

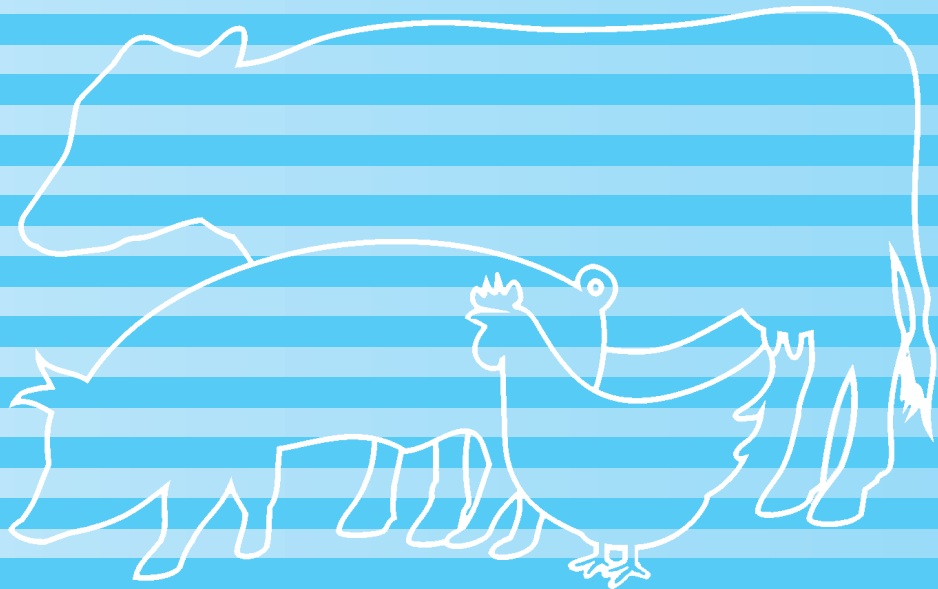
ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十八卷 第一期 中華民國一十四年 三月 季刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 58 No. 1 March 2025



農業部畜產試驗所

TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE,
MINISTRY OF AGRICULTURE

畜產研究編審委員會

主任委員：黃振芳

審查委員：方珍玲 王治華 王建鎧 王政騰 王紓愨 王聖耀 王翰聰 成游貴
江信毅 余 祺 余 碧 吳勇初 吳建平 吳錫勳 李固遠 李欣蓉
李姿蓉 李恒夫 李春芳 李國華 李淵百 李滋泰 李德南 沈朋志
辛坤鎰 辛岱倫 周明顯 林秀蓮 林信宏 林原佑 林資哲 林德育
涂榮珍 姜中鳳 施意敏 洪國翔 洪靖崎 范耕榛 唐品琦 徐濟泰
張世融 張伸彰 張秀鑾 張怡穎 張啟聖 梁筱梅 章嘉潔 莊士德
莊璧華 許奕婷 許振忠 許晉賓 郭卿雲 郭猛德 陳文賢 陳立人
陳志峰 陳志銘 陳佳萱 陳怡綦 陳怡璇 陳明汝 陳彥伯 陳洵一
陳裕信 陳銘正 陳億乘 彭劭于 黃三元 黃大駿 黃文理 黃文達
黃木秋 黃永芬 黃秀琳 楊國泰 楊鎮榮 萬一怒 萬添春 廖宗文
廖御靜 趙清賢 劉芳爵 歐修汶 練慶儀 蔡銘洋 鄭永祥 鄭裕信
盧啟信 賴佑宜 顏念慈 蘇忠楨 蘇晉暉

(以姓名筆劃為序)

編輯委員：李宗育 林秀蓮 涂榮珍 洪哲明 張世融 陳翠妙 廖仁寶 劉芳爵
(以姓名筆劃為序)

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

EDITOR-IN-CHIEF: J. F. HUANG

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

C. L. FANG	Z. H. WANG	C. K. WANG	C. T. WANG	S. M. WANG
S. Y. WANG	H. T. WANG	Y. G. CHENG	X. Y. JIANG	C. YU
P. YU	Y. C. WU	J. P. WU	H. H. WU	G. Y. LEE
H. J. LEE	T. R. LI	H. F. LEE	C. F. LEE	K. H. LEE
Y. P. LEE	T. T. LEE	D. N. LI	P. C. SHEN	K. Y. HSIN
D. L. XIN	M. S. CHOU	H. L. LIN	H. H. LIN	Y. Y. LIN
Z. Z. LIN	D. Y. LIN	J. C. TU	Z. F. JIANG	S. I. MIN
G. X. HONG	C. C. HUNG	G. J. FAN	P. C. TANG	J. T. HSU
S. R. CHANG	S. H. CHANG	H. L. CHANG	Y. Y. CHANG	C. S. CHANG
H. M. LIANG	C. C. CHIEH	S. T. CHUANG	P. H. CHUANG	Y. T. HSU
C. C. HSU	C. B. HSU	C. Y. KUO	M. D. KUO	W. S. CHEN
L. R. CHEN	C. F. CHEN	C. M. CHEN	J. X. CHEN	C. Y. CHEN
Y. H. CHEN	M. J. CHEN	Y. P. CHEN	S. E. CHEN	Y. H. CHEN
M. Z. CHEN	Y. C. CHEN	S. Y. PENG	S. Y. HUANG	D. J. HUANG
W. L. HUANG	W. D. HUANG	M. C. HUANG	Y. F. HUANG	H. L. HUANG
K. T. YANG	J. R. YANG	Y. N. WAN	T. C. WAN	C. W. LIAO
Y. J. LIAO	C. H. CHAO	F. C. LIU	Y. J. CHIU	C. Y. LIEN
M. Y. TSAI	T. M. CHEN	Y. X. ZHENG	C. H. LU	Y. I. LAI
N. C. YAN	J. J. SU	C. H. SU		

EDITORS:

C. Y. LEE	H. L. LIN	J. C. TU	C. M. HUNG	S. R. CHANG
T. M. CHEN	R. B. LIAW	F. C. LIU		



畜產研究

編者：農業部畜產試驗所
發行人：黃振芳
發行所：農業部畜產試驗所
地址：臺南市新化區牧場 112 號
電話：(06) 5911211
網址：www.tlri.gov.tw
編輯\印製者：沐福商行
電話：0985-187287
出版日期：中華民國 114 年 3 月出版
定價：新臺幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五南文化廣場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

國家網路書店：www.govbook.com.tw

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

DOI : 10.6991/JTLR

畜產研究

第 58 卷第 1 期

中華民國 114 年 3 月

目 錄

	頁
1. 高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號之受精率與孵化率研究 林德育、賴永裕、蔡銘洋、洪哲明、朱家德、曾淑貞	1
2. 以生乳中懷孕相關醣蛋白濃度進行阿爾拜因山羊多胎懷孕早期預測 陳玥彤、楊明桂、許佳憲、葉亦馨、陳怡璇、涂柏安	15
3. 應用流式細胞儀評估拍賣種公豬精液性狀 彭麟量、林秀蓮、賴永裕、林德育、楊鎮榮、許順貴、劉桂柱、郭廷雍	22
4. 稀釋液對臺灣梅花鹿精液冷凍解凍後性狀之影響 林信宏、郭廷雍、劉雅醇、張伸彰、楊鎮榮	32
5. 花畜鬥雞於涼熱季環境之生理值、血液生化及血液學調查 李雁鈴、楊深玄、黃培峻、魏良原、張經緯	39
6. 青割玉米於青貯適期後全株與莖葉之營養成分變化 陳嘉昇、劉建甫、王紓愨	49
7. 高溫環境對生長豬生長性能、營養分表相消化率及生理性狀之影響 李恒夫、楊璿菁、謝怡慧	58
8. 商用完全混合日糧對臺灣水鹿產茸性能之影響 劉雅醇、陳偉群、姚君雯、蔡明翰、林信宏、許晉賓、吳錫勳	69

高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號之受精率 與孵化率研究⁽¹⁾

林德育⁽²⁾ 賴永裕⁽²⁾ 蔡銘洋⁽³⁾ 洪哲明⁽³⁾ 朱家德⁽²⁾ 曾淑貞⁽⁴⁾⁽⁵⁾

收件日期：112 年 9 月 8 日；接受日期：113 年 5 月 23 日

摘 要

減少繁殖批次可減少雞隻選種時的批次差異及人力與經費，而增加種蛋收集天數與貯存天數可減少雞隻繁殖更新族群所需的批次。本研究應用臺灣土雞近親品系台畜一號品系 L7、L9、L11 及 L12 選育族群，以一個世代一個批次來繁殖更新下一代，並進行公雞精子品質分析以探討公雞精子品質對種蛋受精率、胚胎死亡及孵化率的影響。結果顯示，四個品系候選種公雞之 16 週齡體重、公雞精液量、精子濃度、精子活動力 (motility) 及精子前進活動力 (progressive motility) 在品系間皆有顯著差異 ($P < 0.05$)，而精子存活率 (viability) 在品系間則無顯著差異。種雞之種蛋受精率、種蛋孵化率、受精蛋孵化率、種蛋早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率在品系間皆存在顯著差異 ($P < 0.05$)。受精蛋孵化率與種蛋早期胚胎死亡率在世代間存在顯著差異 ($P < 0.01$)。本研究選留種公雞以精液量 0.3 mL 以上、精子濃度達 3.0×10^9 個精子/mL 以上、精子活動力達 70% 以上、精子前進活動力達 30% 以上及精子存活率達 60% 以上為選留標準，連續收集 20 天的種蛋，貯存於 14°C 貯蛋室後進行孵化，兩個世代種雞之平均種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率仍分別可達 91%、77% 及 83% 以上，顯示此種公雞選留條件與配種繁殖流程可以做為從事雞隻育種工作的參考。

關鍵詞：雞、精子前進活動力、受精率、孵化率。

緒 言

家禽以肉和蛋的形式提供優質的動物蛋白來源 (Tunsisa and Reda, 2023)。2017 年加拿大農業與農業食品部報告 (The Agriculture and Agri-Food Canada Report) 中的孵化種蛋總數超過 10 億枚，其受精率約為 82%，僅 2017 年一年，加拿大就有約 1.8 億個無受精蛋，其價值超過 3 億加元，這些未受精的雞蛋如果在孵化前能及早發現，仍可作為食用雞蛋或其他蛋製品應用 (Adegbenjo *et al.*, 2020)。全世界每年飼養超過 500 億隻雞，無論是蛋雞還是肉雞的產量預估將持續增高。而到 2050 年，全球世界人口預估將達到 96 億，從而對動物性食品的需求也會不斷增加 (Mottet and Tempio, 2017)。

種蛋的受精率 (fertility) 與孵化率 (hatchability) 是影響 1 日齡雛雞 (day-old chicks) 供應的兩個主要指標。影響籠飼母雞之種蛋受精率與孵化率的因子有很多，包括雞種 (Wondmeh *et al.*, 2011; Churchil *et al.*, 2019)、種雞年齡 (Tona *et al.*, 2001; Zakaria *et al.*, 2009; Churchil *et al.*, 2019)、種雞營養與飼養環境 (King'ori, 2011; Pawłowska and Sosnowka-Czajka, 2019)、人工授精 (artificial insemination, AI) 操作技術 (Dubey *et al.*, 1977)、種蛋貯存天數 (Whitehead *et al.*, 1985; King'ori, 2011) 及蛋重 (King'ori, 2011; Nowaczewski *et al.*, 2022)、孵化過程的溫度與溼度 (Fasenko, 2007; King'ori, 2011; Noiva *et al.*, 2014; Pokhrel *et al.*, 2021) 及種蛋的失重 (Tona *et al.*, 2001) 等因素。肉種雞的年齡是孵化場管理者需要考慮的一個重要參數，年輕或年老種雞產下的種蛋孵化效果不如 40 – 42 週齡種雞產下的種蛋，42 週齡種雞產下的種蛋有最高的孵化率，且於孵化第 18 天的種蛋相對失重在 10.90 – 11.10% 範圍內可獲得最佳孵化率 (Tona *et al.*, 2001)。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2791 號。
(2) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(3) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(4) 中華醫事科技大學醫學檢驗生物技術系。
(5) 通訊作者，E-mail: shwujen20200626@gmail.com。

禽類受精蛋的胚層 (blastoderm) 在產蛋後不久可經歷明顯代謝活動或發育暫時中止的能力稱為滯育 (diapause) (Fasenko, 2007)。母雞產下種蛋時，雞胚處於胚層階段 (blastodermal stage)。當受精蛋的雞胚層會在低溫下表現出發育停滯的獨特能力，稱為胚滯育 (embryonic diapause)。在孵化前，種蛋的溫度必須降至 12 – 18°C 左右的生理零溫度來阻止胚的進一步發育。然而，若要經過較長時間的胚滯育 (最多 28 天)，則須儲存在 12°C 的胚才可以恢復正常發育 (Pokhrel *et al.*, 2021)。隨著種蛋貯存天數的增加，其於孵化過程中之胚胎死亡率亦逐漸增加 (Whitehead *et al.*, 1985; Yoo and Wientjes, 1991; Scott and Mackenzie, 1993; Beaumont *et al.*, 1997; Kuurman *et al.*, 2003; Ishaq *et al.*, 2014; Nasri *et al.*, 2020; Abioja *et al.*, 2022)。

雞隻人工授精技術已普遍應用於種雞產業。人工授精可以提高種雞的生產效益，而精液品質是決定雞人工授精成功的因素之一 (Mohan *et al.*, 2018)。雞隻人工授精與自然配種 (nature mating) 的受精率相似 (Dubey *et al.*, 1977)。精液質量對於公雞的生育能力很重要 (Tesfay *et al.*, 2020)。傳統上，精液品質的評估包括射精量、精液顏色、精子濃度、精子活動力及精子畸形率等 (Mocé and Graham, 2008)。計算機輔助精子分析 (computer-assisted sperm analyses, CASA) 是用於分析精子估精子總活動力 (motility)、前進活動力 (progressive motility) 及其他精子運動參數 (motion parameters) 的主要系統之一 (Svoradova *et al.*, 2021; Muvhali *et al.*, 2022)。此外，螢光技術 (fluorescent techniques) 與流式細胞儀 (flow cytometry) 可以使用特定的螢光標記物來改進對精子存活率 (viability)、精子頭帽狀態 (acrosome status)、粒線體電位 (mitochondrial potential)、DNA 損傷 (DNA damage)、脂質過氧化 (lipid peroxidation) 及細胞碎片清除 (cell debris removal) 等精子品質的評估 (Svoradova *et al.*, 2021)。

減少選育族群世代更新的批次對家禽育種的工作是一項重要的考量。減少批次除可減少現場工作量、疫苗使用成本及人力與時間外，亦可降低雞隻性能檢定批次間的差異。因此，於母雞配種後收集較多的種蛋，以及延長種蛋的貯存天數，為實現以較少批次而能生產足夠的新世代雛雞數量之重要策略，本研究應用農業部畜產試驗所 (以下簡稱畜試所) 之臺灣土雞近親品系台畜一號品系 L7、L9、L11 及 L12 之 G14 與 G15 世代選育族群，進行公雞精子品質分析，以及一世代一批次更新繁殖之種蛋受精率與孵化率分析，並探討精子品質分析參數對種蛋受精率、胚胎死亡及孵化率的影響，提供種雞產業選育工作的參考。

材料與方法

I. 試驗動物

本研究經畜試所實驗動物照護及使用小組審查核准 (IACUC 編號畜試動字 110-34 與 111-26)。使用高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群 (林等, 2022) 之 G14 與 G15 世代四個品系 (L7、L9、L11 及 L12) 雞隻。高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群係從已命名的「臺灣土雞近親品系台畜一號」的族群進行產蛋數的改進所建立的族群。

II. 飼養管理

雞隻於育成期間水與飼料任食，小雞於 0 – 3 週時於育雛舍以平飼保溫育雛，餵飼含 21% 粗蛋白質與 3,100 kcal/kg 可代謝能之飼糧。4 – 17 週齡於平飼或高床飼養，生長雞於 4 – 6 週齡餵飼含 18% 粗蛋白質與 2,900 kcal/kg 可代謝能之飼糧，7 – 9 週齡餵飼含 15% 粗蛋白質與 2,850 kcal/kg 可代謝能之飼糧，10 – 17 週齡餵飼含 14% 粗蛋白質與 2,800 kcal/kg 可代謝能之大雞料。候選種母雞於 18 週齡以後上個別產蛋籠進行產蛋性能檢定，18 – 19 週齡餵飼含 17% 粗蛋白質與 2,700 kcal/kg 可代謝能及 2.0% 鈣之飼糧，20 週齡以後餵飼含 17% 粗蛋白質與 2,700 kcal/kg 可代謝能及 3.8% 鈣之飼糧，候選種公雞於 18 週齡以後上個別公雞籠，於 18 – 19 週齡仍餵飼大雞料，20 週齡以後餵飼種公雞料 (12% 粗蛋白質與 2,700 kcal/kg 可代謝能及 0.7% 鈣)，水與飼料任食 (劉等, 2010)。

III. 種蛋收集與孵化作業

種雞採人工授精進行系譜配種繁殖，每 5 天進行人工授精，授精後第 2 天開始收集種蛋，每顆種蛋以鉛筆標示母雞編號與日期，每天上午 10 點前收集一次種蛋，共收集 20 天，種蛋收集後立即將種蛋移入 14°C 貯蛋室，種蛋依母雞編號依序排入蛋盤中於貯蛋室貯存，並於種蛋收集第 18 天下午 16:00 前將種蛋移出貯蛋室，於室溫進行回溫，第 19 與第 20 天收集的種蛋直接排於蛋盤上，於第 20 天下午 15:00 前將種蛋移入孵化機，溫度設定為 100 °F，以啟動孵化作業。種蛋入孵後 10 天進行驗蛋，將無精蛋與早期中止蛋移出孵化機，受精種蛋繼續孵化，於入孵後第 18 天下午 13:30 開始將同母雞生的種蛋移入標有母雞編號的鐵絲籠中，以確保雛雞孵化後系譜的正確性，將鐵絲籠移入發生機的發生盤中進行後續孵化，發生機溫度設定為 99 °F。於入孵後第 21

天上午 08:30 進行出雛與雛雞掛翼號作業，並建立個體雞隻系譜資料。

IV. 種雞選留與資料收集

- (i) 雞隻孵化紀錄、個體基本資料及性能檢定等相關資料皆建置於畜試所臺灣畜產種原資訊網 (<https://www.angrin.tlri.gov.tw/>) 之雞育種資料庫。雞隻 14 週齡進行採血送財團法人中央畜產會南區保健中心進行雛白痢檢測。候選種雞係於雞隻 18 週齡前，淘汰雛白痢陽性與外觀不佳的雞隻，並依據個體 16 週齡體重與母雞達 40 週齡產蛋數進行候選種公雞與種母雞選留，候選種公雞選留體重最重的 10%，候選母雞選留 16 週齡體重大於等於同批次平均體重減 0.5 個標準偏差的個體，再將候選種雞移入種雞舍上籠，進行公雞精子品質檢測與母雞產蛋性能檢定 (林等, 2022)。
- (ii) 精子品質檢測：候選種公雞於 40 週齡時進行採精，利用電腦輔助精液分析儀來分析精子的活動力 (motility, %) 與直線運動精子率 (progressive motility, %)，並使用流式細胞儀 (flow cytometer, Guava® EasyCyte™ HT System, France) 進行精子存活率分析。
- (iii) 產蛋性能檢定：候選種母雞於 18 週齡前移入種雞舍之個別產蛋籠進行產蛋性能檢定，檢定項目包括，初產日齡 (age at first egg, AFE)，初產蛋重 (egg weight at first egg, EWFE)，40 週齡體重 (body weight at 40 week of age, BW40)，40 週齡平均蛋重 (average egg weight at 40 week of age, EW40)，達 40 週齡產蛋數 (egg numbers up to the 40 weeks of age, EN40) (林等, 2009)。
- (iv) 種雞選留與配種：依據每個品系候選種公雞之活動力精子率、直線運動精子率及精子存活率擇優選出 10 隻做為種公雞進行配種繁殖下一代。依據候選種母雞達 40 週齡產蛋數與平均蛋重選留 60 – 70 隻種母雞，於種雞 45 週齡時，根據母雞產蛋數排序依序分配至 10 隻種公雞，儘量避開同胞配種，以 1 隻公雞配 5 – 7 隻母雞進行人工授精系譜繁殖下一代，收集 20 天種蛋後進行一個批次孵化。
- (v) 受精率與孵化率：進行入孵的種蛋之總數為為入孵種蛋數，入孵後第 10 天進行驗蛋，未見血管發育者判定為無精蛋，種蛋入孵 21 天後之孵出雛雞數為出雛數。

$$\text{受精率} = (\text{入孵種蛋數} - \text{無精蛋數}) / \text{入孵種蛋數}。$$

$$\text{種蛋孵化率} = \text{出雛數} / \text{入孵種蛋數}。$$

$$\text{受精蛋孵化率} = \text{出雛數} / (\text{入孵種蛋數} - \text{無精蛋數})。$$
- (vi) 早期胚胎死亡與後期胚胎死亡：進行入孵的種蛋之總數為為入孵種蛋數，種蛋入孵後 10 天進行驗蛋，有血管發育但未見正常血管發育者為早期中止蛋。種蛋入孵 21 天後之未孵出雛雞的種蛋數 (包括未啄殼及啄殼不完全的種蛋) 則歸為後期中止蛋數。

$$\text{早期胚胎死亡率} = \text{早期中止蛋數} / (\text{入孵蛋數} - \text{無精蛋數}) \times 100。$$

$$\text{後期胚胎死亡率} = \text{後期中止蛋數} / (\text{入孵蛋數} - \text{無精蛋數}) \times 100。$$

$$\text{全期胚胎死亡率} = (\text{早期中止蛋數} + \text{後期中止蛋數}) / (\text{入孵蛋數} - \text{無精蛋數}) \times 100。$$

V. 統計分析

利用 SAS 統計分析軟體 (SAS, 2012)，以一般線性模式程序 (general linear model procedure) 進行變方分析，以 $P < 0.05$ 為顯著性判定。相關分析 (correlation procedure) 進行公雞精子品質參數與種蛋受精率、胚胎死亡及種蛋孵化率之間的相關性分析。

結果與討論

I. 選育族群種雞選留率

臺灣土雞近親品系台畜一號有四個近親品系，品系代碼分別為 L7、L9、L11 及 L12，這四個品系間在外觀與性能表現上有明顯的差異，並於 1997 年通過新品種命名為近親土雞台畜一號，為臺灣第一個通過命名登記的土雞。同時，此四個近親品系依全互交的二元雜交組合測試及田間試驗結果，分別為生長性能優良之 L12 (♂) × L9 (♀) 為畜試土雞公系二元組合，而產蛋性能優良之 L7 (♂) × L11 (♀) 為畜試土雞母系二元組合 (戴等, 1996)，且在不同田間飼養場之產蛋能力均較佳 (戴等, 1997)；畜試土雞公系命名為「畜試土雞台畜公十一號」，畜試土雞母系命名為「畜試土雞台畜母十二號」，已推廣民間種雞場飼養，作為商用肉土雞之親代，其雜交生產之四元後代做為商用肉土雞則命名為「畜試土雞台畜肉十三號」。高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群係從已命名的「臺灣土雞近親品系台畜一號」的族群進行產蛋數的改進所建立的族群，母雞達 280 日齡平均總產蛋數可達 95 個以上。高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號品系 L7、L9、L11 及 L12 之 G14 與 G15 世代選育族群總計檢定公雞 1,744 隻與母雞 1,847 隻，經 16 週齡體重檢定、雛白痢檢測及白血病檢

測後，淘汰雜白痢陽性雞隻，公雞經精子品質分析，母雞經產蛋性能檢定後，G14 世代選留作為繁殖更新世代的品系 L7、L9、L11 及 L12 種公雞與種母雞分別選配 10 公 68 母、10 公 70 母、10 公 70 母及 10 公 62 母。G15 世代選留作為繁殖更新世代的品系 L7、L9、L11 及 L12 種公雞與種母雞隻數分別為 10 公 60 母、10 公 67 母、10 公 68 母及 10 公 59 母。經計算選留率結果，G14 與 G15 世代種公雞之選留率介於 3.7 – 6.0，母雞則介於 22.3 – 35.7%，種公雞與種母雞平均選留率分別為 4.6% 與 28.6% (表 1)。

表 1. 臺灣土雞近親品系台畜一號之選育族群 G14 與 G15 世代種雞選留率

Table 1. The breeder selection percentage of G14 and G15 generation in inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1

Generations	Line	No. of chicks studied		Breeders		Selection percentage (%)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
G14	L7	195	224	10	68	5.1	30.4
	L9	173	196	10	70	5.8	35.7
	L11	257	255	10	70	3.9	27.5
	L12	168	184	10	62	6.0	33.7
G15	L7	230	242	10	60	4.3	24.8
	L9	190	194	10	67	5.3	34.5
	L11	262	288	10	68	3.8	23.6
	L12	269	264	10	59	3.7	22.3
Total		1,744	1,847	80	524	4.6	28.4

N = 3,591.

II. 選育族群候選種公雞之精液精子品質分析

依據林等 (2022) 的選留標準來進行選留，G14 世代 L7、L9、L11 及 L12 等品系的候選種雞分別有 26 公 182 母、32 公 142 母、24 公 185 母及 30 公 142 母雞；選留 G15 世代 L7、L9、L11 及 L12 等品系的候選種雞分別有 26 公 142 母、32 公 147 母、24 公 167 母及 30 公 127 母。比較 G14 與 G15 世代候選種公雞 16 週齡體重與精子品質分析結果 (表 2)，四個品系候選種公雞之 16 週齡體重、公雞精液量、精子濃度、精子活動力、精子前進活動力及精子存活率在品系間皆有顯著差異 ($P < 0.05$)。四個品系中，品系 L7 的候選種公雞之 16 週齡平均體重在 G14 與 G15 世代皆為最重，其次分別為品系 L12 與 L11，而品系 L9 的候選種公雞者為最輕。候選種公雞之 16 週齡體重在 2,160 – 3,319 g 之間，平均 $2,691 \pm 265$ g。品系 L7、L9、L11 及 L12 候選種公雞之 16 週齡體重最重分別可達 3,319、2,924、3,145 及 3,176g。公雞精液量在 0.03 – 0.90 mL，平均 0.40 mL。精子濃度在 $105 - 5,404 \times 10^6$ 精子數/mL，平均 $3,878 \times 10^6$ 精子數/mL。精子活動力在 0 – 99.1% 之間，平均為 82.7%。精子前進活動力在 0 – 87.7%，平均為 51.0%。精子存活率在 0 – 92.8% 之間，平均為 76.4%。比較 G14 與 G15 世代候選種公雞的 16 週齡體重、精液量、精子濃度、精子活動力、精子前進活動力及精子存活率世代間的差異，結果顯示候選種公雞之精液量、精子濃度、精子活動力及精子前進活動力在世代間皆呈現無顯著差異，但候選種公雞之 16 週齡體重與精液之精子存活率則存在世代間的顯著差異 ($P < 0.001$)，G15 世代的候選種公雞之 16 週齡體重較 G14 世代的候選種公雞者重，但 G15 世代候選種公雞的精液精子存活率則較 G14 世代的候選種公雞者低。Mohan *et al.* (2018) 指出輕型雞品種的平均精液量為 0.05 – 0.50 mL，重型公雞的平均精液量為 0.1 – 0.9 mL，而公雞的精子濃度每 mL 含有 $300 - 7,000 \times 10^6$ 個精子細胞。本研究之臺灣土雞近親品系台畜一號可歸類於輕型雞品種，候選種公雞的精液量在 0.03 – 0.90 mL，候選種公雞的平均精子濃度每 mL 含有 $105 - 5,404 \times 10^6$ 個精子細胞，與 Mohan *et al.* (2018) 的結果相近。Tsfay *et al.* (2020) 指出洛島紅 (Rhode Island Red) 與白羽來亨雞 (White Leghorn) 53 週齡公雞在精液量、pH、精子活動力、精子存活率及異常精子百分比有顯著地品種間的差異 ($P < 0.05$)，洛島紅與白羽來亨雞 13 天的種蛋受精率分別為 89.46 與 81.73%，種蛋孵化率分別為 60.85 與 66.79%，受精蛋孵化率則分別為 72.44 與 71.73%。Mussa *et al.* (2023) 比較產生高精液量和低精液量的泰國本土雞種 (Pradu Hang Dam 與 Chee) 的精液品質特性的研究中，從 24 隻公雞收集 12 次精液，並將其分為兩組，一組為高精液量組 (> 0.3 mL)，另一組為低精液量組 (< 0.3 mL)。測量並比較各組之間的新鮮精液品質參數如精液量、濃度、精子活動力、精子存活率及 pH 值，結果發現除精子存活率外，精液量高與低的雞群之間的精液品

表 2. 臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群不同品系 G14 與 G15 世代候選種公雞之精子品質分析
 Table 2. Sperm quality analysis of candidate breeder cocks in the inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1

Line	GEN [#]	Numbers of cock	BW16 (g)	VS (mL)	CS ($\times 10^6$)	MO (%)	PMO (%)	Viability (%)
L7	G14	26	2,818 ± 152 ^A	0.50 ± 0.17 ^A	4,269 ± 616 ^A	85.5 ± 12.8	50.7 ± 18.7	83.6 ± 10.3 ^A
	G15	33	3,019 ± 150 ^B	0.46 ± 0.20 ^B	4,268 ± 826 ^B	59.9 ± 19.3 ⁱ	21.3 ± 15.0 ⁱ	64.5 ± 12.0 ⁱ
	All	59	2,930 ± 180 ^A	0.48 ± 0.19 ^A	4,268 ± 735 ^A	71.1 ± 21.0 ^C	34.2 ± 22.2 ^C	72.9 ± 14.7 ^B
L9	G14	32	2,304 ± 73 ^D	0.34 ± 0.16 ^{BC}	4,291 ± 696 ^A	79.3 ± 18.9	48.2 ± 20.9	86.0 ± 4.9 ^A
	G15	28	2,496 ± 176 ^J	0.44 ± 0.17 ^{hi}	4,132 ± 819 ^B	87.0 ± 16.4 ^h	53.1 ± 18.5 ⁱ	71.6 ± 13.2 ^h
	All	60	2,393 ± 162 ^D	0.38 ± 0.17 ^{BC}	4,217 ± 753 ^A	82.9 ± 18.0 ^B	50.5 ± 19.8 ^B	79.3 ± 12.0 ^A
L11	G14	24	2,541 ± 88 ^C	0.42 ± 0.22 ^{AB}	3,692 ± 634 ^B	87.7 ± 8.3	58.7 ± 13.4	73.9 ± 9.1 ^B
	G15	24	2,838 ± 139 ^J	0.40 ± 0.20 ^{hi}	3,439 ± 1,157 ⁱ	89.1 ± 20.2 ^h	62.0 ± 21.4 ^{hi}	74.1 ± 16.7 ^h
	All	48	2,689 ± 189 ^C	0.41 ± 0.21 ^{AB}	3,566 ± 932 ^B	88.4 ± 15.3 ^{AB}	60.3 ± 17.7 ^A	74.0 ± 13.3 ^B
L12	G14	30	2,637 ± 125 ^B	0.31 ± 0.20 ^C	3,340 ± 999 ^B	87.3 ± 18.5	56.1 ± 20.3	82.0 ± 16.5 ^A
	G15	27	2,894 ± 122 ^J	0.35 ± 0.18 ⁱ	3,428 ± 1,154 ⁱ	92.1 ± 9.3 ^h	66.3 ± 21.3 ^h	75.6 ± 7.1 ^h
	All	57	2,759 ± 178 ^B	0.33 ± 0.19 ^C	3,382 ± 1,067 ^B	89.6 ± 14.9 ^A	60.9 ± 21.2 ^A	79.0 ± 13.2 ^A

[#] GEN: Generation, BW16: Body weight of cock at 16 weeks of age, VS: Volume of semen, CS: Concentration of semen, MO: CASA motility, PMO: CASA progressive motility.

Mean ± SD. N = 224.

^{a, b, c, d} Means of G14 generation in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{h, i, j} Means of G15 generation in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A, B, C, D} Means of all generations in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

質參數皆有顯著差異。產生高精液量的雞比產生低精液量的雞具有更好的精液品質。本研究以公雞精液量在 0.3 mL 以上做為種雞的選留標準，此與 *Mussa et al. (2023)* 的研究相當吻合。

III. 選育族群選留種公雞之精液精子品質分析

品系 L7、L9、L11 及 L12 的 G14 與 G15 世代各選留 10 隻種公雞，共 80 隻。比較臺灣 G14 與 G15 世代不同品系種公雞 16 週齡與精子品質分析結果 (表 3)，四個品系種公雞之 16 週齡體重、精液量、精子濃度、精子活動力、精子前進活動力及精子存活率在不同品系間皆有顯著差異 ($P < 0.01$)，種公雞之 16 週齡體重、精液量及精子存活率在不同世代間亦有顯著差異 ($P < 0.01$)，但種公雞之精子濃度、精子活動力、精子前進活動力在世代間則無顯著差異。四個品系中，品系 L7 選留種公雞之 16 週齡平均體重 $2,991 \pm 72$ g 為最重，其次分別為品系 L12 與 L11，分別為 $2,802 \pm 173$ g 與 $2,729 \pm 209$ g，而品系 L9 的候選種公雞 16 週齡平均體重 $2,424 \pm 206$ g 為最輕。公雞精液量在 0.03 – 0.90 mL，平均 0.40 mL。公雞精液精子濃度在 $3,142 - 5,404 \times 10^6$ 個精子細胞，平均 $4,253 \times 10^6$ 個精子細胞。公雞精液精子活動力在 70.2 – 99.1% 之間，平均為 82.7%。公雞精液精子前進活動力在 30.3 – 87.7%，平均為 59.3%。公雞精液精子存活率在 60.6 – 92.8% 之間，平均為 79.6%。人工授精技術在家禽生產中的應用，使得遺傳物質能夠從少數優秀雄性迅速傳播到大量雌性，與自然交配相比，人工受精可以使家禽獲得優異的繁殖力。這項技術的成功應用需要高質量的精液 (*Mohan et al., 2018*)。精液品質是決定雄性繁殖價值的重要因素，因為它影響種蛋的受精率與其後代的繁殖效率 (*McGary et al., 2002*)。

IV. 選育族群選留種雞之種蛋受精率與孵化率

臺灣土雞近親品系台畜一號四個近親品系 L7、L9、L11 及 L12 選育族群之 G14 與 G15 世代種蛋分別於種雞 45 – 48 週齡間收集 20 天種蛋，種蛋於 14°C 貯存後進行孵化。比較 G14 與 G15 世代種雞之種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率分別為 92.6 ± 9.9 vs. $91.4 \pm 12.2\%$ 、 79.4 ± 18.6 vs. $76.3 \pm 21.6\%$ 及 85.2 ± 15.9 vs. $82.2 \pm 20.0\%$ ，而平均種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率分別為 $92.0 \pm 11.3\%$ 、 $77.9 \pm 20.2\%$ 及 $83.8 \pm 18.1\%$ 。比較 G14 與 G15 世代品系 L7、L9、L11 及 L12 種雞之種蛋受精率分別為 93.8 ± 9.8 vs. $92.4 \pm 13.7\%$ 、 89.1 ± 13.0 vs. $88.7 \pm 13.4\%$ 、 94.6 ± 6.9 vs. $92.8 \pm 11.2\%$ 及 92.6 ± 9.8 vs. $92.1 \pm 9.9\%$ ，種蛋孵化率分別為 82.7 ± 17.4 vs. $79.1 \pm 21.6\%$ 、 68.0 ± 20.1 vs. $70.4 \pm 22.7\%$ 、 83.7 ± 16.3 vs. $77.2 \pm 20.6\%$ 、及 84.0 ± 15.5 vs. $78.9 \pm 20.7\%$ ，受精蛋孵化率則分別為 87.4 ± 13.7 vs. $84.2 \pm 18.2\%$ 、 75.3 ± 17.2 vs. $77.9 \pm 21.9\%$ 、 88.5 ± 15.6 vs. $82.2 \pm 20.1\%$ 、及 90.4 ± 11.9 vs. $85.2 \pm 19.1\%$ (表 4)。比較 G14 與 G15 世代種雞之種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率，種蛋受精率在品系間存在顯著差異 ($P < 0.05$)，以品系 L9 最低，而品系 L7、L11 及 L12 間則無顯著差異，而種蛋受精率在世代間無顯著差異。種蛋孵化率在世代間存在顯著差異 ($P < 0.001$)，以品系 L9 最低，而品系 L7、L11 及 L12 間則無顯著差異，種蛋孵化率在世代間無顯著差異。受精蛋孵化率在品系間存在顯著差異 ($P < 0.001$)，以品系 L9 最低，而品系 L7、L11 及 L12 間則無顯著差異，受精蛋孵化率在世代間亦存在顯著差異 ($P < 0.05$)。戴等 (1997) 以二元畜試土雞商用種雞 (畜試土雞台畜公十一號公雞與配畜試土雞台畜母十二號母雞生產四元雜交土雞) 生產四元雜交肉用土雞 (畜試土雞台畜肉十三號)，其種蛋受精率及孵化率分別為 86.2 及 82.2%。而在林等 (2003) 的研究中，畜試土雞台畜母十二號之種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率分別為 93.3、74.2 及 79.5%。李等 (2001) 從 8 家紅羽土雞與 5 家黑羽土雞場取得種蛋 4,606 枚蛋進行孵化，紅羽土雞與黑羽土雞平均受精率分別為 85.7% 與 80.2%，入孵種蛋孵化率分別為 72.5% 與 69.0%，受精蛋孵化率則分別為 84.5% 與 86.1%。林等 (2008) 以紅羽土雞、黑羽土雞、中興大學土雞及畜產試驗所土雞品系進行雜交試驗，種雞每隔 3 – 4 天進行人工授精一次，共 9 次。每日收集之種蛋以 18.3°C 冷藏，每隔 10 天將整批種蛋回溫，置入孵化機孵化，連續 3 批。紅羽土雞或黑羽土雞都有 95% 以上的受精率，不過受精蛋的孵化率分別為 57.2% 及 62.0%。中興大學土雞之受精蛋的孵化率也只有 75.7%，其次為畜試土雞 (68.7%)，再次之為黑羽母雞的種蛋 (62.0 – 67.8%)，而以紅羽母雞的種蛋最差 (52.7 – 57.2%)。

本研究於種蛋入孵後第 10 天進行驗蛋後，移除無精蛋與早期中止蛋，於孵化第 21 天紀錄孵出雛雞數與未孵出雛雞的種蛋數 (包括未啄殼及啄殼不完全的種蛋)，整體種雞之種蛋早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率分別為 $4.5 \pm 10.1\%$ 、 $11.7 \pm 14.5\%$ 及 $16.2 \pm 18.0\%$ 。G14 世代種雞之種蛋早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率分別為 $3.1 \pm 7.0\%$ 、 $11.7 \pm 14.1\%$ 及 $14.8 \pm 15.9\%$ 。G15 世代種雞之種蛋早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率分別為 $5.9 \pm 12.5\%$ 、 $11.7 \pm 14.9\%$ 及 $17.6 \pm 20.0\%$ 。比較 G14 與 G15 世代種雞之種蛋早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率在品系間存在顯著差異 ($P < 0.05$)，種蛋早期胚胎死亡率在世代間存在顯著差異 ($P < 0.01$)。各品系種蛋之早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率分別為，L7： $3.5 \pm 8.1\%$ 、 $10.6 \pm 12.6\%$ 及 $14.1 \pm 16.0\%$ ，L9： $6.3 \pm 10.2\%$ 、 $16.9 \pm 16.7\%$ 及 $23.2 \pm 19.5\%$ ，L11： $5.0 \pm 12.4\%$ 、 $9.7 \pm 13.0\%$ 及 $14.7 \pm 18.2\%$ 及 L12： $4.5 \pm 10.1\%$ 、 $11.7 \pm 14.5\%$ 及 $16.2 \pm 18.0\%$ (表 4)。商用

表 3. 臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群不同品系 G14 與 G15 世代種公雞之精子品質分析

Table 3. Sperm quality analysis of breeder cocks in the inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1

Line	GEN [#]	Numbers of cock	BW16 (g)	VS (mL)	CS ($\times 10^6$)	MO (%)	PMO (%)	Viability (%)
L7	G14	10	2,900 \pm 151 ^a	0.52 \pm 0.15 ^a	4,483 \pm 660 ^a	89.3 \pm 6.8	54.8 \pm 12.9	85.1 \pm 6.5 ^a
	G15	10	3,081 \pm 147 ^b	0.57 \pm 0.23 ^b	4,842 \pm 354 ^b	64.4 \pm 21.7 ⁱ	25.3 \pm 15.4 ^j	68.2 \pm 11.8 ⁱ
	All	20	2,991 \pm 172 ^A	0.55 \pm 0.19 ^A	4,663 \pm 548 ^A	76.9 \pm 20.2 ^B	40.0 \pm 20.5 ^B	76.6 \pm 12.7 ^B
L9	G14	10	2,314 \pm 67 ^d	0.30 \pm 0.13 ^b	4,432 \pm 384 ^a	91.1 \pm 4.8	64.1 \pm 7.3	87.8 \pm 3.2 ^a
	G15	10	2,533 \pm 241 ^j	0.39 \pm 0.12 ⁱ	4,236 \pm 503 ⁱ	91.5 \pm 5.3 ^h	60.9 \pm 13.0 ⁱ	80.1 \pm 6.8 ^h
	All	20	2,424 \pm 206 ^C	0.35 \pm 0.13 ^B	4,334 \pm 447 ^{AB}	91.3 \pm 4.9 ^A	62.5 \pm 10.4 ^A	84.0 \pm 6.5 ^A
L11	G14	10	2,549 \pm 88 ^c	0.34 \pm 0.13 ^b	3,853 \pm 542 ^b	90.9 \pm 4.0	63.2 \pm 11.8	77.2 \pm 7.9 ^b
	G15	10	2,910 \pm 108 ⁱ	0.37 \pm 0.19 ⁱ	3,998 \pm 521 ⁱ	95.2 \pm 5.2 ^h	71.6 \pm 13.8 ^{hi}	78.1 \pm 4.9 ^h
	All	20	2,729 \pm 209 ^B	0.36 \pm 0.16 ^B	3,925 \pm 523 ^C	93.1 \pm 5.0 ^A	67.4 \pm 13.2 ^A	77.6 \pm 6.4 ^B
L12	G14	10	2,688 \pm 129 ^b	0.25 \pm 0.12 ^b	3,958 \pm 581 ^{ab}	91.1 \pm 5.7	57.2 \pm 15.3	84.1 \pm 5.6 ^a
	G15	10	2,916 \pm 134 ⁱ	0.46 \pm 0.13 ^{hi}	4,220 \pm 575 ⁱ	96.5 \pm 2.0 ^h	77.2 \pm 7.4 ^h	76.6 \pm 5.9 ^h
	All	20	2,802 \pm 173 ^B	0.37 \pm 0.16 ^B	4,089 \pm 579 ^{BC}	93.8 \pm 5.0 ^A	67.2 \pm 15.6 ^A	80.3 \pm 6.8 ^{AB}

[#] GEN: Generation, BW16: Body weight of cock at 16 weeks of age, VS: Volume of semen, CS: Concentration of semen, MO: CASA motility, PMO: CASA progressive motility.

