

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十八卷 第二期

中華民國一一四年 六月

季 刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 58 No. 2 June 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 王紓愍 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
辛坤鑑 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 梁篠梅 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 陳怡蓁 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 林正鏞 林秀蓮 涂榮珍 洪哲明 張世融 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	C. Y. LIN	H. L. LIN	J. C. TU	C. M. HUNG
S. R. CHANG	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 6 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

D O I : 10.6991/JTLR

畜產研究

第 58 卷第 2 期

中華民國 114 年 6 月

目 錄

頁

1.	從乳成分和感官品評角度探討臺灣消費者對國產鮮乳與日本牛乳的偏好陳怡璇、葉亦馨、蕭振文、陳一明、楊明桂、陳玥彤、涂柏安	77
2.	季新鴨之育成魏良原、陳志毅、張怡穎、邱如均、劉秀洲、張經緯	89
3.	不同粒徑與草種混合之粒狀飼料對山羊適口性的影響王紓愍、陳嘉昇	98
4.	乳牛糞和虻糞的菌相調查梁世祥、李佳馨、王思涵	106
5.	臺灣水鹿茸與紐西蘭紅鹿茸一般成分、胺基酸及蛋白質組成之差異郭卿雲、葉瑞涵、陳明汝	114
6.	蘭嶼豬族群疾病監測及豬瘟疫苗免疫效力之研究黃昱翎、王漢昇、陳益隆、李士昕、章嘉潔	128
7.	盤固草地以不耕犁方式間植苜蓿之技術探討陳嘉昇、王紓愍、游翠凰、劉信宏	135
8.	飼糧離胺酸與可代謝能含量對蘭嶼豬生長性能與血液生化值之影響王漢昇、陳彥璋、黃昱翎、陳益隆、李士昕、吳明峰、章嘉潔	145

從乳成分和感官品評角度探討臺灣消費者對國產鮮乳 與日本牛乳的偏好⁽¹⁾

陳怡璇⁽²⁾ 葉亦馨⁽²⁾ 蕭振文⁽²⁾ 陳一明⁽³⁾ 楊明桂⁽²⁾ 陳玥彤⁽²⁾ 涂柏安⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：113 年 5 月 2 日；接受日期：113 年 7 月 18 日

摘要

多數臺灣消費者對日本牛乳的印象是濃醇馥郁，喝完唇齒留香。然而，許多學者指出，鮮乳的感官風味受多種因素影響，而臺灣與日本在酪農業飼養管理方面相似，因此日本牛乳是否真的比臺灣更受本土消費者喜愛，仍待進一步確認。消費者評估是針對未接受訓練的人進行飲品的感官品評，他們代表了產品真正的消費者基礎。因此，本試驗擬對一般消費者進行鮮乳盲測品評，比較臺灣鮮乳與日本牛乳的接受度、喜好度和感官風味等，以了解國人對國產鮮乳和日本牛乳的真實喜好程度。本次試驗共計評估 22 種產品，其中 11 種為臺灣國產鮮乳，另外 11 種為日本牛乳，共挑選 21 位本地一般消費者進行單向盲測鮮乳感官品評試驗，評估項目包括外觀、香氣、嚐味 (taste) 和整體餘後感 (overall acceptability)。資料後續進行不同產地乳成分差異比較，並分析乳成分與感官品評項目及產地之間的關係。結果顯示，鮮乳成分與產地的關係可以明顯區分臺灣鮮乳和日本牛乳。日本牛乳顯著具有較高乳脂的獨特風味 ($P < 0.05$)，但消費者對其整體接受度並不高，反而有較高的異味感。綜上，臺灣國產鮮乳的乳脂、乳蛋白和乳糖等乳成分含量低於日本牛乳，這可能使得臺灣鮮乳口感較清爽、不甜膩，且整體順口性與接受度優於大多數的日本牛乳。本研究透過兩國不同產品風味的綜合比較，分析臺灣消費者對來自不同產地鮮乳與牛乳喜好的理解，幫助生乳產業深入了解各自產品的獨特性。未來可運用這些知識，從而做出相對應的選擇和調整，並可供農政單位對臺灣國產鮮乳制定有效的市場推廣策略作為參考。

關鍵詞：鮮乳、乳成分、感官品評、消費者偏好、嚐味、整體餘後感。

緒言

消費者偏好具有良好品質與感官風味的食品，包括鮮乳和乳製品。儘管鮮乳和乳製品的感官風味與品質受到許多因素的影響 (Martin *et al.*, 2005a)，而鮮乳作為飲品會受其風味影響接受度和喜好度 (Thomas, 1981)。鮮乳的風味取決於乳牛飼養管理因素，如品種、飼糧、生乳品質與加工技術等；在飼養管理因素中，飼糧被認為是生產牛乳和乳製品特定風味主要且敏感的因素 (Martin *et al.*, 2005a)。

全球各地酪農產業有各自不同的飼養管理系統，主要可區分為放牧與圈養管理系統，(Zervas and Tsipakou, 2011)，而其中集約程度、飼糧類型 (如青貯、精料、副產品)、草料保存方法 (乾草、青飼或青貯)、牧草種類以及配方比例都各有不同 (Wolf *et al.*, 2013)。其中，飼糧類型會改變鮮乳和乳製品的理化和感官特性 (Yayota *et al.*, 2013)。

整體而言，日本酪農業的飼養區域、集約度與飼糧組成與我國酪農業相似，且主要皆以圈養方式飼養荷蘭乳牛 (Holstein-Friesian cattle) 為主。近年來，日本乳業協會調查表示 (2021)，日本乳牛養殖規模不斷擴大，朝向集約化模式。自 1975 年以來，乳牛在養數也大幅增加，1985 年達到 211 萬頭。平成時代以來，因日本國內生乳供需失衡而調整產量，自 1997 年以來一直呈下降趨勢，經由生產地的努力及協調，產量有所回升。根據日本 2023 年畜牧業統計 (農林水產省統計司, 2023)，全國計約有 12,600 場乳牛戶，共飼養約 135.6 萬隻乳牛，共生產約 357,590 萬公升生乳，其中飼糧主要以草料青貯、玉米青貯與副產品為主 (Yayota *et al.*, 2013)。依我國畜禽統計調查 (農業部，

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2799 號。

(2) 農業部畜產試驗所北區分所。

(3) 桃園市新屋區公所。

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

2022) 結果顯示，2022 年底，我國計有 562 場乳牛戶，共飼養約 12.6 萬隻乳牛，其中約含 6.4 萬隻泌乳牛，共生產約 46,309 萬公升生乳，可見我國酪農生產效率與日本相比不遑多讓。

多數國人消費者對於日本牛乳的印象為濃醇馥郁，喝完唇齒留香。不過如同許多學者指出，鮮乳的感官風味受多項因素影響 (Martin *et al.*, 2005a)，且本土與日本乳業飼養管理相近，日本牛乳對本土消費者是否真的有較佳的感官風味需再確認。消費者評估 (consumer evaluation) 是針對未接受過訓練的人群進行食品或飲品的感官品評，這些人代表了產品真正的消費基礎 (Schiano *et al.*, 2017)。早期有關鮮乳的品評研究試圖從接受過訓練的評審員推斷消費者的接受度；然而，有文獻記錄其無法準確預測消費者群體偏好的不足 (Ellis, 1969)。透過設計並調整品評量表，可了解個別感官特徵或產品品質對整體喜好的影響 (Schiano *et al.*, 2017)。綜上，本試驗擬對本土消費者進行鮮乳盲測品評，比較我國鮮乳與日本牛乳的接受度、喜好度與感官風味等，以了解消費者對於國產鮮乳與日本牛乳的真實接受度。

材料與方法

I. 鮮乳試驗材料

本次共計品評 22 種產品，其中 11 種為國產鮮乳，自苗栗縣各區之全聯福利中心、全家超商、家樂福超市採購，分別為鮮乳坊 A2β 酪蛋白鮮乳、初鹿 100% 純鮮乳、味全全脂鮮乳、義美全脂鮮乳、高大鮮乳、林鳳營高品質鮮乳、乳香世家高品質純鮮乳、養樂多特選全脂鮮乳、光泉鮮乳成分無調整、瑞穗全脂鮮乳、吉蒸牧場阿秀鮮乳。另外的 11 種日本牛乳是經由日本空運來臺，產地包含兵庫縣 (Hyogo)、北海道 (Hokkaido)、大阪市 (Osaka)、岐阜縣 (Gifu)、岡山市 (Okayama)、札幌市 (Sapporo) 與東京都 (Tokyo)，各產品名稱為北海道サロベツ 豊富町厳選 4.0 牛乳、銘乳飛驒の郷、酪農牛乳、北海道富良野牛乳、淡路島牛乳、泉南酪農牛乳、あじわい牛乳、明治おいしい牛乳、北海道 3.7 函館直送牛乳、酪農牛乳大地の響與おいしい雪印メグミルク牛乳。各鮮乳之產區、加工方式、包裝方式與負責廠商詳列如表 1 。

II. 感官品評試驗

本試驗挑選本國籍一般消費者進行單向盲測鮮乳感官品評，為確認品評員的一致性，並提高後續描述性感官品評結果的可信度，參加盲測品評測試的資格包括；參與者必須為乳製品之消費者，具有閱讀與辨別能力，且平日會飲用鮮乳，飲用鮮乳後無不適反應。經過資格與基本能力篩選後，挑選 21 位合適品評鮮乳之品評員進行感官品評問卷分析，其中女性有 13 位，男性有 8 位，平均年齡為 42 歲，範圍介於 26 至 62 歲之間。

本試驗鮮乳與牛乳樣品皆儲存於低溫環境 (4 – 7°C)，每個品評樣品提供 20 – 30 mL/ 杯，每個樣品進行感官品評前才從低溫環境取出。全程品評期間品評員皆不清楚品評哪種品牌樣品，每個樣品以三位數字隨機編碼表示，避免品評員對樣品產生期望。每人每次提供 8 – 12 個樣品，共計 242 個樣品，其中隨機且平均提供臺灣鮮乳與日本牛乳，另提供礦泉水給品評員在品評前用來清潔口腔餘味。品評員之間相隔至少 2 公尺，以減少品評員之間干擾，使品評員能專心品評並填寫感官品評問卷。每個品牌皆取 3 批次產品以確保結果的代表性與可靠性。

III. 感官品評問卷設計

本研究的問卷設計依據相關文獻及研究假設，目的在於了解國產鮮乳與日本牛乳感官風味是否具差異性。參考日本鮮味資訊中心 (Umami Information Center, 2004) 指出一個食品接受性的感官評量，除了味覺風味、嗅覺氣味及口腔的質地感、視覺愉悅感外，還應包括接受性，指個人在生理、心理及環境等因素下對食品的整體知覺的測量。故本次描述性品評的項目訂為四大部分，分別為外觀、香氣、嚙味 (taste) 和整體餘後感 (overall acceptability)，各細項評分採五分制，各細項評分說明如下。

- (i) 外觀：由眼睛來評斷，指視覺上對樣品的外表及整體色澤、光澤、透明度、濃稠度、混濁度的感覺，細項包括：光澤度 (glossiness)、濃稠度 (thickness)、雜質感 (impurity sensation)。
- (ii) 香氣：由鼻子嗅覺單獨感覺的氣味 (odor)，指樣品入口前，在鼻腔內的氣味感受，細項包括：奶香味 (milky scent)、塑膠味 (plastic smell)、奶腥味 (milky sounness)。
- (iii) 嚙味：由舌頭味覺感覺的基本味道 (taste)，指樣品入口後，在口腔內的味覺、味道與風味，細項包括：甜味 (sweetness)、奶味 (milky flavor)、異味 (off flavor)。
- (iv) 整體餘後感：針對整體的感覺，指品評員個人心理上直覺對該樣品的整體感受，細項包括：甜膩感 (cloyingness)、順口性 (palatability)、整體接受度 (overall acceptability)。

表 1. 本試驗使用之鮮乳與牛乳感官品評樣品資料

Table 1. Samples of fresh milk and milk in blind sensory evaluation in this study

Brand name of fresh milk	Processing method	Packaging method	Place of origin	Responsible manufacturer
鮮乳坊 A2β 酪蛋白鮮乳	138 ± 2°C 1.5 – 2.0 s*	paper carton	Taiwan	慕渴股份有限公司
初鹿 100% 純鮮乳	72 – 85°C 10 – 15 s	paper carton	Taiwan	超能生化科技（股）臺東分公司初鹿牧場
味全全脂鮮乳	130 ± 2°C 2 – 5 s	paper carton	Taiwan	味全食品工業股份有限公司
義美全脂鮮乳	72 – 85°C 10 – 15 s	plastic	Taiwan	義美食品股份有限公司
高大鮮乳	135 – 150°C 2 – 3 s	paper carton	Taiwan	高大牧場鮮乳工廠
林鳳營高品質鮮乳	130 ± 2°C 2 – 5 s	paper carton	Taiwan	味全食品工業股份有限公司
乳香世家高品質純鮮乳	125 – 135°C 2 – 5 s	paper carton	Taiwan	光泉牧場股份有限公司
養樂多特選全脂鮮乳	131 ± 1°C 50 s	paper carton	Taiwan	養樂多股份有限公司
光泉鮮乳 – 成分無調整	125 – 135°C 2 – 5 s	plastic	Taiwan	光泉牧場股份有限公司
瑞穗全脂鮮乳	130 ± 3°C 3 – 5 s	paper carton	Taiwan	統一企業股份有限公司
吉蒸牧場阿秀鮮乳	130 ± 3°C 3 – 5 s	paper carton	Taiwan	吉蒸牧場有限公司
北海道サロベツ豊富町厳選 4.0 牛乳	130°C 2 s	paper carton	Hokkaido, Japan	株式会社豊富鮮乳公社
銘乳飛驒の郷	120°C 2 s	glass	Gifu, Japan	飛驒酪農農業協同組合
酪農牛乳	130°C 2 s	paper carton	Okayama, Japan	梶原乳業株式会社
北海道富良野牛乳	130°C 2 s	paper carton	Hokkaido, Japan	東海鮮乳株式会社
淡路島牛乳	130°C 2 s	paper carton	Hyogo, Japan	淡路島鮮乳株式会社
泉南酪農牛乳	130°C 2 s	paper carton	Osaka, Japan	泉南乳業株式会社堺工場
あじわい牛乳	130°C 2 s	paper carton	Osaka, Japan	株式会社いかるが鮮乳
明治おいしい牛乳	130°C 2 s	paper carton	Tokyo, Japan	株式会社明治
北海道 3.7 函館直送牛乳	130°C 2 s	paper carton	Hokkaido, Japan	北海道乳業株式会社
酪農牛乳 大地の響	130°C 2 s	paper carton	Osaka, Japan	株式会社いかるが鮮乳
おいしい雪印メグミルク牛乳	130°C 2 s	paper carton	Sapporo, Japan	雪印メグミルク（株）

*: second

在描述性品評的項目中，每一細項評分均採用五點量表設計，作答方式由品評員依每個品評項目之感受勾選答案，以五點量表評分，分數越高（如 4 至 5 分）表示該細項描述的程度越高，共計 21 份問卷調查。

IV. 乳成分與脂肪酸檢測

乳成分與脂肪酸檢測應用農業部畜產試驗所北區分所之自動乳成分與體細胞測定儀 (MilkoScan TM FT+, Denmark) 測定樣品，乳樣於上機分析前首先於 40°C 之水浴槽進行預熱並混勻後，以傅立葉轉換紅外光譜 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 原理，測量乳樣中分析項目包含脂肪 (fat, %)、蛋白質 (protein, %)、乳糖 (lactose, %)、無脂固形物 (solid-non-fat, %) 尿素氮 (urea nitrogen, mg/dL)、檸檬酸 (citric acid, %)、 β - 羥基丁酸 (β - hydroxybutyrate, mmol/L) 及體細胞數 (somatic cell count, $10^3/mL$)；脂肪酸的部分則包含游離脂肪酸 (free fatty acid, mmol/100 g of fatty acids)、總飽和脂肪酸 (total saturated fatty acid, g/100 g of fatty acids)、總不飽和脂肪酸 (total unsaturated fatty acid, g/100 g of fatty acids)、單元不飽和脂肪酸 (mono-unsaturated fatty acid, g/100 g of fatty acids)、多元不飽和脂肪酸 (poly-unsaturated fatty acid, g/100 g of fatty acids)、新合成型脂肪酸 (de-novo fatty acids; C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, and C14:1, g/100 g of fatty acids)、混合型脂肪酸 (mixed fatty acids; C16:0 and C16:1, g/100 g of fatty acids)、預合成型脂肪酸 (preformed fatty acids; C15:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0, C20:2, C20:4, C22:0, and C24:0, g/100 g of fatty acids)、反式脂肪酸 (trans fatty acids, g/100 g of fatty acids)、短鏈脂肪酸 (short-chain fatty acids; C4, C6, C8, and C10, g/100 g of fatty acids)、中鏈脂肪酸 (medium-chain fatty acids; C12, C14, and C16, g/100 g of fatty acids)、長鏈脂肪酸 (long-chain fatty acids; > C18, g/100 g of fatty acids)、肉豆蔻酸 (C14:0, g/100 g of fatty acids)、棕櫚酸 (C16:0, g/100 g of fatty acids)、硬脂酸 (C18:0, g/100 g of fatty acids) 及油酸 (C18:1, g/100 g of fatty acids)。檢驗儀器皆以原廠及 ISO (International organization for standardization) 國際標準化組織規範進行定期校正。

V. 統計分析

臺灣國產鮮乳與日本各地生產牛乳之乳成分的差異分析，使用 ANOVA 進行變方分析，再以最小平方平均值法 (least squares means, LSMEANS) 進行 Tukey 多重比較，以 $P < 0.05$ 表示具有顯著差異。分析完成後將各項風味屬性的平均得分描繪在雷達圖上，以顯示臺灣鮮乳與日本牛乳在各風味屬性上的強弱及差異。為了瞭解不同產地對乳中成分的影響，並進一步了解乳成分如何影響鮮乳與牛乳的感官特性，「鮮乳成分與感官品評項目的關係」及「鮮乳成分與其產地來源的關係」以主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 評估。在鮮乳成分與感官品評項目的關係的 PCA 中，包含了 32 個變量，包括 12 個感官變量和 20 個鮮乳成分變量。而在「鮮乳成分與其產地來源的關係」的 PCA 中，包含 22 個變量，包括 20 個鮮乳成分變量和 2 個產地來源變量。PCA 所用之變量均進行標準化處理，以確保均值為 0 且標準差為 1，從而計算變量間的相關係數。統計分析採用 JMP 軟體 (SAS Institute Inc., Cary, NC) 執行。

結 果

I. 臺灣國產鮮乳與日本各地生產牛乳之乳成分分析

表 2 呈現臺灣國產鮮乳與日本各地生產牛乳之乳成分差異，每項乳成分與乳脂肪酸各組間皆達顯著差異 ($P < 0.05$)。臺灣鮮乳的體細胞數、總不飽和脂肪酸、單不飽和脂肪酸與多不飽和脂肪酸為最高值；乳脂、蛋白質、乳糖、無脂固形物、乳尿素氮、檸檬酸、 β - 羥基丁酸與總飽和脂肪酸為最低值。

II. 消費者感官品評試驗

圖 1 以 PCA 描述鮮乳成分與感官品評項目的關係。第一主成分 (F1) 解釋了數據變異的 30.99%，第二主成分 (F2) 解釋了數據變異的 15.7%。F1 主要由預合成型脂肪酸、單元不飽和脂肪酸、多元不飽和脂肪酸、長鏈脂肪酸、體細胞數等變量組成，這些變量在 F1 上有較高的正權重 (load)；而脂肪、新合成型脂肪酸、短鏈脂肪酸、蛋白質和其他常見乳成分在 F1 上有較高的負權重。嚙味特徵如奶味與整體接受度、順口性、甜膩感也在 F1 上有較高的正權重，表示這些嚙味特徵與脂肪酸含量和體細胞數量有關。F2 主要由中鏈脂肪酸、混合型脂肪酸、總飽和脂肪酸、游離脂肪酸等變量組成，這些變量在 F2 上有較高的正權重；脂肪、新合成型脂肪酸、短鏈脂肪酸、蛋白質和其他常見乳成分在 F2 上有較高的負權重。關於甜味、奶香味、濃稠度也在 F2 上有正權重，顯示這些特徵與中鏈和長鏈飽和脂肪酸含量相關。

表 2. 臺灣國產鮮乳與日本各地生產之牛乳之乳成分差異

Table 2. Differences in milk components between domestically produced fresh milk in Taiwan and milk produced in various locations in Japan

Item	Taiwan	Hyogo	Hokkaido	Osaka	Gifu	Okayama	Sapporo	Tokyo	Pooled MSE
Fat, %	3.86 ^f	4.01 ^{cde}	4.07 ^{bc}	4.11 ^b	4.26 ^a	3.93 ^{ef}	4.03 ^{cd}	3.96 ^{de}	0.03
Protein, %	3.27 ^d	3.41 ^c	3.40 ^c	3.44 ^c	3.49 ^b	3.57 ^a	3.40 ^c	3.43 ^c	0.01
Lactose, %	4.76 ^d	4.90 ^a	4.80 ^{cd}	4.81 ^c	4.82 ^{bc}	4.84 ^{abc}	4.79 ^{cd}	4.87 ^{ab}	0.02
Solid-non-fat, %	8.74 ^e	9.01 ^b	8.90 ^d	8.95 ^{cd}	9.02 ^b	9.11 ^a	8.90 ^d	9.00 ^{bc}	0.08
Milk urea nitrogen, mg/dL	11.61 ^e	11.41 ^e	12.36 ^{cd}	12.91 ^{bc}	13.03 ^b	15.55 ^a	12.20 ^d	12.25 ^{cd}	0.29
Citric acid, %	0.15 ^d	0.15 ^{ab}	0.15 ^a	0.15 ^{bc}	0.15 ^{ab}	0.15 ^{cd}	0.15 ^{bcd}	0.15 ^{abc}	0.001
Somatic Cell Count, 10 ³ /mL	89.00 ^a	76.00 ^{ab}	53.00 ^c	56.00 ^c	51.33 ^c	43.00 ^c	62.00 ^{bc}	76.00 ^{ab}	7.29
BHB, mmol/L	0.03 ^b	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.03 ^{ab}	0.03 ^b	0.04 ^a	0.04 ^a	0.003
Free FA, mmol/100 g fat	1.23 ^{ab}	1.30 ^a	1.32 ^a	1.33 ^a	1.18 ^{ab}	0.92 ^c	1.35 ^a	1.10 ^b	0.07
FA composition (g/100 g of fatty acids)									
Total saturated FA	0.65 ^c	0.67 ^c	0.66 ^d	0.68 ^b	0.70 ^a	0.65 ^e	0.66 ^d	0.65 ^e	0.004
Total unsaturated FA	0.24 ^a	0.22 ^{de}	0.23 ^{cd}	0.22 ^{ef}	0.22 ^f	0.24 ^{ab}	0.23 ^{bcd}	0.24 ^{abc}	0.003
Mono unsaturated FA	0.21 ^a	0.20 ^{de}	0.21 ^{bc}	0.20 ^{ef}	0.19 ^f	0.21 ^{ab}	0.20 ^{cd}	0.21 ^{ab}	0.002
Poly unsaturated FA	0.03 ^a	0.02 ^{bc}	0.02 ^{bc}	0.02 ^{bc}	0.02 ^c	0.03 ^a	0.03 ^a	0.02 ^{ab}	0.001
SCFA	0.10 ^{cd}	0.09 ^e	0.10 ^{bc}	0.10 ^b	0.10 ^a	0.09 ^{de}	0.10 ^b	0.10 ^{bc}	0.001
MCFA	0.49 ^c	0.51 ^{ab}	0.51 ^a	0.52 ^a	0.47 ^d	0.50 ^{bc}	0.48 ^{cd}	0.48 ^{cd}	0.006
LCFA	0.31 ^b	0.28 ^d	0.32 ^a	0.29 ^c	0.28 ^d	0.31 ^b	0.29 ^c	0.30 ^b	0.004
C14:0	0.09 ^c	0.09 ^c	0.09 ^d	0.09 ^{ab}	0.09 ^a	0.08 ^e	0.09 ^b	0.08 ^c	0.001
C16:0	0.33 ^{cd}	0.34 ^{ab}	0.33 ^{bed}	0.34 ^a	0.34 ^a	0.32 ^{de}	0.34 ^{abc}	0.32 ^c	0.004
C18:0	0.09 ^b	0.09 ^c	0.10 ^a	0.08 ^d	0.08 ^d	0.09 ^b	0.09 ^c	0.09 ^b	0.001
C18:1	0.19 ^b	0.18 ^c	0.19 ^b	0.18 ^d	0.17 ^e	0.20 ^a	0.18 ^d	0.19 ^b	0.002

BHB, β-hydroxybutyrate. FA, fatty acid. SCFA, short chain fatty acid. MCFA, medium chain fatty acid. LCFA, long chain fatty acid.

^{a-f} Least squares means with different superscripts within a row are significantly different ($P < 0.05$).

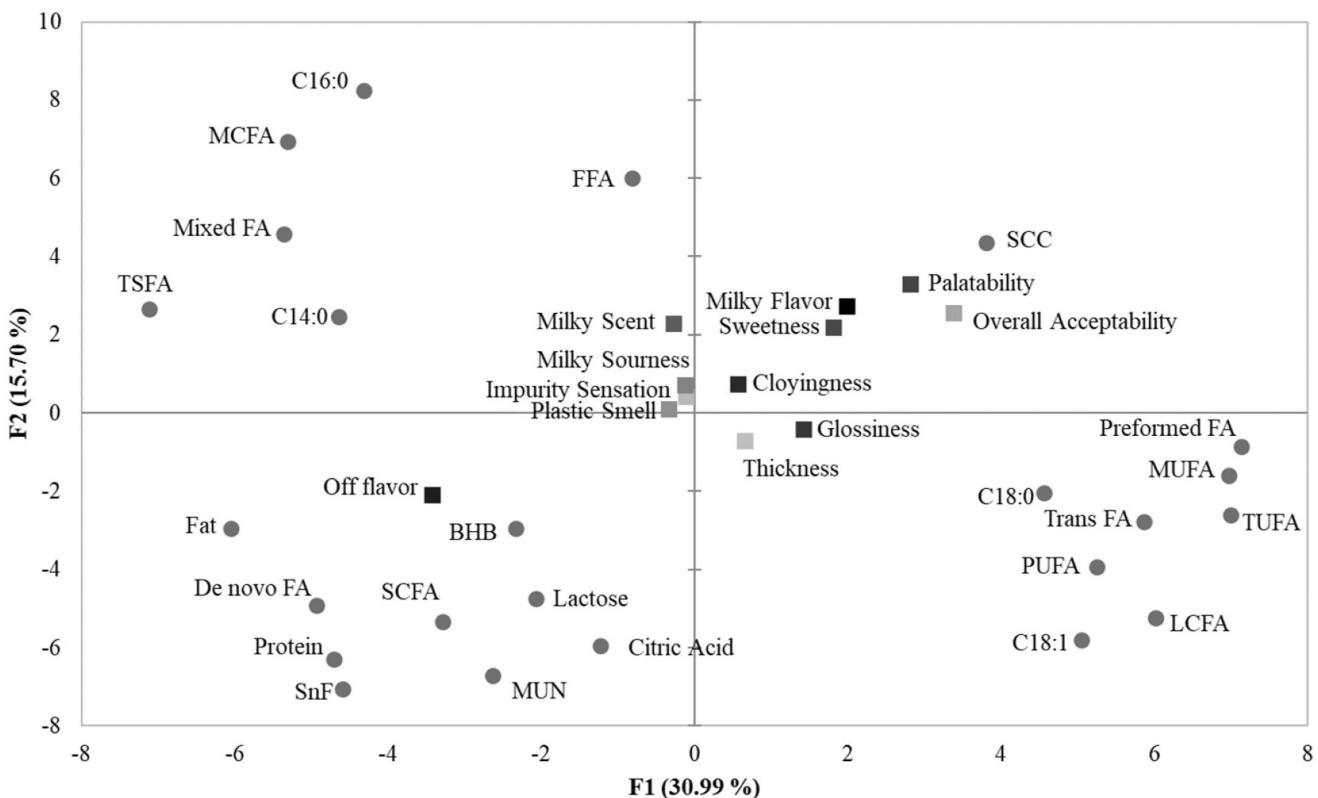


圖 1. 以主成分分析 (PCA) 描述國產鮮乳與日本牛乳成分與感官品評項目的關係。第一主成分 (F1) 解釋了數據變異的 30.99%，第二主成分 (F2) 解釋了數據變異的 15.70%。第一象限：位於圖的右上角，這些點的 F1 和 F2 均為正值；第二象限：位於圖的左上角，這些點的 F1 為負值，而 F2 為正值；第三象限：位於圖的左下角，這些點的 F1 和 F2 均為負值；第四象限：位於圖的右下角，這些點的 F1 為正值，而 F2 為負值。脂肪 (Fat)、蛋白質 (Protein)、乳糖 (Lactose)、無脂固形物 (SnF)、尿素氮 (MUN)、檸檬酸 (Citric Acid)、 β -羥基丁酸 (BHB) 及體細胞數 (SCC)、游離脂肪酸 (FFA)、總飽和脂肪酸 (TSFA)、總飽和脂肪酸 (TUFA)、單元不飽和脂肪酸 (MUFA)、多元不飽和脂肪酸 (PUFA)、新合成型脂肪酸 (De novo FA)、混合型脂肪酸 (Mixed FA)、預合成型脂肪酸 (Preformed FA)、反式脂肪酸 (Trans FA)、短鏈脂肪酸 (SCFA)、中鏈脂肪酸 (MCFA)、長鏈脂肪酸 (LCFA)；以及 C14:0、C16:0、C18:0、C18:1 等脂肪酸。

Fig. 1. The principal component analysis (PCA) describing the relationships among milk compositions and milk flavors. The first principal component (F1 axis) explains 30.99% of the data variability, while the second principal component (F2 axis) accounts for 15.70% of the variability. First Quadrant: Located in the upper-right corner of the plot, where both F1 and F2 are positive values. Second Quadrant: Located in the upper-left corner of the plot, where F1 is negative and F2 is positive. Third Quadrant: Located in the lower-left corner of the plot, where both F1 and F2 are negative values. Fourth Quadrant: Located in the lower-right corner of the plot, where F1 is positive and F2 is negative. Solids-non-fat (SnF); milk urea nitrogen (MUN); somatic cell count (SCC); β -hydroxybutyrate (BHB); free fatty acids (FFA); total saturated fatty acids (TSFA); total unsaturated fatty acids (TUFA); monounsaturated fatty acids (MUFA); polyunsaturated fatty acids (PUFA); De novo fatty acids (De novo FA, C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, and C14:1), Mixed fatty acids (Mixed FA, C16:0 and C16:1), Preformed fatty acids (Preformed FA, C15:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0, C20:2, C20:4, C22:0, and C24:0); trans fatty acids (Trans FA); short-chain fatty acids (SCFA); medium-chain fatty acids (MCFA); long-chain fatty acids (LCFA); and C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 fatty acid.

