水濃度 $\times$ 水力停留時間之交感效應。

結果與討論

I. 豬隻生長性能及糞尿排泄量

本試驗共使用平均體重 47.4 – 107.7 kg 的生長肥育期 LD 豬隻 12 頭，每頭飼養在一個代謝架，期間的日增重 (average daily gain, ADG)、採食量 (average daily feed intake, ADFI) 及飼料效率 (feed efficiency, G/F) 分別為 0.86、2.34 kg/d 及 0.37 (表 3)，與蘇等 (2020) 使用平均體重 52.9 kg 的豬隻，在平均體重 112 kg 時下架，其 ADG、ADFI 及 G/F 分別為 0.85 kg/d、2.38 kg/d 及 0.36 相近。蘇等 (2012) 使用平均體重 30 kg 的 LYD 肉豬飼養至平均體重 110 kg，結果各處理組在試驗期間 ADG、ADFI 及 G/F 分別為 0.78 – 0.81 kg/d、2.33 – 2.69 kg/d 及 0.30 – 0.34，亦與本試驗獲致結果相似。本試驗豬隻飼養在代謝架上，主要係為收集糞尿以供調製不同濃度廢水之用，豬隻上架頭數係依照試驗所需糞尿量，參考蘇等 (2009) 計算約需 10.4 頭豬隻糞尿排泄量，為避免豬隻糞尿排泄量不足以供試驗所需，故以一次上架 12 頭。試驗期間豬隻糞便及尿液平均排泄量分別為 737 及 2,912 g/d，較蘇等 (2009) 調查體重 50 及 100 kg 的豬隻，其糞便排泄量為 816 及 980 g/d、尿液 3,390 及 3,960 g/d，以及蘇等 (2020) 測得糞便及尿液平均排泄量分別為 0.79 及 4.20 kg/d 皆稍少，惟足以提供本試驗調製不同濃度廢水使用。

表 3. 實驗豬隻生長性能及糞尿排泄量 (n = 12)

Table 3. Growth performance and manure excretion of experimental pig (n=12)

Items	Mean	SD	Range
Initial body weight, kg	47.4	5.2	40.0 – 57.0
Final body weight, kg	107.7	5.1	99.0 – 119.0
ADG ¹ , kg/day	0.86	0.07	0.76 – 0.99
ADFI ¹ , kg/day	2.34	0.05	2.20 – 2.37
FE ¹ , gain/feed	0.37	0.02	0.34 – 0.42
Manure excretion, g/d			
Feces	737	130	439 – 1,029
Urine	2,912	652	1,805 – 4,539
Urine/feces ratio	3.98	0.75	2.89 – 6.43

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; FE: feed efficiency.

II. 不同濃度廢水固液分離前後之水質

本試驗使用畜產試驗所平日用於清潔豬舍的沖洗水來調製 2 種濃度的廢水，在試驗期間配合各處理組水質採樣分析，同時採集沖洗水進行分析，結果其 pH、EC、COD、BOD、SS、TN 及 TP 分別為 7.37 ± 0.16 、 0.11 ± 0.00 dS/m、 13.7 ± 4.7 mg/L、 2.9 ± 2.5 mg/L、 7.4 ± 10.9 mg/L、 17.3 ± 9.9 mg/L 及 1.1 ± 0.7 mg/L。調製完成的廢水在固液分離前，A 廢水 (糞 + 尿：沖洗水 = 1 : 1) 的水質除了 pH 值與 B 廢水 (糞 + 尿：沖洗水 = 1 : 2.5) 無差異外，其餘水質濃度皆較 B 廢水顯著為高 (表 4)。A 廢水和 B 廢水經過固液分離處理後，COD、BOD 和 SS 濃度

皆明顯降低 (表 4)，BOD 及 SS 的去除率分別約 11 – 12% 及 9 – 10%，而除了 pH 值無差異外，A 廢水的水質濃度皆較 B 廢水為高 ($P < 0.05$)。

表 4. 不同濃度廢水固液分離前後的水質變化

Table 4. Water quality changes before and after solid-liquid separation (SLS) of wastewater with different concentrations

Items	Before SLS		SE	After SLS		SE
	A ¹	B		A	B	
pH	8.10	8.28	0.13	8.20	8.35	0.12
EC, dS/m	20.22 ^a	12.52 ^b	0.69	20.80 ^a	12.60 ^b	0.68
COD, mg/L	24,231 ^a	17,689 ^b	624	19,127 ^a	15,589 ^b	618
BOD, mg/L	6,315 ^a	4,610 ^b	236	5,605 ^a	4,063 ^b	209
SS, mg/L	20,755 ^a	14,551 ^b	279	18,887 ^a	13,114 ^b	253
TN, mg/L	3,222 ^a	2,730 ^b	246	2,331 ^a	1,713 ^b	219
TP, mg/L	1,799 ^a	1,124 ^b	225	1,012 ^a	812 ^b	144

¹ Manure and washing water mixing were mixed to have A and B wastewater at 1:1 and 1:2.5 by weight ratio, respectively.

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

Cheng *et al.* (2019) 指出，養豬廢水 BOD 在 2,000 – 30,000 mg/L，TN 和 TP 分別為 200 – 2,055 mg/L 和 100 – 620 mg/L。本試驗 A 廢水經固液分離後的 TN 和 TP 分別為 2,331 和 1,012 mg/L，B 廢水則為 1,713 和 812 mg/L，除 B 廢水的 TN 外，皆高於 Cheng *et al.* (2019) 研究結果，此與 2 種廢水的糞尿與沖洗水比值較大有關。Chynoweth *et al.* (1999) 指出，養豬廢水的組成會因豬隻年齡、飼料組成、在養頭數、飼養方法及其他環境因素 (例如溫度和濕度) 而有所不同，Cheng *et al.* (2019) 的研究數據是以整個一貫式養豬場作探討，與本試驗使用的豬隻年齡、豬隻頭數和飼料組成等亦不相同。

III. 不同濃度廢水厭氧及曝氣階段處理之水質

本試驗原規劃由厭氧後槽將污泥迴流至厭氧前槽，但在污泥馴養階段發現，使用 A 廢水的各組 (AX、AY 及 AZ 組) 雖每週排泥 1 次，惟厭氧處理後的廢水中仍含大量污泥，因此試驗期間在厭氧處理後以孔隙 0.20 mm 之分離桶過濾污泥並廢棄。A 廢水在厭氧處理後、厭氧處理水過濾後及曝氣處理後的水質，除了曝氣處理後的 pH 值外，皆極顯著地較 B 廢水為高 (表 5)。水力停留時間 10 日者，除了厭氧處理後和厭氧處理水過濾後的 pH 值及曝氣處理後的 EC 外，皆較 HRT 較長 (15 日及 20 日) 者為高 ($P < 0.001$)。厭氧處理後水質的 BOD、厭氧處理水過濾後的 EC 與 BOD，以及曝氣處理後水質的 COD、BOD、SS、TN 及 TP，在廢水濃度及 HRT 間具有顯著的交感效應 (表 6)，係因 AZ 組 (使用 A 廢水、HRT 20 日) 厭氧處理後水質的 BOD 濃度、厭氧處理水過濾後的 EC，以及曝氣處理後水質的 COD、BOD、SS、TN 及 TP 濃度皆較 BX 組 (使用 B 廢水、HRT 10 日) 顯著為高，而 AY 組 (使用 A 廢水、HRT 15 日) 厭氧處理水過濾後的 BOD 濃度，也較 BX 組為高 ($P < 0.05$) 所致。

使用 A 廢水的各組經過固液分離、厭氧處理、厭氧後過濾及曝氣處理等程序後，上澄液的水質 COD、BOD 及 SS 去除率雖皆達 95% 以上 (表 7)，惟皆未符合行政院環境保護署 (2019) 規定之 600、80 及 150 mg/L 放流水標準，主要應與廢水濃度較高有關，而使用 B 廢水的各組除 BX 組的 BOD 濃度 (89 mg/L) 外，水質 COD、BOD 和 SS 濃度皆達放流水標準，顯示應用生物處理高濃度廢水仍有其極限。蘇等 (2020) 依重量比調製糞尿：水 = 1：1 (A 組)、1：2.5 (B 組) 及 1：5 (C 組) 等 3 種濃度廢水，經厭氧處理約 10 日、曝氣處理約 1.5 日後，COD、BOD 或 SS 濃度皆以 C 組顯著較 A 組為低，在厭氧階段不論 A 組 (COD 71%、BOD 65%、SS 86%) 或 B 組 (COD 74%、BOD 76%、SS 89%) 的去除率皆較本試驗為低，此與本試驗厭氧處理階段平均 HRT 較為長應有關係。

經三段式處理後 A 廢水的 TN 和 TP 濃度皆極顯著地較 B 廢水為高，而不論 TN 或 TP 濃度皆隨著 HRT 的增長而降低 ($P < 0.001$)。2 種不同濃度廢水除了厭氧階段的 TN 去除率無顯著差異外，皆以 B 廢水的 TN 及 TP 去除率較 A 廢水為高 ($P < 0.001$)，而 TN 或 TP 的去除率皆隨著 HRT 增長而極顯著提高 (表 7)，顯示廢水中 TN 或 TP 濃度較低及延長水力停留時間，皆可提高 TN 或 TP 之去除率，而 B 廢水組的 TN 與 TP 及 HRT 15 及 20 日的 TN 去除率皆達 90% 以上。本試驗在厭氧處理與曝氣處理間，增加分離桶過濾污泥並廢棄之程序，可去除

厭氧處理後水質的 TN 約 10% 與 TP 約 20%，因而降低了進入曝氣處理階段的 TN 與 TP 濃度，亦使得 TN 及 TP 從固液分離前到曝氣處理後整個處理過程的去除率提高。研究 (曾等, 2003; 蔡及周, 2005; 蘇等, 2020) 指出，養豬廢水經三段式廢水處理後氮和磷的濃度大約在 200 – 400 mg/L 和 20 – 100 mg/L 之間，本試驗使用 B 廢水的各組經曝氣處理後的 TN 和 TP 濃度 (表 5) 皆於上述研究範圍內，而使用 A 廢水各組的 TN 與 TP 濃度則較上述研究為高，而 2 種不同濃度廢水經 10、15 及 20 日厭氧處理再經 1.5 日曝氣處理後，仍富含高濃度的氮和磷等營養鹽。Beuckels *et al.* (2015) 指出，從廢水中去除磷受廢水中氮濃度的影響，需要足夠的氮以有效地同時從廢水中去除磷，而從本試驗曝氣處理階段發現，廢水中 TN 濃度較高也可能影響 TP 的去除率。放流水氮、磷濃度過高，將衍生環境污染與河川水質優養化等環保問題 (Giannuzzi *et al.*, 2011)，而氮、磷是植物生產中最重要營養素 (Razaq *et al.*, 2017)，宜予以善加利用。

表 5. 廢水濃度及厭氧處理水力停留時間對各處理階段水質之影響

Table 5. Effects of wastewater concentration (WWC) and hydraulic retention time (HRT) of anaerobic treatment on water quality after each treatment stage

Items	WWC ¹ (W)		HRT ² (H)			SE	Significance ³		
	A	B	X	Y	Z		W	H	W × H
After anaerobic									
pH	7.87	7.98	7.79 ^b	7.97 ^a	8.02 ^a	0.05	**	***	NS
EC, dS/m	20.5	12.5	17.1 ^a	16.5 ^b	16.0 ^c	0.2	***	***	NS
COD, mg/L	1,916	1,017	1,841 ^a	1,371 ^b	1,187 ^c	90	***	***	NS
BOD, mg/L	635	332	627 ^a	445 ^b	378 ^c	22	***	***	*
SS, mg/L	1,326	790	1,463 ^a	994 ^b	717 ^c	18	***	***	NS
TN, mg/L	1,035	579	1,002 ^a	756 ^b	662 ^b	55	***	***	NS
TP, mg/L	895	456	857 ^a	629 ^b	541 ^b	46	***	***	NS
After anaerobic filtration									
pH	7.84	7.97	7.79 ^c	7.92 ^b	8.02 ^a	0.04	***	***	NS
EC, dS/m	20.5	12.4	17.0 ^a	16.5 ^b	15.9 ^c	0.2	***	***	*
COD, mg/L	1,566	886	1,529 ^a	1,135 ^b	1,014 ^b	73	***	***	NS
BOD, mg/L	516	286	526 ^a	369 ^b	307 ^c	18	***	***	*
SS, mg/L	1,091	670	1,188 ^a	850 ^b	602 ^c	15	***	***	NS
TN, mg/L	931	521	902 ^a	681 ^b	596 ^b	49	***	***	NS
TP, mg/L	716	365	686 ^a	503 ^b	433 ^b	37	***	***	NS
After aerobic									
pH	8.52	8.42	8.52	8.49	8.39	0.14	NS	NS	NS
EC, dS/m	13.1	7.7	11.4	10.3	9.4	1.1	***	NS	NS
COD, mg/L	904	266	823 ^a	491 ^b	441 ^c	47	***	***	***
BOD, mg/L	298	71	257 ^a	163 ^b	134 ^c	10	***	***	***
SS, mg/L	638	91	545 ^a	315 ^b	233 ^c	7	***	***	***
TN, mg/L	488	157	453 ^a	276 ^b	238 ^b	28	***	***	***
TP, mg/L	420	106	369 ^a	236 ^b	185 ^c	21	***	***	***

¹ Manure and washing water mixing were mixed to have A and B wastewater at 1:1 and 1:2.5 by weight ratio, respectively.

² Hydraulic retention time on anaerobic treatment of X, Y and Z are 10, 15 and 20 days, respectively, and the aeration treatment is all 1.5 days.

³ NS: not significant; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

表 6. 廢水濃度及厭氧處理水力停留時間對各處理階段水質影響之主效應

Table 6. Effects of wastewater concentration and hydraulic retention time (HRT) of anaerobic treatment on water quality after each treatment stage

Items	AX ¹	AY	AZ	BX	BY	BZ	SE
After anaerobic							
BOD, mg/L	758 ^a	637 ^b	510 ^c	496 ^c	254 ^d	246 ^d	23
After anaerobic filtration							
EC, dS/m	21.34 ^a	20.42 ^b	19.69 ^c	12.73 ^d	12.50 ^{de}	12.07 ^e	0.20
BOD, mg/L	606 ^a	522 ^b	418 ^c	446 ^c	216 ^d	197 ^d	19
After aerobic							
COD, mg/L	1,276 ^a	753 ^b	684 ^b	371 ^c	229 ^d	198 ^d	47
BOD, mg/L	424 ^a	261 ^b	209 ^c	89 ^d	65 ^{de}	59 ^e	10
SS, mg/L	971 ^a	535 ^b	407 ^c	119 ^d	95 ^e	58 ^f	7
TN, mg/L	689 ^a	407 ^b	370 ^b	218 ^c	145 ^{cd}	107 ^d	28
TP, mg/L	599 ^a	368 ^b	295 ^c	139 ^d	104 ^{de}	75 ^e	21

¹ AX, AY and AZ used wastewater A, the manure and washing water mixing 1:1 by weight ratio; BX, BY and BZ used wastewater B, the manure and washing water mixing 1:2.5 by weight ratio, respectively. The hydraulic retention time on anaerobic treatment of AX and BX, AY and BY, and AZ and BZ are 10, 15 and 20 days, respectively, and the aeration treatment is all 1.5 days.

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

表 7. 廢水濃度及水力停留時間對水質處理效率之影響

Table 7. Effects of wastewater concentration (WWC) and hydraulic retention time (HRT) of pig wastewater on the pollutant removal efficiencies

Items	WWC ¹ (W)		HRT ² (H)			SE	Significance ³		
	A	B	X	Y	Z		W	H	W × H
	----- % -----								
Anaerobic stage									
COD	90.03	93.48	89.62 ^b	92.32 ^a	93.34 ^a	0.21	***	***	***
BOD	88.68	91.83	87.14 ^c	91.20 ^b	92.43 ^a	0.10	***	***	***
SS	92.98	93.97	90.86 ^c	93.89 ^b	95.68 ^a	0.04	***	***	***
TN	79.86	81.93	75.92 ^b	82.33 ^a	84.44 ^a	2.22	NS	***	NS
TP	88.66	85.07	82.65 ^b	88.43 ^a	89.52 ^a	1.66	*	***	NS
Aerobic stage									
COD	49.66	78.46	50.00 ^c	69.47 ^b	72.70 ^a	0.88	***	***	***
BOD	50.74	84.08	55.00 ^c	71.15 ^b	76.08 ^a	0.37	***	***	***
SS	54.04	90.85	59.00 ^c	75.94 ^b	82.39 ^a	0.16	***	***	***
TN	55.25	77.79	53.47 ^c	70.94 ^b	75.15 ^a	1.31	***	***	***
TP	50.74	80.40	52.31 ^c	68.98 ^b	75.42 ^a	1.61	***	***	***
Total removal rate									
COD	96.23	98.50	96.28 ^b	97.79 ^a	98.02 ^a	0.23	***	***	**
BOD	95.28	98.46	95.68 ^c	97.23 ^b	97.70 ^a	0.05	***	***	***
SS	96.93	99.38	97.25 ^c	98.38 ^b	98.82 ^a	0.02	***	***	***
TN	84.84	94.26	84.77 ^c	90.73 ^b	92.00 ^a	0.42	***	***	*
TP	76.63	90.58	74.78 ^c	83.84 ^b	87.37 ^a	0.39	***	***	*

¹ Manure and washing water mixing were mixed to have A and B wastewater at 1:1 and 1:2.5 by weight ratio, respectively.

² Hydraulic retention time on anaerobic treatment of X, Y and Z are 10, 15 and 20 days, respectively, and the aeration treatment is all 1.5 days.

³ NS: not significant; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. ND: not determined.

養豬場應用全條狀豬舍或部分條狀豬舍飼養皆具有節水減廢的效果，但廢水濃度較每日沖洗的傳統實地面豬舍為高(蘇等，2016；2018)。本試驗所使用的 A 廢水是模擬全條狀豬舍的糞尿及沖洗水比例調製，AX、AY 及 AZ 組分別經 10、15 及 20 日的厭氧處理再經過約 1.5 日曝氣處理，且在厭氧處理後再增加污泥過濾廢棄程序，經處理後水質的 COD、BOD 和 SS 濃度仍無法符合放流水標準，厭氧處理後的污泥量也相對較多。郭等(1995)指出，污泥產生量與進流水中固體物濃度有直接關係，而養豬廢水經固液分離後在厭氧處理階段每去除 1 g 的全 COD 約產生 0.023 g 的污泥，推測使用 A 廢水各組厭氧污泥量相對較多，係因 A 廢水的 COD 濃度與處理過程 COD 去除量皆較 B 廢水為高所致。

本試驗結果顯示，B 廢水經過三段式處理後，除 BX 組的 BOD 濃度外，其 COD、BOD 和 SS 濃度皆可符合放流水標準(行政院環境保護署，2019)，而 A 廢水由於濃度較高，仍需再作後續研究以建立適當的處理模式，而建置高床條狀豬舍且廢水採用三段式處理的養豬場，建議必須更著重在厭氧槽的污泥清理與污泥後續處理，以提高放流水合格率。行政院環境保護署(2017)在水污染防治措施及檢測申報管理辦法中，已訂有養豬業應採行畜牧糞尿資源化處理措施相關規定，因此將高濃度養豬廢水經厭氧處理後或再經曝氣處理後，用於農作物施灌、還肥於田，落實資源化再利用，也是現階段養豬業可行且必須遵循的方式。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2013。農業事業廢棄物再利用管理辦法。中華民國 102 年 6 月 3 日農牧字第 1020042705 號令修正發布。
- 行政院環境保護署。2015。水污染防治措施及檢測申報管理辦法。中華民國 104 年 11 月 24 日環署水字第 1040095824 號令修正發布。
- 行政院環境保護署。2017。水污染防治措施及檢測申報管理辦法。中華民國 106 年 12 月 27 日環署水字第 1060103859 號令修正發布。
- 行政院環境保護署。2018。事業及污水下水道系統水污染防治費收費辦法。中華民國 107 年 12 月 26 日環署水字第 1070105655 號令公告。
- 行政院環境保護署。2019。放流水標準。中華民國 108 年 4 月 29 日環署水字第 1080028628 號令修正發布。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2000。水中導電度測定方法—導電度計法(NIEA W203.51B)。中華民國 89 年 11 月 23 日(89)署檢字第 70017 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2004。水中總氮檢測方法(NIEA W423.52C)。中華民國 93 年 8 月 9 日環署檢字第 0930057400 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2006a。水中硝酸鹽氮檢測方法—分光光度計法(NIEA W419.51A)。中華民國 95 年 8 月 8 日環署檢字第 0950062980 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2006b。水中凱氏氮檢測方法(NIEA W451.51A)。中華民國 95 年 3 月 31 日環署檢字第 0950025578 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2010。水中磷檢測方法—分光光度計／維生素丙法(NIEA W427.53B)。中華民國 99 年 9 月 15 日環署檢字第 0990084224 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2011。水中生化需氧量檢測方法(NIEA W510.55B)。中華民國 100 年 1 月 27 日環署檢字第 1000009050 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2013。水中總溶解固體及懸浮固體檢測方法—103℃～105℃乾燥(NIEA W210.58A)。中華民國 102 年 1 月 15 日環署檢字第 1020004998 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2018。水中化學需氧量檢測方法—重鉻酸鉀迴流法(NIEA W515.55A)。中華民國 107 年 11 月 22 日環署授檢字第 1070007386 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2019a。水之氫離子濃度指數(pH 值)測定方法—電極法(NIEA W424.53A)。中華民國 108 年 1 月 22 日環署授檢字第 1080000393 號公告。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2019b。水中亞硝酸鹽氮檢測方法—比色法(NIEA W418.54C)。中華民國 108 年 7 月 30 日環署授檢字第 1080004541 號公告。
- 夏良宙。2001。豬舍設備。畜牧要覽養豬篇(增修版)。中國畜牧學會，臺北市，第 285-292 頁。
- 郭猛德、沈添富、曾四恭。1995。豬糞廢水固形物含量對厭氣處理後污泥產量之研究。中畜會誌 24：497-510。
- 曾四恭、吳建輝、鄭榮春、郭猛德、馬冀芳。2003。生物處理法去除養豬廢水中氮之研究(上)。飼料營養雜誌

11：66-75。

臺灣省畜產試驗所。1993。豬糞尿處理設施工程設計、施工手冊(修訂本)，pp. C-F。臺灣省畜產試驗所專輯第21號。

蔡孟潔、周楚洋。2005。豬糞尿水之生物去氮除磷。農業機械學刊 14：1-12。

蘇天明、李免蓮、吳遵文、蕭庭訓、李恒夫、廖宗文、郭猛德。2009。不同體重肉豬糞尿排泄量及其成分調查。中畜會誌 38：97-107。

蘇天明、劉士銘、李恒夫、蕭庭訓、廖宗文、郭猛德。2012。不同型式飼料及其用量之飼糧對生長肥育豬生長性能及屠體性狀之影響。畜產研究 45：55-66。

蘇天明、翁義翔、鍾承訓、鄭閔謙、蕭庭訓、程梅萍。2016。地面結構對熱季豬隻生長性能及豬舍用水量、廢水量之影響。畜產研究 49：26-34。

蘇天明、翁義翔、鍾承訓、蕭庭訓、程梅萍。2018。地面結構對涼季豬隻生長性能與豬舍廢水量。畜產研究 51：75-83。

蘇天明、鍾承訓、蕭庭訓、程梅萍。2020。三段式處理對不同濃度養豬廢水之處理效果。畜產研究 53：82-90。

Beuckels, A., E. Smolders, and K. Muylaert. 2015. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Res.* 77: 98-106.

Cheng, D. L., H. H. Ngo, W. S. Guo, S. W. Chang, D. D. Nguyen, and S. M. Kumar. 2019. Microalgae biomass from swine wastewater and its conversion to bioenergy. *Bioresour. Technol.* 275: 109-122.

Chynoweth, D. P., A. C. Wilkie, and J. M. Owens. 1999. Anaerobic treatment of piggery slurry-review. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 12: 607-628.

Giannuzzi, L., D. Sedan, R. Echenique, and D. Andrinolo. 2011. An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. *Mar. Drugs* 9: 2164-2175.

Razaq, M., P. Zhang, and H. I. Shen. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PLoS ONE* 12: e0171321.

SAS. 2002. SAS/STAT® 8.6. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.

Study on the treatment of high -concentration pig wastewater with model tanks ⁽¹⁾

Tein-Ming Su ⁽²⁾⁽³⁾ Cheng-Hsun Chung ⁽²⁾ and Ting-Hsun Hsiao ⁽²⁾

Received: Jun. 2, 2021; Accepted: Jan. 18, 2022

Abstract

The purpose of this study was to investigate the performance of the three-step treatment process in the treatment of high-concentration pig wastewater, using a model tank. Twelve LD pigs with an average weight of 47 to 107 kgs were arranged in individual metabolism cages. Feed and water were provided *ad libitum* during the experimental period. The feces and urine of individual pig were collected daily, weighed separately, and then mixed together. Two concentrations of wastewater were prepared by mixing manure and washing water at ratio of 1:1 (wastewater A) and 1:2.5 (wastewater B) by weight. After solid-liquid separation, the mixture was injected into 6 anaerobic tanks with an effective volume of about 200 L. The hydraulic retention time (HRT) of anaerobic treatment was about 10, 15 and 20 days, respectively. The HRT of aeration treatment for each group was about 1.5 days. Results showed that after the three-step treatment process, chemical oxygen demand (COD), biochemical oxygen demand (BOD), suspended solids (SS), total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) concentrations of wastewater A were 904, 298, 638, 488 and 420 mg/L, respectively, all significantly ($P < 0.001$) higher than wastewater B. The COD, BOD, SS, TN and TP concentrations of the HRT 10-day group after the three-step treatment were 823, 257, 545, 453 and 369 mg/L, respectively, which were higher than the groups of HRT 15-day and HRT 20-day. Except for COD concentration, other water quality of group of HRT 15-day was also significantly higher than that of the HRT 20-day group. The results showed that even after wastewater A has undergone anaerobic treatment for 20 days and aerobic treatment for 1.5 days, the water quality still fails to meet the discharge water standard. On contrary, wastewater B subjected to anaerobic treatment for 10 days and aerobic treatment for about 1.5 days, the water quality meets the discharge standard. In summary, after the three-step treatment of high-concentration pig wastewater, the concentrations of TN and TP were still high. Taking considerations of compliance with law and treatment costs, the wastewater can be reused for irrigation on farmland as a nutrient source for crops.

Key words: Hydraulic retention time, Pig wastewater, Wastewater concentration.

(1) Contribution No. 2695 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

Effects of days of raising TLRI Black Pig No. 1 lactating sows in farrowing crate on the welfare of sows and survival rate of piglets ⁽¹⁾

Herng-Fu Lee ⁽²⁾⁽⁴⁾ and Biung Takis-Vilainan ⁽³⁾

Received: Jun. 23, 2021; Accepted: Feb. 16, 2022

Abstract

Conventional farrowing crate is a controversial issue from the viewpoint of animal production and welfare in swine industry. The purpose of this study was to evaluate the effect of crating length on the welfare of sows and survival rate of piglets. Twenty four multi-parous TLRI Black Pig No. 1 (TBP) sows were allocated to four treatments through a completely random design, where sows and piglets stayed in conventional farrowing crate throughout the experiment as the control group (C). Sows and their piglets were moved to concrete floor nursing pen on day 4, 7 or 10 until weaning on day 28 postpartum as treatment F, S and T, respectively. On day 14 postpartum, the respiratory rate, body temperature and salivary cortisol concentration were measured and while behaviors of sows were filmed for 24 hours. The results showed that there was no difference on the body weight, backfat thickness loss, daily feed intake, and the physiological parameters, in terms of respiratory rate and rectal temperature of sows amongst treatments. Sows raised in nursing pens tended to have higher salivary cortisol concentration ($P = 0.06$). With regards to survival, from birth to day 7 of age, the survival rate of group F was lower ($P < 0.05$) than groups C, S and T. After day 7 of age, the survival rate was not different amongst treatments. Behavioral data indicated that sows raised in farrowing crate tended to have higher proportion of laterally lying ($P < 0.10$), and higher proportion of lying and sitting posture and less standing posture than the sows raised in nursing pen ($P < 0.05$). In summary, farrowing crate could protect neonate, however, after the 7th day postpartum, sows and piglets could be moved and raised in enlarged nursing pen to improve welfare of sows without detriment of piglets.

Key words: Animal welfare, Survival rate, TLRI Black Pig No. 1, Sows..

Introduction

The conventional farrowing crate is developed in the 1960s (Edwards and Fraser, 1997), which is a dilemma of swine industry. The space of farrowing crate is just narrow for sows to stand up for feeding, drinking, urination, and defecation, but not allowing the sow to turn around. The original function of farrowing crate is to limit the activity in terms of posture changing of sows during parturition and nursing period later on, in which protect the neonatal piglets from crush by sows when they are changing the posture. In terms of survival of suckling piglets, record has shown the farrowing crate achieved tremendous success (Baxter *et al.*, 2011) to decrease the high levels of piglet mortality.

Despite of the protective function, however, the use of farrowing crates evokes concern by animal welfare groups due to severely limit the normal behaviour expression of sows (Jensen, 1988), and the implication that confinement crate leads to chronic stress of sows and hence reduces the welfare (Jarvis *et al.*, 2006). Enlarged nursing pen during lactation period may improve the sow welfare. However, survival of piglet may be put at risk as the absence of crate confinement allows more sow

(1) Contribution No. 2696 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

postural changes which may increase the risk of crushing. A number of researches have tried to address this issue by alternative loose-house systems. Results from these studies are however contradictory. In studies by Moustsen *et al.* (2013), Hales *et al.* (2014), Condous *et al.* (2016), and Buoio and Costa (2020), the preweaning mortality was reduced when the sow was confined at farrowing compared to being loose-housed. On the other hand, findings from Weber *et al.* (2007), Pedersen *et al.* (2011) and Goumon *et al.* (2018) showed no differences in preweaning piglet mortality between crated or loose housed sows. Such different results imply the difficulty to abolish conventional farrowing crate completely and the farrowing crate still dominate the main equipment in farrowing house of swine industry (Baxter *et al.*, 2011; Lo and Dai, 2012).

Piglet mortality is the outcome of a set of complex interactions amongst the sow, the piglet and the environment. Research indicated that newborn piglets have the highest mortality within three days after birth, and gradually decrease after seven days postpartum (Dyck and Swierstra, 1987; Marchant *et al.*, 2000; Baxter *et al.*, 2011), which implies that different strategy approaches might be applied to manage lactating sows. As farrowing crates are still used in most of domestic farms for lactation sows (Lo and Dai, 2012), yet there is very little research addressing the issue in Taiwan. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effect of farrowing crate and nursing pen during lactation period on welfare in terms of physiology, reproductive performance and behaviour of sows and survival of piglets.

Materials and Methods

Animals used in this study and the procedures were according to the Guide for Care and Use of Agricultural Animal of Livestock Research Institute, Council of Agriculture (Affidavit of Approval of Animal Use Protocol no. 99022).

I. Animals and management

Twenty four multiparous pregnant TBP (Taiwan Livestock Research Institute Black Pig No. 1) sows, in which average parity was 3.7 (range: 2 - 6) were selected and raised in conventional gestation stall. At approximately one week before the expected parturition day (calculated on the basis of 114 days of pregnancy), each sow was moved to farrowing house and raised in a 210 × 210 cm wire-meshed farrowing bed containing a 210 × 60 cm conventional farrowing crate in the center. Another 210 × 210 cm nursing pen was designed for experiment. There was a 210 × 60 cm metal slat area at the rear of the concrete floor nursing pen for defecation and urination. The space of the nursing pen allowed the sows to turn around. At the side part of both farrowing bed and nursing pen, there was a 102 × 50 cm creep area attached with a heat lamp above for the suckling piglets (Fig. 1).

The experiment was designed as completely random design and each sow was allocated to one of the following four treatment groups. After parturition, the sows and their piglets kept in the farrowing pen throughout the experiment was crate group (Crate; C). The sows and their suckling piglets transferred to nursing pen together on the 4th (F group), 7th (S group) or 10th (T group) day postpartum and stayed in the nursing pen until piglets were weaned on the 28th day of age, respectively.

All newborn piglets were weighed individually and ear-notched within 24 hours of birth (average birth weight 1.43 ± 0.20 kg total piglets of 24 sows). Sows were offered a commercial diet containing CP 15% and DE 3,250 kcal/kg twice daily (09.00 h and 15.00 h) throughout the experiment. Pelleted creep feed containing CP 18.2% and DE 3,460 kcal/kg was supplied to piglets on the 7th day after birth until weaning. Water was supplied to the animals *ad libitum* throughout the experiment. The farrowing crate and nursing pen were cleaned in the morning. Supplementary dim lighting with 20 lux was supplied at night for video recording.

II. Measurements

The feed intake of sows during the lactation period was recorded. The body weight and backfat thickness of sows were measured within 24 hours after parturition and on the weaning day to calculate the changes during the lactation period. Backfat thickness was taken at the first rib, last rib and last lumbar vertebrae 2 cm away the dorsal line by A-mode ultrasonic instrument (The PREG-ALERT PRO®, USA). On day 14 after birth at about 13.00 h, cotton swabs attached at the end of a wooden rod allowing the sows to chew until the cotton swabs were thoroughly moistened. Samples were taken on calm and lying sows, not during nursing bouts. Saliva was extracted from the swabs by centrifugation (HITACHI CR22G, Japan) for 20 min at $1,870 \times g$ at room temperature and then stored at -20°C until assay. Salivary cortisol was

analysed by ABBOTT ARCHITECT Cortisol 8D15-25 kit (ABBOTT RCHITECT Cortisol®, USA) with a delayed one-step immunoassay assess. At the same time, the respiration frequency, rectal temperature and body surface temperature at the ears near the neck were measured by manual counter, electronic thermometer (SHANG NONG, China) and infrared thermal imager (TECPEL TIG-320, Taiwan), respectively. After the measurement was completed, the behaviour of the sows and the number of nursing were monitored by using a wide-angle lens (SONY DCR-PC350) on a ceiling mounted camera on a 24-hour mode recording (DECTEC DR-4043).