Mean \pm SD. N = 80.

^{a, b, c, d} Means of G14 generation in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

^{h, i, j} Means of G15 generation in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

^{A, B, C} Means of all generations in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 4. 臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群不同品系種雞之種蛋受精率與孵化率

Table 4. Fertility and hatchability on breeder cocks of different lines in the inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1

Line	Generation	NOC [#]	NOH	NHE	NIE	EDE	LDE	NHC	Fertility (%)	HHE (%)	HFE (%)
L7	G14	10	68	926	57	30	74	765	93.8 ± 9.8 ^a	82.7 ± 17.4 ^a	87.4 ± 13.7 ^a
	G15	10	61	754	52	15	78	609	92.4 ± 13.7	79.1 ± 21.6 ^h	84.2 ± 18.2
	All	20	129	1,680	109	45	152	1,374	93.2 ± 11.8 ^A	81.0 ± 19.5 ^A	85.9 ± 16.9 ^A
L9	G14	10	70	883	88	46	132	617	89.1 ± 13.0 ^b	68.0 ± 20.1 ^b	75.3 ± 17.2 ^b
	G15	10	67	767	75	39	90	560	88.7 ± 13.4	70.4 ± 22.7 ⁱ	77.9 ± 21.9
	All	20	137	1,650	163	85	222	1,177	88.9 ± 13.1 ^B	69.1 ± 21.3 ^B	76.5 ± 19.6 ^B
L11	G14	10	70	886	48	16	72	750	94.6 ± 6.9 ^a	83.7 ± 16.3 ^a	88.5 ± 15.6 ^a
	G15	10	67	867	56	46	79	686	92.8 ± 11.2	77.2 ± 20.6 ^{ji}	82.2 ± 20.1
	All	20	137	1,753	104	62	151	1,436	93.7 ± 9.4 ^A	80.5 ± 18.8 ^A	85.3 ± 18.2 ^A
L12	G14	10	62	756	56	4	64	632	92.6 ± 9.8 ^a	84.0 ± 15.5 ^a	90.4 ± 11.9 ^a
	G15	10	59	706	57	35	56	557	92.1 ± 9.9	78.9 ± 20.7 ^h	85.2 ± 19.1
	All	20	121	1,462	113	39	120	1,189	92.3 ± 9.8 ^A	81.5 ± 18.3 ^A	87.9 ± 16.0 ^A

[#] NOC: Numbers of cock, NOH: Numbers of hen, NHE: Numbers of hatching egg, NIE: Numbers of infertile egg, EDE: Early embryonic mortality before 10 days in an incubator, LDE Late embryonic mortality after 10 days in an incubator, NHC: Numbers of hatched chick, HHE: Hatchability of hatching eggs, HFE: Hatchability of fertilized eggs. Mean ± SD. N = 524.

^{a, b} Means of G14 generation in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.001).

^{h, i, j} Means of G15 generation in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.001).

^{A, B} Means of all generations in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.001).

土雞之受精蛋孵化率低落，主要於孵化第 3 週的種蛋之胚胎死亡率特別高 (林等, 2008)。短期儲存 (< 7 天) 似乎增加了年輕種雞種蛋的孵化率，這可能是由於蛋白液化，從而為胚胎提供更好的氧氣可用性。然而，種蛋儲存時間延長 (> 7 天) 會影響後續孵化期間的內部種蛋品質與胚胎存活率而導致孵化率下降，這在年長的種雞中比在年輕的種雞中更嚴重，延長的儲存時間導致年輕與年老種雞的雛雞品質較低 (Nasri *et al.*, 2020)。Abioja *et al.* (2022) 將 30 週齡母雞的種蛋於 16°C 貯存 0、3、6、9 及 12 天後，再進行孵化，結果顯示隨著儲存時間的增加，種蛋與受精蛋的孵化率會逐漸下降 ($P < 0.001$)。林等 (2008) 比較臺灣土雞群不同雜交組合之種蛋受精率、孵化率及胚胎死亡率的研究中，種蛋胚胎死亡率在紅羽土雞、黑羽土雞、中興大學土雞及畜試土雞全期胚胎死亡率分別為 37、42、23 及 39%。馬 (1993) 指出雞胚在發育中有兩個死亡高峰，第一次雞胚死亡高峰是在在孵化前期孵化開始第 2 - 3 日，第二次雞胚死亡高峰是在雞胚孵化開始後第 19 日。第一次高峰出現的時期正是雞胚發育迅速、系統與器官形成的時期，雞胚對外界環境的變化相當敏感，稍有不適，將導致雞胚死亡。第二個高峰出現時正是雞胚從尿囊絨毛膜呼吸的絨毛尿膜型 (chorio-allantoic type) 過渡到肺呼吸的肺型期 (pulmonary type)，在這個階段，雞胚需氧量大、對孵化環境要求高，換氣與散熱對雞胚死亡影響很大。孵化前將種蛋儲存 14 天會使孵化率降低 10%，而胚胎死亡率的增加大部分 (64%) 發生在孵化的第一週，另外 30% 則發生在第三週 (Whitehead *et al.*, 1985)。禽類受精蛋的胚層 (包括雞胚層) 在產蛋後不久可經歷明顯代謝活動或發育暫時中止的能力稱為滯育 (Fasenko, 2007)。種蛋受精率與受精蛋孵化率因雞群年齡增加而顯著降低，早期和晚期中止蛋隨雞齡增加而增加 (Zakaria *et al.*, 2009)。母雞產下種蛋時，雞胚處於胚盤階段 (blastodermal stage)。當受精蛋的雞胚層會在低溫下表現出發育停滯的獨特能力，稱為胚胎滯育，種蛋的溫度必須降至 12 - 18°C 左右的生理零溫度，以在孵化前阻止胚胎的進一步發育 (Pokhrel *et al.*, 2021)。根據市場對 1 日齡雛雞的可變需求和孵化場容量，雞蛋儲存的總時間從幾天到幾週不等 (Ebeid *et al.*, 2017)。然而，眾所周知，超過 7 天的長期儲存會導致孵化時間增加 (Tona *et al.*, 2003; Reijrink *et al.*, 2010) 並對孵化率產生負面影響 (Fasenko *et al.*, 2001; Tona *et al.*, 2004) 和雛雞品質 (Tona *et al.*, 2003, 2004)。從臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群 G14 與 G15 世代種雞之種蛋受精率、種蛋孵化率、受精蛋孵化率及種蛋胚胎死亡率與先前畜試土雞的相關文獻的結果比較，雖然種雞年齡已超過 40 週齡 (45 - 48 週齡) 且種蛋貯存超過 10 天 (20 天)，平均種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率仍能分別達 91.9、77.9 及 83.8%，而平均種蛋胚胎死亡率低於 17%，仍能有良好的種蛋受精率與孵化率。

V. 種公雞體重、精子品質、種蛋受精率、胚胎死亡率及孵化率之相關性分析

以臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群 G14 與 G15 世代種公雞 16 週齡體重、精液量、精子濃度、精子活動力、精子前進活動力、精子存活率、種蛋受精率、種蛋孵化率、受精蛋孵化率、早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率進行相關性分析。結果顯示，種公雞 16 週齡體重對公雞精子活動力 ($r = -0.57$)、精子前進活動力 ($r = 0.57$) 及精子存活率 ($r = -0.54$) 呈現顯著地中度負相關 ($P < 0.001$)，種公雞 16 週齡體重越重其精子活動力、精子前進活動力及精子存活率也會越差。精液量對精子活動力 ($r = -0.41$) 與精子前進活動力 ($r = -0.43$) 皆呈現顯著地中度負相關 ($P < 0.001$)。精子濃度對精子活動力 ($r = -0.25$) 與精子前進活動力 ($r = -0.27$) 皆呈現顯著地低度負相關 ($P < 0.01$)。精子活動力對精子前進活動力 ($r = 0.89$) 呈現高度正相關 ($P < 0.001$)，對精子存活率 ($r = 0.62$) 呈現中度正相關 ($P < 0.001$)，而精子前進活動力對精子存活率 ($r = 0.71$) 呈現顯著地高度正相關 ($P < 0.001$)。種蛋受精率對種蛋孵化率 ($r = 0.78$) 及受精蛋孵化率 ($r = 0.52$) 呈現高度與中度正相關 ($P < 0.001$)，但與早期胚胎死亡率 ($r = -0.52$) 及全期胚胎死亡率 ($r = 0.51$) 呈現顯著地中度負相關 ($P < 0.001$)，與晚期胚胎死亡率 ($r = -0.32$) 則呈現顯著地低度負相關 ($P < 0.001$)。種蛋受精率會影響種蛋孵化率、受精蛋孵化率、早期胚胎死亡率、晚期胚胎死亡率及全期胚胎死亡率 (表 5)。Hu *et al.* (2013) 指出公雞精液量與精子濃度具有中等遺傳率分別為 0.28 與 0.12，而精子存活率與精子活動力表現出高遺傳率分別為 0.52 與 0.85，且精子存活率和精子活動力之間的遺傳相關 ($r_A = 0.88$) 與表型相關 ($r_P = 0.59$) 很高。Feyisa *et al.* (2018) 分析韓國 4 個地方種雞與白羽來亨雞之精子型態缺陷、精子存活率、精子活動力、種蛋受精率及種蛋孵化率之相關性，發現種蛋受精率與精子活動力 ($r = 0.525$)、種蛋孵化率 ($r = 0.750$) 呈正相關。Tsfay *et al.* (2020) 指出根據精液品質性狀選擇公雞可以提高生育力，洛島紅公雞的種蛋受精率與精子活動力 ($r = 0.57$)、濃度 ($r = 0.43$)、精子存活率 ($r = 0.39$) 呈正相關 ($P < 0.05$)，而白來航公雞的種蛋受精率與精子活動力 ($r = 0.71$)、濃度 ($r = 0.39$) 呈正相關 ($P < 0.05$)。而 Mussa *et al.* (2023) 指出精液量與精子活動力 ($r = 0.303$) 呈正相關與本研究有所差異，原因應為本研究所分析的種公雞已經選留精液量 0.3 mL 以上與精子活動力 60% 以上所致。

種公雞 16 週齡體重與精子品質呈負相關，但對種蛋受精率與孵化率似乎影響不大，在本研究中發現種蛋受精率與孵化率在品系間存有顯著性差異，確實 L9 公雞 16 週齡平均體重較其他三個品系顯著地較輕，但其種蛋受精率與孵化率卻顯著地較其他三個品系差。而 L7 種公雞體重最重，其種蛋受精率與孵化率卻較 L9 種公雞者

表 5. 臺灣土雞近親品系台畜一號選育族群種公雞體重、精子品質、種蛋受精率、胚胎死亡率及孵化率之相關性分析

Table 5. Correlation analysis among body weight of cock, sperm quality traits, fertility, embryonic mortality and hatchability of G14 and G15 generation flock in the inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1

Item	BW16 [#]	Fertility	HHE	HFE	VS	CS	MO	PMO	VIA	REDE	RLDE	RTDE
BW16	1.000	-0.1724	-0.1256	-0.0135	0.0458	0.1366	-0.5698	-0.5698	-0.5404	0.0436	0.0408	0.0546
Fertility		0.0517	0.157	0.8803	0.6080	0.8783	***	***	***	0.6252	0.6472	0.5408
		1.000	0.7837	0.5228	-0.0163	0.1086	0.1058	0.0884	0.0414	-0.5152	-0.3175	-0.5135
			***	***	0.8550	0.2222	0.2346	0.3211	0.4627	***	***	***
THE			1.000	0.9085	0.0656	0.0165	0.0898	0.0777	0.0747	-0.6201	0.7650	0.9210
				***	0.4622	0.8535	0.3134	0.3832	0.4023	***	***	***
HFE				1.000	0.0511	-0.0414	0.0305	0.0278	-0.0028	-0.5740	-0.8724	-0.9825
					0.5667	0.6425	0.7327	0.7557	0.9751	***	***	***
VS					1.000	-0.0413	-0.4137	-0.4304	0.0514	0.0511	-0.0868	-0.0523
						0.6439	***	***	0.5642	0.5667	0.3300	0.5581
CS						1.000	-0.2455	-0.2740	-0.1676	-0.0414	-0.1421	0.1481
							**	**	0.0587	0.6425	0.1095	0.0953
MO							1.000	0.8949	0.6235	0.0305	-0.0141	-0.0843
								***	***	0.7327	0.8749	0.3440
PMO								1.000	0.7063	0.0278	0.0492	-0.1161
									***	0.7557	0.5812	0.1921
VIA									1.000	-0.0028	0.0092	-0.0869
										0.9751	0.9184	0.3294
REDE										1.000	0.1425	0.6216
											0.1086	***
RLDE											1.000	0.8639

RLDE												1.000

[#] BW16: Body weight of cock at 16 weeks of age, HHE: Hatchability of hatching eggs, HFE: Hatchability of fertilized eggs, VS: Volume of semen, CS: Concentration of semen, MO: CASA motility, PMO: CASA progressive motility, VIA: Viability, REDE: Rate of early embryonic mortality before 10 days in an incubator, RLDE: Rate of late embryonic mortality after 10 days in an incubator, RTDE: Rate of total embryonic mortality in an incubator, **: P < 0.01, ***: P < 0.001. N = 80.

佳，品系間的差異確實存在。此外，由於 L7 與 L12 種公雞分別為生產台畜公十一號與台畜母十二號的父系，牠們的種蛋受精率與孵化率都優於 L9 種公雞。

結 論

雖然種雞週齡、種蛋貯存天數、種公雞的精子品質皆會影響種蛋的受精率與孵化率，本研究以種雞 45 週齡進行配種繁殖，種公雞以精液量達 0.3 mL 以上、精子濃度達 3.0×10^9 個精子/mL 以上、精子活動力達 70% 以上、精子前進活動力達 30% 以上及公雞精液精子存活率達 60% 以上為選留標準，連續收集達 20 天的種蛋，貯存於 14°C 貯蛋室後進行孵化，兩個世代種雞之種蛋受精率、種蛋孵化率及受精蛋孵化率仍分別可達 91、77 及 83% 以上。使用此種公雞精子品質選留條件、延長收集種蛋天數可增加入孵蛋數與減少繁殖批次，以及較低溫貯蛋條件與自動翻蛋的作法，減少多批次繁殖的疫苗耗損、各項育種工作的人力與時間，以及選種時批次差異的考量，可以做為從事雞隻育種工作的參考。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會科技計畫 (110 農科 -2.5.3- 畜 -L2 與 111 農科 -2.5.3- 畜 -L3) 經費支持，試驗期間承蒙本所產業組同仁協助現場管理與資料收集，以及遺傳育種組同仁協助資料庫維護與資料建置，特此致謝。

參考文獻

- 李淵百、吳憲郎、林旻蓉、涂海南、張秀鑾、項延禮、趙清賢、賴元亮、蘇夢蘭。2001。臺灣商用土雞性能介紹：生長與屠體性能。行政院農業委員會畜產試驗所。臺南市。
- 林正鏞、林義福、徐阿里。2003。產蛋期限飼對種母土雞繁殖性能之影響。畜產研究 36：1-10。
- 林旻蓉、張仲彰、趙清賢、謝豪晃、陳添福、王治華、賈玉祥、鄭裕信、陳志峰、范揚廣、李淵百。2008。臺灣土雞群不同雜交組合之種蛋受精率、孵化率及胚胎死亡率的比較。中畜會誌 37：221-231。
- 林德育、賴永裕、蔡銘洋、劉曉龍、洪哲明、朱家德、張秀鑾、吳明哲、曾淑貞。2022。高產蛋數臺灣土雞近親品系台畜一號之選育。畜產研究 55：180-192。
- 林德育、鍾秀枝、黃鈺嘉、黃祥吉、林義福、張秀鑾、吳明哲。2009。畜試土雞近親品系九與來亨雞正反雜交後裔之生長與繁殖性能。畜產研究 42：319-326。
- 馬春祥。1993。家禽學 (上冊)。黎明文化事業股份有限公司，臺北市。p. 192。
- 劉曉龍、林義福、鄭裕信、洪哲明、謝昭賢。2010。絲羽烏骨雞產蛋性狀之遺傳參數估算。中畜會誌 39：229-237。
- 戴謙、張秀鑾、鍾秀枝、黃祥吉。1996。臺灣土雞之近親育種：III、近親品系間雜交對生長及產蛋性能之影響。中畜會誌 25：451-465。
- 戴謙、鍾秀枝、張秀鑾、黃祥吉。1997。臺灣土雞之近親育種：IV、近親品系二元雜交後裔之生長及繁殖性能之田間評估。中畜會誌 26：187-196。
- Abioja, M. O., J. A. Abiona, O. F. Akinjute, H. T. Ojoawo, V. A. Adebowale, O. Basit, and O. O. Peter. 2022. Research note: effect of egg storage length on spread of hatch window, chick quality, and organ development in Transylvanian naked neck chickens. *Poult. Sci.* 101: 101834.
- Adegbenjo, A. O., L. Li, and O. N. Michael. 2020. Non-destructive assessment of chicken egg fertility. *Sensors* 20: 5546.
- Beaumont, C., N. Millet, E. Le Bihan-Duval, A. Kipi, and V. Dupuy. 1997. Genetic parameters of survival to the different stages of embryonic death in laying hens. *Poult. Sci.* 76: 1193-1196.
- Churchil, R. R., L. John, P. E. Praveena, and S. Cyriac. 2019. Strain and age related changes of semen attributes in white leghorn roosters. *Int. J. Chem. Stud.* 7: 1838-1842.
- Dubey, R. A., D. C. Johari, R. P. Singh, and B. P. Singh. 1977. A study of artificial insemination in relation to fertility and hatchability in white Leghorn birds. *Indian Vet. J.* 54: 116-118.
- Ebeid, T. A., F. A. Twfeek, M. H. Assar, A. M. Bealish, R. E. Abd El-Karim, and M. Ragab. 2017. Influence of pre-storage

- incubation on hatchability traits, thyroid hormones, antioxidative status and immunity of newly hatched chicks at two chicken breeder flock ages. *Animal* 11: 1966-1974.
- Fasenko, G. M. 2007. Egg storage and the embryo. *Poult. Sci.* 86: 1020-1024.
- Fasenko, G. M., F. E. Robinson, A. I. Whelan, K. M. Kremeniuk, and J. A. Walker. 2001. Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs: 1. Effects on hatchability. *Poult. Sci.* 80: 1406-1411.
- Feyisa, S. G., Y. H. Park, Y. M. Kim, B. R. Lee, K. M. Jung, S. B. Choi, C. Y. Cho, and J. Y. Han. 2018. Morphological defects of sperm and their association with motility, fertility, and hatchability in four Korean native chicken breeds. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 31: 1160-1168.
- Hu, J., J. L. Chen, J. Wen, G. P. Zhao, M. Q. Zheng, R. R. Liu, W. P. Liu, L. H. Zhao, G. F. Liu, and Z. W. Wang. 2013. Estimation of the genetic parameters of semen quality in Beijing-You chickens. *Poult. Sci.* 92: 2606-2612.
- Ishaq, M., M. Akram, M. E. Baber, A. S. Jatoi, A. W. Sahota, K. Javed, S. Mehmood, J. Hussain, and F. Husnain. 2014. Embryonic mortality in Cobb broiler breeder strain with three egg weight and storage periods at four production phases. *J. Anim. Plant Sci.* 24: 1623-1628.
- King'ori, A. M. 2011. Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *Int. J. Poult. Sci.* 10: 483-492.
- Kuurman, W. W., B. A. Bailey, W. J. Koops, and M. Grossman. 2003. A model for failure of a chicken embryo to survive incubation. *Poult. Sci.* 82: 214-222.
- McGary, S., I. Estevez, M. R. Bakst, and D. L. Pollock. 2002. Phenotypic traits as reliable indicators of fertility in male broiler breeders. *Poult. Sci.* 81: 102-111.
- Mocé, E. and J. K. Graham. 2008. In vitro evaluation of sperm quality. *Anim. Reprod. Sci.* 105: 104-118.
- Mohan, J., S. Sharma, G. Kolluri, and K. Dhama. 2018. History of artificial insemination in poultry, its components and significance. *World's Poult. Sci. J.* 74: 475-488.
- Mottet, A. and G. Tempio. 2017. Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *World's Poult. Sci. J.* 73: 245-256.
- Mussa, N. J., W. Boonkum, and V. Chankitisakul. 2023. Semen quality traits of two Thai native chickens producing a high and a low of semen volumes. *Vet. Sci.* 10: 73.
- Muvhali, P. T., M. Bonato, I. A. Malecki, and S. W. P. Cloete. 2022. Mass sperm motility is correlated to sperm motility as measured by Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) technology in farmed Ostriches. *Animals* 12(9): 1104.
- Nasri, H., H. Van den Brand, T. Najjar, and M. Bouzouaia. 2020. Egg storage and breeder age impact on egg quality and embryo development. *Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 104: 257-268.
- Noiva, R. M., A. C. Menezes, and M. C. Peleteiro. 2014. Influence of temperature and humidity manipulation on chicken embryonic development. *BMC Vet. Res.* 10: 234.
- Nowaczewski, S., M. Babuszkiewicz, T. Szablewski, K. Stupe-Szablewska, R. Cegielska-Radziejewska, Ł. Tomczyk, S. Kaczmarek, A. Sechman, M. W. Lis, M. Kwaśniewska, P. Racewicz, Ł. Jarosz, A. Ciszewski, T. Nowak, and M. Hejdysz. 2022. Effect of weight and storage time of broiler breeders' eggs on morphology and biochemical features of eggs, embryogenesis, hatchability, and chick quality. *Animal* 16: 100564.
- Pawłowska, J. and E. Sosnowka-Czajka. 2019. Factors affecting chick quality in Poland. *World. Poult. Sci. J.* 75: 621-632.
- Pokhrel, N., D. Sela-Dnenfeld, and Y. Cinnamon. 2021. The chick blastoderm during diapause, a landmark for optimization of preincubation storage conditions. *Poult. Sci.* 100: 101227.
- Reijrink, I. A. M., R. Meijerhof, B. Kemp, and H. van den Brand. 2010. Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryonic development, hatchability, and chick quality. *Poult. Sci.* 89: 2470-2483.
- SAS. 2012. SAS/STAT User's Guide, Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Scott, T. A. and C. J. Mackenzie. 1993. Incidence and classification of early embryonic mortality in broiler breeder chickens. *Br. Poult. Sci.* 34: 459-470.
- Svoradova, A., L. Kuzelova, J. Vasicek, A. Balazi, L. Olexikova, A. Makarevich, and P. Chrenek. 2021. Perspective: rooster spermatozoa cryopreservation and quality assessment. *Cryo Letters* 42: 59-66.
- Tesfay, H. H., Y. Sun, Y. Li, L. Shi, J. Fan, P. Wang, Y. Zong, A. Ni, H. Ma, A. I. Mani, and J. Chen. 2020. Comparative studies of semen quality traits and sperm kinematic parameters in relation to fertility rate between 2 genetic groups of

- breed lines. *Poult. Sci.* 99: 6139-6146.
- Tona, K., F. Bamelis, W. Coucke, V. Bruggeman, and E. Decuypere. 2001. Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions. *J. Appl. Poult. Res.* 10: 221-227.
- Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan, and E. Decuypere. 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.* 82: 736-741.
- Tona, K., O. Onagbesan, B. De Ketelaere, E. Decuypere, and V. Bruggeman. 2004. Effects of age of broiler breeders and egg storage on egg quality, hatchability, chick quality, chick weight, and post hatch growth to forty-two days. *J. Appl. Poult. Res.* 13: 10-18.
- Tunsisa, L. Y. and K. B. Reda. 2023. Evaluation of fertility, hatchability and egg quality of indigenous chickens in different agro-ecologies of the Sidama Region, Ethiopia. *Vet. Integ. Sci.* 21: 201-219.
- Whitehead, C., M. Maxwell, R. Pearson, and K. Herron. 1985. Influence of egg storage on hatchability, embryonic-development and vitamin status in hatching broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* 26: 221-228.
- Wondmeneh, E., I. Dawud, and M. Adey. 2011. Comparative evaluation of fertility and hatchability of Horro, Fayoumi, Lohmann Silver and Potchefstroom Koekoek breeds of chicken. *Asian J. Poult. Sci.* 5: 124-129.
- Yoo, B. H. and E. Wientjes. 1991. Rate of decline in hatchability with preincubation storage of chicken eggs depends on genetic strain. *Br. Poult. Sci.* 32: 733-740.
- Zakaria, A. H., P. W. Plumstead, H. Romero-Sanchez, N. Lekrisompong, and J. Brake. 2009. The effects of oviposition time on egg weight loss during storage and incubation, fertility, and hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 88: 2712-2717.

Study on fertility and hatchability of high egg-production inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1 ⁽¹⁾

Der-Yuh Lin ⁽²⁾ Yung-Yu Lai ⁽²⁾ Min-Yang Tsai ⁽³⁾ Che-Ming Hung ⁽³⁾
Chai-Te Chu ⁽²⁾ and Shwu-Jen Tzeng ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Received: Sep. 8, 2023; Accepted: May 23, 2024

Abstract

Reducing breeding batches can reduce batch variations, labor and expenses in genetic selection for breeding. Furthermore, prolonging the duration of egg collection and storage can reduce batches required for chicken breeding and renewal. In this study, we used Taiwan native chicken inbreeding lines Taisui No. 1 (L7, L9, L11, and L12 lines) to conduct one batch of incubation to produce the next generation and improve the flock. Besides, the sperm quality of roosters was analyzed to explore its effect on fertility, embryonic mortality and hatchability of breeding eggs. The results showed that the body weight at 16-week-old, semen volume, concentration, motility, and progressive motility of breeder roosters were significantly different among the lines ($P < 0.05$), but there were no significant differences in the viability of sperms among the various lines. Moreover, the fertility and hatchability of breeding eggs, hatchability of fertilized eggs, early and late embryo mortality, and full-term mortality of breeding eggs were significantly different among lines ($P < 0.05$). There were significant differences between generations in the hatchability of fertilized eggs and early embryonic mortality of hatching eggs ($P < 0.01$). Breeder roosters were then selected with the semen volume > 0.3 mL, sperm concentration $> 3.0 \times 10^9$ /mL, sperm motility $> 70\%$, sperm progressive motility $> 30\%$, and viability $> 60\%$ and hatching eggs were continuously collected for 20 days and stored at 14°C before hatching. The average fertility of hatching eggs, hatchability of hatching eggs and of fertilized eggs were achieved up to 91%, 77%, and 83%, respectively. These parameters in breeding rooster selection, egg retention conditions and breeding process can be used as a reference for chicken breeding.

Key words: Chickens, Sperm progressive motility, Fertility, Hatchability.

(1) Contribution No. 2791 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Livestock Management Division, MOA-TLRI, HsinHua Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Department of Medical Laboratory Science and Biotechnology, Chung Hwa University of Medical Technology, Tainan 717, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: shwu-jen20200626@gmail.com.

以生乳中懷孕相關醣蛋白濃度進行阿爾拜因山羊 多胎懷孕早期預測⁽¹⁾

陳珮彤⁽²⁾ 楊明桂⁽²⁾ 許佳憲⁽³⁾ 葉亦馨⁽²⁾ 陳怡璇⁽²⁾ 涂柏安⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：113 年 4 月 1 日；接受日期：113 年 5 月 24 日

摘 要

懷孕早期若能確認阿爾拜因山羊的胎羊數量，將有利於飼養人員根據胎羊數量進行對應之飼養管理。本試驗收集 348 頭懷孕阿爾拜因山羊之乳樣，分成懷孕第 33、43、49、57、65、71、78、85 與 94 天進行乳中懷孕相關醣蛋白 (pregnancy associated glycoprotein, PAG) 濃度的分析。試驗羊隻分娩頭數 1、2 及 3 頭以上的分別佔 21、71 及 8%。以接受者操作特徵曲線分析在懷孕不同天數下以乳中 PAG 不同濃度閾值判定多胞胎懷孕羊的曲線下面積。分析結果顯示，在懷孕 49 及 57 天，分別以乳中 PAG 閾值為 1.208 及 2.643 作為多胞胎懷孕羊的判斷，其曲線下面積分別為 0.903 及 1。進一步以典型判別函數分析乳中 PAG 不同濃度閾值及懷孕天數進行多胞胎與單雙胞胎懷孕羊的判定，評估兩者組間差異是否有顯著的差異。結果顯示，自懷孕天數 49 天開始，Wilk's Lambda 值為 0.786，代表懷有多胞胎與單雙胞胎母羊之乳中 PAG 濃度具有顯著差異 ($P < 0.01$)；而當懷孕天數達 57 天，Wilk's Lambda value 為 0.104，表示懷有多胞胎與單雙胞胎母羊之乳中 PAG 濃度具有極顯著差異 ($P < 0.001$)，故懷孕 49 至 57 天時皆可應用乳中 PAG 濃度區分本次分娩為多胞胎與單雙胞胎胎兒。綜上所述，懷孕 49 至 57 天時為使用乳中 PAG 篩選及判定懷孕阿爾拜因山羊為多胞胎與單雙胞胎之最理想時間點。

關鍵詞：阿爾拜因山羊、懷孕相關醣蛋白、胎羊數量。

緒 言

由於能量需求與飼養管理的不同，懷孕母羊會與未懷孕母羊分群飼養。目前懷孕診斷大多使用超音波進行檢測，但使用超音波進行懷孕頭數的判定會受到操作人員的判讀經驗影響 (Han *et al.*, 2012)，因此至今仍未有良好懷孕頭數判定方式。懷孕山羊若為多胞胎 (胎兒數量 ≥ 3) 時，其營養代謝與胎兒發育的需求會與單胞胎與雙胞胎山羊顯著不同，包含能量、蛋白質及礦物質的需求，且會隨著懷孕天數導致能量需求漸增 (El-Sayed *et al.*, 2022; Mongini and Van Saun, 2023)。若能量攝取不足則可能會增加母羊酮症 (ketosis) 與妊娠毒血症 (toxemia) 的發生 (Ji *et al.*, 2023)，故盡早確認母羊的懷孕頭數並給予不同的照護將可以減少疾病的發生 (Dinç *et al.*, 1994)。

懷孕相關醣蛋白 (pregnancy associated glycoprotein, PAG) 屬於不活性的天門冬胺酸蛋白酶家族 (aspartic proteinase) 的一員，為反芻動物之胎盤衍生物，經胎盤滋養層的雙核細胞 (binucleated cells) 所分泌 (Singh *et al.*, 2019a)。Singh *et al.* (2019a) 利用酵素免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 測定懷孕巴巴里山羊 (Barbari goats) 血漿山羊妊娠相關醣蛋白 (caprine pregnancy-associated glycoprotein, caPAG) 濃度，結果顯示懷孕 28 天母羊血漿 caPAG 濃度顯著高於未懷孕母羊，表示懷孕與否會影響血漿中 caPAG 濃度。在懷孕天數上，血漿 caPAG 濃度會於懷孕 22 天開始升高、懷孕 45 天達高峰並在分娩後快速下降，於分娩後 14 天達基礎值 (Singh *et al.*, 2019a)。此外，懷有雙胞胎母羊之血漿 PAG 濃度在懷孕 28 天開始顯著高於懷單胞胎的母羊 (Singh *et al.*, 2019a)，且在懷孕中期及末期時測定血漿 caPAG 濃度，懷雙胞胎之母羊濃度約較懷單胞胎母羊高 1.4 – 1.8 倍 (Singh *et al.*, 2019a)。由上述文獻可知，血漿 PAG 濃度會受到懷孕階段及胎數的影響。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2792 號。

(2) 農業部畜產試驗所北區分所。

(3) 農業部畜產試驗所南區分所。

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

然而，過去文獻多為測定血中 PAG 濃度，但在採集血液屬於侵入性行為，且採集過程中可能會因為保定與入針等問題造成羊隻緊迫 (Gajewski *et al.*, 2008)；乳羊在泌乳期時需每天擠乳，擠乳屬於非侵入性行為，其所造成的緊迫遠較於採血低且尚不需要專業的採血技能及儲存血液的方法。因此，若能在每日例行性擠乳的過程中收集乳樣，測定懷孕山羊生乳 PAG 濃度，可避免因採血所造成的緊迫 (Gajewski *et al.*, 2008)。過去已有許多文獻表明，血中的 PAG 濃度約為生乳中濃度 2.0 倍 (Singh *et al.*, 2019b; Sharma *et al.*, 2020)。因此，使用生乳測定 PAG 濃度應為可行之方式。此外，生乳中 PAG 濃度亦會受到懷孕胎數多寡與懷孕天數影響 (楊等, 2022)。

因此，本試驗將於人工配種後 33 日開始每周採樣一次，於擠乳時進行收集阿爾拜因 (Alpine goats) 懷孕母羊之乳樣，測定其乳中 PAG 濃度，找出乳中 PAG 濃度可用於區別胎數的閾值 (threshold) 並分析最佳判定胎數的時間點，以作為後續懷孕胎數的預測參考。

材料與方法

I. 試驗動物管理與和生乳樣本收集

本試驗使用 348 頭阿爾拜因經產母羊 (3 – 5 胎) 進行發情同期化處理並配種。在執行配種後 45 至 50 日以超音波 (ALOKA Prosound 2, Japan) 進行懷孕檢測，並根據超音波所顯示之胚、胎膜與胎兒判定為懷孕。確認懷孕的羊隻會進行後續試驗，並記錄分娩的仔羊頭數。懷孕期間的採樣時間點參考楊等 (2022) 及 Shahin *et al.* (2013)，本試驗之羊乳樣本自配種後 33 日始採集，每週採集一次直到懷孕 94 天。採集時機點主要於擠乳之前採集 1 mL 的羊乳至無菌離心管中，並將其保存在 4°C 送至農業部畜產試驗所北區分所牛乳檢驗室，於檢驗前將樣本回溫至室溫待測。

II. ELISA 檢測分析生乳樣品 PAG 濃度

生乳 PAG 濃度測定使用懷孕生乳 PAG 檢測套組 (Milk Pregnancy Test Kit, IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, USA)。該套組主要使用 ELISA 進行測定。每盤 96 孔盤有 2 孔陽性控制組 (positive control, PC) 及 2 孔陰性控制組 (negative control, NC)。將 96 孔盤放入 37°C 烘箱內震盪 2 小時均勻培養後，使用分光光度計 (SpectraMax® Absorbance Reader CMax Plus, USA) 以 450 與 630 nm 波長下測定 96 孔盤中生乳樣本的 PAG 吸光值 (optical density, OD)。計算 2 個 PC 及 NC 平均值為 PC mean 及 NC mean，確認 PC mean 減 NC mean 之平均值須大於 0.5，NC mean 須小於 0.2，檢測結果方具有可信度。生乳 PAG 濃度定量計算方式則為使用樣品 OD 值減 NC 平均值，乃 PAG 值，為 Sample-negative value (S-N value)。當 OD 值減 NC 平均值之差值大於 0.25 (包含 0.25) 時為陽性，即判定懷孕，低於 0.25 (不包含 0.25) 則為陰性，即判定未懷孕。

III. 統計分析

統計分析採用 JMP 軟體 (SAS Institute Inc., Cary, NC) (SAS, 2014) 執行。本研究使用 SAS 分析不同懷孕天數的阿爾拜因山羊生乳中 PAG 濃度以接受者操作特性 (receiver operating characteristic, ROC) 分析建立多胎性預測模型，並以曲線下面積 (area under the curve, AUC) 用於找出對於阿爾拜因多胎性準確度最高的預測最佳時間點，判斷最佳切點則根據 Youden index = 敏感性 (sensitivity) + 特異性 (specificity) – 1 的最大值進行判定，後續以判別函數進一步基於各變量之線性組合評估典型判別函數 (canonical discriminant analysis, CDA) 係數，進一步確認不同採樣時間點 (懷孕第 33、43、49、57、65、71、78、85 與 94 天) 之間區分精確度。計算 Wilk's Lambda 值以評估多胎性對不同懷孕天數山羊生乳中 PAG 濃度的整體顯著性；當 Wilk's Lambda 值顯著小於 1 時，可以認定為多胎性對不同懷孕天數山羊生乳中 PAG 濃度有顯著影響。

結 果

I. 以 ROC curve 分析阿爾拜因母羊乳中 PAG 不同閾值及懷孕天數判定多胞胎懷孕羊

本試驗收集 348 頭懷孕阿爾拜因山羊之乳樣，原預計自人工受精後 10 日始收集以檢測早期懷孕，惟未能分辨懷孕與否，因此改在第一個高峰點 (33 天) 開始採樣。乳中 PAG 濃度分成懷孕早期 (33 – 43 日)、懷孕中期 (49 – 78 天) 及懷孕末期 (85 – 94 天) 進行分析。為了能在懷孕早期即有效確認阿爾拜因山羊的懷孕頭數，以利飼養人員根據懷孕頭數進行對應之飼養管理。以 ROC curve 在懷孕不同天數下以乳中 PAG 不同濃度閾值判定多胞胎懷孕羊的敏感性、特異性及 AUC 值如表 1，其中敏感性為真陽性率，1- 特異性則代表假陽性率，AUC 值則介於 0 至 1，值越大代表所使用的 PAG 濃度閾值進行判定的準確度越高。本試驗懷孕阿爾拜因山羊分娩頭

數 1、2 及 3 頭以上的分別佔 21、71 及 8%。在 ROC curve 分析中，AUC 大於 0.9 即代表此判定準確度高，本試驗進一步以 Youden index 作為最佳切點之判定指標，Youden index 計算時是以敏感性與特異性百分比之和減 1，其值範圍介於 -1 至 1，越接近 1 代表預測模型敏感性及特異性高，反之越接近 0 則表示預測模型預測能力低，結果顯示懷孕第 33、43 及 49 天 Youden index 分別為 0.677、0.806、0.806，懷孕第 57、65、71、78、85 及 94 天，Youden index 之值皆為 1，顯示使用乳中 PAG 篩選懷有多胞胎的母羊最佳之時間亦在懷孕第 49 至 57 天。

表 1. 以接收者操作特徵曲線分析阿爾拜因山羊羊乳中懷孕相關醣蛋白不同濃度閾值及懷孕天數下，判定多胞胎懷孕羊的敏感性、特異性及曲線下面積

Table 1. Result of ROC curve analysis [Se, Sp and AUC] of milk pregnancy-associated glycoprotein (PAG) ELISA assessment for determination of multiple (> 2) fetuses based on different threshold values of PAG concentration at different days of gestation in Alpine goats

Days of pregnancy	PAG threshold values (S-N value)*	Se (%)	Sp (%)	AUC and P value	95% Confidence interval	
					Lower bound	Upper bound
33	0.300	100.0	67.7	0.720 (P = 0.006)	0.563	0.878
43	0.446	100.0	80.6	0.828 (P < 0.001)	0.696	0.960
49	1.208	100.0	80.6	0.903 (P < 0.001)	0.785	1.000
57	2.643	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000
65	3.326	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000
71	3.421	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000
78	3.756	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000
85	2.126	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000
94	3.146	100.0	100.0	1.000 (P < 0.001)	1.000	1.000

* S-N value : Sample-negative value

Se: Sensitivity

Sp: Specificity

AUC: Area under curve

II. CDA 分析阿爾拜因母羊乳中 PAG 不同閾值及懷孕天數區分多胞胎及單雙胞胎懷孕羊

為評估多胎性或單雙胞胎對不同懷孕天數阿爾拜因山羊乳中 PAG 濃度組間效應，進一步以 CDA 進行乳中 PAG 不同濃度閾值及懷孕天數進行多胞胎與單雙胞胎懷孕羊的判定，評估兩者組間差異是否有顯著的差異。CDA 分析是以 Wilk's Lambda value 進行判定，其值範圍介於 0 至 1，越接近 0 代表組間影響越大，反之越接近 1，則組間影響越小。CDA 分析結果如表 2，結果顯示自懷孕天數 49 天開始，Wilk's Lambda value 為 0.786，代表懷有多胞胎與單雙胞胎母羊之生乳中 PAG 濃度具有顯著差異 (P < 0.01)；而當懷孕天數達 57 天，Wilk's Lambda value 為 0.104，表示懷有多胞胎與單雙胞胎母羊之乳中 PAG 濃度具有極顯著差異 (P < 0.001)，顯示懷孕 49 至 57 天皆可有效地利用乳中 PAG 濃度區分多胞胎及單雙胞胎懷孕羊。

討 論

當母體懷孕時，會出現免疫耐受 (immune tolerance)，即母體的免疫系統會辨別胎兒及胎盤中的抗原，避免產生過度的免疫反應 (Bainbridge, 2000; Abu-Raya *et al.*, 2020)。目前反芻動物約有 100 多種 PAG，主要都由胎盤所分泌 (Xie *et al.*, 1997)。在 Wooding *et al.* (2005) 的研究中顯示，PAG 分布在單核滋養層細胞 (mononucleate trophoblast cells) 頂端微絨毛表面分布及雙核滋養層細胞。因此，PAG 在懷孕時扮演著重要的角色，其可調節母體的免疫屏障及維持免疫平衡 (Wooding *et al.*, 2005)。而當母體懷有多胞胎時，因胎兒與胎盤數量增加之緣故，母體所經歷的免疫挑戰可能更大 (Dotters-Katz *et al.*, 2015)。