圖 2 以 PCA 描述鮮乳成分與臺灣或日本產地來源的關係。第一主成分 (F1) 解釋了數據變異的 43.97%，第二主成分 (F2) 解釋了數據變異的 21.91%。F1 主要由預合成型脂肪酸、單元不飽和脂肪酸、多元不飽和脂肪酸、長鏈脂肪酸和體細胞數等變量組成，這些變量在 F1 上有較高的正權重；脂肪、新合成型脂肪酸、短鏈脂肪酸、蛋白質和其他乳成分在 F1 上有較高的負權重。F2 主要由中鏈脂肪酸、混合型脂肪酸、總飽和脂肪酸及其他中鏈和長鏈飽和脂肪酸組成，這些成分在 F2 上有較高的正權重；脂肪、新合成型脂肪酸、短鏈脂肪酸、蛋白質和其他乳成分在 F2 上有較高的負權重。結果顯示，臺灣鮮乳樣本在圖中靠近體細胞數和預合成型脂肪酸等變量，顯示這些成分在臺灣鮮乳樣本中較高；而日本牛乳樣本則靠近脂肪、新合成型脂肪酸和短鏈脂肪酸等變量，顯示這些成分在日本牛乳樣本中較高。

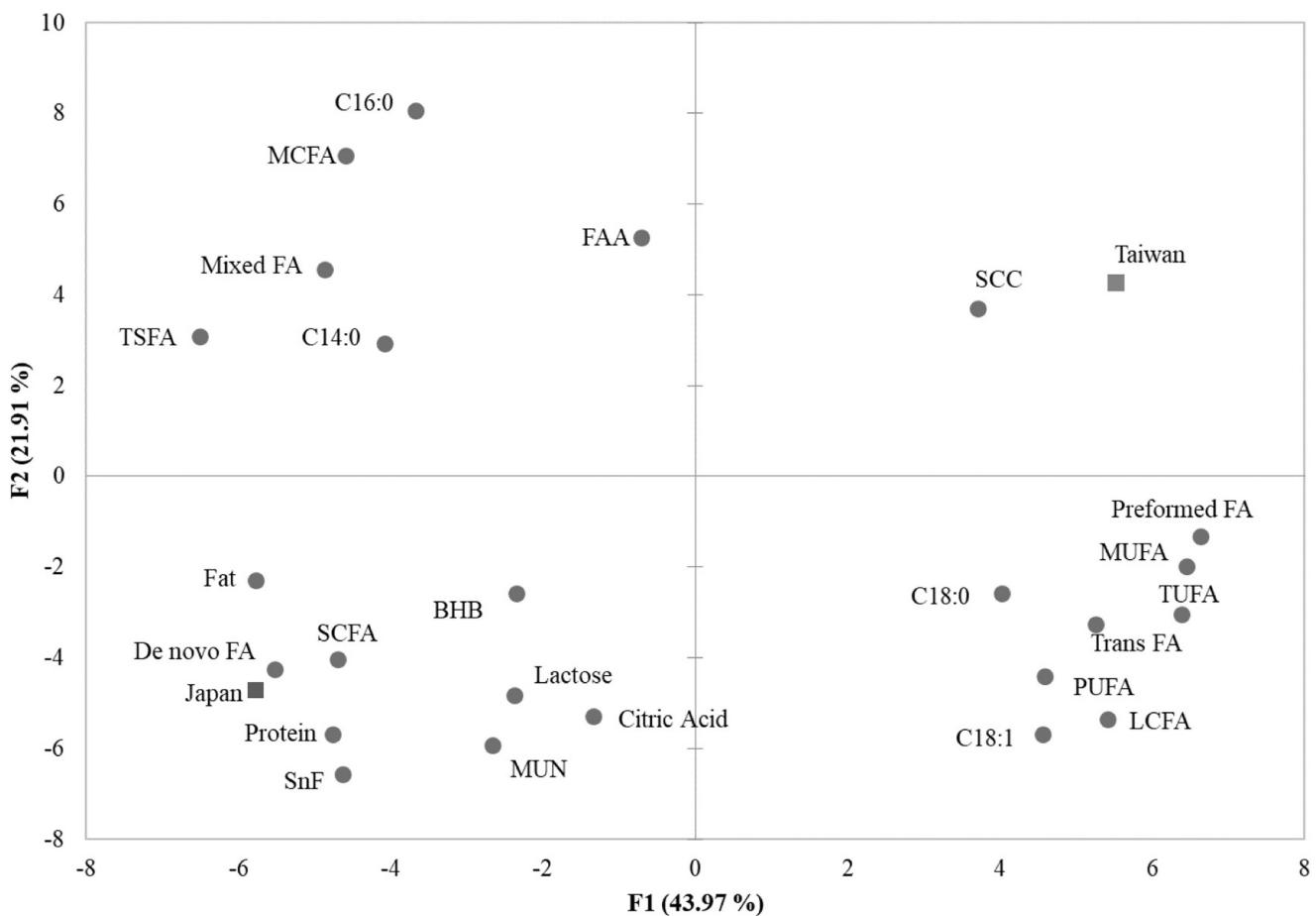


圖 2. 以主成分分析 (PCA) 描述國產鮮乳與日本牛乳成分與其產地來源的關係。第一主成分 (F1) 解釋了數據變異的 43.97%，第二主成分 (F2) 解釋了數據變異的 21.91%。第一象限：位於圖的右上角，這些點的 F1 和 F2 均為正值；第二象限：位於圖的左上角，這些點的 F1 為負值，而 F2 為正值；第三象限：位於圖的左下角，這些點的 F1 和 F2 均為負值；第四象限：位於圖的右下角，這些點的 F1 為正值，而 F2 為負值。脂肪 (Fat)、蛋白質 (Protein)、乳糖 (Lactose)、無脂固形物 (SnF)、尿素氮 (MUN)、檸檬酸 (Citric Acid)、 β -羥基丁酸 (BHB) 及體細胞數 (SCC)、游離脂肪酸 (FFA)、總飽和脂肪酸 (TSFA)、總不飽和脂肪酸 (TUFA)、單元不飽和脂肪酸 (MUFA)、多元不飽和脂肪酸 (PUFA)、新合成型脂肪酸 (De novo FA)、混合型脂肪酸 (Mixed FA)、預合成型脂肪酸 (Preformed FA)、反式脂肪酸 (Trans FA)、短鏈脂肪酸 (SCFA)、中鏈脂肪酸 (MCFA)、長鏈脂肪酸 (LCFA)；以及 C14:0、C16:0、C18:0、C18:1 等脂肪酸。

Fig. 2. Principal Component Analysis (PCA) describing relationship of milk composition and geographical origin of Taiwan and Japan. The first principal component (F1 axis) accounts for 43.97% of the variability in the data, while the variability of the second principal component (F2 axis) accounts for 21.91% of the variability in the data. First Quadrant: Located in the upper-right corner of the plot, where both F1 and F2 are positive values. Second Quadrant: Located in the upper-left corner of the plot, where F1 is negative and F2 is positive. Third Quadrant: Located in the lower-left corner of the plot, where both F1 and F2 are negative values. Fourth Quadrant: Located in the lower-right corner of the plot, where F1 is positive and F2 is negative. Solids-non-fat (SnF); milk urea nitrogen (MUN); somatic cell count (SCC); β -hydroxybutyrate (BHB); free fatty acids (FFA); total saturated fatty acids (TSFA); total unsaturated fatty acids (TUFA); monounsaturated fatty acids (MUFA); polyunsaturated fatty acids (PUFA); *De novo* fatty acids (*De novo* FA, C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, and C14:1), Mixed fatty acids (Mixed FA, C16:0 and C16:1), Preformed fatty acids (Preformed FA, C15:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0, C20:2, C20:4, C22:0, and C24:0); trans fatty acids (Trans FA); short-chain fatty acids (SCFA); medium-chain fatty acids (MCFA); long-chain fatty acids (LCFA); and C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 fatty acid.

圖 3 為臺灣鮮乳與日本牛乳的品評與感官評價對比圖，臺灣鮮乳在外觀光澤度、餘後感整體接受度、順口性、嚙味的奶味、甜味的評價高於日本牛乳；日本牛乳在嚙味異味的評價高於臺灣鮮乳。圖 4 為臺灣與日本各產區鮮乳與牛乳之品評與感官評價對比圖，在餘後感整體接受度、順口性、嚙味的奶味、甜味評價中，以日本岐阜縣生產的牛乳評價最高，臺灣鮮乳次之；嚙味異味評價中，以日本東京都生產的牛乳評價最差，日本岡山市生產的牛乳次之。

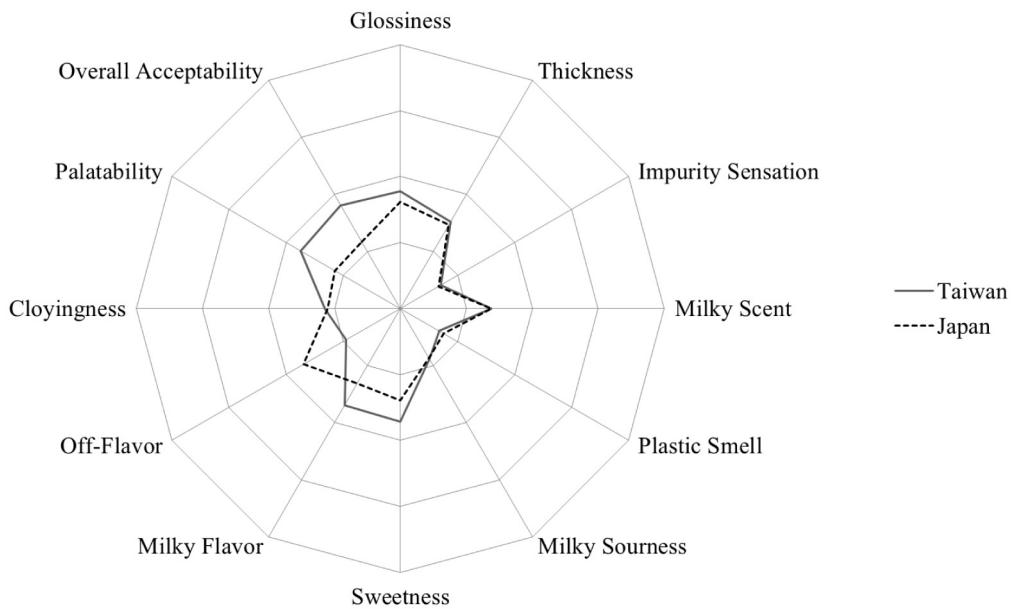


圖 3. 臺灣鮮乳與日本牛乳的品評與感官評價對比圖。

Fig. 3. Sensory evaluation comparison between Taiwanese fresh milk and Japanese milk.

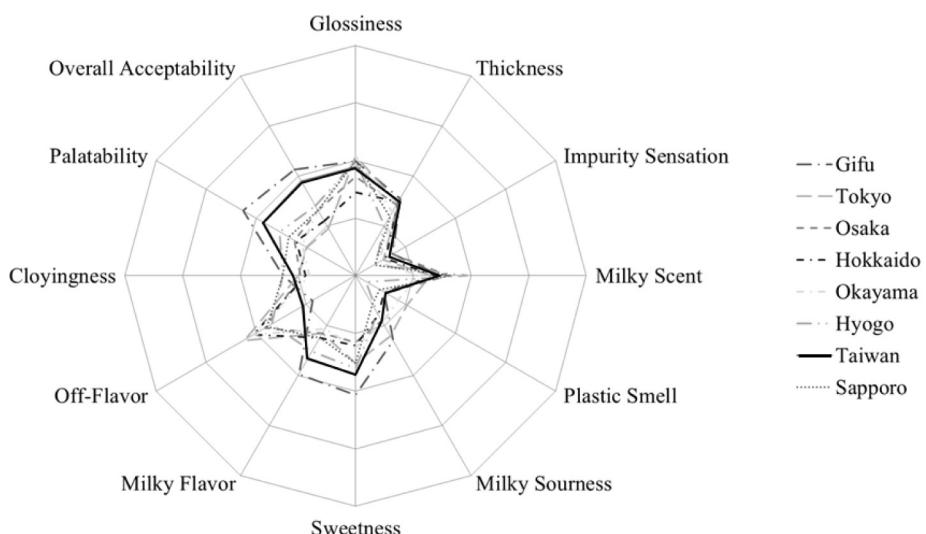


圖 4. 臺灣與日本各產區鮮乳與牛乳的品評與感官評價對比圖。

Fig. 4. Radar chart of sensory quality of milk from Taiwan and various regions of Japan.

討 論

典型的鮮乳風味是許多化合物相互平衡的結果，其中一些化合物濃度非常低 (Nursten, 1997)。新鮮牛乳的整體良好風味是具有平淡但獨特的風味 (Badings, 2017)，這種風味被描述為略帶鹹甜味和細緻芳香 (Bendall, 2001)。脂肪與氣味物質之間的相互作用，已被廣泛認為影響氣味物質在鼻腔中的釋放，與消費者對香氣的感知 (Frank *et al.*, 2011; Fox, 2013)，脂肪對於香氣釋放的影響可能比蛋白質更大 (Fisk *et al.*, 2012)。在嚐味方面，鮮乳中脂肪的乳化以及其他成分對消費者的口感和餘味有顯著影響 (Badings and Neeter, 1980; Francis *et al.*, 2005)，主要包括以下方面：(1) 口感部分，特別是脂肪和蛋白質對於感官口感的黏度及質地至關重要。(2) 味道成分，例如，由乳糖、鹽 (氯化鈉) 引起的略微甜味與鹹味。(3) 氣味部分，由許多揮發性有機化合物的複雜反應後引起的感受 (Fox, 2013)。本試驗的 PCA 分析顯示整體餘後感，即甜膩感、順口性與整體接受性，皆落在第一象限 (圖 1)，表示短中長鏈脂肪酸與各乳成分對整體餘後感有不同比例的貢獻，整體餘後感是一種綜合的感官結果，並非由單一或特殊成分直接決定。對於消費者而言，口腔感受的甜味與奶味也有類似的結果，這兩種風味可能是由乳脂肪與各乳成分相互作用而

引起的感知。

鮮乳略帶微甜的感受主要由乳糖引起 (Fox, 2013)，臺灣鮮乳中的乳糖低於日本牛乳，但多數消費者感官品評後，認為臺灣鮮乳甜味較高，這可能是由於風味是一種複雜的感覺，其中氣味有著重要的作用 (Nursten, 1997)；學者也表示，鮮乳鹹甜味主要歸因於鮮乳中的鹽和乳糖，但實際上，芳香的感受對風味的貢獻更為重要 (Marsili, 2011)。

鮮乳的顏色從不透明的白色到稍微黃白色，甚至帶有藍色調的白色都有所不同 (Chudy *et al.*, 2020)，主要歸因於乳中成分，如脂肪球、蛋白質膠體物質、胡蘿蔔素和核黃素的光反射特性 (Solah *et al.*, 2007)。另有學者也指出，在某種程度上，乳成分部分元素也影響色澤與亮度等外觀屬性，也是鮮乳感官品評的主要決定因素 (Cadwallader, 2010)。從圖 1 可以發現，外觀光澤度、濃稠感與長鏈脂肪酸落在第四象限，顯示長鏈脂肪酸與鮮乳外觀有較高的關聯性。

在生乳加工和加熱生產鮮乳過程中，酯化的脂肪酸會產生風味生成化合物，例如游離脂肪酸、內酯和酮 (Urbach, 1990)。目前尚未提供證據表明酮類是鮮乳風味的重要貢獻者 (Wolf *et al.*, 2013)。部分低溫菌是冷藏鮮乳的主要微生物群，它們會產生耐熱脂肪酶 (Fox, 2013)，由乳脂肪酸酶從乳脂肪中釋放的短鏈游離脂肪酸可能導致乳脂肪酸敗味 (González-Córdoba and Vallejo-Córdoba, 2001)。酸敗味、不潔味、肥皂味、紙板味、氧化味和金屬味是低溫細菌脂肪酶透過脂肪分解產生的典型缺陷 (Champagne *et al.*, 1994)。新鮮牛乳應該幾乎不發生脂肪水解，因此，游離脂肪酸的濃度應低於酸敗異味的檢測閾值 (Wolf *et al.*, 2013)。紐西蘭也建議牛乳風味游離脂肪酸總量限值為 1.5 mmol/100 g fat (Evers and Palfreyman, 2001)，超過此標準表示風味不佳。本試驗的鮮乳樣品的游離脂肪酸濃度都低於建議閾值，游離脂肪酸分佈在 PCA 圖的第二象限 (圖 1)，則是顯示與中鏈脂肪酸較具關聯性，從中也會影響鮮乳氣味中的奶香味、奶腥味和塑膠味。另外根據圖 1 的 PCA 結果，滋味中的異味與乳脂、短鏈脂肪酸、 β -羥基丁酸皆落於第三象限，表示彼此間有較大關聯性。綜合上述文獻，本試驗鮮乳未有酸敗味的情況下，短中鏈脂肪酸可能導致消費者有異味風味與不同氣味的綜合感受。

乳中體細胞數主要受乳牛飼養管理的影響，例如：泌乳階段、季節、乳房健康等 (Albenzio and Santillo, 2011)，它是生乳衛生與牛隻健康的良好指標 (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007)。生乳高體細胞數 (約 849,000 cells/ml) 經過巴氏殺菌和冷藏儲存約 14 – 21 天的鮮乳，明顯出現感官缺陷，包括酸敗味、苦味與澀味，且會縮短鮮乳上市貨架期限 (Ma *et al.*, 2000)。本試驗不論臺灣鮮乳或日本牛乳，乳中體細胞數皆低於文獻所提之體細胞數濃度，故沒有因高體細胞數造成的感官缺陷情形。臺灣的乳中體細胞數顯著高於日本牛乳，推測可能臺灣飼養環境高溫多溼，使牛隻較易發生高體細胞數。

大多數人對日本牛乳特有的口感概念「醇厚」(body, コク)是一個複雜的特性，常被用來描述乳製品的獨特風味，且口感層次豐富。根據 Kobayashi 等人 (2010) 表示，日本學者也正在進行相關研究，以確定與乳製品口感有關的物質，但這個詞在日本有著各種不同的概念與關聯，因此要對其進行明確的解釋是困難的。針對口感評估中進行相似性研究，得出 12 項與醇厚相關的表達方式，分別為厚度 (thickness)、體積 (volume)、奶油感 (creaminess)、高乳脂感 (high milk-fat sensation)、油脂感 (fattiness)、凝聚性 (cohesiveness)、稠密性 (densemess)、厚實 (kotteri)、黏稠 (nettori)、美味 (deliciousness)、豐富 (rich deep taste) 與餘味 (aftertaste)。隨後，使用主成分因子分析法 (factor analysis) 分析這 12 種表達方式，最終得出質地、乳脂豐富度和餘味有著密切的關係 (Kobayashi, 2009)。本篇試驗表示，日本牛乳的乳脂與多數脂肪酸比例顯著高於臺灣鮮乳，在圖 2 主成分分析 (PCA) 描述鮮乳成分與產地來源的關係中明顯辨別臺灣鮮乳與日本牛乳，日本牛乳落在與短鏈脂肪酸同一象限，而消費者感官品評後認為日本牛乳有較高的異味感、較差的餘後感，即順口性與整體接受度 (圖 4)。綜合顯示，日本牛乳與臺灣鮮乳比較，確實有著醇厚且乳脂豐富的獨特風味，但消費者並沒有較高的接受度。特別值得注意的是，位於日本中部的岐阜縣生產的牛乳，在整體接受度、順口性、奶香與甜味是優於臺灣鮮乳，配合圖 1 發現整體接受度、順口性、奶味與甜味落於第一象限，推測滋味中的奶味與甜味影響消費者對鮮乳的喜好。

早期研究主要關注消費者對鮮乳的營養特性，對感官特性或喜好程度的關聯較少 (Martin *et al.*, 2005b)。然而，學者指出，感知對食品和飲料最終的感官評估具有重要影響 (Norton *et al.*, 2013)，這或許也能解釋為何部分消費者似乎較喜愛日本牛乳。不同國家對鮮乳和乳製品的接受度和偏好不同 (Yayota *et al.*, 2013)。此外，感官風味無法直接透過儀器方法精準預估，因為它是食物與消費者之間互動的結果 (Wolf *et al.*, 2013)。本研究的消費者盲測感官品評結果顯示，臺灣國產鮮乳的乳脂、乳蛋白與乳糖等乳成分含量較日本牛乳低，可能使得臺灣鮮乳口感較為清爽、不甜膩，且整體順口性與接受度優於大多數的日本牛乳。

臺灣鮮乳以其清新、不甜膩的口感在世界鮮乳風味中獨樹一格，相較於日本牛乳，臺灣產品雖然在乳脂、乳蛋

白和乳糖較低，但卻提供了一種更加清爽的飲用體驗。我們認為國產鮮乳與進口牛乳的風味差異可作為強化市場競爭力的核心行銷策略。建議首先可透過數位廣告和社交媒體平臺強調這種獨特的口感，突出其適合現代消費者追求健康生活的需求。其次，廣泛舉辦鮮乳品評會，在各大食品展讓國內外消費者親身體驗臺灣鮮乳與其他產品之間的風味差異，增強產品的感官印象，積極拓展高階出口市場。最後，利用包裝設計和推廣活動中積極展現臺灣鮮乳的地域特色和自然純淨，進一步提升消費者對品牌的認同感和好感度，從而促進國內外銷量的增長。

結論

本研究旨在比較臺灣鮮乳與日本牛乳在國內消費者感官品評上的差異。結果顯示，雖然日本牛乳具有較高乳脂含量，但整體接受度並不高，可能與其較高的異味感有關。相比之下，臺灣國產鮮乳乳脂、乳蛋白和乳糖含量較低，使得其口感清爽、不甜膩，整體表現優於大多數日本牛乳。因此，消費者對於鮮乳的接受性可能受到乳成分含量和感官風味的綜合影響。本研究結果有助於了解消費者對不同產地鮮乳的喜好，兩國鮮乳與牛乳風味的多維度比較也有助於消費者和產業界更好地理解各自產品的特點，從而做出更合適的選擇和調整。並可作為未來改善產品口感和推廣策略的參考依據。

致謝

本研究承農業部之研究經費【113 農科 -13.1.2- 畜 -01】支持，北區分所農機庫陳偉珍、吳宛育與鮮乳檢驗室羅瑩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

- 社團法人日本乳業協會。2021。日本乳牛養殖現狀。<https://www.nyukyou.jp/support/farming/index01.html#link02>。
- 農林水產省統計司。2023。畜產統計。<https://www.maff.go.jp/j/tokei/sihyo/data/06.html#3>。
- 農業部。2022。畜禽統計調查。<https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- Albenzio, M. and A. Santillo. 2011. Biochemical characteristics of ewe and goat milk: effect on the quality of dairy products. *Small Rumin. Res.* 101: 33-40.
- Badings, H. T. 2017. Volatile compounds in foods and beverages. 1st ed., pp. 88-103. Routledge, New York, USA.
- Badings, H. T. and R. Neeter. 1980. Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. *Neth. Milk Dairy J.* 34: 9-30.
- Bendall, J. 2001. Aroma compounds of fresh milk from New Zealand cows fed different diets. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4825-4832.
- Cadwallader, K. 2010. Instrumental measurement of milk flavour and colour. In *Improving the safety and quality of milk*. pp. 181-206. Elsevier Inc. Amsterdam, NL.
- Champagne, C., R. Laing, D. Roy, and A. Assanta Mafu. 1994. Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34: 1-30.
- Chudy, S., A. Bilska, R. Kowalski, and J. O. A. N. N. A. Teichert. 2020. Colour of milk and milk products in CIE L* a* b* space. *Artykul przegladowy*. 76: 77-81.
- Ellis, B. H. 1969. Acceptance and consumer preference testing. *J. Dairy Sci.* 52: 823-831.
- Evers, J. M. and K. R. Palfreyman. 2001. Free fatty acid levels in New Zealand raw milk. *Aust. J. Dairy Technol.* 56: 198.
- Fisk, I. D., M. Boyer, and R. S. T. Linforth. 2012. Impact of protein, lipid and carbohydrate on the headspace delivery of volatile compounds from hydrating powders. *Eur. Food Res. Technol.* 235: 517-525.
- Fox, P. F. 2013. Advanced dairy chemistry volume 3: lactose, water, salts and vitamins. 2nd ed. Springer Science & Business Media. Springer, New York, USA.
- Francis, L., D. Chambers, S. Kong, G. Milliken, I. Jeon, and K. Schmidt. 2005. Serving temperature effects on milk flavour, milk aftertaste, and volatile compound quantification in nonfat and whole milk. *J. Food Sci.* 70: 413-418.
- Frank, D., I. Appelqvist, U. Piyasiri, and T. J. Wooster. 2011. Proton transfer reaction mass spectrometry and time intensity

- perceptual measurement of flavor release from lipid emulsions using trained human subjects. *J. Agric. Food Chem.* 59: 4891-4903.
- González-Córdova, A. and B. Vallejo-Cordoba. 2001. Quantitative determination of short-chain free fatty acids in milk using solid-phase microextraction and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4603-4608.
- Kobayashi, N. 2009. The structure of sensory terms on sweet cream Koku. *Jpn. J. Taste Smell Res.* 16: 637-640.
- Kobayashi, N., S. Hachisuka, and O. Nishimura. 2010. Sensory structure on sweet cream Koku. *Chem. Senses* 35: J18.
- Ma, Y., C. Ryan, D. Barbano, D. Galton, M. Rudan, and K. Boor. 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.* 83: 264-274.
- Marsili, R. 2011. Flavors and off-flavors in dairy products. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd ed., Vol. 2, pp. 533-551. Academic Press, London.
- Martin, B., I. Verdier-Metz, S. Buchin, C. Hurtaud, and J. B. Coulon. 2005a. How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products? *Anim. Sci.* 81: 205-212.
- Martin, R. M., D. J. Gunnell, J. Pemberton, S. Frankel, and G. D. Smith. 2005b. Cohort profile: The Boyd Orr cohort—an historical cohort study based on the 65 year follow-up of the Carnegie Survey of Diet and Health (1937-39). *Int. J. Epidemiol.* 34: 742-749.
- Norton, J. E., P. J. Fryer, and J. A. Parkinson. 2013. The effect of reduced-fat labelling on chocolate expectations. *Food Qual. Prefer.* 28: 101-105.
- Nursten, H. 1997. The flavour of milk and dairy products: I. Milk of different kinds, milk powder, butter and cream. *Int. J. Dairy Technol.* 50: 48-56.
- Raynal-Ljutovac, K., A. Pirisi, R. de Crémoux, and C. Gonzalo. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rumin. Res.* 68: 126-144.
- Schiano, A. N., W. S. Harwood, and M. A. Drake. 2017. A 100-year review: Sensory analysis of milk. *J. Dairy Sci.* 100(12): 9966-9986.
- Solah, V. A., V. Staines, S. Honda, and H. A. Limley. 2007. Measurement of milk color and composition: effect of dietary intervention on western Australian Holstein-Friesian cow's milk quality. *J. Food Sci.* 72(8): S560-S566.
- Thomas, E. L. 1981. Trends in milk flavors. *J. Dairy Sci.* 64:1023-1027.
- Umami Information Center. 2004. Sweet, sour, salty, bitter and umami: It is simply a matter of taste. Japan, Tokyo: Umami Information Center.
- Urbach, G. 1990. Effect of feed on flavor in dairy foods. *J. Dairy Sci.* 73:3639-3650.
- Wolf, I. V., C. V. Bergamini, M. C. Perotti, and E. R. Hynes. 2013. Sensory and flavor characteristics of milk. *Milk and dairy products in human nutrition: Production, Composition and Health.* pp. 310-337. 1st ed. Wiley-Blackwell, UK.
- Yayota, M., M. Tsukamoto, Y. Yamada, and S. Ohtani. 2013. Milk composition and flavor under different feeding systems: A survey of dairy farms. *J. Dairy Sci.* 96(8): 5174-5183.
- Zervas, G. and E. Tsiplakou. 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Rumin. Res.* 101: 140-149.

Exploring Taiwanese consumers' preferences for domestic fresh milk and Japanese milk from the perspectives of milk composition and sensory evaluation ⁽¹⁾

Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ Yi-Hsin Yeh ⁽²⁾ Jen-Wen Shiau ⁽²⁾ Yi-Ming Chen ⁽³⁾ Ming-Kuew Yang ⁽²⁾
Yueh-Tung Chen ⁽²⁾ and Po-An Tu ⁽²⁾⁽⁴⁾

Received: May 2, 2024; Accepted: Jul. 18, 2024

Abstract

Most Taiwanese consumers perceive Japanese milk as rich and flavorful, leaving a lingering taste after drinking. However, according to a number of studies, the sensory characteristics of fresh milk is influenced by various factors, and Taiwan and Japan have similar dairy farming system. Therefore, whether Japanese milk is truly preferred by Taiwanese consumers over domestic milk requires further verification. Consumer testing involves assessing the sensory characteristics of beverages by individuals without specific training, who represent the true consumer base of products. Thus, this study aims to conduct blind sensory evaluation of milk with consumers, by comparing the acceptance, preference, and sensory characteristics of Taiwanese fresh milk and Japanese milk, and thereby to understand the true preference of Taiwanese consumers over domestic fresh milk and Japanese milk. A total of 22 types of milk were evaluated, including 11 Taiwanese fresh milk and 11 Japanese milk, with 21 local consumers selected to participate in the blind sensory evaluation, including assessment of appearance, aroma, taste, and the overall acceptability. Subsequent data analysis was compared for the differences in milk composition from different origins and analyzed for the relationship between milk composition, sensory characteristics, and origin. The results showed that the relationship between milk composition and origin could clearly distinguish between Taiwanese fresh milk and Japanese milk; and that Japanese milk indeed comes with a unique flavor with higher milk fat content which is not widely accepted by consumers in general due to the higher off-flavors. In conclusion, Taiwanese fresh milk has lower milk fat, protein, and lactose in milk content, compared to Japanese milk, which probably makes the taste of Taiwanese fresh milk more refreshing, less cloying, smoother, and accepted by Taiwanese consumers over most Japanese milk. The study analyzed the comprehension of Taiwanese consumers on fresh milk and milk from different place of origin through the comprehensive understanding of products with different flavors from two countries. This helps the daily industries to explore into the uniqueness of their products. In the future, such knowledge can be adopted to make relative choices and adjustment, in addition to providing reference for the agricultural agencies in the formulation of effective market promotional strategies for Taiwanese domestic fresh milk.

Key words: Fresh milk, Milk composition, Sensory evaluation, Consumer preference, Flavor, Overall acceptability.

(1) Contribution No. 2799 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Sihoo, Miaoli 36848, Taiwan, R. O. C.

(3) Civil Affairs Office of Xinwu District, Xinwu, Taoyuan 327008, Taiwan, R. O. C.

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

季新鴨之育成⁽¹⁾

魏良原⁽²⁾⁽⁵⁾ 陳志毅⁽³⁾ 張怡穎⁽²⁾ 邱如均⁽²⁾ 劉秀洲⁽⁴⁾ 張經緯⁽²⁾

收件日期：113 年 3 月 22 日；接受日期：113 年 7 月 31 日

摘要

為改進北京鴨受精持續性並建立長受精持續性新品系，減少生產土番鴨所需之人工授精勞力成本，畜產試驗所東區分所於 2005 年選取北京鴨品系 (L201) 第 17 代公鴨 20 隻，母鴨 60 隻進行繁殖，2006 年繁殖為第 1 代季新鴨，計公鴨 104 隻，母鴨 127 隻，作為試驗種鴨群來源。試驗鴨隻於 29、32 與 35 週齡分別以 10 – 15 隻白色番鴨畜試 1 號公鴨混合精液 0.05 mL 進行單次人工授精，自注精第 2 起，各連續收集 14 天種蛋，於入孵後檢定受精率及相關性狀，再依最佳線性無偏估測法 (best linear unbiased prediction, BLUP) 估算受精蛋數育種價，進行鴨隻選留及次世代繁殖。季新鴨經 13 代選育，受精蛋數之育種價值 (estimated breeding value, EBV) 為 3.24 枚，表型值為 5.94 枚，與第 1 代相較，EBV 已改進 3.29 枚，表型值則改進 1.89 枚，以白色番鴨畜試 1 號公鴨精液授精一次後 2 – 8 天平均受精率為 82.1%，最長受精天數平均為 7.0 天，已達 6 天授精一次的育種目標。此品系在畜產試驗所東區分所育成，取其所在地宜蘭縣五結鄉季新村作為鴨種名稱，並於 2021 年 7 月 1 日經新品系命名登記申請審查委員會審查通過，命名登記為季新鴨，此品系可供作純種繁殖或土番鴨生產之母禽種原。

關鍵詞：受精持續性、鴨新品系、季新鴨。

緒言

土番鴨為臺灣主要商用肉鴨，實際生產係將公番鴨與母改鴨 (公北京鴨 × 母菜鴨) 透過人工授精的方式屬間雜交而成，惟受精率不高 (Tai, 1985)，為提高受精率，多以 3 天授精一次的方式進行，然此舉增加人力支出，且臺灣夏季炎熱，容易造成三品種土番鴨生長速率減緩及體重不足，種鴨業者多以提高改鴨之北京鴨血統比例作為因應，然此等以母改鴨再回交公北京鴨的級進配種的後裔母改鴨，易致產蛋效率及繁殖性狀下降，不利於生產效率。Tai *et al.* (1994) 使用白色番鴨之混合精液人工授精於母褐色菜鴨，依系譜收集親屬相關資料分析遺傳變異，結果顯示授精後 15 天之受精率的遺傳率為 0.34。Cheng *et al.* (1997) 研究顯示，褐色菜鴨經三代的受精持續性選拔之後，估算選拔品系受精蛋數之遺傳改進為 25%，平均每代的遺傳改進量約可達 8 – 9%。Cheng *et al.* (2002) 自 1992 年起選拔褐色菜鴨受精持續性，比較兩品系 (選拔與對照) 經 7 代的選育結果，受精蛋數之差異已達 2.61 枚，受精蛋最長持續天數則持續增加。劉等 (2022) 將五結白鴨母鴨 (選自正反交 × 白色菜鴨)，經 7 代選育其受精持續性，白色番鴨畜試 1 號公鴨精液授精一次後 2 – 8 天平均受精率為 80.3%、最長受精天數平均為 7.9 天。前述試驗結果皆證實藉由選拔，土番鴨的生產可每週人工授精一次，仍可維持合理的受精率，北京鴨若以遺傳育種理論與混合模式應用，輔以系譜選育，選拔受精持續性狀，並建立新品系供土番鴨產業生產應用，應可期為降低勞力成本的方式之一，且減少必須維持北京鴨與菜鴨 2 個品種鴨的費用。畜產試驗所東區分所遂著手進行之季新鴨的受精持續性選拔試驗，鴨群挑選自北京鴨 (L201)。北京鴨最早於 1954 年由中國農村復興聯合委員會 (以下簡稱農復會) 自美國空運北京鴨種蛋 300 枚來臺灣，孵化共得雛鴨 172 隻 (中國農村復興聯合委員會, 1954)。1965 年農復會有鑑於臺灣養鴨具有悠久歷史背景，但一直承繼傳統的飼養方式，不能與國際間的其他家禽業有所競爭，乃策劃養鴨計畫 (黃等, 1998)。1968 年仍隸屬於臺北區農業改良場的養鴨中心自宜蘭縣境數鴨場引入北京鴨 (暫借宜蘭農校場地)，並於 1972 年將鴨群遷至現址，1978 年將引進的北京鴨依系譜繁殖第 1 代，以該北京鴨品系進行季新鴨受精持續性選

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2800 號。

(2) 農業部畜產試驗所東區分所。

(3) 農業部畜產試驗所北區分所退休。

(4) 農業部畜產試驗所東區分所退休。

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

育試驗(農業部畜產試驗所, 2021), 以期延長母鴨受精持續性, 減少土番鴨生產所需人工授精勞力成本, 並以 6 天人工授精一次為目標。

材料與方法

I. 種原來源

2005 年選取北京鴨品系(L201)第 17 代公鴨 20 隻, 母鴨 60 隻進行繁殖, 2006 年繁殖第 1 代公鴨 104 隻, 母鴨 127 隻, 作為試驗用種鴨群來源。

II. 試驗動物

- (i) 本研究涉及之動物試驗於畜產試驗所東區分所執行, 動物之使用、飼養及實驗內容係依據該機關之實驗動物照護及使用小組審查核准之試驗準則進行(畜試宜動字 109001 號)。
- (ii) 鴨隻繁殖: 各世代季新鴨群於 48 週齡進行繁殖選種, 先依受精蛋數性狀計算無偏差育種價值, 再選留高育種價值鴨隻進行繁殖, 以避開全、半同胞親屬關係的方式製作配種表, 選配鴨群維持 20 個家族, 每家族以 1 隻公鴨配種約 3~4 隻母鴨, 每隻母鴨後裔依 3 公 5 母原則進行選留。
- (iii) 飼養管理: 雛鴨於 0~3 週間, 於育雛舍保溫飼養, 3 週齡後移至平飼高床鴨舍育成, 12 週齡選取健康鴨隻上籠飼養, 16 週齡秤重。飼料及飲水採任飼, 0~8 週齡餵飼鴨群含粗蛋白質 19%, 代謝能 2,900 kcal/kg 之育雛料, 8 週至初產前餵飼鴨群含粗蛋白質 14%, 代謝能 2,800 kcal/kg 之育成料, 初產後則餵飼鴨群含粗蛋白質 18.7%, 代謝能 2,900 kcal/kg 之產蛋料。