The 24 hours video data was analysed by video playback by a 1-min interval scanning method (i.e. 1440 scans in 24 h). The postures of sows were defined as below:

- (i) Stand: Sow was upright with legs extended and all four feet on the ground.
- (ii) Sit: Rear end on the floor with two front feet on the ground and front legs extended.
- (iii) Kneel: Front legs bent with two back feet on the ground and back legs extended. This is a transitory posture during lying down or when the sow was trying to reach something under the trough or bars.
- (iv) Lie ventrally: Lying on udder with neither shoulder touching the ground.
- (v) Lie laterally: Lying with udder exposed and one shoulder completely in contact with the ground. Spine line is either left or right of centre.

Body weight of each piglet born alive was weighed within 24 hours after birth and on the weaning day to calculate the weight gain. The number of piglets born alive, on the 4th, 7th, 10th, 14th and the weaning day were recorded to calculate the survival rate and cause of each death case in terms of malnutrition, weakness, illness and unknown was judged and recorded by the same worker during the nursing period.

III. Statistical analysis

All data were analysed using the PROC GLM procedure of SAS (SAS, 2008) in a completely randomized design. The model was $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ji}$ where Y_{ij} is the j^{th} observation of the i^{th} treatment, μ is the observation mean, τ_i is the treatment effect of the i^{th} treatment, and ε_{ji} is the random error. Body weight and backfat thickness of sows at parturition was used as a covariate to analyse body weight of weaning and the loss of body weight during lactation, and to analyse backfat thickness at weaning and the loss of backfat thickness during lactation. The number born alive was used as a covariate to analyse the performance of piglets. The significant differences amongst treatments were detected by Tukey's Multiple Range Test. Variability in the data was expressed as standard error of the mean (SEM) and probability level of $P < 0.05$ was considered to be statistically significant. Based on the fact that sows in treatments F, S and T were raised in nursing pen from the 10th day postpartum to weaning. The physiological parameter, posture pattern and nursing number measured on day 14 postpartum were not significantly different amongst F, S and T treatments. Therefore these data were pooled as treatment nursing pen (F + S + T) for further statistical analysis.

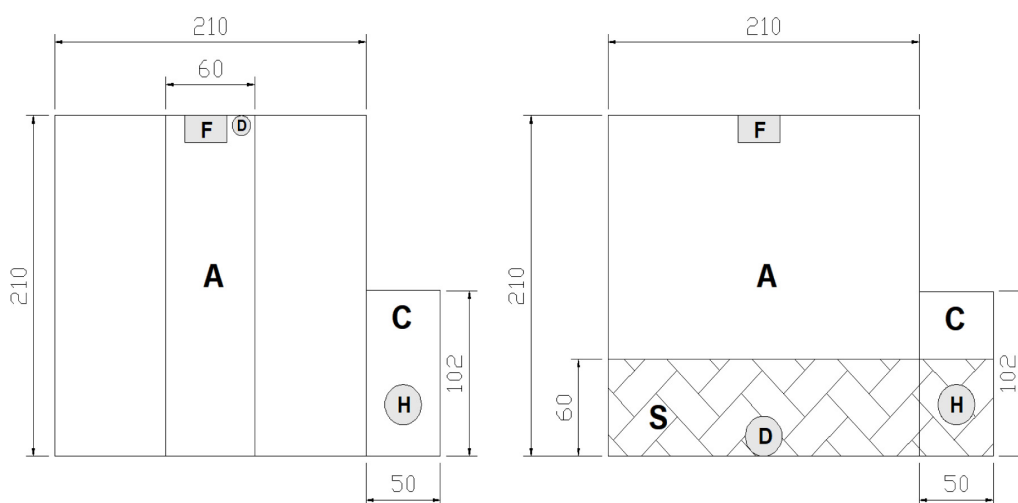


Fig. 1. The chat of typical conventional farrowing crate (left) for control sows and concrete floor nursing pen (right) for treatment sows. A = sow area; C = creep area for piglets; D = drinker; F = feed trough, H = heating lamp, S = slat area. All measurements are in centimeters. Area detail of the crate and pen was described in Materials and Methods.

Results and Discussions

I. Body weight, backfat thickness, feed intake of sows and performance of piglets

There were no difference of body weight, backfat thickness and feed intake of sows amongst treatments (Table 1). In this study, the body weight of TBP No. 1 sows at parturition ranged from 250 to 256.6 kg. After four weeks of lactation, the weaning weight ranged from 227.5 to 236.1 kg and the loss of body weight ranged from 19.7 to 22.2 kg. The average backfat thickness of TBP No. 1 sows at parturition was 28.1 mm. After four weeks of lactation, the average backfat thickness was 25.2 mm and the average loss of backfat thickness was 2.9 mm. The daily feed intake ranged from 2.58 to 3.06 kg.

Table 1. Effect of nursing crate and pen on body weight, backfat thickness, feed intake of TBP No. 1 sows and survival rate of piglets

Items	Treatments [§]				SEM
	C	F	S	T	
No. of sows	6	6	6	6	
Body weight at parturition, kg	251.1	255.6	250.0	253.4	4.7
Body weight at weaning, kg	229.8	236.1	227.5	232.7	4.7
Body weight loss during lactation, kg	21.4	19.7	22.2	20.7	1.8
Backfat thickness at parturition, mm	27.7	27.7	27.2	29.6	0.7
Backfat thickness at weaning, mm	25.0	25.3	24.3	26.0	0.7
Backfat thickness loss during lactation, mm	2.6	2.5	2.9	3.6	0.3
Sow feed intake, kg /d	3.01	2.58	2.60	3.06	0.39
No. of piglet born alive	8.3	9.7	9.5	8.5	0.3
Body weight at birth, kg/piglet	1.52	1.43	1.34	1.45	1.47
Body weight at weaning, kg/piglet	5.76	5.61	5.10	5.65	0.98
Body weight gain during nursing period, kg/piglet	4.24	4.18	3.77	4.19	0.20
Survival rate from birth to day 4, %	92.5	95.2	93.9	97.9	1.4
Survival rate from birth to day 7, %	90.6 ^a	82.7 ^b	92.5 ^a	94.3 ^a	1.3
Survival rate from birth to day 10, %	90.6 ^{ab}	82.7 ^b	90.1 ^{ab}	94.3 ^a	1.6
Survival rate from day 4 to weaning, %	91.3 ^a	79.1 ^b	86.6 ^{ab}	90.7 ^a	1.6
Survival rate from day 7 to weaning, %	93.2	91.3	88.0	93.9	1.7
Survival rate from day 10 to weaning, %	93.2	91.3	90.8	93.9	1.7
Survival rate from birth to weaning, %	84.5 ^a	75.3 ^b	81.4 ^a	88.6 ^a	1.9
No. of piglet at weaning	7.0	7.2	7.8	7.5	0.3

[§] C: farrowing crate group; F, S, T: After parturition, the sows and their suckling piglets were transferred to a concrete floor nursing pen on the 4th, 7th or 10th day, respectively until piglets were weaned on the 28th day of age.

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

The effect of nursing crate and pen on growth performance and survival rate of piglets during lactation period was shown in Table 1. The number of piglet born alive, body weight at birth and at weaning, and body weight gain of piglet during nursing period were not different amongst treatments. The number of piglet born alive ranged from 8.3 to 9.7 heads. The average birth weight and weaning weight were 1.44 and 5.53 kg, respectively. The average body weight gain during nursing period was 4.10 kg.

For the survival, within 4 days after birth, the average survival rate was over 92% and were not significantly different amongst treatments. From birth to day 7 of age, the survival rate of group F (82.7%) was lower than groups C, S and T with significant consistency lower ($P < 0.05$), but was not significantly different compared with groups C and S

from birth to day 10. Furthermore the survival rate from day 4 to weaning of group F was significantly lower ($P < 0.05$) than groups C and T, but was not significantly different compared with group S. After day 7 of age, no matter from day 7 or 10 to weaning, the survival rate was not significantly different amongst treatments. Although the survival rate from birth to weaning of group F was lower ($P < 0.05$) than groups C, S and T, overall the number of weaning piglet was not significantly different amongst treatments and the average number of weaning piglet was 7.4 heads.

During the four weeks of lactation period, causes of death of piglets revealed that the main cause included malnutrition, weakness, illness and unknown, which accounted for 79.5% (31/39) while crush happened at about 20.5% (8/39) (Fig. 2).

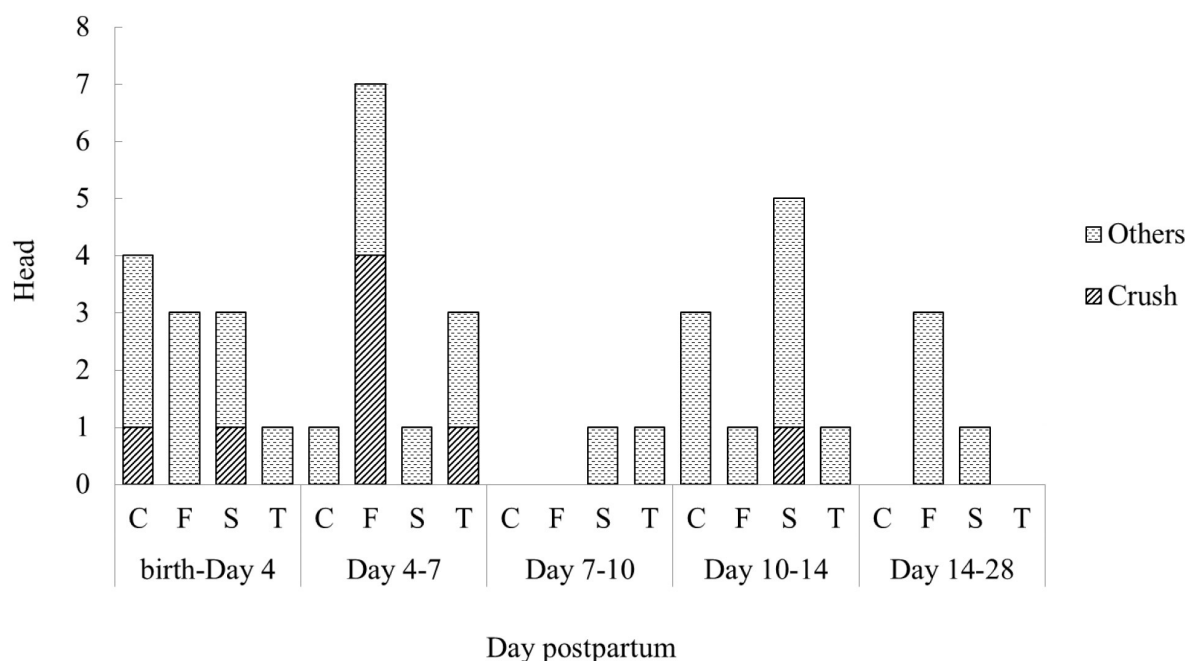


Fig. 2. The distribution of death case and the cause of death of suckling piglets in different sessions of age.

C: farrowing crate group; F, S, T: After parturition, the sows and their suckling piglets were transferred to a concrete floor nursing pen on the 4th, 7th or 10th day, respectively until piglets were weaned on the 28th day of age. Causes of death included crush and others in terms of malnutrition, weakness, illness and unknown. Each value was expressed as the sum of six experimental sows.

In general, the nutrient intake from feed of sows is less than the nutrient output in milk. In order to meet the milk requirement for suckling piglet, lactating sow would break down body tissue hence lead to the loss of body weight and backfat thickness during lactation. The extent of loss depends on feed intake and the number of suckling piglets. Results indicated that farrowing crate and nursing pen did not affect feed intake of sows, piglet born alive and growth performance of piglets, hence the change of body weight and backfat thickness was not significantly different amongst treatments. The feed intake in present study is lower than the study by Hsu *et al.* (2005) which might be due to the different breed of sow since the breed used in the study of Hsu *et al.* (2005) was LY sows. By contrast, the feed intake in present study is similar to the result by Liao *et al.* (2008) in which the breed is TBP No. 1 sows as well.

The mortality of suckling piglets is the outcome of a set of complex interactions amongst the sow, the piglet and the environment. It is well known that the mortality of suckling piglets and the cause of death varied amongst farms (Marchant *et al.*, 2000). In general, within three days after birth is the critical period that the highest mortality of neonatal piglets occurs, and the mortality gradually decreases after seven days postpartum (Dyck and Swierstra, 1987; Marchant *et al.*, 2000; Baxter *et al.*, 2011).

Although crushing by the sow is the main ultimate cause of piglet death in particularly within the neonatal period postpartum, it is often consequence of perinatal hypothermia and starvation (Dyck and Swierstra, 1987; Marchant *et al.*, 2000). Since the 1970s, many researchers suggested neonatal survival of piglet could be improved via the nutrient strategy in terms of supplementation of dietary nutrients such as fat to late pregnancy or lactation diet (Seerley *et al.*,

1974). However, Pettigrew, Jr. (1981) demonstrated the result of survival improvement by such nutritional manipulation varied amongst researches.

Another approach to improve the neonatal survival is the application of farrowing crate which was developed in the 1960s. The crate is a structure that contains a sow which prevents the sow from turning around. The crate forces the sow faces forward, towards a feeder and watering device. The manure will be deposited in a smaller location at her rear end which maintains a fairly hygienic environment. This device results in a tremendous improvement of neonatal survival through the protection from crush by sows when they are changing the posture (Glencorse *et al.*, 2018)

In present study before the 4th day postpartum, all animals were raised in farrowing bed with farrowing crate. The crate did protect the neonatal piglets from crush though it still happened occasionally. For the piglets in treatment F, the piglets were transferred and raised in nursing pen on the 4th day postpartum. There is lack of the protection of crate and the space of nursing pen allowed sows to turn around, thus it increased the risk of crushing. In present study, the number of crush increased from day 4 to 7 resulted in lower survival from birth to either day 7 or to day 10 and from day 4 to weaning in group F compared with group C, that indicated the vitality of piglets under the age of 7 day might not be good enough to escape the risk of crush. From another point of view that the survival rate from day 7 to weaning was not significantly different amongst treatments suggested that over the age of 7 days, animals could be raised in an enlarged pen with less detrimental effect in term of crush and the welfare in terms of space allowance for sows could be improved. Goumon *et al.* (2018) found similar result that temporary crating limited to the first 3 days postpartum would not affect the weight gain and survival of piglets compared with permanently crated group. However, Edwards and Fraser (1997) found that enlarged pen representing an improvement of welfare for sows, showed a higher crushing rate in comparison with the conventional crate. Even from day 15 to the weaning, enlarged pen furtherly lowered piglet survival rate (Buoio and Costa, 2020). These different results highlight the difficulty of alternative farrowing crate between the welfare and economic losses related to production. In addition, the application of nursing pen required more labour to maintain hygiene compared with the farrowing crate. A number of deaths caused by un-crushed were noticed in enlarged nursing pen from the 10th day postpartum to weaning. These deaths were mainly consequence of starvation from malnutrition, weakness, illness and unknown causes implied the application of enlarged nursing pen required higher skill to maintain the well-being of piglets.

II. Physiological parameters of sows on day 14 postpartum

The effect of farrowing crate and nursing pen on physiological parameters and nursing number of TBP No. 1 sows was shown in Table 2. There were no differences of respiratory frequency, body surface temperature, rectal temperature on day 14 postpartum and nursing number on day 14 to 15 postpartum between treatments. The concentration of cortisol in saliva of sows raised in nursing pen tended to be higher than sows raised in farrowing crate (1.0 vs. 0.3 ug/dL; $P < 0.10$). On the 14th day postpartum at 1:30 pm, sows breathed an average of 50.2 times per minute. The average of body surface temperature and rectal temperature were 35.6 and 38.9°C, respectively. For 24 hour observation of nursing on day 14 to 15, the nursing number was 39.0 bouts per day.

Table 2. Effect of farrowing crate and nursing pen on physiological parameters and nursing number of TBP No. 1 sows

Items	Treatments [§]		SEM
	C	F + S + T	
No. of sows	6	18	
Respiratory frequency, no./min	49.3	51.1	5.1
Body surface temperature, °C	34.9	36.2	0.4
Rectal temperature, °C	38.7	39.1	0.2
Salivary cortisol concentration, ug/dL	0.30 ^b	1.00 ^a	0.16
Nursing number in 24 hours, bout	39.5	38.4	0.4

[§] C: farrowing crate group; F + S + T: sows and the piglets were raised in nursing pen.

Parameters were collected on day 14 postpartum at about 13.00 h. Nursing number was measured from day 14 to 15 postpartum.

^{a, b} Means in the same row with the different superscript tended to be differed ($P = 0.06$).

Physiological state of animal is a response to environmental stimuli. Pigs are homeothermic animals with the ability to regulate body temperature and rectal temperature to maintain the physiological function (Mount, 1974). The respiration frequency and body temperature of pigs are mainly affected by the effects of the surrounding environment and the efficiency of heat dissipation. Pond and Maner (1984) found under 30°C environmental temperature, the respiration frequency for growing-finishing pigs was 30.6, then increased to 78.8 times per minute when the environmental temperature rose to 32.2°C and the rectal temperature would increase to 40.0°C if the environmental temperature continue rose to 37.8°C. Wang *et al.* (2008) also found the respiratory frequency, body temperature and rectal temperature increased along with the increase of ambient temperature. Animals of present study were raised in open-house under the same climate condition where the environment condition and the indoors sows were affected by the climate condition outdoors. The respiratory frequency, body surface temperature and rectal temperature were not significantly different between farrowing crate and nursing pen groups implied that the effect from environmental climate might be greater than the effect from treatments.

Animals secrete cortisol when they are facing pressure, which as an indicator to assess the welfare of sows. Research suggested permanent confinement of sows leads to long term and chronic stress with a higher cortisol response (Cronin *et al.*, 1991; Jarvis *et al.*, 2006; Yin *et al.*, 2016). In present study though the space of nursing pen allowed sows to turn around, it failed to decrease the cortisol level, even tended to be higher than farrowing crate group. The reason for the difference between present result and the studies by Cronin *et al.* (1991), Jarvis *et al.* (2006) and Yin *et al.* (2016) might be due to the lack of long term effect of present study since the sampling day in present day was on the 14 day postpartum. Goumon *et al.* (2018) also found removal of confinement crate on the 4th day postpartum had short-term positive effects in terms of less stress levels (as measured by Ig A), but no effect of housing were found on cortisol concentrations for long term effect on day 25 postpartum.

Milk yield peaks at around two weeks postpartum, depending on the litter size and litter weight, and the feed intake of sows (Pluske *et al.*, 1995). Neither farrowing crate nor nursing pen affected the nursing bout on day 14 to 15 postpartum in present study. The average of nursing number was 39.0 bouts per day which is similar to the result found by Nien *et al.* (2013), in which the Landrace sows were also raised in conventional farrowing crate at open-house and had 37 nursing bouts on day 14 postpartum. In addition, the piglets' performance from day 7 postpartum to weaning and the feed intake of sows were not significantly different amongst treatments that lead to no significant difference of nursing bout between treatments.

III. Postures of sows on day 14 to 15

The sows raised in farrowing crate tended to have higher proportion of laterally lying posture (LL) ($P < 0.10$), higher proportion of lying and sitting posture (SI) and less standing posture (ST) ($P < 0.05$) than the sows raised in nursing pen. The proportion of ventrally lying (LV) and kneeling posture (KN) between treatments were not significantly different (Fig. 3).

Both groups of sows tended to be very passive spending most of their time lying laterally and ventrally during 24 hour observation. Sows were raised in farrowing crate and in nursing pen spent 87.5 and 81.6%, respectively of the observation time lying laterally. Combining with lying laterally and ventrally, overall the proportion of total observed lying posture for the two groups was over 90%.

Sows raised in nursing pen were more active that spent 8.4% of the observation time standing while sows raised in farrowing crate spent 3.3% of the time. On the contrary, sows raised in farrowing crate spent 1.8% of the observation time sitting and sows was raised in nursing pen, which spent 0.8% of the time. Kneeling is a transitory posture when the sows were lying down or trying to reach something under the trough or bars which contributed a less proportion of time (0.6%) in the 24 hour observation.

As expected, the nursing pen that increased the space allowance, made the sows spend more time standing and be more active than farrowing crated sows over the 24 hour observation. Goumon *et al.* (2018) also found sows raised in enlarged pen after temporary crating to the first 3 days postpartum increased the activity than the crated sows. However, the finding of present study contrasts those of Lambert *et al.* (2015) and Chidgey *et al.* (2016) who found no differences in the amount of time spent active between temporary confined sow (e.g., until day 5 or 7 and 14, respectively) and

permanently crated sows.

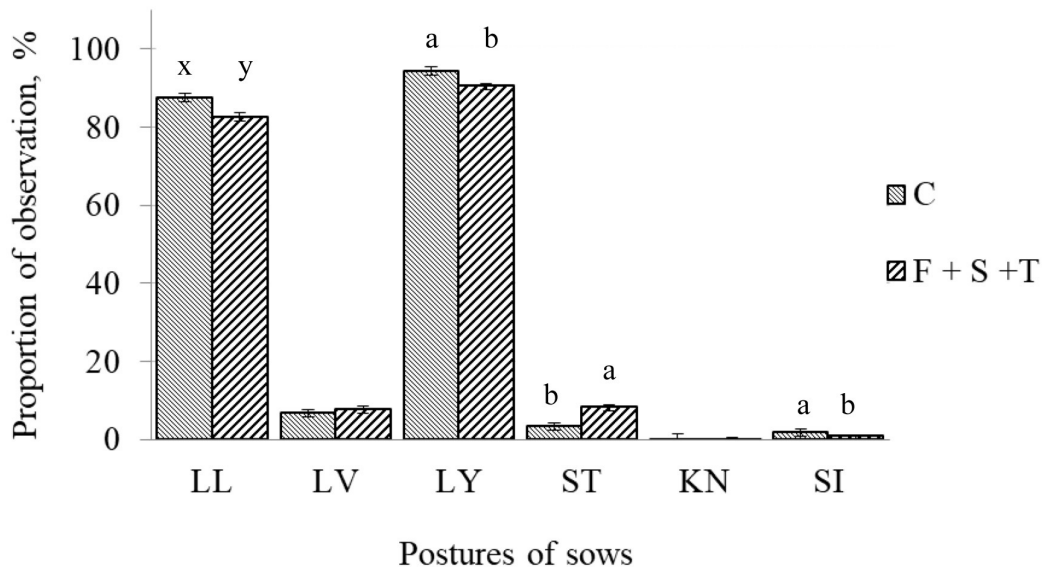


Fig. 3. The proportion of posture of sows on day 14 to 15 postpartum.

C: farrowing crate group; F + S + T: sows and the piglets were raised in nursing pen.

LL: lie laterally; LV: lie ventrally; LY: combine with lie laterally and lie ventrally; ST: stand; KN: kneel; SI: sit. Detail of behavioural ethogram was described in Materials and Methods.

x, y : $P < 0.10$; a, b : $P < 0.05$.

The behavioural parameters were sampled on day 14 postpartum that was at the peak of milk production. Sows performed lying posture for nursing and rest resulted in high proportion of laterally lying, in particularly for the sows raised in farrowing crate. The crate limited the mobility of sows that might also increase the difficulty to stand up. Furthermore, standing is a posture when sows were eating, drinking, defecation, urination, and walking or exploring the surrounding environment. Domestic sows would move up to miles away and spend a lot of time exploring, rooting, and foraging when they are raised in the wild (Stolba and Wood-Gush, 1989). Sows in present study were fed ad libitum, it is not necessary to spend lot of time foraging. Siting also is a transitory posture when the sows were lying down or trying to stand. Sows raised in farrowing crate performed higher siting posture might be due to the limit of locomotion from the crate.

From the view of animal welfare, nursing pen supplied a better environment in terms of enlarged space for sow performing higher activity and more flexible behaviours.

Conclusions

From the view of animal welfare, sows raised in enlarged nursing pen had better well-being. However, the management application of nursing pen should be considered carefully to avoid the detrimental effect of piglets in terms of survival. The study showed sows were temporary crated for at least 7 days after parturition then raised in an enlarged nursing pen might be taken into account of welfare and production at the same time. Such manipulation could be regarded as a compromise solution between conventional farrowing crates and nursing pens to better accommodate the welfare of both sow and piglets during nursing period.

Acknowledgements

The authors are grateful to the contribution of Mr. D. J. Tsai and J. L. Lin from Animal Industry Division, LRI-COA for the care of the animal and the technical assistance from T. C. Yang from Nutrition Division, LRI-COA.

References

- Baxter, E. M., A. B. Lawrence, and S. A. Edwards. 2011. Alternative farrowing accommodation: welfare and economic aspects of existing farrowing and lactation systems for pigs. *Animal* 6: 96-117.
- Buio, E. and A. Costa. 2020. Space allowance and piglets survival rate in the farrowing crate. *Large Anim. Rev.* 26: 239-247.
- Chidgey, K. L., P. C. H. Morel, K. J. Stafford, and I. W. Barugh. 2016. Observations of sows and piglets housed in farrowing pens with temporary crating or farrowing crates on a commercial farm. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 176: 12-18.
- Condous, P. C., K. J. Plush, A. J. Tilbrook, and W. H. E. J. van Wettere. 2016. Reducing sow confinement during farrowing and in early lactation increases piglet mortality. *J. Anim. Sci.* 94: 3022-3029.
- Cronin, G. M., J. L. Barnett, F. M. Hodge, J. A. Smith, and T. H. McCallum. 1991. The welfare of pigs in two farrowing/lactation environments: cortisol responses of sows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 32: 117-127.
- Dyck, G. W. and E. E. Swierstra. 1987. Causes of piglet death from birth to weaning. *Can. J. Anim. Sci.* 67: 543-547.
- Edwards, S. A. and D. Fraser. 1997. Housing systems for farrowing and lactation. *Pig J.* 39: 77-89.
- Glencorse, D., K. Plush, S. Hazel, D. D'Souza, and M. Hebert. 2018. A systematic review and meta-analysis on the influence of farrowing pens on piglet traits. Report prepared for the Co-operative Research Centre for High Integrity Australian Pork. <http://porkcrc.com.au/wp-content/uploads/2019/01/1A-117-Project-Final-Research-Report-1A-117-Version-2-clean.pdf>.
- Goumon, S., I. Leszkowová, M. Šimečková, and G. Illmann. 2018. Sow stress levels and behavior and piglet performances in farrowing crates and farrowing pens with temporary crating. *J. Anim. Sci.* 96: 4571-4578.
- Hales, J., V. A. Moustsen, M. B. F. Nielsen, and C. F. Hansen. 2014. Higher preweaning mortality in free farrowing pens compared with farrowing crates in three commercial pig farms. *Animal* 8: 113-120.
- Hsu, C. B., J. T. Lee, H. J. Huang, S. C. Chang, F. C. Liu, and A. L. Hsu. 2005. Effects of dietary valine supplementation on the performance of lactating sows and piglets. *J. Taiwan Livestock Res.* 38: 47-56. (in Chinese).
- Jarvis, S., R. B. D'Eath, S. K. Robson, and A. B. Lawrence. 2006. The effect of confinement during lactation on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and behavior of primiparous sows. *Physiol. Behav.* 87: 345-352.
- Jensen, P. 1988. Maternal behaviour and mother-young interactions during lactation in free-ranging domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 20: 297-308.
- Lambertz, C., M. Petig, A. Elkmann, and M. Gauly. 2015. Confinement of sows for different periods during lactation: effects on behaviour and lesions of sows and performance of piglets. *Animal* 9: 1373-1378.
- Liao, C. W., C. F. Liu, S. F. Wu, and T. M. Su. 2008. Effects of L-carnitine fed during gestation and lactation on reproductive and litter performance of TLRI Black Pig No. 1 sows. *J. Taiwan Livestock Res.* 41: 139-144. (in Chinese).
- Lo, L. L. and M. E. Dai. 2012. Survey of management practice on animal welfare of breeding pigs in Taiwan. *Hwa Kang J. Agric.* 29: 67-88. (in Chinese).
- Marchant, J. N., A. R. Rudd, M. T. Mendl, D. M. Broom, M. J. Meredith, S. Corning, and P. H. Simmins. 2000. Timing and causes of piglet mortality in alternative and conventional farrowing systems. *Vet. Rec.* 147: 209-214.
- Mount, L. E. 1974. The concept of thermal neutrality. In: *Heat loss from animals and man*. eds. Monteith, J. L. and Mount, L. E. Butterworths, pp. 425-439. London, UK.
- Moustsen, V. A., J. Hales, H. P. Lahrmann, P. M. Weber, and C. F. Hansen. 2013. Confinement of lactating sows in crates for 4 days after farrowing reduces piglet mortality. *Animal* 7: 648-654.
- Nien, P. C., C. M. Wang, Y. C. Chang, C. L. Hu, H. F. Lee, and Y. S. Jea. 2013. The effect of different jouses on the reproductive performance of sows. *J. Taiwan Livestock Res.* 46: 81-86. (in Chinese).
- Pedersen, L. J., P. Berg, G. Jørgensen, and I. L. Andersen. 2011. Neonatal piglet traits of importance for survival in crates and indoor pens. *J. Anim. Sci.* 89: 1207-1218.
- Pettigrew, Jr., J. E. 1981. Supplemental dietary fat for periparturient sows: a review. *J. Anim. Sci.* 53: 107-117.
- Pluske, J. R., I. H. William, and F. X. Aherne. 1995. Nutrition of the neonatal pig. In *The neonatal pig: development and survival*. ed. M. A. Varley. pp. 187-235. CAB International, Oxon, U.K.
- Pond, W. G. and J. H. Maner. 1984. *Swine production and nutrition*. AVI Publishing Co., Inc. US.

- SAS. 2008. SAS/STAT® User's guide: Ver. 6.2. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Seerley, R. W., T. A. Pace, C. W. Foley, and R. D. Scarth. 1974. Effect of energy intake prior to parturition on milk lipids and survival rate, thermostability, and carcass composition of piglets. *J. Anim. Sci.* 38: 64-70.
- Stolba, A. and D. G. M. Wood-Gush. 1989. The behaviour of pigs in a semi-natural environment. *Anim. Prod.* 48: 419-425.
- Wang, S. K., S. H. Chiang, A. L. Hsu, and H. F. Lee. 2008. Effects of ambient temperature and dietary lysine:energy ratio on physiological characteristics and nitrogen retention of growing-finishing pigs. *J. Taiwan Livestock Res.* 42: 73-85. (in Chinese).
- Weber, R. N. M., Keil, M. Fehr, and R. Horat. 2007. Piglet mortality on farms using farrowing systems with or without crates. *Anim. Welfare* 16: 277-279.
- Yin, G., H. Liu, X. Li, D. Quan, and J. Bao. 2016. Effect of farrowing environment on behaviour and physiology of primiparous sows with 35-day lactation. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 14: 159-169.

畜試黑豬一號泌乳母豬飼養於分娩架之日數 對其福祉及仔豬存活率之影響⁽¹⁾

李恒夫⁽²⁾⁽⁴⁾ 邱智偉⁽³⁾

收件日期：110 年 6 月 23 日；接受日期：111 年 2 月 16 日

摘 要

從生產及動物福祉的觀點而言，使用母豬傳統式分娩架具正反爭議。本研究旨在探討泌乳母豬飼養於分娩架中的日數長短對母豬動物福祉及其仔豬存活率的影響。試驗採完全隨機設計，選取經產畜試黑豬一號懷孕母豬 24 頭，分至四處理組，母豬分娩後，母豬與同窩仔豬飼養於分娩架內者為對照組 (C 組)，處理組於分娩後第 4 日 (F 組)、第 7 日 (S 組) 或第 10 日 (T 組)，將母豬與同窩仔豬移至水泥地面之哺乳欄至分娩後第 28 日離乳止。分娩後第 14 日量測母豬呼吸頻率、直腸溫度與耳根處之體表溫度，同時採集母豬唾液分析皮質醇濃度；並以錄影—放影方式記錄 24 小時內母豬之行為態樣。結果顯示，各組母豬哺乳期每日採食量、體重及背脂變化以及呼吸頻率與體溫差異皆不顯著，哺乳欄母豬唾液中有較高皮質醇濃度之趨勢 ($P = 0.06$)。存活率方面，出生至 7 日齡間，F 組仔豬存活率低於 C、S 及 T 組 ($P < 0.05$)，從 7 日齡之後，各組間存活率差異不顯著。和飼養於分娩架之母豬相比，飼養於分娩架組有較高的側躺姿勢比例之趨勢 ($P < 0.10$)，及有較高的躺臥與坐姿比例以及較低的站立姿勢比例 ($P < 0.05$)。綜合上述結果，分娩後初期分娩架可保護新生仔豬，但是於分娩後第 7 日，將母豬與仔豬飼養於較大空間的哺乳欄可以提升母豬福祉，並且不影響仔豬存活率。

關鍵詞：動物福祉、存活率、畜試黑豬一號、母豬。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2696 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

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

飼糧鈣含量與根黴菌發酵萃取物對公番鴨 精液性狀之影響⁽¹⁾

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

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

摘 要

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

關鍵詞：番鴨、鈣、根黴菌發酵萃取物、精液性狀。

緒 言

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

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

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

材料與方法

I. 試驗動物

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

(i) 飼養管理

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

(ii) 試驗處理

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

II. 測定項目

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

III. 統計分析

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

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

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

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

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

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

結果與討論

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

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

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

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

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

Mean ± SD, n = 9.