母羊早期懷孕診斷可針對飼養管理及產乳量等問題給予照護，尤其以多胞胎懷孕羊更需要精準的飼養管理。懷有多胞胎的羊若無法攝取充足的能量達到代謝需求，羊隻體內會開始進行體脂肪分解，多胞胎懷孕羊血液中非酯化脂肪酸 (non-esterified fatty acid, NEFA) 與 β - 羥基丁酸 (β -hydroxybutyrate, BHBA) 濃度在分娩前 5 週顯著高於單胞胎懷孕羊，分別為單胞胎懷孕羊的 2.1 與 3.7 倍 (Moallem *et al.*, 2012)。過量的 NEFA 與 BHBA 會於肝臟中代謝成酮

表 2. 判別函數分析以酵素結合免疫吸附分析法測量阿爾拜因山羊乳中懷孕相關糖蛋白不同濃度閾值及懷孕天數進行多胞胎與單及雙胞胎懷孕羊之判定結果

Table 2. Canonical discriminant analysis results for discrimination of single or twin fetuses from multiple (> 2) fetuses with milk pregnancy-associated glycoprotein (PAG) enzyme-linked immunosorbent assay assessment at different days of pregnancy in Alpine goats

Canonical discriminant function coefficients	Days of pregnancy									
	33	43	49	57	65	71	78	85	94	
Wilks' Lamda value	0.993	0.996	0.786**	0.104***	0.179***	0.255***	0.317***	0.278***	0.068***	
Unstandardized coefficients	4.110	2.276	2.369	4.213	2.689	2.198	1.826	3.469	4.802	
Group centroids	-0.025	-0.020	-0.157	-0.885	-0.647	-0.515	-0.443	-0.486	-1.115	
Eigenvalue	0.253	0.208	1.627	9.150	6.684	5.324	4.581	5.022	11.526	
% of variance	0.007	0.004	0.272	8.608	4.594	2.915	2.158	2.593	13.659	
Canonical correlations	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
	0.081	0.067	0.463	0.947	0.906	0.863	0.827	0.850	0.965	

** indicates a significant difference (P < 0.01).

*** indicates a highly significant difference (P < 0.001).

體，增加懷孕羊妊娠毒血症的發生率 (Ji *et al.*, 2023)。PAG 為不活化的天門冬胺酸家族成員之一，已經有許多研究指出其可做為反芻動物早期懷孕診斷的指標，甚至是胎兒數目的預測 (Hussein *et al.*, 2017)。因此，若能透過測定乳中 PAG 濃度在懷孕時的濃度變化，儘早區分胎兒數目，有助於在懷孕早期改善多胞胎懷孕羊的營養狀態，減少酮症與妊娠毒血症等疾病的發生。

本試驗利用 ROC curve 分析生乳中 PAG 不同濃度的閾值及懷孕天數下判定多胞胎懷孕羊的敏感性、特異性及曲線下面積。結果顯示懷孕 33 及 43 天的敏感性皆為 100%，但特異性僅為 67.7 及 80.6%，AUC 分別為 0.720 及 0.828，此結果顯示懷孕 33 及 43 天篩選多胞胎懷孕羊的準確度不足，可能會誤判定單雙胞胎懷孕羊為多胞胎懷孕羊。懷孕 49 天生乳中 PAG 濃度閾值為 1.208 時，敏感性 100%、特異性 80.65% 且 AUC 為 0.903；而懷孕至 57 天時 PAG 濃度閾值為 2.643，敏感性與特異性皆為 100% 且 AUC 為 1。上述結果顯示懷孕至 57 天時可高度準確地篩選出多胞胎懷孕羊。在楊等 (2022) 的研究中顯示，多胞胎懷孕羊的乳中 PAG 濃度會在懷孕 49 天時開始顯著高於單雙胞胎的濃度直到懷孕 94 天。而在本試驗中，懷孕 49 天時對於乳中 PAG 濃度的判定已具有一定程度的準確度 (80.65%)，與楊等 (2022) 實驗結果相符。另外，相似的結果在 Singh *et al.* (2019a) 研究中顯示，當懷孕天數超過 45 天且血中 PAG 閾值為 0.830 時，其敏感性 88.9%、特異性 70.4% 且 AUC 為 0.897，表示此閾值對於區別單雙胞胎為合適的。在本試驗中的乳中 PAG 閾值 1.208 雖高於 Singh *et al.* (2019a) 的數值 0.830，但推測可能因 Singh *et al.* 所計算之閾值為血中 PAG 濃度且為區分單胞胎與雙胞胎懷孕羊。此外，Singh *et al.* (2019a) 的研究所測定的目標物種為印度巴巴里山羊，與本試驗的阿爾拜因山羊不同。研究指出，懷孕 60 天時 Lacaune 乳羊的 PAG 濃度約高於 Sarda 乳羊 60%。因此推論山羊品種可能也是影響 PAG 濃度的因素之一 (De Carolis *et al.*, 2020)。另外，本試驗為測定生乳中 PAG 濃度，其閾值 1.208 是用於區分單雙胞胎與多胞胎懷孕羊。此外，部分研究表明，血中的 PAG 濃度約為乳中之 1.9 – 2.0 倍 (Singh *et al.*, 2019b)，換算血中閾值 0.830 為乳中閾值約 0.415，該數值與楊等 (2022) 研究顯示懷孕 49 天時單雙胞胎乳中 PAG 濃度相似，因此推測胎數可能是主要 PAG 濃度閾值較高的原因。值得注意的是，Singh *et al.* (2019a) 用於區分胎兒數量的時間點為懷孕 45 天之後，亦與楊等 (2022) 指出懷孕中期之 PAG 濃度會與懷孕頭數有關，因此可作為本試驗之判定時間點 (懷孕 49 至 57 天) 之佐證。

本試驗利用 COA 測定不同懷孕天數乳中 PAG 濃度，進行單雙胞胎與多胞胎的判定。由結果可知，懷孕 49 天時 Wilk's Lambda value 為 0.786，表示單雙胞胎懷孕羊與多胞胎懷孕羊的乳中 PAG 濃度具有顯著差異 ($P < 0.01$)。當懷孕 57 天時 Wilk's Lambda value 為 0.104，此時則代表單雙胞胎懷孕羊與多胞胎懷孕羊的乳中 PAG 濃度具有極顯著差異 ($P < 0.001$)，表示乳中 PAG 濃度在懷孕 49 – 57 天即可開始區別胎兒數量，本試驗亦應用 Youden index 判定最佳檢測時間切點亦在懷孕第 49 – 57 之間。另有其他表明，懷孕 45 天時血清中 PAG 濃度在不同懷孕胎數上具有顯著差異，其濃度分別是三胞胎懷孕羊為 58.23 ± 2.64 、雙胞胎懷孕羊為 48.55 ± 2.86 及單胞胎懷孕羊為 34.77 ± 1.53 ng/mL，即懷孕 45 天時可利用 PAG 濃度區分胎兒數量 (Hussein *et al.*, 2017)。同樣地，在其他研究中具有相似的結果，懷孕 49 天時多胞胎懷孕羊的乳中 PAG 濃度顯著高於單雙胞胎懷孕羊，然而，單胞胎與雙胞胎懷孕羊乳中 PAG 濃度在 49 天無顯著差異 (楊等, 2022)，推測可能與單雙胞胎懷孕羊之能量需求差異甚小所致。在 Hussein *et al.* (2017) 的研究中使用血清測定懷孕羊 PAG 濃度，而在楊等 (2022) 則是使用懷孕羊的乳樣進行測定。兩篇文獻測定的目標物雖不同，但血液與乳中 PAG 濃度兩者具有高度正相關 ($\beta_1 = 0.6918$ 且 $R^2 = 0.64$) (Singh *et al.* 2019a)，且兩者在懷孕 32 天之後測定懷孕之準確度皆可達 92 及 89%；同時，根據上述兩篇文獻可知應用血中與乳中 PAG 濃度判定胎數的時間點相當接近，故使用生乳 PAG 濃度應可在懷孕 49 – 57 天判定是否為多胞胎懷孕。

結 論

由本試驗結果可知，當懷孕 49 天時已可藉乳中 PAG 濃度篩選多胞胎懷孕羊，且當懷孕 57 天時可藉乳中 PAG 濃度區別單雙胞胎與多胞胎懷孕羊。因此，懷孕 49 至 57 天時為使用乳中 PAG 篩選及判定懷孕阿爾拜因山羊懷孕頭數之最理想時間點。此結果將可提供羊農盡早得知羊隻的懷孕胎數，並給予精準的飼養管理，期望改善母羊代謝性疾病的發生。

致 謝

本研究承農業部之研究經費【111 農科 – 2.1.2 – 畜 – L1(4)】，由社團法人中華民國乳業協會檢驗組同仁鄭楹諶與張勝保先生、北區分所牛乳檢驗室羅瑩與宋春蓮小姐提供試驗方面之協助，使試驗得以順利完成，特此誌謝。

參考文獻

- 楊明桂、蘇展樑、林宗毅、涂柏安。2022。阿爾拜因山羊生乳中懷孕相關糖蛋白濃度與分娩頭數之關係。畜產研究 55 : 213-220。
- Abu-Raya, B., C. Michalski, M. Sadarangani, and P. M. Lavoie. 2020. Maternal immunological adaptation during normal pregnancy. *Front. Immunol.* 11: 575197.
- Bainbridge, D. R. J. 2000. Evolution of mammalian pregnancy in the presence of the maternal immune system. *Rev. Reprod.* 5: 67-74.
- De Carolis, M., O. Barbato, G. Acuti, M. Tralbalza-Marinucci, N. Melo de Sousa, C. Canali, and L. Moscati. 2020. Plasmatic profile of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during gestation and postpartum in sarda and lacune sheep determined with two radioimmunoassay systems. *Animals* 10: 1502.
- Diñç, D. A., İ. Taşal, H. Erdem, A. Semacan, and S. Aral. 1994. Koyunlarda transabdominal ultrasonografi ile yavru sayımı. *Vet. Bil. Derg.* 10: 81-83.
- Dotters-Katz, S. K., E. Patel, C. A. Grotegut, and R. P. Heine. 2015. Acute infectious morbidity in multiple gestation. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2015: 1-6.
- El-Sayed, O., M. M. M. Kandiel, K. Gh. M. Mahmoud, M. E. A. Abou-El-Roos, and S. Ibrahim. 2022. Changes in alpha-fetoprotein, phosphorus, calcium, and metabolic hormones in goats had singleton, twin, and triplet pregnancy. *Egypt. J. Vet. Sci.* 53: 15-23
- Gajewski, Z., N. Melo de Sousa, J.-F. Beckers, B. Pawlinski, M. Olszewska, R. Thun, and M. Kleczkowski. 2008. Concentration of bovine pregnancy associated glycoprotein in plasma and milk: its application for pregnancy diagnosis in cows. *J. Physiol. Pharmacol.* 59: 55-64.
- Han, R. X., H. R. Kim, Y. F. Diao, M. G. Lee, and Di. Jin. 2012. Detection of early pregnancy-specific proteins in Holstein milk. *J. Proteomics.* 75: 3221-3229.
- Hussein, M., E. Wael, A. Deghedy, A. El-Desouky, and A. Ramoun. 2017. Serum concentration of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) as a predictor for embryonic/fetal losses and fetal numbers in cross-bred ewes. *J. Life Sci.* 14: 106-111.
- Ji, X., N. Liu, Y. Wang, K. Ding, S. Huang, and C. Zhang. 2023. Pregnancy toxemia in ewes: A review of molecular metabolic mechanisms and management strategies. *Metabolites* 13: 149.
- Moallem, U., A. Rozov, E. Gootwine, and H. Honig. 2012. Plasma concentrations of key metabolites and insulin in late-pregnant ewes carrying 1 to 5 fetuses. *J. Anim. Sci.* 90: 318-324.
- Mongini, A. and R. J. Van Saun. 2023. Pregnancy toxemia in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 39: 275-291.
- SAS. 2014. SAS user guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC., USA.
- Shanin, M., M. Friedrich, M. Gauly, J. F. Beckers, and W. Holtz. 2013. Pregnancy-associated glycoprotein (PAG) pattern and pregnancy detection in Boer goats using an ELISA with different antisera. 113: 141-144.
- Sharma, N., S. P. Singh, and A. Bharadwaj. 2020. Changes in milk and plasma progesterone and pregnancy-associated glycoprotein and their relationships with the foetal number during early pregnancy in Jakhrana goats. *Indian J. Anim. Res.* 90: 1589-1593.
- Singh, S. P., N. Ramachandran, N. Sharma, A. K. Goela, K. Gururajb, and S. D. Kharchea. 2019a. Temporal changes in plasma profile of pregnancy-associated glycoprotein, progesterone and estrone sulfate associated with fetal number during early- and mid-pregnancy in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 205: 115-125.
- Singh, S. P., R. Natesan, N. Sharma, A. K. Goel, M. K. Singh, and S. D. Kharche. 2019b. Pregnancy-associated glycoprotein profile in milk and its relationship with the circulating level during early pregnancy in goats. *Small Rumin. Res.* 173: 81-87.
- Wooding, F. B., R. M. Roberts, and J. A. Green. 2005. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. *Placenta* 26: 807-827.
- Xie, S., J. Green, J. B. Bixby, B. Szafranska, J. C. DeMartini, S. Hecht, and R. M. Roberts. 1997. The diversity and evolutionary relationships of the pregnancy-associated glycoproteins, an aspartic proteinase subfamily consisting of many trophoblast-expressed genes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94: 12809-12816.

Early detection of multifetal pregnancies in Alpine goats using pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentrations in milk ⁽¹⁾

Yueh-Tung Chen ⁽²⁾ Ming-Kuew Yang ⁽²⁾ Jia-Sian Shiu ⁽³⁾ Yi-Hsin Yeh ⁽²⁾
Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ and Po-An Tu ⁽²⁾⁽⁴⁾

Received: Apr. 1, 2024; Accepted: May 24, 2024

Abstract

Being able to confirm the number of fetuses in Alpine goats during early pregnancy will be beneficial for breeders to conduct appropriate feeding management based on the number of fetuses. Therefore, the purpose of this experiment was to determine the feasibility of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentration in milk to predict multiple pregnancies in goats. 348 milk samples from Alpines goats with 33, 43, 49, 57, 65, 71, 78, 85, and 94 days of pregnancy for PAG concentration analysis. The proportion of Alpines goats with litter sizes of 1, 2, and 3 or more heads were 21, 71, and 8%, respectively. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to assess the area under the curve (AUC) of different thresholds of PAG concentration in milk at different days of pregnancy for multiple fetuses. The results showed that at day 49 and days 57 of pregnancy, the milk PAG threshold of 1.208 and 2.643 were used to determine pregnant goats with multiple fetuses, which area under the curve (AUC) were 0.903 and 1 respectively. Further analysis using Canonical Discriminant Analysis (CDA) on different thresholds of milk PAG concentration and days of pregnancy for discriminating between goats with multiple and single/twin fetuses were adopted to assess any significant difference between the two. The results showed that starting from day 49, Wilk's Lambda value was 0.786, indicating significant difference in PAG concentration of milk from goats with multiple fetuses and single/twin fetus ($P < 0.01$). When the days of pregnancy reached 57 days, Wilk's Lambda value was 0.104, indicating highly significant difference in PAG concentration of milk from goats with multiple fetuses and single/twin fetus ($P < 0.001$). Therefore, milk PAG concentration could effectively differentiate between multiple and single/twin pregnancy from day 49 to 57 of pregnancy. In conclusion, days 49 to 57 of pregnancy are the ideal time for milk PAG concentration to detect and determine multifetal pregnancy in pregnant Alpine goats.

Key words: Alpine goats, Pregnancy-associated glycoprotein, Number of fetuses.

(1) Contribution No. 2792 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Miaoli 36843, Taiwan, R. O. C.

(3) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

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

應用流式細胞儀評估拍賣種公豬精液性狀⁽¹⁾

彭麟量⁽²⁾ 林秀蓮⁽²⁾ 賴永裕⁽²⁾ 林德育⁽²⁾ 楊鎮榮⁽²⁾
許順貴⁽³⁾ 劉桂柱⁽³⁾ 郭廷雍⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：113 年 3 月 11 日；接受日期：113 年 5 月 31 日

摘 要

公豬精液品質直接影響母豬受胎率或產仔數等繁殖性狀，透過公豬精液品質檢測並預測公豬生育力，係維持生產效率避免經濟損失的重要措施。本研究應用流式細胞儀評估參加臺灣區種豬產業協會拍賣之杜洛克與藍瑞斯公豬精液，分析品種、採精日齡、季節等因子對精液性狀的影響，藉以應用至選留產精能力優良種豬。試驗結果顯示藍瑞斯公豬有較高的精液量，但其精液濃度則顯著較杜洛克品種低 ($P < 0.05$)。在採精日齡影響上，超過 300 日齡的杜洛克公豬在精液量、總精子數、精子存活率、頭帽及精子膜完整性等性狀，均顯著高於 240 – 269 日齡與 270 – 299 日齡組別公豬 ($P < 0.05$)，顯示 300 日齡以上杜洛克公豬，相較於年輕公豬具較佳的精液性狀；而採精日齡對藍瑞斯公豬則待更多資料累積再進一步分析。在季節影響上，結果顯示季節影響杜洛克及藍瑞斯公豬的精液性狀，其中以秋季採樣精子染色質結構完整性較差。綜上，研究成果可提供未來評估種豬繁殖與選育應用。

關鍵詞：精液性狀、流式細胞儀、拍賣種公豬、公豬日齡、採精季節。

緒 言

人工授精 (artificial insemination, AI) 技術已廣泛應用於畜牧業，公豬精液稀釋後可配種多頭母豬，加速種畜性能改良 (Heape, 1897)，亦能減少飼養公豬成本。應用人工授精技術前須進行採精及精液檢查，以確保精液品質並避免疾病傳播風險。公豬精液品質若不佳將導致母豬受胎率或產仔數等繁殖效率降低，造成經濟損失，優良種公豬之精液可對眾多母豬進行授精，因此檢測公豬精液品質並預測公豬生育力極為重要，將公豬精液性狀指標併入現代種豬選育架構，能強化種豬性能檢定體系，並減少因選留產精能力不佳種豬所造成之損失。

精液品質分析由傳統目視觀察精液顏色與使用顯微鏡檢測精子活力、精液濃度及精子型態評估等，轉變至今可應用電腦輔助精子分析系統 (computer assisted sperm analysis, CASA) 偵測精子型態、運動軌跡等參數評估精液品質，藉由電腦輔助系統分析降低人為測量誤差並提升分析效率 (Boe-Hansen and Satake, 2019)。此外，隨著技術發展，螢光染色及流式細胞儀分析技術 (flow cytometry analysis) 也被應用於評估精子細胞膜完整性、精子頭帽完整性及粒線體膜電位等檢測 (Celeghini *et al.*, 2007; de Andrade *et al.*, 2007)，強化了精子細微結構之分析。流式細胞儀係利用電子檢測儀器偵測並計算懸浮在流動液體中細胞，短時間內分析上千個粒子，搭配螢光染色技術操作，已應用於牛隻 (Garner *et al.*, 1994; Christensen *et al.*, 2005)、小鼠 (Tao *et al.*, 1993) 及人類 (Purvis *et al.*, 1990) 等物種之精液品質評估。本研究目的為應用流式細胞儀評估種公豬精液性狀，瞭解臺灣區種豬產業協會拍賣種公豬精子性狀概況，並就品種、採精日齡及季節等對種公豬精液性狀的影響作初步評估，以做為未來選留優良產精能力種公豬應用。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2793 號。
(2) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(3) 台灣區種豬產業協會。
(4) 通訊作者，E-mail: tykuo@mail.tlri.gov.tw。

材料與方法

I. 試驗動物

試驗豬隻來源為 2014 與 2015 年參加臺灣區種豬產業協會拍賣會之種公豬，日齡包含 240 – 269 日齡與 270 – 299 日齡之年輕種公豬、300 日齡以上之種公豬，試驗共分析 357 頭杜洛克及 84 頭藍瑞斯公豬之精液性狀，分析項目包含精液量、精子活力、精液濃度、總精子數、精子存活率、頭帽及精子膜完整性、粒線體膜電位及精子染色質結構分析等。

II. 採精、精液保存與檢測樣品製備

(i) 種公豬採精

將公豬趕至採精區域，待其爬跨假母臺後，用生理食鹽水清潔陰囊與陰莖，採精人員以單手抓住公豬陰莖並順勢拉出，一手握住陰莖一手持覆蓋濾網之採精瓶，進行精液收集。採精後去除濾網及殘留膠體，新鮮精液依刻度估計精液量，並將取得之新鮮精液倒入 100 mL 注精瓶內，擠出瓶內氣體後，旋緊上蓋後放入 16°C 保溫箱內，立即攜回實驗室進行分析。

(ii) 精液鏡檢與精液濃度測定

於實驗室內分別將採取 20 μ L 種公豬精液放至於玻片上，以 37°C 培養箱培養 3 分鐘後利用光學顯微鏡進行鏡檢，參照黃 (1995) 分級方法並稍作修正，以顯微鏡觀察精子活力，分為 +++ (激烈運動)、++ (活潑運動)、+ (緩慢運動)，估計各級占比再細分為死精、70+ 以下、70+、70++、70+++、75+++、80+、80++、80+++、85+++、90+、90++、90+++ 及 95+++ 等。本次試驗樣品依前述分級僅有 95+++、90+++、90++、85+++、70+ 等 5 種樣態，並給予對應精子活力，95+++ 為 98%，90+++ 為 93%，90++ 為 92%，85+++ 為 85%，70+ 為 70% 進行統計分析；精液濃度為取原精液填入量測晶片中，以精子計數器 (SpermaCue, Minitub, Germany) 進行量測；總精子數以精液濃度 \times 精液量估算。

III. 流式細胞儀分析精液性狀

(i) 精液濃度調整

原精液以緩衝稀釋液 (EasyBuffer A, IMV, L'Aigle, France) 稀釋，將受檢精液濃度調整為 3.5×10^7 sperm/mL，以供流式細胞儀 (GUAVA Easyocyte HT System, Guava Technologies, IMV Technologies, L'Aigle, France) 分析使用。

(ii) 精液品質分析

精液品質分析參照郭 (2013) 方法進行，項目包括精子存活率 (viability)、頭帽及精子膜完整性 (acrosome & sperm membrane integrity)、粒線體膜電位 (mitochondrial membrane potential)、精子染色質結構 (sperm chromatin structure) 等精子細微結構狀態分析。

1. 精子存活率分析

配製 SYBR 14 working solution 為 1 μ L 之 SYBR 14 (1 mM) + 49 μ L 之 easy buffer，mix solution A 為 1 μ L 之 SYBR 14 working solution + 1 μ L 之碘化丙啶 (propidium iodide, PI) + 48 μ L 之 easy buffer 備用。取 3 μ L 濃度為 3.5×10^7 sperm/mL 之稀釋精液加上 147 μ L easy buffer 及 50 μ L mix solution A 混合後，於 37°C 避光培養 10 分鐘後以流式細胞儀進行分析，SYBR 14 標記細胞膜正常之存活精子，PI 則標記細胞膜受損之死亡精子，以此判定存活率。

2. 頭帽及精子膜完整性分析

配製 mix solution B 為 1 μ L 之 PI + 0.5 μ L 之 PNA-FITC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) + 48.5 μ L 之 easy buffer 備用。取 4 μ L 濃度為 3.5×10^7 sperm/mL 之稀釋精液加上 146 μ L easy buffer 及 50 μ L 之 mix solution B 混合後，於 37°C 避光培養 10 分鐘後以流式細胞儀進行分析，PNA-FITC 標記頭帽完整精子，PI 則標記細胞膜受損之死亡精子，以此判定頭帽及精子膜完整性。

3. 粒線體膜電位分析

配製 mix solution C 為 2 μ L 之 Guava JC-1 + 48 μ L 之 easy buffer 備用。取 3 μ L 濃度為 3.5×10^7 sperm/mL 之稀釋精液加上 147 μ L easy buffer 及 50 μ L mix solution C 混合後，於 37°C 避光培養 30 分鐘後以流式細胞儀進行分析，以 JC-1 進行標記，粒線體為去極化狀態 (depolarization) 則 JC-1 為單體形式，呈現綠色螢光，若粒線體為極化狀態 (polarization) 則 JC-1 聚集，呈現橙色螢光，以此判定粒線體膜電位。

4. 精子染色質結構分析

配製 AO (acridine orange, AO) staining solution 為 10 μ L 之 AO solution + 9.99 mL 之 staining solution (6 μ g/

mL acridine orange, 100 mmol/L citric acid, 200 mmol/L Na_2HPO_4 , 1 mmol/L disodium EDTA and 0.15 mol/L NaCl; pH 6.0) 備用。取 5 μL 濃度為 3.5×10^7 sperm/mL 之稀釋精液加入 200 μL 之 TNE buffer (0.01 M Tris-HCl, 0.15 M NaCl and 1 mM disodium EDTA; pH 7.4) 後，加入 0.4 mL acid detergent (0.1% Triton X-100, 0.15 mol/L NaCl and 0.08 mol/L HCl; pH 1.2)，等待 30 秒後再加入 1.2 mL 之 AO staining solution，室溫培養 3 分鐘後以流式細胞儀進行分析，AO 能分別與結構完整之雙股 DNA 及片斷化之 DNA 產生出不同螢光，以此判定染色質結構完整性。

IV. 精液性狀相關性分析

各項精液性狀間相關性以 SAS 套裝軟體 (SAS, 2013) 之皮爾森相關 (Pearson correlation) 進行分析，相關係數 r 數值介於 -1 到 1 間，以 $0 < r < 0.3$ 為低度正相關， $0.3 < r < 0.7$ 為中度正相關， $0.7 < r < 1$ 為高度正相關， $-0.30 < r < 0$ 為低度負相關， $-0.7 < r < -0.3$ 為中度負相關， $-1 < r < -0.7$ 為高度負相關。

V. 統計分析

本試驗所收集之精液性狀統計以平均值 \pm 標準偏差 (mean \pm standard deviation) 表示。試驗所得之各項數值，使用 SAS 套裝軟體 (SAS, 2013) 以一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行統計分析，分別評估品種、採精日齡及季節等效應對精液性狀之影響，並以 tukey 檢定比較差異的顯著性。

結果與討論

I. 品種對精液性狀之影響

試驗收集 357 頭杜洛克及 84 頭藍瑞斯共 441 頭種公豬精液進行精液性狀分析，結果如表 1 所示。杜洛克公豬精液量平均為 187.49 ± 37.61 mL、活力平均為 $92.81 \pm 2.24\%$ 、精液濃度平均為 $0.40 \pm 0.10 \times 10^9$ sperm/mL、總精子數平均為 $74.40 \pm 20.81 \times 10^9$ sperm/ejaculation，精子存活率平均為 $79.68 \pm 14.52\%$ 、頭帽及精子膜完整率平均為 $65.79 \pm 13.71\%$ 、精子粒線體去極化比例平均為 $29.88 \pm 16.83\%$ ，平均精子染色質結構完整比例平均為 $91.31 \pm 10.77\%$ ；藍瑞斯精液量平均為 207.87 ± 41.66 mL、活力平均為 $93.06 \pm 2.12\%$ 、精液濃度平均為 $0.35 \pm 0.09 \times 10^9$ sperm/mL、總精子數平均為 $72.15 \pm 19.76 \times 10^9$ sperm/ejaculation、精子存活率平均為 $80.96 \pm 12.89\%$ 、頭帽及精子膜完整率平均為 $66.44 \pm 14.33\%$ 、精子粒線體去極化比例平均為 $29.51 \pm 17.97\%$ ，精子染色質結構完整比例平均為 $92.73 \pm 7.63\%$ 。在比較杜洛克與藍瑞斯兩品種差異上，杜洛克公豬精液量顯著低於藍瑞斯公豬 ($P < 0.05$)，但其精液濃度則顯著高於藍瑞斯公豬 ($P < 0.05$)，Kennedy and Wilkins (1984) 研究顯示公豬的精液量、精液濃度、存活精子百分比、精子活動力等精液性狀受品種影響，而在 Smital (2009) 研究中，其檢測杜洛克與藍瑞斯公豬之精液量分別為 185.1 mL 與 264.7 mL，精液濃度分別為 0.50×10^9 sperm/mL 與 0.43×10^9 sperm/mL，亦發現品種會影響精液量與精液濃度，另在 Schulze *et al.* (2014) 研究亦指出杜洛克公豬精液量較藍瑞斯公豬低，但其精液濃度較藍瑞斯公豬高。因試驗樣品採集自參加種豬拍賣之種公豬，在參加拍賣前精子活力不佳或無法採精的個體已被汰除，因此所分析的樣品在傳統精子活力項目有極佳的表現。Schulze *et al.* (2014) 分析德國 AI 站公豬的精液性能，其杜洛克品種公豬精液量平均為 147.1 mL，較本試驗杜洛克豬群低，但其精液濃度平均為 0.433×10^9 sperm/mL，則較本試驗杜洛克豬群稍高。張 (2008) 評估 4 間人工授精站豬隻精液共 36 個樣品，稀釋後 1 日之精子存活率平均為 75.7%，稀釋後 3 日之精子存活率平均為 61.5%，而於商業豬場 AI 公豬新鮮精液則有 88.0% 之存活率。本試驗因收集各地種豬場樣品，傳統鏡檢項目能於現場以新鮮精液進行外，採集之樣品需攜回實驗室以流式細胞儀進行分析，並儘可能於採精後 1 日內完成分析，以流式細胞儀分析之精子存活率結果略高於張 (2008) AI 站稀釋 1 日所測之結果，顯示種豬協會拍賣之種公豬具良好之精液品質。

II. 採精日齡對精液性狀之影響

公豬的性成熟發生年齡受品種、環境和社會因素影響 (Kunavongkrit *et al.*, 2005, Huang *et al.*, 2010, Yeste *et al.*, 2010, Kumaresan *et al.*, 2011)。Reiland (1978) 與 Schinckel *et al.* (1983) 的研究指出藍瑞斯及約克夏約於 5 – 6 月齡性腺逐漸成熟並開始發身，一般達 7 – 8 月齡時公豬之精液已具有受精能力，因此，在商用公豬飼養管理上常於達 7 月齡後進行採精訓練。臺灣區種豬產業協會種公豬體型比賽之參賽豬隻主要為 240 – 299 日齡之年輕公豬，拍賣會則包含少數 300 – 350 日齡與 350 日齡以上之公豬，將試驗樣品依採精時之公豬日齡進行比較，分為 240 – 269 日齡、270 – 299 日齡及 300 日齡以上 3 組，杜洛克公豬試驗結果如表 2 所示，種豬產業協會拍賣之杜洛克公豬精子皆具有良好的品質，240 – 269 日齡公豬精子存活率平均達 $77.75 \pm 14.02\%$ ，超過 300 日齡的精選及特選公豬，精子存活率平均更達 $89.58 \pm 6.41\%$ ，而在精液量、總精子數、精子存活率、頭帽及精

子膜完整性等性狀比較上，300 日齡以公豬顯著高於 270 – 299 日齡與 240 – 269 日齡公豬 ($P < 0.05$)；而粒線體去極化比例則是 300 日齡以上公豬顯著低於 270 – 299 日齡與 240 – 269 日齡公豬 ($P < 0.05$)。綜上結果顯示 270 – 299 日齡與 240 – 269 日齡精液性狀表現相近，300 日齡以上杜洛克公豬則有較佳的產精能力，推測係因年齡增長，睪丸及其附屬性腺發育更趨完整，故其產精能力較年輕公豬更加穩定良好 (Huang *et al.*, 2010)。Pinart and Puigmulé (2013) 也認為 9 月齡公豬精液性狀會隨著性腺的持續生長及發育而逐步提升。

表 1. 品種對拍賣公豬精液性狀之影響

Table 1. Effect of breed on semen quality traits of auctioned boars

Traits	Duroc	Landrace
No. of auctioned boars	357	84
Volume (mL)	187.49 ± 37.61 ^b	207.87 ± 41.66 ^a
Motility (%)	92.81 ± 2.24	93.06 ± 2.12
Concentration (10 ⁹ sperm / mL)	0.40 ± 0.10 ^a	0.35 ± 0.09 ^b
Total sperm number (10 ⁹ sperm / ejaculation)	74.40 ± 20.81	72.15 ± 19.76
Viability (%) [#]	79.68 ± 14.52	80.96 ± 12.89
Acrosome and sperm membrane integrity (%)	65.79 ± 13.71	66.44 ± 14.33
Mitochondrial depolarization (%) [*]	29.88 ± 16.83	29.51 ± 17.97
Chromatin structure integrity (%)	91.31 ± 10.77	92.73 ± 7.63

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

[#] n = 355 and 84, respectively.

^{*} n = 338 and 79, respectively.

表 2. 採精日齡對杜洛克公豬精液性狀之影響

Table 2. Effect of the Duroc boars age were collected semen on semen characteristics

Traits	Semen collection age		
	240 – 269 days	270 – 299 days	over 300 days
No. of Duroc boars	82	257	18
Volume (mL)	188.35 ± 35.98 ^b	184.48 ± 35.14 ^b	226.56 ± 55.71 ^a
Motility (%)	92.88 ± 2.08	92.77 ± 2.37	93.00 ± 0.00
Concentration (10 ⁹ sperm / mL)	0.39 ± 0.11	0.40 ± 0.10	0.43 ± 0.06
Total sperm number (10 ⁹ sperm / ejaculation)	73.39 ± 22.60 ^b	73.29 ± 19.71 ^b	94.89 ± 17.76 ^a
Viability (%) [#]	77.75 ± 14.02 ^b	79.60 ± 14.84 ^b	89.58 ± 6.41 ^a
Acrosome and sperm membrane integrity (%)	64.06 ± 14.41 ^b	65.71 ± 13.58 ^b	74.92 ± 7.99 ^a
Mitochondrial depolarization (%) [*]	31.15 ± 19.13 ^a	30.27 ± 16.28 ^a	18.50 ± 6.90 ^b
Chromatin structure integrity (%)	92.37 ± 8.60	90.70 ± 11.65	95.28 ± 2.32

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

[#] n = 82, 255, and 18, respectively.

^{*} n = 78, 243, and 17, respectively.

然而在藍瑞斯精子採精日齡分析上，因 00 日齡以上豬隻僅有 1 頭進行精液分析，故未納入統計分析，採精日齡僅分為 240 – 269 日齡及 270 – 299 日齡 2 組，結果如表 3 所示，其 240 – 269 日齡精液濃度顯著高於 270 – 299 日齡精液濃度 ($P < 0.05$)，Knecht *et al.* (2017) 研究指出波蘭 AI 中心之公豬精液，發現 13 – 18 月齡公豬精液濃度顯著低於 8 – 9 月齡公豬及 10 – 12 月齡，但 13 – 18 月齡公豬精液量顯著高於 8 – 9 月齡及 10 – 12 月齡公豬，若比較總精子數，則以 13 – 18 月齡公豬有較佳的表現，顯示公豬在 18 月齡前，隨年齡增加有較佳總精子數，本研究在藍瑞斯公豬 240 – 269 日齡與 270 – 299 日齡，只有精液濃度有差別，其餘精液

性狀則無顯著差異，可能因 2 組日齡組別間生理發育程度相似，精液性能並無太大之差別，且藍瑞斯公豬採樣分析頭數較少，年齡對藍瑞斯精液性狀之影響後續仍需進一步累積資料進行評估。

表 3. 採精日齡對藍瑞斯公豬精液性狀之影響

Table 3. Effect of the Landrace boars age were collected semen on semen characteristics

Traits	Semen collection age	
	240 – 269 days	270 – 299 days
No. of Duroc boars	20	64
Volume (mL)	203.70 ± 40.08	209.17 ± 42.36
Motility (%)	93.25 ± 2.55	93.00 ± 1.99
Concentration (10 ⁹ sperm / mL)	0.39 ± 0.08 ^a	0.34 ± 0.08 ^b
Total sperm number (10 ⁹ sperm / ejaculation)	78.25 ± 16.83	70.25 ± 20.34
Viability (%)	83.67 ± 8.68	80.11 ± 13.89
Acrosome and sperm membrane integrity (%)	68.99 ± 12.13	65.65 ± 14.95
Mitochondrial depolarization (%) [*]	31.04 ± 19.28	29.09 ± 17.74
Chromatin structure integrity (%)	95.07 ± 3.09	92.00 ± 8.46

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

^{*} n = 17 and 62, respectively.

III. 採精季節對精液性狀之影響

公豬精液品質受季節效應影響已有多篇文獻論述 (Huang *et al.*, 2000; Peña *et al.*, 2019; Rungruangsak *et al.*, 2021)，臺灣位處熱帶及亞熱帶地區，夏季高溫多濕造成豬隻熱緊迫，影響豬隻的生產力。熱緊迫會造成母豬繁殖性能下降 (Paterson *et al.*, 1978; Lucy and Safranski, 2017)，對公豬生殖力亦有負面影響如精液量減少 (Cameron and Blackshaw, 1980)、精液濃度降低 (Egbunike and Dede, 1980)、活力降低且形態異常率增加 (Egbunike and Dede, 1980; Barranco *et al.*, 2013) 及性慾降低 (Flowers, 1997) 等。精液分析結果依採精月份以季節進行分類，3 – 5 月為春季、6 – 8 月為夏季、9 – 11 月為秋季、12 – 2 月為冬季，並評估採精季節對精液性狀之影響，結果如表 5、6 所示。杜洛克公豬精液濃度春季及冬季顯著高於夏季及秋季 ($P < 0.05$)，總精子數春季及冬季顯著高於秋季 ($P < 0.05$)，與春季及冬季相比，在溫度較高的夏季及接續的秋季，對杜洛克公豬精液有負面影響。另在流式細胞儀分析性狀方面，精子細胞粒線體去極化比例越高即表示精液品質越不好，秋季精子粒線體去極化比例顯著高於春季 ($P < 0.05$)，顯示秋季精液品質較春季差。精子染色質結構完整比例以秋季最差，顯著低於其他季節 ($P < 0.05$)，Peña *et al.* (2017) 指出熱緊迫誘導精子 DNA 損傷產生，DNA 損傷的精子可能是造成母豬懷孕損失增加及產仔數降低的原因，Didion *et al.* (2009) 認為精子 DNA 片斷化若大於 6%，會造成分娩率及產仔數減少。本試驗在杜洛克公豬精液量、精子活力、精子存活率、頭帽及精子膜完整性等性狀上，季節間則無顯著差異。藍瑞斯公豬精液濃度則以春季顯著高於夏季及秋季 ($P < 0.05$)，精子染色質結構完整比例秋季顯著低於冬季 ($P < 0.05$)，其他性狀於各季節間則無顯著差異。Peña *et al.* (2019) 研究認為精子 DNA 完整性能作為區分夏季期間精子品質的指標，本研究結果顯示季節影響杜洛克及藍瑞斯公豬的精液性狀，溫度較高的夏季及接續的秋季對豬隻精液濃度及精子染色質結構完整性有負面影響，相關性狀可做為未來於選育公豬耐熱性能時評估指標之選擇。

IV. 精液性狀相關性

本試驗研究，精液濃度與精液量相關係數為 -0.23，呈低度負相關與 Ciereszko *et al.* (2000) 的報告有相似的結果，而 Knecht *et al.* (2014) 研究亦發現，豬隻之精液濃度與精液量呈中度負相關性，相關係數介於 -0.55 至 -0.66 之間。精液濃度與總精子數相關性上，Kozdrowski and Dubiel (2004) 在野豬的研究中發現，兩者呈現高度的相關性，相關係數為 0.77，在本試驗研究，兩者相關係數為 0.73，亦呈現高度相關。在相關分析上，傳統精液檢測精液量、精子活力、精液濃度及總精子數等 4 項性狀，與應用流式細胞儀進行精子存活率、頭帽及精子膜完整率、精子粒線體去極化率及精子染色質結構完整率等 4 項性狀，傳統 4 項性狀中，除精子活力與精子染色質結構完整率具有中度相關性 ($r = 0.39$) 之外，傳統性狀與流式細胞儀檢測性狀多呈低度相關；而在流式細胞

儀 4 項檢測性狀中，精子存活率與頭帽及精子膜完整率呈高度正相關 ($r = 0.84$)，與精子粒線體去極化率呈高度負相關 ($r = -0.79$)，與精子染色質結構完整率呈中度正相關 ($r = 0.66$)，顯示流式細胞儀 4 項精液性狀間相關性較高。應用流式細胞儀檢測精液品質，能於短時間內對上千個粒子進行分析，相較於早期檢測精子死活或其結構損傷須採用人工計算數量，能大幅提升分析速度與準確度，且流式細胞儀檢測能提供精液樣品如頭帽及精子膜、粒線體電位及染色質結構等更細微狀態的資訊，因此，將能對精液品質作更深入的評估，並提供種豬繁殖與選育之應用參考。

表 4. 採精季節對杜洛克公豬精液性狀之影響

Table 4. Effect of season on semen quality traits of Duroc boars

Traits	Spring	Summer	Autumn	Winter
No. of Duroc boars	121	61	80	95
Volume (mL)	190.63 ± 37.41	193.80 ± 40.55	180.09 ± 39.95	185.68 ± 33.03
Motility (%)	92.99 ± 1.71	92.21 ± 3.57	92.75 ± 2.09	93.00 ± 1.79
Concentration (10^9 sperm / mL)	0.42 ± 0.09 ^a	0.37 ± 0.11 ^b	0.36 ± 0.10 ^b	0.43 ± 0.09 ^a
Total sperm number (10^9 sperm / ejaculation)	79.16 ± 17.89 ^a	71.19 ± 23.39 ^{ab}	64.12 ± 21.62 ^b	79.06 ± 18.48 ^a
Viability (%) [#]	81.03 ± 12.85	77.31 ± 16.81	77.36 ± 17.67	81.46 ± 11.42
Acrosome and sperm membrane integrity (%)	66.29 ± 12.30	65.59 ± 14.48	63.83 ± 16.57	66.94 ± 12.20
Mitochondrial depolarization (%) [*]	26.93 ± 13.80 ^b	28.75 ± 15.99 ^{ab}	33.36 ± 19.91 ^a	31.84 ± 17.71 ^{ab}
Chromatin structure integrity (%)	93.60 ± 7.47 ^{ab}	90.10 ± 13.66 ^b	84.95 ± 14.95 ^c	94.53 ± 2.87 ^a

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

[#] n = 119, 61, 80, and 95, respectively.

^{*} n = 121, 61, 80, and 76, respectively.