III. 選育流程與配種設計

自 2006 年起, 藉由遺傳育種理論與混合模式之應用, 設計以系譜選育的方式進行選拔, 以探討北京鴨受精持續性之選育效果, 並監控改善後裔土番鴨毛色級數, 以符合商業生產土番鴨需求, 主要試驗及選育流程如下:

採集 10~15 隻白色番鴨畜試 1 號公鴨之混合精液, 分別於試驗北京母鴨 29、32 與 35 週齡時, 進行一次 0.05 mL 混和精液注精後, 各連續收集 14 天(2~15 天)種蛋共三批次, 每隔 7 天入孵一次, 並於入孵後第 7、14 與 26 天分別照蛋 1 次。檢查及記錄母鴨種蛋之受精與孵化情況, 並計算入孵蛋數、受精蛋數、有效受精天數、最長受精天數與孵化雛鴨數等性狀表現, 各相關性狀名詞定義如下。

- (i) 入孵蛋數 (the number of eggs set, Ie): 母鴨於 29、32 與 35 週齡以公番鴨精液人工授精, 種蛋收集後的個別母鴨入孵蛋數。
- (ii) 受精蛋數 (the number of fertile eggs at candling, F): 母鴨於 29、32 與 35 週齡以公番鴨精液人工授精, 種蛋入孵後第 7 天照蛋之受精蛋數。
- (iii) 最長受精天數 (the maximum duration of fertile from 2nd day after AI up to the day of the last fertile egg, Dm): 人工授精後 2~15 天檢定期內, 首枚受精蛋數至最末枚受精蛋數之天數。
- (iv) 有效受精天數 (the number of duration fertile eggs, De): 人工授精後 2~15 天檢定期內, 連續受精之最長天數。
- (v) 孵化率 (the ratio of hatched mule ducklings, H): 受精蛋數減掉胚或胎發育中止數後, 所占受精蛋數之百分比。
- (vi) 後裔土番鴨毛色檢定: 每批次入孵後於第 7 天照蛋, 有受精且正常發育之受精蛋繼續孵化直至出雛, 並檢定其毛色, 分級方式參照(李及康, 1997)自第 1 級之純白無任何黑毛出現至第 14 級之全身為黑色無任何白毛出現。

將每世代資料累積後, 利用系譜之親屬關係資料經重編碼後, 進行最佳線性無偏差預測值(BLUP)之統計分析, 依受精蛋數較高的育種價值選留公 20 隻、母 60 隻, 於 44~46 週齡時進行純系配種, 50~52 週齡孵化產生下一代供性能檢定使用, 試驗共進行 13 個世代。

IV. 統計分析

- (i) 依相關性狀名詞定義, 將三個週齡之檢定受精蛋紀錄經資料編輯為 F、Dm、De 後, 再以 SAS MEANS 程序計算受精持續性相關性狀(SAS, 1999)。
- (ii) 平均每日受精率差異比較, 係以 SAS 之 GLM 程序, 檢視第 2 天至第 15 天之每日 F 值變化。
- (iii) F 值之育種價值(EBV), 統計模式為 $y = X\beta + Za + e$ (y : 受精蛋數、 β : 世代(年度) - 批次固定效應、

a：逢機遺傳效應、e：機差， $E(e) = 0$, $\text{Var}(e) = I\sigma_e^2$ 、X 與 Z 分別為 β 與 a 之關係係數矩陣)，依最佳線性無偏估測 (BLUP) 之動物模式 (animal model, AM)，以 PEST3.1 軟體 (Groeneveld, 1990) 進行估計 (陳等，2019)。

結果與討論

I. 選拔試驗鴨隻及選拔百分率

本試驗設計以系譜選育的方式，於 2006 年繁殖第 1 代公鴨 104 隻，母鴨 127 隻，做為試驗用種鴨群來源，自第 1 代開始進行受精持續性檢定，依受精蛋數性狀的無偏差育種價值，選留最高育種價值鴨隻，進行各世代試驗用鴨群之繁殖。選配鴨群保留 20 個家族，每個家族以 1 隻公鴨配種約 3 – 4 隻母鴨，每隻母鴨後裔依 3 公 5 母原則進行選留。從第 1 代至第 13 代，總計公鴨 2,064 隻、母鴨 3,212 隻參與性能檢定；種公鴨 279 隻，種母鴨 700 隻參與配種繁殖。自 2006 年建立本選育鴨群第 1 代起迄第 13 代之各世代檢定隻數、留種數及選留百分率計算選拔強度結果，於母鴨之選拔百分率介於 12.6 – 35.0% 之間，平均為 24.0%，公鴨則介於 10.3 – 31.7% 之間，平均為 15.7% (如表 1)。

表 1. 選拔受精持續性試驗季新鴨第 0 – 13 代鴨群結構、檢定隻數、留種數與選留百分率

Table 1. The population structure, number of ducks for performance test, number of ducks saved for seedstock, range of estimated breeding value of seedstock and selection percentage from G0 to G13 of Chihsin Duck in duration of fertility selection experiment

Generation	Number	Number of seedstock	Selection percentage
G0	—	—	—
G1	M = 104 F = 127	M = 33 F = 16	31.7 12.6
G2	M = 108 F = 143	M = 18 F = 50	16.7 35.0
G3	M = 86 F = 133	M = 26 F = 46	30.2 34.6
G4	M = 148 F = 212	M = 22 F = 47	14.9 22.2
G5	M = 159 F = 260	M = 20 F = 57	12.6 21.9
G6	M = 162 F = 234	M = 20 F = 62	12.3 26.5
G7	M = 161 F = 273	M = 20 F = 55	12.4 20.1
G8	M = 175 F = 279	M = 19 F = 63	10.9 22.6
G9	M = 195 F = 292	M = 20 F = 71	10.3 24.3
G10	M = 165 F = 268	M = 21 F = 59	12.7 22.0
G11	M = 146 F = 222	M = 20 F = 55	13.7 24.8
G12	M = 165 F = 269	M = 20 F = 63	12.1 23.4
G13	M = 145 F = 250	M = 20 F = 56	13.8 22.4
Total	M = 2,064 F = 3,212	M = 279 F = 700	

M: male; F: female.

II. 受精持續性相關性能檢測

計算各世代母鴨授精後之入孵蛋數、受精蛋數、受精蛋最長持續天數、有效受精天數與孵化雛鴨數。將每代資料累積後利用系譜之親屬關係資料，進行選拔性狀 BLUP 之統計分析後，供評估比較受精持續性各性狀之差異及遺傳改進使用。經統計分析各項性能之平均值 ± 標準偏差，結果如表 2。G1 至 G13 代之 F/Ie 分別為 0.30、0.33、0.30、0.32、0.37、0.35、0.38、0.41、0.39、0.42、0.39、0.42 與 0.49，G13 較 G1 代之增幅為 61.72%，F、Dm、De 及 H 亦隨著選育世代增加，其增幅分別為 46.7、54.6、73.8 與 57.6%。

表 2. 選拔受精持續性試驗季新鴨第 1 至第 13 代五項性狀表型值平均及標準偏差

Table 2. Means and standard deviation of phenotypic values of five traits from the G1 to G13 generation of Chihsin Duck in duration of fertility selecting experiment

Generation	N	Ie	F	Dm	De	H
G1	127	13.32 ± 1.36	4.05 ± 1.45	4.52 ± 1.64	3.36 ± 1.63	2.97 ± 1.56
G2	143	10.52 ± 3.49	3.44 ± 1.65	4.41 ± 1.71	3.70 ± 1.80	2.98 ± 1.64
G3	133	13.15 ± 1.56	4.03 ± 1.65	4.99 ± 1.82	3.27 ± 2.18	3.42 ± 1.70
G4	212	13.13 ± 1.60	4.14 ± 1.60	4.97 ± 1.67	3.58 ± 2.01	3.37 ± 1.63
G5	260	13.06 ± 1.65	4.79 ± 1.88	5.73 ± 1.99	4.02 ± 2.45	4.13 ± 1.89
G6	234	11.63 ± 1.98	4.05 ± 1.75	5.82 ± 2.04	3.83 ± 2.50	3.06 ± 1.65
G7	273	13.11 ± 1.70	4.95 ± 1.63	5.98 ± 1.91	4.18 ± 2.23	4.20 ± 1.69
G8	279	13.32 ± 1.39	5.52 ± 1.69	6.48 ± 1.93	4.90 ± 2.24	4.53 ± 1.80
G9	292	13.20 ± 1.46	5.20 ± 1.76	6.22 ± 1.89	4.55 ± 2.20	4.85 ± 1.82
G10	268	12.92 ± 1.56	5.43 ± 1.96	6.51 ± 2.05	4.90 ± 2.39	4.64 ± 1.98
G11	222	13.12 ± 1.47	5.13 ± 1.78	6.08 ± 1.98	4.21 ± 2.02	4.65 ± 2.07
G12	269	13.18 ± 2.58	5.55 ± 1.81	6.66 ± 2.00	4.48 ± 2.06	5.06 ± 2.09
G13	250	12.08 ± 2.81	5.59 ± 2.35	6.99 ± 2.55	5.84 ± 2.46	4.68 ± 2.37

N, number of ducks; Ie, number of eggs set; F, number of fertile eggs at candling; Dm, maximum duration of fertility; De: number of duration fertile eggs; H, number of hatched mule ducklings.

III. 季新鴨受精率改進

季新鴨經 13 代選育受精持續性結果，G1 至 G13 代之受精蛋數 (F) 表型值分別為 4.05、3.44、4.03、4.14、4.79、4.05、4.95、5.52、5.20、5.43、5.13、5.55 與 5.59 枚；受精蛋數育種價分別為 -0.05、-0.04、0.13、0.14、0.25、0.69、1.04、1.42、1.79、2.13、2.57、2.90 與 3.24 枚 (如圖 1)；有效受精持續天數 (De) 分別為 3.36、3.79、3.26、3.58、4.02、3.83、4.18、4.90、4.55、4.90、4.21、4.48 與 6.08 天；受精蛋最長持續天數 (Dm) 分別為 4.52、4.40、5.03、4.97、5.73、5.82、5.98、6.48、6.22、6.51、6.08、6.66 與 6.99 天 (如表 2)。以 BLUP 動物模式計算季新鴨第 13 代鴨群受精蛋數 (F) 值之育種價值 (EBV) 為 3.24 枚，F 表型值 5.94 枚，與第 1 代鴨群相較，F 值之 EBV 已改進 +3.29 枚，F 值較第 1 代鴨群改進 1.89 枚，平均一個世代改進 3.9%，累積改進 46.7%。

本品系經 13 個世代的選拔，第 1 代及第 13 代鴨群經單次人工授精後 2 – 15 日，不同日數之照蛋數、受精蛋數與受精率如表 3，檢視第 13 代母季新鴨單次授精後第 2 – 15 天之每日受精率，檢定期間第 2 – 6 天之受精率分別為 88.3、92.8、92.7、88.3 與 84.7%，平均受精率為 89.4%，約可連續維持 5 天高受精率，自第 7 日起呈現顯著性下降 ($P < 0.05$)。受精蛋數亦然，顯示隨人工授精天數增加，逐漸限制受精率及受精蛋數產出。家禽在自然配種或人工授精後，精子在輸卵管內的遷移是一個動態過程，包括精子進入生殖道、抵抗生殖道微環境免疫反應、暫時維持在精子貯精小管 (sperm storage tubules, SST)、精子活化、到達漏斗部後與卵母細胞結合 (Publicover *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2020)。精子儲存被定義為雌性生殖道中精子的暫時保存，是複雜生殖過程的關鍵部分 (Orr and Zuk, 2012)。延長精子儲藏時間是減少人工授精和公禽使用頻率以提高種禽效益的關鍵之一。然而母禽的精子儲藏能力很難測量，通常授精後至最後一個受精蛋的天數、授精後受精蛋的數量和受精率等表型性狀，被廣泛用來描述母禽生殖道之精子儲藏效率 (Yang *et al.*, 2021)。本試驗母鴨以白色番鴨精液單一次授精後 2 – 8 天之平均受精率為 82.1%，與第 1 代之 47.9% 相比較，已提升 34.2%；2 –

15天之平均受精率為46.3%，與選育第1代之30.4%相比，亦增加約15.9%。由2–15天之平均受精率之曲線變化結果(如圖2)，選拔品系之曲線逐代向右移動，顯示此新品系鴨之屬間雜交經一次人工授精後，受精率亦獲得顯著改進。本試驗經選育至第13代，檢定其單一次人工授精後之第7–9日，下降幅度分別為17.4、25.7與39.6%，均呈現大幅度之衰退($P < 0.05$)，至第14日受精率僅剩1.1%，第15日則僅0.2%。綜上所述，本品系經13代選育後，單一次人工授精後2–7天，共6天產蛋之平均受精率達86.4%，與現行商業生產土番鴨每3天人工授精一次的受精率相近。

土番鴨約占臺灣肉鴨生產的74%，其生產係以公番鴨與母改鴨以人工授精屬間雜交而成，此種雜交為肉鴨生產很有效的遺傳組合方式，惟此繁殖生產方式之受精率不高，常成為商業大量生產土番鴨時之瓶頸(Tai, 1985)，土番鴨之低受精率(相較於一般雞或鴨隻)可能肇因於雌親生殖道增強之精子篩選機制，因而限縮初始精子貯存數目(Cheng *et al.*, 2002; Sellier *et al.*, 2005; Brun *et al.*, 2008)。因此，為了達到高受精率，就必須縮短人工授精間隔時間，最好為2–3天授精一次，導致投入勞力成本增加。依據Tai *et al.*(1994)試驗結果，使用具系譜之褐色菜鴨配以番鴨之混合精液進行人工授精，並依系譜收集親屬相關資料分析其遺傳變異，結果顯示由授精至授精後15天之受精率的遺傳率為0.34，而公番鴨精子在母改鴨、母菜鴨或母北京鴨生殖道中維持受精能力時間較短，平均約3天，第4天起即顯著下降趨勢(劉及戴, 1984)。使用動物模式分析選拔褐色菜鴨受精持續性累積三代資料結果，受精蛋數的遺傳率為 $h^2 = 0.18$ ，受精蛋最長持續天數之遺傳率為 $h^2 = 0.20$ (Cheng, 1995)。Cheng *et al.*(2002)自1992年起選拔褐色菜鴨受精持續性，比較選拔與對照兩品系經8代的選育結果，受精蛋數之差異已達2.61枚，受精蛋最長持續天數則持續增加2.87天，結果顯示選拔品系已可達每週授精一次之目標。Cheng *et al.*(1997)報告褐色菜鴨經3代的受精持續性選拔之後，比較選拔及對照品系受精蛋數與孵化雛鴨數兩性狀之遺傳改進分別為25%及28%，平均每代的遺傳改進量約可達8–9%。鄭等(1998)進一步比較兩品系之入孵蛋數、受精蛋數、孵化雛鴨數、胚胎死亡數與受精蛋最長持續天數之表型值各性狀選拔差異分別為+0.17枚、+1.22枚、+0.83隻、+0.40枚與+1.50天，統計選拔及對照品系受精後2–8天之平均受精率分別為75.4及64.2%；孵化率為55.4及49.1%。另Cheng *et al.*(1999)報告經6代的選育結果比較受精率、孵化率與胚胎死亡率之變化，選拔及對照品系之差異分別為14.3、7.8與6.5%，如比較兩品系經一次人工授精後2–8天之差異，由第1代至第6代受精率之差異分別為13.0、6.7、6.4、15.0、11.3與26.7%，孵化率之差異分別為12.4、4.2、5.8、11.6、6.3與15.4%。褐色菜鴨經11代的受精持續性選拔之後，選拔及對照品系受精率及孵化率經校正之邏輯曲線，選拔品系於第2天之受精率為90%，從第3天至第6天均大於90%，然後逐漸下降為第7天之87%，第8天79%，第9天65%，第10天50%，第11天29%至第15天的1%，受精蛋最長持續天數為10.1天。然而對照品系於第2天之受精率為78%，從第4天即顯著下降至70%，第5天之58%，第6天40%，第7天27%，第8天13%，第10天4%至第14天的0%，受精蛋最長持續天數只有6天。如比較兩品系之孵化率亦顯示相同之趨勢，由2–15天之平均受精率及孵化率之曲線變化結果，選拔品系之曲線逐代向右移動。顯示鴨之屬間雜交經一次人工授精後，受精率及孵化率均已獲得顯著改進(Cheng *et al.*, 2005; 2009)。

相似的結果亦在五結白鴨選育試驗中印證(Liu *et al.*, 2015)，該品系經7代選育(第4代至第10代)後，顯示選拔品系經一次授精後2–8天之平均受精率為80.3%，與第4代之74.3%相比較，約提升6%(第8代曾達86.13%)；而2–15天之平均受精率為46.6%，與選育初期第4代之41.5%相比，亦增加約5%(第8代曾達50.8%)，估測第4代至第10代受精蛋數遺傳改進量為2.74枚，亦即選拔品系經7代受精持續性選拔後，共改進了2.8個遺傳標準偏差(劉等, 2022)，此結果與褐色菜鴨畜試二號的選育結果相當類似(Cheng *et al.*, 2009)。

IV. 後裔土番鴨白色羽毛檢定

季新鴨自選拔試驗開始，除進行受精持續性選拔外，因應產業對土番鴨毛色的需求，於受精持續性檢定試驗之後，將受精蛋繼續孵化直至出雛，土番鴨雛依其白色羽毛顏色面積及出現部位進行14個等級的標準分級(李及康, 1997)，民間商業生產土番鴨的毛色以7級評分內為合格標準(除頭部外，背部之黑毛區域可以大姆指蓋住)，第1代至第13代後裔雛土番鴨毛色等級結果如表4。季新鴨的前身為畜產試驗所東區分所的北京鴨(201品系)，自1978年起依系譜繁殖G1代，1985年開始建立北京母鴨後裔土番鴨毛色檢定成績，發現北京鴨毛色雖為全白，惟與公白色番鴨屬間雜交之後裔土番鴨出現黑毛比例高，評分結果不如白色菜鴨(L102品系)。1988年起開始加強北京鴨後裔土番鴨毛色的檢定與選育工作以尋求改善，毛色檢定成績7級以內合格率於北京鴨(201品系)G10後快速改進，G14代時後裔土番鴨毛色在3及7級以內者分別達到80.1及99.5%(李及康, 1997)。季新鴨受精持續性選育開始，即持續進行後裔土番鴨毛色檢定，至G13之3與7級以內成績已分別達84.6%及99.9%，其中前5個等級評分的百分比分別為2.5、59.5、22.6、14.9與0.3%，以等級2占最多(全身為白色，僅有頭部出現少許黑毛)。

表3. 季新鴨 G1 及 G13 鴨群經單次人工授精後 2 至 15 日之入孵蛋數、受精蛋數與受精率比較

Table 3. Comparison of the number of incubated eggs, the number of fertile eggs and the fertilization rate of Chihsin ducks G1 and G13 from 2 to 15 days after a single artificial insemination

Item	Generation	The day after AI													
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
No. of incubated eggs	G1	372	382	362	378	322	383	370	344	367	353	353	378	377	307
	G13	614	601	615	580	614	610	624	624	609	608	596	622	618	590
No. of fertile eggs	G1	267	277	239	214	122	85	31	9	2	3	1	0	0	0
	G13	542	558	570	512	520	438	350	227	126	65	19	12	7	1
Fertilization rate (%)	G1	71.8	72.5	66.0	56.6	37.9	22.2	8.4	2.6	0.5	0.8	0.3	0.0	0.0	0.0
	G13	88.3	92.8	92.7	88.3	84.7	71.8	56.1	36.4	20.7	10.7	3.2	1.9	1.1	0.2

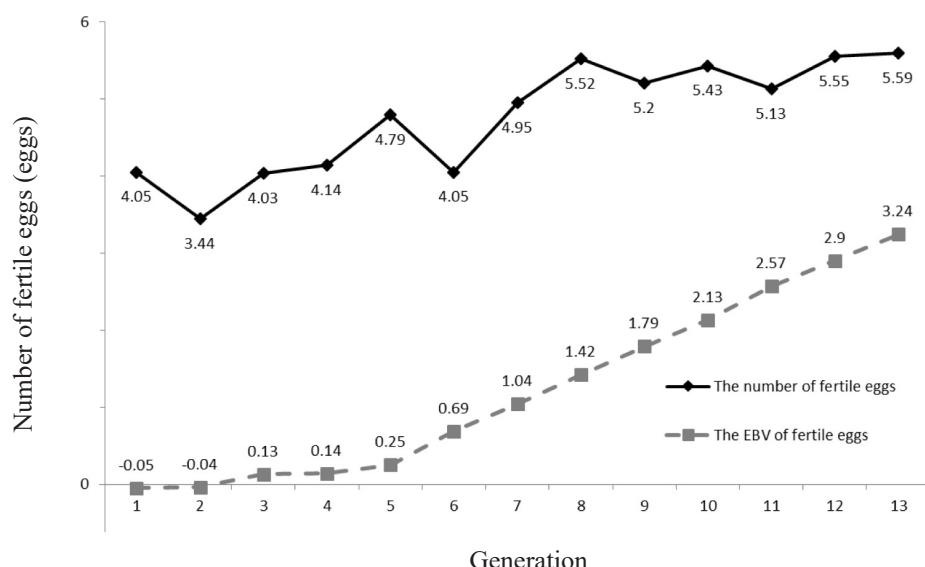


圖 1. 季新鴨 G1 至 G13 代受精蛋數表型值及育種價改進情形。

Fig 1. The improvement of Chihsin ducks from G1 to G13 in phenotypic value and EBV of the number of fertilized eggs.

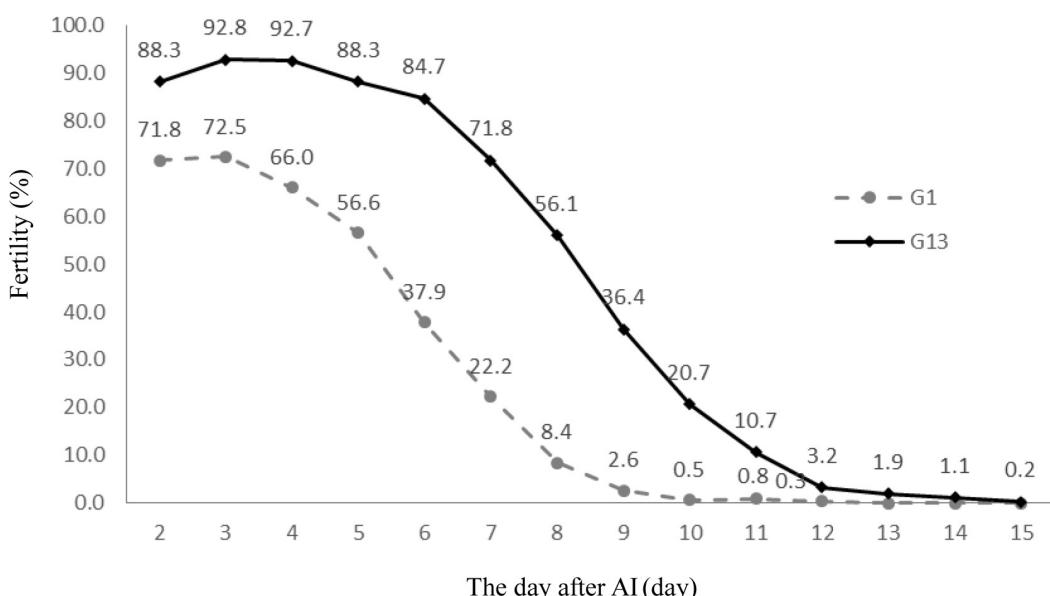


圖 2. 選拔受精持續性試驗季新鴨第 1 至 13 代經一次人工授精後 2 – 15 天之受精率比較。

Fig 2. Fertility for 2-15 days after a single AI for Chihsin Duck in duration of fertility selecting experiment of G1 to G13.

表 4. 各世代季新鴨之後裔雛土番鴨毛色檢定等級

Table 4. The plumage color grade of mule ducks in each generation of Chihsin Duck

Generation	Number of mule ducklings	Plumage color grade of mule ducks
G1	351	2.32 ± 0.54
G2	380	2.03 ± 0.48
G3	499	2.26 ± 0.64
G4	705	2.64 ± 0.74
G5	950	2.34 ± 0.69
G6	551	2.49 ± 0.63
G7	960	2.27 ± 0.68
G8	1,267	2.43 ± 0.82
G9	1,315	2.32 ± 0.68
G10	1,062	2.78 ± 0.75
G11	2,749	2.48 ± 0.90
G12	3,068	2.92 ± 0.79
G13	3,321	2.52 ± 0.79

結 論

本研究育成之季新鴨選育至第 13 代，母鴨以白色番鴨畜試 1 號混合公鴨精液單一次人工授精後 2 – 7 天共 6 天產蛋之平均受精率為 86.4%，平均最長受精天數為 7.0 天，已達 6 天授精一次的育種目標，後裔土番鴨毛色檢定成績在 3 及 7 級以內之成績分別為 84.6% 及 99.9%，符合產業之需求，且通過命名審查成為新品系種鴨，可供作純種繁殖或土番鴨生產之母禽種原。

參考文獻

- 中國農村復興聯合委員會。1954。中國農村復興聯合委員會工作報告第五期，p. 79。
- 李舜榮、康清亮。1997。土番鴨白色羽毛出現率之改進。畜產研究 30：293-299。
- 黃加成、賴銘癸、李舜榮、林誠一、胡怡浩、陳得財、黃秀菊、康清亮、楊麗容、潘金木。1998。臺灣省畜產試驗所宜蘭分所機關誌。p. 25。
- 陳志毅、魏良原、張惠斌、張怡穎、劉秀洲。2019。經 11 代受精持續性選拔後之北京鴨受精蛋數遺傳表現探討。畜產研究 52：58-65。
- 劉秀洲、張怡穎、魏良原、劉曉龍、鄭裕信。2022。五結白鴨之育成。畜產研究 55：137-144。
- 劉瑞珍、戴謙。1984。鴨人工受精之研究。3. 鴨混合精液與未混和精液對受精率之影響。畜產研究 17：85-89。
- 鄭裕信、黃祥吉、劉曉龍、黃鈺嘉、戴謙。1998。褐色菜鴨受精能力持續性之選育。畜產試驗所八十七年試驗報告 1-6。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2021。「季新鴨」品系登記審定書。
- Brun, J. M., M. M. Mialon-Richard, N. Sellier, F. Batellier, and J. P. Brilland. 2008. Duration of fertility and hatchability of the common duck (*Anas platyrhynchos*) in pure- or crossbreeding with Muscovy drakes (*Cairina moschata*). Theriogenology 69: 983-989.
- Cheng, Y. S. 1995. Sélection de la race Tsaiya Brune sur la ponte et la durée de la fertilité en croisement avec le canard de Barbarie. Thèse. Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- Cheng, Y. S., R. Rouvier, J. P. Poivey, S. C. Huang, and C. Tai. 1997. The selection for the duration of the fertile period in Brown Tsaiya laying ducks in intergenic crossbreeding with Muscovy drakes: fertility and hatchability. Proceedings 11th European Symposium on Waterfowl, Nantes, France. September 8-10, pp. 298-303.
- Cheng, Y. S., H. C. Huang, H. L. Liu, J. J. Liu Tai, C. Tai, R. Rouvier, and J. P. Poivey. 1999. Selection experiment for

- the maximum duration of fertility in Brown Tsaiya bred for mule duck: comparison for fertility, hatchability, embryo mortality rates in selected and control lines. Proceedings 1st World Waterfowl Conference Dec. 1-4, Taichung, Taiwan R. O. C. pp. 115-121.
- Cheng, Y. S., R. Rouvier, J. P. Poivey, J. J. L. Tai, C. Tai, and S. C. Huang. 2002. Selection responses for number of fertile eggs of Brown Tsaiya duck (*Anas platyrhynchos*) after a single artificial insemination with pooled Muscovy (*Cairina moschata*) semen. *Genet. Sel. Evol.* 34: 597-611.
- Cheng, Y. S., R. Rouvier, J. P. Poivey, H. C. Huang, H. L. Liu, and C. Tai. 2005. Selection responses in duration of fertility and its consequences on hatchability in the intergeneric crossbreeding of ducks. *Br. Poult. Sci.* 46: 565-571.
- Cheng, Y. S., R. Rouvier, H. L. Liu, S. C. Huang, Y. C. Huang, C. W. Liao, J. J. L. Tai, C. Tai, and J. P. Poivey. 2009. Eleven generations of selection for the duration of fertility in the intergeneric crossbreeding of ducks. *Genet. Sel. Evol.* 41: 32.
- Groeneveld, E. 1990. PEST User's manual. Department of Animal Science, University of Illinois, Urbana, IL. U. S. A.
- Huang H. L., Y. S. Cheng, K. T. Yang, C. H. Chen, M .C. Huang, and W. H. Hsu. 2011. Genome-wide transcript expression analysis in the uterovaginal junction in association with fertile period in Tsaiya ducks. *J. Reprod. Dev.* 57: 731-736.
- Liu, H. C. J. F. Huang, S. R. Lee, H. L. Liu, C. H. Hsieh, C. W. Huang, M. C. Huang, C. Tai, J. P. Poivey, R. Rouvier, and Y. S. Cheng. 2015. Selection for duration of fertility and mule duck white plumage color in a synthetic strain of ducks (*Anas platyrhynchos*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 28: 605-611.
- Orr, T. J. and M. Zuk. 2012. Sperm storage. *Curr. Biol.* 22: R8 - R10.
- Publicover, S., C. V. Harper, and C. Barratt. 2007. [Ca²⁺]i signalling in sperm -- making the most of what you've got. *Nat. Cell Biol.* 9: 235-242.
- SAS. 1999. SAS User's Guide: Statistics, 6.12 ed., SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Sellier, N., J. M. Brun, M. M. Richard, F. Batellier, V. Dupuy, and J. P. Brillard. 2005. Comparison of fertility and embryo mortality following artificial insemination of common duck females (*Anas Platyrhynchos*) with semen from common or Muscovy (*Cairina Moschata*) drakes. *Theriogenology* 64: 429-439.
- Tai, C. 1985. Duck production breeding in Taiwan. pp. 364-371 in Duck Production Science and World Practice. Farrell, D. J. and Stapleton, P. eds. University of New England, Armidale, NSW.
- Tai, C., J. P. Poivey, and R. Rouvier. 1994. Heritabilities for duration of fertility traits in Brown Tsaiya female ducks (*Anas platyrhynchos*) by artificial insemination with pooled muscovy (*Cairina moschata*) semen. *Br. Poult. Sci.* 35: 59-64.
- Yang, G., S. Li, Q. Zhao, J. Chu, B. Zhou, S. Fan, F. Shi, X. Wei, X. Hu, X. Zheng, Z. Liu, X. Zhou, Y. Tao, S. Li, and C. Mou. 2021. Transcriptomic and metabolomic insights into the variety of sperm storage in oviduct of egg layers. *Poult. Sci.* 100: 101087.
- Yang, L., X. Zheng, C. Mo, S. Li, Z. Liu, G. Yang, Q. Zhao, S. Li, and C. Mou. 2020. Transcriptome analysis and identification of genes associated with chicken sperm storage duration. *Poult. Sci.* 99: 1199-1208.

Breeding of Chihsin ducks⁽¹⁾

Liang-Yuan Wei⁽²⁾⁽⁵⁾ Jih-Yi Chen⁽³⁾ Yi-Ying Chang⁽²⁾ Ju-Chun Chiu⁽²⁾
Hsiu-Chou Liu⁽⁴⁾ and Ching-Wei Chang⁽²⁾

Received: Mar. 22, 2024; Accepted: Jul. 31, 2024

Abstract

The purpose of this study was to reduce the artificial insemination labor costs required to breed mule ducks by improving the duration of the fertility of ducks and establishing a new duck line. The 20 drakes and 60 ducks of Pekin (L-201) G17 maintained in the Eastern Branch of Live Stock Research Institute (Eastern Branch) in 2005 were chosen to breed 104 drakes and 127 ducks of Chihsin duck G1 as the experimental animals. To breed the first-generation, Chihsin ducks at 29, 32 and 35 weeks of age underwent single artificial insemination with 0.05 mL pooled semen from 10 to 15 Muscovy drakes in 2006, as the source of experimental breeding ducks. After insemination, the eggs were collected from day 2 to day 14, and were candled during incubation to determine the number of fertile eggs (F) and other traits. The breeder ducks were selected and bred based on the best unbiased prediction (BLUP) of estimated breeding value (EBV) of the number of fertilized eggs. After 13 generations of selective breeding, the EBV of the number of fertilized eggs is 3.24 eggs, and the phenotypic value is 5.94 eggs in Chihsing duck. Compared with the first generation, the EBV has improved by 3.29 eggs, and the phenotypic value improved by 1.89. The fertility rate from day 2 to day 8 was 82.1%, after a single artificial insemination with mixed semen from White Muscovy LRI No. 1 drakes, which average maximum duration of fertility was 7.0 days and achieved the breeding goals of one insemination every 6 days. This line of ducks was mainly bred in the Eastern Branch and named after Chihsin Village, Wujie Township, Ilan County, where the duck line is inhibited. The line was approved by the New Line Name Registration Application Review Committee on July 1, 2021 and the nomenclature is Chihsin Duck. The Chihsin Duck can be used as pure breeding or the female breeder for mule duck production.

Key words: Duration of fertility, New duck line, Chihsin duck.

(1) Contribution No. 2800 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

(4) Retired from Eastern Region Branch, MOA-TLRI, Ilan 268, Taiwan, R. O. C.