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

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

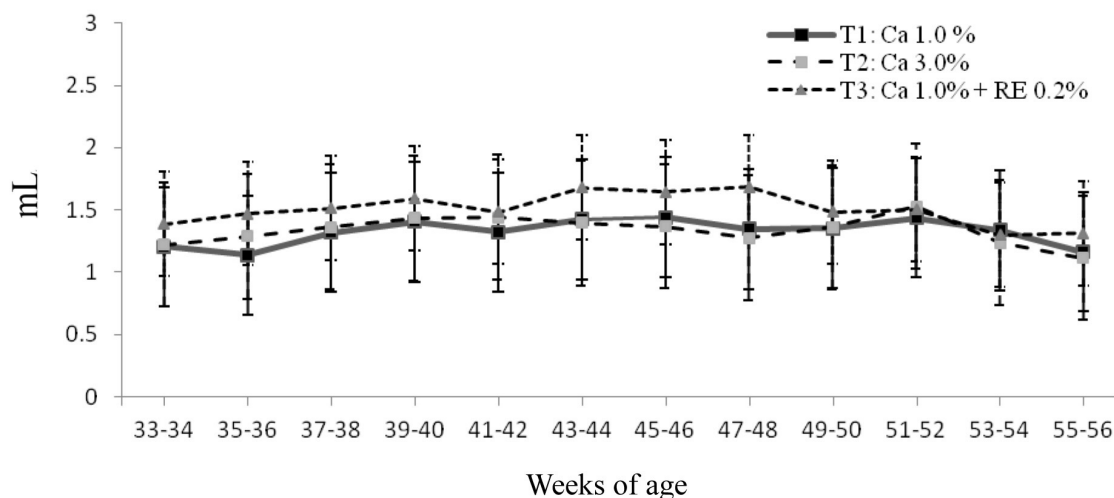


圖 1. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液量之影響。

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

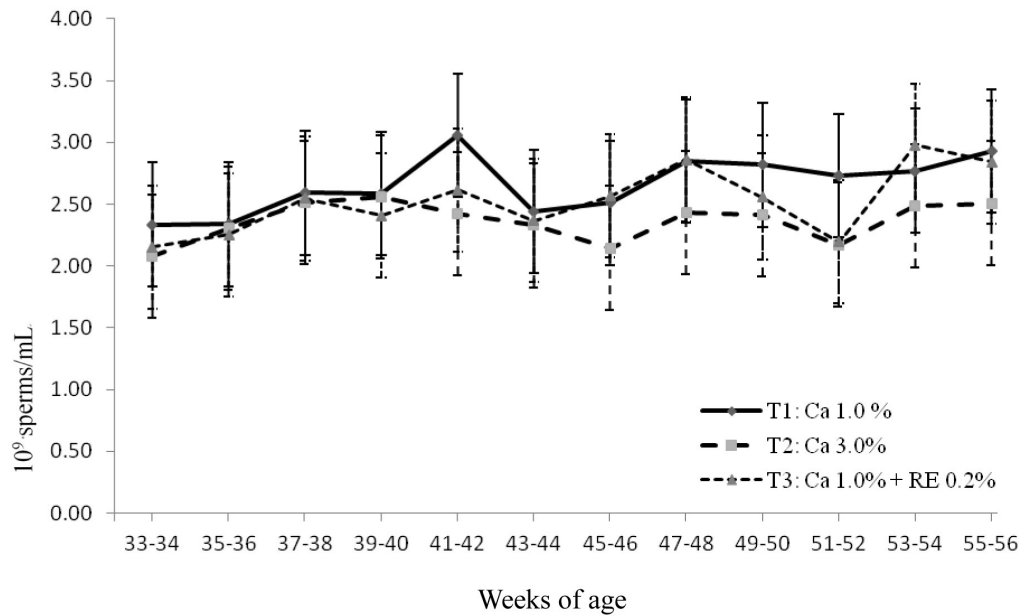


圖 2. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精子濃度之影響。

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

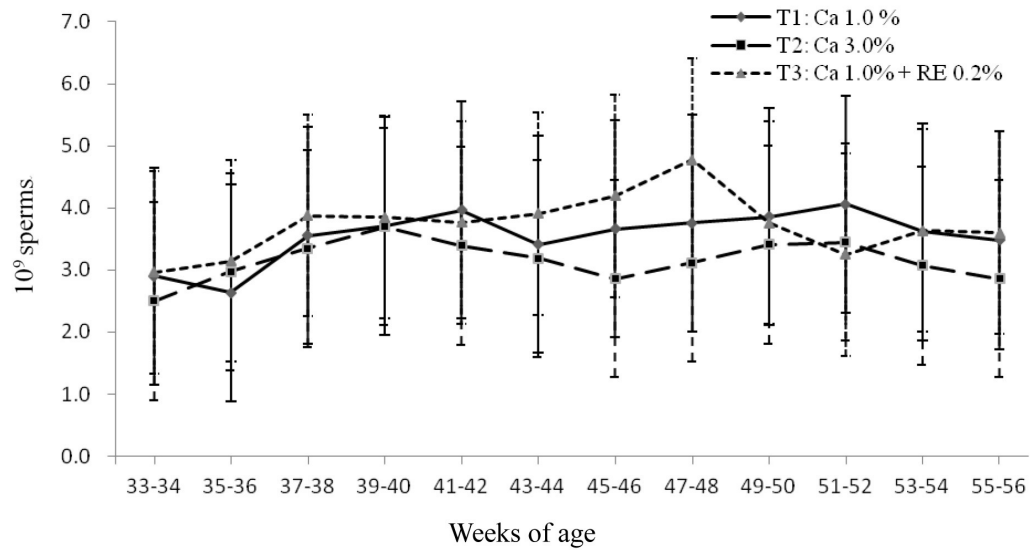


圖 3. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨總精子數之影響。

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

表 3. 飼糧鈣含量與添加根黴菌發酵萃取物對公番鴨精液性狀之影響

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

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

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

Mean ± SD, n = 12.

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

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

I. 飼糧中鈣含量之影響

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

II. 飼糧中添加根黴菌發酵萃取物之影響

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

結 論

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

參考文獻

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

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

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

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

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

Abstract

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

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

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

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

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

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

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

家禽始基生殖細胞之冷凍保存⁽¹⁾

劉振發⁽²⁾ 劉瑞珍⁽³⁾ 張家語⁽²⁾ 陳立人⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：110 年 8 月 31 日；接受日期：111 年 3 月 28 日

摘 要

本試驗之目的在探討家禽始基生殖細胞 (primordial germ cell, PGC) 之冷凍保存方法，以了解利用超低溫方式冷凍保存家禽 PGC 之效果。試驗中分別探討以可程式降溫儀 (WEST-4400) 或簡易商用冷凍盒 (Nalgene Cryo 1°C Freezing Container) 之不同冷凍設備，或在不同的雞血清 (chicken serum, CS) 添加濃度下 (10 – 90%)，以及不同的解凍方式 (A：解凍後以 3 倍體積逐滴加入含 10% CS 之 M199 (Medium 199)，B：直接添加含 10% CS 之 M199，C：直接添加含 0.5 M 蔗糖之 M199) 下對家禽始基生殖細胞之冷凍保存效果。結果顯示在以 M199 + 10% DMSO (dimethyl sulfoxide) 為抗凍劑，冷凍體積為 1 mL/瓶時，配合使用可程式降溫儀每分鐘降 1°C 時，細胞存活率為 10 – 30%，優於每分鐘降 0.33°C 之存活率 (低於 10%)。若是利用商用簡易冷凍盒，每分鐘降 1°C 之降溫條件下，PGC 解凍後存活率為 47 – 54%，顯著優於可程式降溫儀的冷凍效果。冷凍保存液中不同雞血清含量對始基生殖細胞之存活率並未有顯著之影響。而冷凍之 PGC 最佳解凍方式則為於 38°C 快速解凍後，以 3 倍體積逐滴加入含 10% CS 之 M199 溶液。綜觀上述，利用 Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers 進行 PGC 冷凍保存似為簡便可行的方式。

關鍵詞：家禽、始基生殖細胞、冷凍保存。

緒 言

利用家禽作為藥用蛋白質或抗體之生產有其先天上的優勢，因為家禽之世代間距短，每隻雞平均年產 250 個蛋，基因轉殖家禽大量繁殖可行性高，而且每一個蛋的蛋白中含 3 g 以上的蛋白質，每個蛋黃可以含有 400 mg 的蛋黃免疫球蛋白 (immunoglobulin in yolk, IgY)，更因為蛋白或蛋黃中蛋白質純化的過程也相當清楚，另外用雞胚來生產疫苗供人類使用已實施多年，因此雞蛋是一個理想的藥用蛋白質生產來源 (Sang, 1994)。一些生技公司 (如美國 TranXenoGen 及 Avigenics) 也開始研究如何以家禽作為基因轉殖的對象，以生產各類昂貴的藥用蛋白質或抗體。

始基生殖細胞 (primordial germ cell, PGC) 為精子與卵的前驅細胞，目前是家禽基因轉殖之研究者認為很具潛力的一種轉殖途徑。依 Eyal-Giladi and Kochav (1976) 對雞胚胎發育期之定義，在 X 期時，PGC 位於上胚葉 (epiblast) (Eyal-Giladi *et al.*, 1981; Karagenc *et al.*, 1996; Kagami *et al.*, 1997)。雖然 PGC 在 X 期之前的來源尚未有定論，但 PGC 會由胚盤之透明區 (area pellucida) 移行至下胚葉 (hypoblast)，並且可以移至胚體外的卵新月 (germinal crescent) 區，在性腺發育完成之前就已存在，然後 PGC 再由 germinal crescent 移到生殖脊 (gonadal ridges)。在移行當中的 PGC 及生殖脊上之 PGC 皆可以利用 PAS (Periodic Acid-Schiff stain) 染色法被確認，最後 PGC 移至生殖脊後就會發育為卵或精子。

一些學者曾利用 PGC 之轉殖作成家禽之生殖細胞系嵌合動物 (Petitte *et al.*, 1991; Tajima *et al.*, 1993; Naito *et al.*, 1994; Kagami *et al.*, 1997)。由於家禽 PGC 在由 X 期胚胎發育至生殖脊之間有在血液中移行之現象，因此可在此期間取得，亦可自生殖脊中取得。自上述取得之 PGC 若移植到另一胚胎血管中，則移入之 PGC 將可隨血流移行至該胚生殖脊中，而可獲得生殖腺嵌合之嵌合體 (germ line chimera)。如此等移入之 PGC 為轉基因者，則有機會獲得生殖細胞中具有該基因轉殖之家禽。

除了小鼠以外，雞是目前唯一以生殖細胞系嵌合來傳遞轉殖基因 (transgene) 的成功案例。家禽是探討胚胎發育

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2698 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生理組退休。

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

及基礎研究的良好模式，因為家禽早期之胚發育易於掌握與觀察 (Dieterlen-Lievre, 1997)。家禽亦為一種具潛力的生物反應器 (bioreactor)，如果可以對蛋白質表現加以操控，禽蛋會是將來在生產醫藥治療產品上，很有用的生物工另外如果能產生具有抗病或具有某一特殊性能的家禽品系，則將會對家禽經濟生產很有幫助 (Etches and Gibbins, 1997)。

利用始基生殖細胞注射法生產嵌合家禽時，必須由孵化至 stage 26 – 27 之家禽胚胎生殖脊或由 stage 13 – 15 的家禽胚胎背大動脈中取出 PGC，分離後注入另一胚胎。每次操作均需配合受精及孵化狀況之微量改變 (如個體發育狀況、冷藏條件、氣溫變化或受精率高低等等)，常會發生 PGC 供應胚與接受胚時間配合之困難，或是操作時間過久之困擾。因此若能將 PGC 冷凍保存，則可以在有適當之接受胚時解凍 PGC 並進行注入。若是配合 PGC 體外培養系統之建立，將有助於含特定基因之生殖腺嵌合家禽之產生。此外，由於 PGC 同時帶有來自父母雙方的遺傳組成，如能藉由 PGC 之冷凍保存及轉殖來繁衍後代，將會是另一種理想的保存禽類遺傳組成方法。

家禽 PGC 之冷凍保存相關研究不多，Naito *et al.* (1994) 及 Tajima *et al.* (1998) 曾以二甲基亞砜 (Dimethyl Sulfoxide, DMSO) 為冷凍保護劑以傳統緩慢降溫冷凍法來冷凍保存雞之 PGC，並在解凍後注入另一雞種後得到生殖細胞系嵌合之嵌合體。惟其並未嚐試利用其他抗凍劑或較簡便之快速冷凍方法來冷凍保存雞之 PGC，因此本研究擬探討利用各種方式冷凍保存雞之 PGC，以瞭解利用超低溫冷凍保存家禽 PGC 之效果，除做為未來提供產生家禽之生殖細胞系嵌合體之細胞來源外，並提供保存禽類遺傳組成之方法。

材料與方法

I. 試驗方法

(i) 始基生殖細胞之採集

本試驗使用之方法係參酌 Liou *et al.* (2012) 所敘述之方法，簡述於下：以孵化至第 29 – 31 階段 (Hamburger and Hamilton, 1951) 之畜試土雞胚胎為材料，將胚胎用鑷子取到裝有 15 – 20 mL HBSS (Hank's Balanced Salt Solution, Gibco, Cat. 24020-117) 的 100 mm 組織培養皿中，移除頭部，再移到另一裝有 15 – 20 mL HBSS 的組織培養皿中，在解剖顯微鏡下移去其它內臟，取出附有白色性腺的一對完整中腎 (mesonephros) 移至不含鈣鎂離子的 PBS (phosphate buffered saline, HyClone, Cat.SH30256.01) 中，PBS 液面剛好蓋過中腎。之後再用鑷子取出性腺移至裝有 10 mL Trypsin-EDTA (0.25%) 的離心管中，以 Pasteur pipette 吸放方式進行混合置 38°C 水浴 10 分鐘，重複兩次，共 20 分鐘。之後以 800 × g 離心 5 分鐘，用 5 mL HBSS 清洗一次，再以 800 × g 5 分鐘離棄上清液，以 100 μL HBSS 懸浮細胞，再加入 900 μL 含有 10% 雞血清 (chicken serum, CS, Gibco, Cat.16110-082) 的 16% Ficoll (Cas. No:26873-85-8, Sigma Aldrich) 混合後，上層緩慢加入 200 μL 之 6.3% Ficoll，經 800 × g 離心 30 分鐘後，會有兩層密度不同的溶液分界，小心吸取約上層溶液至含有 10% CS 的 M199 (Medium199, Gibco, Cat.11150-059) 中，以 800 × g 離心 5 分鐘後，再清洗一次，之後用血球計數器，計算始基生殖細胞的數目及冷凍前存活率。

(ii) PGC 冷凍保存液之配製

以 M199 為基礎溶液，每 1 mL 冷凍保存液溶液中含有 10% DMSO (Cas. No:D8418, Sigma Aldrich) 及 10、30、50、70 及 90% 的 CS。

(iii) 冷凍步驟

1. 可程式降溫儀 (WEST-4400, ISE, Inc. USA) 冷凍保存步驟：

取懸浮於 M199 之新鮮 PGC 50,000 個，放入 1.8 mL 冷凍小管中並將其放置於 0°C 冰上，先加入定量 CS (10 – 90%) 並以 M199 調整最後體積為 0.9 mL，再加入 DMSO 0.1 mL 使最終濃度為 10%，立刻移至 WEST-4400，自 4°C 降到 -35°C (每分鐘降 0.33、1 或 2°C)，當溫度下降到 -35°C 持續維持 10 分鐘，再將冷凍小管直接放入液態氮中保存。

2. 簡易商用冷凍盒 (Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers, Thermo Fisher Scientific Inc.) 方式：

取懸浮於 M199 之新鮮 PGC 50,000 個，放入 1.8 mL 冷凍小管中放置於 0°C 冰上加入定量 CS (10 – 90%)，並以 M199 調整最後體積為 0.9 mL 加入 DMSO 0.1 mL 使最終濃度為 10% 立刻放入預先裝有異丙醇作為冷媒的 Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers 移到 -80°C 超低溫冷凍櫃中，貯存至少 4 小時候，再將冷凍小管移到液態氮中保存。本方法 PGC 冷凍之前處理流程與 WEST-4400 冷凍保存步驟相同，不同處僅在於本方法在移入液態氮中保存前，先將冷凍小管置放於裝有異丙醇作為冷媒的 Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers 並移到 -80°C 超低溫冷凍櫃中，貯存至少 4 小時。

(iv) 解凍方式

PGC 細胞於液態氮中冷凍保存一個月後，進行解凍。

1. 解凍方法 A：

依 Avarbock *et al.* (1996) 之方式進行，解凍步驟減述如下：冷凍小管自液態氮中取出放入 38°C 水浴槽內解凍，約 2 分鐘內完全解凍，將冷凍小管內容物移入 15 mL 離心管中，再逐滴加入含 10% CS 之 M199 溶液，邊加邊搖動離心管，加入的量約 3 倍冷凍液體積，以 800 × g 離心 5 分鐘，去除上清液，再加入 2 mL 含 10% CS 之 M199 溶液，再以輕拍方式細胞打散成懸浮狀。隨後以 800 × g 離心 5 分鐘，去除上清液。以 trypan blue exclusion 方法計算存活率。

2. 解凍方法 B：

同 A 之方法，但改將細胞解凍後，直接加入 5 mL 之含有 10% CS 的 M199 溶液 800 × g，5 分鐘離心後。以 trypan blue exclusion 方法計算存活率。

3. 解凍方法 C：依 Kasai *et al.* (1980) 方法進行

同 A 之方法，但在解凍之細胞中直接加入 5 mL 之含 0.5 M 蔗糖之 M199 溶液，於室溫下靜置 2 分鐘，以 800 × g，5 分鐘離心，去除上清液，再加入 2 mL 含 10% CS 之 M199 溶液，再以輕拍方式將細胞打散成懸浮狀，隨後以 800 × g，5 分鐘離心，去除上清液。利用 trypan blue exclusion 方法計算存活率。

(v) 存活計數

由於 trypan blue 可透過死亡細胞之細胞膜而將細胞染成藍色，故常被用於判別細胞之死活。解凍離心後的細胞液取 10 μL 和 10 μL 0.4% trypan blue (Cat. 15250061, Thermo Fisher Scientific Inc.) 溶液混合後，用血球計數板 (hemacytometer) 計算 5 個 0.1 mm³ 體積內，活的細胞數和死亡的細胞數及其總數，得知其存活率。

$$\text{冷凍前或解凍後之存活率 (\%)} = \frac{\text{存活的 PGC}}{\text{存活的 PGC} + \text{死亡的 PGC}}$$

$$\text{冷凍解凍處理後之存活率 (\%)} = \frac{\text{解凍後之存活率 (\%)}}{\text{冷凍前之存活率 (\%)}}$$

II. 試驗處理

(i) 以 WEST-4400 在不同冷凍速率對土雞 PGC 冷凍保存之效果

如試驗方法中 I (iii) 1. WEST-4400 冷凍保存步驟搭配不同濃度之 CS (10、30、50、70 及 90%)，分別比較每分鐘降 0.33、1 或 2°C 之效果。解凍方式，如試驗方法中 I. (iv) 1. 解凍方法 A 所述。

(ii) 不同冷凍方式對土雞 PGC 冷凍保存之效果

同樣冷凍速率下，比較 WEST-4400 或 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 之冷凍保存效果。WEST-4400 之操作方式如試驗方法 I. (iii) 1. 中所述，惟冷凍降溫速率為每分鐘降 1°C。Nalgene Cryo 1°C Freezing container 之冷凍方式如 I. (iii) 2. 中所述。解凍方式，如試驗方法中 I. (iv) 1. 解凍方法 A 所述。

(iii) 冷凍保存液中不同雞血清含量對土雞 PGC 冷凍保存之效果

在稀釋液中分別加入不同之 CS (10、30、50、70 及 90%)，以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式加以冷凍保存並比較其效果。解凍方式，如試驗方法中 I. (iv) 1. 解凍方法 A 所述。

(iv) 不同解凍方法對 PGC 冷凍保存之效果

以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式，冷凍保存液中 CS 含量為 70% 之條件下，比較三種不同解凍方法的影響。

III. 統計分析

不同處理間細胞存活率以變方分析的 GLM 方法 (SAS, 2005) 分析。存活率先以 arc sine 轉換後再進行比較，並以 P < 0.05 判定為具有顯著差異。

結果與討論

I. 以 WEST-4400 在不同降溫速率對土雞 PGC 冷凍保存之效果

試驗結果顯示，以 WEST-4400 之冷凍方式來冷凍保存土雞 PGC 時，不論是每分鐘降 0.33、1 或 2°C，解凍

後 PGC 之存活率皆偏低 ($< 20\%$)，且保存液中添加 CS 濃度亦沒有影響 (圖 1)。不同的降溫速率 -0.33°C 、 -1°C 與 $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的存活率分別為 $1.6 - 4.9\%$ 、 $3.9 - 15.6\%$ 和 $5.6 - 14.9\%$ 。因此以 WEST-4400 的冷凍方式，在上述 3 種不同降溫的降溫速率是以 $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 以上的存活率較好， $-0.33^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 效果較差。

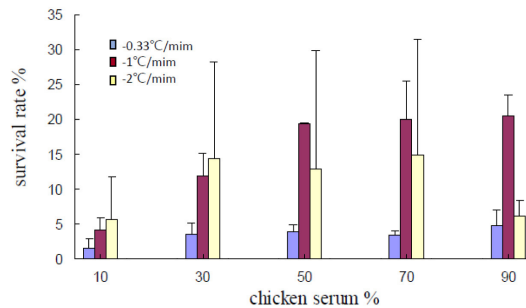


圖 1. 可程式降溫儀 (WEST-4400) 不同冷凍速率及雞血清濃度對家禽始基生殖細胞冷凍解凍後存活率之影響。

Fig. 1. The effects of cooling rate and chicken serum concentration on the survival rate of primordial germ cells frozen by automatic cooling facility (WEST-4400).

II. 不同冷凍方式對 PGC 冷凍保存之效果

本試驗分別以 WEST-4400 每分降 1°C 或 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式比較在不同的雞血清濃度添加下進行冷凍保存對 PGC 解凍後之存活率影響。結果顯示 PGC 在不同的血清濃度下，利用 WEST-4400 以每分降 1°C 的冷凍方式，PGC 解凍後之存活率為 $14 - 31\%$ ；以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式，PGC 解凍後之存活率為 $47 - 54\%$ 。結果兩種不同冷凍方式解凍後 PGC 之存活率，是以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式有較好的存活率 (圖 2)。若以保存液中含固定血清濃度 (70%)，以 WEST-4400 及 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 冷凍設備進行冷凍保存土雞 PGC 時，結果如圖 3 所示。WEST-4400 方式其存活率平均值為 $30.8 \pm 3.1\%$ ，而 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式之存活率為 $54.7 \pm 4.4\%$ ，兩者有顯著差異 ($P < 0.001$)，此二結果皆顯示在此試驗之保存條件下以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 冷凍效果比 WEST-4400 方式為佳。

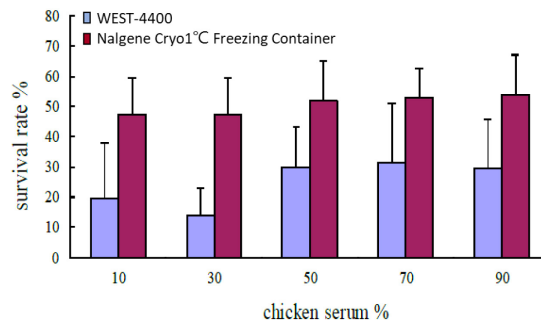


圖 2. 不同雞血清濃度下，不同冷凍設備對家禽始基生殖細胞冷凍解凍後存活率之影響。

Fig. 2. The effects of freezing facility on the survival rate of primordial germ cells with different chicken serum concentration.

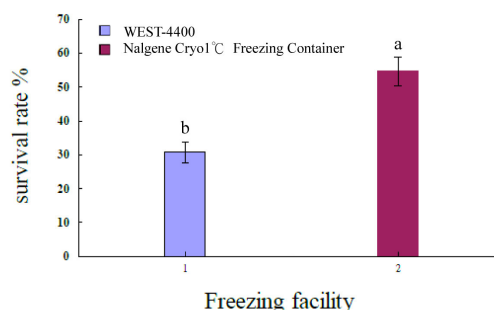


圖 3. 70% 雞血清濃度添加下，不同冷凍設備對家禽始基生殖細胞冷凍解凍後存活率之影響。

Fig. 3. The effect of freezing facility on the survival rate of primordial germ cells with 70% chicken serum. ab: Columns with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

III. 冷凍保存液中不同雞血清含量對 PGC 冷凍保存之效果

在試驗處理 (I) 及 (II) 中雖然所探討之目的不同，但皆曾以不同 CS 濃度的保存液來作比較，其結果也有相似的結果，雖然 CS 含量在 50% 以上有較高之活率，但差異皆未達顯著標準 (圖 4)。

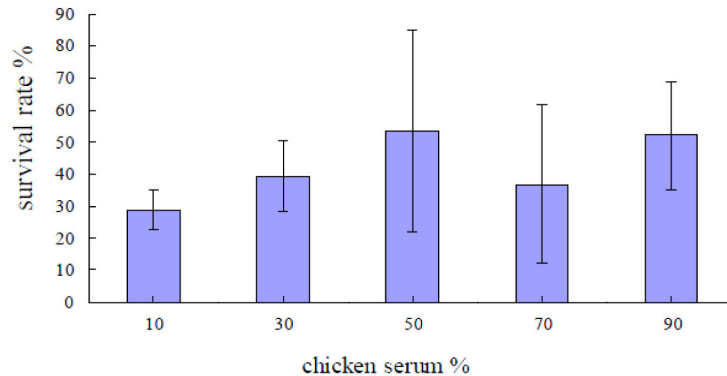


圖 4. 不同雞血清濃度對家禽始基生殖細胞冷凍解凍後存活率之影響。

Fig. 4. The effects of chicken serum content on the survival rate of primordial germ cell after frozen and thawed.

IV. 不同解凍方法對 PGC 冷凍保存之效果

冷凍保存液中含固定 CS (50%) 含量，以 Nalgene Cryo 1°C Freezing Container 方式進行 PGC 冷凍保存，同時比較不同解凍方式對 PGC 冷凍保存效果之影響，結果顯示，以 A 解凍法 (於 38°C 解凍後以 3 倍體積逐滴加入含 10% CS 之 M199 溶液) 為最佳 (圖 5)，平均存活率 $48.2 \pm 4.8\%$ ，B 解凍法 (於 38°C 解凍直接加入含 10% CS 之 M199 溶液) 其解凍後平均活率為 $35.8 \pm 2.1\%$ ，C 解凍法 (於 38°C 解凍直接加入含 0.5M 蔗糖之 M199 溶液) 解凍後平均存活率為 $38.3 \pm 1.4\%$ 。此結果提示 A 解凍法顯著地優於 B 及 C 法 ($P < 0.05$)，B 法與 C 法則無差異，因此以 3 倍體積逐滴加入的解凍處理有較高的存活率。

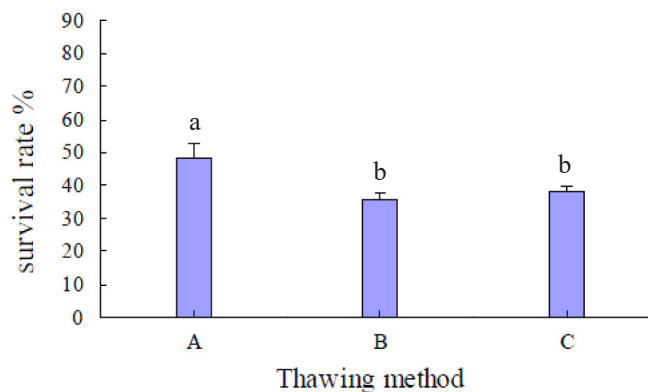


圖 5. 不同解凍方式對對家禽始基生殖細胞冷凍解凍後存活率之影響。

Fig. 5. The effects of thawing methods on the survival rate of primordial germ cells. A: after thawing, add M199 containing 10% CS dropwise at 3 times the volume, B: directly add M199 containing 10% CS, C: directly add M199 containing 0.5 M sucrose.

^{ab}: Columns with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

以 WEST-4400 的冷凍程序來看， $-0.33^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的降溫速率，所得到的結果存活率都很低。可能的原因為此冷凍程序的起始溫度是 4°C ，假設植冰 (seeding) 的溫度是 -6°C ，從 4°C 降到 -6°C ，需要花上 30 分鐘，因此 PGC 必須暴露在 DMSO 下長達 30 分鐘，這麼長的時間應該會對細胞造成傷害，雖然這時已在低溫條件，DMSO 對細胞的傷害較低 (Pickering *et al.*, 1991)。如果以降溫速率為 $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 或 $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，從 4°C 降到 -6°C ，只需要花上 10 分鐘，暴露在 DMSO 中的時間縮短，對 PGC 造成傷害亦減少，這可從結果反映出存活率有逐漸的提高而得到證明。在使用 WEST-4400 做降溫的動作時，並沒有做植冰的動作，這樣使得此程序會在較低的溫度中進行自發的植冰 (spontaneous nucleation) 造成致死的傷害 (Trounson, 1990)。

於本研究中進行土雞 PGC 的保存測試過程，對每一組冷凍條件及解凍條件來說，各種不同的血清濃度對存

活率沒有統計上顯著的差異。不同的作者提出使用 90% 的 FBS (fetal bovine serum) 來冷凍豬或羊 PGC (Mueller *et al.*, 1999; Kuhholzer *et al.*, 2000)，也有作者用 10% CS 來冷凍雞的 cPGC (circular primordial germ cell) (Naito *et al.*, 1994) 或 gPGC (gonadal primordial germ cell) (Tajima *et al.*, 1998)，只有 Naito *et al.* (1994) 提到解凍後的存活率，其他的作者並沒有，因此我們無法得知到底那個血清濃度對冷凍解凍的存活率效果較好，所以比較了五組不同濃度的雞血清，結果並無顯著的差異。為何血清濃度的高低並不影響存活率，以 90% 雞血清來說，細胞外界是高張溶液，細胞在冷凍過程可以脫水的較完全，細胞較容易存活 (Mazur, 1984)，可是細胞存活率對其他的雞血清濃度，並無太大差異，可見在本試驗處理下，雞血清濃度改變所造成之效果對細胞存活率並不是主要的影響因素。Rizoset *et al.* (2003) 發現以不含血清之培養液冷凍牛胚時對細胞反而較有利，作者認為血清之添加，其中脂肪等成分會改變牛胚葉細胞之細胞膜微細構造，進而影響其抗凍性，甚至影響後續培養時各種基因表現。Pugh *et al.* (1998) 曾以含不同濃度胎牛血清之培養液和不同濃度牛血清白蛋白 (Bovine serum albumin, BSA) 之培養液冷凍牛胚，比較牛胚冷凍解凍後培養之效果，發現以添加胎牛血清比對照組添加牛血清白蛋白顯著較差，推測其原因為血清之添加會改變胚胎細胞膜之通透性，或因為血清中脂肪會有過氧化 (peroxidation)，影響細胞膜的安定性。雖然本試驗土雞 PGC 之冷凍保存效果評估方法不同，無法觀察其後續培養的影響，是否會因保存液中含有大量血清脂肪而影響 PGC 細胞膜微細構造，進而影響其冷凍解凍後之存活率則有待探討。但顯然地，由於提供培養液添加用雞血清中成分之不穩定，添加血清之冷凍處理結果變異大，因而未有顯著性，此一現象表示 PGC 或胚胎之冷凍保存可能不宜如一般實驗室用細胞系冷凍保存之使用高濃度之血清，因為必須考慮其對後續培養的影響。

冷凍保存溶液為高張且非生理性，一般用於細胞保存之 10% DMSO 溶液其容積滲透濃度約為 1.4 Osm/L，細胞置於該溶液時會迅速脫水，而 DMSO 則緩慢滲透入細胞以重新達成平衡，如此造成細胞內外滲透壓差異可能使體積瞬間變化而導致細胞活性喪失。因此以 DMSO 作為細胞冷凍保存液時，通常在解凍後會立即潤洗或稀釋，因為該冷凍保存劑對冷凍後解凍之細胞仍可能造成傷害。由本研究進行土雞 PGC 冷凍後解凍之存活率結果顯示，以 A 解凍方法：使用三倍體積逐滴加入解凍法 (Avarbock *et al.*, 1996)、離心兩次的操作方式存活率最高。最可能的原因為等張溶液是緩慢加入，對高張溶液的細胞內部造成的滲透壓衝擊不會太大，細胞較不會脹破，且因離心兩次，DMSO 清洗較完全降低 DMSO 對細胞的毒性，因此存活率較高。由於逐滴加入，邊加邊搖離心管且又離心兩次較煩瑣，因此嘗試改用解凍後直接加入 5 mL 含 10% CS 的 M199、離心一次的方法，結果雖然比 WEST-4400 高，可是仍比逐滴加入來得低。推測可能是一次加足等張培養液，細胞滲透壓衝擊太大造成細胞死亡所致。

Kasai *et al.* (1980) 報告指出，再解凍過程中為了避免滲透壓衝擊 (Mazur, 1988)，採用直接加入 5 mL 含有 0.5 M sucrose 的 M199 進解凍；因為 Sucrose 大分子可在細胞外製造高滲透壓的環境，降低水分回流進入細胞的速度，以減少細胞水腫的傷害，故直接加入含 0.5 M sucrose 之 PBS，PGC 在解凍過程時，仍然能保持脫水狀態，一直到下一步以 PBS 移去 DMSO 過程時才會回到原來之體積，如此一來可避免大量水分在短時間進入細胞，成滲透壓急遽改變及細胞受 DMSO 毒害導致細胞死亡。但本試驗中發現直接加入 5 mL 含有 10% CS 的 M199 和直接加入 5 mL 含有 0.5 M sucrose 的 M199，所得的存活率是沒有顯著差異的。是否因為 Kasai (1980) 使用之方式為快速冷凍，細胞內冰晶含量與本試驗處理每分降 1°C 時不同以致效果不同，有待澄清。

本實驗只有初步的存活率測試，至於存活下來的 PGC，可否可在體外進行進一步的培養，或是可以注射到胚胎產製性腺嵌合家禽仍需待進一步測試。因為冷凍保護劑 DMSO，可能會造成細胞骨架 (cytoskeleton)、微小管 (microtubule) 和紡錘體 (spindle) 的改變 (Picton *et al.*, 2000)，造成胞器和分子在細胞內部運輸的改變影響 PGC 的分化、分裂和染色體。