表 5. 採精季節對公豬精藍瑞斯液性狀之影響

Table 5. Effect of season on semen quality traits of Landrace boars

Traits	Spring	Summer	Autumn	Winter
No. of Duroc boars	24	15	24	21
Volume (mL)	203.38 ± 39.62	210.80 ± 53.51	211.92 ± 38.84	206.29 ± 40.06
Motility (%)	93.21 ± 2.32	92.33 ± 2.58	93.42 ± 2.04	93.00 ± 1.58
Concentration (10^9 sperm / mL)	0.40 ± 0.07 ^a	0.31 ± 0.10 ^b	0.33 ± 0.09 ^b	0.35 ± 0.06 ^{ab}
Total sperm number (10^9 sperm / ejaculation)	80.61 ± 15.34	64.23 ± 21.76	68.47 ± 23.16	72.36 ± 15.90
Viability (%)	79.28 ± 14.22	76.90 ± 15.48	83.75 ± 11.91	82.57 ± 9.91
Acrosome and sperm membrane integrity (%)	66.03 ± 16.21	66.01 ± 14.60	69.16 ± 14.80	64.12 ± 11.59
Mitochondrial depolarization (%) [*]	28.91 ± 17.83	30.28 ± 13.13	26.67 ± 17.89	33.93 ± 22.49
Chromatin structure integrity (%)	93.75 ± 4.51 ^{ab}	92.29 ± 6.07 ^{ab}	89.40 ± 11.88 ^b	95.67 ± 2.54 ^a

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

^{*} n = 24, 15, 24, and 16, respectively.

結 論

參加台灣區種豬產業協會種豬拍賣的種公豬具有良好的精液品質，比較杜洛克與藍瑞斯公豬共 8 項精液性狀，精液量與精液濃度在品種間有差異；在採精日齡影響上，顯示 300 日齡以上杜洛克公豬則有較年輕公豬佳的產精能力，藍瑞斯公豬則待更多資料累積再進行進一步分析；而在季節影響上，顯示季節影響杜洛克及藍瑞斯公豬的精液性狀，其中夏季及秋季所採集精子之多項精液品質均較冬春季者差，顯示該等季節之畜舍環境及公豬飼養管理仍有改善之空間；另在鏡檢性狀與流式細胞儀檢測結果相關性上，鏡檢性狀與流式細胞儀檢測性狀呈低度相關，而流式

表 6. 拍賣公豬精液性狀相關性
Table 6. Correlation between semen quality traits of auctioned boars

	Volume	Motility	Concentration	Total sperm number	Viability	Acrosome and sperm membrane integrity	Mitochondrial depolarization	Chromatin structure integrity
Volume	1							
Motility	-0.01	1						
Concentration	-0.23**	0.42**	1					
Total sperm number	0.47**	0.36**	0.73**	1				
Viability	0.02	0.28**	0.17**	0.16**	1			
Acrosome and sperm membrane integrity	-0.01	0.19**	0.17**	0.14**	0.84**	1		
Mitochondrial depolarization	0.02	-0.24**	-0.18**	-0.14**	-0.79**	-0.81**	1	
Chromatin structure integrity	0.10*	0.39**	0.26**	0.28**	0.66**	0.53**	-0.56**	1

* P < 0.05.

** P < 0.01.

細胞儀之精子存活率、頭帽及精子膜完整性、粒線體膜電位及精子染色質結構等性狀間相關性高；綜上資訊可提供未來於評估種畜禽繁殖與選育應用，另外，該新穎精子品質參數與公豬生育力及母豬生產力之關聯性，則尚待進一步評估，以確認精液品質新穎參數佳之公豬是否有同樣具有較佳的生育效率，則有待進一步的試驗作為驗證。

致 謝

本研究承農業部 103 農科 -2.1.5- 畜 -L2(3) 及 104 農科 -2.5.2- 畜 -L1(7) 經費支持及台灣區種豬產業協會及其會員場協助公豬採精始克完成，謹致謝忱。

參考文獻

- 黃呈耀。1995。豬隻人工受精。臺糖公司畜產研究所養豬技術專輯二版，pp. 28-31。
- 張育京。2008。人工授精站公豬精液品質與生育力之評估。碩士論文。國立宜蘭大學。宜蘭縣。
- 郭廷雍。2013。種畜禽研究團隊－種豬與雞精子品質之檢測及應用。行政院農業委員會畜產試驗所 102 年度科技計畫研究報告。
- Barranco, I., M. D. Ortega, M. J. Martinez-Alborcia, J. M. Vazquez, E. A. Martinez, and J. Roca. 2013. Season of ejaculate collection influences the freezability of boar spermatozoa. *Cryobiology* 67(3): 299-304.
- Boe-Hansen, G. B. and N. Satake. 2019. An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. *Theriogenology* 137: 93-103.
- Cameron, R. and A. Blackshaw. 1980. The effect of elevated ambient temperature on spermatogenesis in the boar. *Reproduction* 59(1): 173-179.
- Celeghini, E. C., R. P. de Arruda, A. F. de Andrade, J. Nascimento, and C. F. Raphael. 2007. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. *Reprod. Domest. Anim.* 42(5): 479-488.
- Christensen, P., D. Boelling, K. M. Pedersen, I. R. Korsgaard, and J. Jensen. 2005. Relationship between sperm viability as determined by flow cytometry and nonreturn rate of dairy bulls. *J. Androl.* 26(1): 98-106.
- Ciereszko, A., J. S. Ottobre, and J. Glogowski. 2000. Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. *Anim. Reprod. Sci.* 64(1-2): 89-96.
- de Andrade, A. F., R. P. de Arruda, E. C. Celeghini, J. Nascimento, S. M. Martins, C. F. Raphael, and A. S. Moretti. 2007. Fluorescent stain method for the simultaneous determination of mitochondrial potential and integrity of plasma and acrosomal membranes in boar sperm. *Reprod. Domest. Anim.* 42(2): 190-194.
- Didion, B. A., K. M. Kasperson, R. L. Wixon, and D. P. Evenson. 2009. Boar fertility and sperm chromatin structure status: a retrospective report. *J. Androl.* 30(6): 655-660.
- Egbunike, G., and T. Dede. 1980. The influence of short-term exposure to tropical sunlight on boar seminal characteristics. *Int. J. Biometeorol.* 24: 129-135.
- Flowers, W. L. 1997. Management of boars for efficient semen production. *J. Reprod. Fertil.* 52: 67-78. (Suppl.)
- Garner, D. L., L. A. Johnson, S. T. Yue, B. L. Roth, and R. P. Haugland. 1994. Dual DNA staining assessment of bovine sperm viability using SYBR-14 and propidium iodide. *J. Androl.* 15(6): 620-629.
- Heape, W. 1897. The artificial insemination of mammals and subsequent possible fertilisation or impregnation of their ova. *Proceedings of the Royal Society of London, UK.* 61(369-377): 52-63.
- Huang, S., Y. Kuo, Y. Lee, H. Tsou, E. Lin, C. Ju, and W. Lee. 2000. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. *Anim. Reprod. Sci.* 63(3-4): 231-240.
- Huang, Y. H., L. L. Lo, S. H. Liu, and T. S. Yang. 2010. Age-related changes in semen quality characteristics and expectations of reproductive longevity in Duroc boars. *Anim. Sci. J.* 81(4): 432-437.
- Kennedy, B. and J. Wilkins. 1984. Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. *Can. J. Anim. Sci.* 64(4): 833-843.
- Knecht, D., A. Jankowska-Mąkosza, and K. Duziński. 2017. The effect of age, interval collection and season on selected semen parameters and prediction of AI boars productivity. *Livest. Sci.* 201: 13-21.

- Knecht, D., S. Środoń, and K. Duziński. 2014. The influence of boar breed and season on semen parameters. *South Afr. J. Anim. Sci.* 44: 1-9.
- Kozdrowski, R. and A. Dubiel. 2004. The effect of season on the properties of wild boar (*Sus scrofa* L.) semen. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 281-289.
- Kumaresan, A., K. M. Bujarbaruah, G. Kadirvel, G. Khargharia, R. G. Sarma, J. Goswami, R. Basumatary, K. Palaniappan, and R. K. Bardoloi. 2011. Early sexual maturity in local boars of Northeastern India: age-related changes in testicular growth, epididymal sperm characteristics and peripheral testosterone levels. *Theriogenology* 75: 687-695.
- Kunavongkrit, A., A. Suriyasomboon, N. Lundeheim, T. W. Heard, and S. Einarsson. 2005. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology* 63: 657-667.
- Lucy, M. C. and T. J. Safranski. 2017. Heat stress in pregnant sows: thermal responses and subsequent performance of sows and their offspring. *Mol. Reprod. Dev.* 84: 946-956.
- Paterson, A., I. Barker, and D. Lindsay. 1978. Summer infertility in pigs: its incidence and characteristics in an Australian commercial piggery. *Aust. J. Exp. Agr.* 18: 698-701.
- Peña, S. T., Jr., B. Gummow, A. J. Parker, and D. B. Paris. 2017. Revisiting summer infertility in the pig: could heat stress-induced sperm DNA damage negatively affect early embryo development? *Anim. Prod. Sci.* 57: 1975-1983.
- Peña, S. T., Jr., F. Stone, B. Gummow, A. J. Parker, and D. Paris. 2019. Tropical summer induces DNA fragmentation in boar spermatozoa: implications for evaluating seasonal infertility. *Reprod. Fertil. Dev.* 31: 590-601.
- Pinart, E. and M. Puigmulé. 2013. Factors affecting boar reproduction, testis function, and sperm quality. In: S. Bonet, I. Casas, W. V. Holt, and M. Yeste, editors, *Boar Reproduction: Fundamentals and New Biotechnological Trends*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 109-202.
- Purvis, K., H. Rui, A. Schølberg, S. Hesla, and O. P. Clausen. 1990. Application of flow cytometry to studies on the human acrosome. *J. Androl.* 11: 361-366.
- Reiland, S. 1978. Growth and skeletal development of the pig. *Acta Radiol. Suppl.* 358: 15-22.
- Rungruangsak, J., S. Sangkaphet, K. Buranaamnuy, P. Pongpeng, and P. Tummaruk. 2021. Boar sperm production in a tropical environment. *Thai. J. Vet. Med.* 51: 213-220.
- SAS. 2013. *STAT User's Guide: Version 9.4 ed.* SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Schinckel, A., R. Johnson, R. Pumfrey, and D. R. Zimmerman. 1983. Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 56: 1065-1076.
- Schulze, M., S. Buder, K. Rüdiger, M. Beyerbach, and D. Waberski. 2014. Influences on semen traits used for selection of young AI boars. *Anim. Reprod. Sci.* 148: 164-170.
- Smital, J. 2009. Effects influencing boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* 110: 335-346.
- Tao, J., E. S. Critser, and J. K. Critser. 1993. Evaluation of mouse sperm acrosomal status and viability by flow cytometry. *Mol. Reprod. Dev.* 36: 183-194.
- Yeste, M., S. Sancho, M. Briz, E. Pinart, E. Bussalleu, and S. Bonet. 2010. A diet supplemented with L-carnitine improves the sperm quality of Piétrain but not of Duroc and Large White boars when photoperiod and temperature increase. *Theriogenology* 73: 577-586.

Application of flow cytometry to evaluate semen quality traits of auctioned boars ⁽¹⁾

Lin-Liang Peng ⁽²⁾ Hsiu-Lien Lin ⁽²⁾ Yung-Yu Lai ⁽²⁾ Der-Yuh Lin ⁽²⁾ Jenn-Rong Yang ⁽²⁾
Shun-Kuei Hsu ⁽³⁾ Kuei-Juh Liu ⁽³⁾ and Ting-Yung Kou ⁽²⁾⁽⁴⁾

Received: Mar. 11, 2024; Accepted: May 31, 2024

Abstract

Semen quality directly affects in the breeding traits such as sow's conception rate or litter size. Boar's semen quality can detect and predict the fertility level of boars and is a key measure in maintaining productive efficiency and avoiding economic losses. This study used flow cytometry to evaluate the semen of Duroc and Landrace boars participating in the Formosan Farmers Association for Swine Improvement auction. The effect of breeds, days of age of semen collection and season on semen traits were analyzed for application and selection of breeding pigs with excellent sperm production ability. The results showed that the Landrace boars had higher semen volume but the semen concentration, compared with that of Landrace boars, was lower ($P < 0.05$). Regarding the influence of days of age at semen collection, traits such as the semen volume, total sperm counts, sperm viability, and acrosome and sperm membrane integrity of Duroc boars at aged over 300 days were significantly higher than those at age 240 - 269 days and 270 - 299 days ($P < 0.05$), indicating that Duroc boars over 300 days old have better semen traits, compared with those boars at younger age. While the effect of days of age on Landrace boars requires more data for further analysis. In terms of seasonal effects, the results showed that the chromatin structural integrity is lower in autumn for semen collected from the semen traits of Duroc and Landrace boars. In sum, the research results can be used for future evaluation of breeding and selection in breeding pigs.

Key words: Semen quality traits, Flow cytometry, Auctioned boars, Boars age, Semen collection season.

(1) Contribution No. 2793 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Formosan Farmers Association for Swine Improvement.

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

稀釋液對臺灣梅花鹿精液冷凍解凍後性狀之影響⁽¹⁾

林信宏⁽²⁾ 郭廷雍⁽³⁾ 劉雅醇⁽²⁾ 張伸彰⁽²⁾ 楊鎮榮⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：112 年 10 月 20 日；接受日期：113 年 6 月 11 日

摘 要

本研究目的係評估稀釋液種類對臺灣梅花鹿精液冷凍後精液品質之影響。試驗選用健康、性成熟牡臺灣梅花鹿，於 10 月至 12 月以電激方式採集精液樣本進行冷凍，分別利用 Tris 檸檬酸-蛋黃 (Tris-citric acid-yolk, TCY)、Tris hydroxymethyl-2-aminomethane-sulphonic acid- 蛋黃 (TEST-yolk, TY) 與檸檬酸-蛋黃 (citric acid-yolk, CY) 三種稀釋液進行稀釋與冷凍。結果顯示，剛解凍 0 小時 TCY、TY 與 CY 三組之精子活力與前進活力沒有顯著差異，然 TCY 於平均曲線運動速度顯著優於 TY 與 CY 組 ($P < 0.05$)，在平均直線運動速度、運動前向性與運動直線性，CY 則顯著優於 TCY 組 ($P < 0.05$)。精液於解凍及培養後進行評估，解凍後 1 小時各組的精子活力與前進活力沒有顯著差異，然在移動參數評估方面，CY 組之平均直線運動速度、運動前向性及運動直線性均顯著優於 TCY 組 ($P < 0.05$)；解凍後 2 小時 CY 組的前進活力優於 TCY 組 ($P < 0.05$)，其餘性狀則各組間無顯著差異。試驗母鹿均經發情同期化處理，於 CIDR[®] 移除後 60 小時進行 CY 組冷凍解凍精液之人工授精，結果顯示，所有鹿隻整體受胎率為 7.1% (1/14)。試驗結果顯示，臺灣梅花鹿精液應用 CY 稀釋液進行冷凍可得較佳之解凍後活力與精子運動參數。

關鍵詞：臺灣梅花鹿、稀釋液、精液性狀。

緒 言

在鹿科動物方面已經應用許多精液冷凍保存技術，但在保護稀釋液和冷凍方法的發展落後其它家畜反芻動物，大部分成功應用在鹿的稀釋液主要是從小型反芻動物發展而來的糖基三羥甲基氨基甲烷 (sugar-based Tris) 和 / 或檸檬酸鹽緩衝液 (citrate buffer solution)，以及使用蛋黃防止冷休克和甘油作為冷凍保護劑 (Salamon and Maxwell, 1995)。精液稀釋液功能為保護精子避免冷凍解凍過程所造成之傷害，維持精子適合之滲透壓與 pH 值，以及提供精子代謝所需之能量 (Medeiros *et al.*, 2002)。一般用於冷凍稀釋液之基本成分應包括離子及非離子之緩衝物質如三羥甲基氨基甲烷 (Tris (hydroxymethyl) aminomethane; Tris) 及三羥甲基-2-氨基甲磺酸 (Tris hydroxymethyl-2-aminomethane-sulphonic acid; Test) 等，以維持精子滲透壓及 pH 值平衡，非滲透性脂蛋白或高分子量物質如蛋黃或脫脂乳，可防止精子冷休克，再則具滲透性之抗凍劑如甘油、丙二醇或雙甲基磺氧化物 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 可提供精子抗凍保護，而提供精子能量來源之醣類如葡萄糖或果糖亦極為重要，其他添加物如抗生素及抗氧化劑亦會影響解凍後之精子受精率 (Vishwanath and Shannon, 2000)。稀釋液之 pH 值範圍介於 6.75 到 7 之間，一般哺乳動物精液 pH 介於 7.2 到 7.8 之間。乳糖、蔗糖、棉子糖、海藻糖和葡萄糖聚糖無法擴散進入細胞膜內，但是可以創造出低滲透壓的環境，促使細胞脫水並降低細胞內冰晶形成的機會，這些醣類與磷脂質在細胞膜產生交互影響，增加了冷凍精子存活機率。

家畜在新鮮精液添加稀釋液過程中，影響精子存活力之因素眾多，例如冷休克 (cold shock)、冷卻速率 (cooling rate)、稀釋液成分、滲透壓 (osmotic pressure) 與精子細胞膜之穩定性 (membrane stability) 等 (Cheng *et al.*, 2004)。稀釋液組成分為影響精液冷藏保存之主要因子，其組成分包括稀釋液內之緩衝物質、能量來源、抗生素與其他添加劑等。精液於低溫冷藏保存過程中，由於精子代謝產物乳酸的累積，會使精液 pH 值降低，而當達一定限度後即影響精液品質，甚至造成精子死亡。若欲完全抑制精子之代謝作用，則其保存溫度須低於 -130°C 始可達成。與精液等張

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2794 號。
(2) 農業部畜產試驗所南區分所。
(3) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(4) 通訊作者，E-mail: jryang@mail.tlri.gov.tw。

之緩衝溶液可減緩精液於低溫保存過程中 pH 值的降低。一般常使用於精液保存之緩衝劑有磷酸鹽緩衝溶液 (phosphate buffer solution)、檸檬酸鹽緩衝液與三羥甲基氨基甲烷緩衝溶液 (Bearden *et al.*, 2004)。兩種常使用在鹿科動物精液冷凍時之稀釋液為檸檬酸鈉－蛋黃－甘油 (sodium citrate-egg yolk-glycerol) 和三羥甲基氨基甲烷－葡萄糖－檸檬酸－蛋黃－甘油 (Tris-glucose-citrate-egg yolk-glycero) (Asher *et al.*, 2000)。Parkinson (2001) 指出，以 Tris 和檸檬酸鹽組成之稀釋液有較佳之緩衝能力，具有穩定 pH 值之效果。一般而言，葡萄糖、果糖和乳糖等均可提供精子所需之能量；而通常精液於冷藏保存時之能量需求較冷凍保存者為高。醣類物質除作為能量來源外，亦可調整稀釋液之滲透壓；部分醣類如海藻糖 (trehalose) 則可做為精子之冷凍保護因子 (Storey *et al.*, 1998)。此外，蛋黃亦能提供精子低溫冷藏保護作用，然其保護作用機制尚不完全了解，但一般認為蛋黃所含的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL)、卵磷脂等，可保護精子之脂蛋白鞘 (lipoprotein sheath) 避免冷休克。

然而，生性敏感不易操作的臺灣梅花鹿於繁殖上亦面臨晚熟、繁殖季節可採精時期短、採精需鎮靜及採精後需 2 週以上之緊迫舒緩等問題，故迄今針對臺灣梅花鹿精液冷凍保存之研究甚少。本研究之目的在於評估不同稀釋液對冷凍後精液品質影響之探討，期尋得適當之稀釋液，建立較佳之冷凍保存稀釋液以應用於人工授精，提高優良種鹿之繁殖效率。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗處理

選用飼養於南區分所屏東場區之健康且性成熟之牡臺灣梅花鹿 6 頭，試驗進行依照南區分所屏東場區實驗動物照護及使用委員會 (Institutional Animal Care and Use Committee) 審定之規定 (KAPS IACUC, No. 110-16)。每日提供盤固拉乾草、玉米青貯及苜蓿草塊等粗料與清潔飲水，另每頭鹿隻每日補充 500 g 精料。試驗於 10 月至 12 月進行，參試公鹿自 9 月開始進行電激採精。

II. 精液採集

牡臺灣梅花鹿於採精進行前 24 小時先予斷水斷食，採精時以 10% 安耐寧 S (Balanzine; Xylazine 10%, 100 mg/mL, 臺灣) 與舒泰 50 (Zoletil 50; Tiletamine base, 25 mg/mL and Zolazepam base, 25 mg/mL, France) 調配成 1:2 比例混合之麻醉劑，每頭肌肉注射 3 mL，同時肌肉注射 1 mL 阿托品。鎮靜保定後，再以電激採精器 (Electroejaculator, EJ6CCGS, CGS Products Pty Ltd., Australia)，每次以 2 V 之固定電壓持續刺激 20 秒，停止刺激 8 秒，共循環三次，進行電激採精牡鹿精液，待精液流出後以 15 mL 之離心管收集精液樣本，經檢查活力評級為 4 級以上、存活率 70% 以上之新鮮精液作為稀釋液添加測試分組來源，供精液冷凍保存及後續試驗使用。

III. 精液之冷凍保存性狀評估

本試驗中之精液稀釋液配方，包括 Tris-檸檬酸－蛋黃 (Tris-citric acid-yolk, TCY)、Tris hydroxymethyl-2-aminomethane-sulphonic acid-蛋黃 (TEST-yolk, TY) 或檸檬酸－蛋黃 (citric acid-yolk, CY) 等 3 種為主成分之稀釋液，所述之成分如表 1 所示。前述稀釋液配方中之蛋黃為配製當天由場內蛋雞舍新鮮生產雞蛋供應。經電激採精取得之原精液先進行性狀測定，並將活力評級為 4 級以上、存活率 70% 與精液濃度為 10×10^8 個精子/mL 以上之精液，先添加 1:1 不含抗凍劑之 TCY、TY 或 CY 為主成分之稀釋液後，隨即隔水置於室溫水中 30 分鐘，待溫度平衡後緩慢添加冷凍稀釋液，隔水放置在冰箱中冷卻 1 hr 以上，使精液緩慢降溫至 4°C。精液達 4°C 後即進行第二階段稀釋，以含有 12% 甘油之預冷至 4°C 之冷凍稀釋液進行 1:1 稀釋，以達到最終為 6% 甘油濃度，最終要求精子濃度為 1×10^8 個精子/mL，添加抗凍劑稀釋液之後，平衡 1.5 小時以上，然後裝入 0.5 mL 麥管中。將麥管置放於液態氮面上方 4 cm 平衡 5 分鐘，隨即投入 -196°C 液態氮桶中保存。

IV. 冷凍精液性狀評估

利用電腦輔助精子分析系統 (computer-aided sperm analysis, CASA) 以及 CEROS II Animal 軟體程序 (Hamilton Thorne Biosciences, Inc, Beverly, USA) 進行評估精子活力 (motility, %)、前進活力 (progressive motility, %)、平均路徑速度 (average path velocity, VAP, $\mu\text{m/s}$)、平均直線運動速度 (straight line velocity, VSL, $\mu\text{m/s}$)、平均曲線運動速度 (curvilinear velocity, VCL, $\mu\text{m/s}$)、運動前向性 (sperm track straightness, STR, $\text{STR} = \text{VSL} / \text{VAP} \times 100$; %)、運動直線性 (linearity index, LIN, $\text{LIN} = \text{VSL} / \text{VCL} \times 100$; %)。將於液態氮桶中保存一週以上之冷凍精液解凍後，取 2.3 μL 精液濃度 25×10^6 個精子/mL 注入至 Leja 玻片 (Leja[®] cell, IMV, Aigle, France) 上，並置於顯微鏡專用加溫板上，維持 37°C 恆溫 10 min 後，於 200 倍率下，隨機選取 5 個視野進行軟體分析。解凍後之精液持續置於 37°C 培養箱中，待經 1、2 小時培養後利用 CASA 進行精液檢測評估。

表 1. Tris- 檸檬酸 - 蛋黃 (TCY)、TEST- 蛋黃 (TY) 與檸檬酸 - 蛋黃 (CY) 稀釋液之配方

Table 1. The composition of TCY, TY and CY extenders

Components	TCY*	TY	CY
Egg yolk, %	20.0	20.0	20.0
Tris, g	2.7	0.2	—
TES, g	—	1.2	—
Citric acid, g	1.4	—	—
Sodium citrate, g	—	—	2.2
Fructose, g	1.0	1.6	1.0
Glucose, g	—	1.6	—
Gentamicin, µg	250.0	250.0	250.0
Penicillin, µg	150.0	150.0	150.0
Total, mL	100.0	100.0	100.0
Reference	Fernández-Santos <i>et al.</i> , 2006	Pontbriand <i>et al.</i> , 1989	Garde <i>et al.</i> , 2003

* TCY: Tris-citric-base medium; TY: TES-base medium; CY: Sodium citrate-base.

V. 發情同期化處理與人工授精

母鹿之發情同期化處理，即將母鹿以鹿隻專用固定架保定後，將含 0.3 g progesterone 之 CIDR® (controlled internal drug release, CIDR®. G, EAZI-breed, Australia) 置於母鹿之陰道中 (當作處理之第 1 日)，於第 10 日肌肉注射含 150 IU 之馬絨毛膜激性腺素 (equine chorionic gonadotropin, eCG, PROSPEC, Israel)，第 12 日移除 CIDR®，並同時肌肉注射 1 mL 含 125 µg/mL 之 PGF_{2α} (Estrumate®, MSD, Germany)。在 CIDR® 移除後 60 h，利用前述冷凍精液性狀評估較佳稀釋液製備之冷凍精液，以每劑 5×10^7 個精子 / 經 37°C 解凍 30 s 後進行傳統人工授精，即將人工授精槍伸入以開腔器張開之陰道對準子宮頸口，使授精槍前端到達子宮體的位置，然後將精液緩慢注入子宮體的位置。部分母鹿則在 CIDR® 移除後 63 h 則進行腹腔鏡人工授精，進行前 24 h 予以斷水斷食，母鹿鎮靜保定後再將之移往鹿隻腹腔鏡人工授精架保定。於操作區域以優碘藥水進行清洗消毒後，接著皮下注射 20 mg/mL 之利多卡因 (Lidocaine) 2 – 3 mL。等待約 5 分鐘後以手術刀於距左右乳頭前 3 – 5 公分處各將皮膚劃開 1 cm，續以腹膜穿刺器 (trocar) 刺穿腹膜；完成穿刺後將 trocar 抽出，將套管留於腹腔；兩側之孔一側置入影像及光源系統，另一側則為腹腔鏡精液注射管進入孔。精液 (0.5 mL； 5×10^7 個精子) 經解凍後於子宮角中段注入精液。傷口縫合後，以優碘藥水噴灑傷口並肌肉注射 8 mL 抗生素；試驗完成之鹿隻先集中於復原欄，復原後另行移動至正常欄位飼養，並於授精後第 45 日後，以超音波掃描儀 (Aloka, Prosound-2, Japan) 配合經直腸型探頭 (Transrectum electronic linear probe, UTS-660, 7.5 MHz, Japan)，透過掃描其子宮腔內宮阜之影像診斷懷孕之確認。

VI. 統計分析

試驗資料以統計分析系統 (Statistical Analysis System; SAS, 2005) 套裝軟體進行統計分析，使用一般線性模式程序 (General Linear Models) 進行變方分析，並進一步以鄧肯氏多變域測定法 (Duncan's Multiple Range Test) 比較處理間之差異性。

結果與討論

臺灣梅花鹿為特有亞種，係季節性繁殖明顯之鹿種，主要繁殖期每年僅有 10 月至 12 月之繁殖月份。由於鹿科動物生性敏感不易操作，馴化程度不足，不易以假陰道進行採精訓練，且牡臺灣梅花鹿之電激採精、精液稀釋液、精液冷凍與人工授精技術尚未普及化，直接影響到優良種鹿繁殖推廣效率。是故本試驗乃評估稀釋液種類對臺灣梅花鹿精液冷凍後品質之影響，將供試之性成熟臺灣梅花鹿，於麻醉保定後，以電激採精方式進行精液收集以應用於冷凍實驗，採集之新鮮精液各性狀平均數據為精子活力 4.0 ± 1.2 、精子畸形率 $12.9 \pm 5.1\%$ 與精子存活率 $76.3 \pm 19.3\%$ 。

應用 TCY、TY 或 CY 稀釋液添加 6% 甘油作為冷凍保護劑，進行精液冷凍保存後對精子性狀之影響，TCY、

TY 與 CY 三組解凍後 0 小時之結果如表 2 所示，Motility 分別為 55.4 ± 17.3 、 43.0 ± 21.7 、 $49.5 \pm 21.5\%$ ，Progressive motility 則分別為 38.8 ± 15.5 、 35.3 ± 22.3 、 $41.4 \pm 18.9\%$ ，各組間沒有顯著差異 ($P > 0.05$)；但在 VCL 方面，TCY 組為 $126.4 \pm 20.4 \mu\text{m/s}$ ，顯著高於 TY 組 $96.4 \pm 24.8 \mu\text{m/s}$ 與 CY 組 $109.7 \pm 15.9 \mu\text{m/s}$ ($P < 0.05$)；就 VAP 與 VSL 兩方面而言，CY 組分別為 92.7 ± 12.9 和 $82.2 \pm 12.6 \mu\text{m/s}$ ，顯著高於 TY 組之 79.5 ± 20.9 和 $67.5 \pm 18.8 \mu\text{m/s}$ ($P < 0.05$)；在 STR 與 LIN 而言，TCY 組分別為 70.4 ± 5.9 和 $47.4 \pm 4.9\%$ ，顯著低於 TY 組的 82.3 ± 7.6 與 $70.0 \pm 8.3\%$ ，以及 CY 組的 85.4 ± 6.1 與 $73.6 \pm 8.6\%$ ($P < 0.05$)。解凍 1 小時後之結果如表 3 所示，TCY、TY 與 CY 三組在 Motility、Progressive motility、VCL 與 VAP 方面，各組間沒有顯著差異；在 VSL 方面，CY 組為 $60.7 \pm 19.2 \mu\text{m/s}$ ，顯著高於 TCY 組之 $49.3 \pm 18.7 \mu\text{m/s}$ ($P < 0.05$)；但在 STR 與 LIN，CY 組分別為 80.3 ± 8.1 和 $58.9 \pm 12.1\%$ ，亦顯著高於 TCY 組之 69.6 ± 11.0 與 $48.0 \pm 9.5\%$ ($P < 0.05$)。解凍 2 小時後之結果如表 4 所示，TCY、TY 與 CY 三組在 Motility、VCL、VAP、VSL、STR 與 LIN 方面，各組間沒有顯著差異 ($P > 0.05$)，僅在 Progressive motility 方面，CY 組之 $9.0 \pm 11.4\%$ 顯著高於 TCY 組之 $2.8 \pm 3.5\%$ ($P < 0.05$)。CY 組於解凍後 2 小時之 Motility 與 Progressive motility 有相對較佳之趨勢，相似之結果亦曾在 Cheng *et al.* (2004) 之研究中証實，而該研究顯示梅花鹿精液以 TY 為稀釋液所冷凍之精子存活率優於 TCY 與 CY 稀釋液。

表 2. 不同稀釋液種類對臺灣梅花鹿精液冷凍解凍後 0 小時活力及移動參數之影響

Table 2. Effects of extenders on semen characteristics of Formosan sika deer 0 hr after frozen and thawed

Items	TCY* (n = 16)	TY (n = 16)	CY (n = 16)
Motility, %	$55.4 \pm 17.3^{\#}$	43.0 ± 21.7	49.5 ± 21.5
Progressive motility, %	38.8 ± 15.5	35.3 ± 22.3	41.4 ± 18.9
VCL, $\mu\text{m/s}$	126.4 ± 20.4^a	96.4 ± 24.8^b	109.7 ± 15.9^b
VAP, $\mu\text{m/s}$	$82.5 \pm 16.4^{a,b}$	79.5 ± 20.9^b	92.7 ± 12.9^a
VSL, $\mu\text{m/s}$	59.6 ± 13.6^b	67.5 ± 18.8^b	82.2 ± 12.6^a
STR, %	70.4 ± 5.9^b	82.3 ± 7.6^a	85.4 ± 6.1^a
LIN, %	47.4 ± 4.9^b	70.0 ± 8.3^a	73.6 ± 8.6^a

[#] Mean \pm SD.

* TCY: Tris-citric acid-yolk extender; TY: TEST-yolk extender; CY: citric acid-yolk extender; VCL: curvilinear velocity; VAP: average path velocity; VSL: straight line velocity; STR: sperm track straightness; LIN: linearity index.

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

表 3. 不同稀釋液種類對臺灣梅花鹿精液冷凍解凍後 1 小時活力及移動參數之影響

Table 3. Effects of extenders on semen characteristics of Formosan sika deer 1 hr after frozen and thawed

Items	TCY* (n = 16)	TY (n = 16)	CY (n = 16)
Motility, %	16.2 ± 10.9	18.6 ± 17.4	26.4 ± 20.5
Progressive motility, %	10.8 ± 9.6	12.8 ± 14.4	20.0 ± 16.5
VCL, $\mu\text{m/s}$	96.8 ± 26.5	83.6 ± 40.3	97.1 ± 27.0
VAP, $\mu\text{m/s}$	64.3 ± 21.3	56.5 ± 30.9	70.0 ± 21.5
VSL, $\mu\text{m/s}$	49.3 ± 18.7^b	$45.0 \pm 23.6^{a,b}$	60.7 ± 19.2^a
STR, %	69.6 ± 11.0^b	$66.9 \pm 20.3^{a,b}$	80.3 ± 8.1^a
LIN, %	48.0 ± 9.5^b	46.2 ± 14.2^b	58.9 ± 12.1^a

Mean \pm SD.

* TCY: Tris-citric acid-yolk extender; TY: TEST-yolk extender; CY: citric acid-yolk extender; VCL: curvilinear velocity; VAP: average path velocity; VSL: straight line velocity; STR: sperm track straightness; LIN: linearity index.

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

精子之運動性是與精液受精能力相關的最重要參數之一，因此被認為是在雌性生殖道中精子運輸和受精的必要條件 (Verstegen *et al.*, 2002)。在本研究利用 CASA 分析三種稀釋液之精子活力及精子運動參數中，剛解凍時三種稀釋液在精子活力與前進活力上無顯著差異，但在其他的精子運動參數，略有不同。解凍 1 小時後，各組精子活力與

前進活力呈均顯著大幅下降；在 VSL、STR 及 LIN 僅 CY 組顯著高於其他組別。解凍 2 小時後，各組在各項精子活力及精子運動參數中均下降至無顯著差異，僅在前進活力上 CY 組優於 TCY 組。研究顯示，受精率與 VSL 及 VAP 運動參數呈現正相關，在人類精子品質之研究中也發現 VSL 值與生育能力呈正相關 (Wainer *et al.*, 1996)；而 VAP、VCL 及 VSL 等表示精子運動能力越高則數值越高 (Larsen *et al.*, 2000)。

表 4. 不同稀釋液種類對臺灣梅花鹿精液冷凍解凍後 2 小時活力及移動參數之影響

Table 4. Effects of extenders on the semen characteristics of Formosan sika deer 2 hrs after frozen and thawed

Items	TCY* (n = 16)	TY (n = 16)	CY (n = 16)
Motility, %	6.3 ± 5.2	7.4 ± 6.7	12.0 ± 13.1
Progressive motility, %	2.8 ± 3.5 ^b	4.6 ± 5.9 ^{a,b}	9.0 ± 11.4 ^a
VCL, μm/s	62.4 ± 20.5	64.0 ± 39.3	66.0 ± 35.9
VAP, μm/s	36.7 ± 15.2	42.4 ± 26.9	47.4 ± 28.1
VSL, μm/s	27.8 ± 15.2	33.8 ± 22.8	40.7 ± 24.8
STR, %	64.5 ± 17.6	57.7 ± 28.4	64.6 ± 27.2
LIN, %	39.4 ± 14.1	40.1 ± 21.1	47.5 ± 21.9

Mean ± SD.

* TCY: Tris-citric acid-yolk extender; TY: TEST-yolk extender; CY: citric acid-yolk extender; VCL: curvilinear velocity; VAP: average path velocity; VSL: straight line velocity; STR: sperm track straightness; LIN: linearity index.

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

精液性狀檢查為評估生育力重要指標之一，然評斷冷凍精液之最可信方式是直接進行人工授精，再觀察是否成功懷孕。因此試驗使用前述製備經解凍評估較佳之 CY 組冷凍精液進行人工授精，以探討解凍後對懷孕率之影響，其結果如表 5 所示。結果顯示傳統人工授精全部鹿隻之整體平均受胎率為 7.1% (1/14)，且順利產下 1 頭母仔鹿。但利用腹腔鏡進行人工授精受胎率為 0.0% (0/3)。Gao *et al.* (2009) 研究中，建議於 CIDR 移除後第 58 至 66 小時進行梅花鹿之人工授精，於本研究結果顯示 CIDR[®] 移除後第 60 小時進行人工授精可得到 1 頭母鹿懷孕。發情同期化技術以及隨後的發情觀察是人工授精的重要技術環節之一，但因鹿生性敏感不易觀察，遂利用腹腔鏡進行卵巢濾泡觀察，本試驗中發情同期化處理使用 eCG 之模式，且於 CIDR 拔除後 63 小時利用腹腔鏡觀察卵巢上之濾泡發育情形，可誘導高達 100.0% (3/3) 母鹿卵巢濾泡發育，有利於進一步進行人工授精。但本研究中人工授精後懷孕率甚低，間接推測主要原因可能前述表 3 中 CY 組於體外解凍 1 小時後之檢測結果相關，顯現出 Motility 與 Progressive motility 大幅下降至 26.4 與 20.0%。在家畜生殖中，精子的體外生存時間對於判斷人工授精後，其於子宮腔內妊娠率之表現具有重要的臨床價值。因此，只要能夠提高冷凍解凍後精子的運動能力與延長精子的生存時間，就有利於精子在輸卵管內的受精率。Luis *et al.* (2012) 研究顯示冷凍稀釋液中添加抗氧化劑，有助於提高紅鹿精子解凍後運動能力，並減少冷凍所致精子之損害。將人工授精應用在鹿科動物常受限於：(1) 對物種特有的繁殖特性不了解；(2) 無法將操作緊迫降到最低；(3) 懷孕損失。時至今日，人工授精雖已經發展成熟到可供家畜使用，目前更進一步應用於鹿產業。惟因鹿科動物生性敏感不易操作，因此限制其發展。且很少有大量個體數目進行試驗，以評估這些因子的影響，尤其在使用冷凍精液進行人工授精時，這也是以往國內臺灣梅花鹿甚少成功案例的原因。

綜合前述結果，顯示本試驗已初步建立臺灣梅花鹿精液可應用 TCY、TY 與 CY 三組稀釋液進行冷凍保存，但可看出 CY 組於解凍後 2 小時之精子活力與向前精子活力有相對較佳之趨勢，可提供作為臺灣梅花鹿進行精液冷凍之參考，而日後亦需尋求提升冷凍精液品質之方法及人工授精成功率之技術。

表 5. 不同授精方式對臺灣梅花鹿人工授精後受胎率之影響

Table 5. Effects of different artificial insemination methods on the conception rate of Formosan sika deer

Artificial Insemination (AI)	No. of service	No. of pregnancy (%)
Traditional AI	14	1 (7.1) ⁽¹⁾
Laparoscope AI	3	0 (0.0) ⁽²⁾

⁽¹⁾ 60 hours after CIDR[®] removal.

⁽²⁾ 63 hours after CIDR[®] removal.

參考文獻

- Asher, G. W., D. K. Berg, and G. Evans. 2000. Storage of semen and artificial insemination in deer. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 195-211.
- Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 2004. *Applied Animal Reproduction*. 6th Eds. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA. pp. 64-253.
- Cheng, F. P., J. T. Wu, J. P. W. Chan, J. S. Wang, H. P. Fung, B. Colenbrander, and K. C. Tung. 2004. The effect of different extender on post-thaw sperm survival, acrosomal integrity and longevity in cryopreserved semen of Formosan sika deer and Formosan sambar deer. *Theriogenology* 66: 1605-1616.
- Fernández-Santos M. R., M. C. Esteso, V. Montoro, A. J. Soler, and J. J. Garde. 2006. Influence of various permeating cryoprotectants on freezability of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: Effect of concentration and temperature of addition. *J. Androl.* 69: 1-36.
- Gao, Q. H., H. J. Wei, J. Luo, C. M. Han, S. Schoenian, H. Z. Du, Q. S. Lu, and J. Qian. 2009. Flow cytometric sexing of X- and Y-chromosome-bearing sperm in Sika deer (*Cervus nippon*). *Small Rumin. Res.* 81: 100-104.
- Garde J. J., A. J. Soler, J. Cassinello, C. Crespo, A. F. Malo, G. Espeso, M. Gomendio, and E.R.S. Roldan. 2003. Sperm cryopreservation in three species of endangered gazelles (*Gazella cuvieri*, *G. dama mhorh*, and *G. dorcas neglecta*). *Biol. Reprod.* 69: 602-611.
- Larsen, L., T. Scheike, T. K. Jensen, J. P. Bonde, E. Ernst, N. H. Hjollund, and A. Giwercman. 2000. Computer assisted semen analysis parameters as predictor for fertility of men from the general population. *Human Reprod.* 15: 1562-1567.
- Luis, A. L., A. R. Manuel, G. A. Olga, A. Mercedes, M. M. Alejandro, A. Luis, D. P. Paulino, and M. P. Felipe. 2012. Reduced glutathione and Trolox (vitamin E) as extender supplements in cryopreservation of red deer epididymal spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 135: 37-46.
- Medeiros, C., F. Forell, A. Oliveira, and J. Rodrigues. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology* 57: 327-344.
- Parkinson, T. 2001. Artificial insemination. In: Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. D. E. Noakes, T. J. Parkinson, G. C. W. England, and G. H. Arthur (eds), W. B. Saunders, London. U.K. pp. 751-778.
- Pontbriand D., J. G. Howard, M. C. Schiewe, L. D. Stuart, and D. E. Wiedt. 1989. Effect of cryoprotective diluent and method of freeze-thawing on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa. *Cryobiology* 26: 341-354.
- SAS Institute. 2005. *SAS/STAT Guide for personal computers*. 9.1th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Salamon, S. and W. M. C. Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen: I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 185-249.
- Storey, B. T., E. E. Noiles, and K. A. Thompson. 1998. Comparison of glycerol, other polyols, trehalose, and raffinose to provide a defined cryoprotectant medium for mouse sperm cryopreservation. *Cryobiology* 37: 46-58.
- Vishwanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 23-53.
- Verstegen, J., M. Iguer-Ouada, and K. Onclin. 2002. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology* 57: 149-179.
- Wainer, R., F. Merlet, M. Bailly, R. Lombroso, E. Camus, and J. P. Bisson. 1996. Prognostic sperm factors in intra-uterine insemination with partner's sperm. *Contracept. Fertil. Sex.* 24: 897-903.