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

不同粒徑與草種混合之粒狀飼料對山羊適口性的影響⁽¹⁾

王紹愍⁽²⁾⁽³⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：113 年 6 月 11 日；接受日期：113 年 8 月 23 日

摘要

本研究目的在瞭解粒狀飼料大小（直徑）、原料組成及組成比例等因子對粒狀飼料適口性的影響，提供國產盤固草粒料開發之參考。研究中進行 2 批次的山羊適口性試驗，每批次比較 4 種粒狀飼料，以 4 頭體重約 30 kg 的闊公羊於個別飼養欄進行（4 重複），比較 4 種飼料於給飼後 20 分鐘採食次數、累計 1、2、3 小時乾物採食量等適口性指標。試驗 I 進行 6、8 mm 的盤固草與燕麥 4 種粒狀飼料比較，結果顯示，飼料處理具顯著差異，燕麥（溫帶牧草）的適口性優於盤固草（熱帶牧草），較小粒徑 6 mm 顆粒之適口性優於 8 mm。試驗 II 進行盤固草、盤固草 / 燕麥 (4/1)、盤固草 / 首蓿 (9/1) 及盤固草 / 首蓿 (1/1) 4 種飼料間的比較，結果顯示，純盤固草飼料各適口性指標均顯著低於參試之混合飼料，盤固草 / 首蓿 (9/1) 混合飼料的適口性最佳，顯著優於盤固草 / 燕麥 (4/1) 及盤固草 / 首蓿 (1/1) 兩種混合飼料，表示首蓿、燕麥的添加可明顯提升盤固草飼料適口性，同時，首蓿添加的提升效果未隨添加量增加而增加，添加少量首蓿即可大幅增進盤固草之適口性。

關鍵詞：粒狀飼料、山羊、適口性。

緒言

飼糧為草食動物產業的主要成本，但國產飼料僅能滿足約 5 成的需求，目前主要國產飼料商品為大圓形乾草包（盤固草或尼羅草）以及大面積栽培的青割玉米（青飼及青貯），其主要應用者多為大型酪農戶，較小規模之羊、鹿場因飼料用量較少、無大型機具輔助搬運餵飼及地處偏遠運送不便等先天因素，若無小包裝產品的開發，較難同步受惠，僅能依賴小包裝進口飼料，不僅提高飼養成本，亦受各種國際因素影響，易造成供應及價格不穩定，影響產業發展。

打粒 (pelleting) 可提高材料的容積密度，以方便利用與運輸，是飼料、副產物、堆肥、肥料及燃料棒等常見的加工型式 (Zainuddin *et al.*, 2014; Netto *et al.*, 2019; Frodeson *et al.*, 2021)。打粒作業因材料特性、加工條件及機械設計不同而異，產出的料粒亦具不同特性 (Theerarattananon *et al.*, 2011; Tumuluru, 2014; Tumuluru *et al.*, 2016)。製粒的經濟性為產業化應用的重要因素。飼料的配方組成與製粒條件將影響飼料生產的效率及成本，同時亦可能影響動物的採食意願 (Coleman, *et al.*, 1978; Suwignyo *et al.*, 2022; Carroll *et al.*, 2024)。粒狀飼料是指由牧草為原料，經過破碎（或切碎）、壓製後形成顆粒形式的飼料，方便儲存、運輸和使用。飼料飼料通常被用作草食動物的主要或輔助飼料，提供其生長所需的營養和能量，它的成分可以根據動物的需求和生長階段進行調整，以確保動物得到均衡的營養。粒狀飼料的製作規模彈性大，可依人力、設備及需求而異，對小規模飼養戶而言，可以是另一種可能性。如 Dahlan *et al.* (2000) 於馬來西亞研究以飼料調製改善羊隻對油棕葉的採食量、消化率及拒食率；Jack *et al.* (2021) 用加勒比海當地植物 *Trichanthera gigantean* 葉片與商業飼料混合製作飼料養羊，以及透過調味改變飼糧之氣味、質地、味道（嚙）感官受器等達促進動物採食或改善非慣行飼糧之接受度、突破飽腹感 (Kalam *et al.*, 2023) 均為飼料利用實例。

盤固草為國產主要多年生牧草，本研究以盤固草為主體，進行數種粒狀飼料調製，比較不同飼料間的山羊適口性，探討飼料直徑、草種、混合比例對山羊採食偏好的影響，提供國內飼料調製與開發粒狀飼料參考。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2801 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

(3) 通訊作者，E-mail: smwang@tlri.gov.tw。

材料與方法

I. 粒狀飼料適口性試驗

- (i) 試驗動物：自畜產試驗所南區分所（以下簡稱南區分所）墾丁山羊族群中挑選體型接近（體重約 30 kg）之公羊 4 頭，飼養於 $1.5 \times 3 \text{ m}^2$ 的個別飼養欄，每一欄均備有飲水頭與鹽磚，可任羊隻自由取用。
- (ii) 適口性試驗：每批次試驗均以固定 4 頭山羊進行 4 種粒料之比較，連續進行 10 天，每日依固定模式進行適口性指標量測。試驗採逢機區集設計，以羊隻為區集，粒料處理每日逢機放置於 4 個飼槽。前 4 天適應期之資料不採計，僅以後 6 天之試驗資料進行統計分析。每個個別飼養欄之長條飼料槽上放置 4 個直徑 30 cm、深 15 cm 圓形飼槽，飼槽內分別放置定量之參試粒料處理。圓形飼槽位置每日逢機放置，以避免位置效應之影響。每日 13:30 開始餵飼試驗，記錄前 20 分鐘之每分鐘採食標的（以每分鐘內主要採食之處理作為記錄標的，一分鐘記錄一次，此為前期採食次數），及 1 小時、2 小時、3 小時之採食量。16:30 記錄結束後移除圓形食槽，施予 200 g 精料與盤固乾草任食，以補足每日所需之採食量。翌日上午 8:30 前清空飼料槽，13:30 再開始餵飼試驗。
- (iii) 粒狀飼料批次比較：共計進行 2 批次試驗，每批次進行 10 日，前 4 天為適應期，後 6 天依前述方法記錄適口性資料。
 - 1. 試驗 I：不同粒徑之盤固草與燕麥粒料比較，4 種參試驗粒狀飼料為：6 mm 盤固草粒料 (P-6)、8 mm 盤固草 (P-8) 粒料、6 mm 燕麥草粒料 (O-6)、8 mm 燕麥草粒料 (O-8)。每種粒料 200 g/head/day。
 - 2. 試驗 II：盤固草、苜蓿、燕麥混合粒料之比較，4 種參試驗粒狀飼料為：盤固草粒料 (P-8)、9/1 比例混合盤固草 / 苜蓿粒料 (P/A 9/1)、1/1 比例混合盤固草 / 苜蓿粒料 (P/A 1/1)、4/1 比例混合盤固草 / 燕麥粒料 (P/O 4/1)。每種粒料 200 g/head/day。

II. 試驗粒料製作

本研究進行的各種粒料原料：盤固草、燕麥、苜蓿收穫自南區分所牧草區，共計製作 7 種不同粒料，除直徑 6 mm 的盤固草粒及燕麥料外，其他各種粒料均為直徑 8 mm。製作完成的粒料均保存於冷藏庫（10°C）至試驗進行前再回溫至室溫。於試驗前、後進行各種處理粒料取樣，烘乾磨粉後進行營養組成分析。7 批粒料營養組成分析如表 1。

表 1. 本研究各種粒狀飼料之營養組成

Table 1. The nutrient composition of pellets in this study

Pellets *	Crude protein	Neutral-detergent fiber	Acid-detergent fiber	Water soluble carbohydrate	Starch
	%				
P-8	4.93 ± 0.15	70.90 ± 0.62	43.96 ± 0.64	7.71 ± 0.04	8.94 ± 0.05
P-6	4.16 ± 0.14	76.14 ± 0.72	45.34 ± 0.72	3.17 ± 0.06	12.48 ± 0.12
O-8	13.65 ± 0.05	49.19 ± 0.50	30.59 ± 0.82	13.24 ± 0.43	4.72 ± 0.11
O-6	12.98 ± 0.20	57.12 ± 0.99	40.85 ± 0.16	5.22 ± 0.17	7.04 ± 0.35
P/A 9/1	6.38 ± 0.10	69.78 ± 0.23	43.64 ± 0.42	8.36 ± 0.16	8.39 ± 0.24
P/A 1/1	11.47 ± 0.10	61.76 ± 1.61	42.91 ± 0.50	4.67 ± 0.05	7.19 ± 0.06
P/O 4/1	6.30 ± 0.14	69.44 ± 0.68	42.86 ± 0.64	6.20 ± 0.10	9.74 ± 0.12

* P-8, 8 mm diameter pangola grass pellet; P-6: 6 mm diameter pangola grass pellet; O-8: 8 mm diameter oat pellet; O-6: 6 mm diameter oat pellet; P/A 1/1: the mixture of 1:1 ratio of pangola grass/alfalfa pellet, 8 mm diameter; P/A 9/1: the mixture of 9:1 ratio of pangola grass/alfalfa pellet, 8 mm diameter; P/O 4/1: the mixture of 4:1 ratio of perennial ryegrass/oat pellet, 8 mm diameter.

III. 營養組成分析

- (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 ANKOM 2000 操作手冊，依 van Soest *et al.* (1991) 之方法設計，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：依照 ANKOM 2000 操作手冊採添加 α -amylase 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 4 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 anthron 呈色法進行。
- (v) 濕粉的測定：先以 80% 的酒精於 80°C 下萃取除去 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 anthron 呈色法測定含量。

IV. 統計分析

試驗收集資料以 SAS 軟體之一般線性模式 (GLM Procedure) (SAS, 2002) 進行變方分析，主效應為粒料及羊隻，各主效應均為固定型，各處理平均值再以鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's Multiple Range Test) 進行檢定，比較各處理平均值之間是否達差異顯著。

結果與討論

I. 盤固草與燕麥不同粒徑粒料之適口性比較

試驗 I 變方分析結果顯示 (表 2)，粒料、羊隻主效應以及粒料羊隻交感效應在初始 20 分鐘採食次數 (bouts/20 min)、1 小時累計乾物採食量 (DMI-1 hr)、2 小時累計乾物採食量 (DMI-2 hr) 及 3 小時累計乾物採食量 (DMI-3 hr) 等適口性指標上均為極顯著 ($P < 0.01$)，而且粒料主效應之均方遠高於其他。表示試驗粒料間確具適口性差異，羊隻個體適口性也具顯著差異，同時個別羊隻對粒料的適口性表現不完全一致。

表 2. 盤固草與燕麥不同粒徑粒料適口性試驗之變方分析

Table 2. The ANOVA results in the palatability trial of pangola grass and oat hay pellets with different diameter

Source	DF [#]	Mean square			
		Bout/20 min	DMI-1 h	DMI-2 h	DMI-3 h
Date	5	3.0	1,606.3*	9,548.5**	9,378.4*
Goat	3	17.6**	38,424.8**	32,823.9**	38,019.7**
Pellet	3	113.9**	154,776.4**	103,252.7**	67,386.5**
Date × Goat	15	1.8	1,426.4**	4,934.6*	4,175.2
Goat × Pellet	9	25.2**	13,974.1**	10,020.0**	8,213.4**
Error	60	3.2	521.7	2,600.4	2,949.0

[#] DF: degree of freedom.

* Significant at 5% level, ** Significant at 1% level.

平均值比較之結果顯示 (表 3)，8 mm 盤固草粒料 (P-8) 的平均 Bouts/20 min 僅為 0.7，顯著低於 O-6、O-8 及 P-6 的 4.2、5.7 及 4.6 次，表示相對於其他三者，8 mm 盤固草粒料是最不被青睞的，初始採食次數最高者為 8 mm 的燕麥粒料 (O-8)，顯著高於 O-6 及 P-6，O-6 的初始採食次數略低於 P-6，但二者間差異不顯著；採食量方面，不論盤固草或燕麥，直徑 6 mm 粒料的採食量均高於 8 mm 粒料，盤固草粒料的粒徑差異在 DMI1 h 及 DMI-2 h 上顯著，燕麥粒料僅在 DMI-1 h 上表現顯著的粒徑差異，而盤固草與燕麥粒料間則在 DMI-1 h、DMI-2 h 及 DMI-3 h 上均差異顯著，表示山羊對燕麥粒料的喜好高於盤固草粒料，同時粒徑 6 mm 的粒料適口性優於 8 mm 粒料。另，由表 1，試驗粒料 O-6、O-8 的營養組成差異頗大，是由不同批原料製作之故，且由此結果似顯示粒料的適口性高低未受營養組成高低的影響，然此仍須更多的試驗確認。

羊隻對參試粒料的整體表現是 D > C > B > A，A 羊整體的採食次數與採食量 (bouts/20 min、DMI-1 h、DMI-2 h 及 DMI-3 h) 均顯著低於其他羊隻 (表 4)，另由羊隻對此 4 種參試粒料的 1 小時乾物採食量表現，可發現對參試粒料的偏好程度有個別差異存在 (圖 1)，如 P-6 於 D 羊高於其他羊隻，除可能與羊隻個體的食量大小有關外，個體羊隻的偏好程度可能也有影響。

表 3. 盤固草與燕麥不同粒徑粒料的採食次數與乾物採食量比較

Table 3. Comparison of bouts and dry matter intake of pangola grass and oat hay pellets with different particle diameters

Pellet*	Bout/20 min	DMI-1 h	DMI-2 h	DMI-3 h
	g/head			
O-6	4.2 ^b	186.9 ^a	192.6 ^a	201.7 ^a
O-8	5.7 ^a	165.1 ^b	176.0 ^a	178.8 ^a
P-6	4.6 ^b	81.9 ^c	95.4 ^b	117.1 ^b
P-8	0.7 ^c	12.0 ^d	54.7 ^c	87.6 ^b

* As shown in table 1.

a, b, c, d Means in the same column with different superscripts show significant differences among pellet treatments ($P < 0.05$).

表 4. 盤固草與燕麥不同粒徑粒料適口性試驗中的山羊個體比較

Table 4. Comparison of individual goat performance in palatability test of pangola grass and oat hay pellets with different particle diameters

Goat	Bout/20 min	DMI-1 h	DMI-2 h	DMI-3 h
	g/pellet			
A	2.7 ^b	56.6 ^c	78.0 ^b	92.4 ^c
B	4.5 ^a	116.1 ^b	137.4 ^a	146.9 ^b
C	3.5 ^{ab}	120.5 ^b	137.2 ^a	158.4 ^{ab}
D	4.5 ^a	152.9 ^a	166.0 ^a	187.6 ^a

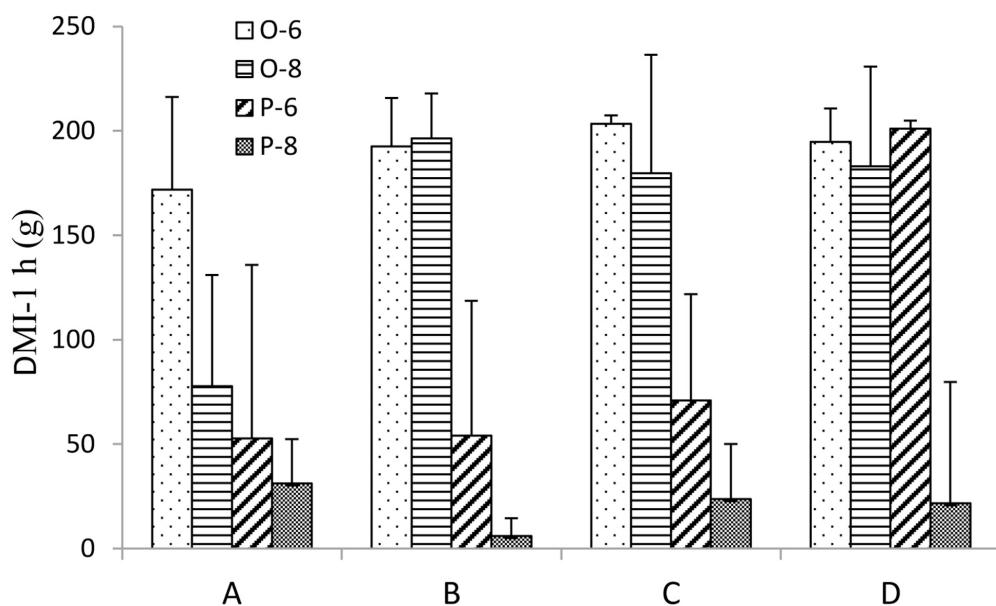
a, b, c Means in the same column with different superscripts show significant differences among goats ($P < 0.05$).

圖 1. 不同羊隻 (A、B、C、D) 對適口性試驗 I 中 6 mm、8 mm 盤固草及燕麥粒料之 1 小時乾物採食量。

Fig. 1. The dry matter intake of 6 mm, 8 mm pangola grass and oat hay pellets by different goat (A, B, C, D) in palatability trail I for one hour. O-6, O-8, P-6, P-8 shown as table 1.

II. 盤固草與不同盤固草 / 首蓿及盤固草 / 燕麥混合粒料適口性比較

試驗 II 的變方分析結果顯示 (表 5)，對初始採食次數而言，影響的主要變因為粒料處理，其他因子都不顯著；對採食量方面則是日期、羊隻及粒料三個主效應都極顯著。

平均值比較方面 (表 6)，P/A 9/1 粒料的 Bouts/20 min、DMI-1 h、DMI-2 h 及 DMI-3 h 分別為 6.5 次、

133.4 g、137.6 g、143.5 g 顯著高於 P/A 1/1、P/O 4/1 及 P-8 三種粒料，P/A 1/1 與 P/O 4/1 二者的適口性表現相近，而四種參試粒料中以單純盤固草粒 (P) 的適口性表現最差，Bouts/20 min、DMI-1 h、DMI-2 h 及 DMI-3 h 分別為 2.3 次、58.2 g、77.6 g 及 112.3 g，表示添加苜蓿、燕麥等優質乾草有助於提升盤固草適口性，且提升效果與添加比例間不具線性關連。

表 7 為適口性試驗參試羊隻對參試粒料的平均表現，4 頭參試羊隻在 Bouts/20 min 上差異不顯著，但在 DMI-1 h、DMI-2 h 及 DMI-3 h 都有顯著差異，D 羊對參試粒料的採食量高於其他羊隻。圖 2 同樣可見 D 羊的反應與其他羊隻間的差異較大，其對 4 種參試粒料的 1 小時採食量介於 130 – 152 g 間，對不同粒料的喜好程度差異不大，且其對參試粒料的偏好順序也與其他羊隻不同，其他 3 頭羊基本上維持相同的偏好次序，但由目前結果尚無法推測可能原因。

表 5. 盤固草、苜蓿與燕麥混合粒料適口性試驗之變方分析

Table 5. The ANOVA results in the palatability trial of mixture pellets by different pangola grass, alfalfa and oat hay

Source	DF [#]	Mean square			
		Bout	DMI-1 h	DMI-2 h	DMI-3 h
Date	5	3.0	4,857.0 ^{**}	4,157.7 ^{**}	6,903.0 ^{**}
Goat	3	1.3	35,440.4 ^{**}	20,502.9 ^{**}	9,280.8 ^{**}
Pellet	3	93.5 ^{**}	25,513.9 ^{**}	15,938.8 ^{**}	3,873.9 ^{**}
Date × Goat	15	0.5	1,527.2	2,127.1 ^{**}	2,908.4 ^{**}
Goat × Pellet	9	10.3	4,814.9 ^{**}	2,897.4 ^{**}	937.0
Error	59	8.5	976.1	897.1	622.1

[#] DF: degree of freedom.

* Significant at 5% level, ** Significant at 1% level.

表 6. 不同盤固草、苜蓿與燕麥混合粒料的採食次數與乾物採食量比較

Table 6. Comparison of bouts and dry matter intake of mixture pellets by pangola grass, alfalfa and oat hay

Pellet [*]	Bout/20 min	DMI-1 h	DMI-2 h		DMI-3 h
			g/head		
P-8	2.3 ^c	58.2 ^d	77.6 ^c	112.3 ^b	
P/A 1/1	3.9 ^{bc}	84.2 ^c	113.5 ^b	127.8 ^b	
P/A 9/1	6.5 ^a	133.4 ^a	137.6 ^a	143.5 ^a	
P/O 4/1	5.6 ^{ab}	104.2 ^b	115.6 ^b	125.1 ^b	

^{*} As shown in table 1.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts show significant differences among pellet treatments ($P < 0.05$).

表 7. 不同盤固草、苜蓿與燕麥混合粒料適口性試驗中的山羊個體比較

Table 7. Comparison of individual goat performance in palatability trial of mixture pellets by pangola grass, alfalfa and oat hay

Goat	Bout/20 min	DMI-1 h	DMI-2 h		DMI-3 h
			g/pellet		
A	4.5	100.3 ^b	117.4 ^b	139.9 ^a	
B	4.6	60.0 ^c	83.4 ^c	110.0 ^b	
C	4.1	69.0 ^c	91.3 ^c	111.2 ^b	
D	4.7	145.1 ^a	147.8 ^a	147.8 ^a	

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts show significant differences among goats ($P < 0.05$).

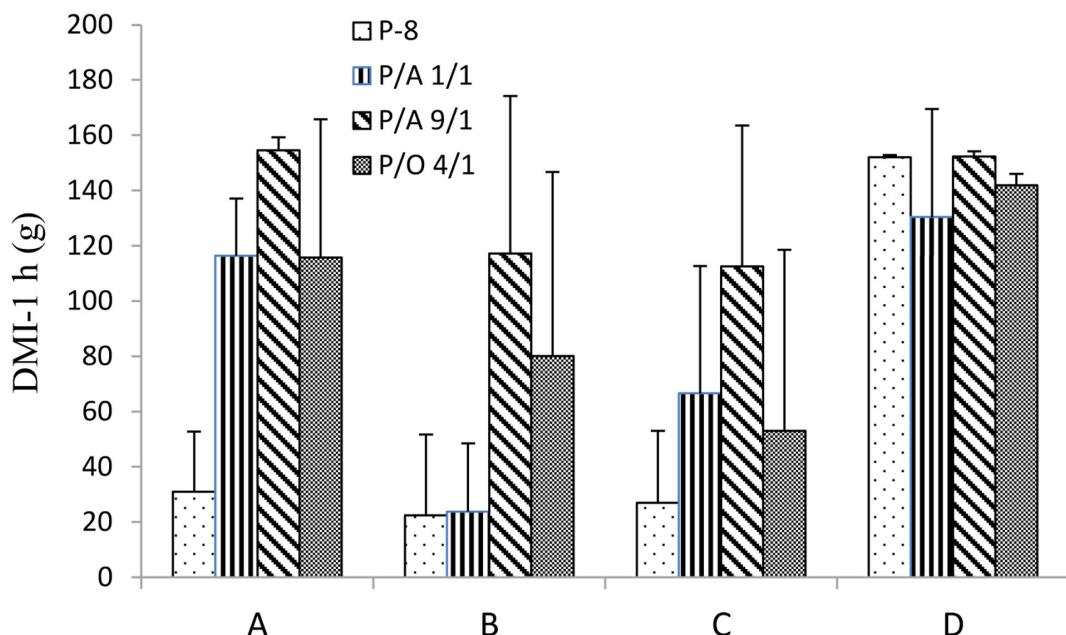


圖 2. 不同羊隻 (A、B、C、D) 對適口性試驗 II 中 6 mm、8 mm 盤固草及燕麥粒料之 1 小時乾物採食量。

Fig. 2. The dry matter intake of pangola grass, alfalfa and oat hay mixture pellets by different goat (A, B, C, D) in palatability trial II for one hour. P-8, P/A 1/1, P/A 9/1, PO 4/1 shown as table 1.

III. 討論

適口性的影響因子複雜，觸覺、嗅覺、味覺、外觀以及採食後的反應都可能影響動物飼糧的適口性，Robertson *et al.* (2006) 以成對比較的方式，測試綿羊及山羊對草莓、蘋果、柳橙、楓糖、焦糖、松露、大蒜及洋蔥等人工香料處理大麥稈粒料的偏好性，發現羊種與味道處理均具顯著差異。Miller-Cushon *et al.* (2014) 以二組乳牛犢試驗檢測對蛋白質飼料的偏好 (選擇性)，發現牛犢對黃豆粕的偏好顯著高於菜籽粕，顯示其對飼糧有特定偏好。Meagher *et al.* (2017) 的研究發現乳牛偏好恆定或習慣的飼糧，平均僅有 20% 的時間會花在多樣化飼料箱前進食，作者們認為牛隻的探索性覓食行為與對飼料多樣性的偏好是穩定的個體特徵，且個體間存在顯著差異。Neave *et al.* (2018) 的回顧研究則表示，反芻動物在進食行為的發展和表現上存在著巨大的個體差異，而且這種差異無法完全用遺傳、管理、體型或生長速度的差異來解釋。Cellier *et al.* (2022) 則表示雖然山羊的採食偏好會受飼糟位置的影響，但仍以物種的影響較直接。Oyewole and Aderinola (2019) 的研究顯示不論在營養及經濟方面，應用禾豆混植粒料有助於西非小規模養羊產業發展。

結 論

本研究的目的並非廣泛性的探討影響粒狀飼料適口性的因子與差異，而是以未來是否可能經由生產過程的調整改善，以提升國產飼料適口性的角度來進行。本研究結果顯示，6 mm 粒徑的山羊適口性優於 8 mm，顯示利用較小粒徑的孔盤打粒有助提高山羊對盤固草粒料之採食。添加部分苜蓿或燕麥等較高品質的牧草可以顯著提升國產盤固草粒料的適口性。

參考文獻

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14 ed. Washington DC. pp.125-142.
- Carroll, A. L., G. M. Fincham, K. K. Buse, and P. J. Kononoff. 2024. Feed preference in lactating dairy cows for different pellet formulations. *JDS Communications*. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2023-0517>.
- Cellier M, B. L. Nielsen, C. Duvaux-Ponter, H. B. R. Freeman, R. Hannaford, B. Murphy, E. O'Connor, K. R. L. Cote, H. W. Neave, and G. Zobel. 2022. Browse or browsing: Investigating goat preferences for feeding posture, feeding height and

- feed type. *Front. Vet. Sci.* 9: 1032631.
- Coleman, S. W., O. Neri-Flores, R. J. Allen Jr., and J. E. Moore. 1978. Effect of pelleting and of forage maturity on quality of two sub-tropical forage grasses. *J. Anim. Sci.* 46: 1103-1112.
- Dahlan, I. M., M. Islam, and M. A. Rajion. 2000. Nutrient intake and digestibility of fresh, ensiled and pelleted oil palm (*Elaeis guineensis*) frond by goats. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 13: 1407-1413.
- Frodeson, S., A. I. Anukam, J. Berghel, M. Ståhl, R. L. K. Nilsson, G. Henriksson, and E. B. Aladejana. 2021. Densification of wood - Influence on mechanical and chemical properties when 11 naturally occurring substances in wood are mixed with beech and pine. *Energies* 14: 5895.
- Jack, H. A., L. M. Cranston, J. L. Burke., M. Knights, and P. C. H. Morel. 2021. The effects of increasing concentrations of *Trichanthera gigantea* leaves in pellets on the nutritive value and short-term intake of diets of grass plus pellets offered to lambs reared under tropical conditions in the Caribbean. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales* 9: 383-390.
- Kalam, S. M., H. H. Savsani, M. R. Chavda, M. D. Odedra, Deendayal, H. P. Naliyapara, S. D. Patel, and S. Y. Belim. 2023. Flavoured additives in ruminant nutrition: a review. *Indian J. Anim. Nutr.* 40: 1-8.
- Meagher, R. K., D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2017. Some like it varied: individual differences in preference for feed variety in dairy heifers. *Applied Animal Behaviour Science* 195: 8-14.
- Miller-Cushon, E. K., M. Terré, T. J. DeVries, and A. Bach. 2014. The effect of palatability of protein source on dietary selection in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 97: 4444-4454.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- Neave, H. W., D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2018. Review: Individual variability in feeding behaviour of domesticated ruminants. *Animal* 12: s419-s430.
- Netto, M. V. T., A. Massuquetto, E. L. Krabbe, D. Surek, S. G. Oliveira, and A. Maiorka. 2019. Effect of conditioning temperature on pellet quality, diet digestibility, and broiler performance. *J. App. Poult. Res.* 0: 1-11.
- Oyewole, S. and O. Aderinola. 2019. Growth performance and bio-economic indices of varying mixtures of grass-legume pellets fed to west african dwarf (wad) goats. *J. Bio. Agri. Healthc.* 9: 55-62.
- Robertson, E., I. J. Gordon, and F. J. P'erez-Barber'ia. 2006. Preferences of sheep and goats for straw pellets treated with different food-flavouring agents. *Small Rumin. Res.* 63: 50-57.
- SAS. 2002. SAS/STAT® 9. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Suwignyo, B., R. D. Subagya, and A. Astuti. 2022. The effect of composition and raw materials differences on yield, quality and price of forage feed pellets. *Adv. Bio. Sci. Res.* 21: 262-264.
- Theerarattananoon, K., F. Xu, J. Wilson, R. Ballard, L. McKinney, S. Staggenborg, P. Vadlani, Z. J. Pei, and D. Wang. 2011. Physical properties of pellets made from sorghum stalk, corn stover, wheat straw, and big bluestem. *Ind. Crops Prod.* 33: 325-332.
- Tumuluru, J. S. 2014. Effect of process variables on the density and durability of the pellets made from high moisture corn stover. *Biosyst. Eng.* 119: 44-57.
- Tumuluru, J. S., C. C. Conner, and A. N. Hoover. 2016. Method to produce durable pellets at lower energy consumption using high moisture corn stover and a corn starch binder in a flat die pellet mill. *J. Vis. Exp.* 112: e54092.
- 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.
- Zainuddin, M. F., S. Rosnah, M. M. Noriznan, and I. Dahlan. 2014. Effect of moisture content on physical properties of animal feed pellets from pineapple plant waste. *Agric. Sci. Procedia* 2: 224-230.

Effects of different particle sizes and forage species combined forage pellet on goat palatability⁽¹⁾

Shu-Min Wang⁽²⁾ and Chia-Sheng Chen⁽²⁾⁽³⁾

Received: Jun. 11, 2024; Accepted: Aug. 23, 2024

Abstract

This study aims to understand the effects of factors such as particle size (diameter), raw material composition, and composition ratio on the palatability of forage pellets, providing a reference for the development of domestically produced pangola grass pellets. Two batches of goat palatability trials were conducted in the study, with each batch comparing four types of forage pellets. The trials involved four castrated male goats, each weighing approximately 30 kg, housed individually (four replicates). The palatability indicators compared were the number of bouts within the first 20 minutes after feeding and the cumulative dry matter intake at 1, 2, and 3 hours post-feeding. In Experiment I, a comparison of four types of forage pellets, including 6 mm and 8 mm pangola grass and oat hay, was conducted. The results showed significant differences among treatments; oat (temperate grass) had better palatability than pangola grass (tropical grass), and the smaller size of 6 mm pellets were more palatable than the 8 mm ones. In Experiment II, comparisons were made among four types of pellets: pure pangola grass, pangola grass/oat (4/1), pangola grass/alfalfa (9/1), and pangola grass/alfalfa (1/1). The results indicated that pure pangola grass pellets had significantly lower palatability indicators compared to the mixed pellets tested. The pangola grass/alfalfa (9/1) mixture had the best palatability, significantly better than both the pangola grass/oat (4/1) and pangola grass/alfalfa (1/1) mixtures. This suggests that the addition of alfalfa and oat can significantly improve the palatability of pangola grass pellets, and the enhancement effect of alfalfa does not increase with a higher addition rate, as a small amount of alfalfa significantly enhances the palatability of pangola grass.

Key words: Pelletized forage, Goat, Palatability.