家禽 PGC 的分離可自胚發育到 stage 10 – 12 時 (約在入孵後 30 – 32h)，透過血液循環系統中經由抽取背大動脈血液進行分離，由此階段自血液中分離的 PGC 稱為循環始基生殖細胞 (circulating PGC, cPGC)。另外亦可在發育到 stage 25 – 28 之胚胎性腺中分離，於此階段自性腺分離的 PGC 稱為性腺始基生殖細胞 (gonadal PGC, gPGC)。因自 stage 12 – 15 胚胎抽血方式分離 cPGC 較不容易，且每個胚胎能取得的 cPGC 數量亦較少，以 Zhao *et al.* (2003) 報告指出自 stage 12 – 15 雞胚胎分離 cPGC 的數目為 $83.3 \pm 6.5 - 135.6 \pm 6.9$ (每胚胎可抽取到血液為 3 – 8 μL ，cPGC 含量為 $10.7 \pm 0.8 - 23.5 \pm 1.7/\mu\text{L}$)，且有胚胎間與品種間的差異。相對的由 stage 25 – 28 之胚胎性腺中分離 gPGC 比較容易，且每胚胎能分離的 gPGC 數量也較多，每個胚胎可分離 706 – 800 個 gPGC (Allioli *et al.*, 1994; Mozdziak *et al.*, 2005)。Kim *et al.* (2004) 自 1×10^6 之混合胚胎性腺組織細胞中分離可獲得 $7,400 \pm 1,300$ 個 gPGC。為求得較多數量的 PGC，本研究是取發育到 stage 25 – 28 之胚胎性腺分離 gPGC，進行冷凍保存測試。1994 年 Naito 等人以分離自 stage 10 – 12 的 cPGC，進行冷凍有非常成功的存活率，其新

鮮分離所得的 cPGC 於冷凍前的存活率可達 100%；經使用 Bicell freezing vessel (與 Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers 之原理相同) 冷凍後，解凍的存活率約 94%。在 gPGC 冷凍研究 Moore *et al.* (2006) 嘗試比較收集不同胚胎數量 (5、10 和 20 個胚胎) 的 gPGC 混合後分別將其裝填 0.5 mL 麥管進行冷凍測試，結果指出解凍後的回收量，以麥管中裝填 20 個胚胎所分離的 gPGC 回收到的數量顯著高於 5 個胚胎。但是解凍後 gPGC 的死亡數量卻是裝填 20 個胚胎為最高；僅管如此在解凍後存活率還是以裝填 20 個胚胎 $67.8 \pm 2.9\%$ 高於 5 個胚胎 $60.3 \pm 2.8\%$ ($P < 0.05$)，20 個胚胎的解凍後有較高的存活率可能是因為 gPGC 於冷凍過程中呈現聚集且維持懸浮的狀態 (Gomperts *et al.*, 1994; D'Costa *et al.*, 2001)。由上述所示 cPGC 冷凍解凍的存活率是高於 gPGC，推測可能與細胞的大小有關 gPGC 的大小直徑約為 $10 - 25 \mu\text{m}$ (Meyer, 1960) 略大於 cPGC $11 - 22.21 \mu\text{m}$ (Fujimoto *et al.*, 1976)。另外 gPGC 是由性腺組織分離而得，在分離的過程中必須以 Trypsin-EDTA (0.25%) 進行處理且進行多次的離心的操作，這些流程可能對 gPGC 造成傷害，導致解凍後細胞存活率降低。另外在相同冷凍體積下不同的 gPGC 的數量亦可能影響解凍後的存活率，Moore *et al.* (2006) 研究中以 0.5mL 麥管裝填不同胚胎數量 (5、10 和 20 個胚胎) 收集 gPGC，進行個別胚胎 gPGC 解凍後的存活率比較，是以每根麥管裝填 10 個胚胎進行凍存的存活率最高。顯示在相同體積下裝填的細胞數量是有一定的極限。在有限的文獻中有關雞 PGC 冷凍保存包括冷凍源自胚盤的胚葉細胞 (Kino *et al.*, 1997; Pokorny, 2002)、cPGC (Yasuda *et al.*, 1992) 與 gPGC (Naito *et al.*, 1994; Tajima *et al.*, 1998、2003、2004)，在這些研究中並沒有明確指出 PGC 冷凍保存的最佳方法。本研究冷凍解凍後的 gPGC 平均最高為 54%，是低於上述 Moore *et al.* (2006) 和 Naito *et al.* (1994) 的研究果，推測可能與上述原因有關。

結 論

本試驗使用兩種冷凍方式，一是使用可程式降溫儀 WEST-4400，使用的降溫速率有 $-0.33^\circ\text{C}/\text{min}$ ， $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ 和 $-2^\circ\text{C}/\text{min}$ (因機器本身限制， -25°C 之後實際降溫速率只有 $-1.7^\circ\text{C}/\text{min}$)，結果 $-0.33^\circ\text{C}/\text{min}$ 的降溫速率，解凍存活率普遍都在 10% 以下， $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ 則可達 10 – 30%。二是利用 Nalgene® Mr. Frosty® Cryo 1°C Freezing Containers 每分降 1°C 的冷凍方式，其解凍後存活率顯著優於可程式降溫儀的冷凍效果，存活率為 47 – 54%。冷凍保存液中不同雞血清含量對 PGC 之存活率並未有顯著之效果。最佳解凍方式為 38°C 快速解凍，三倍解凍體積逐滴緩慢加入的方式。

參考文獻

- Allioli, N., J. L. Thomas, Y. Chebloune, V. M. Nigon, G. Verdier, and C. Legras. 1994. Use of retroviral vectors to introduce and express the β -galactosidase marker gene in cultured chicken primordial germ cells. *Dev. Biol.* 165: 30-37.
- Avarbock, M. R., J. B. Clayton, and R. L. Brinster. 1996. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. *Nat. Med.* 2: 693-696.
- D'Costa, S. D., S. L. Pardue, and J. N. Petitte. 2001. Comparative development of avian primordial germ cells and production of germ line chimeras. *Avian Poult. Biol. Rev.* 12: 151-168.
- Dieterlen-Lievre, F. 1997. Avian models in developmental biology. *Poul. Sci.* 76: 78-82.
- Etches, R. J., and A. M. V. Gibbins. 1997. Strategies for the production of transgenic chicken. *Methods Mol. Biol.* 62: 433-450.
- Eyal-Giladi, H. and S. Kochav. 1976. From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick: I. General morphology. *Dev. Biol.* 49: 321-337.
- Eyal-Giladi, H., M. Ginsburg, and A. A. Fabarov. 1981. Avian primordial germ cells are of epiblastic origin. *J. Embryol. Exp. Morph.* 65: 139-147.
- Fujimoto, T., T. Menomiya, and A. Ukeshima. 1976. Observation of the primordial germ cells in blood samples from the chick embryo. *Dev. Biol.* 49: 278-82.
- Gomperts, M., M. Garcia-Castro, C. Wylie, and J. Heasman. 1994. Interactions between primordial germ cells play a role in their migration in mouse embryos. *Development* 120: 135-141.
- Hamburger, V. and H. L. Hamilton. 1951. A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo. *J. Morphol.* 88: 49-92.
- Kagami, H., T. Tagami, Y. Matsubara, T. Harumi, H. Hanada, K. Maruyama, M. Sakurai, T. Kuwana, and M. Naito. 1997.

- The developmental origin of primordial germ cells and the transmission of the donor-derived gametes in mixed-sex germline chimeras to the offspring in the chicken. *Mol. Reprod. Dev.* 48: 501-510.
- Karagenc, L., Y. Cinnamon, M. Ginsburg, and J. N. Petitte. 1996. Origin of primordial germ cells in the prestreak chick embryo. *Dev. Genet.* 19: 290-301.
- Kasai, M., K. Niwa, and A. Iritani. 1980. Survival of mouse embryos frozen and thawed rapidly. *J. Reprod. Fertil.* 59: 51-56.
- Kim, J. N., M. A. Kim, T. S. Park, D. K. Kim, H. J. Park, T. Ono, J. M. Lim, and J. Y. Han. 2004. Enriched gonadal migration of donor-derived gonadal primordial germ cells by immunomagnetic cell sorting in birds. *Mol. Reprod. Dev.* 68: 81-87.
- Kuhholzer, B., A. Baguisi, and E. W. Overstrom. 2000. Long-term culture and characterization of goat primordial germ cells. *Theriogenology* 53: 1071-1079.
- Liou, J. F., J. W. Shiau, J. J. Tailiu, C. Tai, L. R. Chen, and M. C. Chang. 2012. Culture of chicken gonadal primordial germ cells (gPGCs) in chicken embryonic fibroblast (CEF) cells conditioned medium and In vivo migration. *J. Anim. Vet. Adv.* 13: 2196-2203.
- Mazur, P. 1984. Freezing of living cells: mechanisms and implications. *Amer. J. Physio.* 247 (Cell Physiology 16), C125-C142.
- Mazur, P. 1988. Stopping biological time: The freezing of living cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 541: 514-531.
- Meyer, D. B. 1960. Application of period acid-Schiff technique to whole chick embryos. *Stain Technology* 35: 83-89.
- Moore, D. T., P. H. Purdy, and H. D. Blackburn. 2006. A Method for Cryopreserving Chicken Primordial Germ Cells. *Poult. Sci.* 85: 1784-1790.
- Mozdziak, P. E., J. Angerman-Stewart, B. Rushton, S. L. Pardue, and J. N. Petitte. 2005. Isolation of chicken primordial germ cells using fluorescence-activated cell sorting. *Poult. Sci.* 84: 594-600.
- Mueller, S., K. Prelle, N. Rieger, H. Petznek, C. Lassnig, U. Luksch, B. Aigner, M. Baetscher, E. Wolf, M. Mueller, and G. Brem. 1999. Chimeric pigs following blastocyst injection of transgenic porcine primordial germ cells. *Mol. Reprod. Dev.* 54: 244-254.
- Naito, M., A. Tajima, T. Tagami, Y. Yasuda, and T. Kuwana. 1994. Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. *J. Reprod. Fertil.* 102: 321-325.
- Petitte, J. N., M. E. Clark, and R. J. Etches. 1991. Assessment of functional gametes in chickens after transfer of primordial germ cells. *J. Reprod. Fert.* 92: 225-229.
- Pickering, S. J., P. R. Braude, and M. H. Johnson. 1991. Cryoprotection of human oocytes: inappropriate exposure to DMSO reduces fertilization. *Hum. Reprod.* 6: 142-143.
- Picton, H. M., S. S. Kim, and R. G. Gosden. 2000. Cryopreservation of gonadal tissue and cells. *Br. Med. Bul.* 56: 603-615.
- Pugh, P. A., A. E. L. Ankersmit, L. T. McGowan, and H. R. Tervit. 1998. Cryopreservation of in vitro-produced bovine embryos: Effects of protein type and concentration during freezing or of liposomes during culture on post-thaw survival. *Theriogenology* 50: 495-506.
- Rizos, D., A. Gutierrez-Adan, S. Perez-Garnelo, J. de la Fuente, M. P. Boland, and P. Lonergan, 2003. Bovine embryo culture in the presence or absence of serum: implications from blastocyst development, cryotolerance, and messenger RNA expression. *Biol. Reprod.* 68: 236-243.
- Sang, H. 1994. Transgenic chicken methods and potential applications. *Trends Biotechnol.* 12: 415-420.
- SAS Institute. 2005. SAS User's Guide: Statics. Version 9.1 Edition. SAS Inc., Cary, NC. USA.
- Tajima, A., M. Naito, Y. Yasuda, and T. Kuwana. 1993. Production of germ line chimeric chickens by transfer of cultured primordial germ cells. *Theriogenology* 40: 509-519.
- Tajima, A., M. Naito, Y. Yasuda, and T. Kuwana. 1998. Production of germ-line chimeras by transfer of cryopreserved gonadal primordial germ cells (gPGCs) in chicken. *J. Exp. Zool.* 280: 265-267.
- Tajima, A., G. G. Barbato, T. Kuwana, and R. H. Hammerstedt. 2003. Conservation of a genetically selected broiler line (42L) using cryopreserved circulating primordial germ cells (PCG) isolated by filtration method. *J. Poult. Sci.* 40: 53-61.
- Tajima, A., T. Minematsu, and M. Ohara. 2004. Production of germ-line chimeras by the transfer of cryopreserved gonadal germ cells collected from 7- and 9-day old chick embryos. *J. Anim. Sci.* 75: 85-88.
- Trounson, A. O. 1990. Cryopreservation. *Br. Med. Bull.* 40: 695-708.
- Zhao, D. F., H. Yamashita, M. Matsuzaki, T. Takano, S. I. chi, Abe, M. Naito, and T. Kuwana. 2003. Genetic factors affect the number of circulating primordial germ cells in early chick embryos. *J. Poult. Sci.* 40: 101-113.

Cryopreservation of poultry primordial germ cells ⁽¹⁾

Jenn-Fa Liou ⁽²⁾ Jui-Jane Tailiu ⁽³⁾ Chia-Yu Chang ⁽²⁾ and Lih-Ren Chen ⁽²⁾⁽⁴⁾

Received: Aug. 31, 2021; Accepted: Mar. 28, 2022

Abstract

The purpose of this study is to investigate the cryopreservation method of poultry primordial germ cells (PGC), so as to understand the preservation effect of poultry PGC. To investigate the effects of (1) using different freezing instruments, automatic cooling facility (WEST-4400) or simple commercial freezing boxes (Nalgene Cryo 1°C Freezing Container); (2) adding different concentrations (10 – 90%) of chicken serum; or (3) adopting of different thawing methods on the cryopreservation of poultry PGC, (A: after thawing, add M199 containing 10% CS dropwise at 3 times the volume, B: directly add M199 containing 10% CS, C: directly add M199 containing 0.5M sucrose). The results show that by using programmable cooler, the cell survival rate after thawing was 10 – 30% at a cooling rate of 1 °C/min, which was better than that of 0.33 °C/min. When the commercial simple freezing box is used and the temperature is reduced by 1 °C/min, the cell survival rate after thawing is significantly better than that of the programmable cooler, and the survival rate is 47 – 54%. The difference of chicken serum content in the cryopreservation solution exhibits no significant effect on the survival rate of PGC. The best thawing procedure of frozen PGC is rapid thawing (< 1 minute) in a 38°C water bath. In summary it is feasible to use Nalgene Cryo 1°C Freezing Container to freeze PGC.

Key words: Poultry, Primordial germ cells (PGC), Cryopreservation.

(1) Contribution No. 2698 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

棲架型式對紅羽土雞生長性能與福祉影響⁽¹⁾

陳信宇⁽²⁾ 洪兮雯⁽³⁾ 楊深玄⁽²⁾ 蘇安國⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：109 年 11 月 4 日；接受日期：111 年 3 月 29 日

摘 要

本研究目的在於探討臺灣商業肉用紅羽土雞對於不同棲架型式的喜好度以及棲架設計對體增重及行為之影響。將 360 隻 5 週齡紅羽土雞逢機分成對照組（無棲架）、圓管棲架組與方形棲架組，每組 3 重複，每重複 40 隻，飼養密度為 5.8 隻/m²，實驗時間為 3 – 5 月。圓管棲架組型式為上下兩層式直徑 1.5 cm 之金屬圓管組成，方形棲架組型式為上下兩層式邊長 2.5 cm 之金屬方型管組成。試驗由 5 週齡進行至 12 週齡，至 12 週齡三組平均體重相近，依序為 3,070 ± 345、2,989 ± 359 及 3,087 ± 412 g，各組間無顯著差異。雞隻於圓管棲架組平均棲架使用率為 1.3%，高於方形棲架組（0.1%），兩組具有顯著差異（P < 0.05），顯示不同棲架的設計方式會影響雞隻棲架的使用率。12 週齡雞隻所量測的僵直靜止反應被當成評估雞隻福祉的參考指標之一，本試驗兩組棲架處理組之反應時間皆較對照組為短，顯示雞隻在有棲架的環境中的害怕程度較無棲架時為低。因此，棲架做為環境豐富化設施時，具有維持雞隻的生產表現與提升動物福祉之助益，此結果將可提供後續飼養規劃之參考。

關鍵詞：棲架、紅羽土雞、體增重、行為、動物福祉。

緒 言

臺灣商用紅羽土雞（以下簡稱紅羽土雞）肉質鮮美深受國人喜愛，依據行政院農業委員會 109 年農業統計年報中農產品生產費用與收益報告，紅羽土雞每隻可生產 2.94 kg 的主產物量（飼養期約 12 週），每隻粗收益（主產物價值加上副產物價值）為 210.10 元，高於白肉雞的 100.08 元（飼養期約 5 週，生產 2.14 kg 主產物）和黑羽土雞的 176.06 元（行政院農業委員會，2021），因此紅羽土雞已成為家禽產業中重要收益來源之一。紅羽土雞的表型特徵，公雞外型具大而鮮紅的單冠，羽毛為紅褐色與金黃色交雜分布，直立挺拔之體型，肉髯大而圓，喙長而略彎曲，頸長背短，胸平寬深長，淺鉛色腳脛。母雞羽毛為淺褐黃色，雛雞全身具淡黃色絨毛。肉土雞體型大、肉質硬、腿肉大、較早熟且屠體膚色白，少有黑色素沉積（行政院農業委員會，2018；林，2020）。

Blokhuis (1984) 觀察紅色叢林雞與蛋雞的行為發現，在棲架上活動是家禽的一種本能行為。研究發現棲架能降低地板上的飼養密度，並提高飼料轉換效率，但體重會略為減輕 (Hughes and Elson, 1977)；雞隻喜愛使用水平棲架更勝於有角度的棲架，隨著環境溫度越高，棲架的使用率越低，放置棲架可增強底層的空氣流通性，進而改善家禽的體溫調節，降低雞舍內熱緊迫情形 (LeVan *et al.*, 2000)。動物自然行為的限制和環境豐富化不足是現代肉雞生產中相當大的福祉問題，尤其發生在高密度飼養時。研究顯示，通過建立更複雜的環境以提高雞隻活動行為，提供更多的棲息空間，可減少雞群競爭性，提高肉雞的健康和福祉 (Ventura *et al.*, 2012; Kiyama *et al.*, 2016)。近年來動物保護團體持續提倡家禽的「動物福祉 (animal welfare)」議題，從雞蛋到雞肉生產，越來越多人開始重視養雞產業整體的生產環境是否符合人道飼養。由 30 個歐洲國家為主的動物保護組織共同發起「歐洲肉雞承諾」(European Chicken Commitment, 2017) 宣言，目標在 2026 年前提高整體養雞產業的許多福祉措施，其中一項標準為飼養場必須提供足夠長度的「棲架」讓肉雞去使用。因此，本研究評估棲架與型式對於紅羽土雞採食量、體增重、飼料轉換率及動物福祉的影響，以提供國內業者參考。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2699 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

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

材料與方法

I. 試驗動物與試驗設計

- (i) 試驗材料：自製圓管棲架：型式為直徑約 1.5 cm 之金屬圓管 (鋁管)，有上下兩層，棲架骨架由直角三角形結構組成，下層離地高 20 cm，上層離地高 43 cm，兩層長度皆為 185 cm，棲架放置在左側靠牆位置，另一側放置自動飲水球與飼料桶。方形棲架：棲架型式為直徑約 2.5 cm 之金屬方型管，自製上下兩層，下層離地高 20 cm，上層離地高 43 cm，兩層長度皆為 185 cm，方型管頂點尖端朝上下左右四個方向固定。
- (ii) 本研究經行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場實驗動物照護及使用委員會審查核准 (編號 HUA1ACUC10704)。本試驗於 107 年 3 – 5 月進行，試驗所使用之 360 隻 1 日齡臺灣商用紅羽土雞購自商業種雞場，飼養至 5 週齡時，依體重逢機分成 3 組，每組公母比例各半，每組 3 重複，每重複 40 隻，包含對照組 (無放置棲架)、圓管棲架組及方形棲架組，三組皆為平飼飼養，各處理組的飼養欄中放置一座棲架，每個平飼欄位面積約為 6.88 m²，飼養密度為 5.8 隻 / m²，每欄以粗糠為墊料，厚度約為 5 cm，試驗由 5 週齡進行至 12 週齡，試驗期間採飼料桶任食餵飼，並用自動飲水球充足供應清潔飲水，每兩週量測體重及記錄採食量一次。試驗期間，雞舍保持通風、乾淨、光線充足，並視天氣炎熱情況，啟動風扇裝置，以降低熱緊迫。

II. 檢測項目與方法

- (i) 棲架喜好度觀察：試驗期間於 2 棲架組欄舍內架設攝影機，觀察雞隻使用棲架之上架比例。每 2 週選三天進行觀察，記錄雞隻於 5:00、6:00、7:00、11:00、12:00、13:00、17:00、18:00、19:00、23:00、00:00 及 01:00 等 12 個時段使用棲架之頻率。記錄方式為片刻時間取樣 (momentary time sampling)，觀察時段內每 1 h 觀察一次，記錄各欄當下使用棲架的雞隻數量。棲架的棲息比例計算方式為觀察當時每欄架上隻數 / 每欄全部隻數。
- (ii) 僵直靜止試驗 (tonic immobility, TI)：於 12 週齡試驗，每組隨機挑選 24 隻雞，讓雞仰躺於 V 型木架上，一手壓制雞隻胸腹部，另一手蓋住雞隻頭部，使其不能翻身，壓制動作維持 10 s。壓制動作結束後開始以馬錶計時，至雞隻恢復反應翻身站立為止，若時間超過 600 s，以 600 s 計。若未達 10 s 即起身，則視為失敗，需重新壓制，每次測試一隻雞最多重複 3 次測試 (Zulkifli *et al.*, 2009)。

III. 統計方法

試驗所得數據利用 SAS 套裝軟體 (SAS, 2000) 進行統計分析，並以鄧肯氏新多變域測定法 (Duncan's New Multiple Range Test) 比較各組間之差異顯著性，當 $P < 0.05$ 表差異顯著。

結果與討論

本試驗由表 1 可見試驗雞隻不同階段之採食量於各組之間並無顯著差異，無論是對照組、圓管棲架組及方形棲架組皆於 7 – 8 週齡時有較高的採食量，至 9 週齡開始採食量漸趨平緩。各階段體增重方面，8 週齡之前的體增重增加較多，9 週齡之後的體增重漸趨下降。在 5 – 12 週齡全期體增重中，圓管棲架組的增重量低於其他兩組，推測可能與棲架的喜好度與使用率有關，上下跳躍到棲架上會增加雞隻的能量消耗，從而導致體增重減少。由於 11 – 12 週齡時的體增重減少，但採食量並未減少太多，故飼料轉換率 (feed conversion ratio, FCR) 上升。本試驗結果紅羽土雞 5 – 8 週齡的飼料轉換率在 3.16 – 3.25 之間，其結果略高於 Lee and Chen (2004) 與梁等 (2016) 研究興大土雞與紅羽土雞 4 – 8 週齡的飼料轉換率 (2.40 – 2.89)。

試驗期間於 5、7、9、11 週齡開始及第 12 週齡結束時進行秤重，並計算各組之平均體重。於 5 週齡時以公母各半方式隨機分組，對照組、圓管棲架組及方形棲架組之平均體重依序為 899 ± 112 、 904 ± 111 及 900 ± 114 g，各組間無顯著差異。於 12 週齡結束時，三組平均體重依序為 $3,070 \pm 345$ 、 $2,989 \pm 359$ 及 $3,087 \pm 412$ g，各組間無顯著差異，顯示棲架的設置及型式可能不會影響雞隻出售前的最後體重，但對於生長階段雞隻的體增重會有不同程度的影響。Kiyma *et al.* (2016) 研究結果顯示雞舍內設置棲架對白肉雞 (ROSE 308) 出售前 (39 日齡) 的體重沒有顯著的影響。表 2 比較公雞與母雞的體重變化，結果顯示圓管棲架組公雞體重於 11 週齡時低於對照組與方形棲架組，但於 12 週齡結束時則三組間無差異。在母雞方面，於 11 – 12 週齡期間，圓管棲架組與方形棲架組體重，低於對照組，推測可能是棲架可增加雞隻活動量影響體重的增加。

表 1. 紅羽土雞棲架試驗之初始體重、採食量、體增重及飼料轉換率 (5 – 12 週齡)

Table 1. Start weight, average feed intake, body weight gain and feed conversion ratio (FCR) of red-feathered chickens in perch evaluation trial (5 to 12 weeks of age)

Items	Without perch*	Round tube perch*	Square tube perch*
----- Start weight, g -----			
5 wk	899 ± 112	904 ± 111	900 ± 114
----- Average feed intake, g/bird/wk -----			
5 – 6 wk	653 ± 17	635 ± 28	647 ± 8
7 – 8 wk	1,219 ± 31	1,198 ± 17	1,198 ± 17
9 – 10 wk	1,082 ± 66	1,071 ± 40	1,072 ± 61
11 – 12 wk	1,086 ± 6	1,095 ± 46	1,076 ± 46
5 – 12 wk, g/bird	4,040 ± 104	4,000 ± 52	3,994 ± 51
----- Average weight gain, g/bird/wk -----			
5 – 6 wk	293 ± 70	283 ± 70	287 ± 71
7 – 8 wk	301 ± 62 ^a	283 ± 77 ^b	280 ± 68 ^b
9 – 10 wk	278 ± 57 ^b	255 ± 65 ^c	306 ± 77 ^a
11 – 12 wk	215 ± 69	226 ± 77	221 ± 80
5 – 12 wk, g/bird	1,085 ± 148 ^a	1,043 ± 149 ^b	1,093 ± 172 ^a
----- Feed conversion ratio, feed /gain -----			
5 – 6 wk	2.23 ± 0.09	2.27 ± 0.26	2.26 ± 0.22
7 – 8 wk	4.05 ± 0.05	4.34 ± 0.81	4.32 ± 0.56
9 – 10 wk	3.91 ± 0.40	4.24 ± 0.56	3.54 ± 0.51
11 – 12 wk	5.07 ± 0.43	4.85 ± 0.21	4.95 ± 0.86
5 – 12 wk	3.73 ± 0.12	3.84 ± 0.06	3.66 ± 0.12

Means ± SD.

* Experiments started with 120 birds per group.

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

表 2. 不同性別紅羽土雞之體重 (5 – 12 週齡)

Table 2. Body weight of red-feather chickens in different sex (5 to 12 weeks of age)

Items	Control	Round tube perch	Square tube perch	SE
----- Average weight in male, g -----				
5 wks old	964 ± 106	967 ± 109	966 ± 101	107
7 wks old	1,642 ± 176	1,601 ± 206	1,632 ± 156	175
9 wks old	2,292 ± 214	2,242 ± 243	2,264 ± 197	218
11 wks old	2,900 ± 248 ^a	2,791 ± 261 ^b	2,953 ± 276 ^a	257
End of 12 wks old	3,282 ± 327	3,239 ± 318	3,373 ± 348	328
----- Average weight in female, g -----				
5 wks old	847 ± 86	849 ± 79	831 ± 81	83
7 wks old	1,351 ± 116	1,354 ± 148	1,309 ± 130	126
9 wks old	1,907 ± 182 ^a	1,849 ± 174 ^{ab}	1,793 ± 141 ^b	166
11 wks old	2,417 ± 235 ^a	2,326 ± 215 ^b	2,323 ± 173 ^b	204
End of 12 wks old	2,888 ± 243 ^a	2,785 ± 246 ^b	2,786 ± 210 ^b	232

Means ± SD.

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

在棲架喜好度之數據調查中，由表 3 可見紅羽土雞於 6、8、10、12 週齡期間使用棲架之百分比，圓管棲架組平均使用率為 1.3%，顯著高於方形棲架組的 0.1%，顯示圓管棲架的型式會影響紅羽土雞對於棲架使用上的喜好程度。雞隻 6 週齡前於白天時段 (6:00 – 17:00) 使用棲架之頻率較高，至 8 週齡時晚上凌晨 1:00 時段棲架上開始出現雞隻的身影，達 10 或 12 週齡時全部的觀察時段皆有雞隻使用圓管棲架的紀錄，顯示雞隻隨著時間的推移，在夜間使用棲架情況有增加的趨勢。然而方形棲架組使用棲架之比例極低，顯示方形棲架組方管頂點間端向上的棲架設計較為雞隻所不喜。本試驗中兩處理組紅羽土雞的棲架使用率低於預期，其中的一項影響因素可能是因為較低的飼養密度 (5.8 隻 / m²) 所造成，Pettit-Riley and Estevez (2001) 調查發現在每 m² 飼養 15、20 隻的高飼養密度中白肉雞 (Avian) 使用棲架的比例為 2.8 – 2.7%，高於中度飼養密度 (10 隻 / m²) 的使用比例 (2.1%)，顯示飼養密度可能會影響棲架利用頻率。雞隻的品種是影響棲息行為的主要因素之一 (Faure and Jones, 1982)，白肉雞使用棲架的頻率並不像蛋雞那樣普遍，這可能是由於它們的生長速度太快，體重較重，而隨著年齡的增長他們的運動量也會減少 (LeVan *et al.*, 2000)。白肉雞飼養期短也可能導致棲架使用率降低，雞雛在出生後前幾週很少使用棲架，因此在雞隻變得太重之前，他們只有短暫的時間使用棲架 (Kiyama *et al.*, 2016)。但幾項研究顯示，在雞隻使用棲架仍然具有許多優點，例如棲架可增強 12 週齡白色來亨雞脛骨、胸骨及肱骨的骨礦物質密度，以及增加左腿肌肉重量 (Enneking *et al.*, 2012)、產蛋母雞於產蛋週期 (18 – 72 週) 長期使用棲架後可增加骨小梁 (trabeculae) 的面積 (Wilson *et al.*, 1993)、雞隻透過使用棲架運動能讓背闊肌 (latissimus dorsi) 快速生長 (Sola *et al.*, 1973)、使母雞有較小的右腎上腺重量，而腎上腺重量減少代表動物的生理壓力較少 (Siegel *et al.*, 1995)，有益雞隻的健康。

表 3. 棲息在不同棲架上紅羽土雞的百分比 (6、8、10 及 12 週齡)

Table 3. The frequency of red-feathered chickens per perch roosting at the different perches (6, 8, 10 and 12 weeks of age)

Time	Round tube perch* (%) ¹				Square tube perch* (%) ¹			
	6-wk-old	8-wk-old	10-wk-old	12-wk-old	6-wk-old	8-wk-old	10-wk-old	12-wk-old
----- morning -----								
05:00	0	0	2.0 ± 2.4	2.9 ± 2.8	0	0	0	0
06:00	2.8 ± 2.7	0.3 ± 0.8	5.9 ± 5.9	4.6 ± 4.9	0	1.1 ± 1.8	0	0
07:00	3.4 ± 2.8	0.8 ± 2.5	4.8 ± 3.7	3.8 ± 3.0	0.3 ± 0.8	0.8 ± 1.3	0.6 ± 1.1	0
----- noon -----								
11:00	2.2 ± 2.0	0.3 ± 0.8	1.4 ± 2.6	0.5 ± 1.7	0	0	0	0
12:00	2.2 ± 2.3	0	3.1 ± 1.7	2.0 ± 3.1	0	0	0	0
13:00	1.1 ± 1.3	0.8 ± 2.5	2.0 ± 2.5	0.8 ± 1.3	0	0	0	0
----- evening -----								
17:00	0.6 ± 1.7	0.3 ± 0.8	2.8 ± 3.7	1.2 ± 1.9	0	0	0.3 ± 0.8	0
18:00	0	0.8 ± 2.5	2.5 ± 4.2	1.1 ± 1.3	0	0	0	0
19:00	0	No data ²	1.4 ± 3.4	0.6 ± 1.1	0	0	0	0
----- night -----								
23:00	0	0	0.3 ± 0.8	1.2 ± 1.9	0	0	0	0
00:00	0	0	0.6 ± 1.2	0.6 ± 1.1	0	0	0	0
01:00	0	0.3 ± 0.8	0.8 ± 1.3	1.2 ± 1.9	0	0	0	0
mean	1.3 ± 1.5				0.1 ± 0.2			

¹ (%) = Number of roosting birds/ number of birds of each group.

² No data: the recorder was out of order.

* Experiments started with 120 birds per group.