Effects of extenders on thawed semen characteristics of Formosan sika deer after freezing⁽¹⁾

Hsin-Hung Lin⁽²⁾ Ting-Yung Kuo⁽³⁾ Ya-Chun Liu⁽²⁾
Shen-Chang Chang⁽²⁾ and Jenn-Rong Yang⁽³⁾⁽⁴⁾

Received: Oct. 20, 2023; Accepted: Jun. 11, 2024

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of extenders on the semen characteristics of Formosan sika deer after freezing. Healthy and sexually matured male Formosa sika deer were selected for the experiment and the semen collection was conducted by electro-ejaculation between October and December. The semen was diluted with three extenders, including Tris-citric acid-yolk (TCY), Tris hydroxymethyl-2-aminomethane-sulphonic acid-yolk (TEST-yolk; TY) and citric acid-yolk (CY), and then frozen. The results showed that wehre was no significant difference in the sperm motility and progressive motility among the TCY, TY and CY groups. However, the VCL (curvilinear velocity) of TCY group was significantly better than that of TY and CY groups ($P < 0.05$), and the VSL (straight line velocity), STR (sperm track straightness) and LIN (linearity index) of CY group was significantly better than those of TCY group ($P < 0.05$). After thawing, the semen was evaluated after thawing and cultivation. There was no significant difference in the sperm motility and progressive motility in 1 hour after thawing. Nonetheless, in terms of the evaluation of progressive parameters, the However, the VSL, STR and LIN of CY group were significantly better than those of TCY group ($P < 0.05$). The progressive motility of the CY group was significantly better than that of the TCY group in 2 hours after thawing ($P < 0.05$), and no significant difference was found in the other characteristics among the TCY, TY and CY groups. The doe of the experiment underwent estrus synchronization and performed artificial insemination using semen from CY group after freezing and thawing semen, in 60 hours after CIDR[®] removal. The results showed that the overall conception rate of all deer was 7.1% (1/14). In conclusion, freezing the semen of Formosan sika deer with CY extender can yield a better motility and progressive characteristics of semen after thawing.

Key words: Formosan sika deer, Extender, Semen characteristics.

(1) Contribution No. 2794 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

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

花畜鬥雞於涼熱季環境之生理值、血液生化 及血液學調查⁽¹⁾

李雁鈴⁽²⁾⁽³⁾ 楊深玄⁽²⁾ 黃培峻⁽²⁾ 魏良原⁽²⁾ 張經緯⁽²⁾

收件日期：113 年 4 月 11 日；接受日期：113 年 6 月 19 日

摘 要

本研究調查 22 至 37 週齡花畜鬥雞於涼季 (1 至 2 月) 與熱季 (6 至 8 月) 生理值、血液生化值及血液學之變化，以了解不同氣候對花畜鬥雞種雞生理性狀之影響。試驗結果顯示，涼季與熱季花畜鬥雞禽舍環境溫度、溼度及溫溼度指數 (Temperature-humidity index, THI) 值，無論室內外，涼季平均溫度皆低於熱季，涼季平均溼度皆高於熱季，涼季平均 THI 值皆低於熱季，三者皆呈顯著性差異 ($P < 0.05$)。泄殖腔溫度熱季平均 41.39°C 顯著高於涼季 41.08°C ($P < 0.05$)，但涼熱季體溫仍皆處於合理範圍內。每分鐘呼吸頻率，熱季為 39.75 ± 6.59 次，顯著高於涼季 34.75 ± 7.06 次 ($P < 0.05$)，顯示當花畜鬥雞處於熱季環境溫溼度較高時，即藉由增加呼吸次數來調節散熱穩定體溫。血液生化分析結果顯示，花畜鬥雞血液中血糖、天門冬氨酸轉胺酶、丙胺酸轉胺酶及白蛋白/球蛋白比等 4 項檢測值，熱季顯著高於涼季，另試驗總膽紅素、血鈉、血鉀、血磷與醣類皮質素等 5 項數值，涼季顯著高於熱季 ($P < 0.05$)。血液學分析結果顯示，紅血球與平均紅血球血紅素濃度等 2 項數值於涼季顯著高於熱季。血容比、平均紅血球容積、平均紅血球血紅素、嗜鹼性球及纖維素原等 5 項數值於熱季顯著高於涼季 ($P < 0.05$)。綜合試驗研究數據顯示，環境溫度變化對於花畜鬥雞生理與血液性狀表現確實有影響性，多數血液生化值與血液學值仍在正常生理表現範圍內，此顯示花畜鬥雞可藉由自我調適作用適應臺灣的氣候轉變，其適應力佳，有利在臺灣生長。

關鍵詞：花畜鬥雞、血液生化、血液學。

緒 言

隨著全球氣候變遷加劇，家禽飼養效能常取決於飼養者對極端溫溼度環境發生時的因應作為，雞舍內的環境是生產性能和效率的主要決定因素，環境溫度的緊迫 (冷或熱) 可影響雞隻健康、福祉及生產性能，而溫溼度指數 (Temperature-humidity index, THI) 則可用於評估熱環境對動物體溫調節狀態的影響 (Chepete *et al.*, 2005; Purswell *et al.*, 2012)。熱緊迫是降低雞生長性能的關鍵環境因素 (Goo *et al.*, 2019)。雞隻處於環境熱緊迫時採食量會減少，進而影響生長速度、體重、肉質、蛋質、產蛋量、精液質量和生育能力等 (Nawab *et al.*, 2018)。環境溫度和相對溼度較高的條件下，肉雞體溫和呼吸頻率增加，此會降低血液二氧化碳水平並改變酸鹼平衡，導致呼吸性鹼中毒 (Raup and Bottje, 1990) 並影響生長速度、飼料轉換率和存活率。所以當熱緊迫超過雞隻體內防禦系統的補償能力，雞隻會增強體內醣質新生成作用，造成體重急劇下降，繼而能量貯備耗竭，新陳代謝出現不可逆變化，適應性被破壞後導致死亡。由於雞隻沒有汗腺，在高溫刺激下須依靠增加呼吸系統的蒸發散熱，當喘息增加會導致血中二氧化碳濃度增加，使血液 pH 值升高，阻礙蛋殼鈣化所需的血液重碳酸鹽利用率，導致有機酸可用性增加，繼而降低了血液中的游離鈣濃度，這個過程對種雞和蛋雞非常重要，因為它會影響蛋殼品質 (Lara and Rostagno, 2013)。當氣溫低於 16°C 的環境溫度亦會對動物的生產性能產生不利影響，研究顯示，低溫會導致雞隻採食量增加、產蛋量下降、個體

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2795 號。

(2) 農業部畜產試驗所東區分所。

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

體重增加、飼料效率降低及免疫力下降等多種負面影響 (Olfati *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020)。血液生化指標在評估個體的整體健康情況和代謝功能具有至關重要的作用 (Jiang *et al.*, 2023)。當禽類體溫調節反應時會引起血液系統的變化, 如血糖和電解質的調整, 使它們能夠承受環境的緊迫。由於臺灣對本土鬥雞研究之報告極少, 花畜鬥雞 (Hualien Animal Propagation Station Cockfighting, HCF) 為臺灣公告命名的肉用鬥雞品系, 如能了解 HCF 種禽在不同季節下的生理數值, 藉此可提供臺灣鬥雞種禽於氣候變遷下之調適研究參考, 有助於臺灣鬥雞產業之發展。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗設計

- (i) 本研究所涉及之動物試驗於農業部畜產試驗所東區分所 (花蓮場區) 執行, 動物之使用、飼養及實驗內容皆依農業部畜產試驗所東區分所 (花蓮場區) 實驗動物管理委員會核准之文件 (動物實驗核准編號為 HUIACUC10905、HUIACUC11009) 與試驗準則進行。
- (ii) 試驗於 2020 與 2021 年進行, 分別於涼季 (1 至 2 月) 及熱季 (6 至 8 月) 逢機選擇 22 至 37 週齡公、母花畜鬥雞各 15 隻, 每年 60 隻, 兩年共計 120 隻進行採樣。
- (iii) 試驗雞隻飼養於水泥結構半開放式禽舍空間, 採個別籠飼 (每籠高 120 cm × 寬 60 cm × 長度 70 cm), 光照採 16 小時長光照 (16L : 8D), 光照強度 10 – 20 lux。公雞飼料含粗蛋白質 15%, 代謝能 3,000 kcal/kg, 產蛋母雞飼料含粗蛋白質 16%, 代謝能 2,900 kcal/kg, 試驗期間之飼料與飲水均任食。
- (iv) 防疫計畫, 除遵照防疫機關所規定應注射新城病之疫苗外, 視場內雞隻疫病防治需要, 增加家禽傳染性支氣管炎與產蛋下降症候群等疫苗施打。
- (v) 於 2020 與 2021 年涼季與熱季每兩星期檢測一日, 分別於上午 10 時及下午 14 時進行保定, 記錄花畜鬥雞泄殖腔溫度和每分鐘呼吸頻率。

II. 檢測項目與方法

- (i) 以高精度 USB 溫溼度連續紀錄器 (THD-8[®]) 置放花畜鬥雞禽舍內外, 距離地面 1.5 公尺處, 紀錄試驗期涼季與熱季環境溫度與溼度, 據以計算 THI 值。 $THI = (1.8 \times AT + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times AT - 26)]$ 。AT: air temperature (°C); RH: relative humidity (%) (Habeb *et al.*, 2018)。
- (ii) 將花畜鬥雞保定和穩定後, 以體溫計測量泄殖腔溫度, 並以人工目測 1 分鐘內胸腹部起伏之次數記錄每分鐘呼吸頻率。
- (iii) 2020 與 2021 年分別於 2 月與 8 月最後一週, 由花畜鬥雞翼靜脈抽血 3 mL, 分別加入含肝素抗凝血管 (BD Vacutainer[®] Lithium Heparin) 與凝血管, 凝血管經離心後 (3,000 rpm、10 min 及 4°C) 將上層血清送至合法檢驗公司 (健康醫事檢驗所和立人醫事檢驗所) 進行血液生化值檢測。血液生化值測定 22 個項目, 包含血糖 (Glucose, Glu)、尿素氮 (Blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (Creatinine, Cre)、尿酸 (Uric acid, UA)、肌酸激酶 (Creatine kinase, CK)、天門冬胺酸胺酶 (Aspartate aminotransferase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (Alanine aminotransferase, ALT)、鹼性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, ALP)、總膽紅素 (Total bilirubin, TBIL)、總蛋白質 (Total protein, TP)、白蛋白 (Albumin, Alb)、球蛋白 (Globulin, Glb)、白蛋白 / 球蛋白比值 (Albumin / Globulin, A / G)、總膽固醇 (Total cholesterol, TC)、三酸甘油酯 (Triglyceride, TG)、血鈉 (Sodium, Na)、血鉀 (Potassium, K)、血鈣 (Calcium, Ca)、血磷 (Phosphate, P)、醣類皮質素 (Glucocorticoid)、免疫球蛋白 A (Immunoglobulin A, Ig A)、免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, Ig G)。其中醣類皮質素、免疫球蛋白 A、免疫球蛋白 G 使用 Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd. 商業套組 Chicken glucocorticoid (GC)、Chicken immunoglobulin A (Ig A) 及 Chicken immunoglobulin G (Ig G) ELISA kit 進行酵素結合免疫吸附分析定量。含肝素全血送至屏東科技大學附設獸醫教學醫院進行全血細胞計數 (Complete blood count, CBC) 檢測, 包含血容比 (Packed cell volume, PCV)、紅血球 (Red blood cells, RBC)、血紅素 (Hemoglobin, Hb)、平均紅血球容積 (Mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素含量 (Mean cell hemoglobin, MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (Mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、白血球 (White blood cell, WBC)、異嗜球 (Heterophils)、淋巴球 (Lymphocytes)、單核球 (Monocytes)、嗜酸性球 (Eosinophils)、嗜鹼性球 (Basophils)、血小板 (Platelet, PLT) 及纖維素原 (Fibrinogen) 等 14 項分析。

III. 統計分析

試驗資料以 IBM[®] SPSS[®] Statistics version 22 (SPSS, 2013) 軟體進行統計分析, 以雙因子變異數分析 (Two-way ANOVA) 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

I. 涼、熱季環境變化對花畜鬥雞泄殖腔溫度與呼吸頻率影響

試驗涼季與熱季是依據中央氣象局花蓮氣象站 2020 至 2021 年觀測資料查詢統計結果，花蓮地區於 1 至 2 月之平均溫度為 18.1 至 19.6°C，THI 值為 63.7 至 66.0，為涼季。6 至 8 月月平均溫度為 28.7 至 29.4°C，THI 值為 80.6 至 81.4，為熱季 (莊等, 2023)。當溼度升高時，鳥類能夠蒸發的水分量就會減少，並影響雞隻生理狀況。統計分析涼季與熱季花畜鬥雞禽舍環境溫度、溼度及 THI 值，無論室內外，涼季平均溫度皆低於熱季，涼季平均溼度皆高於熱季，涼季平均 THI 值皆低於熱季 (表 1)，三者於皆呈顯著性差異 ($P < 0.05$)，顯示花蓮地區涼熱季半開放式水泥結構禽舍溫溼度變化明顯，且經由分析 THI 值與環境溫度呈極高度正相關。另於熱季，室外平均溫度高於室內，室外平均溼度則低於室內，室外平均 THI 值高於室內，顯示遮蔽空間確實具有降溫效果。

表 1. 涼熱季禽舍內外溫度、溼度及 THI 值比較表

Table 1. Compare the mean temperature, relative humidity and THI value of the poultry house indoor and outdoor in the morning and afternoon during the cool and hot seasons

Poultry house	Items	Cool season ¹	Hot season ¹
Indoor	Temperature, °C	20.02 ± 2.91 ^b	30.37 ± 1.41 ^a
	Relative humidity, %	75.56 ± 8.31 ^a	71.79 ± 7.77 ^b
	THI value	66.62 ± 4.31 ^b	82.43 ± 2.39 ^a
Outdoor	Temperature, °C	20.35 ± 3.72 ^b	32.29 ± 2.12 ^a
	Relative humidity, %	73.08 ± 12.30 ^a	66.57 ± 7.70 ^b
	THI value	66.89 ± 4.15 ^b	84.12 ± 2.59 ^a

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

¹ Cool season : Jan. — Feb. ; Hot season : Jun. — Aug. ; Test time : 10 : 00 am and 2 : 00 pm.

Values are mean ± SD.

在熱緊迫環境下，雞隻會藉由減少行走、增加飲水、休息和喘氣的時間來調整適應環境 (Mack *et al.*, 2013)。動物於熱緊迫時會引發心跳加快、增加呼吸頻率並增強流向身體周圍 (皮膚) 的血液，藉此散失熱量以維持體溫 (Minton, 1994)。依據 Kumari and Nath (2018) 研究表示，雞隻的正常體溫約為 41 — 42°C，最佳生長溫度為 18 — 21°C。花畜鬥雞泄殖腔溫度熱季平均 41.39°C 顯著高於涼季 41.08°C ($P < 0.05$) (表 2)，但涼熱季體溫仍皆處於合理範圍內。

雞隻白天呼吸頻率約 35.6 次/分鐘，夜晚則為 23.1 次/分鐘，平均約 30 次/分鐘，當雞隻處於熱緊迫下可能增加至 150 次/分鐘 (Jacob and Pescatore, 2013)。試驗結果，花畜鬥雞每分鐘呼吸頻率熱季為 39.75 ± 6.59 次顯著高於涼季 34.75 ± 7.06 次 ($P < 0.05$) (表 2)，顯示當花畜鬥雞處於熱季環境溫溼度較高時，即藉由增加呼吸次數來調節散熱穩定體溫，此與 Minton (1994) 研究結果相符，因此，於臺灣涼季低溫潮溼與熱季高溫乾燥的環境下，22 至 37 週齡花畜鬥雞可維持其正常生理表現，並具有良好的熱緊迫調適能力。

表 2. 涼、熱季禽舍 THI 及花畜鬥雞泄殖腔溫度與每分鐘呼吸頻率

Table 2. The mean temperature, relative humidity and THI value of the poultry house, cloacal temperature and respiration rate of HCF in the cool and hot seasons

Season	THI value in-door	THI value out-door	Cloacal temperature, °C (n = 60)	Respiration rate, time/min (n = 60)
Cool ¹	68.6 ± 4.7 ^b	69.8 ± 6.1 ^b	41.08 ± 0.92 ^b	34.75 ± 7.06 ^b
Hot ¹	84.7 ± 2.4 ^a	85.2 ± 1.8 ^a	41.39 ± 0.51 ^a	39.75 ± 6.59 ^a

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

¹ Cool season : Jan. — Feb. ; Hot season : Jun. — Aug.

Values are mean ± SD.

比較不同性別的花畜鬥雞於涼、熱季之泄殖腔溫度與呼吸頻率皆呈顯著性差異 ($P < 0.05$) (表 3)。公、母禽於熱季呼吸頻率皆高於涼季，且不論涼、熱季，母禽呼吸頻率皆顯著高於公禽，於熱季公、母禽呼吸頻率皆偏高約 38.6 – 40.8 次/分鐘，此有利於雞隻散熱調節作用。

表 3. 花畜鬥雞涼、熱季公禽與母禽泄殖腔溫度與每分鐘呼吸頻率

Table 3. The mean cloacal temperature and respiration rate of HCF roosters and hens in the cool and hot seasons

Season	Sex (n=30)	Test time	Cloacal temperature, °C	Respiration rate, time/min
Cool ¹	Roosters ²	A.M. ³	41.2 ± 1.0 ^{bcd}	33.3 ± 12.4 ^d
		P.M. ³	41.4 ± 1.1 ^{ab}	33.5 ± 11.8 ^d
	Hens ²	A.M. ³	41.1 ± 0.9 ^d	35.4 ± 13.8 ^c
		P.M. ³	41.3 ± 1.5 ^{abc}	36.8 ± 14.7 ^c
Hot ¹	Roosters ²	A.M. ³	41.5 ± 0.4 ^a	39.2 ± 14.1 ^{ab}
		P.M. ³	41.2 ± 0.4 ^{bcd}	38.6 ± 16.7 ^b
	Hens ²	A.M. ³	41.3 ± 0.4 ^{abc}	40.4 ± 11.8 ^{ab}
		P.M. ³	41.1 ± 0.6 ^{cd}	40.8 ± 13.8 ^a

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

¹ Cool season : Jan. – Feb. ; Hot season : Jun. – Aug.

² n = 30.

³ Test time A.M. 10:00 and P.M. 2:00.

Values are mean ± SD.

II. 涼、熱季環境變化對花畜鬥雞血液生化值影響

家禽暴露在高溫下會導致生理、行為和免疫反應的產生，直接或間接地對其性能產生不利影響 (Lara and Rostagno, 2013)。血液生化指標則可以客觀地反映出動物的生理或病理變化，以及代謝和營養狀況，其中膽固醇、三酸甘油酯及血糖是通過碳水化合物和脂質代謝影響雞生長性能的重要指標。在血液中，膽固醇以脂蛋白的形式存在，膽固醇固態對細胞和全身功能至關重要，家畜膽固醇濃度升高會對健康和生產力產生負面影響，包括產蛋量和品質、繁殖和孵化率 (Jiang *et al.*, 2023)。本試驗涼、熱季血液生化值分析結果顯示，花畜鬥雞血液中血糖、天門冬氨酸轉胺酶、丙氨酸轉胺酶及白蛋白/球蛋白比等 4 項檢測值，熱季顯著高於涼季 ($P < 0.05$)，此結果與研究顯示，熱緊迫不會改變尿酸、總蛋白、白蛋白及球蛋白，但會增加天門冬氨酸轉胺酶活性，稍有不同 (Bueno *et al.*, 2017)。另試驗總膽紅素、血鈉、血鉀、血磷與醣類皮質素等 5 項數值，涼季顯著高於熱季 ($P < 0.05$)，其他 13 項檢測值則互有高低但無顯著差異 (表 4)，另公母禽之血液生化值分析結果如表 5，不論涼熱季，公禽肌酸酐值皆高於母禽。

血糖濃度可反映雞鳥生理狀態的變化，並對雞鳥的適應性產生影響 (Kalinski *et al.*, 2014)。在 30°C 和 35°C 較高環境溫度中飼養禽類，可以觀察到生理狀態的變化，例如肉雞的血糖濃度會升高 (Donkoh, 1989)。熱緊迫會刺激動物下視丘—腦下垂體—腎上腺軸作用，促進肌肉中醣類皮質素的釋放、血管舒張、脂肪分解和蛋白水解 (Kuo *et al.*, 2013)。醣類皮質素對骨骼肌的代謝產生關鍵影響，它可以增加蛋白質降解並減少蛋白質合成，從骨骼肌釋放胺基酸到肝臟，並成為肝臟醣質新生的來源，這種代謝反應對於哺乳動物在禁食和飢餓等壓力條件下的生存非常重要。醣類皮質素也會抑制胰島素，繼而刺激葡萄糖攝取和利用以及肝醣合成，並對兒茶酚胺誘導的肝醣分解發揮作用，從而保持血中葡萄糖的濃度，而葡萄糖是大腦的主要能量來源。因此血液皮質素濃度已被廣泛用作家禽環境壓力的衡量標準 (McFarlane and Curtis, 1989; Skwarska *et al.*, 2022)。Bueno *et al.* (2017) 研究指出，雞隻在 36°C 下循環熱緊迫一小時會增加天門冬氨酸轉胺酶活性，而當禽類適應熱緊迫後膽固醇則無明顯差異。本試驗結果花畜鬥雞血糖、天門冬氨酸轉胺酶與丙氨酸草酸轉胺酶等數值於熱季顯著高於涼季，此可能與提供花畜鬥雞較高活動能量有關。但醣類皮質素則涼季顯著高於熱季，此與文獻有所不同，原因則不明，有待進一步研究探討。

血鈣通常以生物可利用的離子形式存在，與蛋殼的生成有密切關係，血液 pH 值的升高會導致鈣離子與蛋白質結合，因此無法用於蛋殼形成 (Odom *et al.*, 1986)，血鈣離子的下降可能導致蛋殼品質立即下降 (Samara *et al.*, 1996)，而 Barrett *et al.* (2019) 研究指出，熱緊迫會使血鈣濃度下降。另有研究發現熱緊迫也會降低血液中的尿酸，這可能是由於低滲透作用導致總蛋白降低所致 (Ognik and Sembratowicz, 2012)。此與本試驗結果花畜鬥雞血

鈣與尿酸熱季低於涼季相符，而母禽則高於公禽 (表 5)。

表 4. 花畜鬥雞涼、熱季血液生化值分析

Table 4. Analysis of blood biochemical parameters of HFC in the cool and hot seasons

Items	Cool season ¹ (n = 60)	Hot season ¹ (n = 60)
Glucose, mg/dL	237 ± 30 ^b	248 ± 17 ^a
Blood urea nitrogen, mg/dL	1.21 ± 0.36	1.10 ± 0.27
Creatinine, mg/dL	0.17 ± 0.13	0.20 ± 0.15
Uric acid, mg/dL	5.19 ± 1.70	4.81 ± 1.47
Creatine kinase, 10 ³ IU/L	1.81 ± 1.05	2.07 ± 1.17
Aspartate aminotransferase, U/L	189 ± 82 ^b	223 ± 63 ^a
Alanine aminotransferase, U/L	3.25 ± 1.17 ^b	6.22 ± 3.60 ^a
Alkaline phosphatase, IU/L	276 ± 102	276 ± 158
Total bilirubin, mg/dL	0.42 ± 0.58 ^a	0.33 ± 0.31 ^b
Total protein, g/dL	4.55 ± 0.75	4.88 ± 0.77
Albumin, g/dL	1.82 ± 0.37	1.90 ± 0.33
Globulin, g/dL	2.73 ± 0.51	2.58 ± 0.48
A/G ²	0.68 ± 0.13 ^b	0.74 ± 0.09 ^a
Total cholesterol, mg/dL	128 ± 37	135 ± 46
Triglyceride, mg/dL	278 ± 236	372 ± 483
Sodium, meq/L	157 ± 16 ^a	152 ± 5 ^b
Potassium, meq/L	7.08 ± 2.22 ^a	5.99 ± 1.42 ^b
Calcium, mg/dL	17.79 ± 7.44	16.06 ± 7.26
Phosphate, mg/dL	4.66 ± 1.19 ^a	4.18 ± 1.09 ^b
Glucocorticoids, ng/mL	9.05 ± 6.05 ^a	6.41 ± 5.09 ^b
Immunoglobulin G, µg/mL	30.57 ± 25.0	36.03 ± 22.6
Immunoglobulin A, µg/mL	101 ± 42	116 ± 68

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

¹ Cool season : Jan. — Feb. ; Hot season : Jun. — Aug.

² A/G = Albumin/ Globulin.

Values are mean ± SD.

此外，熱緊迫會降低免疫功能和腸道發育，使家禽的先天保護機制降低，這可能使他們更容易感染病原體。研究顯示，熱緊迫會增加大腸桿菌對雞隻腸道炎症損傷的影響 (Tang *et al.*, 2021)。Quinteiro-Filho *et al.* (2017) 的研究證實，熱緊迫會刺激啟動下視丘—腦下垂體—腎上腺軸，增加血清皮質酮生成，損害雞的免疫系統，引發淋巴球的變化，導致腸粘膜屏障受損增加腸炎沙門氏菌感染。在熱緊迫環境下，血清免疫球蛋白 A、免疫球蛋白 M 及免疫球蛋白 Y 等數值，也會受到不同程度的影響。熱緊迫會降低了十二指腸 sIgA 的濃度，並伴有十二指腸固有層生發中心 (Germinal centres, GCs) 數量的減少 (Calefi *et al.*, 2016)。本次試驗結果顯示熱季免疫球蛋白 A 和免疫球蛋白 G 濃度高於涼季，此可做為鬥雞不同季節下生理數值之參考。

III. 涼、熱季環境變化對花畜鬥雞血液學影響

涼、熱季血液學分析結果顯示，紅血球與平均紅血球血紅素濃度等 2 項數值於涼季顯著高於涼熱季。血容比、平均紅血球容積、平均紅血球血紅素、嗜鹼性球及纖維素原等 5 項數值 (表 6) 於熱季顯著高於涼季 (P < 0.05)。公母禽之血液值分析結果則如表 7。

研究指出在 30°C 和 35°C 較高溫度環境中飼養的禽類，觀察到直腸溫度升高、紅血球濃度、血紅蛋白、平均

紅血球容積和血漿總蛋白降低等變化 (Donkoh, 1989)。研究證實，緊迫因素可使血液中異嗜細胞數量增加，淋巴細胞數量減少，繼而增加雞隻異嗜球與淋巴細胞比率 (H/L) (McFarlane and Curtis, 1989; Skwarska *et al.*, 2022)，H/L 比值增加，此可作為禽類緊迫的變化指標，此且比皮質類固醇值更可靠，但僅適應用於輕度至中度緊迫的情況 (Maxwell, 1993)。本試驗結果公禽單核球與嗜鹼性球皆高於母禽，H/L 值涼熱季呈無差異顯著性，與文獻不同，推測花畜鬥雞於熱季會因應溫度改變，進行體內免疫系統調適，或未達前述 Maxwell (1993) 所述之緊迫標準。

表 5. 花畜鬥雞涼、熱季公禽與母禽血液生化值分析

Table 5. Analysis of blood biochemical parameters of HFC roosters and hens in the cool and hot seasons

Items	Cool season ¹		Hot season ¹	
	Roosters ³	Hens ³	Roosters ³	Hens ³
Glucose, mg/dL	252 ± 30 ^a	222 ± 22 ^b	254 ± 16 ^a	242 ± 18 ^a
Blood urea nitrogen, mg/dL	1.16 ± 0.22 ^{ab}	1.27 ± 0.46 ^a	1.08 ± 0.21 ^b	1.13 ± 0.31 ^{ab}
Creatinine, mg/dL	0.19 ± 0.12	0.16 ± 0.14	0.19 ± 0.15	0.21 ± 0.16
Uric acid, mg/dL	5.71 ± 1.77 ^a	4.66 ± 1.48 ^b	4.62 ± 1.64 ^b	4.99 ± 1.27 ^{ab}
Creatine kinase, 10 ³ IU/L	2.64 ± 0.90 ^a	1.07 ± 0.43 ^b	2.81 ± 1.05 ^a	1.32 ± 0.72 ^b
Aspartate aminotransferase, U/L	223.6 ± 96 ^{ab}	154.3 ± 45 ^c	251.3 ± 58 ^a	195.4 ± 55 ^b
Alanine aminotransferase, U/L	3.41 ± 1.3 ^{ab}	3.13 ± 1.1 ^b	7.00 ± 4.1 ^a	5.45 ± 2.8 ^{ab}
Alkaline phosphatase, IU/L	301.3 ± 86	250.3 ± 111	257.7 ± 141	294.8 ± 174
Total bilirubin, mg/dL	0.68 ± 0.74 ^a	0.17 ± 0.22 ^b	0.40 ± 0.34 ^b	0.26 ± 0.25 ^b
Total protein, g/dL	4.58 ± 0.78 ^a	4.51 ± 0.73 ^a	4.10 ± 0.68 ^b	4.87 ± 0.65 ^a
Albumin, g/dL	1.77 ± 0.34 ^b	1.87 ± 0.39 ^b	1.76 ± 0.33 ^b	2.05 ± 0.27 ^a
Globulin, g/dL	2.82 ± 0.59 ^a	2.64 ± 0.41 ^a	2.33 ± 0.38 ^b	2.82 ± 0.45 ^a
A/G ²	0.64 ± 0.13 ^b	0.71 ± 0.12 ^a	0.75 ± 0.09 ^a	0.74 ± 0.09 ^a
Total cholesterol, mg/dL	126.5 ± 36	130.0 ± 38	125.1 ± 36	144.0 ± 53
Triglyceride, mg/dL	93.9 ± 45 ^c	449.3 ± 211 ^b	41.1 ± 14 ^c	737.1 ± 557 ^a
Sodium, meq/L	153.6 ± 11 ^b	160.4 ± 18 ^a	152.7 ± 5 ^b	151.0 ± 4 ^b
Potassium, meq/L	7.24 ± 2.81 ^a	6.53 ± 1.69 ^a	6.55 ± 1.72 ^a	5.44 ± 0.78 ^b
Calcium, mg/dL	11.30 ± 2.46 ^c	23.84 ± 4.96 ^a	10.60 ± 0.69 ^c	21.52 ± 6.71 ^b
Phosphate, mg/dL	4.13 ± 0.74 ^b	5.16 ± 1.32 ^a	3.84 ± 0.79 ^c	4.51 ± 1.25 ^{bc}
Glucocorticoids, ng/mL	9.32 ± 5.84 ^a	8.77 ± 6.34 ^a	7.33 ± 5.86 ^b	5.55 ± 4.18 ^b
Immunoglobulin G, µg/mL	31.41 ± 20.83	29.72 ± 28.93	26.30 ± 16.52	45.12 ± 23.94
Immunoglobulin A, µg/mL	87.29 ± 31.74	115.33 ± 46.47	133.12 ± 84.56	99.36 ± 43.82

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

¹ Cool season : Jan. – Feb. ; Hot season : Jun. – Aug.

² A/G = Albumin/ Globulin.

³ n = 30.

Values are mean ± SD.

Yahav *et al.* (1997) 研究指出，PCV 的變化可能與調節氧氣供應以適應雞隻產熱變化有關，於熱緊迫期間 PCV 的增加可能是為了減少血流阻力以更好地進行散熱，此可能導致血液中離子濃度與 MCHC 降低。花畜鬥雞試驗結果，PCV 與 MCH 熱季數值顯著高於涼季，MCHC 熱季數值顯著低於涼季，此與前述研究相呼應。

綜合研究數據顯示環境溫度變化對於花畜鬥雞生理與血液性狀表現確實有影響性，試驗結果與前人研究結果部份雷同，多數血液生化值與血液學值亦在正常生理表現範圍內，此顯示花畜鬥雞可藉由自我調適作用適應臺灣的氣候轉變，其適應力佳，有利在臺灣生長。

表 6. 花畜鬥雞涼、熱季血液學分析

Table 6. Analysis of hematological parameters of HCF in the cool and hot seasons

Items	Cool season (n = 60) ¹	Hot season (n = 60) ¹
Packed cell volume, %	35.86 ± 5.62 ^b	39.29 ± 8.43 ^a
Red blood cell, × 10 ⁶ /μL	3.03 ± 0.40 ^a	2.81 ± 0.52 ^b
Hemoglobin, g/dL	14.29 ± 2.21	14.02 ± 2.95
Mean corpuscular volume, fL	118 ± 8 ^b	140 ± 15 ^a
Mean cell hemoglobin, pg	47.04 ± 2.45 ^b	49.79 ± 3.16 ^a
Mean corpuscular hemoglobin concentration, g/dL	228 ± 149	223 ± 137
White blood cell, × 10 ³ /μL	39.93 ± 2.50 ^a	35.90 ± 3.96 ^b
Heterophils, /μL	14.37 ± 4.0	14.38 ± 4.82
Lymphocytes, /μL	4,126 ± 2,534	4,052 ± 2,478
Monocytes, /μL	7,411 ± 2,690	7,668 ± 3,275
Eosinophils, /μL	2,245 ± 1,535	1,869 ± 1,507
Basophils, /μL	228 ± 149	223 ± 137
Basophils, /μL	376 ± 273 ^b	541 ± 390 ^a
Platelets, × 10 ³ /uL	18.74 ± 6.52	21.31 ± 10.89
Fibrinogen, g/dL	0.42 ± 0.20 ^b	0.50 ± 0.14 ^a
H/L ²	0.76 ± 0.88	0.63 ± 0.44

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

¹ Cool season : Jan. — Feb. ; Hot season : Jun. — Aug.

² H/L = Heterophils / Lymphocytes.

Values are mean ± SD.

表 7. 花畜鬥雞涼、熱季公禽與母禽血液生化值分析

Table 7. Analysis of blood biochemical parameters of HFC roosters and hens in the cool and hot seasons

Items	Cool season (n = 30) ¹		Hot season (n = 30) ¹	
	Roosters ²	Hens ²	Roosters ²	Hens ²
Packed cell volume, %	37.47 ± 4.4 ^b	34.14 ± 6.3 ^b	36.43 ± 7.2 ^b	42.35 ± 8.7 ^a
Red blood cell, × 10 ⁶ /μL	3.06 ± 0.33 ^a	3.00 ± 0.47 ^a	2.87 ± 0.52 ^{ab}	2.74 ± 0.53 ^b
Hemoglobin, g/dL	14.32 ± 2.75	14.25 ± 2.68	14.22 ± 2.75	13.80 ± 3.20
Mean corpuscular volume, fL	122.23 ± 5.08 ^c	113.69 ± 7.93 ^d	126.67 ± 5.06 ^b	154.39 ± 5.00 ^a
Mean cell hemoglobin, pg	46.75 ± 2.40 ^b	47.34 ± 2.50 ^b	49.47 ± 2.54 ^a	50.14 ± 3.73 ^a
Mean corpuscular hemoglobin concentration, g/dL	38.25 ± 1.3 ^b	41.74 ± 2.19 ^a	39.09 ± 2.02 ^b	32.48 ± 2.31 ^c
White blood cell, × 10 ³ /μL	16.55 ± 3.49 ^a	12.04 ± 3.15 ^c	14.51 ± 5.60 ^{ab}	14.24 ± 3.93 ^b
Heterophils, /μL	4,806 ± 2,942 ^a	3,397 ± 1,787 ^b	4,512 ± 2,501 ^{ab}	3,560 ± 2,399 ^{ab}
Lymphocytes, /μL	8,066 ± 2,466 ^{ab}	6,708 ± 2,785 ^{bc}	6,025 ± 1,980 ^c	9,425 ± 3,496 ^a
Monocytes, /μL	2,681 ± 1,775 ^a	1,778 ± 1,074 ^b	2,687 ± 1,510 ^a	933 ± 897 ^c
Eosinophils, /μL	248 ± 171	187 ± 83	223 ± 125	224 ± 157
Basophils, /μL	437 ± 268 ^b	221 ± 230 ^c	774 ± 318 ^a	174 ± 94 ^c
Platelets, × 10 ³ /uL	15.30 ± 5.60 ^b	22.34 ± 5.36 ^a	20.77 ± 8.63 ^a	21.89 ± 13.03 ^a
Fibrinogen, g/dL	0.46 ± 0.22 ^b	0.38 ± 0.16 ^b	0.43 ± 0.18 ^b	0.55 ± 0.07 ^a
H/L ²	0.75 ± 0.80	0.78 ± 0.98	0.77 ± 0.34	0.47 ± 0.49

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

¹ Cool season : Jan. — Feb. ; Hot season : Jun. — Aug.

² H/L = Heterophils/Lymphocytes.

Values are mean ± SD.

結 論

鬥雞普遍存在於亞洲與中南美洲，適合於亞熱帶與熱帶氣候環境下生長，但在全球氣候變遷劇烈的挑戰下，我國農業單位應適時地提供養禽農戶穩定雞群飼養的相關資訊，本篇研究為提供臺灣地區花畜鬥雞於不同季節下的基礎生理表現，這是臺灣鬥雞的第一個生理值與血液學研究，此結果顯示花畜鬥雞可藉由自我調適作用適應臺灣的氣候轉變，其適應力佳，有利在臺灣生長，且此分析結果有助於成為未來臺灣鬥雞群健康評估的參考依據，讓養禽業者能透過雞群的生理觀察調整管理方式，藉此減少因為氣候因素帶來的經濟損失。

參考文獻

- 莊璧華、陳蕙婷、徐慈君、蘇安國。2023。駝鳥於涼熱季環境之生理值、血液生化及血液學調查。畜產研究 56：199-207。
- Barrett, N. W., K. Rowland, C. J. Schmidt, S. J. Lamont, M. F. Rothschild, C. M. Ashwell, and M. E. Persia. 2019. Effects of acute and chronic heat stress on the performance, egg quality, body temperature, and blood gas parameters of laying hens. *Poult. Sci.* 98: 6684-6692.
- Bueno, J. P. R., M. Nascimento, J. M. da S. Martins, C. Prazeres, L. R. M. Gotardo, G. M. R. de Sousa, A. V. Mundim, E. C. Guimarães, and F. P. Rinaldi. 2017. Effect of age and cyclical heat stress on the serum biochemical profile of broiler chickens, *Semina: Agricultural Sciences.* 38: 1383-1392.
- Calefi, A. S., A. de Siqueira, L. B. Namazu, C. Costola-de-Souza, B. B. T. Honda, A. J. P. Ferreira, and J. Palermo-Neto. 2016. Effects of heat stress on the formation of splenic germinal centres and immunoglobulins in broilers infected by *Clostridium perfringens* type A. *Vet. Immuno. Immunopathol.* 171: 38-46.
- Chepete, H. J., E. Chimbombi, and R. Tsheko. 2005. Production performance and temperature- humidity index of Cobb 500 broilers reared in open-sided naturally ventilated houses in Botswana. *Livestock Environment VII:* 18-20.
- Donkoh, A. 1989. Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. *Int. J. Biometeorol.* 33: 259-265.
- Goo, D., J. H. Kim, G. H. Park, J. B. D. Reyes, and D. Y. Kil. 2019. Effect of heat stress and stocking density on growth performance, breast meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Animals* 9: 107.
- Habeeb, A. A., A. E. Gad, and M. A. Atta. 2018. Temperature-Humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of farm animals. *Int. J. Biotechnol. Recent. Adv.* 1: 35-50.
- Jacob, J. and T. Pescatore. 2013. *Avian Respiratory System - University of Kentucky.* Animal Sciences 11.
- Jiang, X., B. Zhang, F. Lan, C. Zhong, J. Jin, X. Li, Q. Zhou, Junying Li, N. Yang, C. Wen, and C. Sun . 2023. Host genetics and gut microbiota jointly regulate blood biochemical indicators in chickens. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 107: 7601-7620.
- Kalinski, A., M. Banbura, M. Gładalski, M. Markowski, J. Skwarska, J. Wawrzyniak, P. Zielinski, I. Cyzewska, and J. Banbura. 2014. Landscape patterns of variation in blood glucose concentration of nestling blue tits (*Cyanistes caeruleus*). *Landscape Ecol.* 29: 1521-1530.
- Kumari, K. N. R. and D. N. Nath. 2018. Ameliorative measures to counter heat stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.* 74: 117-130.
- Kuo, T., C. A. Harris, and J. C. Wang. 2013. Metabolic functions of glucocorticoid receptor in skeletal muscle. *Mol. Cell Endocrinol.* 380: 79-88.
- Lara, L. J. and M. H. Rostagno. 2013. Impact of heat stress on poultry production. *Animals.* 3: 356-369.
- Li, D., Q. Tong, Z. Shi, W. Zheng, Y. Wang, and B. Li. 2020. Effects of cold stress and ammonia concentration on productive performance and egg quality traits of laying hens. *Animals.* 10: 2252.
- Mack, L. A., J. N. Felver-Gant, R. L. Dennis, and H. W. Cheng. 2013. Genetic variations alter physiological responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult. Sci.* 92: 285-294.
- Maxwell, M. H. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poult. Sci. J.* 49: 34-43.
- McFarlane, J. M. and S. E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the

- heterophil: lymphocyte ratio. *Poult. Sci.* 68: 522-527.
- Minton J. E. 1994. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J. Anim. Sci.* 72: 1891-1898.
- Nawab, A., F. Ibtisham, G. Li, and B. Kieser. 2018. Heat stress in poultry production; Mitigation strategies to overcome the future challenges facing the global poultry industry. *J. Therm. Biol.* 78: 131-139.
- Odom, T. W., P. C. Harrison, and W. G. Bottje. 1986. Effects of thermal-induced respiratory alkalosis on blood ionized calcium levels in the domestic hen. *Poult. Sci.* 65: 570-573.
- Ognik, K. and I. Sembratowicz. 2012. Stress as a factor modifying the metabolism in poultry. A review. *Annales UMCS Zootech.* 30: 34-43.
- Olfati, A., A. Mojtahedin, T. Sadeghi, M. Akbari, and F. Martínez-Pastor. 2018. Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. *Span. J. Agricult. Res.* 16: e0505.
- Purswell, J. L., W. A. Dozier, H. A. Olanrewaju, J. D. Davis, H. Xin, and R. S. Gates. 2012. Effect of temperature-humidity index on live performance in broiler chickens grown from 49 to 63 days of age. *International Livestock Environment Symposium* 12: 41-49.
- Quinteiro-Filho, W. M., A. S. Calefi, D. S. G. Cruz, T. P. A. Aloia, A. Zager, C. S. Astolfi-Ferreira, J. A. P. Ferreira, S. Sharif, and J. Palermo-Neto. 2017. Heat stress decreases expression of the cytokines, avian β -defensins 4 and 6 and Toll-like receptor 2 in broiler chickens infected with *Salmonella* Enteritidis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 186: 19-28.
- Raup, T. J. and W. G. Bottje. 1990. Effect of carbonated water on arterial pH, Pco₂, and plasma lactate in heat-stressed broilers. *Br. Poult. Sci.* 31: 377-384.
- SPSS. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Samara, M. H., K. R. Robbins, and M. O. Smith. 1996. Environmental heat stress does not reduce blood ionized calcium concentration in hens' acclimated to elevated temperatures. *Poult. Sci.* 75: 197-200.
- Skwarska, J., A. Podstawczyńska, M. Bańbura, M. Gładalski, A. Kaliński, M. Markowski, J. Wawrzyniak, P. Zieliński, and J. Bańbura. 2022. Effects of ambient temperature during the nestling stage on a stress indicator in nestling pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Int. J. Biometeorol.* 66: 139-148.
- Tang, L. P., W. H. Li, Y. L. Liu, J. C. Lun, and Y. M. He. 2021. Heat stress aggravates intestinal inflammation through TLR4-NF- κ B signaling pathway in Ma chickens infected with *Escherichia coli* O157:H7. *Poult. Sci.* 100: 101030.
- Yahav, S., A. Straschnow, I. Plavnik, and S. Hurwitz. 1997. Blood system response of chickens to changes in environmental temperature. *Poult. Sci.* 76: 627-633.