(1) Contribution No. 2801 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

乳牛糞和虻糞的菌相調查⁽¹⁾

梁世祥⁽²⁾⁽⁴⁾ 李佳馨⁽³⁾ 王思涵⁽³⁾

收件日期：111 年 8 月 3 日；接受日期：113 年 9 月 16 日

摘要

本研究以固液分離後的乳牛糞做為黑水虻幼蟲的飼養基質，探討經幼蟲轉化後的乳牛糞殘餘物即虻糞，其菌相組成變化與乳牛糞之差異，透過乳牛糞及虻糞的微生物的消長變化，評估應用黑水虻幼蟲處理乳牛糞產生虻糞的衛生安全性。本研究自乳牛糞和虻糞樣品中共獲得 35 與 34 百萬鹼基對，分別有 72,027 和 62,530 條操作分類單元，樣品之菌分類群比例在科級分類階層歧異度逐漸增加，在屬和種的分類階層歧異度差異更為明顯。與乳牛糞中菌種相比較，在虻糞含有可能造成牛致病的菌種，比例下降的菌共有 13 種，可能造成牛致病的菌種，比例上升的共有 9 種，這些菌種大部分上升幅度都不高，其中梭菌屬的菌種是否屬機會性致病菌，則需進一步探討。結果顯示虻糞存有少量的牛致病菌，比例雖然不高，但使用上仍應有衛生安全操作觀念，避免機會型致病菌對牛隻造成可能的危害。

關鍵詞：乳牛糞、虻糞、黑水虻幼蟲、菌相。

緒言

依據 109 年農業統計年報，臺灣地區牛隻飼養種類包括水牛、乳牛、黃牛和雜種牛，在養頭數分別為 2,002、143,532 和 15,590 頭，總計 161,124 頭（行政院農業委員會，2021），若以平均每頭牛體重約 500 公斤，其每日排出糞量約 25 公斤做為計算基礎（行政院農業委員會畜產試驗所，2010），在養牛隻每天總共產生牛糞 4,028 公噸，全年共生產牛糞 147 萬公噸，是很可觀的數量。國內主要是利用微生物堆肥化操作管理，將固液分離後的乳牛糞製作成有機質堆肥，便於回歸農業耕地應用（林，1998）。由於有機質堆肥生產過程費時耗能，且產生難聞氣味、溫室氣體、污水和粉塵，也會影響堆肥工作人員身心健康和建築與設備的耗損。因此應用昆蟲黑水虻幼蟲轉化乳牛糞進行資源再利用處理，快速減少乳牛糞的體積和重量，縮短難聞氣味存在的時間，避免溫室氣體的產生，排放較少的污水和產生較少的粉塵，為有助於改善畜牧業廢棄物污染防治的經營管理課題（梁及蕭，2014）。

黑水虻 (*Black Soldier Fly, Hermetia illucens*) 屬於完全變態類的昆蟲，幼蟲取食有機資源物，成蟲以貝氏擬態模擬類似木胡蜂等昆蟲，以警告天敵避免被捕食，廣泛分佈在溫帶和熱帶區域。世界糧農組織在可食性昆蟲專刊提到，黑水虻是具有量產養殖潛力的昆蟲種類，能有效轉換農業有機資源物為高附加價值副產物，協助農業資源循環再利用，是對人類有益且重要的資源昆蟲（FAO, 2013）。幼蟲能生活在各種腐敗的有機資源物中，例如畜禽糞、廚餘和食品廢棄物等（Oonincx *et al.*, 2015），推測幼蟲體內具有抑菌和抗菌等物質，使幼蟲在各種極端的環境條件仍適應生長。幼蟲也富含蛋白質、脂肪酸、礦物質和維生素，有機會成為區域性的動物性蛋白質飼料原料資源，可替代畜禽生產使用之飼料原料中的魚粉和大豆蛋白（Cullere *et al.*, 2016; Tomberlin *et al.*, 2002），所以幼蟲是否帶有或沾黏潛在危險的致病病原菌，是許多國家在發展微型畜牧業（即昆蟲產業）於飼料衛生安全應用評估中，關切的議題（de Smet *et al.*, 2018）。

乳牛糞經黑水虻幼蟲處理後的殘餘物，可稱之為虻糞 (frass)，後續可再做為堆肥的原料或其它產業的材料應用（Beesigamukama *et al.*, 2020），例如固態衍生燃料 (refuse derived fuel, RDF) 等，為了解乳牛糞和虻糞，是否可能帶有對人或動物健康造成危害的人畜共通致病菌 (Zoonotic pathogens)，使工作人員存有接觸風險，或可能因施用或使用

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2802 號。

(2) 農業部畜產試驗所技術服務組。

(3) 農業部畜產試驗所北區分所。

(4) 通訊作者，E-mail: shliang@thri.gov.tw。

受污染的副產物或產品，造成病原存在於環境以致於感染動物甚至是人，危及人畜生命等衛生安全風險，故從現場管理操作人員的健康安全風險和副產物或產品的衛生安全風險考量（羅，2015），針對乳牛糞和虻糞進行初步的菌相調查，有助於釐清潛在的衛生安全風險。

早期的研究指出，額外添加出血性大腸桿菌 (*Escherichia coli* O157 : H7) 和沙門氏桿菌 (*Salmonella* spp.) 在以牛糞或雞糞為黑水虻幼蟲的飼養基質中，與未含有黑水虻幼蟲存在之飼養基質為對照組進行比較。對照組之病原性微生物的數量與加入時沒有顯著差異，試驗組之病原性微生物數量會因幼蟲的存在，呈現大量減少的結果，顯示幼蟲確實具有抑菌和抗菌等物質，能影響環境或飼養基質中不同微生物種類的生長與殘存 (Erickson *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2008)。以雞飼料和植物性廢料做為黑水虻幼蟲飼養基質試驗，顯示飼養基質的種類和飼養時間的長短等，其菌相調查得到的結果都不相同。除了幼蟲本身的影響外，不同微生物菌種之間彼此的生存競爭，也會影響菌相調查的結果 (Boccazzi *et al.*, 2017)。在以雞飼料和廚餘為飼養基質的試驗中，*Providencia* spp. 是幼蟲消化道中主要存在的共同菌種，*Morganella* spp. 和 *Brevibacterium* spp. 為雞飼料飼養的幼蟲消化道中主要菌種，而 *Staphylococcus* spp. 和 *Bordetella* spp. 則是以廚餘飼養的幼蟲消化道為主要菌種 (Shumo *et al.*, 2021)。還有以雞飼料、草屑和蔬果渣分別做為黑水虻幼蟲飼養基質，發現 3 種不同的飼養基質，對幼蟲消化道的微生物菌相並不會造成顯著的影響，表示幼蟲消化道中存在有核心的微生物菌落，這些菌落是由多種低豐度分類群支持，像是 *Actinomyces* spp.、*Dysgonomonas* spp. 和 *Enterococcus* spp.，這些微生物種類在幼蟲消化道內協助轉換有機資源物的營養代謝及吸收 (Klammsteiner *et al.*, 2020)。而透過幼蟲處理乳牛糞或堆肥，能減少揮發性脂肪酸的積累，提升總養分含量，最終能改善虻糞或堆肥的質量 (Liu *et al.*, 2019)。目前大多數研究以探討幼蟲消化道菌相為主，少部分探討虻糞菌相和原材料如乳牛糞之間的比較，故本研究探討用乳牛糞做為餵飼黑水虻幼蟲基質前後，乳牛糞和虻糞的菌相種類及變化，可做為後續其製成之副產品和產品接觸使用的衛生安全評估參考。

材料與方法

I. 供試黑水虻材料及試驗方法

試驗所使用的黑水虻西湖品系 (Xihu line) 是 2010 年於苗栗縣西湖鄉野外誘引，經鑑定比對確認，在農業部畜產試驗所北區分所實驗室內，繼代飼養超過 10 代以上獲得，維持其族群供試驗使用。黑水虻幼蟲在直立式生長箱 (溫度 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ；溼度 75%；光照 16L : 8D) 進行飼養，餵飼經滅菌過的配方飼料，由麩皮和玉米粉組成 (重量比 4 : 1)，含水率 65%。黑水虻幼蟲發育至預蛹期，具有類似跳蛹習性，即老熟幼蟲化蛹前會離開飼料基質，另尋乾燥縫隙處化蛹 (Sheppard *et al.*, 2002)，因此利用雙層塑膠密盆 (內盆，長 36.4 cm × 寬 28.5 cm × 高 7.8 cm；外盆，長 52.5 cm × 寬 42.4 cm × 高 12.5 cm) 飼養，內盆放入約 3,000 隻幼蟲，當幼蟲發育到預蛹期時，即爬出內層密盆，於內外塑膠密盆夾縫間化蛹 (圖 1)，將收集的虻蛹另以密盆裝盛，置放於繁殖網室內 (長 3 m × 寬 2 m × 高 1.8 m)。準備珍珠板置於繁殖室的置物架 (長 60 cm × 寬 45 cm × 高 90 cm) 上以便收集虻卵，珍珠板先以 75% 酒精擦拭及噴灑，以減少微生物污染，待成蟲羽化交尾後，雌虻將會在珍珠板上產卵。收集的水虻卵團以塑膠容器 (直徑 9 cm × 高 9 cm) 保存，水虻卵團再置於生長箱內孵化，完成世代循環飼養。

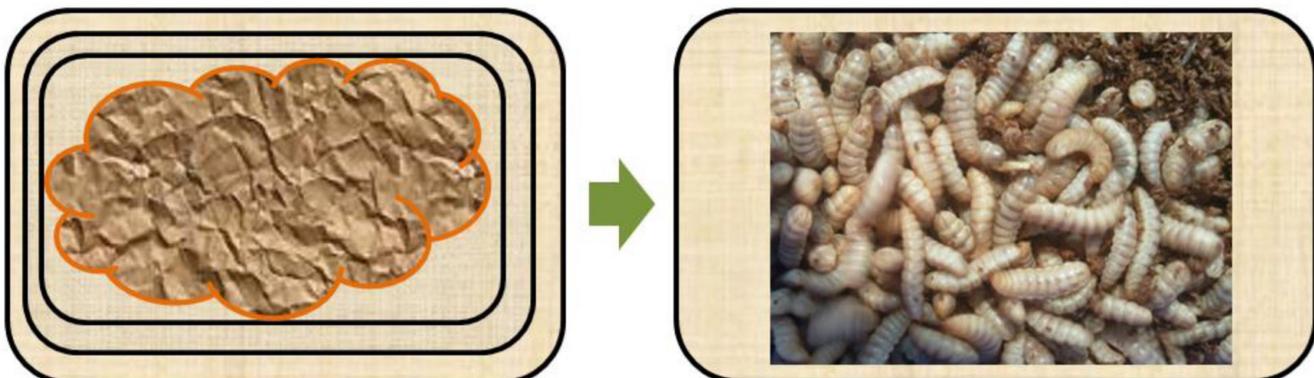


圖 1. 雙層塑膠盆培養示意圖。左：雙層塑膠密盆飼養，右：取出內盆，虻蛹即在盆內。

Fig. 1. The diagram of double plastic pot culture. Left: double plastic pot culture; Right: take out the inner pot, the prepupa was in the pot.

II. 試驗材料採樣和處理設計

在畜產試驗區北區分所乳牛場採集經固液分離之乳牛糞 (CM) 固形物樣本，乳牛糞樣立即分裝做為飼料基質使用或保存於 -20°C 冰箱備用。準備經酒精擦拭過的塑膠杯，每杯裝填 142 公克乳牛糞，加入滅菌飼料配方飼養 10 天的黑水虻幼蟲 2.84 公克 (約 142 隻)，以 32 目白色塑膠網蓋在塑膠杯上，避免被其它生物入侵污染，將塑膠杯放入直立式生長箱內養殖 5 天後，過篩將虻糞 (乳牛糞殘餘物) 和幼蟲分開，虻糞 (F) 採樣後，置於離心管備用，計 3 重覆 (圖 2)。



圖 2. 試驗設計。乳牛糞和虻糞收集條件。左：乳牛糞，中：乳牛糞和幼蟲放入培養容器，右：虻糞。

Fig. 2. Experimental design. Cow manure and frass collection conditions. Left: cow manure; Middle: cow manure (142 g) and larvae (2.84 g) in breeding containers; Right: frass.

III. 乳牛糞和虻糞之微生物總體基因體萃取與分析

乳牛糞樣品和虻糞樣品，每重覆收集 0.2 g 置於 2 mL 離心管，以 Genomic DNA Kit (Qiagen, Inc) 萃取套組，萃取基因組 DNA 10 µg，由圖爾斯生物科技股份有限公司利用聚合酶鏈反應增幅細菌的 16S 核糖體基因 (rDNA) 序列的第三至第四變異區，採用的引子組序列如下：16s_illumina_V3F 引子：(5'-CCTACGGNGGCWGCAG-3') 及 16s_illumina_V4R 引子：(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')，進行 PCR 增幅反應，所增幅細菌菌群的 16S rDNA 序列，在 Illumina NovaSeq 6000 定序平臺將 DNA 樣品建庫定序及菌相資訊統計分析，針對不同樣品之間的微生物群落組成做差異分析比較。根據物種註釋及操作分類單元 (operational taxonomic units, OTUs) 豐度資訊，將相同分類的 OTUs 資訊合併處理得到物種豐度表，根據每個樣品的計數量化樣品之間的成分差異的統計量 (Moore, et al., 2017)。

結果與討論

I. 樣品菌相初步分析

本研究自乳牛糞和虻糞樣品中共獲得約 35,041,113 與 33,941,858 鹼基對 (bp)，72,027 和 62,530 條 OTUs，經由 Illumina NovaSeq 6000 定序所得之結果，經生物資訊分析後，共發現 612 個細菌的 16S rDNA 序列片段，分別於乳牛糞得到 417 個序列，虻糞得到 522 個序列，其在各生物分類階層的相對豐度概觀，不同菌分類群在不同生物分類階層由不同顏色顯示，菌分類群比例以條帶的長度顯示，不同生物分類階層間顏色並無相關性，2 樣品之菌分類群比例在科級的分類階層有顯著差異增加，可能由於乳牛糞經幼蟲改質後，受幼蟲帶有的菌群影響，造成菌分類群及其比例的差異在屬級和種級的分類階層更為顯著 (圖 3)。黑水虻幼蟲能在不同種類的基質環境生長，被認為其自身帶有相伴共生的核心菌群 (Klammsteiner et al., 2020)，並非單純的以乳牛糞中原有的菌種去進行應用，來達到營養轉化的目的，這點從種級分類階層的菌種豐度不同即可看出差異。

II. 乳牛糞的菌相分析

乳牛糞所含的細菌 16S rDNA 序列，經生物資訊分析後，得到共 417 個 16S rDNA 序列片段，隸屬於 16 門、29 紲、53 目、93 科和 282 屬，其細菌種類鑑定與分布變化，在門的分類層級，以擬桿菌門、厚壁菌門和變形菌門 3 者占 90.1% 的豐度，分別為 42.7、32.0 和 14.9%；在綱的分類層級，以擬桿菌綱、梭菌綱和丙型變形菌綱 3 者占 77.0% 的豐度，分別為 32.1、31.2 和 13.7%；在目的分類層級，以擬桿菌目、芽孢桿菌目和假單胞菌目 3 者占 73.8% 的豐度，分別為 32.1、31.2 和 10.5%；在科的分類層級，以紫單胞菌科、毛螺菌科、莫拉氏菌科、瘤胃菌科和擬桿菌科 5 者占 59.6% 的豐度，分別為 11.3、11.1、10.1、9.8、9.6 和 7.7%；在屬的分類層

級，以不動桿菌屬的豐度最高，占 10.1%，其它無法鑑定屬別，且豐度在 5% 以上的有 5 個，占 38.9% 的豐度，5-7N15 屬占 5.6% 的豐度；在種的分類層級，有 190 種類被鑑定出來，其中不動桿菌屬 (*Acinetobacter*) 的 *A. lwoffii* 和 *A. johnsonii*，分別占 3.7% 和 2.8% 的豐度，其它無法鑑定種別，且豐度在 5% 以上的有 6 個，占 44.5%（圖 3）。

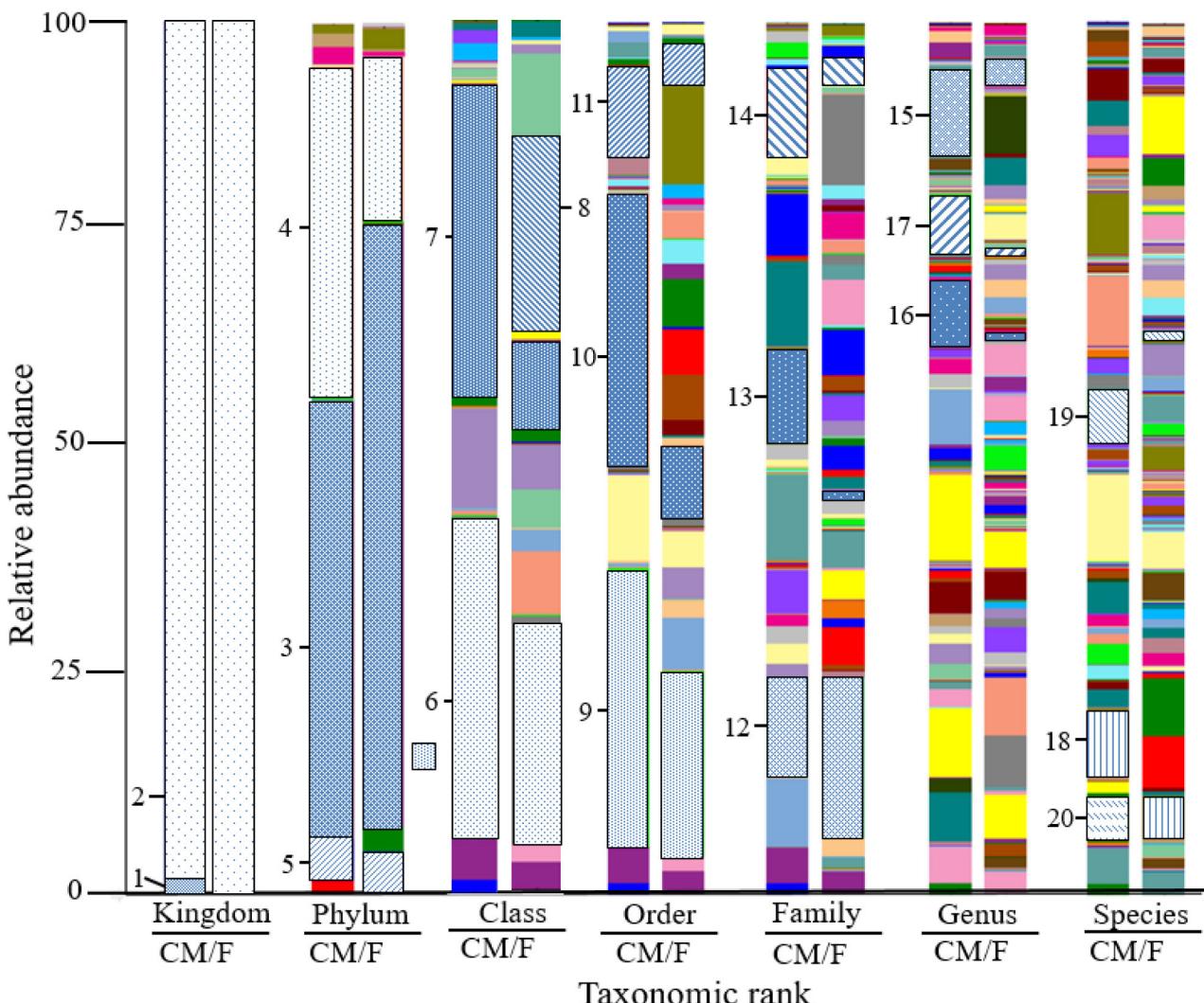


圖 3. 乳牛糞和虻糞樣品菌群在生物分類階層的相對豐度概觀。僅列各分類階層前三優勢群。界：1 □：古菌界，2 □：細菌界；門：3 □：擬桿菌門，4 □：厚壁菌門，5 □：變形菌門；綱：6 □：擬桿菌綱，7 □：梭菌綱，8 □：丙型變形菌綱；目：9 □：擬桿菌目，10 □：真細菌目，11 □：假單胞菌目；科：12 □：紫單胞菌科，13 □：毛螺菌科，14 □：莫拉氏菌科；屬：15 □：不動桿菌屬，16 □：瘤胃菌科未鑑定屬，17 □：梭菌類群未鑑定屬；種：18 □：紫單胞菌科未鑑定種，19 □：5-7N15 屬未鑑定種，20 □：毛螺菌科未鑑定種。

Fig. 3. Overview of the relative abundance of mycobiota in the taxonomic rank of dairy cow manure and frass samples. List only the top three dominant groups of each taxonomic rank. Kingdom: 1 □: Archaea, 2 □: Bacteria; Phylum: 3 □: Bacteroidetes, 4 □: Firmicutes, 5 □: Proteobacteria, Class: 6 □: Bacteroidia, 7 □: Clostridia, 8 □: Gammaproteobacteria; Order: 9 □: Bacteroidales, 10 □: Clostridiales, 11 □: Pseudomonadales, Family: 12 □: Porphyromonadaceae, 13 □: Lachnospiraceae, 14 □: Moraxellaceae; Genus: 15 □: *Acinetobacter*, 16 □: Ruminococcaceae_unclassified, 17 □: Clostridiales_unclassified, Species: 18 □: Porphyromonadaceae_unclassified, 19 □: 5-7N15_unclassified, 20 □: Lachnospiraceae_unclassified.

III. 虻糞的菌相分析

虻糞所含的細菌 16S rDNA 序列，經生物資訊分析後，得到共 522 個序列片段，隸屬於 17 門、33 綱、63 目、129 科和 311 屬，其細菌種類鑑定與分布變化，在門的分類層級，以變形菌門、擬桿菌門和厚壁菌門 3 者占 93.5% 的豐度，分別為 45.8、37.4 和 10.3%；在綱的分類層級，以擬桿菌綱、丙型變形菌綱、甲型變形菌綱、梭

菌綱、乙型變形菌綱和黃桿菌綱 6 者占 79.4% 的豐度，分別為 21.2、18.3、18.2、8.2、7.6 和 5.9%；在目的分類層級，以擬桿菌目、異單胞菌目、芽孢桿菌目、黃桿菌目、鞘脂單胞菌目、紅細菌目和根瘤菌目和假單胞菌目 7 者占 62.3% 的豐度，分別為 21.2、11.2、8.2、5.9、5.5、5.2 和 5.1%；在科的分類層級，以紫單胞菌科、異單胞菌科、紅細菌科和鞘脂單胞菌科 4 者占 39.1% 的豐度，分別為 18.4、10.3、5.2 和 5.2%；在屬的分類層級，以嗜蛋白菌屬、纖維弧菌屬和紫單胞菌屬 3 者占 19.0% 的豐度，分別為 6.6、6.5 和 5.9%；在種的分類層級，有 183 種類被鑑定出來，其中菌種豐度在 5% 以上，只有 *Proteiniphilum acetatigenes* 和嗜硫石單胞菌 (*Petrimonas sulfuriphila*)，豐度分別為 6.6 和 5.9%，其它無法鑑定種別，且豐度在 5% 以上的只有 *Celvibrio* 屬，占 6.6% (圖 3)。蛇糞因含有多樣的菌種，被認為若施用到田間，能改變土壤微生物群落，傾向於增加微生物活性和作物產量，能為環境健康帶來正向的影響，是對作物生產和環境安全可持續性的選項 (Fuhrmann et al., 2022; Praeg and Klammsteiner, 2024)。

IV. 蛇糞中與乳牛致病性相關之細菌消長變化

與未經黑水蛇幼蟲處理的原始乳牛糞樣品相比，蛇糞含有可能造成牛致病的菌種，比例下降的共有 13 種，其中屬於厭氧性梭菌科 (*Clostridiaceae*) 的 80% 菌種明顯降低，此類絕對厭氧菌，會產生多種外毒素 ($\alpha\beta\gamma$ 等 12 種)，導致食物中毒及壞疽，可引起牛羊與人類致死性腸毒血症。解沒食子酸鏈球菌 (*Streptococcus galloyticus*) 舊稱牛鏈球菌 (*Streptococcus bovis*)，屬革蘭氏陽性球菌，在乳牛糞占比為 6.1%，在蛇糞中下降了 30 倍，此類細菌多數是在人和動物表皮、呼吸道和胃腸道等處的共生菌 (commensal flora)，有相當數量的致病菌種。彎曲桿菌 (*Arcobacter*) (Yesilmen, et al., 2014) 在乳牛糞占比為約 4%，在蛇糞下降約 50%，其可在患乳房炎牛的乳汁被分離出來，一般能引起發燒發熱和造成體溫過高，會增加呼吸速率、喘息、呼吸速迫和呼吸過度，造成心搏過速、速脈和心跳速率增加，乳腺和乳房疼痛或皮膚叩診下陷或凹下去的地方恢復遲鈍等症狀，屬人畜共通傳染病。志賀菌 (*Shigella*) 在乳牛糞占比為約 5.8%，在蛇糞下降了 21 倍 (表 1)，是一種革蘭氏陰性細菌，會污染食物或飲水，引發食物中毒，志賀菌引起之感染，限於腸胃道，很少侵入血液，會破壞腸細胞造成潰瘍，特徵是出血性腹瀉，癒合後形成疤痕，可能會導致腸阻塞。

表 1. 蛇糞含有的乳牛致病菌比例下降的菌種

Table 1. Species with a reduced proportion of dairy cow pathogenic bacteria contained in frass

strain	CM* (%)	F** (%)
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;Prevotella_9_unclassified	6.25E-05	4E-05
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus;Streptococcus_galloyticus_subsp.	0.006183	0.0002
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae_1;Clostridium_sensu_stricto_1;Clostridium_sensu_stricto_1_unclassified	0.001499	8.01E-05
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae_1;Clostridium_sensu_stricto_1;uncultured_bacterium	0.004622	0.00044
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae_1;Clostridium_sensu_stricto_3;uncultured_bacterium	0.012554	8.01E-05
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Eubacterium_coprostanoligenes_group;uncultured_Clostridium_sp.	0.001499	8.01E-05
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnoclostridium;uncultured_Clostridiales_bacterium	0.000312	0.00016
Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium;Fusobacterium_varium	0.000312	0.0002
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales;Brucellaceae;Brucellaceae_unclassified;Brucellaceae_unclassified	0.000125	8.01E-05
Bacteria;Proteobacteria;Epsilonproteobacteria;Campylobacterales;Campylobacteraceae;Arcobacter;Arcobacter_unclassified	0.003685	0.001721
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae;Escherichia_Shigella;Escherichia_Shigella_unclassified	0.005871	0.00028
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae;Proteus;Proteus_mirabilis	0.009993	0.001481
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas;Pseudomonas_unclassified	0.01118	0.001801

* CM: cow manure; ** F: frass.

而在與未經黑水蛇幼蟲處理的原始乳牛糞樣品相比，蛇糞含有可能造成牛致病的菌種，比例上升的共有 9 種，大部分菌種上升幅度都不高。僅梭菌屬的 *Christensenellaceae_R_7_group* (Morotomi et al., 2012) 有 85 倍上升，占比約為 0.25%，同屬於梭菌屬的 *Proteiniclasticum* (Zhang et al., 2010) 有 1.8 倍上升，占比約為 0.01%，這 2 菌種是否屬機會性致病菌，則需進一步試驗探討 (表 2)。本研究在蛇糞分析僅得到少量的大腸桿菌與沙門氏菌，分別為 5 和 1 個片段，占總鑑定數量的 0.007% 和 0.001%，其中大腸桿菌在乳牛糞中的鑑定數量為 113 個片段，顯示菌種數量在經過處理操作後有減少的趨勢 (Liu et al., 2008)，在應用黑水蛇幼蟲處理雞糞時也有相似的情況 (Erickson et al., 2004)，但沙門氏桿菌卻沒有在乳牛糞中被鑑定到，可能因其它微生物的抑菌物質或抗生素影響，導致沙門氏菌沒被檢測到，但在蛇糞中卻有存在少量，顯示黑水蛇幼蟲的消化道中確有沙門氏菌的存在，只是在菌種數量上的占比較少。

表 2. 虻糞含有的乳牛致病菌比例上升的菌種

Table 2. Species with an increased proportion of dairy cow pathogenic bacteria contained in frass

strain	CM* (%)	F** (%)
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Corynebacteriales;Corynebacteriaceae;Corynebacterium;Corynebacterium_unclassified	6.25E-05	0.0002
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Porphyromonadaceae_unclassified;Porphyromonadaceae_unclassified	6.25E-05	0.000761
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus;uncultured_bacterium	0	4E-05
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae;Christensenellaceae_R_7_group;Clostridium_sp.	0.00025	0.021294
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae_1;Proteinilasticum;Clostridium_sp.	0.008557	0.01521
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales;Brucellaceae;Pseudochrobactrum;uncultured_bacterium	0	8.01E-05
Bacteria;Proteobacteria;Epsilonproteobacteria;Campylobacterales;Campylobacteraceae;Campylobacter;Campylobacter_sp.	6.25E-05	0.009887
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas;Pseudomonadaceae_bacterium_X2	0.000125	0.0002
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas;Pseudomonas_formosensis	0.001062	0.008326

* CM: cow manure; ** F: frass.

結論

本研究針對乳牛糞和虻糞進行菌相初步調查，利用細菌 16S rDNA 序列比對方式，可以在不進行細菌培養情況下，大量地解析乳牛糞和虻糞的細菌分類群，樣品中的菌種及其所占比例也可概觀呈現，牛的可能致病菌也可進一步地比對篩出，例如乳牛糞中含有普羅維登斯菌屬 (*Providencia*) 細菌占比約 1.3%，在虻糞中占比僅 0.1%，這是一種革蘭氏陰性機會性病原菌，已知從各種環境和生物中都能分離到，由於此類病原菌會從糞便的接觸傳染或傷口傳染，造成人類免疫力低下的，個體有腹瀉 (diarrhea) 的病徵，嚴重時可能會造成菌血症 (bacteremia)，透過本研究可知，應用黑水虻幼蟲處理乳牛糞轉質為虻糞，可改變原本乳牛糞中的可能致病菌群種類和數量，使大多數的致病菌群具有明顯地下降，但仍有少部分機會型病原菌存在且數量增加，使產生的終產物虻糞，在與下游農業或產業銜接應用時，對操作管理人員造成潛在的衛生安全風險，因此仍應對虻糞增加滅菌操作，降低管理操作人員潛在的感染風險，也應考慮教育現場作業人員具有良好衛生安全風險觀念，本研究仍有許多微生物種類未能完成鑑別，及黑水虻幼蟲在其它畜禽糞管理上的病原菌生態仍屬未知，這些都有待更進一步地科學論證分析，期許未來能有更多相關的研究成果探討不同原料來源的虻糞的衛生安全性。

誌謝

本研究承農業部 (108 農科 -17.2.1- 畜 -L2) 經費支持。試驗期間畜產試驗所北區分所邱家和同仁協助樣品準備和試驗工作，國立中興大學生命科學系博士後謝儒樑研究生協助資料分析，始克順利完成，謹此誌謝。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2021。農業統計年報。pp. 118。臺北市。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2010。畜禽糞尿及其成分。行政院農業委員會畜產試驗所推廣專輯第 141 號。pp. 20-24。臺南市。
- 林財旺。1998。優良畜禽糞堆肥製作。臺灣省畜產試驗所四十週年所慶畜牧經營及廢棄物處理研討會論文專輯。臺灣省畜產試驗所編印。pp. 23-32。臺南市。
- 梁世祥、蕭宗法。2014。新型畜禽有機資源物循環利用方式。畜產專訊 90 : 8-9。
- 羅致述。2015。堆肥中人畜共通致病菌之管理簡介。農政與農情 273 : 93-95。
- Beesigamukama, D., B. Mochoge, N. K. Korir, K. K. M. Fiaboe, D. Nakimbugwe, F. M. Khamis, S. Subramanian, T. Dubois, M. W. Musyoka, S. Ekesi, S. Kelemu, and C. M. Tanga. 2020. Exploring black soldier fly frass as novel fertilizer for improved growth, yield, and nitrogen use efficiency of maize under field conditions. Front. Plant Sci. 11: 574-592. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.574592>.
- BoccazzI, I. V., M. Ottoboni, E. Martin, F. Comandatore, L. Vallone, T. Spranghers, M. Eeckhout, V. Mereghetti, L. Pinotti, and S. Epis. 2017. A survey of the mycobiota associated with larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) reared for feed production. Plos One 12: e0182533. <https://doi: 10.1371/journal.pone.0182533>.

- Cullere, M., G. Tasoniero, V. Giaccone, R. Miotti-Scapin, E. Claeys, S. De Smet, and A. Dalle Zotte. 2016. Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: apparent digestibility, excreta microbial load, feed choice, performance, carcass and meat traits. *Animal* 10: 1923-1930. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001270>.
- de Smet, J., E. Wynants, P. Cos, and L. V. Campenhout. 2018. Microbial community dynamics during rearing of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) and its impact on exploitation potential. *Appl. Environ. Microbiol.* 84: e02722-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02722-17>.
- Erickson, M., J. Liao, and M. Doyle. 2004. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *J. Food Protect.* 67: 685-690.
- FAO. 2013. Edible insects. Future prospects for food and feed security. Food and agriculture organization of the united nations. pp. 201. Rome, FAO. <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf>.
- Fuhrmann, A., B. Wilde, R. F. Conz, S. Kantengwq, M. Konlambigue, B. Masengesho, K. Kintche, K. Kassa, W. Musazura, L. Späth, M. Gold, A. Mathys, J. Six and M. Hartmann. 2022. Residues from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae rearing influence the plant-associated soil microbiome in the short term. *Front. Microbiol.* 13: 2022.994091. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.994091>.
- Klammsteiner, T., A. Walter, T. Bogataj, C. D. Heusster, B. Stres, F. M. Steiner, B. C. Schlick-Steiner, W. Arthofer, and H. Insam. 2020. The core gut microbiome of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae raised on low-bioburden diets. *Front. Microbiol.* 11: 993. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00993/full>.
- Liu, T., M. K. Awasthi, H. Y. Chen, Y. Duan, S. K. Awasthi, and Z. Q. Zhang. 2019. Performance of black soldier fly larvae (Diptera: *Stratiomyidae*) for manure composting and production of cleaner compost. *J. Environ. Manage.* 251: 109593. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479719313118>.
- Liu, Q. L., J. K. Tomberlin, J. A. Brady, M. R. Sanford, and Z. N. Yu. 2008. Black soldier fly (Diptera: stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environ. Entomol.* 37: 1525-30.
- Moore, S. G., A. C. Ericsson, S. E. Poock, P. Melendez, and M. C. Lucy. 2017. Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *J. Dairy Sci.* 100: 4953-4960.
- Morotomi, M., F. Nagai, and Y. Watanabe. 2012. Description of *Christensenella minuta* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces, which forms a distinct branch in the order Clostridiales, and proposal of *Christensenellaceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 144-149.
- Oonincx, D. G. A. B., A. van Huis, and J. J. A. van Loon. 2015. Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure. *J. Insects as Food Feed* 1: 131-139. <https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0023>.
- Praeg, N., and T. Klammsteiner. 2024. Primary study of frass fertilizers from mass-reared insects: species variation, heat treatment effects, and implications for soil application at laboratory scale. *J. Environ. Manage.* 356: 120622. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120622>.
- Sheppard, D. C., J. K. Tomberlin, J. A. Joyce, B. C. Kiser, and S. M. Sumner. 2002. Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: *Stratiomyidae*). *J. Med. Entomol.* 39: 695-698.
- Shumo, M., F. M. Khamis, F. L. Ombura, C. M. Tanga, K. K. M. Fiaboe, S. Subramanian, S. Ekesi, O. K. Schlüter, A. ven Huis, and C. Borgemeister. 2021. A Molecular survey of bacterial species in the guts of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) reared on two urban organic waste streams in Kenya. *Front. Microbiol.* 12: 687103. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.687103>.
- Tomberlin, J. K., D. C. Sheppard, and J. A. Joyce. 2002. Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: *Stratiomyidae*) reared on three artificial diets. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95: 379-386.
- Yesilmen S., A. Vural, M. E. Erkan, and I. H. Yildirim. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Arcobacter* species in cow milk, water buffalo milk and fresh village cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 188: 11-14.
- Zhang, K., L. Song, and X. Dong. 2010. Proteiniclasticum ruminis gen. nov., sp. nov., a strictly anaerobic proteolytic bacterium isolated from yak rumen. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 2221-2225.