僵直靜止反應 (TI) 是指雞隻進入一個自然的麻痺狀態，目前科學家認為這個反應與害怕有所關聯，其時間越短代表害怕程度較低 (Zulkifli *et al.*, 2009; Duan *et al.*, 2014)，因此 TI 也被用來當成評估雞隻福祉的參考指標之一。僵直靜止反應的持續時間表明的恐懼行為與 H/L 比 (heterophil / lymphocyte ratio) 呈正相關，嗜異細胞作用在先天性免疫系統來對抗細菌性病原體，而淋巴細胞則為後天性免疫系統用來辨別外來的傳染病原，H/L 比可當作動物生理壓力的衡量標準、也和血漿皮質醇變化 (皮質醇可提高血壓、血糖和產生免疫抑制作用，與壓力引起的生理反應有關)

呈正相關，因此，恐懼會加劇整體壓力 (Ghareeb *et al.*, 2014)。此試驗在於評估處理組提供棲架豐富平飼環境，是否對雞隻生長有所影響之外，有助於提升雞隻之福祉。結果顯示，於 12 週齡結束時對照組僵直靜止反應時間為 93.0 ± 78.1 s，高於圓管棲架組 69.0 ± 62.1 s，也高於方形棲架組 70.5 ± 56.2 s，各組之間雖無顯著差異，但是兩組棲架組之反應時間皆較對照組短，推測棲架做為豐富化設施，對雞隻之福祉可能是有助益的。Campderrich *et al.* (2019) 研究發現在雞舍中裝設棲架等豐富化設施來增加棲息行為，可能有助於雞隻緩解外界壓力，建議在商業飼養條件下應儘早提供棲架等豐富化設施，以減少與壓力有關的刺激。

結 論

本研究結果顯示，紅羽土雞於平飼雞舍中裝設圓管型式的棲架較為適宜，圓管棲架不會影響雞隻 12 週齡結束時的體重表現，且有提升動物福祉之趨勢，未來可再朝向提高飼養密度與在熱季下進行，以深入瞭解棲架應用之效益。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2018。「豐輝下營紅牌土雞」新品系登記及審定書。中華民國 107 年 3 月 19 日農牧字第 1070042275 號公告。
- 行政院農業委員會。2021。109 年農業統計年報。臺北市，第 320-321 頁。
- 林德育。2020。民間土雞新品系的育成與命名。科學發展 567：16-23。
- 梁筱梅、林德育、林正鏞、康獻仁、梁桂容、許岩得、洪國翔。2016。臺灣商用紅羽土雞公雞之生長性能、屠體性狀及肌肉色澤分析。畜產研究 49：99-104。
- Blokhuys, H. J. 1984. Rest in poultry. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 12: 289-303.
- Campderrich, I., F. N. Nazar, A. Wichman, R. H. Marin, I. Estevez, and L. J. Keeling. 2019. Environmental complexity: A buffer against stress in the domestic chick. *PLoS One*. 14: e0210270.
- Duan, Y., W. Fu, S. Wang, Y. Ni, and R. Zhao. 2014. Effects of tonic immobility (TI) and corticosterone (CORT) on energy status and protein metabolism in pectoralis major muscle of broiler chickens. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 169: 90-95.
- European chicken commitment. 2017. <http://welfarecommitments.com/europeletter/>.
- Enneking, S. A., H. W. Cheng, K. Y. Jefferson-Moore, M. E. Einstein, D. A. Rubin, and P. Y. Hester. 2012. Early access to perches in caged White Leghorn pullets. *Poult. Sci.* 91: 2114-2120.
- Faure, J. M. and R. B. Jones. 1982. Effect of sex, strain and type of perch on perching behavior in the domestic-fowl. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 8: 281-293.
- Ghareeb, K., W. A. Awad, O. E. Sid-Ahmed, and J. Böhm. 2014. Insights on the host stress, fear and growth responses to the deoxynivalenol feed contaminant in broiler chickens. *PLoS One*. 9: e87727.
- Haye, U. and P. C. M. Simons. 1978. Twisted legs in broilers. *Br. Poult. Sci.* 19: 549-557.
- Hughes, B. O. and H. A. Elson. 1977. The use of perches by broilers in floor pens. *Br. Poult. Sci.* 18: 715-722.
- Kiyama, Z., K. Küçükyılmaz, and A. Orojpour. 2016. Effects of perch availability on performance, carcass characteristics, and footpad lesions in broilers. *Archiv. Fuer. Tierzucht.* 59: 19-25.
- Lee, Y. P. and T. L. Chen. 2004. A study on the growth and carcass traits of certain breeds of local chicken in Taiwan and China. *J. Chin. Soc. Anim. Sci.* 33: 205-214.
- LeVan, N. F., I. Estevez, and W. R. Stricklin. 2000. Use of horizontal and angled perches by broiler chickens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 65: 349-365.
- Pettit-Riley, R. and I. Estevez. 2001. Effects of density on perching behavior of broiler chickens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 71: 127-140.
- SAS. 2000. Version 8.01. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary, N.C. USA.
- Siegel, H. S. 1995. Stress, strains and resistance. *Br. Poult. Sci.* 36: 3-22.
- Sola, O. M., D. L. Christensen, and A. W. Martin. 1973. Hypertrophy and hyperplasia of adult chicken anterior latissimus dorsi muscles following stretch with and without denervation. *Exp. Neurol.* 41: 76-100.

- Ventura, B.A., F. Siewerdt, and I. Estevez. 2012. Access to barrier perches improves behavior repertoire in broilers. *PLoS One* 7: e29826.
- Wilson, S., B. O. Hughes, M. C. Appleby, and S. F. Smith. 1993. Effects of perches on trabecular bone volume in laying hens. *Res.Vet. Sci.* 54: 207-211.
- Zulkifli, I., A. Al-Aqil, A. R. Omar, A. Q. Sazili, and M. A. Rajion. 2009. Crating and heat stress influence blood parameters and heat shock protein 70 expression in broiler chickens showing short or long tonic immobility reactions. *Poult. Sci.* 88: 471-476.

Effects of perch types on the growth performance and welfare of red-feathered chickens ⁽¹⁾

Xin-Yu Chen ⁽²⁾ Hsi-Wen Hung ⁽³⁾ Shen-Shyuan Yang ⁽²⁾ and An-Kuo Su ^{(2) (4)}

Received: Nov. 4, 2020; Accepted: Mar. 29, 2022

Abstract

The purpose of this study was to investigate effects of different types of perches on the growth performance and animal behaviors of the typical commercial red-feather chickens in Taiwan. Three hundred and sixty birds at age of 5 weeks were randomly divided into control group (without perch), round tube perch group and square tube perch group, with 3 repetitions in each group and 40 birds per treatment. The stocking density is 5.8 bird/m². The round tube perch is composed of upper and lower layers of metal circular tubes with a diameter of 1.5 cm, while the square perch group is composed of upper and lower layers of metal square tubes with a side length of 2.5 cm. The experiment was conducted on birds aged 5 to 12 weeks. No significant differences of bodyweight gain were observed with the average body weight $3,069 \pm 345$ g, $2,989 \pm 359$ g and $3,087 \pm 412$ g in the control, round, and square perch group respectively. However, the frequency of daily perch usage frequency in the round tube perch group was higher than that of the square perch group (1.3 vs. 0.1%), suggesting that the design of perches affects the preference of perch usage by domestic fowls. In the tonic immobility test measured on birds at the age of 12 weeks, which is commonly used as a reference indicator for assessing the welfare of chickens, the reaction time of the two test groups was shorter than that of the control group. These results manifested that chickens may live fearlessly when they are reared with perches for resting in the surroundings than those growing up without perches. Therefore, as an environment-enriched facility, perch setup can improve animal welfare and maintain the productive efficiency of chickens. The present results would provide some scientific information for the reference of the current poultry production system.

Key words: Perch, Red-feather native chicken, Body weight gain, Behaviors, Animal welfare.

(1) Contribution No. 2699 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

雞泌乳素接受體基因點突變多態性基因型 檢測技術平臺開發與應用⁽¹⁾

朱家德⁽²⁾ 林德育⁽²⁾⁽⁸⁾ 賴永裕⁽²⁾ 梁筱梅⁽⁴⁾ 楊深玄⁽⁵⁾ 劉宗霖⁽⁷⁾
張秀鑾⁽⁶⁾ 吳明哲⁽³⁾ 蕭振文⁽²⁾

收件日期：110 年 6 月 22 日；接受日期：111 年 3 月 30 日

摘 要

賴抱行為是禽類經天擇與演化之繁殖生理反應結果之一，此牽涉遺傳與環境等因素。泌乳素接受體 (prolactin receptor, *PRLR*) 基因被認為與雞隻賴抱行為具顯著關聯性。本研究旨在應用六種臺灣本地雞種，包括畜試土雞高畜 7 號、9 號、11 號、12 號、花畜土雞及鬥雞，共 90 隻，建立螢光引子標記之競爭性交替基因特異性聚合酶鏈鎖反應 (kompetitive allele specific polymerase chain reaction, KASP) 檢測平臺，進行雞隻 *PRLR* 基因點突變多態性基因型鑑定。比較 KASP、單股結構多態性檢測技術 (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 與 DNA 序列定序結果顯示，三種檢測法分析 *PRLR* 基因 PP、PR 及 RR 基因型之結果完全對應吻合，顯示三種技術可相互替代應用，KASP 可效縮短基因型檢測時間，僅需 PCR-SSCP 的 1/3 時間，並具備基因型鑑別準確度高之優勢，未來可推薦供作種雞單位點 SNP (single nucleotide polymorphism, SNP) 基因型鑑定平臺之檢測模式。

關鍵詞：臺灣土雞、賴抱、泌乳素接受體基因、競爭性交替基因特異性聚合酶鏈鎖反應。

緒 言

賴抱 (broodiness) 行為是禽類經天擇與演化之繁衍行為之一，賴抱期間母禽會有採食與飲水減少、反應遲鈍、體溫升高、羽毛蓬鬆、翅膀下垂、叫聲奇特、防衛行為增強、臥巢頻繁、體重大幅度減輕及免疫力下降等情形。家禽一般在產蛋高峰期以後就有表現賴抱的傾向，世界上眾多的家禽品種中除純種白色來亨雞 (White Leghorn) 與北京鴨 (Pekin duck) 等少數品種外，大多數品種都具有一定程度的賴抱性，尤其以地方雞種表現的賴抱性較強 (Yang and Jiang, 2005)。賴抱會導致家禽卵巢與輸卵管退化使產蛋率下降，賴抱結束後需要很長時間才能重新恢復產蛋，有的母禽甚至喪失繁殖力而嚴重影響了產蛋性能 (Jiang *et al.*, 2005)。研究顯示，母雞賴抱一次預估導致年平均產蛋量下降 10%，有的禽類在一個產蛋期內多次賴抱，對產蛋量的影響更大 (姜, 2005)。由於賴抱性與家禽的生產性能密切相關，所以培育出無賴抱性或低賴抱性的家禽品種品系有其必要的商業價值 (Jiang *et al.*, 2005)。

泌乳素接受體 (prolactin receptor, *PRLR*) 是一種跨膜醣蛋白，屬於第一型細胞激素受體 (type I cytokine receptor)，廣泛存在於哺乳動物的腦、卵巢、胎盤和子宮在內的各種組織中，藉由與泌乳素 (prolactin, *PRL*) 在不同組織中的協同作用以發揮不同功能，包括內分泌代謝、繁殖調節、生長發育、免疫調節、行為調節、細胞增殖及分化等 (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Tanaka *et al.*, 2000; Tan and Peng, 2012)。在雞的 *PRLR* 基因研究上，Duun *et al.* (1998) 最早將 *PRLR* 基因定位於 Z 染色體上的 45 cM 處，緊鄰位於 49 cM 處的生長激素受體基因 (growth hormone receptor, *GHR*)，*PRLR* 基因是由 14 個外顯子 (exon) 和 13 個內含子 (intron) 所組成，各外顯子分別被命名為外顯子 1、2、

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2700 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組退休。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場。

(5) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(6) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。

(7) 國立成功大學生物科技與產業科學系。

(8) 通訊作者，E-mail: lin0429@mail.tlri.gov.tw。

3、4a、5a、6a、7a、4、5、6、7、8、9 及 10，並認為 *PRLR* 基因為影響雞隻賴捲性之候選基因。雞 *PRLR* 基因表現對母雞賴捲行為與產蛋量影響的研究顯示，賴捲行為母雞較無賴捲行為者有顯著較高卵巢組織 *PRLR* 基因 mRNA 表現量 ($P < 0.01$) 與顯著較低產蛋期產蛋量 (101.15 ± 13.94 枚 vs. 49.30 ± 21.47 枚, $P < 0.01$) (汪, 2007)。

林等 (2007) 依據美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 公開雞 *PRLR* 基因序列 (GenBank AJ011128) 利用 PCR-SSCP，針對畜試土雞近親品系 9 (LRI-L9) 與來亨雞進行 *PRLR* 基因型頻率分析，結果顯示 LRI-L9 雞隻 *PRLR* 基因 PP、PR 及 RR 基因型頻率分別為 27.3、48.5 及 24.2%，而來亨雞皆為 100.0% PP 基因型，經序列分析發現交替基因 *P* 為 C (cytosine)，交替基因 *R* 為 T (thymine)，後續將 LRI-L9 與來亨雞品系雜交 F2 代無賴捲行為的母雞當作無賴捲性組，賴捲天數達 3 天以上的母雞則為有賴捲性組，進行 *PRLR* 基因型與賴捲性組之關聯性分析，結果顯示在此兩個品種母雞中，存在顯著的關聯性 ($P < 0.001$)。

PCR-SSCP 是一種具有操作簡單與成本低廉優勢的單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 檢測技術，其原理基於 DNA 序列發生 SNP、缺失或插入時所造成單股 DNA 有結構上的差異，可在非變性聚丙烯醯胺凝膠電泳過程中產生不同程度的泳動位移，藉此差異作為基因型判定的依據，然基因型檢測時間較長 (6 – 7 小時) 且易受電泳溫度、電泳緩衝液濃度、凝膠濃度、甘油濃度等外在因素影響 (Konstantinos *et al.*, 2008)。

KASP 是由 LGC 公司 (Laboratory of the Government Chemist, LGC, UK) 開發之新一代 SNP 檢測技術，其基本程序是藉由兩股 5' 端各自帶有 FAM/HEX-labelled 標記螢光與 3' 端分別能辨識突變點鹼基之引子和一股反向引子所構成之 primer mix，並利用帶有兩種不同螢光訊號的兩條 quencher 抑制螢光探針 master mix，對 SNP 位點進行 PCR 擴增反應，達到一定程度的 PCR 擴增反應後，再利用 Real-time PCR 吸光值測定相對應 PCR 擴增螢光強度，以判定基因型 (Semagn *et al.*, 2013)。此技術具有高通量、低錯誤率、低成本及基因型檢測效率高等優點，被廣泛應用在玉米 (Nair *et al.*, 2015)、小麥 (Rasheed *et al.*, 2016; Qureshi *et al.*, 2018) 及大豆 (Shi *et al.*, 2015) 等作物的基因表現研究與分子標識輔助選拔等方面。

本研究旨在運用 KASP 基因型檢測技術，建置影響雞隻賴捲性候選基因 *PRLR* 之基因型檢測平臺，以 KASP 具備的高準確性與基因型鑑定時程短之優勢，提升種禽分子標識輔助育種效率。

材料與方法

本試驗於行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組執行試驗動物 *PRLR* 基因基因型檢測與分析。試驗動物分別飼養於花蓮種畜繁殖場與高雄種畜繁殖場，試驗動物之使用、飼養及試驗內容皆依據畜產試驗所實驗動物管理小組批准之文件與試驗準則進行 (花蓮種畜繁殖場 109-03 號、花蓮種畜繁殖場 109-04 號及高雄種畜繁殖場 109-3 號申請核准在案)。

I. 試驗動物

應用畜試土雞高畜 7 號 (TLKT-07, 4 公 8 母)、畜試土雞高畜 9 號 (TLKT-09, 4 公 8 母)、畜試土雞高畜 11 號 (TLKT-11, 4 公 7 母)、畜試土雞高畜 12 號 (TLKT-12, 4 公 8 母)、花畜土雞 (Hualien LRI, 18 公 20 母，自 TLKT-09 與 TLKT-12 雜交選育之品種) 及鬥雞 (Fighting Chicken, 5 公，自彰化民間種雞場取得種蛋後由花蓮種畜繁殖場自行選育) 等雞隻為試驗動物，共計 90 隻。

II. 採血及基因體 DNA 萃取

- 本研究使用 90 隻雞，以翼下靜脈採集血液約 0.5 – 1.0 mL，置入含抗凝血劑 EDTA-K3 之採血管中混合後供基因體 DNA (gDNA) 萃取用。
- 以 gDNA 快速萃取套組 (EasyPure Genomic DNA mini Kit, TransGen Biotech, Beijing) 分別萃取 90 隻雞 gDNA 後，經乾燥並加入適量 T.E. 緩衝液溶解，再利用微量分光光譜儀 (NanoDrop 2000c, Thermo Fisher Scientific, USA) 測定 gDNA 濃度，並調整濃度為 20×30 ng/ μ L，供作 PCR 反應之模板。

III. 以 PCR-SSCP 進行雞隻 *PRLR* 基因型檢測

以林等 (2007) 根據 NCBI 公開雞 *PRLR* 基因序列 (GenBank AJ011128) 設計之 PCR 引子序列，分別為：正向引子 5'-AGACTTTCTGCAGAGTGAC-3' 與反向引子 5'-ATCCTGCAGCTACCCCAGTTC-3'，取上述試驗動物 gDNA 進行 PCR 反應擴增 252 bp 目標片段產物後，應用 GenePhor 電泳設備 (GenePhor Electrophoresis Unit from GE Healthcare, Amersham Pharmacia Biotech, Sweden) 進行 PCR-SSCP 基因型鑑定，可判讀 *PRLR* 基因 PP、PR 及 RR 基因型 (圖 1)。

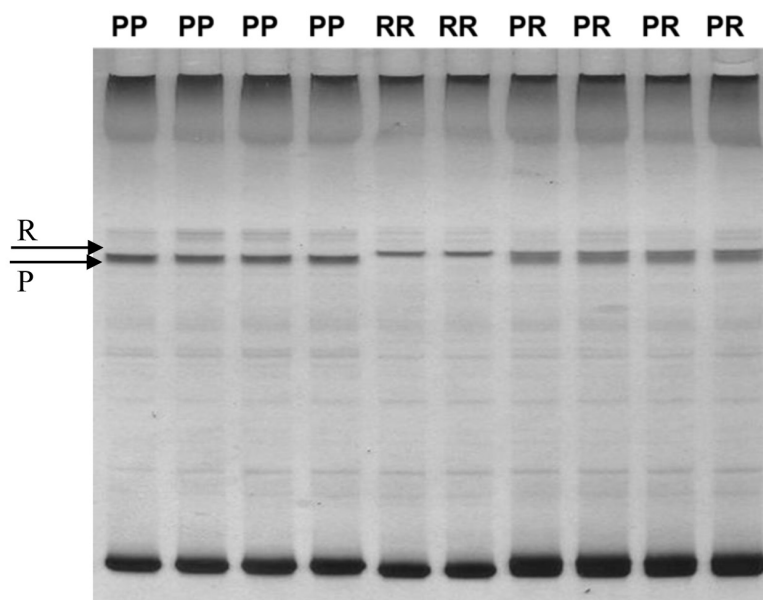


圖 1. 以 PCR-SSCP 檢測技術分析畜試土雞近親品系 9 之 *PRLR* 基因電泳圖。其中可區分為 PP、PR 及 RR 三種基因型。

Fig. 1. Genotyping result of LRI-L9 chicken *PRLR* gene by PCR-SSCP. The samples are classified into three different genotypes (PP, PR, and RR).

IV. 以 KASP 進行雞隻 *PRLR* 基因型檢測

依 NCBI 公開雞 *PRLR* 基因序列 (GenBank AJ011128) 設計之 PCR 引子，序列分別為 FAM 藍色螢光標記 P 交替基因 cytosine 正向引子 5'-CAAATAATGATCTTTCTATCA AGGATGTATC-3'、HEX 紅色螢光標記 R 交替基因 thymine 正向引子 5'-GCAAATAATGATCTTT CTATCAAGGATGTATT-3' 及反向引子 5'-GTAGTCAGGGCATAGAGGTG-3'，並以即時聚合酶鏈鎖反應儀 (Applied Biosystems StepOne™ System, Thermo Fisher Scientific, USA) 進行 KASP 基因型檢測。KASP 反應綜合液包括 DNA (50 ng/μL) 1.5 μL、2X master mix 5 μL、ddH₂O 3.3 μL 與 assay mix 0.2 μL。KASP 反應依序為 (A) 95°C 預變性 15 分鐘；(B) 10 個循環的 95°C 變性 20 秒與 61 – 55°C 黏合 60 秒 (每個循環降低 0.6°C)；(C) 26 個循環的 95°C 變性 20 秒與 55°C 黏合 60 秒。前述反應條件擴增 105 bp 目標片段產物，結果判讀以儀器內建 StepOne Software v2.3 軟體進行基因型鑑定。

V. 雞隻 *PRLR* 基因 DNA 序列定序

本研究依雞 *PRLR* 基因序列 (GenBank NC_006127.5) 設計之 PCR 引子序列分別為正向引子 5'-GGAAGTAACAGCTCTGATCCTC-3' 與反向引子 5'-ACAACCTCTCC CCTCAGTC-3'，運用 PCR 擴增 880 bp 目標片段產物後，以核苷酸自動定序儀 (Applied Biosystems 3500 xL Genetic Analyzer, Thermo Fisher Scientific, USA) 進行定序。

結 果

應用本研究開發建立之 KASP 基因型檢測平臺技術進行 *PRLR* 基因型鑑定，結果如圖 2。圖 2 中，KASP 螢光標記可明確地區分三種基因型，其中近 X 軸 (HEX 螢光強度) 為 *PRLR*-RR 基因型，近 Y 軸 (FAM 螢光強度) 為 *PRLR*-PP 基因型，中間綠點 (FAM/HEX 混合螢光強度) 為 *PRLR*-PR 雜合基因型，方塊黑點則為空白對照。然為進一步驗證 KASP 基因型檢測技術之準確性，依 NCBI 公開 *PRLR* 基因序列 (GenBank NC_006127.5) 設計引子，並經 PCR 擴增長度為 880 bp 產物後，以核苷酸自動定序儀進行雙向定序，將定序結果與 GenBank AJ011128 公開資料做序列比對，結果顯示 PP 基因型者第 617 鹼基為 C (cytosine)，第 608-623 bp 之 DNA 序列為 AGGATGTATCTGCTCA；RR 基因型者第 617 鹼基為 T (thymine)，第 608-623 bp 之 DNA 序列為 AGGATGTATTTGCTCA (圖 3)。同時，應用 KASP、PCR-SSCP 與 DNA 序列定序等不同檢測技術，比對六個臺灣在地雞種共 90 個試驗樣本之 *PRLR* 基因型鑑定結果，如表 1 所示；該三種檢測法判定基因型之結果均一致。

表 1. 應用 PCR-SSCP、KASP 及 DNA 序列定序檢測技術分析 6 個臺灣在地雞種泌乳素接受體基因之基因型頻率與檢測效率
Table 1. The genotypic frequency and genotyping efficiency of prolactin receptor gene using PCR-SSCP, KASP, and DNA sequencing genotyping platform among six breeds of Taiwan indigenous chickens

Breed	Number of individuals genotyped	PCR-SSCP				KASP			DNA sequencing		
		Genotypic frequency, %				Genotypic frequency, %			Genotypic frequency, %		
		PP	PR	RR		CC	CT	TT	CC	CT	TT
TLKT-07	12	100.0 (12)*	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (12)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (12)	0.0 (0)	0.0 (0)
TLKT-09	12	91.6 (11)	0.0 (0)	8.4 (1)	91.6(11)	0.0 (0)	0.0 (0)	8.4 (1)	91.6 (11)	0.0 (0)	8.4 (1)
TLKT-11	11	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (12)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (12)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (12)
TLKT-12	12	33.3 (4)	8.4 (1)	58.3 (7)	33.3(4)	8.4 (1)	58.3 (7)	8.4 (1)	33.3 (4)	8.4 (1)	58.3 (7)
Hualien LRI	38	8.0 (3)	57.8 (22)	34.2 (13)	8.0 (3)	57.8 (22)	34.2 (13)	57.8 (22)	8.0 (3)	57.8 (22)	34.2 (13)
Fighting Chicken	5	0.0 (0)	100.0 (5)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (5)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (5)	0.0 (0)
Turnaround time, hours		6 – 7				1 – 2			6 – 8		

* (): sample size.

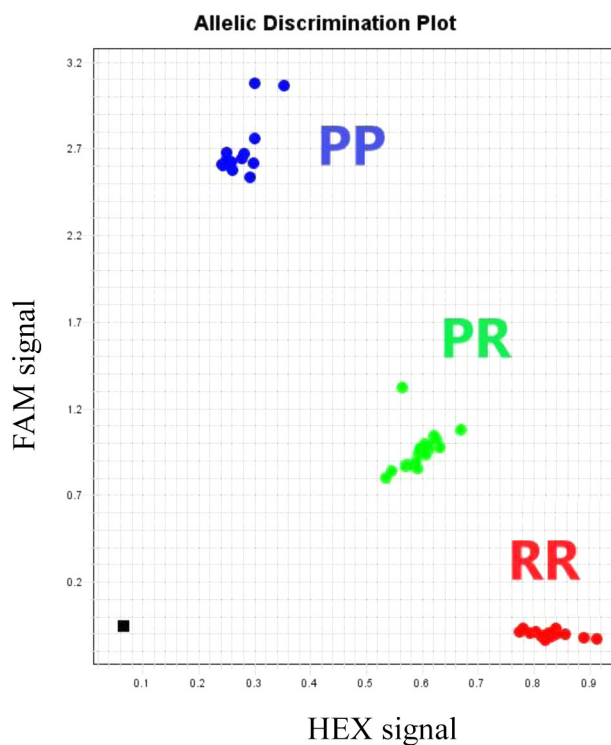


圖 2. 以 KASP 基因型檢測技術分析雞泌乳素接受體基因之基因型。PP 基因型呈現藍色螢光，RR 基因型呈現紅色螢光，PR 基因型呈現綠色螢光，空白樣本為黑點。

Fig. 2. Genotyping cluster plots of prolactin receptor gene by the kompetitive allele specific PCR (KASP) assay. The genotyped samples marked blue are PP homozygotes; those marked red are RR homozygotes; those marked green are PR heterozygous. Black is the control sample.

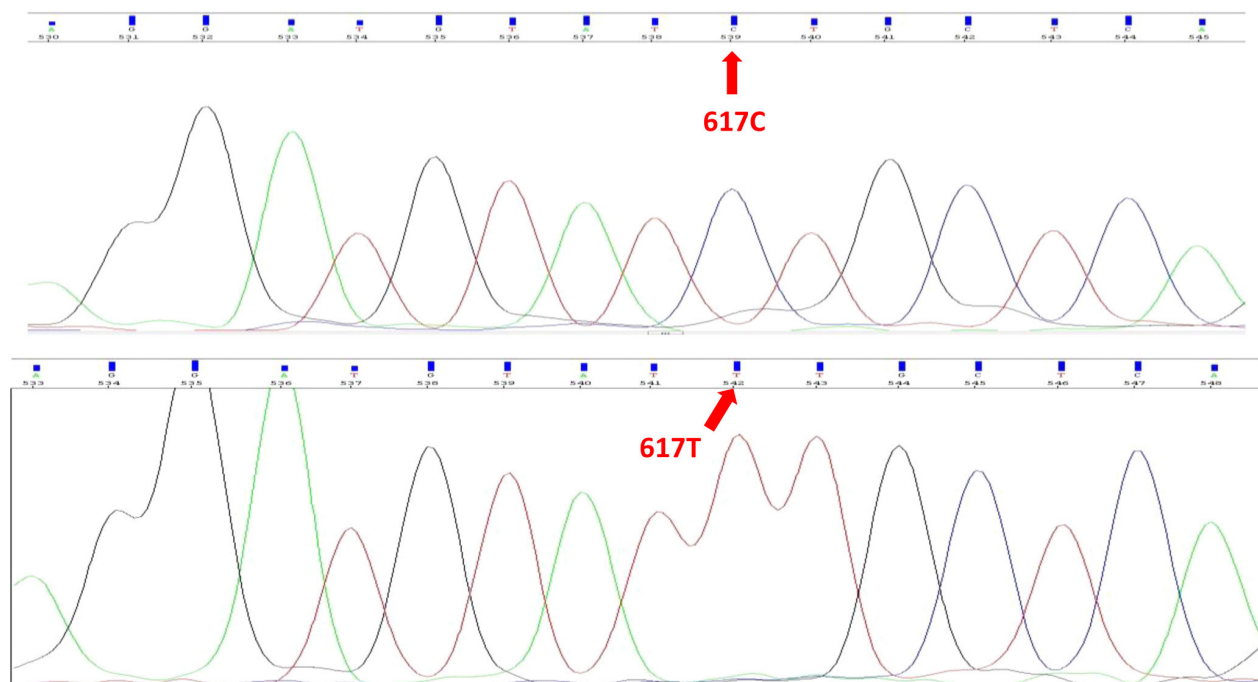


圖 3. 雞泌乳素接受體基因 PP (*PRLR*-617C) 與 RR (*PRLR*-617T) 基因型之定序圖。

Fig. 3. Sequencing profile of PP (*PRLR*-617C) and RR (*PRLR*-617T) homozygotes of chicken prolactin receptor gene.

討 論

隨著大量分子標識開發和多種檢測技術之發展，應用分子標識輔助選拔已獲快速發展與應用，並成為低遺傳力

性狀遺傳改進策略之一。目前在家禽分子標識輔助選拔研究進展上，陸續已有影響家禽生長、肉質及產蛋等重要經濟性狀之關鍵基因或分子標記發表，如生長激素 (growth hormone, *GH*) 基因 (Lei *et al.*, 2007)、脂肪細胞脂肪酸結合蛋白 (adipocyte fatty acid binding protein, *A-FABP*) 基因 (Ye *et al.*, 2009)、心臟型脂肪酸結合蛋白 (heart-type fatty acid binding protein, *H-FABP*) 基因 (Ye *et al.*, 2009)、*PRL* 基因及 *PRLR* 基因等 (Vinh *et al.*, 2021)。SNP 分子標識為基因組中單核苷酸變異多態性，因具數量多、分布廣泛與穩定性佳等特性，廣泛應用於生物遺傳育種領域 (Semagn *et al.*, 2013)。目前常用 SNP 檢測法主要有直接辨識單核苷酸之聚合酶鏈鎖反應 - 限制酵素片段多態性 (PCR-RFLP)、單股結構多態性檢測技術 (PCR-SSCP)、突變點折離式聚合酶鏈鎖反應 (MS-PCR)、即時聚合酶連鎖反應 (Real-time PCR)、競爭性交替基因特異性聚合酶鏈鎖反應 (KASP)、核酸質譜分析 (Sequenom MassARRAY)、快速與高通量自動化檢測之直接定序法 (next generation sequencing, NGS) 和全基因組 SNP 晶片 (genome-wide SNP chip) 等 (Zhang *et al.*, 2004; Clavijo *et al.*, 2010; Rashidi *et al.*, 2012; Viale *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020; Alvarez-Fernandez *et al.*, 2021; Vinh *et al.*, 2021)。全基因組 SNP 晶片技術是一種以少量 DNA，進行高通量 SNP 基因型鑑定與基因分型之方法，但該方法對大量樣本進行 SNP 檢測所需成本較高 (Schröder *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2011)。Boichard *et al.* (2016) 報告指出，因大多物種之育種計畫無法同時承擔使用生物晶片所需維持基礎族群樣本數與基因晶片檢測費用，故高成本基因晶片檢測為 SNPs 分子標記實際應用於物種研究之主要限制。相較於其他 SNP 檢測模式，KASP 技術具準確性高、位點適應性強、成本低及適合檢測大量樣本單一 SNP 位點等優勢，在生物遺傳多樣性分析與圖譜構建等方面具有高的應用價值 (Suo *et al.*, 2020; Alvarez-Fernandez *et al.*, 2021)。

朱等 (2019; 2020a) 曾以螢光標記 KASP 基因型檢測技術，鑑定與區分努比亞山羊黏多醣症之正常型與有病型個體；其中正常純合型個體顯現 FAM 藍色螢光，有病純合型者則顯示 HEX 紅色螢光，而正常雜合型者會顯現 FAM/HEX 綠色螢光；意即該檢測技術可作為鑑別努比亞山羊黏多醣症三種基因型之檢測法。為確認 KASP 法與 PCR-RFLP 和 DNA 定序檢測結果一致性與否，乃隨機採集臺灣地區五家羊場 94 頭努比亞種山羊血液樣本，鑑定結果顯示，三種檢測法基因型判定結果均相符；KASP 較 PCR-RFLP 技術節省 40% 基因型檢測時間，減少 30% 試劑與耗材成本，顯示 KASP 法具提升檢測效率與降低成本之產業應用優勢。隨後，朱等 (2020b; 2020c) 持續以 KASP 基因型檢測平臺，進行雞隻肌肉脂肪相關候選基因 *A-FABP* 與 *H-FABP* 分析，結果與應用 gDNA 定序之結果相同；其中凱馨桂丁土雞、黑羽土雞及烏骨雞 *A-FABP* 基因之 C 交替基因頻率分別為 0.85、0.38 及 0.85，而 *H-FABP* 基因之 C 交替基因頻率分別為 0.54、0.33 及 0.23。未來擬進一步進行前述 SNP 位點基因型與重要經濟性狀之關聯分析，並評估產業應用之可行性。

禽類賴菴性為多基因遺傳之低遺傳率性狀，分別受環境、內分泌與遺傳等因素影響，其中遺傳因素可經由關連性分子標識之輔助與適當選拔策略之應用，達到持續與累積改進族群性能之產業目標。因賴菴行為會經由繁殖激素誘導而產生，其中 FSH β (follicle-stimulating hormone β)、FSHR (follicle-stimulating hormone receptor)、LH、LHR (luteinizing hormone receptor)、ESR (estrogen receptor)、VIP (vasoactive intestinal polypeptide) 及 DRD1/2 (dopamine receptor D1/2)，均可藉由調控 *PRL* 和 *PRLR* 基因表現量，調控禽類賴菴行為產生和維持，故 *PRL* 和 *PRLR* 被列為調控禽類賴菴性之繁殖相關激素主要候選基因 (Yin *et al.*, 2019)。本研究應用 KASP 技術已成功建立雞隻 *PRLR* 基因單位點 SNP 之 KASP 基因型檢測平臺，經實際比較 KASP 與 PCR-SSCP 基因型檢測時間，發現 KASP 僅需要 PCR-SSCP 的 1/3 時間即可完成基因型鑑定工作，並以 DNA 序列定序 *PRLR* 基因 PP、PR 及 RR 基因型後，證實 KASP、PCR-SSCP 及 DNA 序列定序等三種檢測法判定基因型之結果均一致；並經 2019 – 2020 年間建立之山羊與臺灣土雞 KASP 檢測技術與驗證結果為 KASP 技術佐證，顯示此 KASP 基因型檢測平臺具高正確度與高效率之特性，應可符合我國種畜禽動物單位點 SNP 分子標識輔助選拔之需。

誌 謝

研究團隊感謝行政院農業委員會科技計畫 (110 農科 -2.5.3- 畜 -L2) 經費支持，民間牧場、本所飼養場域與遺傳育種組同仁協助採樣、資料處理與實驗技術等，特此誌謝。