The investigation of physiological, blood biochemical and hematological parameters of HLAPS Cockfighting Cocks during the cool and hot seasons ⁽¹⁾

Yen-Ling Lee ⁽²⁾⁽³⁾ Shen-Shyan Yang ⁽²⁾ Pei-Jun Huang ⁽²⁾
Liang-Yuan Wei ⁽²⁾ and Chin-Wei Chang ⁽²⁾

Received: Apr.11, 2024; Accepted: Jun.19, 2024

Abstract

This study recorded the variances of the physiological values and blood biochemical values from Hualien Animal Propagation Station Cockfighting cocks aged between 22 to 37 weeks to understand the effects of the cool season (January to February) and hot season (June to August) on the physiological traits of HCF breeders. The results show that the cloacal temperature and THI values of HCF poultry houses (indoor and outdoor) were both significantly higher in the hot season and the humidity was higher in the cool season ($P < 0.05$). The average cloacal temperature and the respiratory rate 41.39°C in hot season, compared with 41.08°C in the cool season. Nonetheless, the body temperature in both cool and hot seasons fell within reasonable range. The respiratory frequency per minute was 39.75 ± 6.59 times/min in the hot season and significantly higher than 34.75 ± 7.06 times /min, in the cool season ($P < 0.05$). This means that HCF cocks increase the number of respirations in the hot season under high temperature and humidity, in order to modulate and dissipate the heat for temperature stabilization. In the blood biochemical analysis: the blood glucose, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and albumin/globulin ratio in the blood of HCF cocks were significantly higher in the hot season than in the cool season. In addition, the bilirubin, blood sodium, blood potassium, blood phosphate s and glucocorticoids, were significantly higher in the cool season than in the hot season ($P < 0.05$). In hematology analysis: the blood cells and average red blood cell hemoglobin concentration were significantly higher in the cool season than those in the hot season. The hematocrit, mean erythrocyte volume, mean erythrocyte hemoglobin, basophils and cellulose, were significantly higher in the hot season than those in the cool season ($P < 0.05$). In sum, this experiment shows that the changes in ambient temperature has impact on HCF's physiological and blood traits. Most blood biochemical and hematological values are within the normal physiological performance range. This shows that HCF can self-regulate to adapt to Taiwan's climate changes, which excellent adaptability is favorable for growing in Taiwan.

Key words: HLAPS dockfighting cocks, Blood biochemical, Hematology.

(1) Contribution No. 2795 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Eastern Reigion Branch, MOA-TLRI, Ilan 268, Taiwan, R. O. C.

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

青割玉米於青貯適期後全株與莖葉之營養成分變化⁽¹⁾

陳嘉昇⁽²⁾⁽⁴⁾ 劉建甫⁽³⁾ 王紓愨⁽²⁾

收件日期：113 年 4 月 22 日；接受日期：113 年 6 月 19 日

摘 要

本研究之目的為探討青割玉米於青貯適期至完熟期營養成分之變化，以了解其全株與莖葉 (stover) 之芻料價值。本文以 4 個品系自吐絲後 14 天至 70 天，每隔 7 天收穫調查，以探討青貯適期起至完熟期的營養成分變化。結果顯示，全株的粗蛋白質 (crude protein, CP) 含量於調查期間呈線性微幅降低，前後期差距僅在 1% 上下；酸洗纖維 (acid-detergent fiber, ADF)、中洗纖維 (neutral-detergent fiber, NDF) 含量於吐絲 49 天後持平或微幅降低；澱粉含量由吐絲前期的低於 5% 以曲線增加至 70 天的 40%。莖葉方面，CP 含量與全株之變化相同，於調查期間僅微幅降低；NDF 含量約在 35 天降至低點，後期上升，距最低點約 3%；ADF 含量自 39% 升至 42%，呈線性提高；澱粉含量於全期均低。以一般青貯適期之吐絲後 35 天與延遲收穫之 70 天進行比較，全株 CP 之差異不顯著，NDF、ADF 均以 70 天低於 35 天，差異達顯著水準；而乾物產量由 35 天的 15.0 mt/ha 提高至 70 天時的 18.1 mt/ha，乾物率亦大幅提高。表示若延後 35 天收穫，可以得到高乾物量、營養價值不低於青貯適期的青割玉米原料。另調查莖葉組成變化，作為評估莖葉之芻料價值。結果顯示，吐絲後 70 天之莖葉 CP 含量為 8.5%，NDF、ADF 含量分別為 64.8% 及 42.6%，乾物產量 7.5 mt/ha，相當於單次盤固草的收穫量，為具芻料潛力的副產物原料。

關鍵詞：成熟度、青割玉米、營養成分。

緒 言

青割玉米為國內自產的最大宗芻料，其主要的利用方式為青飼及青貯，然兩者對於較小規模的養羊或養鹿場而言，都有實際應用上的困難，其難處包括青割或青貯料小量供貨的意願與經濟性、採食量小造成青貯開封後的品質劣變等。為利於小型反芻動物能順利使用青割玉米，其調製利用方式應另作探究。

而芻料調製利用的課題為調製成本、原料成本與產品品質，各環節攸關其產業化的可行性。在此目的之下，陳等 (2024) 以四個青割玉米品系調查青貯適期前期起至完熟期之後的各部位含水率與產量等，發現吐絲後 70 天較 35 天 (青貯適期) 之含水率降低 29%，雖然鮮重自 50.5 mt/ha 降至 31.2 mt/ha，乾重則由 15.0 mt/ha 提高至 18.1 mt/ha，對以乾燥芻料為調製目的者而言，全株玉米延遲收穫不僅減少乾燥的能源成本，也提升了在單位乾物成本上的利基。本文則進一步探討其營養成分變動。

青割玉米為草食動物全株利用，其成熟度、部位比例影響營養價值及青貯發酵品質，因而青割玉米的成熟度與營養價值、發酵品質等相關的探討為數眾多，但該研究幾乎都集中於乳熟期至糊熟期 (R3 – R5)，最遲到完熟期 Black layer stage (R6)，含水率介於 75% – 65%，鮮少低於 60% (Wiersma *et al.*, 1993; Schwab *et al.*, 2003)，因為此時段是適合青貯調製的極限時段，也因此除少數生質能源用途有關的報告涉及完熟期之後的部位比例或含水率外 (Shinners *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2012)，適期之後全株玉米於田間乾燥至較低含水率狀態的探討甚少。一般而言，玉米的莖葉 (stover) 隨著成熟而老化，營養價值降低 (Irbeck *et al.*, 1993)，而莖葉的消化率有品種間的差異 (Hunt *et al.*, 1992)。然而在全株玉米生育後期穀粒的比例隨著成熟而增加，提高全株消化率 (Hunt *et al.*, 1989; Darby and Lauer, 2002)。Bal *et al.* (1997) 青貯玉米餵飼乳牛試驗結果指出最適時期為 2/3 milkline stage，或 1/4 至 2/3 milkline 之間。由於苞穗與莖葉的比例與成分隨品種、環境而異，而供源 (source, 即光合作用量) 與積儲 (sink, 即植株整體之生長) 的關係影響更鉅 (Sanderson *et al.*, 1995; Lauer *et al.*, 2001)，因此全株營養價值與成熟度的關係視變因而有所

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2796 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

(3) 國立臺灣大學生物資源暨農學院附設農業試驗場。

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

不同。陳等 (2007) 探討恆春地區春作環境下，不同月份播種及不同收穫期 (吐絲後 7 – 28 天) 植株性狀與成分的變化，指出雖然相較於其他牧草，青割玉米總可消化養分相對穩定，部分營養成分在種植月份間的變動趨勢不一致，推論是環境效應影響供源與積儲關係。陳及王 (2012) 曾探討吐絲後天數及生長積溫 (growth degree day, GDD) 與乾物率、營養成分的關係，亦著重青貯適期前後的探討，未以收穫較高乾物為目標。

為了探討以全株玉米作為青飼及青貯目的利用外之低水分芻料或調製原料的可行性，本文以四個品系探討青貯適期前期起至完熟期之後，莖葉、全株的營養成分的變化，比較完熟期與青貯適期成分之差異，並連結有關原料之產量、有關調製成本之含水率等之關係，以作為較低水分全株玉米調製利用的參考。

材料與方法

I. 材料種植及調查

試驗品系：青割玉米試驗品系代號 H63、H70、H202、H101 為畜產試驗所南區分所 (以下簡稱南區分所) 育成之單交品系。101 年 9 月 10 日種植於南區分所試驗田區，小區面積 4 m × 4 m，行株距 80 × 18 cm，四區集，以臺肥 2 號複合肥料 (N : P₂O₅ : K₂O = 11 : 9 : 18, 600 kg/ha) 為基肥，9 月 23 日以賜諾特 11.7% 水懸液 (SPINETORAM, 臺灣道禮公司) 1,000 倍進行秋行軍蟲防治，10 月 7 日中耕培土。

於吐絲期進行單株掛牌，每小區至少掛牌 40 株以上。於吐絲 14 日起，每間隔 7 天每小區收穫 4 株進行鮮重調查，取樣至吐絲後 70 日止。其中 2 株全株取樣外，另 2 株玉米分成莖葉與苞穗兩個部位，苞穗含苞葉、穗軸及發育中 (或成熟) 的玉米種子，莖葉則含苞穗以外的莖桿與葉片部分。各品種之全株、莖葉各 8 個樣品，經 80°C、48 小時後調查乾重，烘乾後磨粉，保存於 4°C 冷藏庫備用。

II. 植體成分測定

- (i) 粗蛋白質 (crude protein, CP) 含量：依照 AOAC (1984) 方法測定。樣品經濃硫酸高溫分解後，以自動定氮儀 (Gerhardt Vap 45) 測定 Kjeldahl 氮量，再換算為粗蛋白質量。
- (ii) 酸洗纖維 (acid-detergent fiber, ADF) 含量：依照 van Soest *et al.* (1991) 之方法，以纖維分析儀 (ANKOM 2000) 進行。樣品密封於專用濾袋 (ANKOM F57)，浸置於酸洗液中加熱震盪 75 分鐘，洗去溶液，取出濾袋烘乾稱重，計算酸洗纖維含量。
- (iii) 中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 含量：採添加 α -amylase 之方法 (van Soest *et al.*, 1991)，以纖維分析儀 (ANKOM 2000) 進行。樣品密封於專用濾袋 (ANKOM F57)，浸置於含有耐熱 α -amylase 之中洗液中加熱振盪 75 分鐘，洗去溶液，取出濾袋烘乾稱重，計算中洗纖維含量。
- (iv) 水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrates, WSC) 含量測定：樣品以 80% 的酒精於 80°C 下萃取四次，置 70°C 烘箱中去除酒精，合併萃取液並定量，依 Morris (1948) 方法，採 anthrone 呈色法進行。
- (v) 澱粉的測定：先以 80% 的酒精於 80°C 下萃取消去 WSC，棄去萃取液，樣品烘乾後加入過氯酸加熱水解，定量後同樣以 anthrone 呈色法測定含量 (Hansen and Møller, 1975)。

III. 統計分析

合併品系資料，以 SAS 軟體 (SAS, 2002) 進行乾物率、產量及營養組成於吐絲後 35 天及 70 天兩種成熟度間成對 t 值測驗 (paired t test)。本試驗差異顯著水準為 $P < 0.05$ 。

結果與討論

I. 4 品系青割玉米全株與莖葉於吐絲後 14 天至 70 天營養組成的變動

(i) 粗蛋白質

粗蛋白質含量結果如圖 1。玉米全株 CP 含量，於吐絲後 14 天四個品系介於 9.3 – 10.5% 之間，平均 9.5%，H101 高於其他品系，乃因葉片比例較高之故；吐絲後 35 天介於 8.2 – 9.2% 之間，平均 8.7%；吐絲後 56 天介於 8.6 – 8.9% 之間，差距甚小，平均 8.8%；吐絲後 70 天介於 8.2 – 8.8% 之間，平均 8.5%。綜言之，前期略高於後期，吐絲後 35 天至 70 天之粗蛋白質含量變化極微。其中 H101 在吐絲後 14 – 21 天期間超過 10%，42 天之後與其他品系差異微小。

莖葉之 CP 方面，吐絲後 14 天四個品種介於 9.3 – 10.9% 之間，平均 10.0%；吐絲後 35 天介於 8.4 –

10.2% 之間，平均 9.1%；吐絲後 70 天介於 8.3 – 9.0% 之間，平均 8.7%。與全株 CP 趨勢相同，前期略高於後期，56 天後約呈水平。H101 在前期顯著高於其他品系，應為其葉片數較多之故，後期可能因葉片老化與穗 / 株比變動等因素影響，差距變小。

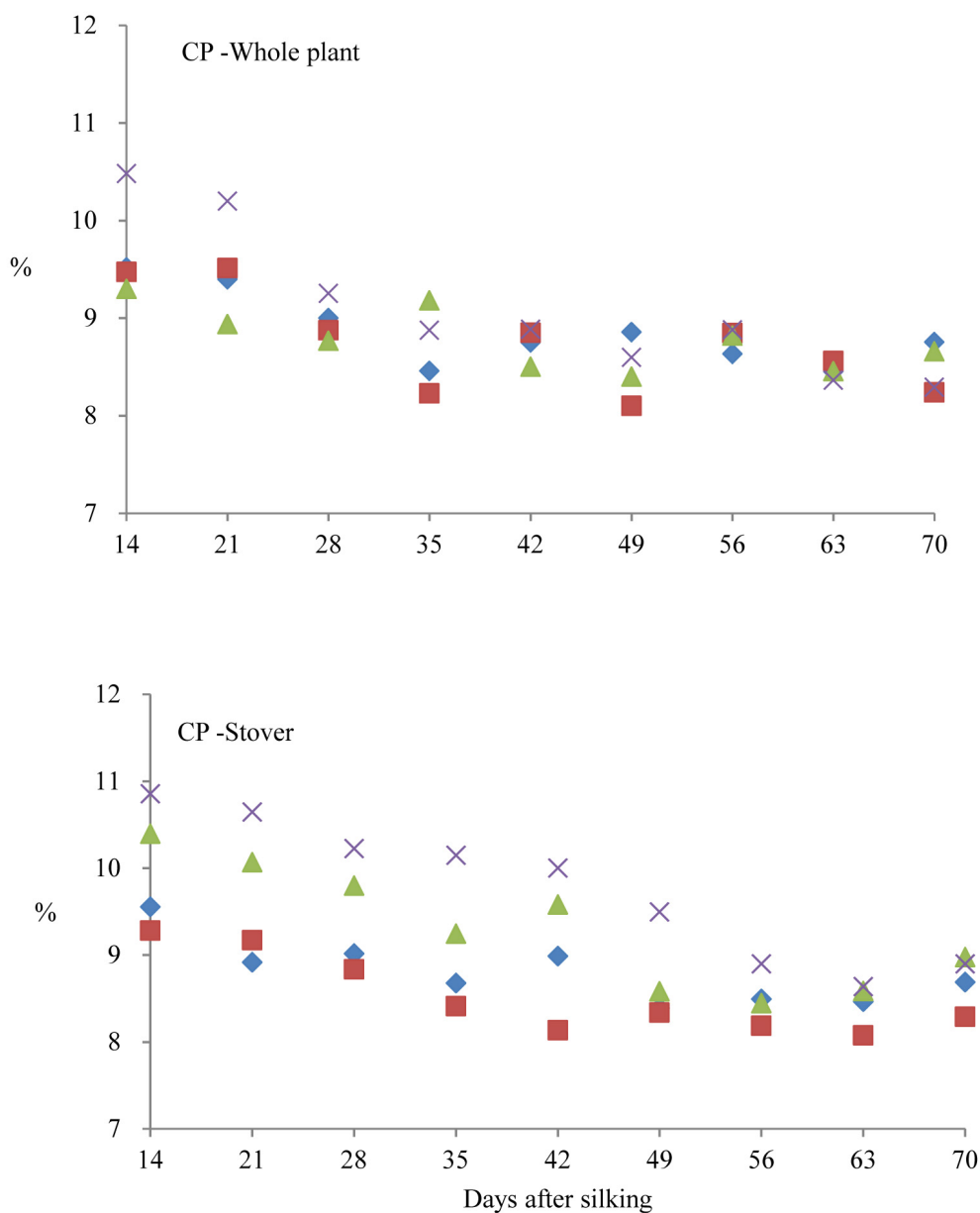


圖 1. 四個品系於吐絲後之全株粗蛋白質 (上圖) 與莖葉粗蛋白質 (下圖) 變化。

Fig. 1. Changes of crude protein of whole plant (upper) and stover (lower) during 14 - 70 days post silking for the four lines.

◆ H63 ■ H70 ▲ H202 × H101.

(ii) 中洗纖維

中洗纖維與酸洗纖維含量結果如圖 2。全株 NDF 方面，吐絲後 14 天四個品系介於 62.7 – 66.2% 之間，平均 64.3%；吐絲後 35 天介於 43.7 – 44.3% 之間，平均 44.0%；吐絲後 56 天介於 42.1 – 43.6% 之間，平均 43.0%；吐絲後 70 天介於 40.9 – 44.0% 之間，平均 42.0%。前期 (吐絲後 14 天) 最高，大幅降至 35 天的 44%，平均值以 49 天時最低，49 天之後微幅變動，品系間 NDF 含量差異可能與澱粉含量有關。陳及王 (2012) 合併品種及期作進行的相關分析結果顯示，NDF 含量與澱粉含量間具顯著負相關。

莖葉之 NDF 含量之變化趨勢與全株不同，一般前期較高，中期略低，後期再微升，但幅度不大。莖葉 NDF 含量在吐絲後 14 天四個品系介於 65.0 – 69.9% 之間，平均 67.4%；吐絲後 35 天介於 58.0 – 64.3% 之間，平均 60.9%；吐絲後 70 天介於 63.8 – 65.5% 之間，平均 64.8%。品系間莖葉之 NDF 含量差異幅度大於全株。

(iii) 酸洗纖維

全株之 ADF 含量方面，吐絲後 14 天四個品系介於 35.1 – 37.8% 之間，平均 36.6%；吐絲後 35 天介於 27.0 – 27.8% 之間，平均 27.2%；吐絲後 56 天介於 23.2 – 24.8% 之間，平均 24.0%；吐絲後 70 天介於 20.1 – 25.2% 之間，平均 23.5%。全株 ADF 含量於吐絲初期高，逐漸降至 49 天後續降低或持平 (圖 2)。

莖葉 ADF 含量高於全株 ADF，且變化趨勢不同於全株。吐絲後 14 天四個品系的莖葉 ADF 介於 37.1 – 39.8%，平均 38.2%；吐絲後 35 天介於 36.6 – 40.6%，平均 38.9%；吐絲後 56 天介於 38.3 – 45.1%，平均 42.0%，品系間差異大；吐絲後 70 天介於 40.9 – 44.9%，平均 42.6%，隨著莖葉老化逐漸上升 (圖 2)。

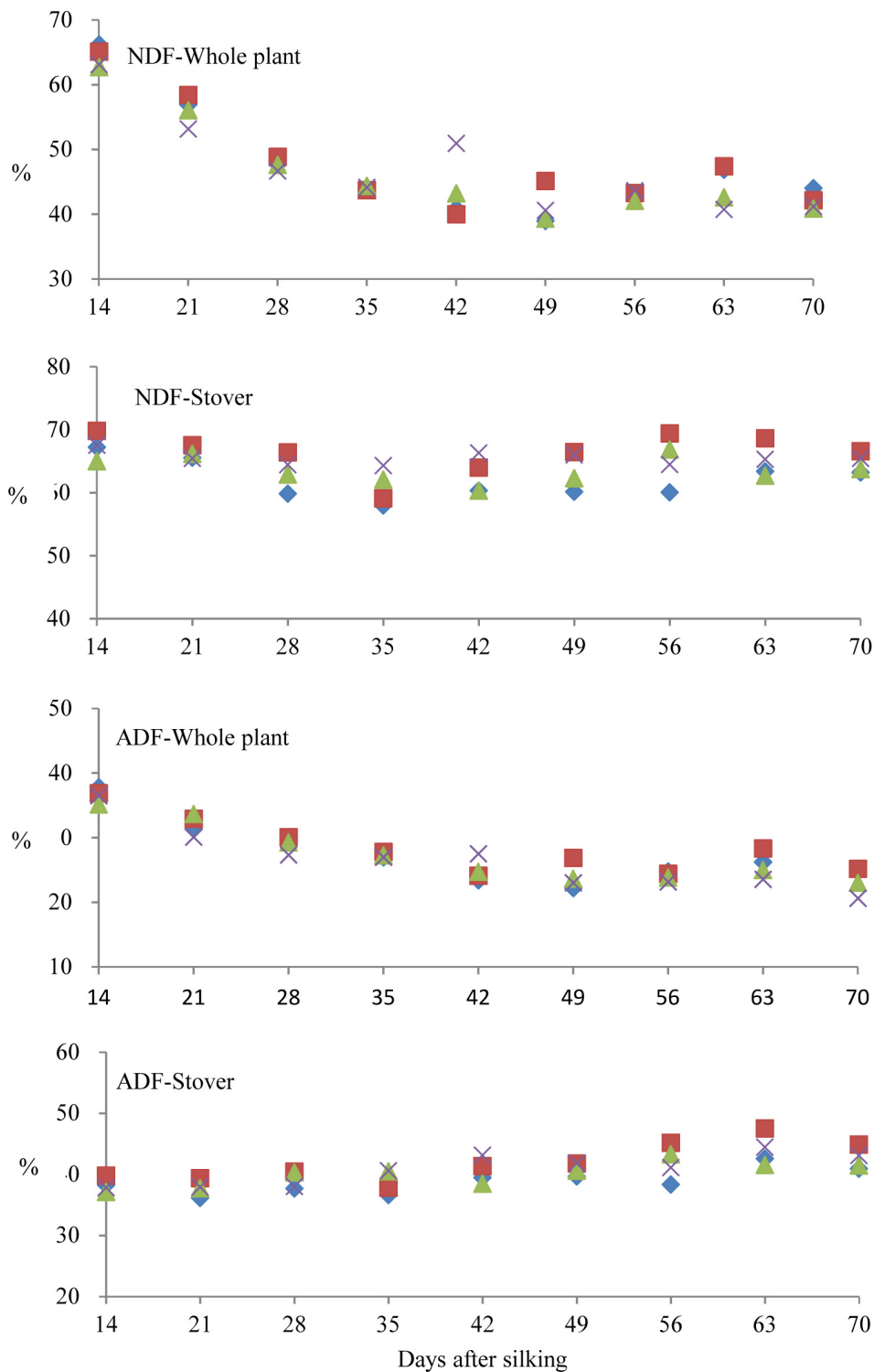


圖 2. 四個品系之全株及莖葉於吐絲後之中洗纖維、酸洗纖維變化。

Fig. 2. Changes of NDF and ADF in whole plant and stover during 14 - 70 days post silking for the four lines. ◆ H63 ■ H70 ▲ H202 × H101.

(iv) 水溶性碳水化合物

WSC 含量在全株及莖葉都呈現前期高後期低的趨勢 (圖 3)，而以莖葉的分散度較大。全株方面，吐絲後 14 天四個品系介於 13.3 – 15.8% 之間，平均為 14.8%；吐絲後 35 天介於 6.6 – 14.9% 之間，平均為 9.9%；吐絲後 56 天平均 6.4%，吐絲後 63 天平均 5.1%；吐絲後 70 天平均 5.3%。莖葉 WSC 方面，四個品系間的差異大，吐絲後 35 天介於 6.7 – 17.1% 之間，平均為 11.6%，吐絲後 70 天介於 4.8 – 10.7% 之間，平均 7.7%，由圖 3 可看出四個品系莖葉的 WSC 含量變異較大，可能為品系特性差異，另，由於青割玉米 WSC 含量會隨著光照而有短時間變動 (王及陳，2005)，雖盡量於相同時間取樣，但 WSC 含量仍可能受操作程序之影響，故相對其他成分有較大之變異尚屬合理。

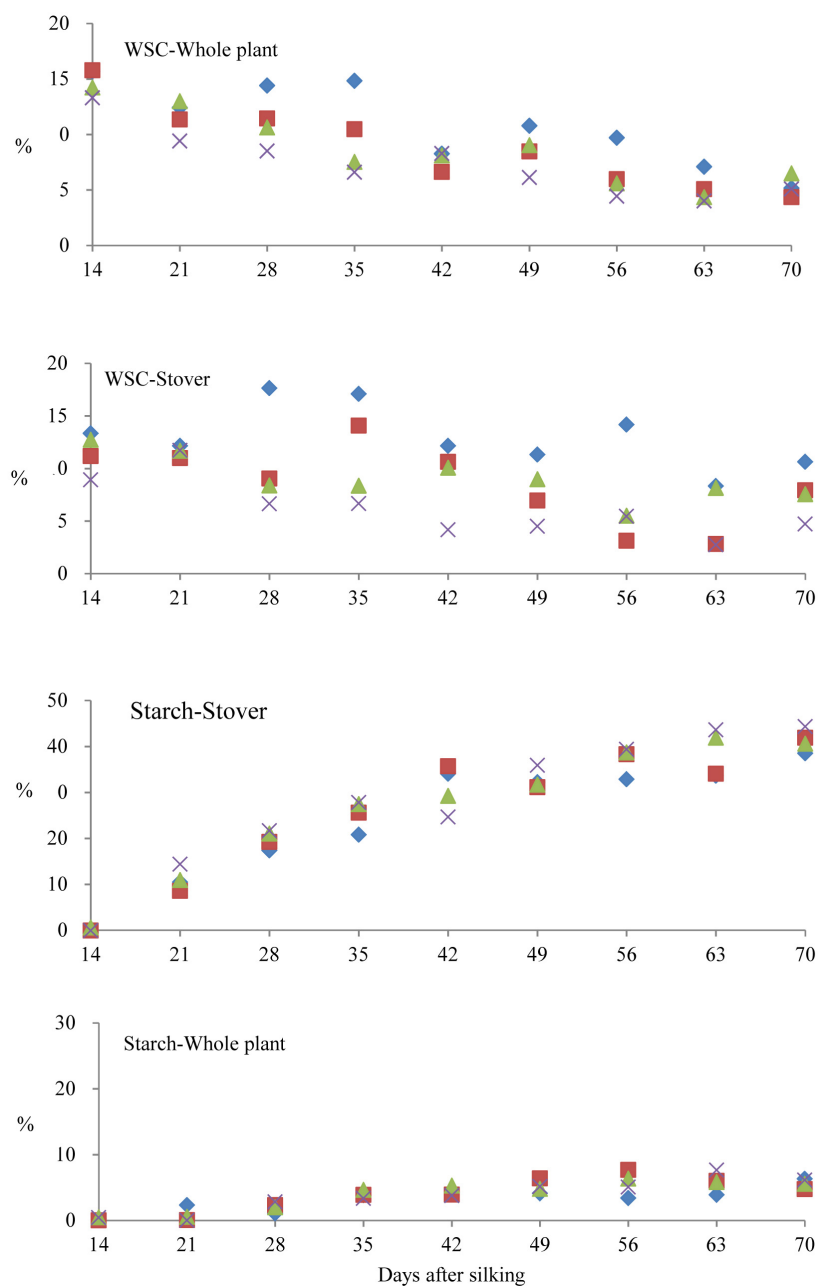


圖 3. 四個品系之全株及莖葉於吐絲後之水溶性碳水化合物與澱粉含量變化。

Fig. 3. Changes of the water soluble carbohydrate and starch of whole plant and stover during 14 - 70 days post silking for the four lines. ◆ H63 ■ H70 ▲ H202 × H101.

(v) 澱粉

全株澱粉含量由吐絲後 14 天的平均含量為 0.2%，之後隨時間逐漸累積，品系間趨勢一致，但含量及累積速度略有差異。吐絲後 35 天達 20.9 – 27.9%，平均 25.5%；吐絲後 63 天含量介於 33.7 – 43.7%，平均 38.4%，品系間差異大；吐絲後 70 天介於 38.6 – 44.4%，平均 41.4%。品系間以 H101 澱粉含量最高，

相對其 WSC 含量最低。莖葉部分，所有品系之澱粉含量均甚低，吐絲後 14 天的平均為 0.3%，35 天平均 3.9%，品系間差異小；吐絲後 49 天平均 5.1%；之後平均均未達 6.0%，至 70 天介於 4.7 – 6.3%，平均 5.7% (圖 3)。

II. 4 品系青割玉米營養成分變化與飼養價值討論

以品系平均值綜合描述吐絲後 14 – 70 天期間營養成分變化趨勢，如圖 4。全株之 CP 含量於整個調查期間呈現微幅降低，吐絲後 14 天平均含量為 9.7%，70 天為 8.5%，前後期差距僅為 1.2%，表示延期收穫對 CP 含量的影響小。飼養價值 (Relative Feed Value) 可由 NDF、ADF 預估 (Moore, 1994; Dunham, 1998)。全株 NDF、ADF 自前期降至吐絲後 49 天的低點後，隨割期延後含量持平或微幅降低。NDF 為乾物採食量之指標，ADF 為消化率之指標，由表 1 資料估算，延遲收穫至完熟期 (吐絲後 70 天) 的全株採食量、消化率及相對飼養價值分別為 2.86%BW、70.6% 及 156，均略高於青貯適期 (吐絲後 35 天) 的 2.73%BW、67.7% 及 143。澱粉含量由吐絲後 14 天的微量呈曲線累積至 70 天的 40%，吐絲後 35 天與 70 天的 NDF 含量分別為 44.0 及 42.0%；ADF 含量為 27.2 及 24.5%。

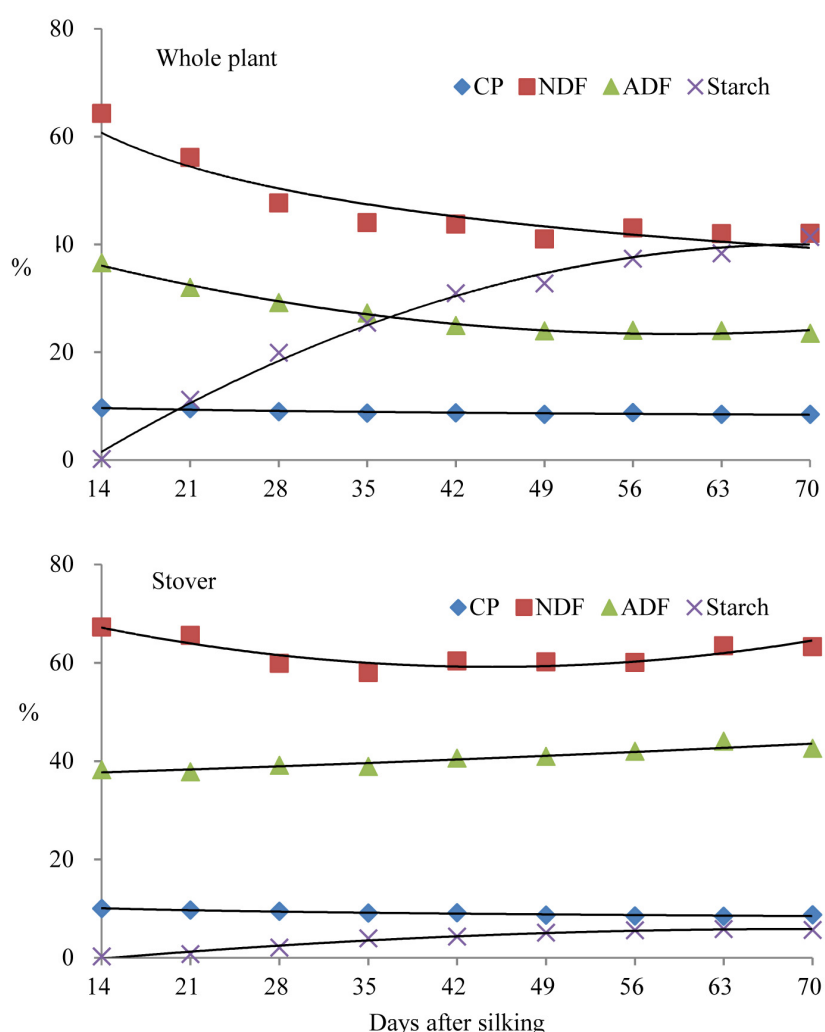


圖 4. 吐絲後 14 – 70 天 4 玉米品系平均之全株 (上圖) 莖葉 (下圖) 營養成分含量變動趨勢圖。

Fig. 4. Variation trends of nutrient contents during 14 - 70 days post silking for the whole plant and stover of the average of four lines. ◆ H63 ■ H70 ▲ H202 × H101.

莖葉方面，CP 於整個調查期間呈現微幅降低，前後期差距僅在 1% 之內，與全株之狀況相同。NDF 約在吐絲後 35 天降至低點，後期微升，距最低點僅 3% 之內；ADF 自 39% 升至 42%，呈線性提高。澱粉的含量均低。本研究除全株的營養成分調查外，亦調查莖葉的目的除了解組成部位的影響，另一原因為在芻料不足的區域，玉米莖葉也有可能做為芻料原料被利用 (Katoch, 2017)。本研究結果顯示莖葉之 NDF 約 65%，低於適割期的盤固草及狼尾草；ADF 約 42%，相當於適割期的盤固草及狼尾草 (陳及王, 2005; Chen *et al.*, 2006)。由本文，不同品系間莖葉的 NDF、ADF 有差異存在，但在全株之含量差異則因其他部位比率增加等因素而抵銷。

ADF 含量與植株持綠性 (Stay green) 及田間抗性等有關係，必要時可做為選拔標的 (Tolera *et al.*, 1999; Arriola, 2006)。

III. 青貯適期收穫與完熟期收穫之比較

依國內青割玉米之收穫利用制度，約於吐絲後一周即開始配送做為青飼料利用，直至數週之後、含水率降至 27 – 30% 時，做為青貯原料整批供應養牛場或企業調製為玉米青貯料，因此，由性能 (品質) 價格比的觀點來看，以相同或相近的採購價格能得到較高的乾物率及營養成份，顯然較成熟的青割玉米商品性價比較高。所謂青貯適期原料不僅含水率適中，易於獲得良好發酵品質，其澱粉亦充分累積且莖稈上不至過度老化；田間再延遲收穫至含水率 40%，已是割期探討之極限 (王等, 2007)。本研究單獨列出青貯適期收穫之原料 (吐絲後 35 天，乾物率 29.6%) 與完熟期收穫之原料 (吐絲後 70 天，乾物率 59.5%) 進行產量與營養成分的比較，以評估兩種不同目的下所收穫原料之差異，結果如表 1。

表 1. 玉米於吐絲後 35 天與 70 天之全株與莖葉之產量與營養成分比較

Table 1. Comparisons of nutrient contents and yield of whole plant and stover between 35 days and 70 days after silking

Item	Days after silking	Dry matter	Fresh yield	Dry yield	Crude protein	Neutral detergent fiber	Acid de-tergent fiber	Water solu-ble carbohy- drate	Starch
	Days	%	mt/ha	mt/ha	----- % -----				
Whole plant	35	29.6 ^b	50.5 ^a	15.0 ^b	9.1	44.0 ^a	27.2 ^a	9.9 ^a	25.5 ^b
	70	59.5 ^a	31.2 ^b	18.1 ^a	8.7	42.0 ^b	23.5 ^b	5.3 ^b	41.4 ^a
Stover	35	23.2 ^b	37.0 ^a	8.5	8.7	60.9 ^b	38.9 ^b	11.6 ^a	3.9 ^b
	70	48.0 ^a	16.0 ^b	7.5	8.5	64.8 ^a	42.6 ^a	7.7 ^b	5.7 ^a

^{a, b} Means in same column within same item with different superscripts are significantly different at 5%.

以全株而言，青貯適期 (吐絲後 35 天) 與完熟期收穫 (吐絲後 70 天) 之 CP 分別為 9.1 及 8.7%，差異不顯著；NDF、ADF 均以 70 天顯著低於 35 天 ($P < 0.05$)；而乾物產量由 35 天的 15.0 mt/ha 提高至 70 天時的 18.1 mt/ha，乾物率則自 29.6% 提高至 59.5%。表示由青貯適期 (吐絲後 35 天) 延長 35 天採收，可降低材料含水率至 40%，其 CP 含量變動不大；雖莖稈老化以致莖稈部位的 NDF、ADF 提高，但因全株澱粉大幅提升 16%，使得延期收穫之全株 NDF、ADF 低於前者。亦即延遲收穫可得到高乾物率、營養價值不低於青貯適期的青割玉米原料。延遲收割雖有延長田間使用時間及增加風險之缺點，但其總乾物產量的提高及含水率的降低，亦提升了延遲收穫在單位乾物成本上的利基，及其後續調製之乾燥成本。

而摘除苞穗的莖葉部分，吐絲後 70 天之 CP 為 8.5%，與吐絲後 35 天差異不顯著；70 天之 NDF、ADF 分別為 64.8 及 42.6%，高於 35 天，乾物產量由 8.5 mt/ha 降至 7.5 mt/ha (約為單次盤固草的收穫量)，可視為具芻料價值的副產物原料，在國內大面積推廣硬質玉米的當下，將其莖葉部分轉而為芻料利用方式亦值得重視。

結 論

本研究綜合 4 個品系結果顯示，在青貯適期至完熟期間，隨收穫時間延長，全株青割玉米的乾物率增高，CP、NDF、ADF 等含量也會隨時間變化，但變化幅度不大，同時澱粉含量明顯大量增加，整體而言，品質不受老化影響，具相當調製價值；同時，吐絲後 70 天之莖葉之營養組成與乾物產量相當於單次盤固草的收穫量，為具芻料潛力的副產物原料。

參考文獻

- 王紓愨、陳嘉昇。2005。青割玉米非結構性碳水化合物含量變化之研究。畜產研究 38：1-9。
- 王紓愨、陳嘉昇、游翠鳳、劉信宏。2007。種植期、收穫期與品種對青貯玉米發酵品質的影響。畜產研究 40：37-47。
- 陳嘉昇、王紓愨。2005。盤固草試管真消化率的變動與預測。畜產研究 38：197-207。

- 陳嘉昇、王紓愨、游翠鳳、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、王紓愨。2012。青割玉米營養成分的變動與相關性探討。畜產研究 45：287-301。
- 陳嘉昇、劉建甫、王紓愨。2024。青割玉米於青貯適期後莖葉、苞穗與全株之產量與含水率變化。畜產研究 57：1-9。
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14 ed. Washington DC. pp.125-142.
- Arriola, K. G. 2006 Effect of stay-green ranking, maturity and moisture concentration of corn hybrids on silage quality and the health and productivity of lactating dairy cows. Thesis of University of Florida.
- Bal, M. A., J. G. Coors, and R. D. Shaver. 1997. Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion, and milk production. *J. Dairy Sci.* 80: 2497-2503.
- Chen, C. S., S. M. Wang, and J. T. Hsu. 2006. Factors affecting in vitro true digestibility of Napiergrass. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19: 507-513.
- Darby, H. M. and J. G. Lauer. 2002. Harvest date and hybrid influence on corn forage yield, quality, and preservation. *Agron. J.* 94: 559-566.
- Dunham, J. R. 1998. Relative feed value measures forage quality. *Forage Facts# 41*. KState AES and CES.
- Hansen, J. and I. Møller. 1975. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone. *Analytical Biochemistry* 68: 87-94.
- Huang H., D. B. Faulkner, L. L. Berger, and S. R. Eckhoff. 2012. Harvest date influence on dry matter yield and moisture of corn and stover. *ASABE* 55: 593-598.
- Hunt, C. W., W. Kezar, and R. Vinande. 1989. Yield, chemical composition and ruminal fermentability of corn whole plant, ear, and stover as affected by maturity. *J. Prod. Agric.* 2: 357-361.
- Hunt, C. W., W. Kezar, and R. Vinande. 1992. Yield, chemical composition and ruminal fermentability of corn whole plant, ear and stover as affected by hybrid. *J. Prod. Agric.* 5: 286-290.
- Irlbeck, N. A., J. R. Hallauer, and D. R. Buxton. 1993. Nutritive value and ensiling characteristics of maize stover as influenced by hybrid maturity and generation, plant density and harvest date. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 41: 51-64.
- Katoch, R., A. T. Apoorva, and S. Sood. 2017. Improving nutritive value and digestibility of maize - a review. *Forage Res.* 43: 174-180.
- Lauer, J. G., J. G. Coors, and P. J. Flannery. 2001. Forage yield and quality of corn cultivars developed in different eras. *Crop Sci.* 41: 1449-1455.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- Moore, J. E. 1994. Forage quality indices: development and application. In: *Forage quality, evaluation, and utilization*. Eds. Fahey, Jr. G. C., M. Collins, D. R. Mertens and L. E. Moser. American Society of Agronomy, Inc. Madison, p. 977-998.
- SAS. 2002. SAS ver 9.0 Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- Sanderson, M. A., R. M. Jones, J. C. Read, and H. Lippke. 1995. Digestibility and lignocellulose composition of forage corn morphological components. *J. Prod. Agric.* 8: 169-174.
- Schwab, E. C., R. D. Shaver, J. G. Lauer, and J. G. Coors. 2003. Estimating silage energy value and milk yield to rank corn hybrids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109: 1-18.
- Shinners, K. J., B. N. Binversie, R. E. Muck, and P. J. Weimer. 2007. Comparison of wet and dry corn stover harvest and storage. *Biomass and Bioenergy* 31: 211-221.
- Tolera, A., T. Berg, and F. Sundstøl, 1999. The effect of variety on maize grain and crop residue yield and nutritive value of the stover. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 165-177.
- van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Wiersma, D. W., P. Carter, K. A. Albrecht, and J. G. Coors. 1993. Kernel milkline stage and corn forage yield, quality, and dry matter content. *J. Prod. Agric.* 6: 94-99.