An investigation of the mycobiota of the daily cow manure and black soldier fly frass⁽¹⁾

Shih-Hsiang Liang⁽²⁾⁽⁴⁾ Chia-Xin Lee⁽³⁾ and Szu-Han Wang⁽³⁾

Received: Aug. 3, 2022; Accepted: Sep. 16, 2024

Abstract

In this study, the cow manure after solid-liquid separation was used as the feeding substrate for the larvae of black soldier fly. The residues of cow manure transformed by larvae namely frass were investigated. The difference between changes in mycobiota composition and daily cow manure was adopted to evaluate the hygienic safety of treating frass produced from daily cow manure using the larvae of black soldier fly, through the changes of growth and decline in microorganism of daily cow manure and frass. A total of 35 and 34 million base pairs was collected from dairy cow manure and frass samples, with 72,027 and 62,530 operational taxonomic unit, respectively. The heterogeneity of sample forming proportion in the taxonomic stratum increased eventually, resulting in more distinct diversity in the classification of genus and species. Compared with the Mycobiota in daily cow manure, there are 13 species of bacteria in frass that could decrease the proportion of bovine pathogens opposite and 9 species of bacteria in frass increase the proportions of bovine pathogens. However, the infection of such bacteria was not high and whether the species of Clostridium being the pathogens requires further investigation. The results showed a small amount of bovine pathogenic bacteria in the frass and in spite of the small proportion, hygienic and safe operation of dairy cow manure should still be taken into consideration to avoid possible hazard caused by opportunistic pathogenic bacteria on the cows.

Key words: Cow manure, Frass, Black soldier fly, Mycobiota.

(1) Contribution No. 2802 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Technical Service Division, MOA-TLRI, HsinHua,Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

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

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

臺灣水鹿茸與紐西蘭紅鹿茸一般成分、胺基酸及蛋白質組成之差異⁽¹⁾

郭卿雲⁽²⁾ 葉瑞涵⁽²⁾⁽⁴⁾ 陳明汝⁽³⁾

收件日期：112 年 8 月 18 日；接受日期：113 年 9 月 23 日

摘要

本研究目的在建立臺灣水鹿茸 (Formosan sambar deer velvet antler, FSDVA) 及紐西蘭紅鹿茸 (New Zealand's red deer velvet antler, NRDVA) 一般成分、胺基酸及蛋白質組成之基本資料，以做為未來區分本土與進口鹿茸之參考。FSDVA 有較高之灰分、粗脂肪及膠原蛋白含量，而 NRDVA 水分及粗蛋白質含量則較高。將鹿茸切片乾燥製成鹿茸粉，發現 FSDVA 鹿茸粉的鈣、磷、銅、鋅含量高於 NRDVA 鹿茸粉，而總胺基酸和鐵含量較低。FSDVA 與 NRDVA 胺基酸組成之甘胺酸 (Gly)、脯胺酸 (Pro) 及白胺酸 (Leu) 差異較大。以不同溶劑 (水萃或酒萃) 及超音波處理 (有無處理) 萃取不同乾燥方式 (熱烘或冷凍乾燥) 的鹿茸粉蛋白質並進行 SDS-PAGE 電泳分析。結果顯示，在各種超音波處理及乾燥方式下，FSDVA 的水萃蛋白質在 15 kD 的蛋白質條帶較 NRDVA 淡。萃取溶劑方面，水萃可顯示較多蛋白質條帶，有利於探討各處理對鹿茸粉蛋白質組成之影響。不同乾燥方式和超音波處理下的蛋白質條帶表現，受鹿茸來源、乾燥方式或超音波處理等多種因素的影響，呈現出複雜的結果。將蛋白質條帶進行蛋白質鑑定，FSDVA 及 NRDVA 之間差異較大的蛋白質是血紅蛋白亞基 (hemoglobin subunit)。綜上所述，FSDVA 具有較高的灰分、粗脂肪、膠原蛋白、鈣、磷、銅及鋅含量，而水分、粗蛋白質、總胺基酸及鐵含量則較低。不同鹿茸之間胺基酸組成差異在 Gly、Pro 及 Leu 方面較為明顯。不同鹿茸的血紅蛋白亞基 (15 kD) 含量差異較大。

關鍵詞：鹿茸、臺灣水鹿、紐西蘭紅鹿、一般成分、胺基酸、蛋白質。

緒言

鹿茸為生長快速的一種軟骨組織，其生長速率最快可達每日 1 公分，每年都會脫落並再生，其再生速度甚至比腫瘤細胞更加快速 (Barling *et al.*, 2004)。鹿茸為雄鹿新生的幼角，骨質尚未硬化，內部富有血液，外部密生茸毛。鹿茸主要由水分、蛋白質、礦物質及脂質組成，並受到不同分切部位影響，以臺灣水鹿為例，分別占 50.7 – 76.5%、46.4 – 65.4% (DM)、26.2 – 49.4% (DM) 及 2.2 – 7.0% (DM) (郭等, 2009)。鹿茸為我國重要的傳統名貴藥材之一，具有增強體魄與提升免疫力之功效 (Wu *et al.*, 2013)，其有效的活性成分多存在於蛋白質與脂質中 (Suttie, 2000)。相關的鹿茸藥理研究發現，其多肽具有促進細胞增殖 (Weng *et al.*, 2001)、骨骼修復 (Zhou *et al.*, 1999) 及促進神經幹細胞分化 (Chen *et al.*, 2004) 之功效。此外，鹿茸之酸性黏多醣，亦具有抗潰瘍、加速創傷癒合等作用 (Wang *et al.*, 1985)。

鹿茸採收後，常以烘乾或冷凍方式抑制微生物污染，以此延長保存時間。相較熱烘乾燥 (heat-drying, HD) 使用高溫及熱風循環，冷凍乾燥 (freeze-drying, FD) 是在冷凍環境中將水分昇華為蒸氣除去，進而保留更多活性物質 (Shivanna *et al.*, 2024)，因此本研究擬觀察二種乾燥方式對不同來源鹿茸成分之影響。現今萃取鹿茸成分的方法非常多元，過程中可能使用熱水、酒精、甲醇或分解酵素等溶液 (Kim *et al.*, 2003; Hao *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Je *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012)，而後再以離子交換層析、HPLC 及凝膠過濾等程序進行成分提取 (Weng *et al.*, 2002; Yan *et al.*, 2007)。筆者等先前研究發現高溫條件下會使動物膠質溶出而使萃取物呈果凍狀，因而不適合鹿茸萃取，此外，

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2803 號。

(2) 農業部畜產試驗所畜產加工組。

(3) 國立臺灣大學動物科學技術系。

(4) 通訊作者，E-mail: bjo@thri.gov.tw。

在考量萃取成本、製程便利性及食品安全性後，於本研究設計出較低溫且簡便的萃取製程，並以水及酒精為溶劑進行鹿茸的萃取。

根據農業部資料統計(2022)，臺灣水鹿生產之鹿茸為臺灣養鹿產業中最重要的產值來源，紐西蘭為我國鹿茸唯一的輸入國。臺紐經濟合作協定已於102年7月10日簽署，逐步開放高經濟價值鹿茸進口，雖然鹿茸僅在配額內零關稅，但配額量由1,000公斤，每年增加250公斤，配額外關稅則由500%，每隔4年降100%，並自第12年起取消配額。亦即，114年起將開放紐西蘭鹿茸零關稅進口。鹿茸於紐西蘭是不適食用之副產物，價格低廉，勢將嚴重影響臺灣之鹿茸產業。

國內鹿茸之消費市場，偏向新鮮採茸販賣方式，本土生產之新鮮鹿茸相對於進口冷凍或乾燥的鹿茸，應具有消費者偏好性之優勢。然而，如何確保消費者購買真正之本土新鮮鹿茸，維護本土養鹿業者之收益，區辨本土與進口鹿茸品質之研究刻不容緩。臺灣以養殖臺灣水鹿為主，紐西蘭則以紅鹿為主。FSDVA與NRDVA品質之差異性應有進一步研究之必要，本研究進行臺灣與紐西蘭鹿茸之成分品質之差異性研究，研究結果或可做為臺灣與紐西蘭鹿茸之市場區隔依據。

材料與方法

I. 鹿茸來源

- (i) 臺灣水鹿茸(FSDVA)：104 - 105年購自農業部畜產試驗所南區分所屏東場區及臺南市民間養鹿場共5批次。
- (ii) 紐西蘭紅鹿茸(NRDVA)(如圖1)：104 – 105年購自楊森中藥行共5批次。

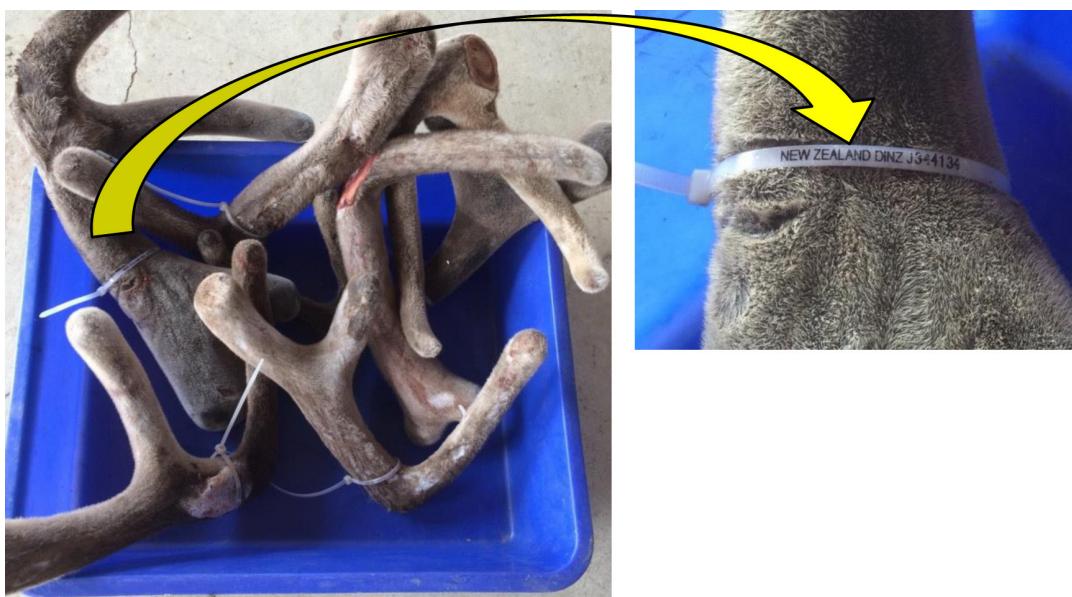


圖 1. 紐西蘭紅鹿鹿茸及產品編號。

Fig. 1. New Zealand's red deer velvet antler and the product number.

II. 分析方法

(i) 鹿茸成分分析

1. 一般成分分析：FSDVA及NRDVA於切片後分別進行熱烘乾燥(HD)處理(80°C , 47小時)及冷凍乾燥(FD)處理。取鹿茸切片進行水分(CNS 5033 N6114)、灰分(CNS 5034 N6115)、粗蛋白(CNS 5035 N6116)、粗脂肪(CNS 5036 N6117)及總膠原蛋白之分析。
2. 膠原蛋白分析：總膠原蛋白分析方法參考Kolar(1990)方法，以羥脯胺酸(hydroxyproline)含量計算總膠原蛋白含量。 $\text{羥脯胺酸含量} \times 7.25 = \text{總膠原蛋白含量}$ 。
3. 水解胺基酸分析：將乾燥後的鹿茸切片以高速粉碎機絞碎製成鹿茸粉，並於100 mesh粉篩過篩後，凍存於 -20°C 冰箱。鹿茸粉送農業部畜產試驗所飼料化驗中心進行水解胺基酸分析，鹿茸粉2 g溶於10 mL之6 N HCl，於 120°C 水解24小時，以強酸分解蛋白質中的各種胺基酸，以胺基酸分析儀進行定量分析。
4. 礦物質分析：鈣、銅、鋅及鐵含量分析參照AOAC 968.08；磷分析方法參照AOAC 965.17。

(ii) 蛋白質萃取、SDS-PAGE 電泳分析及蛋白質鑑定

1. 鹿茸萃取液之製備：
 - (1) 水萃－無超音波震盪：將鹿茸粉與蒸餾水混合均勻配製成 10% 鹿茸粉懸浮液，並置入 4°C 冰箱，加入攪拌子浸泡萃取 24 小時，上清液為鹿茸冷水萃取液。而後將鹿茸冷水萃取液於高速離心機以 10,000 rpm 離心 10 分鐘，取其上清液並以冷凍乾燥機凍乾，即得鹿茸冷水萃取粉，置於 -20°C 冰箱保存備用。
 - (2) 水萃－有超音波震盪：將鹿茸粉與蒸餾水混合均勻配製成 10% 鹿茸粉懸浮液，以超音波震盪在室溫下萃取 2 小時，上清液為鹿茸常溫水萃液。而後將鹿茸常溫水萃液於高速離心機以 10,000 rpm 離心 10 分鐘，取其上清液並以冷凍乾燥機凍乾，即得鹿茸常溫水萃粉，置於 -20°C 冰箱保存備用。
 - (3) 酒萃－無超音波震盪：以 30% 酒精為溶劑，將鹿茸粉與之混合均勻配製成含有 10% 鹿茸粉之酒精懸浮液，並置入 4°C 冰箱，加入攪拌子浸泡萃取 24 小時，萃取樣品先以高速離心機 10,000 rpm 離心 10 min 分離沉澱粉末，以 2 號濾紙過濾，沉澱粉末再次以 30% 酒精浸泡，同樣條件萃取過濾，過濾 2 次之萃取液以減壓濃縮機去除酒精，萃取液再以冷凍乾燥機進行凍乾，即得鹿茸酒精冷萃粉，置於 -20°C 冰箱保存備用。
 - (4) 酒萃－有超音波震盪：以 30% 酒精為溶劑，將鹿茸粉與之混合均勻配製成含有 10% 鹿茸粉之酒精懸浮液，以超音波震盪在室溫下萃取 2 小時，上清液為鹿茸酒精常溫萃取液。而後將鹿茸酒精常溫萃取液先以高速離心機 10,000 rpm 離心 10 min 分離沉澱粉末，以 2 號濾紙過濾，沉澱粉末再次以 30% 酒精浸泡，同樣條件萃取過濾，過濾 2 次之萃取液以減壓濃縮機去除酒精，萃取液再以冷凍乾燥機進行凍乾，即得鹿茸常溫酒精萃取粉，置於 -20°C 冰箱保存備用。
2. 電泳分析：參考 Park *et al.* (2004) 分析紅鹿鹿茸蛋白質之方法，利用 SDS-PAGE 分析鹿茸萃取粉之蛋白質組成。將前述 1. 之各組鹿茸萃取粉與蒸餾水混合均勻配製成稀釋 10⁵ 倍數之試驗溶液，取 10 μL 溶液注入 16.5% Tris-Tricine SDS-PAGE 分析鹿茸蛋白質組成。並取 2 μL 試驗溶液以微量分光光度計 (NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer, J & H TECHNOLOGY) 檢測蛋白質濃度。
3. 蛋白質身分鑑定：取下目標條帶，裝入 1.5 mL 微量離心管，注入二次水，置於 4°C 貯存等待送樣，樣品委託鎌陞科技股份有限公司進行蛋白質身分鑑定，於 MASCOT 資料庫比對蛋白質的身分。

III. 統計分析

試驗數據以統計分析系統 (SAS, 2008) 進行分析。FSDVA 及 NRDVA 之一般成分及膠原蛋白含量分析結果，以一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行變方分析，經鄧肯式新多次變域測試 (Duncan's New Multiple Range Test) 比較各組平均值差異之顯著性 (Steel and Torrie, 1980)。胺基酸及礦物質含量分析，採 2 (鹿茸種類) × 2 (乾燥方式) 複因子設計，進行複因子變異數分析 (Two-way ANOVA)，分析複因子之各別效應及其交互效應。

結果與討論

I. 一般成分及膠原蛋白含量

鹿茸一般成分及膠原蛋白分析結果如表 1。FSDVA 有較高之灰分、粗脂肪及膠原蛋白含量，而 NRDVA 水分及粗蛋白質含量則較高。

鹿茸組成分受到鹿的年齡、品種、飼養條件、營養、鹿茸分切部分及鹿茸發育影響 (Chapman, 1975; Ha *et al.*, 2003; Moon *et al.*, 2004; Landete-Castillejos *et al.*, 2007a)。鹿茸屬高價位、可每年採收的產品，除了品種差異之外，飼養條件及日糧營養亦是重要影響因素。臺灣水鹿多採用柵欄飼養，而紐西蘭紅鹿為放牧飼養。Landete-Castillejos *et al.* (2007b) 指出，放牧飼養可能面臨食物不穩定、寄生蟲感染及較低程度的醫療照顧，進而降低鹿茸皮質厚度 (cortical thickness) 及部分礦物質含量，此可能是 NRDVA 灰分較低的原因之一。

鹿茸組成分之文獻多以探討鹿茸分切部分為主。梅花鹿 (*Cervus nippon*) 鹿茸粗蛋白及粗脂肪含量，由上到下逐漸降低 (Jeon *et al.*, 2009; Jeon *et al.*, 2012)。西班牙馬鹿 (*Cervus elaphus hispanicus*) 及加拿大麋鹿 (*Cervus elaphus canadensis*) 鹿茸灰分含量，由上至下逐漸增加 (Landete-Castillejos *et al.*, 2007a; Jeon *et al.*, 2011)。梅花鹿及歐洲馬鹿 (*Cervus elaphus*) 鹿茸之膠原蛋白含量，由上至下逐漸增加 (Sunwoo *et al.*, 1995; Jeon *et al.*, 2012)。鹿茸的灰分及膠原蛋白的分布似乎與其機械強度 (mechanical strength) 有關 (Sunwoo *et al.*, 1995; Landete-Castillejos *et al.*, 2007a)。膠原蛋白參與並增強礦化組織，為鹿角提供機械強度 (Sunwoo *et al.*, 1995)。本研究使用完整鹿茸

之混合切片進行分析，因此一般成分及膠原蛋白含量之差異應與分切部分的關聯性較低。FSDVA 於鹿茸發育第 70 - 90 天採集，而 NRDVA 則為第 75 – 80 天，雖然採集天數條件相似，但二種鹿茸是否處於相似的發育階段仍有待進一步釐清。

表 1. 鹿茸一般成分及膠原蛋白含量分析¹

Table 1. Proximate analysis and collagen content of velvet antler¹

	FSDVA [#]	NRDVA
Moisture, %	61.8 ± 2.3 ^b	67.1 ± 1.2 ^a
Ash, %	17.6 ± 1.4 ^a	11.0 ± 1.6 ^b
Crude protein, %	18.3 ± 0.5 ^b	20.5 ± 1.0 ^a
Ether extract, %	1.5 ± 0.3 ^a	0.9 ± 0.1 ^b
Collagen, mg/g	104.0 ± 8.0 ^a	74.0 ± 7.0 ^b

¹ Mean ± SD. Data are means of 3 batches of each velvet antler, each batch was tested in triplicate.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

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

II. 胺基酸含量

表 2 分析鹿茸種類及乾燥方式對鹿茸胺基酸組成之影響，結果顯示二因子對總胺基酸含量及大多數胺基酸含量造成顯著差異 ($P < 0.05$)，而此二因子間交感作用無顯著差異。在熱烘乾燥 (HD) 條件下，除了 Gly 及 Pro 之外，FSDVA 所有胺基酸含量皆顯著低於 NRDVA ($P < 0.05$)，在冷凍乾燥 (FD) 方面，除了 Pro 之外，亦是 FSDVA 胺基酸含量顯著低於 NRDVA ($P < 0.05$)，此結果與表 1 粗蛋白質含量結果相符，證實在本研究採茸條件下，FSDVA 之蛋白質及胺基酸含量較 NRDVA 低。在乾燥方式方面，除了 Lys、Val、Met、Ile、His 及 Tyr 之外，FSDVA 於 HD 後之胺基酸含量顯著較 FD 高 ($P < 0.05$)，而 NRDVA 雖然有相似結果，但其標準偏差較大，因此未達到顯著影響。

FSDVA 及 NRDVA 以 Gly、Glu、Pro、Ala、Asp 及 Arg 為主要胺基酸，可占總胺基酸 61 – 67% 以上。Jeon *et al.* (2009) 指出，梅花鹿鹿茸中的主要胺基酸為 Asp、Glu、Pro、Gly 及 Arg，此與本研究果相似。進一步比較各種胺基酸占總胺基酸百分比之差異 (表 3、表 4)。表 3 以相同乾燥方法比較不同鹿茸來源對鹿茸胺基酸組成之影響，計算方式為 FSDVA 與 NRDVA 之各種胺基酸組成差異值 (如表 3 註 1)，結果顯示，FSDVA 在 Gly、Pro 及 Leu 方面皆與 NRDVA 差異較大，差異幅度為 1.23 – 2.98%。而表 4 則以相同鹿茸來源比較不同乾燥方法對鹿茸胺基酸組成之影響，計算方式為 HD 與 FD 之鹿茸各種胺基酸組成差異值 (如表 4 註 1)，結果顯示，在乾燥方式方面，對鹿茸胺基酸組成影響的差異幅度較小 (0 – 0.48%)，且不同鹿茸影響的胺基酸亦不一致。由上述可知，鹿茸種類是影響各種胺基酸占總胺基酸百分比之主要因素，而乾燥方式則是次要因素。

III. 礦物質含量

表 5 顯示鹿茸種類及乾燥方式對鈣及磷含量造成顯著差異，銅、鋅及鐵含量顯著受到鹿茸種類的影響 ($P < 0.05$)，而此二因子間交感作用皆無顯著差異。HD 處理下 FSDVA 之鈣、磷及鋅含量顯著高於 NRDVA ($P < 0.05$)，而鐵含量則反之；FD 處理下 FSDVA 之鈣、磷、銅及鋅含量顯著高於 NRDVA ($P < 0.05$)，而鐵含量則反之。在乾燥方式影響方面，FD 處理下 FSDVA 之鈣及磷含量顯著較 HD 者高 ($P < 0.05$)。

鹿茸為快速發育的組織，發育時會逐漸礦化並閉塞血管 (Fletcher, 1986)，因此其組成受到鹿茸發育影響。鹿茸礦物質含量會隨著鹿茸生長期不斷增加，其中以和骨骼主成分相同的鈣 (10 – 16%) 和磷 (5 – 8%) 含量最高 (Schultz *et al.*, 1994; Moen and Pastor, 1998)。雖然本研究鹿茸採集天數條件相似，但依據分析結果，不排除 FSDVA 之鹿茸發育期較接近末期，致使灰分及礦物質含量提升，而蛋白質及胺基酸含量則較低，鐵含量較低亦可能是血流量較低進而減少含鐵之血紅素所致。

鹿茸礦物質組成受飼養條件及營養影響，部分文獻甚至認為鹿角可作為環境造成污染的指標 (Kierdorf and Kierdorf, 2005; Froehlich *et al.*, 2016; Jablonska *et al.*, 2016)。Pathak *et al.* (2001) 指出，沼鹿 (*Cervus duvacenti*)、花鹿 (*Axis axis*) 及豚鹿 (*Axis porcinus*)，在圈養及相同的飼糧之下，除了銅含量之外，鹿的品種間礦物質差異很小。而本研究不僅有品種差異且飼養條件亦不相同，皆是可能是造成礦物質含量差異之因素。在乾燥方式方面，在同一種鹿茸條件下，HD 之鈣及磷含量較 FD 者低，且在 FSDVA 方面達到顯著差異 ($P < 0.05$)。相較於

表 2. 不同鹿茸來源及乾燥方法對鹿茸粉胺基酸組成的影響¹Table 2. Effects of different velvet antler and drying method on the amino acid compositions of velvet antler powder¹

Item	HD*			FD			P-value
	FSDVA [#]	NRDVA	FSDVA	NRDVA	Velvet antler	Drying method	
-----%-----							
Total amino acid	44.32 ± 0.38 ^{ba}	52.39 ± 2.47 ^a	40.49 ± 0.87 ^{bB}	49.22 ± 2.26 ^a	<.0001	0.0082	0.7496
Essential amino acid							
Arg	3.55 ± 0.04 ^{ba}	3.99 ± 0.11 ^a	3.30 ± 0.04 ^{bb}	3.82 ± 0.04 ^a	<.0001	0.0004	0.2910
Lys	2.26 ± 0.07 ^b	2.99 ± 0.15 ^a	2.17 ± 0.09 ^b	2.86 ± 0.18 ^a	<.0001	0.1955	0.8114
Thr	1.57 ± 0.03 ^{ba}	2.10 ± 0.11 ^a	1.39 ± 0.06 ^{BB}	1.92 ± 0.15 ^a	<.0001	0.0129	1.0000
Val	1.69 ± 0.08 ^b	2.35 ± 0.14 ^a	1.53 ± 0.14 ^b	2.13 ± 0.17 ^a	<.0001	0.0442	0.7162
Met	0.48 ± 0.03 ^b	0.60 ± 0.04 ^a	0.45 ± 0.02 ^b	0.57 ± 0.03 ^a	0.0002	0.1224	0.9298
Ile	0.81 ± 0.03 ^b	1.00 ± 0.06 ^a	0.74 ± 0.05 ^b	0.89 ± 0.06 ^a	0.0006	0.0182	0.5563
Leu	2.68 ± 0.02 ^{ba}	3.89 ± 0.22 ^a	2.41 ± 0.12 ^{BB}	3.54 ± 0.29 ^a	<.0001	0.0229	0.7141
Phe	1.51 ± 0.01 ^{ba}	2.07 ± 0.10 ^a	1.35 ± 0.07 ^{BB}	1.89 ± 0.14 ^a	<.0001	0.0120	0.8346
His	0.77 ± 0.02 ^b	1.22 ± 0.07 ^a	0.69 ± 0.07 ^b	1.13 ± 0.12 ^a	<.0001	0.0831	0.8827
Non-essential amino acid							
Gly	8.01 ± 0.14 ^a	7.90 ± 0.28	7.38 ± 0.10 ^{BB}	7.65 ± 0.09 ^a	0.4207	0.0021	0.0890
Glu	5.50 ± 0.03 ^{ba}	6.36 ± 0.37 ^a	4.94 ± 0.14 ^{BB}	5.92 ± 0.38 ^a	0.0004	0.0135	0.7148
Asp	3.33 ± 0.10 ^{ba}	4.34 ± 0.18 ^a	3.08 ± 0.08 ^{BB}	4.01 ± 0.21 ^a	<.0001	0.0113	0.6897
Pro	5.16 ± 0.09 ^a	4.96 ± 0.34	4.68 ± 0.14 ^B	4.83 ± 0.20	0.8233	0.0395	0.1919
Ala	3.98 ± 0.06 ^{ba}	4.47 ± 0.22 ^a	3.65 ± 0.04 ^{BB}	4.25 ± 0.15 ^a	0.0001	0.0079	0.4819
Ser	1.86 ± 0.09 ^{ba}	2.42 ± 0.11 ^a	1.68 ± 0.05 ^{BB}	2.25 ± 0.13 ^a	<.0001	0.0163	0.9541
Cys	0.31 ± 0.03 ^{ba}	0.57 ± 0.07 ^a	0.26 ± 0.01 ^{BB}	0.51 ± 0.05 ^a	<.0001	0.0698	0.8003
Tyr	0.84 ± 0.01 ^b	1.16 ± 0.07 ^a	0.78 ± 0.04 ^b	1.04 ± 0.11 ^a	<.0001	0.0588	0.5504

¹ Mean ± SD. Data are means of 3 batches of each velvet antler, each batch was tested in triplicate.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.a, b The total amino acid content of the same drying method with different velvet antler reached a significant difference ($P < 0.05$). A, B The total amino acid content of the same velvet antler with different drying methods reached a significant difference ($P < 0.05$).

HD, FD 法可避免乾燥過程中因酵素或微生物分解造成損失，且低溫亦能避免樣品產生熱化學降解 (Mayland, 1968)。Iyengar *et al.* (1978) 指出，FD 不會造成大鼠組織 Sb、Co、I、Hg、Se 和 Zn 含量的損失，然而 HD 則在不同組織產生不同程度的礦物質損失，此可能為本研究乾燥方式對部分胺基酸及礦物質造成顯著影響的原因之一。

表 3. 於相同乾燥方法比較鹿茸來源對其胺基酸組成的影響¹Table 3. The effects of velvet antler source on amino acid composition of velvet antler at some drying method¹

	HD*	FD
	% -----	
Essential amino acid		
Arg	0.39 ± 0.14	0.38 ± 0.37
Lys	-0.60 ± 0.14	-0.45 ± 0.17
Thr	-0.46 ± 0.08	-0.47 ± 0.15
Val	-0.66 ± 0.15	-0.53 ± 0.44
Met	-0.07 ± 0.05	-0.05 ± 0.06
Ile	-0.07 ± 0.06	0.03 ± 0.14
Leu	-1.38 ± 0.10	-1.23 ± 0.37
Phe	-0.54 ± 0.02	-0.50 ± 0.15
His	-0.60 ± 0.04	-0.60 ± 0.23
Non-essential amino acid		
Gly	2.98 ± 0.23	2.66 ± 1.41
Glu	0.27 ± 0.17	0.18 ± 0.30
Asp	-0.76 ± 0.16	-0.54 ± 0.06
Pro	2.19 ± 0.19	1.75 ± 0.08
Ala	0.45 ± 0.11	0.37 ± 0.31
Ser	-0.43 ± 0.17	-0.41 ± 0.13
Cys	-0.40 ± 0.16	-0.39 ± 0.08
Tyr	-0.31 ± 0.03	-0.20 ± 0.17

¹ Mean ± SD. The data in Table 3 is calculated based on the amino acid composition of velvet antler. The calculation formula: (amino acid/total amino acid × 100)_{FSDVA}[#] - (amino acids/total amount of amino acids × 100)_{NRDVA}.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

表 4. 於相同鹿茸來源比較乾燥方式對鹿茸胺基酸組成的影響¹Table 4. The effects of drying methods on the amino acid composition of velvet antler at some source¹

	FSDVA [#]	NRDVA
	% -----	
Essential amino acid		
Arg	-0.13 ± 0.09	-0.15 ± 0.33
Lys	-0.27 ± 0.15	-0.11 ± 0.08
Thr	0.12 ± 0.06	0.12 ± 0.08
Val	0.04 ± 0.36	0.16 ± 0.20
Met	-0.03 ± 0.09	-0.01 ± 0.14
Ile	0 ± 0.16	0.09 ± 0.07

表 4. 於相同鹿茸來源比較乾燥方式對鹿茸胺基酸組成的影響¹(續)Table 4. The effects of drying methods on the amino acid composition of velvet antler at some source¹ (continued)

	FSDVA [#]	NRDVA
	% -----	
Leu	0.09 ± 0.16	0.24 ± 0.13
Phe	0.08 ± 0.11	0.13 ± 0.10
His	0.04 ± 0.11	0.04 ± 0.10
Non-essential amino acid		
Gly	-0.16 ± 0.62	-0.48 ± 0.58
Glu	0.21 ± 0.21	0.11 ± 0.30
Asp	-0.09 ± 0.21	0.13 ± 0.13
Pro	0.08 ± 0.32	-0.36 ± 0.36
Ala	-0.02 ± 0.19	-0.11 ± 0.13
Ser	0.03 ± 0.29	0.04 ± 0.07
Cys	0.05 ± 0.05	0.05 ± 0.11
Tyr	-0.02 ± 0.09	0.09 ± 0.08

¹ Mean ± SD. The data in Table 4 is calculated based on the amino acid composition of velvet antler. The calculation formula: $(\text{amino acid}/\text{total amino acid} \times 100)_{\text{HD}}^* - (\text{amino acids}/\text{total amount of amino acids} \times 100)_{\text{FD}}$.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

IV. 蛋白質萃取、SDS-PAGE 及蛋白質鑑定

以不同溶劑(水萃或酒萃)及超音波處理(有無處理)萃取不同乾燥方式(HD 或 FD)的鹿茸粉蛋白質並進行 SDS-PAGE 電泳分析(圖 2 及圖 3)。結果顯示，在水萃方面，以 15、28、40 及 58 kD 之蛋白質條帶表現量差異較大，而酒萃方面則以 13 及 68 kD 的差異較大。將表現量差異較大的蛋白質條帶(編號 1 – 12)進行蛋白質身分鑑定，結果如表 6，分別為血紅蛋白亞基 β-3 (hemoglobin subunit β-3)、血紅蛋白亞基 α (hemoglobin subunit α)、血紅蛋白亞基 β (hemoglobin subunit β)、磷酸丙糖異構酶 (triosephosphate isomerase)、肌動蛋白 (actin)、血清白蛋白 (serum albumin) 及 α-2- 巨球蛋白 (α-2- macroglobulin)。

圖 2 鹿茸在水萃方面，相同乾燥方式及超音波處理條件下，FSDVA 於 15 kD 之蛋白質條帶表現較 NRDVA 低，表現出一致性高的鹿茸品種差異性。在乾燥方式之影響方面，HD 於 15 kD 之蛋白質條帶表現較 FD 低，但在 28、40 及 58 kD 之蛋白質條帶方面，有無超音波處理則會產生相反趨勢(如：HD 會提升超音波處理下之 28 kD 蛋白質條帶，但無超音波處理時則會減少表現)。超音波處理會降低 FD 之 FSDVA 水萃之蛋白質條帶於 15、40 及 58 kD 之表現，並提升 HD 之 NRDVA 水萃之蛋白質條帶於 15、28、40 及 58 kD 之表現。由上述結果可知，鹿茸水萃液在 SDS-PAGE 電泳結果方面，有較一致的品種差異性。而在乾燥方式方面，會受到超音波處理之影響。至於超音波處理方面，其蛋白質條帶表現同時受到鹿茸品種及乾燥方式的影響，結果更加複雜。因此，影響鹿茸水萃液 SDS-PAGE 電泳蛋白質條帶表現之因子，其影響程度依次應為鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理。

圖 3 鹿茸在酒萃方面顯示的蛋白質條帶較水萃(圖 2)少，其中表現量差異較大的蛋白質條帶分子量為 13 及 68 kD。在相同乾燥方式及超音波處理條件下比較品種間的差異，結果發現除了 FD + 無超音波處理的 FSDVA 13 kD 之蛋白質條帶表現較 NRDVA 高之外，其他蛋白質條帶表現量沒有明顯差異。在相同品種及超音波處理條件下比較乾燥方式間的差異，結果發現 HD 於 68 kD 之蛋白質條帶表現較 FD 低，而 13 kD 之蛋白質條帶表現較無一致的趨勢，且超音波處理之蛋白質條帶表現量不明顯。至於超音波處理方面，相同品種及乾燥方式處理條件下 68 kD 之蛋白質條帶表現相近，而 13 kD 之蛋白質條帶除了 HD + 無超音波處理的 FSDVA 表現量不明顯之外，超音波處理的蛋白質條帶表現量皆低而不明顯。在本研究中，相較於酒萃法，水萃法較有利於探討鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理對鹿茸粉蛋白質組成之影響，因其分離出的蛋白質條帶更加豐富，且對於鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理之影響有較明顯且一致的變化趨勢，此有利於未來探討各種因素之影響程度。

表 5. 不同鹿茸及乾燥方法對鹿茸粉礦物質組成的影響¹Table 5. Effects of different velvet antler and drying method on the mineral composition of velvet antler powder¹

	HD*		FD		P-value
	FSDVA [#]	NRDVA	FSDVA	NRDVA	
Calcium, %	15.3 ± 0.7 ^{aB}	12.9 ± 0.4 ^b	17.2 ± 0.2 ^{aA}	13.9 ± 0.9 ^b	<0.0001
Phosphorus, %	8.2 ± 0.1 ^{aB}	6.4 ± 0.5 ^b	9.1 ± 0.1 ^{aA}	7.0 ± 0.6 ^b	<0.0001
Copper, ppm	2.8 ± 0.6	2.0 ± 0.4	2.7 ± 0.6 ^a	1.5 ± 0.0 ^b	0.0064
Zinc, ppm	97.3 ± 7.0 ^a	69.1 ± 3.7 ^b	102.6 ± 3.7 ^a	73.6 ± 1.6 ^b	<0.0001
Iron, ppm	132.5 ± 1.5 ^b	319.4 ± 28.4 ^a	154.7 ± 39.6 ^b	299.1 ± 35.8 ^a	0.9604

¹ Mean ± SD. Data are means of 3 batches of each velvet antler; each batch was tested in triplicate.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambhar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.^{a,b} The mineral compositions of the same drying method with different velvet antler reached a significant difference ($P < 0.05$).
^{A,B} The mineral compositions of the same velvet antler with different drying methods reached a significant difference ($P < 0.05$).