參考文獻

朱家德、林德育、賴永裕、陳若菁、吳明哲、張秀鑾。2019。努比亞山羊黏多醣症基因型之即時聚合酶連鎖反應檢測方法應用。中畜會誌 (增刊) 48: 209。

- 朱家德、林德育、賴永裕、陳若菁、吳明哲、張秀鑾。2020a。即時聚合酶鏈鎖反應檢測努比亞山羊黏多醣症之基因型分析。中畜會誌(增刊) 49: 157。
- 朱家德、林德育、賴永裕、陳若菁、吳明哲、張秀鑾。2020b。即時聚合酶鏈鎖反應檢測土雞 A-FABP 基因 Exon1 點突變多態性之基因型分析。中畜會誌(增刊) 49: 158。
- 朱家德、林德育、賴永裕、陳若菁、吳明哲、張秀鑾。2020c。即時聚合酶鏈鎖反應檢測土雞 H-FABP 基因 Intron2 點突變多態性之基因型分析。中畜會誌(增刊) 49: 159。
- 汪峰。2007。雞 *PRL*、*PRLR* 基因表達及其與繁殖性能的關係。南京農業大學，碩士學位論文，中國。
- 林德育、黃鈺嘉、陳若菁、鍾秀枝、黃祥吉、賴永裕、張秀鑾、吳明哲。2007。雞隻賴菴性與性染色體上的泌乳素接受體基因之關聯性探討。中畜會誌(增刊) 36: 130。
- 姜潤深。2005。雞 *PRL*、*PRLR* 和 *POU1F1* 基因變異對繁殖及 *POU1F1* 對生長性狀的遺傳效應。中國農業大學動物科技學院，博士論文，中國。
- Alvarez-Fernandez, A., M. J. Bernal, I. Fradejas, A. M. Ramirez, N. A. M. Yusuf, M. Lanza, S. Hisam, A. Pérez de Ayala, and J. M. Rubio. 2021. KASP: a genotyping method to rapid identification of resistance in *Plasmodium falciparum*. *Malar. J.* 20: 16-24.
- Boichard, D., V. Ducrocq, P. Croiseau, and S. Fritz. 2016. Genomic selection in domestic animals: Principles, applications and perspectives. *C. R. Biol.* 339: 274-277.
- Bole-Feysot, C., V. Goffin, M. Edery, N. Binart, and P. A. Kelly. 1998. Prolactin (*PRL*) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in *PRL* receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 19: 225-268.
- Clavijo, A., F. Sun, and L. Sneed. 2010. Diagnosis of caprine mucopolysaccharidosis type IIID by real-time polymerase chain reaction-based genotyping. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22: 622-627.
- Dunn, I. C., G. McEwan, T. Okhubo, P. J. Sharp, I. R. Paton, and D. W. Burt. 1998. Genetic mapping of the chicken prolactin receptor gene: a candidate gene for the control of broodiness. *Br. Poult. Sci.* 39: S1, 23-24.
- Jiang, R. S., G. Y. Xu, X. Q. Zhang, and N. Yang. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poult. Sci.* 84: 839-845.
- Konstantinos, K. V., P. Panagiotis, V. T. Antonios, P. Agelos, and N. V. Argiris. 2008. PCR-SSCP: a method for the molecular analysis of genetic diseases. *Mol. Biotechnol.* 38: 155-163.
- Lei, M., C. Luo, X. Peng, M. Fang, Q. Nie, D. Zhang, G. Yang, and X. Zhang. 2007. Polymorphism of growth-correlated genes associated with fatness and muscle fiber traits in chickens. *Poult. Sci.* 86: 835-842.
- Li, J. J., L. Zhang, P. Ren, Y. Wang, L. Q. Yin, J. S. Ran, X. X. Zhang, and Y. P. Liu. 2020. Genotype frequency distributions of 28 SNP markers in two commercial lines and five Chinese native chicken populations. *BMC Genet.* 21: 12-22.
- Nair, S. K., R. Babu, C. Magorokosho, G. Mahuku, K. Semagn, Y. Beyene, B. Das, D. Makumbi, P. L. Kumar, M. Olsen, and P. M. Boddupalli. 2015. Fine mapping of *Msv1*, a major QTL for resistance to Maize Streak Virus leads to development of production markers for breeding pipelines. *Theor. Appl. Genet.* 128: 1839-1854.
- Qureshi, N., P. Kandiah, M. K. Gessese, V. Nsabiya, V. Wells, P. Babu, D. Wong, M. Hayden, H. Bariana, and U. Bansal. 2018. Development of co-dominant KASP markers co-segregating with Ug99 effective stem rust resistance gene Sr26 in wheat. *Mol. Breed.* 38: 97.
- Rasheed, A., W. Wen, F. M. Gao, S. N. Zhai, H. Jin, J. D. Liu, Q. Guo, Y. J. Zhang, S. Dreisigacker, X. C. Xia, and Z. G. He. 2016. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 129: 1843-1860.
- Rashidi, H., G. Rahimi-Mianji, A. Farhadi, and M. Gholizadeh. 2012. Short Communication: Association of prolactin and prolactin receptor gene polymorphisms with economic traits in breeder hens of indigenous chickens of Mazandaran province. *Iran. J. Biotechnol.* 10: 129-135.
- Schröder, J., H. Schröder, S. J. Puglisi, R. Sinha, and B. Schmidt. 2009. SHREC: a short-read error correction method. *Bioinf.* 25: 2157-2163.
- Semagn, K., R. Babu, S. Hearne, and M. Olsen. 2013. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breeding* 33: 1-14.
- Shi, Z., S. Liu, J. Noe, P. Arelli, K. Meksem, and Z. Li. 2015. SNP identification and marker assay development or high-throughput selection of soybean cyst nematode resistance. *BMC Genomics* 16: 314.
- Suo, W., X. Shi, S. Xu, X. Li, and Y. Lin. 2020. Towards low cost, multiplex clinical genotyping: 4-fluorescent Kompetitive

- Allele-Specific PCR and its application on pharmacogenetics. PLOS ONE 15: e0230445.
- Tan, D. Y. and X. P. Peng. 2012. Progress in prolactin receptor research. Prog. Physiol. Sci. 43: 17-23.
- Tanaka, M., I. Yamamoto, Y. Hayashida, N. Nakao, T. Ohkubo, M. Wakita, and K. Nakashima. 2000. Two novel first exons in the prolactin receptor gene are transcribed in a tissue-specific and sexual maturation-dependent manner to encode multiple 5'-truncated transcripts in the testis of the chicken. Biochim. Biophys. Acta 1491: 279-284.
- Viale, E., E. Zanetti, D. Özdemir, C. Broccanello, A. Dalmaso, M. De Marchi, and M. Cassandro. 2017. Development and validation of a novel SNP panel for the genetic characterization of Italian chicken breeds by next-generation sequencing discovery and array genotyping. Poult. Sci. 96: 3858-3866.
- Vinh, N. T., N. T. P. Giang, N. V. Linh, P. K. Dang, N. X. Cahn, N. T. C. Giang, B. H. Doan, N. T. Anh, and N. H. Thinh. 2021. Single nucleotide polymorphisms of candidate genes related to egg production traits in Vietnamese indigenous chickens. Braz. J. Poult. Sci. 23: 72-80.
- Wang, X., H. Wang, and J. Wang. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. Nat. Genet. 43: 1035-1039.
- Yang, N. and R. S. Jiang. 2005. Recent advances in breeding for quality chickens. Worlds Poult. Sci. J. 61: 373-381.
- Ye, M. H., J. L. Chen, G. P. Zhao, M. Q. Zheng, and J. Wen. 2010. Associations of *A-FABP* and *H-FABP* markers with the content of intramuscular fat in Beijing-You chicken. Anim. Biotechnol. 21: 14-24.
- Yin, L. Q., J. S. Ran, J. J. Li, P. Ren, X. X. Zhang, and Y. P. Liu. 2019. Genetic regulation of broodiness in poultry. Yi Chuan 41: 391-403.
- Zhang, B., H. Tanaka, and K. Sakua. 2004. Simple and rapid detection of uncoupling protein-2 866G/A polymorphism by mutagenically separated polymerase chain reaction. Clin. Chim. Acta 344: 205-210.
- Zhang, J., C. Nie, X. Li, Z. Ning, Y. Chen, Y. Jia, J. Han, L. Wang, X. Lv, W. Yang, and L. Qu. 2020. Genome-wide population genetic analysis of commercial, indigenous, game, and wild chickens using 600K SNP microarray data. Front. Genet. 11: 54329433.

The development of genotyping platform on *PRLR* gene in indigenous chicken by kompetitive allele specific PCR ⁽¹⁾

Chai-Te Chu ⁽²⁾ Der-Yuh Lin ⁽²⁾⁽⁸⁾ Yung-Yu Lai ⁽²⁾ Hsiao-Mei Liang ⁽⁴⁾ Shen-Shyuan Yang ⁽⁵⁾
Tsung-Lin Liu ⁽⁷⁾ Hsiu-Luan Chang ⁽⁶⁾ Ming-Che Wu ⁽³⁾ and Jen-Wen Shiau ⁽²⁾

Received: Jun. 22, 2021; Accepted: Mar. 30, 2022

Abstract

Broodiness is one of the reproductive physiological reactions of poultry due to natural selection and evolution, which involves genetics and environmental factors. Therefore, this behavior tends to result in a 10% decrease of the average annual egg production due to the degeneration of the ovary and reproductive tract. The prolactin receptor gene is significantly related to the broodiness in chickens. The objective of this study is to optimize a fluorescent primer-labeled KASP (kompetitive allele specific polymerase chain reaction) genotyping platform for SNP detection in prolactin receptor gene using six chicken breeds, including TLKT-07, TLKT-09, TLKT-11, TLKT-12, Hualien LRI, and Fighting Chicken. A total of 90 chickens were genotyped. Results with KASP, polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) and DNA sequencing analysis showed complete consistence, implying that the three techniques can be substituted with each other. However, KASP method not only showed a high accuracy as others, but also had the advantage of high efficiency for the process of identifying the genotype, and thereby is recommended as the SNP genotyping platform at a specific locus for breeding chicken.

Key words: Taiwan country chicken, Broodiness, Prolactin receptor gene, Kompetitive allele specific PCR.

(1) Contribution No. 2700 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

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

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

(7) Department of Biotechnology and Bioindustry Sciences, National Cheng Kung University, Tainan 70101, Taiwan, R. O. C.

(8) Corresponding author, E-mail: lin0429@mail.tlri.gov.tw.

有效益芻料作物甜高粱及燕麥之生產 II. 地區輪作模式之產量及品質評估⁽¹⁾

陳勃聿⁽²⁾ 張世融⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：110 年 2 月 2 日；接受日期：111 年 3 月 30 日

摘 要

本試驗的目的為評估我國各地芻料作物輪作模式之甜高粱及燕麥的產量及芻料品質。輪作模式分別為彰化縣福興鄉之 A. 水稻 (*Oryza sativa* L.) – 甜高粱 (*Sorghum bicolor*) – 早熟燕麥 (*Avena strigosa* Schreb.)、B. 綠肥大豆 (*Glycine max* L.) – 甜高粱 – 晚熟燕麥 (*Avena sativa* L.)；臺南市鹽水區之 C. 甜高粱 – 綠肥大豆 – 青割玉米 (*Zea mays* L.)、D. 綠肥大豆 – 甜高粱 – 晚熟燕麥；臺東縣鹿野鄉之 E. 綠肥大豆 – 水稻 – 早熟燕麥及 F. 綠肥大豆 – 甜高粱 – 晚熟燕麥。二年三個地區 5 模式的甜高粱於 90 日生育期收穫時，平均乾物產量達 12.8 mt/ha，水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrate, WSC) 平均含量為 13.2% DM，粗蛋白質 (crude protein, CP) 平均含量為 7.1%，中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 及酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 的平均含量分別為 53.9 及 30.3%。模式 A、B、C 及 D 的甜高粱鮮草平均產量介於 51.7 – 60.8 mt/ha，顯著高於模式 F 的 29.7 mt/ha ($P < 0.05$)。各模式之間甜高粱的 WSC、NDF 及 ADF 含量無差異。結果顯示甜高粱的產量高且芻料品質穩定，適合作為夏季芻料。晚熟燕麥 (var. Swan) 於 120 日收穫時的乾草產量平均為 8.9 mt/ha，CP 平均含量為 8.8%，而 NDF 及 ADF 之平均含量分別為 60.3 及 34.9%。模式 B 及 D 的乾草產量 (8.9 及 9.2 mt/ha) 高於模式 F (7.8 mt/ha)。燕麥 Swan 的 CP 含量以模式 B、F (9.3、9.4%) 顯著高於模式 D (7.7%)，而 NDF 及 ADF 含量於各模式之間並無差異。結果顯示燕麥 Swan 的產量表現佳，芻料品質穩定，適合作為臺灣冬季芻料作物。早熟燕麥 (var. Saia) 在 75 日收穫時的平均乾草產量為 4.6 mt/ha，CP 平均含量達 13.3%，而 NDF 及 ADF 的平均含量則分別為 56.2 及 34.2%。雖然早熟燕麥 Saia 的乾草產量較燕麥 Swan 為低，但其芻料品質優異，可作為高品質的冬季牧草。芻料作物甜高粱及燕麥 Swan 在各地區不同的輪作模式之下，其產量及品質皆適合作為優良的短期芻料作物。

關鍵詞：燕麥、甜高粱、芻料產量、芻料品質、生產模式。

緒 言

國內草食動物產業對進口乾草的依賴很深，近年更高達 27 萬公噸 (財政部關務署，2019)，然 2000 年之後國際石化能源價格倍漲，出現糧食、飼料作物大量轉作高經濟價值的能源作物，導致芻料供應量緊縮。近幾年中東地區及中國大陸因境內畜牧業成長，對乾草需求大增使得進口量高速增長。在這些情況之下，國際芻料市場貨源極度不穩且價格持續高升，對我國酪農業發展造成嚴重壓力。因此，國內能否自行生產價廉、質優的芻料，關係到草食動物產業的穩定發展。我國近年推動小地主大專業農及活化休耕地等政策，輔導農民轉作青割玉米 (*Zea mays* L.) 等短期芻料作物，目前耕作面積已達 7,800 餘公頃，而生產量也達 375,273 公噸 (行政院農業委員會，2019)，但還是無法滿足國內對於優質芻料所需。為解決國產優質芻料缺乏的問題，盤點國內現有農業資源並妥善利用供作芻料生產，除可健全國內優質芻料生產體系，也可提升國內牧草供給量，提高芻料自給率，並發揮替代進口功能，降低草食動物生產成本。

燕麥屬作物 (*Avena* spp.) 適合生長於冷涼濕潤的氣候環境，主要生產區位於溫帶地區，臺灣的冬季適合其生長。燕麥在溫帶地區已經普遍收穫調製成乾草，其粗蛋白質含量及纖維含量等芻料品質均高於多年生的百慕達草 (*Cynodon dactylon* L. Pers.)，並可部分取代飼糧配方的玉米青貯料，是一種傳統的飼料作物 (Coblentz *et al.*, 2013)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2701 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: srchang@mail.tlri.gov.tw。

國內學者曾普查多個燕麥 (*Avena sativa* L.) 品種的農藝性狀與芻料品質，發現非常適合秋冬季栽培，不過目前國內僅中北部地區零星種植 (朱等，2018；施及李，2020)。

臺灣夏季多颱風災害，而高粱屬作物是一種具有耐旱、耐澇、分蘗多、產量高且再生能力強的作物，能在無灌溉設施、缺水或土壤貧瘠的地區進行芻料栽培生產，即使在粗放管理下，亦能生長良好，在許多畜牧業發達的國家已成為普遍利用的芻料 (陳等，2017；Bean *et al.*, 2013)。行政院農業委員會畜產試驗所於 2009 年選育出適口性及青貯品質優良的甜高粱 (*Sorghum bicolor*) 臺畜 1 號，此品種適應性廣，產量高，而且植體的水溶性碳水化合物含量很高，適合我國春、夏及秋作栽培，可與冬季青割玉米銜接，提供穩定優質芻料 (陳等，2017)。

臺灣的主要酪農區位於彰化縣、雲林縣、臺南市及屏東縣，而東部地區的酪農區亦有其特色。因各酪農區的氣候特性不同，所以各地區的牧草栽培技術、產業型態及芻料需求也不盡相同。吳及連 (2004) 指出，若依照地域、氣候及相關條件進行種植，通常可有效提高作物的生產量，改善土地利用效率，增加農家收益。善用當地資源，建立各地區可行的輪作生產模式以提高芻料產量，將有助於形成「地產地銷」的區域循環，增加農民收益，並降低酪農的成本壓力。本研究擬就彰化縣福興鄉、臺南市鹽水區及臺東縣鹿野鄉等三個地區的芻料作物輪作模式進行甜高粱及燕麥之芻料產量及芻料品質評估，以提供農民生產之參考。

材料與方法

I. 各地區芻料作物輪作模式

本試驗分別在彰化縣福興鄉、臺南市鹽水區及臺東縣鹿野鄉等三個地區進行。各地區芻料作物輪作生產模式參考陳及張 (2021) 建議，詳列於表 1。各模式各期作栽培作業時間與氣象資料詳列於表 2 及圖 1。各地區輪作生產模式的第 1 年度 (1st year) 期間為 2017 年 7 月至 2018 年 6 月，第 2 年度 (2nd year) 為 2018 年 7 月至 2019 年 6 月。

表 1. 臺灣三地區的芻料作物輪作模式

Table 1. The different modes of crop rotation for forage production in different locations in Taiwan

Location	Crop rotation mode	Growing period (day)			
		Spring	Fall	Second	Total
Changhua	A. Rice-Sweet sorghum-Oat 'Saia'	120	90	75	285
	B. Soybean-Sweet sorghum-Oat 'Swan'	80	90	120	290
Tainan	C. Sweet sorghum-Soybean-Forage corn	90	80	120	290
	D. Soybean-Sweet sorghum-Oat 'Swan'	80	90	120	290
Taitung	E. Soybean-Rice-Oat 'Saia'	80	120	75	275
	F. Soybean-Sweet sorghum-Oat 'Swan'	80	90	120	290

II. 試驗材料

本試驗的品種 (系) 分別為甜高粱臺畜 1 號，早熟燕麥 (*Avena strigosa* Schreb) Saia、燕麥 Swan，綠肥大豆臺南 4 號，福興鄉第 1 年種植的水稻品種為臺中 194 號、第 2 年為臺中秈糯 2 號，鹿野鄉種植的水稻品種二年皆為臺東 33 號，鹽水區種植的青割玉米品種為明豐 3 號。水稻及青割玉米由農民自行選擇品種、種植方式及收穫時間。

III. 試驗方法

- 田間設計：三地區的試驗面積皆為 1,000 m²，每試區以完全隨機設計 (completely randomized design, CRD)。播種方式及播種量分別為：燕麥 (撒播，種子量 120 kg/ha)，甜高粱 (條播，行距 75 cm，株距 10 cm)，綠肥大豆 (撒播，種子量 25 kg/ha)。每期作施肥量分別為 N：120 kg/ha、P₂O₅：30 kg/ha、K₂O：60 kg/ha，而綠肥大豆種植時不施肥。
- 試驗調查：燕麥分為 8 區，每區取樣 1 m²，早熟燕麥 Saia 於種植 75 日取樣調查，晚熟燕麥 Swan 則在 120 日。甜高粱分為 4 區，每區取樣 3.75 m²，於種植後 90 日調查。調查項目包括株高、鮮重等農藝性狀，樣品以 65℃ 烘乾 96 小時後，調查乾重、乾物率及葉莖乾物比，並取樣進行化學成分分析。

表 2. 各地區肥料作物輪作模式之栽培作業時間表

Table 2. The cultivation schedule of every rotation production modes in different locations from July 2017 to June 2019

		2017												2018												2019					
Month ¹		7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6						
Model		E ² L ² E L E L E L E L E L E L E L E L E L E L E L																													
A ³			sweet sorghum				oat 'Saia'				rice						sweet sorghum			oat 'Saia'				rice							
B			sweet sorghum				oat 'Swan'						soybean				sweet sorghum			oat 'Swan'				soybean							
C			soybean				forage corn						sweet sorghum				soybean			forage corn				sweet sorghum							
D			sweet sorghum				oat 'Swan'						soybean				sweet sorghum			oat 'Swan'				soybean							
E			rice				oat 'Saia'					soybean				rice			oat 'Saia'				soybean								
F			sweet sorghum				oat 'Swan'					soybean				sweet sorghum			oat 'Swan'				soybean								

¹ From July 2017 to June 2019.
² E: early of month; L: late of month.
³ Different forage cropping systems at different locations, as shown in Table 1.

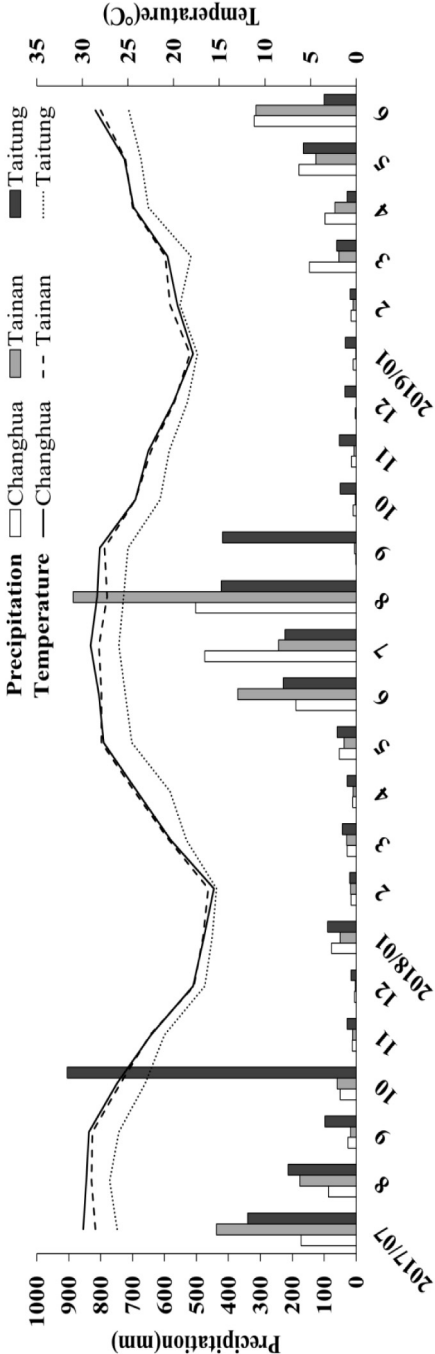


圖 1. 2017 年 7 月至 2019 年 6 月各地區的月平均溫度與月雨量圖。
Fig. 1. Monthly averaged temperatures and total precipitation of different locations from July 2017 to June 2019.

- (iii) 化學成分分析：以 Kjeldahl 方法測定植體全氮量 (Bremner and Mulvaney, 1982)，再將 $N \times 6.25$ 即得粗蛋白質含量。ADF 及 NDF 含量參照 Goering and Van Soest (1970) 所提方法測定；水溶性碳水化合物含量測定以 80% 酒精萃取樣品乾粉，混合萃取液並除去酒精後定量，依蒽酮 (anthrone) 呈色法測定 (Morris, 1948)。
- (iv) 統計分析：本試驗之設計為裂區設計 (split-plot design)，以年度為主區，不同模式為次區。試驗資料以 SAS-EG 7.1 統計軟體進行統計分析 (SAS, 2014)，先進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，若變方分析達顯著差異，再以最小顯著差異性 (least significant difference test, LSD) 測驗比較處理組間的差異，以 $P < 0.05$ 為顯著差異水準。

結果與討論

I. 甜高粱產量及品質評估

甜高粱在三個地區第 1 年度的平均鮮重產量為 54.0 mt/ha ($n = 20$) 與第 2 年度的 48.5 mt/ha 之間無顯著差異，而其平均乾物產量部分則以第 1 年度 (15.2 mt/ha) 顯著 ($P < 0.05$) 高於第 2 年度 (10.4 mt/ha) (表 3)。而平均乾物率也有相同趨勢，以第 1 年度的 28.3%，顯著高於第 2 年度的 21.3%。賴及王 (1989) 指出春作高粱因雨水充沛，導致日照不足減少葉片光合作用時間而影響高粱產量。根據試驗期間 (2017 年 7 月至 2019 年 6 月) 各地區的月平均溫度與月雨量圖 (圖 1)：第 1 年度 7 – 11 月的平均溫度為 26.3°C，略高於第 2 年度的 25.3°C，雨量則以第 2 年度的 220.7 mm 高於第 1 年度的 175.3 mm。雖然第 1 年的總雨量較少，但降雨量較為平均，而第 2 年度雖有較充沛的雨量，但都集中於 7 – 8 月之間。短期雨量過多時，會造成甜高粱生育期的日照時數較為不足。

表 3. 甜高粱在不同地區二年度的農藝性狀

Table 3. The averaged agronomic characteristics of sweet sorghum grown at different locations in 1st and 2nd year

Year	PH ¹	FWY	DMY	DMR	LSR
	cm	----- mt/ha -----		%	
1 st	276 ± 27.5 ^b	54.0 ± 9.1	15.2 ± 3.1 ^a	28.3 ± 3.7 ^a	0.23 ± 0.03 ^a
2 nd	300 ± 6.5 ^a	48.5 ± 3.1	10.4 ± 1.0 ^b	21.3 ± 1.9 ^b	0.17 ± 0.01 ^b
mean	288.1 ± 13.9	51.3 ± 4.6	12.8 ± 1.7	24.8 ± 2.3	0.20 ± 1.02

¹ PH: plant height, FWY: fresh weight yield, DMY: dry matter yield, DMR: dry matter percent, LSR: leaf/ stem.

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

Mean ± SEM (standard error of the mean).

甜高粱在三個地區第 1 年度的平均 CP 含量為 8.2% ($n = 20$)，顯著高於第 2 年度的 6.1% ($P < 0.05$)；第 2 年度的平均 WSC 含量為 14.9%，高於第 1 年度的 11.5%；平均 NDF 含量以第 1 年度的 57.3% 顯著高於第 2 年度的 50.5%，而平均 ADF 含量也有相同趨勢，以第 1 年的 30.9% 顯著高於第 2 年的 29.7% (表 4)。陳等 (2021) 指出飼養價值在年度間有不同，不同品種亦有別，不易歸納出品質成分的預測，但大致隨成熟度呈現一致的關係。

表 4. 甜高粱在不同地區二年度的芻料品質

Table 4. The averaged chemical components of sweet sorghum grown at different locations in 1st and 2nd year

Year	CP ¹	NDF	ADF	WSC	LSR
			----- %DM -----		
1 st	8.2 ± 1.0 ^a	57.3 ± 1.7 ^a	30.9 ± 2.9 ^a	11.5 ± 1.7 ^b	0.23 ± 0.03 ^a
2 nd	6.1 ± 0.1 ^b	50.5 ± 2.0 ^b	29.7 ± 2.7 ^b	14.9 ± 1.6 ^a	0.17 ± 0.01 ^b
mean	7.1 ± 0.6	53.9 ± 1.6	30.3 ± 0.8	13.2 ± 1.2	0.20 ± 1.02

¹ CP: crude protein, ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrate.

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

Mean ± SEM (standard error of the mean).

甜高粱臺畜 1 號在三個地區經過二年輪作種植，其 90 日收穫時的平均鮮重產量達每公頃 51.3 mt (表 3)，而收穫時 WSC 的平均含量達 13.2% DM (表 4)，有利於甜高粱之青貯調製 (陳等，2017)。再者，甜高粱的平均 CP 含量為 7.1%，而 NDF 及 ADF 的平均含量分別為 53.9 及 30.3%，均顯示甜高粱的芻料品質並不遜色於青割玉米 (陳等，2007)。甜高粱是一種耐旱、耐瘠、生長快速、適應性廣、管理方便的作物 (邱及胡，1984)，且甜高粱臺畜 1 號具有耐災、生育期短、病蟲害少等優點 (陳等，2017)，然而試驗結果顯示甜高粱之芻料產量及芻料品質仍深受氣候影響。因此，如何透過栽培技術及調整收穫適期使氣候干擾程度降低，以穩定生產芻料甜高粱，將是未來的重要研究課題。

在主要作物各輪作模式之中，僅模式 E 無規劃甜高粱生產。由二年輪作結果 (圖 2) 得知，模式 A 及 C 的甜高粱平均鮮重及乾物產量之間並無差異，然而在平均乾物率則以模式 A 的 25% ($n = 8$) 顯著高於模式 C 的 22.5% ($P < 0.05$)。模式 C 中甜高粱的鮮重產量高但乾物產量卻偏低，因為其乾物率較低，原因與模式 C 的甜高粱為春作種植，而模式 A 的為秋作有關。陳 (2019) 指出甜高粱臺畜 1 號的春作產量會優於秋作，黃及黃 (2010) 則認為夏季日照較長，甜高粱生長期因而相對延長，故產量也會較高。本試驗中甜高粱在各輪作模式不分期作的收穫時間皆定為 90 日 (DAP90)，但是春作因氣候環境較佳使得甜高粱的生育時間會較為延長，因此可能在未達到合適的收穫期即進行收割，故甜高粱的含水率較高而乾物率較低。因此，春作的甜高粱延後收穫可能為較佳選擇，除可增加乾物產量，亦可降低含水率，以提高酪農戶購買意願。

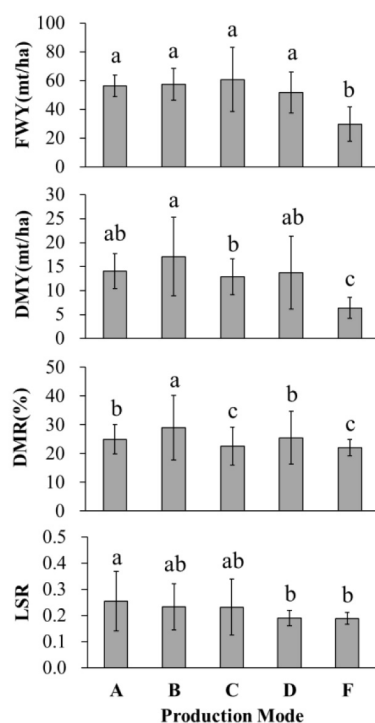


圖 2. 不同芻料輪作模式下甜高粱 (90 日) 在各地區輪作二年的農藝性狀。

Fig. 2. At different locations the averaged agronomic characteristics of sweet sorghum (90 days) grown with different rotation production modes in two years.

FWY: fresh weight yield; DMY: dry matter yield; DMR: dry matter percent; LSR: leaf/ stem.

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

Bar: standard deviation.

在專門以生產芻料為主要目的之輪作系統中，模式 B 及 D 甜高粱的鮮重產量分別為 57.6 及 51.7 mt/ha ($n = 8$)，皆顯著 ($P < 0.05$) 高於模式 F 的 29.8 mt/ha (圖 2)；在乾物產量部分也有相同趨勢，亦皆以模式 B 及 D (分別為 17.1 及 13.7 mt/ha) 高於模式 F (6.4 mt/ha)。模式 F 的甜高粱產量明顯低於其他模式，原因可能與臺東縣秋作的日照時數較其他地區短有關 (交通部中央氣象局，1991 — 2020)。甜高粱葉片的光合作用時間較其他地區為少，致使其產量較低。

彰化縣福興地區模式 A 及 B 之間的甜高粱鮮重及乾物產量並無差異 (圖 2)，然而在乾物率部分則以專門生產芻料為主要目的之模式 B 顯著較高，顯示不同的輪作模式還是會對甜高粱的生長造成部分影響。而鹽水地區 (模式 C 及 D) 雖然也有相同趨勢，但甜高粱生長狀況的不同應導因於期作之間的差異。

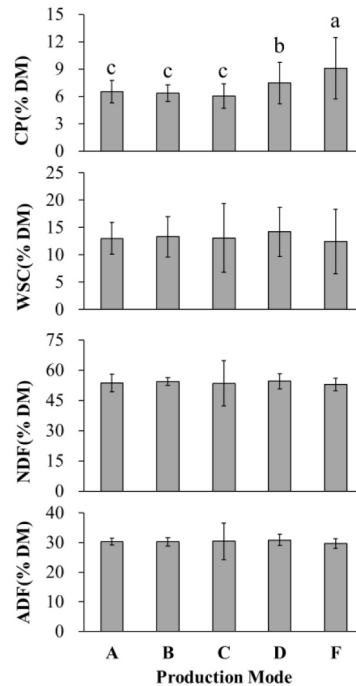


圖 3. 不同芻料輪作模式下甜高粱 (90 日) 在各地區輪作二年的芻料品質。

Fig. 3. At different locations the averaged forage quality of sweet sorghum (90 days) at different rotation production modes in two years.

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

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

Bar: standard deviation.