Changes in Nutritional Composition in whole plants and stover of forage corn after silage period ⁽¹⁾

Chia-Sheng Chen ⁽²⁾⁽⁴⁾ Jian-Fu Liu ⁽³⁾ and Shu-Min Wang ⁽²⁾

Received: Apr. 22, 2024; Accepted: Jun. 19, 2024

Abstract

The purpose of the study aimed to analyze the changes in nutritional composition in forage corn from the silage period to the full maturity period, in order to understand the forage value of the whole plant and the stover. The study conducted a harvest survey every 7 days from 14 to 70 days after silking of four forage corn lines to investigate the changes in nutritional composition from the early silage and harvest period to maturity. The results showed a slight linear decline in the crude protein (CP) content of the whole plant during the survey period, with the difference of only 1% in pre/post period. The content of acid-detergent fiber (ADF) and neutral-detergent fiber (NDF) remained stable or slightly decreased after 49 days post-silking, while starch content increased from less than 5% in the early stages to 40% at 70 days.

In terms of stover, CP exhibited a similar trend to the whole plant, decreasing slightly over the survey period. NDF reached its lowest point around 35 days and then increased, showing a difference of about 3% from the lowest point. ADF linearly increased from 39% to 42%, and starch content remained low throughout the period. The harvest of average silage period at 35 days after silking and the delayed harvest at 70 days were compared and showed no significant difference in whole-plant CP, but NDF and ADF were significantly lower at 70 days, compared with at 35 days, reaching a level of significance. Dry matter yield increased from 15.0 mt/ha at 35 days to 18.1 mt/ha at 70 days, with a substantial increase in dry matter percentage. This suggests that delaying harvest by 35 days can yield maize material with higher dry matter and nutritional value comparable to that harvested at the silage period. Furthermore, this study aimed to evaluate the forage value of stover by surveying the changes in stover composition. The results showed that stover harvested 70 days after silking had CP, NDF, and ADF percentages of 8.5%, 64.8%, and 42.6%, respectively, with a dry matter yield of 7.5 mt/ha, equivalent to the yield of a single pangolagrass harvest, which suggests its potential as a byproduct with forage material.

Key words: Maturity, Forage corn, Nutritional composition.

(1) Contribution No. 2796 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Experimental Farm, College of Bioresources and Agriculture, National Taiwan University.

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

高溫環境對生長豬生長性能、營養分表相消化率 及生理性狀之影響⁽¹⁾

李恒夫⁽²⁾ 楊璿菁⁽²⁾ 謝怡慧⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：113 年 3 月 28 日；接受日期：113 年 6 月 20 日

摘 要

本研究旨在探討環境溫度對生長豬生長性能、營養分表相消化率及生理性狀的影響，作為熱緊迫造成豬隻生理與生產負面影響之飼養管理參考。18 頭平均體重 57.2 kg 之 LYD 雜交肉豬，公母各半，個別飼養於代謝架，並隨機分配至三環控室處理組，即低溫組 (LT 組, 22°C)、中溫組 (MT 組, 26°C) 及高溫組 (HT 組, 30°C)。豬隻採任食飼予含 CP 15.2%，ME 3,300 kcal/kg 之飼料及飲水。試驗期間 14 天，含適應期 7 天與全糞收集期 7 天，於收集期第 3、4 及 5 天量測定呼吸頻率及直腸溫度。代謝試驗開始及結束後，豬隻秤重後採血。結果顯示，相較於 LT 及 MT 組，HT 組豬隻有顯著較差的生長性能，環境溫度不影響各組之營養分表相消化率；HT 組豬隻有顯著較高的呼吸頻率及直腸溫度，亦有較低的鹼性磷酸酶、較高的肌酐酸及較低的平均紅血球體積。綜合上述，高溫環境降低生長豬的生長性能，與較低的採食量有關，高溫亦負面影響豬隻生理反應，主要在增快呼吸頻率及直腸溫度升高，可作為豬隻是否受熱緊迫之指標。

關鍵詞：生長豬、生長性能、高溫熱環境、生理反應。

緒 言

臺灣地處亞熱帶，全年高溫期長達 8 個月以上，因全球氣候變遷，臺灣過去 100 年的平均溫度已經上升攝氏 1.6 度 (IPCC, 2021)，且預期未來將有比以往更炎熱及更長的熱季。氣候條件為諸多限制畜生產效率的因子中主要因子之一，豬隻的期望採食量 (desired feed intake) 之定義為豬隻為滿足能量和蛋白質需求而消耗的飼料量，並由飼料的能量濃度和環境因素所決定 (Kyriazakis and Whittemore, 2006)，而環境溫度影響動物的採食行為和採食量 (王等, 2009)。高溫加上高潮濕的環境常造成豬隻熱緊迫，提高豬隻呼吸頻率與直腸溫度 (王等, 2009)，改變血液性狀 (Christon, 1988; Renaudeau *et al.*, 2012)，降低食慾及營養代謝 (王等, 2009; Quiniou *et al.*, 2000; Collin *et al.*, 2001; Kouba *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2016)，降低種豬繁殖性能 (Liu *et al.*, 2022)，以及生長性能變差 (Rinaldo and Le Dividich 1991; Cottrell *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2022)，直接或間接降低整體生產效率。

因應熱緊迫所引起的豬隻生長性能降低的問題，透過豬舍設計及環境調控，例如應用冷氣房、通風扇、蒸發冷卻系統 (evaporative chilling system)、霧氣系統 (foggy system) 或水簾式畜舍可有效地降低豬舍內溫度 (Haeussermann *et al.*, 2007; Renaudeau *et al.*, 2012)，但其建置成本都相對高昂。除此之外，飼料營養調控與飼養管理 (Kerr *et al.*, 2003; Spencer *et al.*, 2005; Cottrell *et al.*, 2015) 亦可紓解熱緊迫。因此，本研究將先探討不同環境溫度下對生長豬生長性能、營養分利用、生理值及血液生化值與血球性狀之影響，根據其基礎生理值作為熱環境下管飼養理豬隻之指標，同時作為未來更進一步調整營養策略之依據。

材料與方法

I. 動物及飼養管理

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2797 號。
(2) 農業部畜產試驗所動物營養組。
(3) 通訊作者，E-mail: elaineh@mail.tlri.gov.tw。

本試驗動物之使用、飼養及試驗內容通過農業部(原行政院農業委員會)畜產試驗所實驗動物管理委員會核准,同意書編號 110-29。

試驗選取 18 頭 LYD (LY ♀ × Duroc ♂, LYD) 雜交肉豬,公母各半,以任飼方式個別飼予試驗飼糧(表 1),至平均體重達 57.2 ± 3.9 kg 時將豬隻個別移至於不銹鋼代謝架上飼養,代謝架前端具有一不鏽鋼飼料槽及一水碗式飲水器,提供飲水任食。豬隻站立之代謝架底部為條狀地板,其下一層設有不銹鋼細網承接糞便,並可使尿液流入下一層之不銹鋼尿盤所承接,再由末端導管引至儲存桶。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. The composition of experimental diet

Ingredients	%
Yellow corn, ground	71.65
Soybean meal, 43% CP	22.71
Soy oil	1.08
Molasses	1.5
Salt	0.5
Choline chloride, 50%	0.1
Dicalcium phosphate	1.3
Limestone, pulverized	0.7
Lysine	0.21
Vitamin premix ^a	0.1
Mineral premix ^b	0.15
Total	100.0
Calculated ME, kcal/kg	3,303.1
Analysed values, %	
Crude protein	15.2
Calcium	0.67
Total phosphorous	0.54
Lysine	0.92
TSAA	0.47

^a Vitamin premix provided per kilogram of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 400 IU; Vitamin E, 40 IU; Vitamin K, 2 mg; Vitamin B₁, 2 mg; Vitamin B₂, 6 mg; Vitamin B₆, 3 mg; Vitamin B₁₂, 0.03 mg; Niacin, 30 mg; Pantothenic acid, 30 mg; Folic acid, 0.6 mg and Biotin, 0.2 mg.

^b Mineral premix provided per kilogram of diet: Fe, 80 ppm; Cu, 5 ppm; Mn, 6 ppm; Zn, 45 ppm; I, 0.2 ppm; Se, 0.1 ppm and Co, 0.35 ppm.

Abbreviation: CP, crude protein; ME, metabolic energy; TSAA, total sulfur amino acid.

豬隻平均分配至三間環境控制室,其空間長×寬×高為 1,930 × 246 × 246 cm,試驗期間環境控制室溫度分別為高溫組 ($30.5^{\circ}\text{C} \pm 1.95^{\circ}\text{C}$, HT 組)、中溫組 ($26.2^{\circ}\text{C} \pm 0.9^{\circ}\text{C}$, MT 組) 及低溫組 ($22.4^{\circ}\text{C} \pm 2.7^{\circ}\text{C}$, LT 組),相對溼度則介於 72 至 83%。參考 NWSCR (national weather service centre region)1976 年的豬隻溫溼度指數 (Temperature humidity index, THI) 公式, $\text{THI} = [(1.8 \times T) + 32] - [0.55 \times (\text{RH} / 100)] \times [(1.8 \times T) + 32 - 58]$,其中 T 為環控室內溫度,單位為 $^{\circ}\text{C}$,RH 為環控室內相對溼度,單位為%。計算各組 14 天之 THI。HT 組之 THI 介於 72.4 至 77.5,平均 74.7;MT 組之 THI 介於 67.1 至 70.7,平均 69.5;而 LT 組之 THI 介於 62.5 至 69.8,平均 65.6。

II. 試驗飼糧及餵飼及處理

試驗飼糧以玉米—大豆粕為主調配而成(表 1),飼糧代謝能 (metabolic energy, ME) 計算值為 3,300 kcal/kg,依 AOAC (1990) 方法分析飼糧粗蛋白質 (crude protein, CP)、鈣、總磷、離胺酸及總含硫胺基酸 (total sulfur amino acid, TSAA) 含量,分別為 15.2、0.67、0.54、0.92 及 0.47%。

當試驗豬隻於 7 月份自個別欄飼養之肉豬舍移入環控室後，進行 7 天適應期，分別於每日上午 09:00 及下午 3:00 各餵飼一次，飲水則採任食。適應期間收集每頭豬每日之剩料，以 105°C 烘箱乾燥 6 小時後，再置於室溫下曝氣 48 小時，扣除剩料量後計算個別豬隻每日採食量。以適應期平均每日採食量乘以 1.2 倍作為隨後 7 天收集期的每日餵飼量，確保豬隻足夠飼料量，同時每日收集記錄剩餘飼料量以計算採食量。每日收集條狀地板及其下一層不銹鋼細網所承接之糞便，並以 55°C 烘箱乾燥 48 小時後於室溫存放以備分析。代謝架最下一層為不銹鋼尿盤，收集之尿液由導管引至預先加入 0.1N HCl 500 mL 之儲存桶。每日記錄尿液量，並取樣之十分之一量冰存，待所有尿液樣品混合後，取樣 500 mL 冷凍冰存以備分析。

III. 測量及樣品分析

豬隻於適應期開始前及收集期結束後秤量體重，並且以套索保定後自頸靜脈竇處採取血液約 8 mL 供後續生化學分析，包括葡萄糖 (glucose, Glu)、三酸甘油酯 (triglyceride, TG)、總膽固醇 (total cholesterol, TChol)、高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL)、麩胺酸草醯乙酸轉胺酶 (glutamate oxaloacetate transaminase, GOT)、麩胺酸丙酮酸轉胺酶 (glutamate pyruvate transaminase, GPT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、肌酸激酶 (creatine phosphokinase, CPK)、血清尿素氮 (serum urea nitrogen, SUN)、肌酸酐 (creatinine)、總蛋白 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, Alb)、球蛋白 (globulin, Glo)、血鈣 (blood calcium) 以及免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, IgG)。血中皮質醇 (cortisol) 濃度以 8D15-25 套組 (ABBOTT RCHITECT Cortisol®, USA) 分析。另以離散型多測試同步分析系統 (discrete-type multi-test simultaneous analysis system, HITACHI LST008 AS, JAPAN) 分析血球分類血液生理值，包括白血球 (white blood cells, WBC)、紅血球 (red blood cells, RBC)、血紅素 (hemoglobin, Hgb)、血小板 (platelets)、血球容積比 (hematocrit, HCT)、平均紅血球血紅素 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均紅血球容積 (mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、嗜中性球 (neutrophils)、淋巴球 (lymphocytes)、單核球 (monocytes)、嗜鹼性球 (basophils) 以及嗜酸性球 (eosinophils)。

在收集期的第 3、4 及 5 日下午 13:30 時，以人工計數測量豬隻 1 分鐘呼吸次數，測量三次取平均值後，以動物用溫度計 (SHANG NONG, China) 量測豬隻直腸溫度。

收集之糞便樣品以 55°C 烘箱乾燥 48 小時，剔除沾附的豬毛後，以研磨機 (榮聰精密公司, RT-04A, 臺灣) 粉碎。粉碎後之糞便樣品及尿液以 AOAC (1990) 方法分析乾物質 (dry matter, DM)、粗蛋白質 (crude protein, CP) 及總能 (gross energy, GE) 之含量，據以計算營養分消化率及代謝率。

營養分消化率 = (飼料中採食之營養分 - 糞便中排出之營養分) × 100 / 飼料中採食之營養分。

營養分代謝率 = (飼料中採食之營養分 - 糞便中排出之營養分 - 尿液中排出之營養分) × 100 / 飼料中採食之營養分。其中豬隻產生甲烷之總能約佔消化能之 0.5% (Bowland *et al.*, 1970; Fuller and Boyne, 1972)，因量少，故忽略不計。

IV. 統計分析

試驗每處理共有三頭閩公豬及三頭母豬，因各項測定中性別無顯著差異，因此每處理採六重複分析，以 $Y = \mu + T + E$ 數學模式，其中 Y 表觀測值， μ 表族群平均，T 表溫度效應，E 表機差。試驗數據以 SAS 統計分析套裝軟體之一般線性模式程序 (general linear model procedure) 進行變方分析 (SAS, 2015)，再以 Tukey's 多重比較法 (Tukey's Multiple Range Test) 比較各處理間的差異顯著性，當 $P < 0.05$ 代表差異顯著。

結果與討論

I. 生長性能

豬隻經連續 14 天高溫處理 (HT 組, 30°C) 後的日增重、採食量和體重均顯著低於 LT 和 MT 處理組 ($P < 0.05$)。HT 組的飼料效率也顯著低於 MT 組 ($P < 0.05$)，而 LT 組和 MT 組之間之生長性能無顯著差異 (表 2)。

豬的期望採食量 (desired feed intake) 之定義為豬隻為滿足能量和蛋白質需求而消耗的飼料量，並由飼料的能量濃度和環境因素所決定 (Kyriazakis and Whittemore, 2006)，而環境溫度也同時影響動物的採食行為和採食量 (王等, 2009)，王等 (2009) 發現當環境溫度由 21°C 上升至 33°C 時，體重 60 公斤的豬隻每日採食量由 2.2 公斤降至 1.6 公斤。本研究中各組處理的飼糧為等熱能飼糧 (表 1)，因此環境溫度顯然為改變其採食量的主要因素。此外，中間溫度帶 (thermoneutral zone) 之定義為動物可以透過調節熱量逸散來維持體溫的環境溫度範圍 (Mount,

1975)。當環境溫度低於低臨界溫度 (lower critical temperature) 時，動物增加新陳代謝率，產生熱量以維持體溫。相反地，當環境溫度高於高臨界溫度 (upper critical temperature) 時，則調整生理機制，如發汗及喘息，以加速熱量散失，避免造成體溫過高 (Mount, 1975)。Amavizca-Nazar *et al.* (2019) 認為豬隻的中間溫度帶介於 18 至 25°C 之間，而環境溫度高於 25°C 就會引起熱緊迫。在熱緊迫狀態下，動物將降低自主採食量以減少熱產生 (Quiniou *et al.*, 2000)。然而這樣的調節將影響豬隻的日增重、飼料利用效率和較差的生長性能 (王等, 2009; Rinaldo and Le Dividich, 1991; Cottrell *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2022)。

表 2. 不同環境溫度對生長豬生長性能之影響

Table 2. Effects of different ambient temperatures on growth performance of growing pigs

Item	Treatments [§]			SEM	P-value
	LT	MT	HT		
No. of animals, hd	6	6	6	—	—
Initial BW wt, kg	56.97	57.02	57.60	1.31	0.964
Finish BW wt, kg	71.43 ^a	72.45 ^a	68.25 ^b	1.31	0.038
ADG, kg/day	1.033 ^a	1.102 ^a	0.761 ^b	0.04	0.004
Feed intake, kg/day	2.449 ^a	2.486 ^a	2.039 ^b	0.06	0.005
Feed efficiency, gain/feed	0.422 ^{ab}	0.445 ^a	0.371 ^b	0.01	0.022

[§] LT (low temperature), MT (mild temperature), and HT (high temperature) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

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

本研究結果顯示，30°C 以上的高溫顯著降低了豬隻的採食量，從而導致增重不佳，與上述的研究結果一致。除此之外，LT 和 HT 組表現出相似的飼料效率，LT 處理組較 HT 組的豬隻有較高的採食量，推測 LT 組採食的飼料中，部分能量被用來產生熱量用於較低溫的環境下維持體溫，而非用於生長。

II. 營養分表相消化率

各組間乾物質、粗蛋白、能量的表相消化率均在 80% 以上，各組間無顯著差異 (表 3)。過去的研究指出高環境溫度會影響豬的脂肪代謝，而環境溫度對氮代謝的影響因不同的研究而有所差異。當豬隻處於低臨界溫度以下的環境，豬隻將消耗更多的能量來維持體溫，脂肪累積的速度也因而降低。相反地，高環境溫度會降低豬隻的採食量，脂肪的沉積也會改變 (Verstegen *et al.*, 1973; Kouba *et al.*, 2001)。Kouba *et al.* (2001) 指出，熱緊迫會增加脂肪組織中脂蛋白解脂酶 (lipoprotein lipase) 的活性以及血漿中極低密度脂蛋白 (very low-density lipoproteins) 的濃度，顯示熱緊迫會增強脂肪組織中的脂肪代謝，促進脂肪組織吸收和儲存血漿中的三酸甘油酯得到，導致更多的脂肪沉積。Wu *et al.* (2016) 亦發現，在熱環境下，骨骼肌中的脂肪酸 β - 氧化作用會被抑制。在此狀態

表 3. 不同環境溫度對生長豬營養分表相消化率及代謝率之影響

Table 3. Effects of different ambient temperatures on nutrient apparent digestibility and metabolic rate of growing pigs

Item	Treatments [§]			SEM	P-value
	LT	MT	HT		
No. of animals, hd	6	6	6	—	—
Digestibility, %					
Dry matter	0.874	0.887	0.891	0.06	NS
Crude protein	0.826	0.849	0.854	0.01	NS
Energy	0.845	0.862	0.864	0.08	NS
Metabolic rate, %					
Crude protein	0.655	0.670	0.674	0.01	NS
Energy	0.836	0.850	0.850	0.01	NS

[§] LT (low temperature), MT (mild temperature), and HT (high temperature) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

下，血漿中非酯化脂肪酸將行再酯化作用而在肝臟中重組成極低密度脂蛋白，隨後被脂肪組織重新吸收，而增加了豬背脂和板油脂肪的累積，因此，高環境溫度會促進體脂肪的增加。另一方面，Verstegen *et al.* (1973) 認為氮的蓄積不受環境溫度的影響，影響氮的蓄積的主要因素為營養分含量的高低而不是環境溫度。然而 Collin *et al.* (2001) 卻發現，任飼的生長豬在 33°C 高溫環境下比在中等 23°C 環境下，有較高的氮和能量消化率，此和豬隻改變行為有關，在 33°C 環境下，豬隻總熱產生 (heat production) 以及無活動的產熱量較少，並且隨著飼糧中蛋白質和脂肪的增加而蓄積能量。因此，Collin *et al.* (2001) 認為較高的能量蓄積是由於飼料能量的利用率更高或維持的需求減少所致。而在本研究中，HT 組之環境為 30°C，略低於 Collin *et al.* (2001) 研究所採之 33°C，但 HT 組的營養分消化率和代謝率在數值上比較高 (表 3)，或許和豬隻改變行為以調節熱產生有關。

III. 生理反應

生長豬在收集期第 3、4 和 5 天的呼吸頻率和直腸溫度的反應分別如圖 1 及圖 2 所示。正如預期，兩者結果顯示出一致的趨勢，即較高的環境溫度導致較高的呼吸頻率和直腸溫度。

平均而言，HT 組豬有較高的呼吸頻率 (76.5 ± 16.6 次/分鐘，圖 1) 與直腸溫度 ($39.95 \pm 0.42^\circ\text{C}$) (圖 2)，分別顯著高於 LT 組之 58.7 ± 7.1 次/分鐘、 $39.27 \pm 0.27^\circ\text{C}$ 和 MT 組之 64.8 ± 7.0 次/分鐘及 $39.47 \pm 0.43^\circ\text{C}$ 。

豬是恆溫動物，可以透過皮下週邊溫度感受器和下丘腦溫度調節中樞來調節體溫，在一定環境溫度變異內，可保持中心體溫相對恆定，以維持生理功能 (Mount, 1975)。豬隻可透過蒸發、傳導、對流及輻射等作用排除熱，其呼吸頻率和體溫主要受周圍環境溫度和散熱效率的影響。然而豬的汗腺功能不發達，利用汗腺釋放熱量流失有限 (Ingram, 1967)。當環境溫度高於高臨界溫度時，為了保持體溫恆定並減少體內熱量的產生，豬隻會調節血液至皮膚的流量以增加散熱，再者增加呼吸頻率，透過喘氣來釋放熱量 (Christon, 1988; Patience *et al.*, 2005)。然而，當代謝過程產生的熱不能有效釋放時，體溫和直腸溫度就會升高 (Patience *et al.*, 2005)。

HT 組豬隻在測量呼吸頻率和直腸溫度之前，已經飼養於 30°C 的環境溫度下 9 天，其環境平均 THI 為 74.7，已達熱緊迫警示區域 (Haeussermann *et al.*, 2007)。正如預期，HT 組豬隻比其他兩組豬表現出更高的呼吸頻率和直腸溫度。雖然 Pond and Maner (1984) 發現，生長肥育豬在 30°C 環境溫度下的呼吸頻率為每分鐘 30.6 次，遠低於本研究的結果。然而 Pond and Maner (1984) 同時也發現，當環境溫度升至 32.2°C 時，呼吸頻率增加至每分鐘 78.8 次，如果環境溫度繼續升至 37.8°C，直腸溫度則增加至 40.0°C。此外，本研究與王等 (2009) 報告一致，顯示生長豬的呼吸頻率和直腸溫度隨著環境溫度的升高而增加。雖然 Amavizca-Nazar *et al.* (2019) 認為環境溫度高於 25°C 就會引起豬隻的熱緊迫，然而，依本研究結果及 Pond and Maner (1984) 的研究以及考量環境 THI，呼吸頻率和直腸溫度的升高為判斷豬隻是否處於熱緊迫的良好指標，當豬隻處於休息狀態，而呼吸頻率每分鐘達 70 次以上，或者直腸溫度接近 40°C，可視為豬隻已遭受熱緊迫，應採取適當紓解熱緊迫的措施。

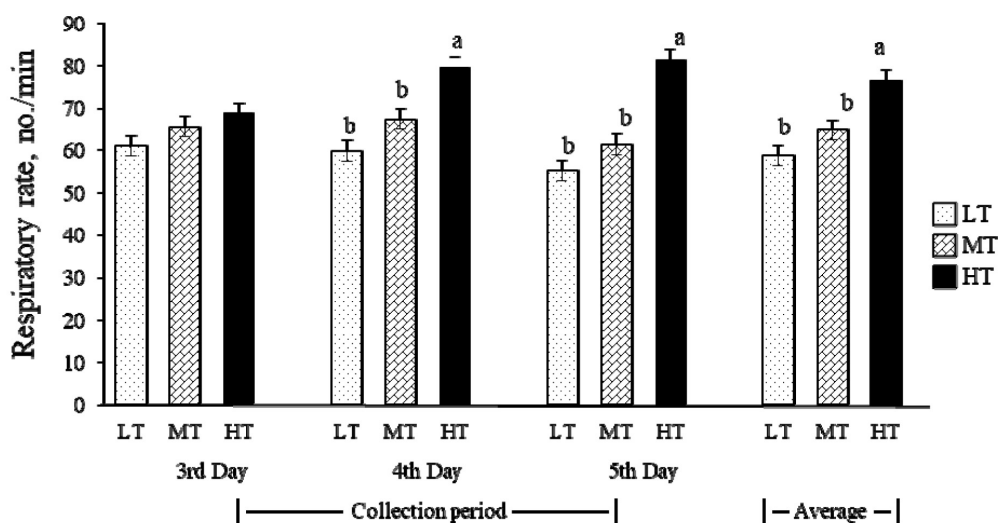


圖 1. 不同環境溫度對生長豬呼吸頻率之影響。

Fig. 1. Effects of ambient temperature on the respiratory rate of growing pigs. LT (low temperature; N = 6), MT (mild temperature; N = 6), and HT (high temperature; N = 6) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

* Significant difference was found between the average of treatments (P = 0.001; SEM = 4.18).

^{a, b} Values in the same days with different superscript letters were significantly different (P < 0.05).

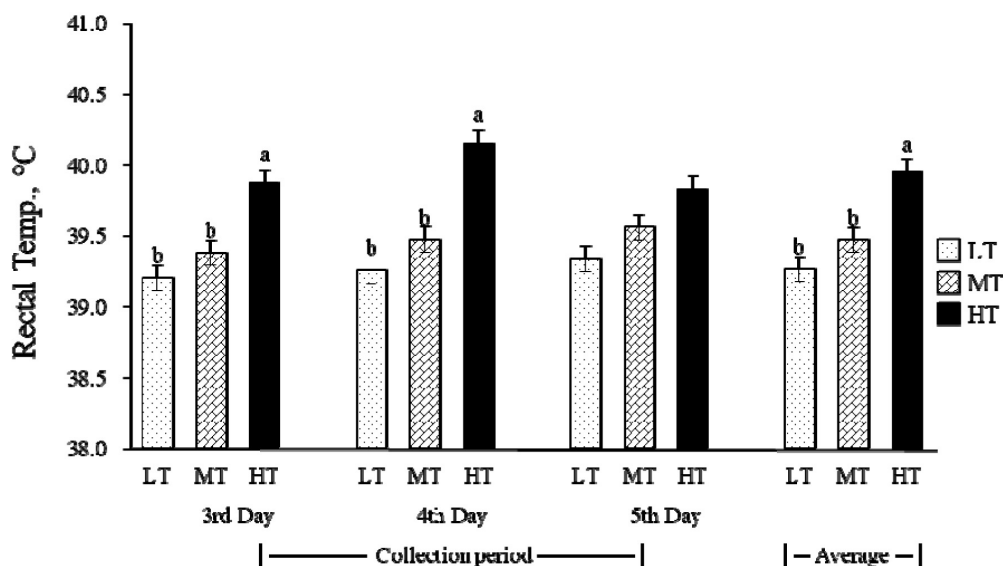


圖 2. 不同環境溫度對生長豬直腸溫度之影響。

Fig. 2. Effects of ambient temperatures on the rectal temperature of growing pigs. LT (low temperature; N = 6), MT (mild temperature; N = 6), and HT (high temperature; N = 6) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

* Significant difference was found between the average of treatments ($P = 0.001$; SEM = 0.15).

^{a, b} Values in the same days with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

IV. 血液生化值及血液學指標

不同環境溫度下生長豬的血液生化值及血液學指標，分別如表 4 及表 5 所示。試驗開始時各處理之間的血液生化值和血液學指標均沒有差異，顯示開始試驗前各組豬隻的血液特徵均是相似的。血液生化值和血液學值可以作為生理狀態的指標以反映個體的健康狀況，扮演重要的生理監測功能 (Ohaeri and Eluwa, 2011)。本研究開始前，豬隻均在豬舍以常規商業模式飼養，豬隻於移至代謝架並分配至代謝室之前，採血收集每頭豬的血液。因此，本研究開始時各項的血液特徵 (表 4 及表 5) 可以作為實際商業條件下生長豬的基本生理資訊。

表 4. 不同環境溫度對生長豬血液生化值之影響

Table 4. Effects of different ambient temperatures on blood biochemical value of growing pigs

Item	Treatments [§]			SEM	P-value
	LT	MT	HT		
No. of samples	6	6	6	—	—
At the beginning of adaption period					
Glu, mg/dL	80.17	84.17	79.83	3.67	NS
TG, mg/dL	26.33	63.67	34.33	12.27	NS
Tchol, mg/dL	94.17	87.00	94.67	2.81	NS
HDL, mg/dL	34.00	33.00	34.67	1.75	NS
LDL, mg/dL	55.67	47.50	53.33	2.29	NS
GOT, U/L	44.67	98.50	50.67	24.62	NS
GPT, U/L	48.33	49.67	46.00	3.24	NS
ALP, U/L	171.0	188.3	150.3	12.96	NS
CPK, U/L	259.4	209.2	358.2	77.9	NS
SUN, mg/dL	8.83	7.33	8.17	0.56	NS
Creatinine, mg/dL	1.24	1.06	1.22	0.06	NS
TP, g/dL	5.57	5.33	5.60	0.09	NS
Alb, g/dL	3.25	3.17	3.38	0.14	NS

表 4. 不同環境溫度對生長豬血液生化值之影響 (續)

Table 4. Effects of different ambient temperatures on blood biochemical value of growing pigs (continued)

Item	Treatments [§]			SEM	P-value
	LT	MT	HT		
Glo, g/dL	2.32	2.17	2.22	0.14	NS
Calcium, mg/dL	10.50	10.47	10.52	0.14	NS
Cortisol, mg/mL	413.8	420.3	507.0	25.0	NS
IgG, µg/mL	20.06	16.55	15.92	1.70	NS
After the collection period					
Glu, mg/dL	107.17	105.17	90.33	4.48	NS
TG, mg/dL	23.33	25.67	26.33	2.19	NS
Tchol, mg/dL	79.67	79.83	82.67	2.49	NS
HDL, mg/dL	33.50	32.00	28.50	1.35	NS
LDL, mg/dL	45.17	45.00	51.00	1.60	NS
GOT, U/L	37.33	37.50	33.83	3.00	NS
GPT, U/L	44.67	42.50	36.33	2.69	NS
ALP, U/L	174.7 ^a	149.8 ^a	102.3 ^b	8.28	0.03
CPK, U/L	3,323	4,268	4,565	783.9	NS
SUN, mg/dL	7.33	6.83	6.83	0.54	NS
Creatinine, mg/dL	1.03 ^b	1.01 ^b	1.25 ^a	0.05	0.04
TP, g/dL	5.92	5.97	6.17	0.11	NS
Alb, g/dL	3.85	3.88	3.88	0.10	NS
Glo, g/dL	2.07	2.08	2.28	0.10	NS
Calcium, mg/dL	10.30	10.28	10.12	0.08	NS
Cortisol, mg/mL	245.3	296.5	240.3	14.49	NS
IgG, µg/mL	11.68	15.08	13.59	1.05	NS

[§] LT (low temperature), MT (mild temperature), and HT (high temperature) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

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

高環境溫度除了會損害動物的生長性能外，也會對動物的生理狀況產生負面影響，例如增高呼吸頻率、改變血液生化值和血液值 (Renaudeau *et al.*, 2012)。在本研究中，經適應期和收集期間暴露於高溫 14 天後，HT 組因熱緊迫刺激，與 LT 和 MT 組豬隻相比，表現出顯著較低的鹼性磷酸酶活性 (表 4)、較高的肌酸酐 (表 3) 和較低的平均紅血球體積 (表 5) ($P < 0.05$)。其他血液生化值及血液學值均無顯著差異 (表 4 及表 5)，顯示即使於高溫緊迫下，血液仍具有生理緩衝液的作用，穩定血液值，使體內生化反應順利進行。而生長豬在高環境溫度下表現出較高的肌酸酐和較低的鹼性磷酸酶水準 (表 4)，肌酸酐代表腎臟功能的指標，而鹼性磷酸酶大量存在於骨骼當中，常被視為骨骼生長的指標，本研究顯示高環境溫度下腎功能和礦物質代謝可能受到干擾，是否因不同溫度的環境造成豬隻飲水量不同，進而影響腎功能，因為測量飲水量，仍待進一步探討。平均紅血球體積係紅血球的平均大小，較低的平均紅血球體積伴隨著貧血，意味著高溫環境可能造成豬隻貧血現象，可能係高溫環境影響礦物質鐵的吸收，進而造成貧血現象，本研究中 HT 組之血紅素有低於 LT 及 MT 組之傾向，惟差異不顯著 (表 5)。

過去的研究顯示，由於品種、性別、年齡、營養狀況和環境的不同而導致豬隻血液值的差異 (Miller *et al.*, 1961a; 1961b)。吳及章 (2018; 2019) 發現，臺灣本土黑色小型豬蘭嶼豬的血液值與大型的商業豬種畜試黑豬一號的血液值 (洪等, 2011)，具品種間的差異。本研究中使用 LYD 雜交肉豬，亦為商業主流豬種，其血液生化值和血液學值與畜試黑豬一號非常相似 (洪等, 2011)，主要差異在於本研究之 LYD 雜交肉豬比畜試黑豬一號有較低的血中尿素氮、較高的淋巴球和嗜酸性粒球。因此，以血液學指標特徵作為判斷豬是否受到熱緊迫時，應考慮豬隻的品種、日齡和營養狀況。

表 5. 不同環境溫度對生長豬血液學及血球分類之影響

Table 5. Effects of different ambient temperatures on hematological parameters of growing pigs

Item	Treatments [§]			SEM	P-value
	LT	MT	HT		
No. of samples	6	6	6	—	—
At the beginning of adaption period					
WBC Count, uL	19,830	20,550	20,767	1,697	NS
RBC Count, × 10 ⁶ /uL	6.70	6.51	6.80	0.19	NS
Hgb, g/dL	11.42	10.68	10.83	0.35	NS
Platelets, × 10 ⁴ /uL	30.32	23.04	32.77	4.51	NS
HCT, %	40.07	37.84	38.78	1.43	NS
MCH, pg/cell	17.08	16.50	15.93	0.31	NS
MCV, fl	59.70	58.08	56.97	0.92	NS
MCHC, g/dL	28.60	28.42	28.00	0.35	NS
Neutrophils, %	37.45	31.90	39.77	3.17	NS
Lymphocytes, %	53.05	56.02	51.20	2.96	NS
Monocytes, %	5.75	7.68	5.92	0.84	NS
Basophils, %	0.30	0.38	0.35	0.05	NS
Eosinophils, %	3.45	4.02	2.77	0.56	NS
After the collection period					
WBC Count, uL	19,413	19,315	16,668	1,195	NS
RBC Count, × 10 ⁶ /uL	6.52	6.61	6.60	0.12	NS
Hgb, g/dL	11.25	10.98	10.68	0.20	NS
Platelets, × 10 ⁴ /uL	27.78	29.93	33.65	2.83	NS
HCT, %	41.25	40.65	39.35	0.60	NS
MCH, pg/cell	17.25	16.67	16.20	0.27	NS
MCV, fl	63.32 ^a	61.63 ^{a,b}	59.63 ^b	0.72	0.03
MCHC, g/dL	27.28	27.00	27.15	0.25	NS
Neutrophils, %	29.62	29.30	24.98	1.72	NS
Lymphocytes, %	61.12	60.35	63.87	1.84	NS
Monocytes, %	5.12	5.22	5.65	0.58	NS
Basophils, %	0.45	0.65	0.38	0.07	NS
Eosinophils, %	3.70	4.48	5.12	0.79	NS

[§] LT (low temperature), MT (mild temperature), and HT (high temperature) represented the chamber temperature as 22°C, 26°C and 30°C, respectively.

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

結 論

處於 30°C 環境溫度 14 天所引起的熱緊迫導致生長豬採食量低，進而降低了生長性能。較高的環境溫度會增加豬隻的呼吸頻率和直腸溫度，此可作為辨別豬隻是否遭受熱緊迫的簡易指標。此外，熱緊迫會降低生長期豬隻鹼性磷酸酶、提高肌酐酸及較低的平均紅血球體積，對其他血液生化值及營養分的消化率影響不大。

誌 謝

本研究蒙本所動物營養組康建龍先生、曹銘展先生及台灣經濟研究院派駐人員康家禎小姐協助動物飼養及數據收集，謹申謝忱。

參考文獻

- 王信凱、姜樹興、徐阿里、李恒夫。2009。環境溫度與飼糧離胺酸及能量比對生長及肥育豬生長生理性狀及氮蓄積率之影響。畜產研究 42：73-85。
- 吳昇陽、章嘉潔。2018。蘭嶼豬血液生化性狀之分析。畜產研究 51：157-165。
- 吳昇陽、章嘉潔。2019。不同小型豬血液生化值與品種間之差異。畜產研究 52：198-205。
- 洪鈴柱、李恒夫、邱智偉、蘇天明。2011。畜試黑豬一號血液學調查。畜產研究 44：301-310。
- Amavizca-Nazar, A. M., Montalvo-Corral, H. González-Rios, and A. Pinelli-Saavedra. 2019. Hot environment on reproductive performance, immunoglobulins, vitamin E, and vitamin A status in sows and their progeny under commercial husbandry. *J. Anim. Sci. Technol.* 61: 340-351.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.
- Bowland, J. P., H. P. Bickel, H. P. Pfirter, C. P. Wenk, and A. Schurch. 1970. Respiration calorimetry studies with growing pigs fed diets containing 3 to 12% crude fiber. *J. Anim. Sci.* 31: 494-501.
- Christon, R. 1988. The effect of tropical ambient temperature on growth and metabolism in pigs. *J. Anim. Sci.* 66: 3112-3123.
- Collin, A., J. van Milgen, S. Dubois, and J. Noblet. 2001. Effect of high temperature and feeding level on energy utilization in piglets. *J. Anim. Sci.* 79: 1849-1857.
- Cottrell, J. J., F. Liu, A. T. Hung, K. DiGiacomo, S. S. Chauhan, B. J. Leury, J. B. Furness, P. Celi, and F. R. Dunshea. 2015. Nutritional strategies to alleviate heat stress in pigs. *Anim. Prod. Sci.* 55: 1391-1402.
- Fuller, M. F. and A. W. Boyne. 1972. The effects of environmental temperature on the growth and metabolism of pigs given different amounts of food. 2. Energy metabolism. *Br. J. Nutr.* 28: 373-384.
- Haeussermann, A., E. Vranken, J. M. Aerts, E. Hartung, T. Jungbluth, and D. Berckmans. 2007. Evaluation of control strategies for fogging systems in pig facilities. *Biol. Eng. Trans.* 50: 265-274.
- Ingram, D. L. 1967. Stimulation of cutaneous glands in the pig. *J. Comp. Path.* 77: 93-98.
- IPCC. 2021. IPCC Sixth Assessment Report. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>
- Kerr, B. J., J. T. Yen, J. A. Nienaber, and R. A. Easter. 2003. Influences of dietary protein level, amino acid supplementation and environmental temperature on performance, body composition, organ weights and total heat production of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 81: 1998-2007.
- Kouba, M., D. Hermier, and J. Le Dividich. 2001. Influence of a high ambient temperature in lipid metabolism in the growing pig. *J. Anim. Sci.* 79: 81-87.
- Kyriazakis, I. and C. Whittemore, 2006. *Whittemore's Science and Practice of Pig Production*. pp. 622-626. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.
- Liu, F., W. Zhao, H. H. Le, J. J. Cottrell, M. P. Green, B. J. Leury, F. R. Dunshea, and A. W. Bell. 2022. Review: What have we learned about the effects of heat stress on the pig industry? *Anim.* 16: 100349.
- Miller, E. R., D. E. Ullrey, Ackermann, D. A. Schmidt, J. A. Hoefler, and R. W. Luecke. 1961a. Swine hematology from birth to maturity. I. Serum protein. *J. Anim. Sci.* 20: 31-35.
- Miller, E. R., D. E. Ullrey, I. Ackermann, D. A. Schmidt, R. W. Luecke, and J. A. Hoefler. 1961b. Swine hematology from birth to maturity. II. Erythrocyte population, size and hemoglobin concentration. *J. Anim. Sci.* 20: 890-897.
- Mount, L. E. 1975. The assessment of thermal environment in relation to pig production. *Livest Prod Sci.* 2: 381-392.
- National weather service central region (NWSCR) 1976. *Livestock hot weather stress. Regional operations manual letter C-31-76*. NWSCR, Kansas City, MO, USA.