	HD*		FD		P-value
	FSDVA [#]	NRDVA	FSDVA	NRDVA	
Calcium, %	15.3 ± 0.7 ^{aB}	12.9 ± 0.4 ^b	17.2 ± 0.2 ^{aA}	13.9 ± 0.9 ^b	<0.0001
Phosphorus, %	8.2 ± 0.1 ^{aB}	6.4 ± 0.5 ^b	9.1 ± 0.1 ^{aA}	7.0 ± 0.6 ^b	<0.0001
Copper, ppm	2.8 ± 0.6	2.0 ± 0.4	2.7 ± 0.6 ^a	1.5 ± 0.0 ^b	0.0064
Zinc, ppm	97.3 ± 7.0 ^a	69.1 ± 3.7 ^b	102.6 ± 3.7 ^a	73.6 ± 1.6 ^b	<0.0001
Iron, ppm	132.5 ± 1.5 ^b	319.4 ± 28.4 ^a	154.7 ± 39.6 ^b	299.1 ± 35.8 ^a	0.9604

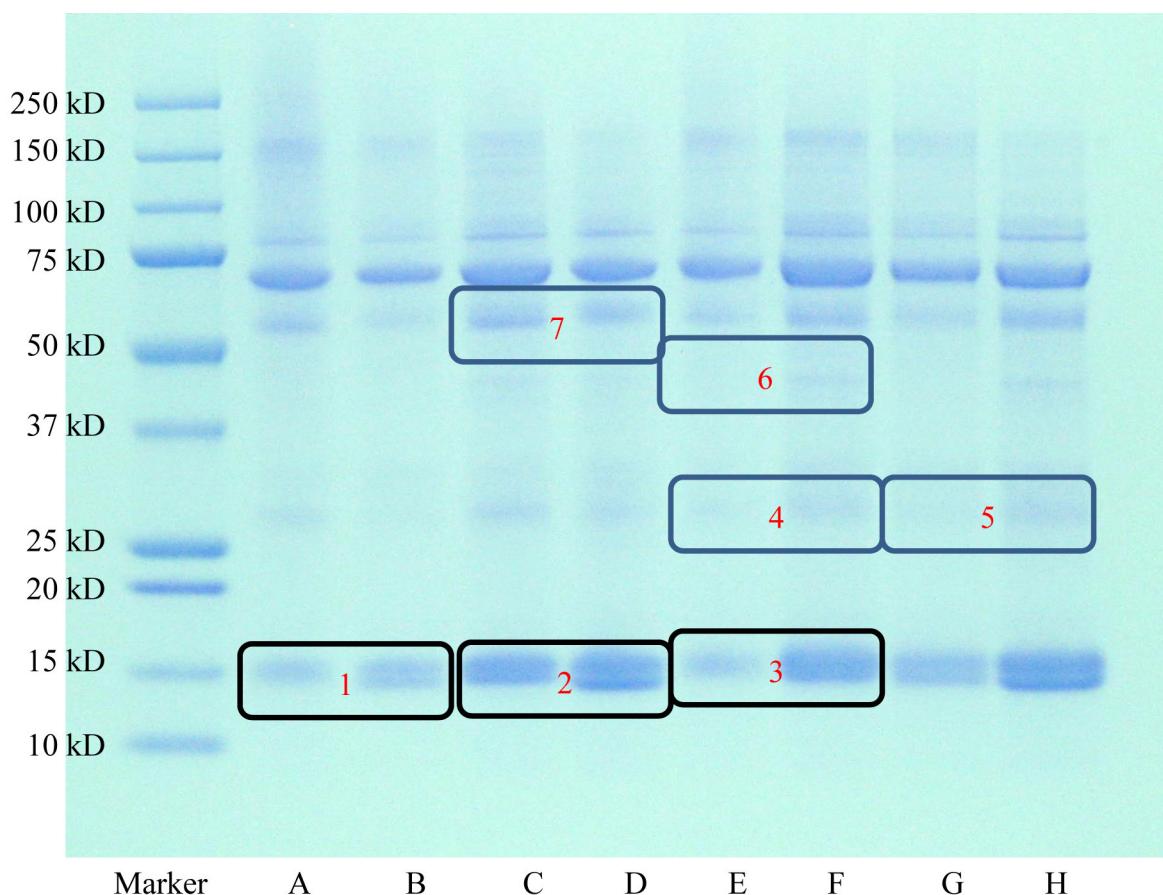


圖 2. 鹿茸水萃液之 SDS-PAGE 電泳圖 (試樣蛋白質濃度：10.9 – 23.7 mg/mL)。

Fig. 2. SDS-page of velvet antler water extract (the protein concentration of sample was 10.9 - 23.7 mg/mL).

- A. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic water extract
- B. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic water extract
- C. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic water extract
- D. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic water extract
- E. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler water extract
- F. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler water extract
- G. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler water extract
- H. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler water extract

Su *et al.* (2001) 結合鹽溶液、熱變性和凝膠過濾等方法，萃取梅花鹿鹿角盤 (antler base) 蛋白質，並發現 65.57、28.18、21.27、16.79 和 13.79 kD 的蛋白質條帶。Tang *et al.* (2008) 採用硫酸銨沉澱法萃取梅花鹿鹿角盤蛋白質，並以 SDS-PAGE 發現 11 條蛋白質條帶，分子量範圍為 10 – 110 kD。本研究萃取之鹿茸蛋白質分子量範圍為 13 – 250 kD，其中 15 kD 的蛋白質條帶可能為 FSDVA 及 NRDVA 間差異較大的蛋白質，經蛋白質身分鑑定發現其可能為血紅蛋白。Huang *et al.* (2010) 由梅花鹿鹿角盤的可溶性蛋白中，鑑定出 β -3 亞型血紅蛋白 (β -3 subtype of hemoglobin)、抗菌勝肽 (antimicrobial peptide)、肽聚醣識別蛋白 (peptidoglycan recognition protein)、 β -c 亞型血紅蛋白 (β -c subtype of hemoglobin) 和前原血清白蛋白 (pre-pro serum albumin)，雖然鹿品種及萃取方法有所差異，本試驗的結果與前人的研究有部分相符，推測其原因可能與鹿的品種或是不同的萃取方式有關。

在蛋白質身分鑑定結果表 6 顯示，血紅蛋白亞基 (編號 1 – 3 及 8 – 9) 是組成血紅蛋白的蛋白質，而血紅蛋白之功能與運輸氧氣有關。磷酸丙糖異構酶 (編號 4 – 5) 在糖酵解中有重要功能，影響生物的能量生成。肌動蛋白 (編號 6) 存在所有細胞中，是構成細胞骨架的蛋白質成分之一，在許多細胞活動中扮演重要角色，如：肌肉收縮、細胞分裂及細胞的建立與維持等。血清白蛋白 (編號 7、10、11) 為哺乳動物最常見的血漿蛋白，具有維持血液的滲透壓之功能，而 α -2-巨球蛋白 (編號 12) 亦為一種血漿蛋白，具有抑制蛋白酶之效果。本研究證實上述蛋白質含量會受到鹿品種、乾燥方式及超音波處理影響，其中又以血紅蛋白亞基含量受到鹿品種的影響最為明顯。然而，是否因 FSDVA 發育期較接近末期，致使血流量減少進而減少血紅蛋白，未來有必要進一步研究釐清。

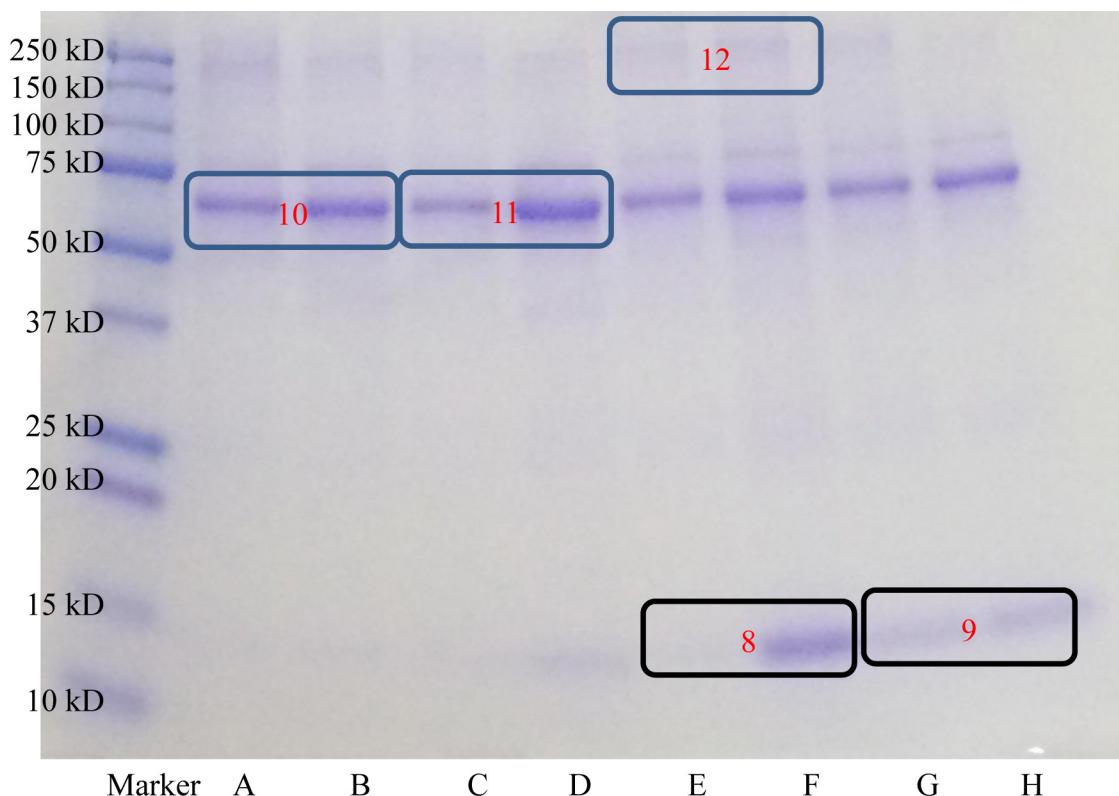


圖 3. 鹿茸酒萃液之 SDS-PAGE 電泳圖 (試樣蛋白質濃度：9.5 – 18.2 mg/mL)。

Fig. 3. SDS-page of velvet antler alcohol extract (the protein concentration of sample was 9.5 - 18.2 mg/mL).

- A. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
- B. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
- C. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
- D. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
- E. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler alcohol extract
- F. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler alcohol extract
- G. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler alcohol extract
- H. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler alcohol extract

表 6. SDS-PAGE 蛋白質條帶之蛋白質鑑定

Table 6. Protein identification of SDS-PAGE protein bands

No.	velvet antler	extraction	Protein identification	比對相似度 (%)
1	Formosan sambar deer	water extract	<i>HBB ODOVI</i> Hemoglobin subunit beta-3 OS = <i>Odocoileus virginianus virginianus</i>	24
2	New Zealand's red deer	water extract	<i>HBA RANTA</i> Hemoglobin subunit alpha OS = <i>Rangifer tarandus</i>	75
3	Formosan sambar deer	water extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	66
4	Formosan sambar deer	water extract	<i>TPIS BOVIN</i> Triosephosphate isomerase OS = <i>Bos taurus</i>	80
5	New Zealand's red deer	water extract	<i>TPIS BOVIN</i> Triosephosphate isomerase OS = <i>Bos taurus</i>	80
6	Formosan sambar deer	water extract	<i>ACTB BOVIN</i> Actin, cytoplasmic 1 OS = <i>Bos taurus</i>	65
7	New Zealand's red deer	water extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	29
8	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	48
9	New Zealand's red deer	alcohol extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	66
10	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	44
11	New Zealand's red deer	alcohol extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	48
12	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>A2MG BOVIN</i> Alpha-2- macroglobulin OS = <i>Bos taurus</i>	27

結論

FSDVA 具有較高的灰分、粗脂肪、膠原蛋白、鈣、磷、銅及鋅含量，而水分、粗蛋白質、總胺基酸及鐵含量則較低。胺基酸組成差異在 Gly、Pro 及 Leu 方面最為明顯。分子量 15 kD 的血紅蛋白亞基是含量差異較大的蛋白質。

致謝

本試驗承農業部科技計畫 (104 農科 -3.5.1- 畜 -L1(7)、105 農科 -3.5.1- 畜 -L1(5)) 經費補助，特此致謝。

參考文獻

- 中華民國國家標準 CNS。1984。食品中水分之檢驗方法，總號 5033，類號 N6114。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗灰分之檢驗方法，總號 5034，類號 N6115。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗蛋白質之檢驗方法，總號 5035，類號 N6116。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗脂肪之檢驗方法，總號 5036，類號 N6117。經濟部標準檢驗局。
- 郭卿雲、王妙鈴、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。
- 農業部。2022。農業統計年報。<https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International (OMA). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Barling, P. M., H. Liu, J. Martich, J. Mount, A. K. W. Lai, L. Ma, and L. F. B. Nicholson. 2004. Expression of PTHrP and the PTH/PTHrP receptor on growing red deer antler. *Cell Biol. Int.* 28: 661-673.
- Chapman, D. I. 1975. Antlers-bones of contention. *Mamm. Rev.* 5: 121-172.
- Chen, D., X. T. Meng, J. M. Liu, L. Chen, and L. J. Lu. 2004. Effect of velvet antler polypeptide (VAP) on differentiation of rat brain-derived stem cell in vitro. *Acta Anato. Sin.* 35: 240-243.
- Fletcher, T. J. 1986. Reproduction: seasonality. In: *Management and Diseases of Deer* (Ed. T. L. Alexander). Veterinary Deer Society, London. pp. 17-18.
- Froehlich, M. B., P. Steier, G. Wallner, and L. K. Fifield. 2016. European roe deer antlers as an environmental archive for fallout ^{236}U and ^{239}Pu . *J. Environ. Radioact.* 151: 587-592.
- Ha, Y. W., B. T. Jeon, S. H. Moon, and Y. S. Kim. 2003. Comparison of biochemical components among different fodders-treated antlers. *Saengyak Hakhoe Chi.* 34: 40-44.
- Hao, L. L., S. C. Liu, M. J. Zhang, S. Q. Chen, and T. G. Li. 2007. Extraction and comparative analysis of polypeptides contents of different segments in *Cervus elaphus Linnaeus*. *J. Jilin Agric. Univ.* 29: 378-380.
- Huang, P., Y. Zhao, F. Niu, R. N. Tang, Y. Q. Li, S. C. Liu, and L. X. Zhang. 2010. Isolation and identification of sika antler base soluble proteins. *Asia-Pacific Traditional Medicine* 6: 28-30.
- Iyengar, G. V., K. Kasperek, and L. E. Feinendegen. 1978. Retention of the metabolized trace elements in biological tissues following different drying procedures: I. Antimony, cobalt, iodine, mercury, selenium and zinc in rat tissues. *Sci. Total Environ.* 10: 1-16.
- Jablonska, M., M. Kramarczyk, B. Smieja-Kro, and J. Janeczek. 2016. Barium concentration in cast roe deer antlers related to air pollution caused by burning barium-enriched coals in southern Poland. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23: 5978-5982.
- Je, J. Y., P. J. Park, E. K. Kim, H. A. Kim, D. H. Lim, B. T. Jeon, and C. B. Ahn. 2010. Composition of biologically active substances and antioxidant activity of New Zealand deer velvet antler extracts. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 30: 20-27.
- Jeon, B. T., 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.
- Jeon, B. T., K. H. Kim, S. H. Cheong, S. K. Kang, P. J. Park, D. H. Kim, H. S. Jung, J. H. Park, D. G. Thomas, and S. H. Moon. 2012. Effects of growth stage and position within the beam in the structure and chemical composition of sika

- deer (*Cervus nippon*) antlers. Anim. Prod. Sci. 52: 51-57.
- Jeon, B. T., S. H. Cheong, D. H. Kim, J. H. Park, P. J. Park, S. H. Sung, D. G. Thomas, K. H. Kim, and S. H. Moon. 2011. Effect of antler development stage on the chemical composition of velvet antler in Elk (*Cervus elaphus canadensis*). Asian-Australas. J. Anim. Sci. 24: 1303-1313.
- Kierdorf, U. and H. Kierdorf. 2005. Antlers as biomonitor of environmental pollution by lead and fluoride: a review. Eur. J. Wildl. Res. 51: 137-150.
- Kim, Y. K., K. S. Kim, K. H. Chung, J. G. Kim, K. S. Kim, Y. C. Lee, Y. C. Chang, and C. H. Kim. 2003. Inhibitory effects of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of *Cervus korean* TEMMINCK var. *mantchuricus Swinhoe*, on type II collagen-induced arthritis in rats. Int. Immunopharmacol. 3: 1001-1010.
- Kolar, K. 1990. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73: 54-57.
- Landete-Castillejos, T., A. Garcia, and L. Gallego. 2007a. Body weight, early growth and antler size influence antler bone mineral composition of Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Bone 40: 230-235.
- Landete-Castillejos, T., J. A. Estevez, A. Martinez, F. Ceacero, A. Garcia, and L. Gallego. 2007b. Does chemical composition of antler bone reflect the physiological effort made to grow it? Bone 40: 1095-1102.
- Mayland, H. F. 1968. Effect of drying methods on losses of carbon, nitrogen and dry matter from alfalfa. Agron. J. 60: 658-659.
- Moon, S. H., S. K. Kang, S. M. Lee, M. H. Kim, and B. T. Jeon. 2004. A study on the seasonal comparison of dry matter intake, digestibility, nitrogen balance and feeding behavior in spotted deer fed forest by-product silage and corn silage. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 17: 57-65.
- Moen, R. and J. Pastor. 1998. Simulating antler growth and energy, nitrogen, calcium and phosphorus metabolism in caribou. Rangifer, Special Issue 10: 85-97.
- Park, H. J., D. H. Lee, S. G. Park, S. C. Lee, S. Y. Cho, H. K. Kim, J. J. Kim, H. S. Bae, and B. C. Park. 2004. Proteome analysis of red deer antlers. Proteomics 4: 3642-3653.
- Pathak, N. N., A. K. Pattanaik, R. C. Patra, and B. M. Arora. 2001. Mineral composition of antlers of three deer species reared in captivity. Small Rumin. Res. 42: 61-65.
- SAS Institute. 2008. SAS/STAT User's guide: Statistics. Version 9.2th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Schultz, S. R., M. K. Johnson, S. E. Feagley, L. L. Southern, and T. L. Ward. 1994. Mineral content of Louisiana white-tailed deer. J. Wildl. Dis. 30: 77-85.
- Shivanna, S. K., L. Naik, and P. S. Rao. 2024. Impact of drying techniques on the composition, physicochemical attributes, antioxidant capacity, antidiabetic potential and ACE inhibition properties of *Moringa oleifera* pod pulp powder. S. Afr. J. Bot. 165: 405-416.
- Steel, R. G. D and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics-a biometrical approach. 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, NY.
- Su, F. Y., H. P. Li, Y. M. Wang, Y. X. Huang, S. M. Xiao, and Y. Q. Xiao. 2001. Protein component extraction and its bioactivity determination of sika deer antler base. Animal Science and Veterinary Medicine 18: 18-20.
- Sunwoo, H. H., T. Nakano, R. J. Hudson, and J. S. Sim. 1995. Chemical composition of antlers from wapiti (*Cervus elaphus*). J. Agric. Food Chem. 43: 2846-2849.
- Suttie, J. M. 2000. The benefits of New Zealand deer velvet. First seminar of scientific research papers including human clinical trials & biochemical values of deer velvet, pp.23-31.
- Tang, R. N., Y. Zhao, X. D. Sun, and X. B. Qu. 2008. Comparison of water soluble total protein in velvet, antler plate and bone of sika deer. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine 28: 295-296.
- Wang, B. X., A. J. Liu, X. J. Cheng, Q. G. Wang, G. R. Wei, and J. C. Cui. 1985. Anti-ulcer action of the polysaccharides isolated from pilose antler. Acta Pharmaceu. Sin. 20: 321-325.
- Wang, H., Z. Lin, Q. Liu, M.J. Cai, L. Xu, and X. Z. Zhang. 2008. Preparation of velvet antlers small peptides and stimulating effects on osteosarcoma cell proliferation. Chem. J. Chin. Univ. 29: 1791-1796.
- Weng, L., Q. L. Zhou, L. L. Wang, Y. Q. Liu, Y. Wang, Y. Wang, and B. X. Wang. 2001. Velvet antler polypeptides promoted proliferation of epidermic cells and fibroblast and skin wound healing. Acta Pharmaceu. Sin. 36: 817-820.
- Weng, L., Q. L. Zhou, T. Ikejima, and B. X. Wang. 2002. A novel polypeptide from *Cervus elaphus Linnaeus*. Chin. Chem.

Lett. 13: 147-150.

- Wu, F., H. Li, L. Jin, X. Li, Y. Ma, J. You, S. Li, and Y. Xu. 2013. Deer antler base as a traditional Chinese medicine: a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 145: 403-415.
- Xu, M. and X. Q. Yue. 2012. Study on preparation of velvet antlers polypeptide by enzymatic hydrolysis. *Sci. Technol. Food Ind.* 33: 205-207.
- Yan, M. M., X. B. Qu, X. Wang, N. Liu, Z. Q. Liu, D. Q. Zhao, and S. Y. Liu. 2007. Purification sequencing and biological activity of polypeptide from velvet antler. *Chem. J. Chin. Univ.* 28: 1893-1896.
- Zhou, Q. L., Y. J. Guo, L. J. Wang, Y. Wang, Y. Q. Liu, Y. Wang, and B. X. Wang. 1999. Velvet polypeptides promoted proliferation of chondrocytes and osteoblast precursors and fracture healing. *Pharmacol Sin.* 20: 279-282.

The differences in general composition, amino acid and protein composition between Formosan sambar deer and New Zealand's red deer velvet antler⁽¹⁾

Ching-Yun Kuo⁽²⁾ Ruei-Han Yeh⁽²⁾⁽⁴⁾ and Ming-Ju Chen⁽³⁾

Received: Aug. 18, 2023; Accepted: Sep. 23, 2024

Abstract

The purpose of this study was to establish basic information on the general composition, amino acid and protein composition of Formosan sambar deer velvet antler (FSDVA) and New Zealand's red deer velvet antler (NRDVA), so as to serve as a reference for distinguishing Taiwan and imported velvet antler in the future. FSDVA had higher ash, crude fat and collagen contents, while NRDVA had higher moisture and crude protein contents. Deer antler slices were dried and made into velvet powder, and FSDVA velvet powder was found to have higher calcium, phosphorus, copper, and zinc contents than NRDVA velvet powder, while the total amino acid and iron contents were lower. In terms of amino acid composition, the Gly, Pro and Leu of different velvet antlers showed considerable difference between FSDVA and NRDVA. Different solvents (water or alcohol extraction) and ultrasonic treatment (with or without treatment) were used to extract the protein from deer antler powder dried thorough different ways (heat-dried or freeze-dried) and analyzed by SDS-PAGE electrophoresis. The results showed that under various ultrasonic treatment and drying methods, the protein band of the water-extracted protein of FSDVA was lighter than that of NRDVA at 15 kD. In terms of extraction solvent, water extraction showed more protein bands, which was favorable for the exploration of the effects of various treatments on the protein composition of deer antler powder. The performance of protein bands under different drying methods and ultrasonic treatment showed complex results under the influence of multiple factors, such as velvet antler, drying methods or ultrasonic treatment. The identification of the protein band showed that the protein with a large difference between FSDVA and NRDVA was hemoglobin subunit. In conclusion, FSDVA had higher content of ash, crude fat, collagen, calcium, phosphorus, copper and zinc, but lower content of water, crude protein, total amino acid, and iron. The composition of Gly, Pro and Leu of different velvet antlers were considerably different. The content of hemoglobin subunit (15 kD) varies considerably among different antlers.

Key words: Velvet antler, Formosan sambar deer, New Zealand's red deer, General composition, Amino acid, Protein.

(1) Contribution No. 2803 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

(3) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University.

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

蘭嶼豬族群疾病監測及豬瘟疫苗免疫效力之研究⁽¹⁾

黃昱翎⁽²⁾⁽⁵⁾ 王漢昇⁽³⁾ 陳益隆⁽⁴⁾ 李士昕⁽⁴⁾ 章嘉潔⁽⁴⁾

收件日期：112 年 8 月 25 日；接受日期：113 年 10 月 4 日

摘要

本試驗旨在探討蘭嶼豬族群特定病原監測及疫苗免疫效力評估。研究以分層隨機抽樣方式，於畜產試驗所東區分所臺東場區，按季採集哺乳、保育、生長肥育及種豬階段的豬隻樣本，總計採集 281 頭蘭嶼豬，進行豬生殖與呼吸道綜合症 (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRS)、豬第二型環狀病毒 (porcine circovirus type 2, PCV2)、假性狂犬病 (pseudorabies virus, PR) 及日本腦炎 (Japanese encephalitis virus, JEV) 之病原監測，同時進行豬瘟 (classical swine fever, CSF) 疫苗免疫後抗體力價監測。結果顯示，2020 年在 137 例豬隻血液樣本中，其中有 3 例 PCV2 qPCR 陽性 (2.19%)，其餘病原均為無檢出；2021 年在 129 例豬隻血液樣本中，其中有 1 例 PRRS qPCR 陽性 (0.78%) 及 6 例 PCV2 qPCR 陽性 (4.65%)，而其餘病原均為無檢出。至於仔豬進行豬瘟疫苗免疫後 ELISA 抗體力價 (blocking percentage, %) 監測方面，於 9、12、15 及 18 週齡之 ELISA 抗體力價分別為 $14.0 \pm 12.2\%$ 、 $60.5 \pm 7.1\%$ 、 $79.8 \pm 7.0\%$ 及 $84.9 \pm 7.9\%$ ，顯示蘭嶼豬仔豬經過豬瘟疫苗免疫後抗體力價揚升情形良好。綜上所述，從監測結果可見蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主，而仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好。

關鍵詞：蘭嶼豬、疾病監測、疫苗效力。

緒言

非人靈長類動物被運用在生物醫學研究上已有久遠的歷史 (Hau and Schapiro, 2014)，有著與人類相似解剖構造、生理特性、藥物動力學及生物化學等特點的生醫用豬，逐漸成為實驗動物在臨床前毒理實驗及藥物學研究上的相關應用選擇。其中，小型豬因性成熟時間較早、飼糧與飼養空間的要求較低、生長曲線緩慢便於實驗操作，且研究時藥物與麻醉劑所需投與劑量較少使其逐漸取代非嚙齒類動物，而被運用在各式研究諸如藥物動力學及毒物學等 (McAnulty *et al.*, 2011)。Hanse (1997) 指出，透過定期健康監測與改善飼養環境，可提高實驗用豬的品質，因實驗動物如遭病原感染將影響試驗的精確性，使試驗的可信度大幅降低。豬隻依健康程度不同可區分為常規 (conventional)、無特定病原 (specific pathogen-free, SPF) 及含特定病菌 (gnotobiotic) 三種層級，大部分農場動物的健康層級都被歸類在常規這區塊，其體內的微生物叢隨著飼養環境與健康計畫有著很大的變動。而豬隻飼養在無特定病原的環境中會定期進行健康監測，這些豬就稱為最少疾病 (minimal disease, MD) 或無特定病原 (SPF) 豬，含特定病菌豬 (gnotobiotic) 的生產是以帝王切開術，將胎兒從母體移離後飼育在隔離病原環境中的方式，實驗用豬通常以 SPF 或 gnotobiotic 等級的標準進行飼育，同時提供優質的飼養環境及頗密的健康計畫，將病原的干擾減至最低以避免影響實驗的準確性 (Hansen, 1997; Swindle, 1998)。蘭嶼豬為臺灣原生小型豬種，1980 年代由臺東種畜繁殖場配合政府發展生物醫學用豬計畫，自蘭嶼引進 4 公 16 母，至場內進行族群繁衍與種原保存，時至今日，畜產試驗所東區分所臺東場區是臺灣進行純種蘭嶼豬繁衍的保種基地，除了肩負維護蘭嶼豬族群基因多樣性的責任外，亦提供各生物醫學研究單位實驗用豬的服務，而有關該原生小型豬種近年的研究多著重於分子遺傳、種原保存、品種選育與醫學研究模式之建立如骨科 (Hung *et al.*, 2020)、內科 (Lee *et al.*, 2020)、神經內科 (Liao *et al.*, 2022) 及皮膚 (Lin *et al.*, 2019) 等動物模式，但有關免疫效能及族群疾病概況之研究則相對缺乏，這對於豬場疾病防控尤為不利，因此在

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2804 號。

(2) 農業部動植物防疫檢疫署高雄分署。

(3) 新竹縣關西鎮公所。

(4) 農業部畜產試驗所東區分所。

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

提升蘭嶼豬健康品質的基礎上，有關該領域的研究著實有探討的必要性。因此，本試驗期望透過監測蘭嶼豬族群疾病概況及評估疫苗免疫成效，以利未來該保種族群疾病防控之參考。

材料與方法

本試驗於農業部畜產試驗所東區分所進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容經農業部畜產試驗所東區分所實驗動物管理小組以畜試動字 110-17 申請核准在案。

I. 試驗場域

試驗牧場為畜產試驗所東區分所的蘭嶼豬族群一實場，豬隻飼養於自然溫濕度與光照的傳統半開放式畜舍。試驗豬隻為 6 週齡離乳仔豬，之後移入網狀高床保育舍，保育豬於 16 週齡後移入生長豬舍。種豬與離乳仔豬採限飼，飼糧則使用商業用飼料，飲水為自由供給，仔豬與母豬常規免疫包含豬瘟 (classical swine fever, CSF)、豬第二型型環狀病毒 (porcine circovirus type 2, PCV2)、豬假性狂犬病 (pseudorabies virus, PR)、豬萎縮性鼻炎 (atrophic rhinitis, AR) 及肺炎型黴漿菌 (mycoplasma pneumonia, SEP)，新女豬於配種前完成日本腦炎 (Japanese encephalitis virus, JEV) 免疫。

II. 試驗動物

- (i) 疾病監測採集 2020 年至 2021 年間，各生長階段的蘭嶼豬血樣，監測頻率以季為單位，兩年總計監測 8 次，每季以分層隨機抽樣方式採集哺乳、保育、生長肥育及種豬階段的豬隻，試驗總計採集蘭嶼豬 281 頭。
- (ii) 豬瘟疫苗免疫成效試驗則任意挑選仔豬 15 頭，於 9 及 12 週齡分別免疫豬瘟疫苗，疫苗使用獸醫研究所研發的豬瘟組織培養活毒疫苗 (製造批號 HCTC018)，並於 9、12、15 及 18 週齡採集血液樣本，收集之血樣進行血清豬瘟 ELISA 抗體力價檢測，藉由本試驗探討豬瘟疫苗免疫成效之研究。

III. 樣本採集

豬隻以真空採血管 (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) 搭配 21G 針頭自頸靜脈窩採集血液 5 mL，並於 4°C 下以 3,000 rpm 離心 15 分鐘，完成後抽取上層血清 1.5 mL，裝於微量離心管中並置於 -20°C 冷凍櫃中保存。

IV. 病原檢測

(i) 樣本核酸萃取

取受檢之血液樣本 200 μL 進行全核酸萃取。使用商品化 RNA/DNA 全核酸萃取套組 (MagNA Pure LC total nucleic acid isolation Kit, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)。依照套組使用手冊進行病毒全核酸萃取，最後萃取出 RNA/DNA 60 μL。置於 -80°C 待用。

(ii) 反轉錄酶反應 (reverse transcriptase reaction)

取病毒 RNA/DNA 10 μL 為模板，加入 Random Hexamer 等引子 1 μL 及 10 mM dNTP Mix 1 μL。於 95°C 作用 2 分鐘後，馬上將反應物置於冰上，並依序參照使用說明加入反轉錄酵素 PrimeScript™ RT reagent kit 0.5 μL (Takara Bio Inc., Kusatsu, Shiga, Japan)、5 倍 First-strand buffer 4 μL、RNase 抑制劑 RNaseOUT™ 1 μL、0.1 M DTT 1 μL 及 RNase Free H₂O 1.5 μL，反應總體積為 20 μL。於 50°C 下進行反轉錄作用 60 分鐘，之後以 70°C 作用 15 分鐘中止反應。反轉錄之產物置於 -20°C 備用。