甜高粱在不同地區的 NDF 含量介於 53.0 – 54.6% (圖 3)，而 ADF 含量介於 29.7 – 30.8%，芻料品質優良，且 WSC 含量達 12.4 – 14.2%，易於製作青貯料。甜高粱在各地區的 NDF、ADF 及 WSC 含量並無差異，芻料品質相當穩定，不受地區輪作模式之影響。

臺灣夏季農業生產過程常遭遇颱風災害的侵襲而造成鉅額損失，不僅農民收入降低，也因供應量減少進而影響芻料的穩定供應。張及廖 (2019) 指出夏季多雨期間，栽培芻料高粱可替代青割玉米，穩定供應夏季芻料。臺南市鹽水地區為臺灣青割玉米的主要生產地之一，而一期作的甜高粱 (模式 C) 產量高，若銜接冬季青割玉米，將可促進國產優質青貯料之穩定供應。甜高粱在三個地區經過二年的二期作 (模式 A、B、D 及 F) 種植，除臺東縣鹿野地區因受環境影響產量較低外，種植期間並無發生歉收的情形且產量穩定。因此，甜高粱的耐災特性適合在颱風頻繁的夏季種植。

II. 燕麥產量及品質評估

燕麥為冬季芻料作物，在臺灣最適生長季節是裡作，因此本試驗三個地區的種植日期在每年的 11 或 12 月，而收穫期則因品種不同在隔年的 1 – 3 月 (表 2)。本試驗三個地區的冬季溫度與雨量變化如圖 1 所示，皆以 11 月的溫度最高而後隨之下降，此與溫帶地區秋播燕麥的生長氣候相似。三個地區的冬季 (11 月至隔年 3 月) 平均溫度為 19.0°C (圖 1)，而平均雨量為 151.3 mm，環境適合燕麥生長。

由在三個地區二年的輪作種植結果得知 (表 5)，燕麥 Swan 第 1 年 ($n = 24$) 鮮草的平均產量為 43.6 mt/ha，顯著高於第 2 年的 35.6 mt/ha ($P < 0.05$)；而乾草的平均產量也有相同結果，以第 1 年的 10.5 mt/ha 高於第 2 年的 7.3 mt/ha。比對氣候資料 (圖 1) 可發現，第 1 年燕麥 Swan 營養生長期 (11 – 1 月) 的累積雨量 (97.2 mm) 高於第 2 年 (52.2 mm)，充足的雨量可幫助燕麥在生育初期有良好的生長環境。此外，第 2 年燕麥 Swan 生長生長期 (2 – 3 月) 的平均溫度為 19.8°C，高於第 1 年的 17.6°C，不過，生育後期的高溫使得燕麥 Swan 感染銹病而影響到產量表現。

在芻料品質方面，燕麥 Swan 的平均 NDF 及 ADF 含量在二個年度之間並無差異 (表 6)，但平均 CP 含量部分則以第 2 年度的 9.6% 顯著高於第 1 年度的 8.0% ($P < 0.05$)。此與第 2 年燕麥 Swan 在度有較高的葉莖比 (0.44) 有關 (表 5)。施及李 (2020) 在苗栗縣及桃園市進行燕麥 Swan 生產試驗，乾草產量介於 7.7 – 12.4 mt/ha。因北部地區冬季多雨且溫度較低，而本試驗三個地區的冬季平均雨量明顯較低，導致燕麥 Swan 的產量及芻料品質均

較北部地區為差。

表 5. 燕麥在不同地區二年度的農藝性狀

Table 5. The averaged agronomic characteristics of oats grown at different locations in 1st and 2nd years

Variety	Year	PH ¹	FWY	DMY	DMR	LSR
		cm	----- mt/ha -----		%	
Swan	1 st	136.1 ± 6.6 ^a	43.6 ± 6.1 ^a	10.5 ± 0.8 ^a	24.2 ± 1.8 ^a	0.35 ± 0.07 ^b
	2 nd	123.4 ± 6.8 ^b	35.6 ± 2.9 ^b	7.3 ± 0.3 ^b	20.7 ± 3.7 ^b	0.44 ± 0.05 ^a
	mean	129.8 ± 5.1	39.6 ± 3.5	8.9 ± 0.8	22.5 ± 1.8	0.40 ± 0.05
Saia	1 st	77.1 ± 3.0 ^b	34.2 ± 2.7	3.8 ± 0.2 ^b	11.1 ± 0.3 ^b	0.72 ± 0.04
	2 nd	95.6 ± 2.3 ^a	35.4 ± 2.1	5.4 ± 0.2 ^a	15.3 ± 0.5 ^a	0.81 ± 0.04
	mean	86.3 ± 2.5	34.8 ± 1.7	4.6 ± 0.2	13.2 ± 0.5	0.77 ± 0.03

¹ PH: plant height, FWY: fresh weight yield, DMY: dry matter yield, DMR: dry matter percent, LSR: leaf/stem.

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

Mean ± SEM (standard error of the mean).

表 6. 燕麥在不同地區二年度的芻料品質

Table 6. The averaged chemical components of oats grown at different locations in 1st and 2nd years

Variety	Year	CP ¹	NDF	ADF	WSC
		----- %DM -----			
Swan	1 st	8.0 ± 1.5 ^b	59.7 ± 1.9	35.0 ± 1.0	4.0 ± 0.8 ^a
	2 nd	9.6 ± 0.6 ^a	60.9 ± 1.4	34.9 ± 1.7	3.1 ± 0.5 ^b
	mean	8.8 ± 0.82	60.3 ± 1.12	34.9 ± 0.91	3.6 ± 0.5
Saia	1 st	13.9 ± 0.3 ^a	52.1 ± 0.8 ^b	32.1 ± 0.6 ^b	3.2 ± 0.5 ^a
	2 nd	12.7 ± 0.4 ^b	60.3 ± 1.0 ^a	36.3 ± 0.7 ^a	2.4 ± 0.1 ^b
	mean	13.3 ± 0.2	56.2 ± 0.9	34.2 ± 0.6	2.8 ± 0.2

¹ CP: crude protein, ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrate.

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

Mean ± SEM (standard error of the mean).

模式 B、D、F 是以大量生產芻料為主要目的，因此規劃燕麥晚熟品種 Swan 作為冬季作物。燕麥 Swan 在模式 B 及 D 的平均鮮草產量分別為 41.7 及 44.7 mt/ha ($n = 16$)，皆顯著高於模式 F 的 32.3 mt/ha ($P < 0.05$) (圖 4)；在平均乾草產量也有相同的趨勢，以模式 B 及 D (8.9 及 9.2 mt/ha) 高於模式 F (7.8 mt/ha)。國外報告指出溫度與日照會影響燕麥初期的生長狀況及光合作用 (Martini *et al.*, 2009)，而臺東縣的冬季氣溫低於其他地區 (圖 1)，且花東縱谷地區的冬季日照時數短 (交通部中央氣象局，1991 – 2020)，因此最終影響燕麥 Swan 的產量表現。

在芻料品質部分 (圖 5)，燕麥 Swan 在 3 個模式的 NDF 及 ADF 平均含量皆無差異存在，而在 CP 含量部分則以模式 B 及 F (9.3 及 9.4%) 顯著高於模式 D (7.7%) ($P < 0.05$)。不同模式的 CP 含量有差異的原因與施及李 (2020) 的結果相似，因為大面積的田間栽培試驗，燕麥穀粒成熟的不一致性，有些穀粒掉落或是正在發育，導致生育期間的粗蛋白質含量呈現不規則變動。綜合上述，燕麥 Swan 在彰化縣及臺南市的表現優於臺東縣。

美國北部秋季的氣溫變化與臺灣裡作相似，Contreras-Govea and Albrecht (2006) 指出秋播燕麥因在生育後期時氣溫較為寒冷，使其產量較春播者為低，但芻料品質確較佳，因此在威斯康辛州的秋播燕麥乾物產量約為 6.8 mt/ha。Coblentz *et al.* (2011) 也在康州進行燕麥產量試驗，其中燕麥的晚熟品種最大產量為 8.1 mt/ha。因此，本試驗燕麥 Swan 的乾物產量並不遜色於國外。Contreras-Govea and Albrecht (2006) 分析不同燕麥品種的秋播收穫時的芻料品質，其 CP 含量介於 16.1 – 20.5%，而 NDF 及 ADF 含量則低於 55.4 及 31.3%，芻料品質相當優異。然而，該試驗在燕麥的營養生長期就進行收穫，而本試驗的燕麥 Swan 收穫時的生育期約是乳熟期後期至糊熟期中期，植株的成熟度較高。因此，燕麥 Swan 的 CP 含量會較國外為低，但 NDF 及 ADF 含量相似。由此可知燕麥 Swan 具有優良芻料產量及芻料品質，屬於優質的冬季芻料作物。

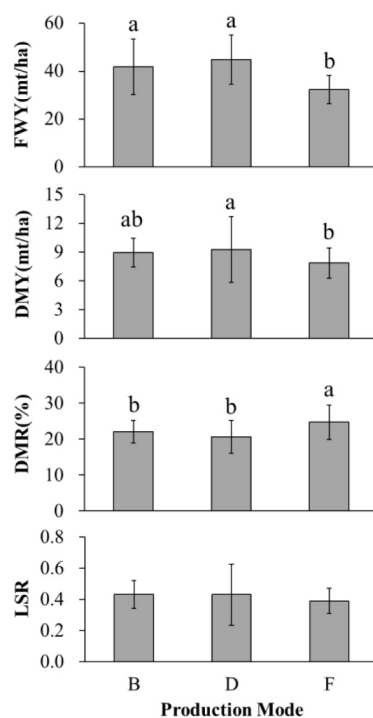


圖 4. 不同芻料輪作模式下燕麥 Swan (120 日) 在各地區輪作二年的農藝性狀。

Fig. 4. The averaged agronomic characteristics of oat 'Swan' (120 days) grown with different rotation production modes at different locations in two years.

FWY: fresh weight yield; DMY: dry matter yield, DMR: dry matter percent, LSR: leaf/ stem.

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

Bar: standard deviation.

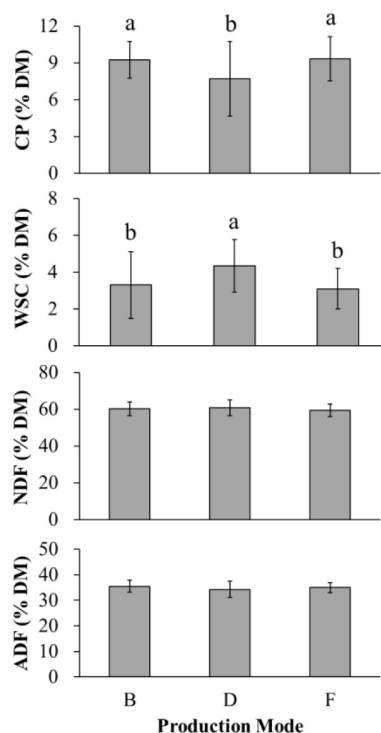


圖 5. 不同芻料輪作模式下燕麥 Swan(120 日) 在各地區輪作二年的芻料品質。

Fig. 5. The averaged forage quality of oat 'Swan' (120 days) at different rotation production modes at different locations in two years.

CP: crude protein, ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrate.

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

Bar: standard deviation.

臺南市鹽水地區的主要作物青割玉米種植時期為 10 月至翌年 2 月 (圖 1)，故無法規劃栽培燕麥。而在彰化縣福興地區與臺東縣鹿野地區為了避免影響主要作物種植及收穫時程，故在選擇冬季裡作芻料牧草品種時，以早熟的燕麥為優先 (陳及張，2021)。因此，模式 A、E 皆選擇僅 75 日即可收穫的早熟燕麥 Saia 作為冬季芻料作物。燕麥 Saia 經過二年在二個地區與主要作物進行輪作栽培後，平均鮮草產量為 34.8 mt/ha (表 5)，平均乾草產量為 4.6 mt/ha，平均 CP 含量達 13.3% (表 6)，而平均 NDF 及 ADF 含量則分別為 56.2 及 34.2%。相較朱等 (2018) 於屏東縣的試驗結果，燕麥 Saia 在產量及芻料品質均較為低，原因推測可能與播種日期有關，因為本試驗在二個地區的種植時間皆在 12 月上旬 (圖 1)，而朱等 (2018) 則在 11 月下旬種植。國外報告指出，相同品種的燕麥雖然有相同的收穫時間，但不同的播種期卻影響產量甚鉅 (Coblentz *et al.*, 2011)。

燕麥 Saia 第 2 年度的平均乾草產量為 5.4 mt/ha ($n = 16$) (表 5)，顯著高於第 1 年度的 3.8 mt/ha ($P < 0.05$)，然而第 1 年度收穫時乾物率才 11.1%，顯然尚未達到最佳收穫期。國外很多研究報告指出，在不同收穫期的燕麥乾物產量有顯著差異的表現 (Jacobs *et al.*, 2009; Coblentz *et al.*, 2013)。朱等 (2018) 指出燕麥 Saia 自孕穗期開始，會隨著收穫期越延遲，乾物率及乾物產量會越高，當乾物率達 45.5% 時，乾物產量可達 10.5 mt/ha，陳及張 (2021) 的研究中，燕麥 Saia 也表現相同的趨勢。本試驗燕麥 Saia 的收穫期定為 75 日，而結果顯示其尚未達到最佳的收穫期。因此，燕麥 Saia 的最適播種期及最佳收穫期尚需進一步研究，以提高其冬季牧草產量，達到最佳經濟效益。

燕麥 Saia 在模式 A 的平均鮮草產量為 42.0 mt/ha ($n = 8$)，顯著高於模式 E 的 27.6 mt/ha ($P < 0.05$) (圖 6)；乾草平均產量也呈相同現象，以模式 A 的 5.0 mt/ha 顯著高於模式 E 的 3.9 mt/ha。然而，燕麥 Saia 的乾物率則有不同表現：以模式 E 的乾物率為 14.3%，顯著高於模式 A 的 12.0%。芻料品質方面，燕麥 Saia 在 2 個模式之平均 CP、NDF 及 ADF 含量皆無差異 (圖 7)，僅平均 WSC 含量以模式 E 的 3.5% 顯著高於模式 A 的 2.1%，但二者都偏低。由上述結果得知，雖然燕麥 Saia 在不同地區的乾草產量有明顯差異存在，但 CP 含量都達 13% 以上，芻料品質表現穩定，顯示燕麥 Saia 確實是品質佳的冬季芻料作物。

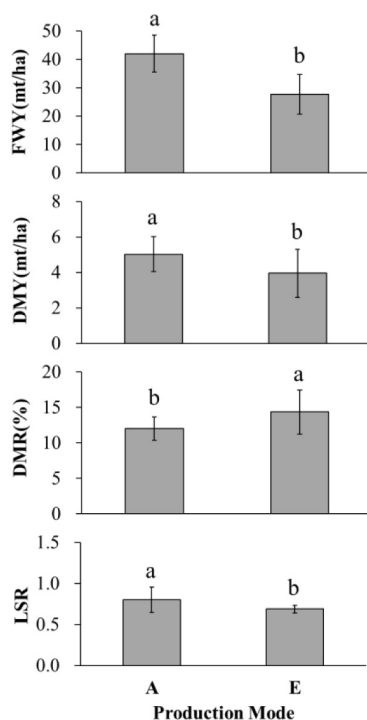


圖 6. 不同芻料輪作模式下燕麥 Saia (75 日) 在各地區輪作二年的農藝性狀平均值。

Fig. 6. The averaged agronomic characteristics of oat 'Saia' (75 days) grown with different rotation production modes at different locations in two years.

FW: fresh weight yield, DM: dry matter yield, DMR: dry matter percent, LSR: leaf/ stem.

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

Bar: standard deviation.

燕麥 Swam 的芻料產量高，但因莖稈較粗，於溫度較低的冬季較不易調製乾草保存；燕麥 Saia 的產量雖然較低，但因莖稈細而較易調製乾草。酪農戶都喜歡使用優質的芻料餵養牲畜，但是芻料產量的高低卻會直接影

響到草農的收益，最終影響農民參與輪作芻料作物的意願。因此，育成高產量及高品質，而且容易調製的芻料品種推薦給農民種植是芻料作物育種工作的首要目標。由本試驗二個參試的芻料燕麥品種的表現，建議未來我國的燕麥選育標的，除了須具有高產特性之外，且應著重芻料品質，更須考量乾草調製的容易程度，以鼓勵草農生產優質的芻料燕麥乾草，填補我國冬季經常發生的乾草不足之困境。

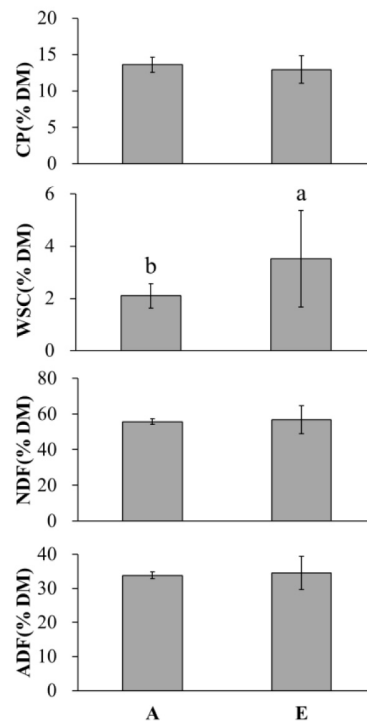


圖 7. 不同芻料輪作模式下燕麥 Saia(75 日) 在各地區輪作二年的芻料品質。

Fig. 7. The averaged forage quality of oat 'Saia' (75 days) at different rotation production modes at different locations in two years.

CP: crude protein, ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrate.

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

Bar: standard deviation.

評估三個地區甜高粱及燕麥的芻料產量及芻料品質，各種芻料作物的生產表現皆以彰化縣福興鄉及臺南市鹽水區優於臺東縣鹿野鄉，顯示西部的芻料生產環境優於東部。另一方面，雖然臺東縣鹿野鄉的芻料產量表現較差於西部，但其芻料品質的表現優良，並不遜於彰化地區及臺南地區，代表東部地區進行合適的輪作模式，也能夠生產優質芻料。

結 論

隨著時代的演進，酪農戶對飼養與芻料供應專業分工的觀念已經改變，再者，國內乳價的提高和乳量的供不應求，使得酪農戶對於國產芻料供應量以及芻料品質之要求愈增。本試驗所選擇的芻料作物甜高粱及燕麥在各地區不同的輪作模式之下生產芻料，其產量及品質皆達水準之上，是非常優良的短期芻料作物，搭配適地適種的地區性輪作模式，能夠有效益地生產國產芻料。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2019。農業統計年報。<https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 朱明宏、王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2018。黑燕麥在不同收穫期之芻料產量、品質及青貯調製研究。畜產研究 51：16-23。
- 邱善美、胡敏夫。1984。甜高粱品種秋植與宿根生育特性比較。中華農業研究 33：372-376。

- 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 50：8-12。
- 施意敏、李姿蓉。2020。臺灣北部地區芻料用燕麥生產與利用之研究。畜產研究 53：244-252。
- 財政部關務署。2019。海關進出口統計。未列名飼料用之植物產品。<https://portal.sw.nat.gov.tw>。
- 張敏郎、廖麗貞。2019。芻料高粱墾丁一號之育成。畜產研究 52：153-164。
- 陳勃聿、許進德、蕭素碧。2017。甜高粱臺畜一號之育成。畜產研究 50：37-44。
- 陳勃聿。2019。以栽培種高粱作為芻料生產之評估。畜產研究 52：37-44。
- 陳勃聿、張世融。2021。有效益芻料作物甜高粱及燕麥之生產 I. 地區輪作模式之建議。畜產研究 54：198-205。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰、劉信宏。2007。品種、種植期與收穫期對青割玉米產量與品質的影響。畜產研究 40：1-15。
- 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。
- 黃天民、黃俊杉。2010。甜高粱新品系採種測試。種苗科技專訊 70：8-12。
- 賴文龍、王錦堂。1989。臺中地區高粱適栽區調查研究與探討。臺中區農業改良場研究彙報 25：13-25。
- Bean, B. W., R. L. Baumhardt, F. T. McCollum III, and K. C. McCuiston. 2013. Comparison of sorghum classes for grain and forage yield and forage nutritive value. *Field Crops Res.* 142: 20-26.
- Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. pp. 610-613. In: *Method of Soil Analysis. Part 2.* 2nd edition. Page, A. L. (ed.) Am. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, USA.
- Coblentz, W. K., M. G. Bertram, and N. P. Martin. 2011. Planting date effects on fall forage production of oat cultivars in Wisconsin. *Agron. J.* 103: 145-155.
- Coblentz, W. K., S. E. Nellis, P. C. Hoffman, M. B. Hall, P. J. Weimer, N. M. Esser, and M. G. Bertram. 2013. Unique interrelationships between fiber composition, water-soluble carbohydrates, and in vitro gas production for fall-grown oat forages. *J. Dairy Sci.* 96: 7195-7209.
- Contreras-Govea, F. E. and K. A. Albrecht. 2006. Forage production and nutritive value of oat in autumn and early summer. *Crop Sci.* 46: 2382-2386.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Application). pp. 8-9. *Agric. Handbook No. 379.* ARS-USDA, Washington, DC., USA.
- Jacobs, J. L., J. Hill, and T. Jenkin. 2009. Effect of stage of growth and silage additives on whole crop cereal silage nutritive and fermentation characteristics. *Anim. Prod. Sci.* 49: 595-607.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. *Science.* 107: 254-255.
- SAS Institute. 2014. SAS User's Guide: Statistics, Version 13.2 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC. USA.

Profitable production of forage crops -sweet sorghum and oat

II. Evaluation of forage yield and quality with different crop rotation modes ⁽¹⁾

Po-Yu Chen ⁽²⁾ and Shyh-Rong Chang ^{(2) (3)}

Received: Feb. 2, 2021; Accepted: Mar. 30, 2022

Abstract

The objective of this experiment was to evaluate the forage yield and quality of sweet sorghum and oat grown with differed crop rotation modes in various regions in Taiwan. The 6 crop rotation modes were proposed as follows: Changhua region, A. Rice (*Oryza sativa* L.) - Sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) - Precocious Oat 'Saia' (*Avena strigosa* Schreb.) and B. Manure soybean (*Glycine max* L.) - Sweet sorghum - Late maturing Oat 'Swan' (*Avena sativa* L.); Tainan region, C. Sweet sorghum - Manure soybean - Silage corn (*Zea mays* L.) and D. Manure soybean - Sweet sorghum - Late maturing Oat 'Swan'; Taitung region, E. Manure soybean - Rice- Precocious Oat 'Saia' and F. Manure soybean - Sweet sorghum - Late maturing Oat 'Swan'. The averaged dry matter yield of sweet sorghum for 5 modes in the three regions was 12.8 mt /ha, while the averaged contents of water-soluble carbohydrate (WSC), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) at harvest were 13.2%, 7.1%, 53.9%, and 30.3%, respectively. The fresh yield of sweet sorghum in modes A, B, C and D, ranging from 51.7 to 60.8 mt /ha, were significantly higher than that of mode F, with 29.7 mt /ha ($P < 0.05$). There was no difference in the contents of WSC, NDF and ADF among the different modes. The results indicated that the forage yield and quality of sweet sorghum were quite good and stable, making it suitable as a summer forage crop. The dry matter yield of late-mature oat 'var. Swan' in average was 8.9 mt/ha, and the average contents of CP, NDF and ADF were 8.8%, 60.3% and 34.9%, respectively. The dry matter yields for oat 'Swan' of mode B and D (8.9 mt/ha and 9.2 mt/ha) were higher than that of mode F (7.8 mt/ha). The CP contents of oat 'Swan' in modes B and F (9.3, 9.4%) were significantly higher than that of mode D (7.7%). There was no difference in the contents of NDF and ADF among the different modes. The results above showed good forage yield and stable quality in oat 'Swan,' making it suitable as a winter forage crop in Taiwan. On the other hand, the dry matter yield of early oats 'var. Saia' in average was 4.6 mt/ha at harvest on the 75th day, and its average content of CP, NDF and ADF was 13.3%, 56.2% and 34.2%, respectively. Although the forage yield of oat 'Saia' was much lower than that of oat 'Swan', Saia may be used as a winter forage crop with high forage quality. It is suggested that both sweet sorghum and oat 'Swan' with high forage yield and quality might be suitable for profitable production of forage under different crop rotation modes in various regions in Taiwan.

Key words: Oat, Sweet sorghum, Forage yield, Forage quality, Production mode.

(1) Contribution No. 2701 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: srchang@mail.tlri.gov.tw.

消費者對於動物福祉友善豬肉之認知與願付價格分析⁽¹⁾

洪兮雯⁽²⁾ 李佳蓉⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：110 年 8 月 20 日；接受日期：111 年 4 月 8 日

摘 要

動物福祉是一個在全世界越來越受到關注的議題，想要促使更多生產者願意生產動物福祉友善的豬肉產品，需要消費者支持。本研究藉由問卷調查臺灣消費者基本資料、動物福祉認知、對於動物福祉政策面之期許、強制推行動物福祉會造成之影響、動物福祉友善豬肉願付價格與購買因素之資訊，探討臺灣消費者對於動物福祉友善豬肉之認知與願付價格的差異情形。研究統計 108 年度 270 份有效問卷，顯示大部分消費者自覺對於畜牧產品的生產及動物運送過程有一定程度的瞭解，但對於政府的政策方面認知較不足夠。有 64.6% 消費者對動物福祉友善豬肉之願付價格可提高 5 – 10%，而有 17% 的消費者其願付價格可超過 15%。在相關性方面，對政府的期許、動物福祉會造成之影響、購買因素與願付價格有顯著正相關。另外，本調查將受訪的消費者區分為「矛盾型」、「消極型」及「積極型」三類，積極型消費者對動物福祉友善豬肉產品具有最高的願付價格，該族群以 51 – 60 歲的人最多，重視動物福祉、食品安全及認證標章，對動物福祉概念有一定程度認知並且期許政府有所作為，故可選擇有這些特質之消費者，作為行銷動物福祉友善產品的目標對象。

關鍵詞：集群分析、問卷調查、友善飼養、豬隻。

緒 言

根據行政院農業委員會糧食供需年報顯示 (行政院農業委員會, 2020)，2011 年至 2017 年國人平均每人每年食用 34.94 – 37.56 公斤的豬肉，為占比第一位的食用肉類，且國人所食用的豬肉 85% 以上皆為國產豬肉，顯示豬肉在國人飲食當中佔據相當重要的地位。

動物福祉是一個在全世界越來越受到關注的議題，注重動物福祉不但是世界趨勢，也對畜牧生產造成直接的影響。根據歐盟 2016 年的調查報告指出 (European Commission, 2016)，大部分的歐盟民眾覺得改善農場動物福祉是一件重要的事。動物福祉最基本的觀念，就要希望動物享有「免受飢餓、營養不良的自由」、「免受恐懼的自由」、「表達天性的自由」、「免受痛苦及傷病的自由」及「免於因環境而承受痛苦的自由」這五大自由 (Farm Animal Welfare Council, 1992)。為了改善農場動物的福祉，各國已紛紛制定相關法律來確保此事，如歐盟於 2012 年開始禁止將雞隻飼養於巴達利籠 (battery cage) 中，臺灣也於民國 106 年公告「豬隻友善飼養系統定義及指南」(行政院農業委員會, 2017)，提供有志轉型為友善飼養的業者作為參考指引。由於動物福祉的範圍不僅止於農場的飼養，還涵蓋運輸過程以及屠宰端。目前農場端之動物福祉於新聞媒體的曝光率較高，較容易引起民眾關注，而對動物在活體運輸及送至屠宰場後所受的對待可能較少耳聞。消費者倘若瞭解生產至屠宰的過程，才能知道這些流程是否符合動物的福祉，有助於增加他們對動物福祉的認知，以致參與動物福祉之改善。

動物完善的照顧與人道管理，可以減少疾病發生、提升生產量並保障肉質，提升畜產品品質。已有許多研究證實，豬隻飼養在具有充足的空間及豐富性的環境下，豬隻生長較好 (Johnston *et al.*, 2017; Carpenter *et al.*, 2018; Tomažin *et al.*, 2019)，而且可以增加豬肉之多汁性 (Lebret, 2008)。誠然動物福祉對於動物的健康有所助益，但就現實層面而言，推動經濟動物福祉不能只顧及生產端，消費端的需求也是一大推力。消費者可以採取實際消費行動支持具動物福祉的畜產品，以表達其對動物福祉之關注，藉此影響生產者採用友善飼養之方式，生產具有較佳動物福祉的產品 (de Graaf *et al.*, 2016)，這些產品被稱為動物福祉友善產品 (animal welfare-friendly product)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2702 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(4) 通訊作者，E-mail: shisah1218@mail.tlri.gov.tw。

先前國內的研究指出，消費者對於動物福祉友善雞蛋接受程度很高，也表示願意花較高價格購買(周，2009)，且有研究指出消費者特定價值觀、態度都會影響其消費的行為(鄭及方，2016)。而國外研究指出，動物如果有在運輸途中遭受不良對待或者以非人道方式屠宰等福祉受損的情形，會降低消費者對農業食品產業的觀感(Miranda-de la Lama *et al.*, 2011)。因應消費者的需求與重視，動物福祉友善產品已經進入連鎖速食店體系，例如英國的漢堡王於官方網站公布其動物福祉策略，明白表示所使用的乳、肉、蛋產品皆來自符合歐盟動物福祉規範的農場，而英國的麥當勞亦於官方網站的食物來源專區表示，所使用的雞蛋與豬肉皆來自符合英國防止虐待動物協會(Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals, RSPCA)動物福祉規範的農場，顯示動物福祉已經逐漸轉變為產品的附加價值之一，形成市場區隔的要素。隨著國內家樂福賣場於2018年宣布設置動物福祉雞蛋專區之後，動物福祉友善產品能見度已有提升，越來越多動物福祉友善飼養的雞蛋出現在各個超市、量販店，代表消費者的購買偏好已經逐漸朝向這個方向邁進，未來市場勢必也將擴及動物福祉友善豬肉。

雖然國內已制定「豬隻友善飼養系統定義及指南」鼓勵養豬業者轉型友善飼養模式，但國內的消費者研究著重於國產生鮮豬肉的消費者行為(劉等，2012)、因素分析(呂，2010)、安全性(陳及吳，2021)及CAS標章(施，2019)等，針對動物福祉友善豬肉產品的研究則付之闕如。因此，本研究目的在於探討臺灣消費者對於動物福祉友善豬肉之認知與願付價格的差異情形，並運用集群分析探討願意購買動物福祉友善豬肉的消費者特徵，期望可作為業者規劃行銷策略及政府推動相關制度的參考資料。

材料與方法

I. 問卷發放對象及方法

本研究母群體為臺灣地區曾購買過豬肉的消費者，問卷採用便利抽樣方式(吳等，2014)進行調查，配合民眾使用習慣與場合採網路問卷與紙本問卷並行。紙本問卷於北、中、南部民眾聚會時發放，包含社團法人例行聚會、社區喜慶與活動等，參與民眾以40歲至70歲為主；網路問卷則於互聯網社團發放，包含職場群組、論文問卷互助社及BBS平臺，多數為年輕人填寫。取樣時間點為2019年4月1日至4月16日，共計回收問卷392份。經剔除漏填、選填答案過於集中以及前後問答有所矛盾的問卷，納入統計分析的有效問卷數量為270份，有效問卷率為70.7%。由於時間、金錢、人力及調查地點之限制，本次研究逢機抽樣結果有年齡層偏低且國中以下學歷比例偏低之情形，故無法完整推論至整個臺灣地區消費者對動物福祉友善豬肉之認知與願付價格。

II. 問卷設計

問卷分為「基本資料」、「對動物福祉友善豬肉之瞭解」、「對動物福祉改善策略之期許」、「動物福祉會造成之影響」、「動物福祉友善豬肉願付價格」以及「購買因素」共六個構面。

本研究的問卷量表係參考歐盟2016年調查報告(European Commission, 2016)進行設計，該調查報告係歐盟為了擬定一套簡化的動物福祉規則改善歐盟各國的動物飼養，亦為了改善執法情況，將消費者對動物福祉的認知、消費者對動物福祉改善策略的看法以及消費者對於動物福祉友善產品的購買意願等三個方向進行問卷調查。

Vonada *et al.* (2001)及Grunert *et al.* (2018)皆指出食品安全是消費者考量購買豬肉產品的因素，而Kehlbacher *et al.* (2012)研究指出消費者的願付價格會受到動物福祉標章影響，因而將食品安全與認證標章列入消費者購買因素之選項。

本研究將「對動物福祉友善豬肉之瞭解」、「對於動物福祉政策面之期許」、「動物福祉會造成之影響」作為探討消費者對動物福祉友善豬肉產品的認知因素，搭配「動物福祉友善豬肉願付價格」與「購買因素」設計本次問卷，並事先進行一次30人的預調，確認因素分析分類正確、並確認無共線性。問卷內容如下：

(i) 構面1：基本資料

1. 請問您的性別？(男、女)
2. 請問您的居住地區？(北部、中部、南部、東部)
3. 請問您的年齡？(30以下、31—40、41—50、51—60、60以上)
4. 請問您的教育程度？(國小以下、國中、高中職、大專院校、研究所以上)
5. 請問您的平均月收入？(30,000元以下、30,001—50,000元、50,001—70,000元、70,001—90,000元、

90,001 元以上)

(ii) 構面 2：對動物福祉友善豬肉之瞭解

1. 請問您是否同意您瞭解豬隻的飼養過程嗎？
2. 請問您是否同意您瞭解動物運送至屠宰場的方式嗎？
3. 請問您是否同意您瞭解我國經濟動物的動物福祉政策嗎？

(iii) 構面 3：對於動物福祉政策面之期許

1. 請問您同意政府應該在政策面為推動經濟動物福祉有更多作為嗎？
2. 請問您同意政府應該更積極的處理動物福祉問題嗎？
3. 請問您同意重視動物福利是人、動物與自然環境和諧共處的表現是進步社會的象徵嗎？
4. 請問您同意我國應強制推動動物福祉嗎？
5. 請問您同意我國應比照歐盟對於動物福祉之規定嗎？
6. 請問您同意若強制推動動物福祉可提升我國形象嗎？

(iv) 構面 4：動物福祉會造成之影響

1. 請問您同意若強制推動動物福祉，會對畜牧生產產生很大衝擊？
2. 請問您同意強制動物福祉生產方式，會大幅增加消費者負擔嗎？

(v) 構面 5：動物福祉友善豬肉願付價格

1. 國產生鮮豬肉價格因販售地區、季節、通路、部位不同而有不同，如果，無認證的國產生鮮豬肉價格以一臺斤 90 – 130 元 (平均 110 元) 不等來計算，我可以為「有動物福祉認證標章」的國產生鮮豬肉支付多少價格？

- (1) 還是買沒標章的產品 (願意多付 0%)
- (2) 95 – 137 元，平均 116 元 (願意多付 5%)
- (3) 99 – 143 元，平均 121 元 (願意多付 10%)
- (4) 104 – 150 元，平均 127 元 (願意多付 15%)
- (5) 108 – 156 元，平均 132 元 (願意多付 20%)
- (6) 113 – 163 元，平均 138 元或以上 (願意多付 25% 以上)