- Ohaeri, C. C. and M. C. Eluwa. 2011. Abnormal biochemical and haematological indices in trypanosomiasis as a threat to herd production. *Vet. Parasitol.* 177: 199-202.
- Patience, J. F., J. F. Umboh, R. K. Chaplin, and C. M. Nyachoti. 2005. Nutritional and physiological responses of growing pigs exposed to diurnal pattern of heat stress. *Livest. Prod. Sci.* 96: 205-214.
- Pond, W. G. and J. H. Maner. 1984. *Swine production and nutrition*. pp. 607-615. AVI Publishing Co., Inc. USA.
- Quiniou, N., S. Dubois, and J. Noblet. 2000. Voluntary feed intake and feeding behaviour of group-housed growing pigs are affected by ambient temperature and body weight. *Livest. Prod. Sci.* 63: 245-253.
- Renaudeau, D., A. Collin, S. Yahav, V. de Basilio, J. L. Gourdine, and R. J. Collier. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal.* 6: 707-728.
- Rinaldo, D. and J. Le Dividich. 1991. Assessment of optimal temperature for performance and chemical body composition of growing pigs. *Livest. Prod. Sci.* 29: 61-75.
- SAS. 2015. SAS/STAT® 14.1. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Spencer, J. D., A. M. Gaines, E. P. Berg, and G. L. Allee. 2005. Diet modifications to improve finishing pig growth performance and pork quality attributes during periods of heat stress. *J. Anim. Sci.* 83: 243-254.
- Verstegen, M. W. A., W. H. Close, I. B. Start, and L. E. Mount. 1973. The effects of environmental temperature and plane of nutrition on heat loss, energy retention and deposition of protein and fat in groups of growing pigs. *Br. J. Nutr.* 30: 21-35.
- Wu, X., Z. Y. Li, A. F. Jia, H. G. Su, C. H. Hu, M. H. Zhang, and J. H. Feng. 2016. Effects of high ambient temperature on lipid metabolism in finishing pigs. *J. Integrative Agri.* 15: 391-396.

Effects of high ambient temperature on the growth, nutrient apparent digestibility and physiological characteristics of growing pigs ⁽¹⁾

Herng-Fu Lee ⁽²⁾ Tsui-Chin Yang ⁽²⁾ and Yi-Hui Hsieh ⁽²⁾⁽³⁾

Received: Mar. 28, 2024; Accepted: Jun. 20, 2024

Abstract

The purpose of this study was to investigate the environmental temperature on growth, apparent digestibility of nutrients, and physiological characteristics of growing pigs, as a reference for feeding management on the negative effect of production and physiological state of pigs caused by heat stress. Eighteen heads of LYD hybrid pigs averaged at 57.2 kg comprising half male and half female, were individually raised in the metabolic cages and randomly assigned to three chamber rooms, i.e. the LT (22°C), MT (26°C), and HT (30°C) groups for metabolism experiment. The pigs were fed with CP 15.2% and ME 3,300 kcal/kg, and *ad libitum* water. After seven days of adaptation period followed by seven days of total collection period was carried out, the respiratory rate and rectal temperature were measured on the 3rd, 4th and 5th day of collection period. The blood was collected after weighing the bodies, before and after the experiment. The results showed that growth performance of pigs in the HT group was significantly lower than that in the LT and MT group. However, environmental temperature did not affect the apparent digestibility of nutrients. The respiratory rate and rectal temperature of pigs in the HT group were significantly higher than that in the LT and MT group. Blood parameters showed that the HT treated pigs showed lower alkaline phosphatase, higher creatinine, and lower mean cell volume (MCV) compared to the LT and MT treated pigs. In summary, high environmental temperature lowered the growth performance of growing pigs, which was related to the feed intake. High environmental temperature also negatively affected the physiological responses by increasing the respiratory rate and rectal temperature mainly, which could be an indicator for detecting the heat stress of pigs.

Key words: Growing pigs, Growth performance, High environmental temperature, Physiological response.

(1) Contribution No. 2797 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, Hsinhua, Tainan, 71246, Taiwan, R. O. C.

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

商用完全混合日糧對臺灣水鹿產茸性能之影響⁽¹⁾

劉雅醇⁽²⁾ 陳偉群⁽³⁾ 姚君雯⁽³⁾ 蔡明翰⁽³⁾
林信宏⁽²⁾ 許晉賓⁽⁴⁾ 吳錫勳⁽³⁾⁽⁵⁾

收件日期：112 年 11 月 17 日；接受日期：113 年 7 月 2 日

摘 要

本試驗旨在探討傳統精粗分飼與完全混合日糧對臺灣水鹿產茸性能之影響。試驗選用臺灣水鹿公鹿 30 頭，依據個體前次產茸重量及年齡進行分組，分為精粗料分飼之對照組及商用完全混合日糧之 TMR 組，於產茸期進行餵飼試驗，試驗平均長茸期為 75 天。試驗結果顯示，不同飼糧處理對產茸期臺灣水鹿之乾物質採食量、產茸量、體重及體況評分，均無顯著差異。然在鹿茸組成成分分析上，對照組鹿茸灰分含量分別為 43.36 ± 0.17 顯著高於 TMR 組之 38.92 ± 1.49 ($P < 0.05$)。在血清生化值方面，對照組及 TMR 組之血清中三酸甘油酯分別為 25.94 ± 1.82 及 33.53 ± 2.19 mg/dL；總膽固醇分別為 76.76 ± 6.38 及 116.47 ± 9.93 mg/dL，對照組均顯著低於 TMR 組 ($P < 0.05$)，而血清尿素氮濃度則是對照組 29.48 ± 1.10 mg/dL 顯著高於 TMR 組之 24.89 ± 1.22 mg/dL ($P < 0.05$)。在經濟效益評估，以鹿茸產量平均收入扣除試驗期間飼養成本計算，TMR 組較對照組每頭增加 2,867 元之收益。綜上所述，以完全混合日糧餵飼之產茸性能與傳統餵飼方式無顯著差異，但可提高經濟效益，值得推廣應用。

關鍵詞：臺灣水鹿、完全混合日糧、產茸性能。

緒 言

完全混合日糧 (total mixed ration, TMR) 技術已廣泛應用於乳牛、肉牛及羊等反芻動物，卻鮮少應用於養鹿產業。鹿產業通常是以苜蓿草塊、精料、新鮮或乾燥長草來餵飼，然使用這種傳統餵飼方式，除需耗費大量勞力進行餵飼外，亦可能因個別原料適口性問題，導致鹿隻挑食現象，造成營養失調，進而影響產茸量。養鹿產業面臨從業人口老化與農業缺工問題，日常割草與飼養工作成為最大勞力負擔。近年雖開始有完全混合日糧應用於養鹿場，但也僅限於飼養規模較大的少數養鹿場，依照 111 年畜牧類農情統計調查結果 (含產值) 之畜禽統計調查結果，國內養鹿場共 506 場，在養頭數 15,721 頭，平均飼養頭數約 31 頭，以每日每頭平均餵給 5 公斤完全混合日糧計算，多數鹿場無法達到有效的自配完全混合日糧之規模，如欲勉強為之，其投資設備成本、折舊之攤提與物料損耗勢必大幅提高其飼養成本。

養鹿產業屬高經濟價值產業，其主要收益來自公鹿每年所生產的優質鹿茸。圈飼為國內臺灣水鹿主要之飼養型式，在完全圈飼條件下，飼養者提供之日糧即為鹿隻唯一營養來源，然常因飼糧調配失當與營養不足，降低瘤胃微生物之消化及代謝效率，影響瘤胃正常功能，導致產茸性能無法充分發揮，甚至影響健康 (劉, 2015)。Pi *et al.* (2005) 指出精粗料分飼雖廣泛應用於反芻動物養殖，但卻不適合高生產性能如肉和乳生產之反芻動物。國內長期以來農民都以方便獲取的芻料及外購的精料餵飼鹿隻，迄今臺灣公水鹿尚無精確的長茸期營養需要量可供參考 (黃等, 2017)。鹿隻個體之攝食情況、營養吸收及身體狀況直接反映在鹿茸之重量及品質上 (Muir *et al.*, 1987)。

Nikkhah (2015) 建議當精料中含有來自大麥、小麥、熟玉米片及高粱穀物等含高濃度可發酵澱粉時，應使用完全混合日糧，而非以芻料和精料分開餵飼法來飼養牛隻，如此可避免牛隻因採食過多精料，而導致瘤胃酸中毒。當應用完全混合日糧於乳牛餵飼上，可以顯著增加乾物質採食量 (Nocek *et al.*, 1986; Bargo *et al.*, 2002)，且刺激牧草採草量，並可減少勞動力 (Schingoethe, 2017)。因此，本試驗旨在探討利用完全混合日糧與傳統餵飼方法對臺灣水鹿生長及產茸性能之影響。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2798 號。
(2) 農業部畜產試驗所南區分所。
(3) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。
(4) 農業部畜產試驗所動物營養組。
(5) 通訊作者，E-mail: hhwu@mail.npust.edu.tw。

材料與方法

I. 試驗設計、動物及時間

- (i) 試驗設計分成 2 組，即對照組為餵飼精料、苜蓿草塊及盤固乾草與 TMR 組餵飼商用完全混合日糧，各組飼糧含能量 NE 1.5 Mcal/kg 與蛋白質 CP 17%，試驗料飼糧成分，如表 1 所示。

表 1. 以乾物質為基礎之試驗料化學分析

Table 1. Chemical composition of experimental diet on dry matter basis

Items	Concentrate ¹	Alfalfa cube ²	Pangola grass hay ³	Commercial TMR ⁴
Dry matter, %	87.36	90.01	83.69	46.68
Crude protein, %	26.46	17.47	5.05	17.14
Ether extract, %	2.80	1.15	1.52	4.31
Neutral detergent fiber, %	9.54	43.94	73.63	36.16
Acid detergent fiber, %	4.40	31.83	38.06	19.65
Ash, %	8.41	13.82	5.59	7.68

¹ Concentrate was bought from Clustern Enterprise CO., LTD.

² Alfalfa cube was bought from Hsiang Tsan CO., LTD.

³ Pangola grass hay from Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung.

⁴ Commercial total mixed ration was bought from Uni-President Enterprises.

- (ii) 試驗動物選用畜產試驗所南區分所飼養之臺灣水鹿公鹿 30 頭，依據個體年齡、前次鹿茸重量、初始體重及初始體型評分進行逢機分組，如表 2 所示，每組 15 頭。鹿隻飼養於個別欄位，每日餵飼 2 次，試驗期間提供充足飲水與飼糧任食，並給予鹽磚。

表 2. 對照組與 TMR 組之臺灣水鹿年齡、前年度鹿茸重量、初始體重及體況評分 (平均值 ± 標準誤差)

Table 2. The Formosan sambar deer average of age, last antler velvet weight, initial body weight and initial body condition score (BCS) of control and TMR group (Mean ± SE)

Items	Control (n = 15)	TMR (n = 15)
Age, years	9.19 ± 0.57	8.60 ± 0.62
Last velvet antler weight, kg	1.78 ± 0.16	1.77 ± 0.14
Initial body weight, kg	133.88 ± 1.82	137.43 ± 3.81
Initial BCS	3.24 ± 0.07	3.22 ± 0.08

Control = concentrate and forage are fed separately; TMR = Total Mixed Ration.

- (iii) 試驗時間產茸期一般係指鹿隻解角當日 (試驗開始) 至採割鹿茸當日 (試驗結束)。本次試驗為 1 月至 5 月，一般產茸期為 60 – 90 日，平均約 75 日，依個體解角及割茸時間不同，試驗開始及結束日期亦不同。
- (iv) 試驗動物之使用、飼養及實驗內容，皆依據畜產試驗所南區分所實驗動物照護及使用小組審查同意書 (同意書編號：高實 109-5 及高實 110-4) 及試驗準則進行。

II. 測定項目及方法

- (i) 試驗飼糧採樣：各組鹿隻試驗飼糧於配製後，即進行分點採樣每組試驗飼糧採集 1 公斤飼糧樣品，於通風烘箱 (DK 600DT, Yihder, Taiwan) 以 55°C 烘乾至恆重，經桌上型高速粉碎機 RT 34 粉碎至可通過 2 mm 篩網，混合均勻後密封於封口夾鏈袋內，冷凍保存於 -20°C 冷凍冰櫃中，供日後分析用。
- (ii) 試驗飼糧成分分析：飼糧依 AOAC (1990) 分析方法測定其乾物質 (dry matter, DM) 以通風烘箱測定、粗灰分以高溫灰化爐 (A 550, Vulcan, USA) 測定、粗蛋白質以凱氏氮蒸餾裝置 (K 350, BUCHI, Switzerland)、粗脂肪含量以脂肪快速測定裝置 (Tecator Soxtec HT 1043, Denmark) 測定，並依 ANKOM A2000 方法使用纖維分析儀 (A2000, ANKOM, USA) 測定其中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 與酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 含量。

- (iii) 乾物質採食量 (dry matter intake, DMI)、體重 (body weight, BW) 及體況評分 (body condition score, BCS) 測定：試驗開始前至少 2 週試驗料適應期，飼養至割茸當日即結束試驗。試驗期間記錄個體採食量，以個體當日餵飼總重扣除隔日早上剩料重為記錄個體採食量。試驗開始前及採割鹿茸日，依據 Deer Industry New Zealand(2018) 提供之 5 分制體型評分法分制體型評分法，進行評分，並以磅秤量測體重。
- (iv) 產茸性能測定：於試驗結束時，採割鹿茸並測量整副鹿茸重量後，冷凍保存於 -20°C 冷凍冰櫃中，供日後分析用。
- (v) 鹿茸採樣及成分分析：依據郭等 (2009) 之方法進行修正後採樣。將鹿茸以電動切片機切片，經低溫乾燥並粉碎後，以 9 分法方式進行採樣，並委外進行乾物質、粗蛋白質、粗灰分、粗脂肪、鈣及磷分析，其檢測方法參考國家標準法 CNS2770 及 AOAC (2005)。
- (vi) 血液之採樣及生化值分析：割茸當日採頸靜脈血，於室溫靜置 2 小時待血液凝固後，經離心機 (CN 3100 + RS 50, Taiwan) 以 3,000 rpm 之轉數離心 10 分鐘，抽取上層血清，冷凍保存於 -20°C 冰櫃中，供日後分析用。分析項目包含葡萄糖 (glucose, GLU)、血清尿素氮 (serum urea nitrogen, SUN)、肌酐酸 (creatinine, CREA)、天門冬胺酸轉胺酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (alanine aminotransferase, ALT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、總蛋白質 (total protein, TP)、三酸甘油酯 (triglyceride, TG)、總膽固醇 (total cholesterol, CHOL)、白蛋白 (albumin, ALB)、球蛋白 (globulin, GLO)、總鈣 (total calcium, Ca) 及磷 (phosphorus, P)。
- (vii) 經濟效益分析：依兩組平均產茸重量乘以平均鹿茸單價為鹿茸收益，以個別原料於產茸期之平均採食量乘以各原料單價為飼糧成本，將鹿茸收益減去飼糧成本計算粗收益，進行傳統餵飼及完全混合餵飼方式之經濟效益評估。

III. 統計分析

試驗所得資料以統計分析套裝軟體 (statistical analysis system, 2010)，以不同餵飼方法作為變異因子進行統計分析，並使用一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析。再以最小平方均值 (least square means, LSM) 比較各處理間差異顯著性。

結果與討論

I. 對採食量、體增重及產茸量之影響

不同餵飼方法對臺灣水鹿採食量及產茸性能之影響，如表 3 所示。試驗結果顯示，不同餵飼方式對產茸期臺灣水鹿之乾物質採食量、可消化乾物質採食量、粗蛋白質採食量、可消化粗蛋白質採食量、中洗纖維採食量、可消化中洗纖維採食量、平均日增重、平均產茸量與產茸天數均無顯著差異。但在灰分採食量，對照組卻顯著高於 TMR 組 ($P < 0.05$)。粗脂肪採食量則是 TMR 組顯著高於對照組 ($P < 0.05$)。Singh *et al.* (2000) 指出與傳統餵飼方式相比較，TMR 餵飼方式可使犢水牛有較高的乾物質採食量和營養物質的有效利用，可顯著增加犢水牛日增重。Vibart *et al.* (2008) 亦指出利用完全混合日糧餵飼泌乳牛可有效提高泌乳牛群的飼料效率，同時可大幅提高高遺傳價值泌乳牛的產乳量。Prichard *et al.* (1999) 指出鹿茸的生長與飲食的營養質量、遺傳因素及年齡有關。Williams and Coleman (1997) 發現圈養白尾鹿的鹿茸重量的遺傳力在 0.71 到 0.86 之間，這表明對鹿茸生長有很強的遺傳成分。因此，選育出具有高產茸能力的鹿隻，亦可增加鹿茸產量 (Prichard *et al.*, 1999)。McEwen *et al.* (1957) 之研究結果顯示，餵飼含粗蛋白 17% 日糧之鹿，其骨骼和鹿茸之生長發育較快。Liang *et al.* (1993) 則建議，利用含 22 – 23% 蛋白質進行餵飼鹿隻，可獲得最佳產量的鹿茸。雖然在本試驗中採食量、平均日增重、平均產茸量與產茸天數均無顯著差異，但兩組於試驗結束體重及體況相較於初始體重及體況皆有增加，顯示營養供應皆足夠，因此產茸性能無顯著差異。

II. 對鹿茸成分之影響

不同餵飼方法對臺灣水鹿鹿茸一般成分組成之影響，如表 4 所示。結果顯示，對照組鹿茸灰分含量 43.36% 較 TMR 組 38.92% 為高 ($P < 0.05$)，其餘成分兩組間均無顯著差異。於本次試驗之每日採食量結果顯示，對照組每日灰分採食量 275.11 g/d 顯著高於 TMR 組 212.20 g/d ($P < 0.05$)，推測可能是因採食量對照組採食之苜蓿塊含高量灰分所致。另外，Jeon *et al.* (2009) 研究顯示，隨著鹿茸生長期的延長，梅花鹿之鹿茸產量及灰分含量增加。此結果與本試驗結果相似，兩組鹿茸平均生長天數雖於統計上無顯著差異，但對照組卻較 TMR 組多 6 天之鹿茸生長天數，故對照組鹿茸灰分亦顯著高於 TMR 組，不過本試驗對照組之產茸量卻沒有相對增加。

表 3. 不同飼糧處理對產茸期臺灣水鹿每日乾物質、粗蛋白質及灰分乾物質採食量、茸重、採茸時體重及體況評分、產茸天數、茸重成長率、體重成長率及日增重之影響 (平均值 ± 標準誤差)

Table 3. Effect of different dietary treatments on daily dry matter intake and velvet antler production performances of Formosan sambar deer (Mean ± SE)

Items	Control	TMR
Daily dry matter intake, kg/d	2.91 ± 0.17	2.91 ± 0.12
Daily crude protein intake, g/d	520.67 ± 27.16	527.67 ± 24.00
Daily crude fat intake, g/d	57.08 ± 3.30 ^b	127.51 ± 5.48 ^a
Daily ash intake, g/d	275.11 ± 15.65 ^a	212.20 ± 9.59 ^b
Velvet antler weight, kg	1.77 ± 0.15	1.98 ± 0.22
Final body weight, kg	145.15 ± 2.46	154.08 ± 3.52
Final body condition score	3.43 ± 0.13	3.65 ± 0.10
Days of production	77.31 ± 2.53	71.71 ± 2.21
Growth rate of velvet antler weight ¹ , %	1.79 ± 4.16	14.94 ± 8.84
Growth rate of body weight ² , %	10.07 ± 1.91	12.99 ± 3.29
Daily Body weight gain, g	111.87 ± 20.89	143.48 ± 32.98

Control = concentrate and forage are fed separately; TMR = Total Mixed Ration.

¹ Growth rate of velvet antler weight, % = (current velvet antler weight – last velvet antler weight) / last velvet antler weight × 100%.

² Growth rate of body weight, % = (final body weight - initial body weight) / initial body weight × 100%.

^{a, b} Means with different superscripts between different groups are significantly different (P < 0.05).

表 4. 不同飼糧處理對臺灣水鹿鹿茸化學成分之影響 (平均值 ± 標準誤差)

Table 4 Effect of different dietary treatments on chemical composition of velvet antler for Formosan sambar deer (Mean ± SE)

Items	Control	TMR
Dry matter, %	40.96 ± 1.55	40.52 ± 1.17
Crude protein, %	47.76 ± 2.40	46.81 ± 1.22
Ash, %	43.36 ± 0.17 ^a	38.92 ± 1.49 ^b
Ether extract, %	3.54 ± 1.00	4.75 ± 1.32
Total calcium, %	15.57 ± 0.69	15.36 ± 0.42
Phosphorus, %	7.37 ± 0.29	7.22 ± 0.16

Control = concentrate and forage are fed separately; TMR = Total Mixed Ration.

^{a, b} Means with different superscripts between different groups are significantly different (P < 0.05).

III. 對血液生化值之影響

不同餵飼方法對臺灣水鹿血液生化值之影響，如表 5 所示。由表中可以看出，利用完全混合日糧餵飼臺灣水鹿之處理組，其血液中三酸甘油酯及總膽固醇含量皆顯著高於對照組 (P < 0.05)，然而，對照組之血液尿素氮則顯著高於完全混合日糧組 (P < 0.05)，其餘檢測項目則無顯著差異。Bargo *et al.* (2002) 在乳牛餵飼放牧加餵精料、放牧加餵 TMR 及全 TMR 餵飼等 3 種不同日糧之試驗中指出，放牧加餵精料組其血液中尿素氮顯著高於其他兩組 (17.2 及 13.8 mg/dL, P < 0.05)，且以每週檢測做數值來看，放牧加餵精料組之血液尿素氮濃度變化較其他兩組大，其次是放牧加餵 TMR 組，全 TMR 組則相對較穩定，推測可能是因為全 TMR 餵飼方式，其飼糧中 CP 含量較恆定所導致。Liu *et al.* (2016) 之研究亦指出餵飼肉牛全 TMR、先餵精料後餵芻料及先餵芻料後餵精料等 3 種不同日糧之試驗結果顯示，利用 TMR 餵飼之肉牛其血液尿素氮顯著低於先餵精料後餵芻料組 (2.33 及 2.77 mmol/L, P < 0.05)，但 TMR 組與先餵芻料後餵精料組之血液尿素氮 (2.33 及 2.46 mmol/L) 卻無顯著差異。此結果與現場觀察到鹿隻採食習慣相符，餵飼對照組鹿隻時，試驗精粗料皆同時放入飼料槽，鹿隻通常優先採食精料後採食芻料。

表 5. 不同飼糧處理對產茸期臺灣水鹿血液生化值之影響 (平均值 ± 標準誤差)

Table 5. Effect of different dietary treatments on blood biochemistry values for Formosan sambar deer (Mean ± SE)

Items	Control	TMR	Reference ¹
Aspartate aminotransferase (U/L)	73.18 ± 4.94	75.93 ± 5.57	39.00 ± 28.00
Alanine aminotransferase (U/L)	74.53 ± 4.67	69.00 ± 4.26	67.00 ± 29.00
Alkaline phosphatase (U/L)	452.94 ± 50.98	506.47 ± 64.77	224.00 ± 245.00
Total protein (g/dL)	7.90 ± 0.36	7.85 ± 0.27	6.60 ± 0.80
Albumin (g/dL)	4.23 ± 0.22	4.27 ± 0.23	3.60 ± 0.70
Globulin (g/dL)	3.67 ± 0.17	3.59 ± 0.21	3.00 ± 0.80
Serum urea nitrogen (mg/dL)	29.48 ± 1.10 ^a	24.89 ± 1.22 ^b	25.00 ± 8.00
Creatinine (mg/dL)	1.78 ± 0.06	1.70 ± 0.08	1.90 ± 0.70
Glucose (mg/dL)	125.65 ± 13.27	98.27 ± 7.74	163.00 ± 51.00
Triglyceride (mg/dL)	25.94 ± 1.82 ^a	33.53 ± 2.19 ^b	22.00 ± 15.00
Total cholesterol (mg/dL)	76.76 ± 6.38 ^a	116.47 ± 9.93 ^b	59.00 ± 22.00
Total calcium (mg/dL)	9.75 ± 0.47	10.05 ± 0.36	9.50 ± 1.00
Phosphorus (mg/dL)	8.41 ± 0.38	8.93 ± 0.30	7.60 ± 2.10

Control = concentrate and forage are fed separately; TMR = Total Mixed Ration.

¹ Reference from Woodbury (2002).

^{a, b} Means with different superscripts between different groups are significantly different (P < 0.05).

Lin *et al.* (2004) 研究顯示，餵飼韓國土公牛酒精發酵飼料會增加血液中三酸甘油酯及膽固醇含量。Ahmed *et al.* (2020) 則指出，於公小水牛飼料中添加過瘤胃脂肪可降低血液中葡萄糖含量，並增加血液中三酸甘油酯及膽固醇含量。Barley and Baghel (2009) 指出，於泌乳水牛飼糧中添加過瘤胃脂肪，可使水牛血清中三酸甘油酯提高，亦可同時提高其乳中的脂肪含量。本試驗中之 TMR 組飼糧為商用完全混合日糧，故無法得知配方中是否有添加過瘤胃脂肪，但可確定的是，商用飼糧中有添加青貯料。黃等 (2017) 進行餵飼產茸鹿添加過瘤胃離胺酸的研究報告顯示，餵飼自配 TMR 飼糧的鹿隻，其血液中膽固醇含量為 122 – 144 mg/dL。另外，陳 (2021) 的研究報告亦顯示，餵飼百慕達、苜蓿草塊及精料之組別，其鹿隻血液中膽固醇含量為 89.00 ± 5.31 mg/dL；餵飼盤固乾草、精料及玉米青貯之組別，其數值則為 108.71 ± 10.80 mg/dL，此與本試驗結果相符。姚等 (2022) 研究報告顯示，對照組飼料中粗脂肪含量 (3.49%) 略高於處理組 (1.99%)，因此提升對照組血中膽固醇數值，此結果亦與本試驗結果相符。由於本次試驗是針對商用完全混合日糧之餵飼方式及可行性作探討，所用之 TMR 為泌乳牛配方，此結果亦顯示未來若推廣於鹿產業則需另規劃設計鹿專用配方，此研究將於後續試驗進行探討。

Ho *et al.* (2018) 指出，血液中鹼性磷酸酶含量與成骨細胞活性有關，也是骨骼和鹿角生長的指標。本試驗鹿隻之血液中鹼性磷酸酶含量兩組間雖無顯著差異，但數值卻明顯高於參考文獻，推測是因為參考文獻中之紅鹿血液樣品是於非產茸期進行採樣，試驗鹿隻則是於產茸期採樣所致。姚等 (2022) 研究報告顯示，於產茸期餵飼鹿隻濕式及乾式完全混合日糧，兩組之鹼性磷酸酶含量雖無顯著差異，但卻高於參考值，推測為產茸期大量釋放鹼性磷酸酶以進行骨骼代謝與生長，此與本試驗結果一致。

IV. 對經濟效益評估之影響

不同餵飼方法對臺灣水鹿經濟效益評估之影響如表 6 所示。以鹿茸平均產量和每臺兩 600 元 (即每公斤 16,000 元) 估算其產值，扣除試驗期間之飼糧成本變化進行經濟效益評估，利用 TMR 餵飼組較對照組之飼料成本雖較對照組提高 493 元 / 頭，但平均產茸量卻較對照組提高約 0.21 公斤 / 頭，產茸收入則提高 3,360 元。因此，換算其飼養之經濟效益，TMR 組較對照組增加 2,867 元 / 頭之收益。此與 Tozer *et al.* (2003) 之 3 種不同餵飼方式對泌乳牛經濟效益比較結果相同，都是以餵飼完全混合日糧的組別有較高的經濟效益。本試驗所使用之 TMR 是購買以每公斤販售之商用完全混合日糧 (含運費)，故無購置其他機械及人力與時間成本之考量。依照 111 年畜牧類農情統計調查結果 (含產值) 之畜禽統計調查結果，國內養鹿場共 506 場，在養頭數 15,721 頭，平均飼養頭數約 31 頭 (行政院農業委員會，2022)，以每日每頭平均餵給 5 公斤完全混合日糧計算，多數鹿場無法達到有效的自配完全混合日糧之規模，且除產茸期前後短短三個月餵予高營養濃度飼糧外，其餘時間多僅餵與少量精料搭配狼尾草，因此投資設備與倉儲可能不符合經濟效益。

表 6. 不同飼糧處理對產茸期臺灣水鹿經濟效益之影響

Table 6. Effect of different dietary treatments on economic benefits for Formosan sambar deer

Items, per deer/NTD*	Control	TMR	Economic benefits TMR-control
Velvet antler income ¹	28,320	31,680	3,360
Feed cost ²	3,180	3,673	493
Income over feed costs ³	25,140	28,007	2,867

Control = concentrate and forage are fed separately; TMR = Total Mixed Ration.

¹ Velvet antler price: 16,000 NTD/kg.

² Pangola grass hay cost: 5.78 NTD/kg, Alfalfa cube cost: 15.50 NTD/kg, Concentrate cost: 15.00 NTD/kg, TMR cost: 8.83 NTD/kg. Only the feed cost of consumption during velvet antler production is taken.

³ Income over feed costs = Velvet antler weight × 16,000 – Feed cost.

* NTD: New Taiwan dollar.

結 論

本試驗鹿隻於產茸期於乾物質採食量、生長及產茸性能皆無顯著差異，且兩組鹿隻於試驗後體重及體況評分皆有增加，顯示兩組飼糧皆能滿足產茸期鹿隻營養需求。TMR 組之血清尿素氮數值亦顯著低於傳統餵飼組，顯示 TMR 餵飼方式相較於傳統餵飼，可使鹿隻採食之粗蛋白質在瘤胃中穩定釋放，減少蛋白質的浪費與肝臟代謝之負擔。若以鹿茸平均產量和每臺兩 600 元 (即每公斤 16,000 元) 估算其產值，扣除試驗期間之飼糧成本進行經濟效益評估，則 TMR 組較對照組每頭增加 2,867 元之收益。因此，利用完全混合日糧餵飼產茸鹿隻除了省工外尚可提高經濟效益。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2022。111 年畜牧類農情統計調查年報。https://agrstat.moa.gov.tw。
- 李春芳、蕭宗法。2007。反芻動物飼料試管乾物質消化率 (IVDMD) 方法之修改。畜產研究 40(1)：59-65。
- 姚君雯、劉雅醇、林信宏、楊鎮榮、王紓愨、陳嘉昇、吳錫勳。2022。完全混合日糧粒料應用於臺灣水鹿產茸期之研究。中國畜牧學會會誌 51：245-259。
- 陳偉群。2021。應用國產芻料於臺灣水鹿產茸之研究。碩士論文。國立屏東科技大學，屏東縣。
- 郭卿雲、王妙齡、康獻仁、王治華。2009。臺灣水鹿茸四分切段成分分析。畜產研究 42：245-253。
- 黃憲榮、林信宏、許晉賓、康獻仁、林正鏞。2017。飼糧添加過瘤胃胺基酸及不同粗蛋白質濃度對鹿茸產量及血液生化值之影響。中國畜牧學會會誌 50：257-264。
- 經濟部標準檢驗局。1986。中華民國國家標準。CNS 總號 2770 飼料檢驗法。臺北市。
- 劉國輝。2015。科學養殖常識鹿養殖新技術。元華文創股份有限公司，臺北市，pp. 9-11。
- Ahmed, S., M., M. N. M. Aamir, N. M. N. Ul-Haque, I. B. N. Ahmad, I. B. Marghazani, and M. I. Khan. 2020. Influence of rumen bypass fat fed with total mixed ration on growth performance in Nili-Ravi buffalo calves. J. Hell. Vet. Med. Soc. 71: 2437-2444.
- Bargo, F., L. D. Muller, G. A. Varga, J. E. Delahoy, and T. W. Cassidy. 2002. Ruminal digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. J. Dairy Sci. 85: 2964-2973.
- Barley, G. G. and R. P. S. Baghel. 2009. Effect of bypass fat supplementation on milk yield, fat content and serum triglyceride levels of Murrarah buffaloes. Buffalo Bull. 28: 173-175.
- Deer Industry New Zealand. 2018. Body condition score. https://deernz.org/deer-hub/feeding/feeding-deer/body-condition-score/.
- Ho, H. W., I. I. Chai., R. Abdullah, C. A. Azlan, H. Hamzah, F. F. A. Jesse, H. A. Hassim, and H. Wahid. Age and sex comparison in determining baseline blood and coagulation profiles in semi-extensive rusa deer (*Rusa Timorensis*). Malays. J. Vet. Res. 9: 53-62.
- Jeon, B., S. Kim, S. Lee, P. Park, S. Sung, J. Kim, and S. Moon. 2009. Effect of antler growth period on the chemical

- composition of velvet antler in sika deer (*Cervus nippon*). *Mamm. Biol.* 74: 374-380.
- Liang, F., Q. Wang, and T. Wen. 1993. Deer feeding for velvet production. The 4th ARRC International Symposium. pp. 115-122.
- Lin, G. Z., B. W. Kim, H. S. Kim, K. I. Sung, S. J. Ohh, B. J. Hong, and J. S. Shin. 2004. Changes in serum metabolites and growth characteristics of Korean native steers fed alcohol fermented feeds. *Asian Austral. J. Anim. Sci.* 17: 648-654.
- Liu, Y. F., F. F. Sun, F. C. Wan, H. B. Zhao, X. M. Liu, W. You, H. J. Cheng, G. F. Liu, X. W. Tan, and E. L. Song. 2016. Effects of three feeding systems on production performance, rumen fermentation and rumen digesta particle structure of beef cattle. *Asian Austral. J. Anim. Sci.* 29: 659-665.
- McEwen, L. C., C. E. French, N. D. Magruder, R. W. Swift, and R. H. Ingram. 1957. Nutrient requirements of the white-tailed deer. *Trans. N. Am. Wildl. Conf.* 22: 119-132.
- Muir, P. D., A. R. Skyes, and G. K. Barrell. 1987. Growth and mineralization of antlers in red deer (*Cervus elaphus*). *New Zeal. J. Agr. Res.* 30: 305-315.
- Nikkhah, A. 2015. A pragmatic analysis of total mixed ration vs. component nutrition in dairy cows: a real wisdom. *World J. Vet. Sci.* 3: 1-2.
- Nocek, J. E., R. L. Steele, and D. G. Braund. 1986. Performance of dairy cows fed forage and grains separately versus a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 69: 2140-2147.
- Pi, Z. K., Y. M. Wu, and J. X. Liu. 2005. Effect of pretreatment and pelletization on nutritive value of rice straw-based total mixed ration, and growth performance and meat quality of growing Boer goats fed on TMR. *Small Rumin. Res.* 56: 81-88.
- Prichard, A. K., G. L. Finstad, and D. H. Shain. 1999. Factors affecting velvet antler weights in free-ranging reindeer in Alaska. *Rangifer* 19: 71-76.
- SAS. 2010. SAS/STAT® 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Schingoethe, D. J. 2017. A 100-year review: total mixed ration feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100: 10143-10150.
- Singh, R., B. Singh, M. Wadhwa, and M. P. S. Bakshi. 2000. Effect of roughages to concentrate ratio in pelleted diet on the productive performance of buffalo calves. *Buffalo J.* 16: 131-137.
- Tozer, P. R., F. Bargo, and L. D. Muller. 2003. Economic analyses of feeding systems combining pasture and total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 86: 808-818.
- Vibart, R. E., V. Fellner, J. C. Burns, G. B. Hunington, and J. T. Green. 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J. Dairy Res.* 75: 471-480.
- Williams, A. G. and G. S. Coleman. 1997. The Rumen Microbial Ecosystem (The Rumen Protozoa). pp 73-139.
- Woodbury, M. 2002. Normal Hematology and Serum Chemistry Values for Red Deer (*Cervus elaphus*). Available: http://www.usask.ca/wcvm/herdmed/specialstock/deer/reddeer_values.html.

Effects of commercial total mixed ration on the velvet antler production performance of Formosan sambar deer ⁽¹⁾

Ya-Chun Liu ⁽²⁾ Wei-Qun Chen ⁽³⁾ Chun-Wen Yao ⁽³⁾ Ming-Han Tsai ⁽³⁾
Hsin-Hung Lin ⁽²⁾ Chin-Bin Hsu ⁽⁴⁾ and Hsi-Hsun Wu ⁽³⁾⁽⁵⁾

Received: Nov. 17, 2023; Accepted: Jul. 2, 2024

Abstract

The study aimed to analyze the effect of conventional separate ingredient feeding system and total mixed ratio (TMR) on the velvet antler production performance of Formosan Sambar deer. The study selected thirty male Formosan Sambar deer to randomly assigned to groups based on the weight of their previous velvet antler production performance and age, namely the comparison of separate ingredients feeding system and the commercial TMR. The deer underwent experiment during the velvet antler production period, with an average velvet antler production period of 75 days. The results showed that the average dry matter intake, velvet antlers production, BW and body condition score were not significantly different between the control and TMR groups. The ash content of velvet antlers from deer fed with the control diet was significantly higher than that of the deer fed with TMR ($43.36 \pm 0.17\%$ vs. $38.92 \pm 1.49\%$) ($P < 0.05$). The blood biochemistry values of triglyceride (25.94 ± 1.82 vs. 33.53 ± 2.19 mg/dL) and total cholesterol (76.76 ± 6.38 vs. 116.47 ± 9.93 mg/dL) were significantly higher for the deer in the TMR group than those of deer in the control group ($P < 0.05$). In contrast, deer in the control group had higher serum urea nitrogen (SUN) than the TMR group (29.48 ± 1.10 vs. 24.89 ± 1.22 mg/dL) ($P < 0.05$). With regards to the evaluation of economic benefits, the proceeds of the TMR group was NT\$2,867 /deer higher than that of the control group, based on the average income from velvet antler production deducing the feeding cost during the experiment period. In sum, there was no significant difference in the velvet antler production between the total mixed ratio and conventional feeding system. However, TMR feeding can improve the economic benefit and is worth promoting for applications.

Key words: Formosan sambar deer, Total mixed ration, Velvet antler production performance.

(1) Contribution No. 2798 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

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

(4) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: hhwu@mail.npust.edu.tw.

農業部畜產試驗所「畜產研究」稿約

(民國 94 年 3 月修訂)

(民國 108 年 12 月修訂)

(民國 111 年 11 月修訂)

(民國 112 年 8 月修訂)

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

season forage grasses. *Crop Sci.* 25: 215-220.

(2) 書本類

朱純燕。2001。水禽類小病毒蛋白基因之分子選殖及抗原性分析。國立中山大學生物科學系，博士論文，高雄市。

李登元。1979。乳牛學。臺灣商務印書館，臺北市，第 300 - 322 頁。

American Oil Chemists Society (AOCS). 1980. Official and Tentative Methods of the American Oil chemists Society. 3rd ed. Am. Oil Chem. Soc., Champaign, IL, USA.

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.

Tai C. 1985. Duck breeding and artificial insemination in Taiwan. *Duck Production Science and World Practice*, pp. 193-203. University of New England, Armidale, Australia.

Wang, Y. C. 1985. Regrowth ability of Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) in the dry, cold season in Taiwan. *Proceedings of the XV International Grassland Congress*, pp. 1239-1241. Kyoto, Japan.

(3) 其他類

農業部。2023。農業統計年報。 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。

農業部。2023。農業部農業資料統計查詢。 <http://agrstat.moa.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. 稿件經本刊委員會轉請專家審查，編輯委員會根據專家審查意見通知投稿人，是否接受刊載，或須修改後始可刊載。本刊無提供稿費。
 - VII. 稿件經本刊接受後，該稿件之全部或部份，不得投稿其他刊物，以不同語文投稿其他刊物亦所不許。本刊具專屬版權，刊登權屬發行單位畜產試驗所所有，非經本所書面同意，不得轉載或轉移他處發表。如有上述情事，相關法律責任由作者自負，本刊有拒絕接受其投稿之權利。
 - VIII. 自民國 93 年開始實施之計畫，其論文如涉及使用脊椎動物進行科學應用計畫者，請撰稿者檢附該計畫經所屬機構動物實驗管理小組審議認可之文件。

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 58 No. 1

March 2025

CONTENTS

	Page
1. Study on fertility and hatchability of high egg-production inbreeding lines of Taiwan native chicken Taisui No. 1 <i>Der-Yuh Lin, Yung-Yu Lai, Min-Yang Tsai, Che-Ming Hung, Chai-Te Chu, and Shwu-Jen Tzeng</i>	1
2. Early detection of multifetal pregnancies in Alpine goats using pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentrations in milk <i>Yueh-Tung Chen, Ming-Kuew Yang, Jia-Sian Shiu, Yi-Hsin Yeh, Yi-Hsuan Chen, and Po-An Tu</i>	15
3. Application of flow cytometry to evaluate semen quality traits of auctioned boars <i>Lin-Liang Peng, Hsiu-Lien Lin, Yung-Yu Lai, Der-Yuh Lin, Jenn-Rong Yang, Shun-Kuei Hsu, Kuei-Juh Liu, and Ting-Yung Kou</i>	22
4. Effects of extenders on thawed semen characteristics of Formosan sika deer after freezing <i>Hsin-Hung Lin, Ting-Yung Kuo, Ya-Chun Liu, Shen-Chang Chang, and Jenn-Rong Yang</i>	32
5. The investigation of physiological, blood biochemical and hematological parameters of HLAPS Cockfighting Cocks during the cool and hot seasons <i>Yen-Ling Lee, Shen-Shyan Yang, Pei-Jun Huang, Liang-Yuan Wei, and Chin-Wei Chang</i>	39
6. Changes in Nutritional Composition in whole plants and stover of forage corn after silage period <i>Chia-Sheng Chen, Jian-Fu Liu, and Shu-Min Wang</i>	49
7. Effects of high ambient temperature on the growth, nutrient apparent digestibility and physiological characteristics of growing pigs <i>Herng-Fu Lee, Tsui-Chin Yang, and Yi-Hui Hsieh</i>	58
8. Effects of commercial total mixed ration on the velvet antler production performance of Formosan sambar deer <i>Ya-Chun Liu, Wei-Qun Chen, Chun-Wen Yao, Ming-Han Tsai, Hsin-Hung Lin, Chin-Bin Hsu, and Hsi-Hsun Wu</i>	69

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

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN:2005200015

定價：新臺幣二〇〇元