(vi) 構面 6：購買因素

1. 請問您是否同意食品安全是您選購豬肉產品的最大考量？
2. 請問您是否同意認證標章是您選購豬肉產品的最大考量？

上述問卷內容除了基本資料之外，皆採用 7 項李克特量表 (7 point Likert scale)，答案從「非常同意」、「同意」、「有點同意」、「普通」、「有點不同意」、「不同意」到「非常不同意」，共分 7 個等級讓受訪者勾選符合其認知的答案，評分方式為依序給予 7 分、6 分、5 分、4 分、3 分、2 分及 1 分，分數越高代表受訪者對於該問題的情境認同程度也就越高。

III. 統計分析

本研究使用 SPSS 22.0 (2013) 統計套裝軟體進行統計分析，依研究目的資料特性，進行描述性統計分析 (descriptive statistical analysis)、集群分析 (clustering analysis)、單因子變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 及卡方檢定 (the chi-squared test)，使用統計方法分述如下：

- (i) 描述性統計分析：描述性統計是將研究中所得的數據加以整理、歸類、簡化或繪製成圖和表，用來描述和歸納資料的特徵 (例如：基礎資料)，是最基本的統計方法。本研究主要使用描述性統計中的次數分配表，進行類別變項資料分布的討論。
- (ii) 相關性分析：用來探討本調查的連續變項彼此間是否有關連。
- (iii) 集群分析：依據樣本之間特徵的共通性，將較為相似的樣本聚集成群，成為集群。分群之後可以使群內差異小、群外差異大。本研究使用二階段集群分析，第一階段以階層式集群分析法 (hierarchical clustering)，分析樣本可以分為幾群，第二階段再依據階層式集群分析的結果，使用 k-mean 集群分析法 (k-mean clustering)

將樣本分群。

- (iv) 單因子變異數分析：用於比較集群分後的連續變數彼此間是否有差異，如有顯著差異，再以 Bonferroni 法進行事後檢定。
- (v) 卡方檢定：用來探討集群分析後的類別變項彼此間是否獨立。

結果與討論

I. 基本資料

由表 1 可知本次問卷調查觸及之受訪者以女性居多，占整體的 61.9%，男性占 38.1%。年齡層以 30 歲以下與 31 — 40 歲居多，分別占整體的 34.4 及 27.0%，而 77.1% 受訪者的教育程度都在大學以上。查行政院內政部統計 107 年我國 15 歲以上，而至 108 年大專以上學歷、高中、初中與國小比例分別 46.47、29.99、11.67 及 10.60%，雖與本研究 77.1、15.9、5.6 與 1.4% 確實有差異，唯計入年齡結構比較計算後，較接近 25 歲以上至 40 歲未來消費主力。平均月收入在 30,000 元以下的受訪者占 42.6%，平均月收入在 30,001 — 50,000 元之間的受訪者占 33.7%，其餘平均月收入超過 50,001 元的受訪者占 23.7%。108 年主計總處資料顯示，月收入 3,0000 元以下者占 44%，30,001 — 50,000 元者占 32.6%，50,001 元以上者占 32.6%，與本調查結果的薪資結構相近。受訪者居住地區則平均分散在北、中、南部，而東部占 1.9%，考量內政部 108 年度的人口統計資料，北、中、南及東部的人口比例分別為 45.5、24.6、26.9 及 2.3%，顯示本調查觸及之消費者分布尚無不均。

表 1. 本問卷調查研究受訪者之基礎基料分析 (n = 270, 2019)

Table 1. The respondents' basic characteristics analysis in the questionnaire survey (n = 270, 2019)

Items	Characteristics	Number of valid cases	%
Gender	male	103	38.1
	female	167	61.9
Age, year	≤ 30	93	34.4
	31 — 40	73	27.0
	41 — 50	26	9.6
	51 — 60	45	16.7
	≥ 61	35	12.2
Education	≤ Elementary school	4	1.4
	Junior high school	15	5.6
	Senior high school / Senior vocational high school	43	15.9
	Junior college / University	140	51.9
	≥ Graduate school	68	25.2
Average monthly income	≤ NT\$ 30,000	115	42.6
	NT\$ 30,001 — 50,000	91	33.7
	NT\$ 50,001 — 70,000	38	14.1
	NT\$ 70,001 — 90,000	10	3.7
	≥ NT\$ 90,001	16	5.9
Living area	Northern Taiwan	98	36.3
	Central Taiwan	88	32.6
	Southern Taiwan	79	29.3
	Eastern Taiwan	5	1.9

II. 消費者對於對動物福祉友善豬肉之瞭解

由表 2 可以得知消費者對於對動物福祉友善豬肉之瞭解，同意自己對豬隻飼養過程有所瞭解的消費者，由「有點同意」、「同意」到「非常同意」的比例分別為 21.1、22.2 及 10.4%。消費者逐漸具有動物福祉之概念亦可從周 (2009) 的調查報告中看出，周 (2009) 指出消費者對於「疫病可用藥，不得檢出」之認同高於「不得用藥」的選項，倘若動物於飼養過程當中發生疾病，不使用藥物治療，將會使動物蒙受疾病之苦，進而違背動物福祉五大自由的意義，顯示消費者於 2009 年即對動物的五大自由有些許瞭解。

表 2. 本問卷調查受訪者之動物福祉認知程度 (n = 270, 2019)
Table 2. The respondents' animal welfare awareness in the questionnaire survey (n = 270, 2019)

Questions	Strongly disagree (1)		Disagree (2)		More or less disagree (3)		Neither agree nor disagree (4)		More or less agree (5)		Agree (6)		Strongly agree (7)		Score ⁺	
	%		%		%		%		%		%		%		Mean	SD
Do you understand that the process of raising pig for meat	1.9		7.4		11.5		21.1		22.2		25.6		10.4		4.73	1.50
Do you understand that how do animals transport from farm to slaughterhouse	2.6		9.6		14.4		23.3		16.7		23.0		10.4		4.52	1.59
Do you understand that the animal welfare policy for farm animals in Taiwan	7.4		18.5		17.8		18.5		17.8		15.6		4.4		3.85	1.67

⁺ Score: A 7 point Likert scale was used to sum the values of each selected option and create a score for each respondent. Score 1 means strongly disagree, 2 means disagree, 3 means more or less disagree, 4 means neither agree nor disagree, 5 means more or less agree, 6 means agree, 7 means strongly agree.

在動物運送至屠宰場的運送過程方面，同意自己對此有所瞭解的消費者，由「有點同意」、「同意」到「非常同意」的比例分別為 16.7、23.0 及 10.4%。而在我國現有對遵循經濟動物福祉推動政策方面，同意自己對此有所瞭解的消費者，由「有點同意」、「同意」到「非常同意」的比例分別為 17.8、15.6 及 4.4%。顯示大部分的消費者自覺對於畜牧產品的生產及動物運送過程有一定程度的瞭解，但對於政府的政策方面認知較不足夠。

III. 消費者對於動物福祉政策層面之期許

由表 3 可以看出總共有 88.6% 的消費者認為政府應該在政策面為推動經濟動物福祉有更多作為，而 83.3% 的消費者認為政府應該更積極的處理動物福祉問題，但回過頭對照表 2 可見一般消費者對於政府推動動物福祉的政策瞭解不多，某種程度代表動物福祉政策的曝光率與能見度仍嫌不足，未來仍需持續在教育與宣導方面加強。放眼亞洲，我國在經濟動物福祉之政策可歸於起步較早的國家，但確實仍有長遠的路要走。

臺灣目前對經濟動物的保障主要受「動物保護法」規範，其中除了規範飼主責任之外，在運輸管理、人道屠宰也進行了相關的規範，而「豬隻友善飼養系統定義及指南」是給友善飼養的生產者可依循的規範，沒有強迫推及所有的畜牧生產。

同時，有 94.0% 的消費者認同動物福祉是社會進步的象徵；問及政府是否應該強制推動動物福祉時，有 71.9% 的消費者表示認同，仍有 6.4% 的消費者不認同，21.5% 的消費者沒有意見，這些消費者之間的差異，會在第七節的集群分析中繼續探討。

IV. 消費者認為動物福祉會造成之影響

如同表 4 所示，有 81.8% 的消費者認同政府如果強制推動動物福祉，會對畜牧生產造成很大的衝擊；反之，也有 78.6% 的消費者認同政府強制推行動物福祉，會對消費者造成很大的負擔。對照表 3 的結果來看，對畜牧生產與消費者造成的衝擊和負擔，可能是非常認同政府應該強制推動動物福祉的消費者只占 8.9% 的原因。

V. 消費者的購買因素

本調查在購買因素的方面，區分為食品安全與認證標章兩項，分別詢問受訪者對於這些因素的重視程度。如表 5 所示，消費者覺得食品安全是選購豬肉產品的最大考量，非常認同、認同及有點認同的比例分別為 42.2、38.1 及 14.8%，僅 0.4% 的消費者有點不認同，顯示食品安全在消費者心中占有重要地位。de Graaf *et al.* (2016) 亦指出比利時消費者選購動物福祉友善牛奶的其中一項理由，係認為該產品有較好的品質、較為安全且較為健康。

在認證標章方面，認為認證標章是選購豬肉產品的最大考量的消費者，非常認同、認同及有點認同的比例分別為 17.4、32.6 及 27.8%，僅有 0.7% 的消費者非常不認同，顯示標章與否對於現今消費者而言，重要性相對不及食品安全。雖然是如此，但仍有 17.4% 的消費者將其納為最優先的考量因素。

臺灣目前沒有強制要求動物福祉畜產品之認證，而係效仿歐盟、美國、紐西蘭等國家的方式，採取由民間自願性推動生產系統標示的作法。現今民間有提供豬隻友善飼養的認證僅有臺灣農業標準學會的「安全農法」與「人道/友善畜產」雙標章。倘若重視標章認證的消費者越多，標章的存在就越顯價值，屆時願意申請認證的生產者亦會增加，以期形成良性循環。

VI. 消費者對於動物福祉友善豬肉的願付價格 (Willingness-to-pay, WTP)

如表 6 所示，目前消費者的 WTP 多在 5 – 10% 以內，計有 64.4%。多數消費者都能了解以動物福祉方式所生產之畜產品價格較高，僅有 4.4% 消費者不願意多花錢，當金額超過普通生鮮豬肉價格的 15% 時，願意購買的消費者仍有 17.4%。本調查結果令人振奮，因為 European Commission (2016) 的調查報告指出，51% 的歐洲公民願意額外花費 5 – 10% 的金額購買動物福祉友善產品，8% 願意額外花費 11% 以上的金額，不願意花費額外金額購買的則有 35%，顯示臺灣消費者於動物福祉友善產品市場的潛力不容小覷。

劉等 (2012) 所進行的消費者問卷調查，雖然不是針對動物福祉友善豬肉，而是針對國產的豬肉，其結果提到當有品牌的國產豬肉的售價比一般國產豬肉貴時，消費者的 WTP 區段主要落在 0 – 10% 以內。若將動物福祉友善豬肉視為一個品牌，本研究調查之結果亦與其相近。

VII. 相關性分析

將消費者對「動物福祉友善豬肉的瞭解」、「對政府的期許」、「強制推行動物福祉會造成之影響」、「食品安全是否為最大考量」及「認證標章是否為最大考量」等連續變數與 WTP 進行相關性分析，由表 7 可以看到「對政府的期許」、「動物福祉會造成之影響」、「食品安全是否為最大考量」及「認證標章是否為最大考量」與 WTP 有顯著正相關。而「動物福祉友善豬肉的瞭解」雖與 WTP 無明顯相關，但與消費者的其他變數呈明顯

表 3. 本問卷調查受訪者對動物福祉政策層面期許 (n = 270, 2019)
Table 3. The respondents' expectations of animal welfare policies in the questionnaire survey (n = 270, 2019)

Questions	Strongly disagree ⁺	Disagree	More or less disagree	Neither agree nor disagree	More or less agree	Agree	Strongly agree	Score ⁺
	----- % -----							Mean SD
Do you agree that the government should do more for improving farm animal welfare on the policy side	0.7	1.1	2.2	7.4	22.6	49.3	16.7	5.64 1.06
Do you agree that the government should be more energetic to deal with animal welfare issue	0.4	0.4	3.0	13.0	23.7	42.6	17.0	5.55 1.07
Do you agree that paying attention on animal welfare is symbol of a progressive society	0.7	0.4	1.1	3.7	14.8	45.9	33.3	6.03 0.99
Do you agree that the government should force to promote farm animal welfare in Taiwan	1.9	1.9	2.6	21.5	28.2	34.8	8.9	5.13 1.21
Do you agree that our regulations of animal welfare should follow EU regulations	1.9	1.5	4.8	23.3	24.1	37.4	7.0	5.07 1.23
Do you agree that Taiwan's international image can promote by forcing the promotion of farm animal welfare	1.1	1.1	1.9	15.2	26.3	35.6	18.9	5.47 1.18

⁺ Score: we use 7 point Likert scale to sum the values of each selected option and create a score for each respondent. Score 1 means strongly disagree, 2 means disagree, 3 means more or less disagree, 4 means neither agree nor disagree, 5 means more or less agree, 6 means agree, 7 means strongly agree.

表 4. 本問卷調查受訪者認為強制推行動物福祉造成之影響 (n = 270, 2019)

Table 4. The impact of forced promoting animal welfare in responders' opinion (n = 270, 2019)

Questions	----- % -----					-----	
	Strongly disagree ⁺	Disagree	More or less disagree	Neither agree nor disagree	More or less agree	Agree	Strongly agree
----- % -----							
Do you agree that the production of livestock will have a big effect if the government forces to promote animal welfare	0.4	0.4	2.2	15.2	31.1	37.0	13.7
						5.42	1.04
Do you agree that that the burden on consumers will be greatly increased if the government forces to promote animal welfare	1.1	1.5	3.3	15.6	27.8	35.2	15.6
						5.35	1.21

⁺ Score: we use 7 point Likert scale to sum the values of each selected option and create a score for each respondent. Score 1 means strongly disagree, 2 means disagree, 3 means more or less disagree, 4 means neither agree nor disagree, 5 means more or less agree, 6 means agree, 7 means strongly agree.

表 5. 本問卷調查受訪者的購買因素 (n = 270, 2019)

Table 5. The purchasing determinants of responders in the questionnaire survey (n = 270, 2019)

Questions	----- % -----					-----	
	Strongly disagree ⁺	Disagree	More or less disagree	Neither agree nor disagree	More or less agree	Agree	Strongly agree
----- % -----							
Do you agree that food safety is the most important factor while consider purchasing pork	0.0	0.0	0.4	4.4	14.8	38.1	42.2
						6.17	0.87
Do you agree that certification label is the most important factor while consider purchasing pork	0.7	0.7	4.4	16.3	27.8	32.6	17.4
						5.37	1.19

⁺ Score: we use 7 point Likert scale to sum the values of each selected option and create a score for each respondent. Score 1 means strongly disagree, 2 means disagree, 3 means more or less disagree, 4 means neither agree nor disagree, 5 means more or less agree, 6 means agree, 7 means strongly agree.

正相關，這代表消費者對於「動物福祉友善豬肉的瞭解」與「對政府的期許」、「食品安全是否為最大考量」及「標章認證是否為最大考量」彼此間有正面影響。從表 7 又可見「對政府的期許」、「食品安全是否為最大考量」及「標章認證是否為最大考量」互相有顯著的正相關性，顯示這三者間彼此有正影響，而且有中度相關性。

表 6. 本問卷調查受訪者對於具動物福祉友善豬肉的願付價格 (n = 270, 2019)

Table 6. The willingness-to-pay of responders for animal welfare-friendly pork in the questionnaire survey (n = 270, 2019)

<i>I'd like to pay more than...</i>	Number	%
0%	12	4.4
5%	101	37.4
10%	73	27.0
15%	37	13.7
20%	23	8.5
≥ 25%	24	8.9

表 7. 消費者認知、期許、影響、購買因素、年齡、平均月收入與願付價格之相關性 (n = 270, 2019)

Table 7. The correlations between consumer's awareness, expectation, influence, purchasing determinants, age, average monthly income and willingness to pay (n = 270, 2019)

	Awareness	Expectation	Influence	Food safety	Label	WTP
Awareness ¹	1					
Expectation ²	0.26**	1				
Influence ³	0.12*	0.17**	1			
Food safety ⁴	0.19**	0.41**	0.10	1		
Label ⁵	0.26**	0.35**	-0.02	0.48**	1	
WTP ⁶	0.10	0.23**	0.16**	0.19**	0.25**	1

¹ The awareness of animal welfare by consumers.

² The expectation of animal welfare policies by consumers.

³ The influence that consumers believe animal welfare will have.

⁴ Food safety is the most important thing when buying pork.

⁵ Label is the most important thing when buying pork.

⁶ WTP, willingness-to-pay.

* p < 0.05; ** P < 0.01.

VII 消費者的集群分析

本研究依照消費者對「動物福祉友善豬肉的瞭解」、「對政府的期許」、「動物福祉會造成之影響」三個構面問題之平均分數及動物福祉友善豬肉產品的 WTP 進行二階段集群方法進行集群分析，最終分為三組，其中 WTP 亦轉換成分數呈現，將問卷答案「0%」、「5%」、「10%」、「15%」、「20%」到「≥ 25%」，依序給予 6 分、5 分、4 分、3 分、2 分及 1 分，以方便統計分析。進一步以單因子變異數分析與卡方檢定分析三個群組於消費者對「動物福祉友善豬肉之瞭解」、「對政府的期許」、「動物福祉會造成之影響」、「對於食品安全及標章之考量」、「基礎資料」與 WTP 之差異，列於表 8。而後根據各集群的特徵，將集群 1、2 及 3 分別命名為「矛盾型消費者」、「消極型消費者」及「積極型消費者」。

三個集群在消費者對「動物福祉友善豬肉之瞭解、對政府的期許、動物福祉會造成之影響、對食品安全及標章之考量與年齡層分布有顯著差異。再深入探究各集群的不同點，三個集群都以女性及學歷為大專院校畢業者居多，集群 1 (矛盾型消費者) 的 WTP 最低 (2.32)。年齡分布以在 30 歲以下的人居多，有 33.3%，另外，61 歲以上的人在三個集群裡面比例最高，有 18.6%。平均月收入方面，有 38.2% 的人在 3 萬元以下，37.4% 的人在 3 萬至 5 萬之間。動物福祉友善豬肉的瞭解最高，對政府的期許程度、覺得強制推行動物福祉會對畜牧生產及消費者造成的影響、食品安全與標章認證的關心程度都在中間值，對產品價格的重視程度最高。顯示矛盾型消費者雖然對動物福祉友善豬肉有所了解，亦認為政府推動動物福祉有所期許，但 WTP 反而最低，顯然有其他

不在本問卷調查範圍內的考量因素影響其消費選擇。

表 8. 本問卷調查受訪者之認知、期許、購買因素、基本資料與願付價格的集群分析 (n = 270, 2019)

Table 8. Responder segmentation based on awareness, expectation, purchasing determinants, demographic features, and willingness-to-pay for welfare-friendly pork after clustering analysis (n = 270, 2019)

Statement	Cluster 1 Contradictory (n = 105)	Cluster 2 Conservative (n = 98)	Cluster 3 Active (n = 74)	P
Awareness ^{1, &}	5.28 ^a	2.99 ^c	4.91 ^b	0.000 ⁺
Expectation ^{2, &}	5.73 ^a	5.20 ^b	5.94 ^a	0.000 ⁺
Effect ^{3, &}	5.54 ^a	5.03 ^b	5.65 ^a	0.000 ⁺
Food safety ^{4, &}	6.27 ^a	5.89 ^b	6.42 ^a	0.000 ⁺
Label ^{5, &}	5.43 ^a	4.95 ^b	5.85 ^a	0.000 ⁺
WTP ^{6, §}	2.32 ^b	2.55 ^b	4.97 ^a	0.000 ⁺
Gender (%)				
Male	38.2	38.5	37.5	NS [#]
Female	61.8	61.5	62.5	
Age (%)				
≤ 30	33.3 ^{ab}	41.7 ^a	26.4 ^b	0.002 [#]
31 – 40	26.5	26.0	29.2	
41 – 50	9.7	11.5	6.9	
51 – 60	11.8 ^b	10.4 ^b	31.9 ^a	
≥ 61	18.6 ^a	10.4 ^{ab}	5.6 ^b	
Education level (%)				
≤ Elementary school	2.0	2.1	0.0	NS [#]
Junior high school	4.9	2.1	11.1	
Senior high school / Senior vocational high school	11.8	15.6	20.8	
Junior college / University	54.9	56.2	41.7	
≥ Graduate school	25.5	24.0	26.4	
Living area (%)				
Northern Taiwan	35.3	43.7	27.8	NS [#]
Central Taiwan	33.3	29.2	36.1	
Southern Taiwan	30.4	25.0	33.3	
Eastern Taiwan	1.0	2.1	2.8	
Average monthly income (%)				
≤ NT\$ 30,000	38.2	51.0	37.5	NS [#]
NT\$ 30,001 – 50,000	37.4	29.2	34.7	
NT\$ 50,001 – 70,000	12.7	10.4	20.8	
NT\$ 70,001 – 90,000	2.9	5.2	2.8	
≥ NT\$ 90,001	8.8	4.2	4.2	

¹ The mean of the awareness of animal welfare by responders.

² The mean of the expectations of animal welfare policies by responders.

³ The mean of the impact of forced promoting animal welfare in responders' opinion.

⁴ The mean of food safety is the most important factor while consider purchasing pork.

⁵ The mean of certification label is the most important factor while consider purchasing pork.

⁶ The mean of willingness-to-pay.

[&] The average score of those attitudes. We use 7 point Likert scale to sum the values of each selected option and create a score for each respondent. Score 1 means strongly disagree, 2 means disagree, 3 means more or less disagree, 4 means neither agree nor disagree, 5 means more or less agree, 6 means agree, 7 means strongly agree.

[§] The average score of WTP. Score 1 means 0%, 2 means 5%, 3 means 10%, 4 means 15%, 5 means 20%, 6 means ≥ 25%.

⁺ Analysis of variance.

[#] Chi-squared test.

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

NS = not significant.

集群 2 (消極型消費者) 的 WTP 介中 (2.55)，年齡在 30 歲以下的人有 41.7%，有 51.0% 的人平均月收入在 3 萬以下。對於動物福祉友善豬肉的瞭解、對政府的期許程度及覺得強制推行動物福祉會對畜牧生產及消費者造成的影響最低，較不關心食品安全與標章認證。

集群 3 (積極型消費者) 的其 WTP 顯著較矛盾型及消極型消費者高 (4.97)，年齡分布以 51 – 60 歲的人最多，比率亦顯著高於其他兩群消費者，有 31.9%。平均月收入已 3 萬元以下居多，有 37.5%，但 5 萬元以上的人較其他兩群消費者多，有 20.3%。對政府的期許程度、覺得強制推行動物福祉會對畜牧生產及消費者造成的影響、食品安全與標章認證的關心程度都最高。

有趣的是，諸多研究指出教育程度越高，提升動物福祉的意願越高 (Laroche *et al.*, 2001; Toma *et al.*, 2012)，亦會影響 WTP (de Graaf *et al.*, 2016)，與本調查之發現並不相符。這可能是因為前述研究報告如 de Graaf *et al.* (2016) 為墨西哥之調查研究，其受訪者僅有 29.7% 為大學以上、34.3% 高中畢業、25.4% 國中畢業及 10.7% 國小畢業，而本調查觸及之消費者其教育程度有 77.6% 為大學以上，教育程度落差不大可能是本調查結果不顯著之原因。依據 Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) 之統計，2018 年各國 25 – 64 歲人口高等教育 (大學以上) 比率之平均值為 38%，墨西哥僅為 17%，而 2018 年底我國已達 51%，遠較平均值為高；如與主要國家比較，除了加拿大為 57% 高於我國之外，其餘多較我國為低，顯示我國高等教育普及程度較高，且因本次問卷填寫年齡層主要為 40 歲以下，可能為本問卷調查在教育程度落差不大之原因。

結 論

本調查顯示大部分的消費者自覺對於畜牧產品的生產及動物運送過程有一定程度的瞭解，但對於政府的政策方面認知較不足夠，某種程度代表我國動物福祉政策的曝光率與能見度仍嫌不足。動物福祉政策的推廣如同行銷產品，需要提供社會大眾簡潔有力的說帖，讓民眾覺得這是一件需要關注的事情，建議使用多元化的管道將動物福祉概念擴散出去，例如以精簡的短片介紹動物福祉友善牧場成功案例，投放至社群平臺增加曝光度，增加民眾的認同感，或培訓師資，將食農教育結合動物福祉概念，教育學齡兒童，亦可洽談有心轉型的賣場通路，例如：家樂福，由通路同時給予消費者動物福祉產品的資訊，帶動需求，進一步推動產業生產動物福祉友善豬肉產品。

本調查將受訪的消費者區分為「矛盾型」、「消極型」及「積極型」三類，積極型消費者對動物福祉友善豬肉產品具有最高的 WTP，該族群以 51 – 60 歲的人最多，重視動物福祉、食品安全及認證標章，對動物福祉概念有一定程度認知並且期許政府有所作為。而且相關性分析顯示，「對政府的期許」、「動物福祉會造成之影響」、「食品安全是否為最大考量」及「認證標章是否為最大考量」與 WTP 有顯著正相關，故可選擇有這些特質之消費者，作為行銷動物福祉友善產品的目標對象。

由於本研究問卷設計著重於消費者認知，未考量消費者倫理、信任感等相關的題目，後續如有進行相關研究，將會將之納入考量，更加深入分析消費者選購動物福祉友善產品的行為模式。

誌 謝

本調查承行政院農業委員會畜產試驗所技術服務組同仁及陳素真小姐協助問卷調查回收協助問卷資料整理，特此感謝。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2017。豬隻友善生產系統定義及指南。https://www.coa.gov.tw/theme_data.php?theme=publication&id=3229。
- 行政院農業委員會。2020。糧食供需年報。<https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 呂秀英。2010。影響傳統市場消費者購買黑豬肉之因素分析與相關性檢定。臺灣銀行季刊，61：130-154。
- 周孟萱。2009。消費者對雞蛋偏好與對動物福利願付價格之研究－聯合分析法之應用。國立宜蘭大學應用經濟學系，碩士論文，宜蘭縣。
- 吳麗珍、黃慧滿、李浩銑。2014。方便取樣和立意取樣之比較。護理雜誌。61：105-111。

- 施明宜。2019。臺灣都會區新世代消費者購買豬肉的產品線索與 CAS 標章豬肉購買意圖關係之研究。國立中興大學生物產業管理研究所，碩士論文，臺中市。
- 陳聰堅，吳莉玲。2021。中高齡者購買肉品之行為意向研究－以萊豬為例。福祉科技與服務管理學刊。9：273-291。
- 劉添仁、鄧意滿、徐薇婷。2012。國人對於國產豬肉消費行為與影響因素之研究。臺北城市大學學報，35：235-282。
- 鄭博元、方進義。2016。消費者健康價值觀對有機餐廳意圖行為與願付價格之影響。第 19 屆科際整合管理研討會，第 100-112 頁。
- Carpenter, C. B., C. J. Holder, F. Wu, J. C. Woodworth, J. M. DeRouchey, M. D. Tokach, R. D. Goodband, and S. S. Dritz. 2018. Effects of increasing space allowance by removing a pig or gate adjustment on finishing pig growth performance. *J. Anim. Sci.* 96: 2659-2664.
- de Graaf, S., E. J. Van Loo, J. Bijttebier, F. Vanhonacker, L. Lauwers, F. A. M. Tuytens, and W. Verbeke, 2016. Determinants of consumer intention to purchase animal-friendly milk. *J. Dairy Sci.* 99: 8304-8313.
- European Commission. 2016. Attitudes of Europeans towards Animal Welfare. Special Eurobarometer 442. Accessed August 2021. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/9bc3a0b7-ec17-11e5-8a81-01aa75ed71a1/language-en>.
- Farm Animal Welfare Council. 1992. FAWC updates the five freedoms *Veterinary Record* 17: 357.
- George, D. and P. Mallery. 2003. SPSS for Windows step by step: A simple guide and reference. 11.0 update. 4th ed. Allyn & Bacon. Boston, USA.
- Grunert, K. G., W. I. Sonntag, V. Glanz-Chanosa, and S. Forum. 2018. Consumer interest in environmental impact, safety, health and animal welfare aspects of modern pig production: Results of a cross-national choice experiment. *Meat Sci.* 137: 123-129.
- Johnston, L. J., D. W. Rozeboom, R. D. Goodband, S. J. Moeller, M. C. Shannon, and S. J. Schieck. 2017. Effect of floor space allowances on growth performance of finishing pigs marketed at 138 kilograms. *J. Anim. Sci.* 95: 4917-4925.
- Kehlbachera, A., R. Bennetta, and K. Balcombe. 2012. Measuring the consumer benefits of improving farm animal welfare to inform welfare labelling. *Food Policy* 37: 627-633.
- Laroche, M., J. Bergeron, and G. Barbaro-Forleo. 2001. Targeting consumers who are willing to pay more for environmentally friendly products. *J. Consum. Mark.* 18: 503-520.
- Lebret, B. 2008. Effects of feeding and rearing systems on growth, carcass composition and meat quality in pigs. *Animal* 2: 1548-1558.
- Miranda-de la Lama, G. C., W. S. Sepúlveda, M. Villarroel, and G. A. María. 2011. Livestock vehicle accidents in Spain: Causes, consequences, and effects on animal welfare. *J. Appl. Anim. Welfare Sci.* 14: 109-123.
- OECD indicators. 2018. Education at a glance 2018. https://read.oecd-ilibrary.org/education/education-at-a-glance-2018_eag-2018-en#page54.
- SPSS 22.0. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp., New York, USA.
- Toma, L., A. W. Stott, C. Revoredo-Giha, and B. Kupiec-Teahan. 2012. Consumers and animal welfare. A comparison between European Union countries. *Appetite* 58: 597-607.
- Tomažin, U., N. Batorek-Lukac, M. Škrlep, M. Prevolnik-Povše, and M. Čandek-Potokar. 2019. Meat and fat quality of Krškopolje pigs reared in conventional and organic production systems. *Animal* 13: 1103-1110.
- Vonada, M. L., B. S. Bidner, K. E. Belk, F. K. McKeith, W. R. Lloyd, M. E. O'Connor, and G. C. Smith. 2001. Factors influencing consumer demand for U.S. pork exported to the Republic of Korea (South Korea). *J. Anim. Sci.* 79: 907-911.

The analysis of consumer awareness and willingness to pay for animal welfare-friendly pork products ⁽¹⁾

Hsi-Wen Hung ⁽²⁾ and Chia-Jung Lee ⁽³⁾⁽⁴⁾

Received: Aug. 20, 2021; Accepted: Apr. 8, 2022

Abstract

Animal welfare is an issue that drawing more and more attention all over the world. To encourage more production of animal welfare-friendly products, the support from consumers is quiet necessary. This survey was conducted to investigate the consumer awareness and willingness to pay for animal welfare-friendly pork products. A questionnaire was designed to collect meaningful data. The questionnaire comprises 6 major dimensions, including consumer background, awareness of animal welfare, expectations of animal welfare policies, effects of forcing animal welfare, willingness to pay, and the determinants of purchase. Among the 270 valid questionnaires conducted in 2019, 64.6% of consumers were willing to pay additional 5 – 10% in price on animal-welfare pork products, and 17% of consumers were willing to pay for more than 15%. There were positive correlations between expectations of animal welfare policies, effects of forcing animal welfare, the determinants of purchase and willingness to pay. Consumers in the survey were divided into three categories: contradictory, conservative and active. Active consumers showed highest willingness to pay for animal-friendly pork products. People in this group were mostly 51 to 60 years old, who paid attention to animal welfare, food safety and certification label. They tended to have a certain level of awareness of animal welfare and expected the government to do something for animal welfare. Consumers with these characteristics can be selected as targets for the marketing of animal welfare-friendly products.

Key words: Clustering analysis, Questionnaire survey, Animal-friendly raising, Swine.

(1) Contribution No. 2702 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

(4) Corresponding author, E-mail: shisah1218@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)

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

(2) 書本類

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

(3) 其他類

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

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 55 No. 1

March 2022

CONTENTS

	Page
1. Study on the treatment of high -concentration pig wastewater with model tanks <i>Tein-Ming Su, Cheng-Hsun Chung and Ting-Hsun Hsiao</i>	1
2. Effects of days of raising TLRI Black Pig No. 1 lactating sows in farrowing crate on the welfare of sows and survival rate of piglets <i>Herng-Fu Lee and Biung Takis-Vilainan</i>	11
3. Effects of dietary calcium level and <i>Rhizopus</i> fermentation extract supplementation on semen traits of Muscovy drake <i>Liang-Yuan Wei, Xiao-Heng Xu, Wei-Beng Chang, Jih-Yih Chen, Chin-Hui Su, Yi- Ying Chang, Mei-Fong Lin and Hsiu-Chou Liu</i>	22
4. Cryopreservation of poultry primordial germ cells <i>Jenn-Fa Liou, Jui-Jane Tailiu, Chia-Yu Chang and Lih-Ren Chen</i>	31
5. Effects of perch types on the growth performance and welfare of red-feathered chickens <i>Xin-Yu Chen, Hsi-Wen Hung, Shen-Shyuan Yang and An-Kuo Su</i>	40
6. The development of genotyping platform on <i>PRLR</i> gene in indigenous chicken by kompetitive allele specific PCR <i>Chai-Te Chu, Der-Yuh Lin, Yung-Yu Lai, Hsiao-Mei Liang, Shen-Shyuan Yang, Tsung-Lin Liu, Hsiu-Luan Chang, Ming-Che Wu and Jen-Wen Shiau</i>	47
7. Profitable production of forage crops -sweet sorghum and oat II. Evaluation of forage yield and quality with different crop rotation modes <i>Po-Yu Chen and Shyh-Rong Chang</i>	56
8. The analysis of consumer awareness and willingness to pay for animal welfare- friendly pork products <i>Hsi-Wen Hung and Chia-Jung Lee</i>	68

行政院新聞局出版事業登記證
警字第一八八號
執登記
台省誌
字第六六七號
為雜誌
寄

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN:2005200015

定價：新臺幣二〇〇元