(iii) 即時聚合酶鏈鎖反應 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)

PRRS、PCV2 及 PR 使用 qPCR 檢測病原核酸並定量，每一反應管內含反應試劑及待測檢體共計 10 μL，其中有 LightCycler® 480 Probes Master Mix (Roche Applied Science, Germany) 5 μL、2 μM 引子對各 0.8 μL、水解探針 (1 pmol Probe) 1 μL、diethyl pyrocarbonate-treated-water (DEPC-treated H₂O) 1.4 μL 以及待測核酸 1 μL，所使用引子對如表 1，使用熱循環及螢光檢測系統 (LightCycler® 96 Instrument, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) 之水解探針檢測系統進行以下反應，PRRS 所需反應時間為 95°C 作用 10 分鐘後，以 95°C 作用 10 秒、55°C 作用 10 秒及 72°C 作用 15 秒重複 45 個循環，並在作用期間每一循環偵測螢光訊號；PCV2 反應時間為在 95°C 作用 10 分鐘後，以 95°C 作用 20 秒、60°C 作用 20 秒及 72°C 作用 20 秒重複 45 個循環，並在每個循環的 72°C 偵測螢光訊號；PR 所需反應時間為 95°C 作用 10 分鐘後，以 95°C 作用 20 秒、62°C 作用 20 秒及 72°C 作用 20 秒重複 45 個循環，並在作用期間每一循環偵測螢光訊號。

(iv) 聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)

JEV 應用 PCR 檢測每一管反應管總體積為 25 μL，其中含有 0.1 % DEPC-treated H₂O 10.5 μL、2 × Premix (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) 12.5 μL、10 μM 引子對各 0.5 μL 以及待測核酸 1 μL，所使

用引子對如表 1。將 PCR 反應管放入 PCR 反應器 (Applied Biosystems® 2720 Thermal Cycler, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) 進行作用，PCR 反應條件如下：94°C 作用 5 分鐘後，以 94°C 作用 30 秒、52°C 作用 1 分鐘及 72°C 作用 1 分鐘重複 30 個循環，最後以 72°C 作用 7 分鐘終止反應。

表 1. 本試驗於即時聚合酶鏈鎖反應及聚合酶鏈鎖反應所使用引子對

Table 1. Primers used in RT-qPCR and PCR in this study

Pathogens	Primer	Sequences	References
PRRSV	PRRSV-M177F	5'-CAT-TCT-GGC-CCC-TGC-CCA-3'	Lin <i>et al.</i> , 2013
	PRRSV-M177R	5'-ACC-ACT-CCY-YGY-TTD-ACA-GCT-3'	
PCV2	PCV2-89F	5'-CGT-TGG-AAT-GGT-ACT-CCT-CAA-3'	Tsai <i>et al.</i> , 2019
	PCV2-89R	5'-TGT-AGC-ATT-CTT-CCA-AAA-TAC-CAA-3'	
PRV	PRV-210F	5'-ACR-CAC-GAG-GAC-TAC-TAC-3'	this study
	PRV-210R	5'-ATC-GCG-GAR-CCA-GAC-GTC-3'	
JEV	JE1F	5'-TGT-GTG-AAC-TTC-TTG-GCT-TAG-TAT-3'	Chen <i>et al.</i> , 2011
	JE1R	5'-CAR-CAT-CTG-TTY-TCW-CCT-TTT-TGA-3'	

(v) 酵素聯合免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

血清抗體檢測使用 IDEXX® PRV gI Antibody Test Kit (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, United States) 及 IDEXX® PRRS X3 Antibody Test Kit (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, United States) 套組進行檢測，並依據該檢測套組標準判定檢測結果。

V. 血清豬瘟抗體 ELISA 檢測

血清檢體以 IDEXX® Swine Fever Virus (CSFV) Antibody Test Kit 套組檢測豬瘟特異性抗體，並使用 ELISA 判讀機 (Biochrom Ltd., United Kingdom) 在波長 450 nm 下讀取 OD 值。將 OD 值依下列公式換算成 Blocking percentage。使用下列公式： $\text{Blocking (\%)} = (\text{OD}_{\text{neg}} - \text{OD}_{\text{test}} / \text{OD}_{\text{neg}}) \times 100$ ；若根據換算可進行以下判讀 Blocking (%) ≤ 30% 則結果為陰性，Blocking (%) ≥ 40% 為陽性，介於 30 – 40% 間為疑陽性。

結果與討論

本試驗於 2020 年至 2021 年間採集各生長階段之蘭嶼豬血液進行特定病原監測，共收集 281 管血液樣本。2020 年在 137 例豬隻血液樣本中有 3 例 PCV2 qPCR 陽性 (2.19%)，其餘病原均無抗原及抗體檢出；2021 年在 129 例豬隻血液樣本中有 1 例 PRRS 陽性 (0.78%)、6 例 PCV2 qPCR 陽性 (4.65%)，其餘在 PR 及 JE 均無抗原或抗體檢出 (Table 2)。

表 2. 蘭嶼豬族群病原監測結果

Table 2. Pathogen tested in Lanyu pigs

Virus	Associated disease	Method	Detection rate							
			2020				2021			
			1	2	3	4	1	2	3	4
Suid herpesvirus 1 (Herpesviridae)	Aujeszky's disease	ELISA	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
		qPCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
Porcine reproductive and respiratory syn-drome virus (Arte-riviridae)	Porcine reproductive and respiratory syn-drome	ELISA	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
		qPCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	1/28
Porcine circovirus 2 (Circoviridae)	Post-weaning multi-systemic wasting syn-drome	qPCR	0/38	0/34	1/33	2/32	4/32	1/37	0/32	1/28
Japanese encephalitis virus (Flaviviridae)	Japanese encephalitis	PCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28

Kedkovid *et al.* (2020) 等指出，過去 20 年來亞洲各國養豬產業受到 PRRS、PED、口蹄疫 (foot and mouth disease, FMD) 與非洲豬瘟 (African swine fever, ASF) 等流行性疾病傳播的影響，對於豬隻健康更造成極大衝擊，造成產業經濟上的損失。本試驗針對臺灣四種常見病毒性疾病 (PR、PRRS、PCV2 及 JE)，於蘭嶼豬族群進行為期兩年的特定病原監測，在 2020 及 2021 年度以 qPCR 檢出 PRRS 及 PCV2 陽性率分別為 0 及 2.19、0.78 及 4.65%，其餘病原皆為未檢出，從監測結果可見，蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主。德國近年透過越南大肚豬及德國藍瑞斯等品系所雜交選育出 Aachen Minipig (AaMP) 小型豬品系 (Pawlowsky *et al.*, 2017), Plotzki *et al.* (2016) 對 AaMP 繁殖基地內飼養在一般環境中的豬群進行病原監測時，分別在 PRRS、PCV2 與豬流行性下痢 (porcine epidemic diarrhea, PED) 中各有 10% 的檢出率。蘭嶼豬族群檢測結果與 AaMP 族群與亞洲豬隻目前流行的病原頗為類似。

自 1990 年代起 PCV2 成為世界主要流行豬病 (Allan *et al.*, 1999)，其與豬離乳後多系統性消耗性症候群 (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) 及呼吸道症狀、先天性震顫、腸炎、皮膚炎、腎病與繁殖障礙等症狀有相關性，這些豬環狀病毒相關疾病在北美洲被統稱為 porcine circovirus associated disease (PCVAD)，而歐洲則稱為 PCVD (Opriessnig and Langohr, 2013; Segalés *et al.*, 2013)。在豬的異種移植 (xenotransplantation) 研究中指出，PCV2 入侵豬隻體內後會在其上皮細胞、內皮細胞及巨噬細胞中大量複製，使得大部分移植所需器官有被病毒感染的風險，此病毒會抑制宿主先天性免疫反應，可能遭 PCV2 感染外還將伴隨著其餘病原微生物繼發性感染，雖然對於器官受贈者感染 PCV2 的風險尚不清楚，但研究指出人類細胞遭 PCV2 感染後會產生細胞病變效應 (cytopathogenic effects) (Hattermann *et al.*, 2004; Grau-Roma *et al.*, 2011)，因此 PCV2 在生醫用豬的研究、監測及控制相當重要。

Heinze *et al.* (2016) 發現在 SPF 哥廷根小型豬、Aachen 小型豬、基因編輯豬、農場家豬與將屠宰的肉豬血液與臟器中，其 PCV2 抗原檢出率分別為 50% (11/22)、14% (3/21)、0% (0/6)、0% (0/10) 及 0% (0/12)，其中除了 SPF 哥廷根小型豬與 Aachen 小型豬外，其餘豬隻皆有免疫 PCV2 的疫苗，顯示疫苗免疫可有效防護 PCV2 之感染。Martelli *et al.* (2011) 指出，當豬隻經 PCV2 感染後其體內病毒血症含量低於 10^3 copies/ μL 屬亞臨床症狀、介於 10^3 至 10^4 copies/ μL 可能出現豬環狀病毒相關疾病、高於 10^4 copies/ μL 則為 PCVAD，本場蘭嶼豬族群在 2020 至 2021 年 8 次監測中 PCV2 檢出率分別為 0% (0/38)、0% (0/34)、3.03% (1/33)、6.25% (2/32)、12.5% (4/32)、2.7% (1/37)、0% (0/32) 及 3.5% (1/28)，同時在 2021 年第一季監測前蘭嶼豬族群未曾免疫 PCV2 疫苗，從表 1 可見 2020 年第三季開始有陽性病例檢出且其病毒血症為 5.4×10^1 copies/ μL 屬亞臨床症狀，直至 2021 年第一季陽性個體病毒血症出現 3.9×10^3 copies/ μL ，此時期牧場有少部分離乳豬隻出現 PMWS 的症狀諸如生長遲滯、消瘦、腹瀉及呼吸急促等全身性症狀 (Harding and Clark, 1997)，之後牧場於母豬空胎及仔豬三週齡時各免疫一劑量 PCV2 不活化疫苗 (Ingelvac CircoFLEX®, Boehringer Ingelheim, St. Joseph, Mo, USA)，因此自 2021 年第二季後 PCV2 檢出率逐步下降，臨床上豬隻出現 PMWS 的情況亦大幅減少，推估與遭感染豬隻體內病毒血症的持續時間與病毒量下降有關。Heinze *et al.* (2016) 指出，使用帝王切開術將胎兒從母體取出後，飼育在高規格的飼育環境中的 SPF 哥廷根小型豬，其 PCV2 檢出率達 14%，推估與病原經母體垂直傳播有關，而在歐洲、日本與巴西野豬與家豬 PCV2 流行病學調查中，發現有 0.65 至 100% 的檢出率，顯見 PCV2 該病原廣泛存在豬隻體內，因此建議實驗動物須經 PCV2 疫苗免疫後再移入 SPF 畜舍飼養。

PRRS 為這 20 多年來席捲世界養豬產業的疾病，造成歐洲、美洲及亞洲養豬業者巨大經濟損失，染病豬隻會有繁殖障礙及呼吸道症狀的病癥出現，其可分為 PRRS 1 及 PRRS 2 兩種型別 (Collins *et al.*, 1992; Chueh *et al.*, 1998)，臺灣主要流行型別為 PRRS 2，亦為近年困擾臺灣養豬產業的疾病之一 (Yu *et al.*, 2019)，豬隻遭 PRRS 病毒感染後 7 天會出現病毒血症，7 – 9 天體內可檢測出非特異性抗體 (Lopez and Osorio, 2004)，因此 PRRS 早期感染豬隻時約在 7 – 9 天可被檢出陽性反應。本試驗於 110 年第四季監測時以 qPCR 檢出 PRRS 陽性反應 1 例，立即依照場內標準作業程序將豬隻予以汰除，因臨床上並無觀察到相關病癥之豬隻，後續已提高檢測頻度及強化生物安全，抵禦病原之危脅。

在豬瘟疫苗免疫後效力部分，仔豬於免疫後 ELISA 抗體力價監測如圖 1 所示，在 9、12、15 及 18 週齡之 ELISA 抗體力價分別為 $14.0 \pm 12.2\%$ 、 $60.5 \pm 7.1\%$ 、 $79.8 \pm 7.0\%$ 及 $84.9 \pm 7.9\%$ 。Suradhat and Damrongwatanapokin (2003) 指出，當哺乳豬體內豬瘟移行抗體力價高於 32 倍時，進行疫苗施打會干擾減毒疫苗之效力導致疫苗保護力失效。仔豬經豬瘟減毒疫苗接種後 2 – 4 天即有保護力，而疫苗之保護效力可維持 6 – 18 個月之久 (Van Oirschot, 2003)。Terpstra *et al.* (1990) 研究中指出，豬隻經豬瘟活毒疫苗初次免疫後，約 2 至 3 週可於血液中檢測出抗體。Freitas *et al.* (2009) 發現豬瘟活毒疫苗可在施打後 2 週於豬隻血液中檢出抗體，隨後抗體力價會持續上升至高峰。本場蘭嶼豬於 9 及 12 週齡各免疫一劑豬瘟疫苗，而 9 至 18 週齡為疫苗施打前至最後一劑疫苗施打後 6 週，可見其 ELISA 抗體力價平均值從低於陽性判定點 (40%) 揚升至 $84.9 \pm 7.9\%$ 。抗體力價表現結果與前人研究結果類似，且顯

示仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好，具足夠效價之保護力。

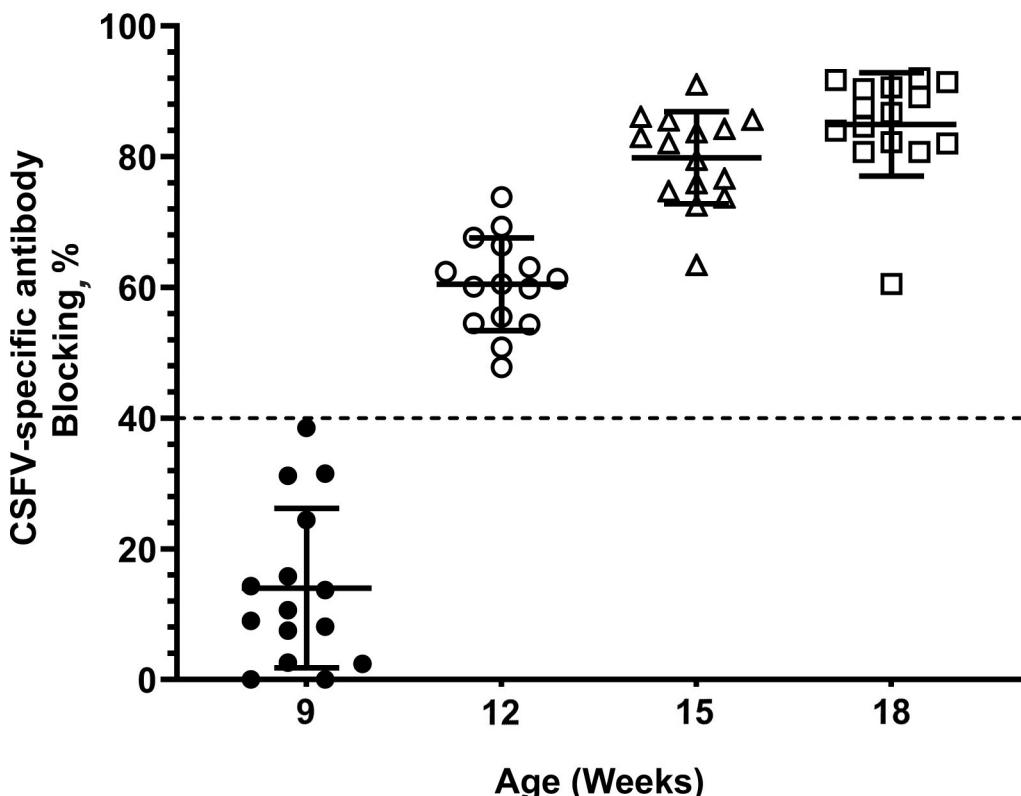


圖 1. 不同年齡層的蘭嶼豬豬瘟特異性抗體力價。

Fig. 1. The CSFV specific antibody level at different ages. CSFV specific antibody detected by IDEXX CSFV Ab blocking ELISA test kit. The gray dotted line represents the adequate level (blocking (%) $\geq 40\%$ are considered positive). Data are represented as mean \pm standard deviation (SD).

結論

綜上所述，從監測結果可見蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主，其餘病原 PR 及 JEV 均為無檢出，且蘭嶼仔豬經豬瘟疫苗免疫後，ELISA 抗體力價平均值從低於陽性判定點 (40%) 揚升至 $84.9 \pm 7.9\%$ ，顯示仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好。

參考文獻

- Allan, G., F. McNeilly, B. Meehan, S. Kennedy, D. Mackie, J. Ellis, E. Clark, E. Espuna, N. Saubi, and P. Riera. 1999. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet. Microbiol.* 66: 115-123.
- Chen, Y. Y., Y. C. Fan, W. C. Tu, R. Y. Chang, C. C. Shih, I. H. Lu, M. S. Chien, W. C. Lee, T. H. Chen, and G. J. Chang. 2011. Japanese encephalitis virus genotype replacement, Taiwan, 2009-2010. *Emerg. Infect. Dis.* 17: 2354.
- Chueh, L., K. Lee, F. Wang, V. Pang, and C. Weng. 1998. Sequence analysis of the nucleocapsid protein gene of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus Taiwan MD-001 strain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 440: 795-799.
- Collins, J. E., D. A. Benfield, W. T. Christianson, L. Harris, J. C. Hennings, D. P. Shaw, S. M. Goyal, S. McCullough, R. B. Morrison, and H. S. Joo. 1992. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J. Vet. Diagn. Investig.* 4: 117-126.
- Freitas, T., L. Caldas, E. Esteves, A. Duarte, and M. Rebello. 2009. Classical swine fever: Humoral neutralizing antibody induced by a live attenuated vaccine. *Rev. Med. Vet.* 6: 314-318.

- Grau-Roma, L., L. Fraile, and J. Segalés. 2011. Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Vet. J.* 187: 23-32.
- Hansen, A. K. 1997. Health status of experimental pigs. *Pharmacol. Toxicol.* 80: 10-15.
- Harding, J. C. and E. G. Clark. 1997. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J. Swine Health Prod.* 5: 201-203.
- Hattermann, K., C. Roedner, C. Schmitt, T. Finsterbusch, T. Steinfeldt, and A. Mankertz. 2004. Infection studies on human cell lines with porcine circovirus type 1 and porcine circovirus type 2. *Xentrans plantation* 11: 284-294.
- Hau, J. and S. Schapiro. 2014. Non-human primates in biomedical research. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 33: 9-12.
- Heinze, J., E. Plotzki, and J. Denner. 2016. Virus safety of xenotransplantation: prevalence of porcine circovirus 2 (PCV2) in pigs. *Ann. Virol. Res.* 2: 1023.
- Hung, C. C., E. Fu, H. C. Chiu, and H. C. Liang. 2020. Bone formation following sinus grafting with an alloplastic biphasic calcium phosphate in Lanyu Taiwanese mini-pigs. *J. Periodontol.* 91: 93-101.
- Kedkovid, R., C. Sirisereewan, and R. Thanawongnuwech. 2020. Major swine viral diseases: an Asian perspective after the African swine fever introduction. *Porc. Health Manag.* 6: 1-11.
- Lee, Y. J., K. Y. Li, P. J. Wang, H. W. Huang, and M. J. Chen. 2020. Alleviating chronic kidney disease progression through modulating the critical genus of gut microbiota in a cisplatin-induced Lanyu pig model. *J. Food Drug Anal.* 28: 103-114.
- Liao, Y. J., C. H. Liao, L. R. Chen, and J. R. Yang. 2022. Dopaminergic neurons derived from porcine induced pluripotent stem cell like cells function in the Lanyu pig model of Parkinson's disease. *Anim. Biotechnol.* 34.4: 1283-1294.
- Lin, C. N., W. H. Lin, L. N. Hung, S. Y. Wang, and M. T. Chiou. 2013. Comparison of viremia of type II porcine reproductive and respiratory syndrome virus in naturally infected pigs by zip nucleic acid probe-based real-time PCR. *BMC Vet. Res.* 9: 1-6.
- Lin, C. H., P. Y. Chiu, Y. Y. Hsueh, S. J. Shieh, C. C. Wu, T. W. Wong, C. M. Chuong, and M. W. Hughes. 2019. Regeneration of rete ridges in Lanyu pig (*Sus scrofa*): Insights for human skin wound healing. *Exp. Dermatol.* 28: 472-479.
- Lopez, O. and F. Osorio. 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102: 155-163.
- Martelli, P., L. Ferrari, M. Morganti, E. De Angelis, P. Bonilauri, S. Guazzetti, A. Caleffi, and P. Borghetti. 2011. One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet. Microbiol.* 149: 339-351.
- McAnulty, P. A., A. D. Dayan, N.C. Ganderup, and K. L. Hastings. 2011. The minipig in biomedical research. CRC press.
- Opriessnig, T. and I. Langohr. 2013. Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. *Vet. Pathol.* 50: 23-38.
- Pawlowsky, K., L. Ernst, J. Steitz, T. Stopinski, B. Kögel, A. Henger, R. Kluge, and R. Tolba. 2017. The Aachen minipig: phenotype, genotype, hematological and biochemical characterization, and comparison to the Göttingen minipig. *Eur. Surg. Res.* 58: 193-203.
- Plotzki, E., G. Heinrichs, B. Kubícková, R. G. Ulrich, and J. Denner. 2016. Microbiological characterization of a newly established pig breed, Aachen Minipigs. *Xenotransplantation*. 23: 159-167.
- Segalés, J., T. Kekarainen, and M. Cortey. 2013. The natural history of porcine circovirus type 2: from an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Vet. Microbiol.* 165: 13-20.
- Suradhat, S. and S. Damrongwatanapokin. 2003. The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2, infection. *Vet. Microbiol.* 92: 187-194.
- Swindle, M. M. 1998. Defining appropriate health status and management programs for specific-pathogen-free swine for xenotransplantation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 862: 111-120.
- Terpstra, C., R. Woortmeyer, and S. Barteling. 1990. Development and properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera based on the Chinese strain. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97: 77-79.
- Tsai, G. T., Y. C. Lin, W. H. Lin, J. H. Lin, M. T. Chiou, H. F. Liu, and C. N. Lin. 2019. Phylogeographic and genetic characterization of porcine circovirus type 2 in Taiwan from 2001-2017. *Sci. Rep.* 9: 1-13.
- van Oirschot, J. T. 2003. Vaccinology of classical swine fever: from lab to field. *Vet. Microbiol.* 96: 367-384.
- Yu, C. H., K. Kaewprom, C. C. Chang, M. T. Chiou, and C. N. Lin. 2019. Genetic evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus based on ORF5 on 7 Taiwanese pig farms. *Thai. J. Vet. Med.* 49: 167-174.

Study on monitoring pathogen and classical swine fever vaccine efficacy of Lanyu pigs⁽¹⁾

Yu-Ling Huang⁽²⁾⁽⁵⁾ Han-Sheng Wang⁽³⁾ Yi-Long Chen⁽⁴⁾
Shih-Sin Li⁽⁴⁾ and Chia-Chieh Chang⁽⁴⁾

Received: Aug. 25, 2023; Accepted: Oct. 4, 2024

Abstract

The objectives of this study were to investigate disease surveillance and evaluate the vaccine efficacy in Lanyu pigs. Samples were collected from 281 Lanyu pigs at Taiwan Livestock Research Institute – Eastern Region Branch at different stages, including lactation, nursery, growing-finishing and, breeding stock, through stratified random sampling. Pathogen tests were conducted for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS), porcine circovirus type 2 (PCV2), pseudorabies virus (PR), and Japanese encephalitis virus (JEV). Additionally, the antibody titers of piglets vaccinated with classical swine fever (CSF) vaccine were monitored. The results showed that 3 out of 137 cases of pigs' blood samples collected in 2020 were tested PCV2 qPCR positive (2.19%) while the retaining samples were not tested with any pathogen. One out of 139 cases of pigs' blood samples collected in 2021 tested PRRS qPCR positive (0.78%) and 6 cases tested PCV2 qPCR positive (4.65%), respectively, while the remaining samples were not tested with any pathogen. As for the monitoring of ELISA antibody (blocking percentage, %) after CSF vaccination at the age of 9, 12, 15, and 18 weeks, the ELISA antibody were $14.0 \pm 12.2\%$, $60.5 \pm 7.1\%$, $79.8 \pm 7.0\%$, and $84.9 \pm 7.9\%$, respectively. It revealed the constant rise of antibody titer in Lanyu pigs after CSF vaccination. In conclusion, this study detected the presence of PRRS and PCV2 using qPCR in Lanyu pigs. In sum of the above, the monitoring results showed that Lanyu pigs were primarily subject to infection by two pathogens, namely PRRS and PCV2, while piglets showed a better specific antibody response after CSF vaccination at the age of 9 week and booster vaccination at the age of 12 weeks.

Key words: Lanyu pig, Disease monitoring, Vaccine efficacy..

(1) Contribution No. 2804 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Kaohsiung Branch, Animal and Plant Health Inspection Agency (APHIA), Ministry of Agriculture.

(3) Guansi Township Office, Hsinchu County.

(4) Eastern Region Branch, MOA-TLRI, Ilan 26846, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: khylhuang@khaphia.gov.tw.

盤固草地以不耕犁方式間植苜蓿之技術探討⁽¹⁾

陳嘉昇⁽²⁾⁽³⁾ 王紹愍⁽²⁾ 游翠凰⁽²⁾ 劉信宏⁽²⁾

收件日期：113年7月2日；接受日期：113年10月4日

摘要

禾豆混植草地可以提升牧草營養價值、平衡土壤養分利用，也可經由豆科植物的生物固氮作用提供便宜的氮素來源。本研究開發一式適用於盤固草地上間植苜蓿之不整地播種套組，並以本播種套組進行兩組田間試驗，探討播種床寬度、播種密度，以及有無灌溉與施肥對混植草地建立的影響。本研究完成之套組可裝置於國內一般真空播種機，克服硬盤地切草與碎土問題，使切溝、播種及鎮壓動作一次完成；並可調整播種床寬度為1至6 cm。由試驗I結果，增加播種床寬度在初期確有提高苜蓿株高、降低盤固草株高的效果，但經產量調查發現苜蓿比例並無提高，反而可能因高比例的破土、碎土的更新效果提升了盤固草的產量。苜蓿播種密度的提高有助於第一年的苜蓿產量與比例，但對第二年的比例則無顯現效果。第二年的苜蓿產量均明顯降低。由試驗II結果，灌溉對促進苜蓿的生長效果顯著，相對的施肥處理則無顯著影響，苜蓿生長對灌溉的反應高於盤固草；肥料施用有助於盤固草前期生長，但對產量並無顯著促進效果。苜蓿與盤固草雖不能形成穩定持久的混植組合，然因間植播種操作簡便，每2–3年再行補植苜蓿種子一次可將苜蓿維持於一定比例之上，重視灌溉及減少前期盤固草競爭，可有效在既有盤固草地上建立苜蓿的混植草地。

關鍵詞：禾豆混植、苜蓿、盤固草。

緒言

禾豆混植草地可以提升牧草營養價值、平衡土壤養分利用，也可經由豆科的生物固氮作用，提供最便宜的氮素來源 (Sleugh *et al.*, 2000; Tilman *et al.*, 2001; Tracy and Sanderson, 2004)，然熱帶地區較少禾豆混植草地，臺灣的狀況亦然 (金, 1998；陳等, 2010；Tow *et al.*, 1997)。盤固草 (*Digitaria decumbens*) 是國內最大宗的多年生短莖型禾草，易於栽培且適應臺灣生長環境，唯其熱帶禾本科特性以致消化率及蛋白質含量低於溫帶草種。苜蓿 (*Medicago sativa*) 是最重要的溫帶牧草，隨著品種改良，其生產漸擴展至低緯度地區。在恆春試驗區的前期觀察中，發現相對於多年生花生 (*Arachis glabrata*)、賽芻豆 (*Macroptilium atropurpureum*)、泰樂豆 (*Stylosanthes gracilis*) 等，苜蓿的初期生長最旺盛，雖然不耐夏季濕熱，在無除草劑施用之下是參試豆科中對雜草最具競爭力者，且苜蓿具有較高比例的地下部，提供土壤氮素的潛力高於其他 (王等, 2010)。

陳等 (2011) 在探討有機芻料生產時指出雖然苜蓿的耐逆境能力不佳，不能形成穩定持久的混植組合，但與指草屬牧草 (*Digitaria spp.*) 混植可形成季節性的互補，苜蓿在冬春季生長旺盛、產量高，指草屬牧草則相反；此外，苜蓿具高度的固氮能力，估計混植區每年、每公頃自地上部收穫 350 公斤以上的氮素 (王等, 2010)，在不施肥之下維持可觀的生產力，並使混植的禾本科牧草產量及粗蛋白質含量顯著提高。

雖然苜蓿在本地環境下的持久性不佳，但為提升國產乾草的營養價值並減少氮素施用，若能以簡易可行的方式在盤固草地上間植苜蓿，並以 2–3 年一次的頻率進行補植，將苜蓿維持於一定比例之上，仍不失為一個將現有盤固草地改造為禾豆混植草地的方法。因此，為利於盤固草地的改造及後續的補植，適用於本地環境的混植操作技術值得加以探討。

禾豆混植生產牽涉複雜的草地生態問題，於既有多年生草地上間植的難度又高於在單年生作物上的間植，在不移除原有多年生草地植生的狀況下，以不耕犁方式進行播種稱為草地播種法 (sod-seeding)，或不整地播種法 (no-till

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2805 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

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

method)，常用於牧草地的修復、季節性的增產與於牧草地混植苜蓿等豆科植物等 (Mueller and Chamblee, 1984; Waddington, 1992)。在既有草地上建立禾豆混植涵蓋多項問題，如：新草種需有足夠的播種床土壤、充分的水分、營養及陽光，還需控制原有植生的競爭，但又不能過度破壞以免影響產量等。要提高禾豆混植的成功率，需要有效地管理競爭包括適當的播種行距、合理的水分及肥料管理等以確保達到預期的混植效果 (Chocarro and Lloveras, 2015; Dhakal *et al.*, 2020)。

本研究改良一式適用於盤固草地上間植苜蓿之不整地播種套組，並以本播種套組進行兩組田間試驗，探討播種床寬度、種子密度，以及有無灌溉與施肥等栽培面因子對混植草地建立的影響。

材料方法

I. 不耕犁草地間植播種套組開發

設計之機件包括：1. 可切開盤固草地之破土及可調整寬度之切溝裝置；2. 後端之覆蓋與鎮壓機構；及 3. 修改播種盤，使適用於苜蓿種子真空播種及可調整播種密度。

製作完成後進行機械效能測試：將自行開發之不耕犁播種套組，組裝於法國 MONOSEM 牌四行式真空吸力式播種機之前端及後端。於畜產試驗所南區分所（以下簡稱南區分所）盤固草地進行苜蓿播種試驗，觀察並紀錄破土、種子破粒及播種、覆土狀況，再逐次修改調整至適用於堅硬盤固草地上的不耕犁播種。

II. 田間試驗

- (i) 試驗 I：於南區分所盤固草地劃出 $60\text{ m} \times 60\text{ m}$ 試驗田，試驗處理為播種床寬度兩變級 1 cm 、 6 cm 與播種密度兩變級 (100 seeds/m 、 200 seeds/m)，共 4 處理組合，2 區集。每小區寬 6.4 m ，播種行距 40 cm ，每小區播種苜蓿 16 行，行長 60 m 。2016/10/11 收穫前期盤固草後，於 10/19 以上述自行開發之播種套組調整播種床寬度及種子密度進行試驗。2017/1/12 全區刈割一次，無進行調查；1/19 起日於再生 7、28、56 及 91 天調查播種初期之生長狀況（以苜蓿、盤固草株高及苜蓿行寬為指標）。時值恆春乾季，故於 2/24、3/9、3/21 分別以捲繞式噴水機進行噴灌。於 4/27 調查產量之後全區收穫。 $5/8$ 全區施肥（臺肥 2 號複合肥料， $\text{N:P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O} = 11:9:18$ ， 180 kg/ha ）， $5/15$ 進入梅雨季， $6/6$ 第二次調查產量後全區收穫。經 $8/19$ 、 $10/25$ 兩次收穫後，翌年再進行兩次的產量調查（ $2018/2/22$ 及 $6/22$ ）。除生長期的株高及行寬調查外，以 $2017/4/27$ 、 $6/6$ 兩次產量累加為 2017 年例行盤固草產季前之禾豆混植產量， $2018/2/22$ 及 $6/22$ 的兩次產量累加為 2018 年盤固草產季前之禾豆混植產量。
- (ii) 試驗 II：於南區分所盤固草地劃出 $60\text{ m} \times 30\text{ m}$ 試驗田 II，試驗處理為於旱季有、無補充灌水，以及建立初期有、無施用化肥（臺肥 2 號複合肥料， $\text{N:P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O} = 11:9:18$ ， 180 kg/ha ），共 4 處理組合，2 區集。每小區寬 6.4 m ，播種行距 40 cm ，每小區播種苜蓿 16 行，長 30 m 。收穫前期盤固草後，於 $2017/1/4$ 以上述自行開發之播種套組進行播種開始試驗，種床寬度固定為 1 cm ，播種密度 100 seeds/m 。全區於 $1/6$ 及 $1/9$ 以捲繞式噴水機噴灌以利苜蓿發芽。施肥處理之小區於 $2/7$ 施肥，灌溉處理之小區於 $3/7$ 、 $3/10$ 、 $3/29$ 各以水車澆灌 2 噸 / 小區。調查種植後 62 、 76 及 91 天之株高及行寬表現與產量，每小區重複 4 次，以 $2017/4/27$ 、 $6/8$ 兩次產量累加為年度盤固草產季前之禾豆混植產量。
- (iii) 性狀調查：1. 種植期間苜蓿與盤固草之生長性狀分別以苜蓿株高、苜蓿行寬與盤固草株高表示，每小區取樣 4 點，量測自基部至葉尖之高度為株高，苜蓿行寬為取樣點播種苜蓿行之葉冠寬度。2. 產量調查：坪割 1 m^2 之所有生物量，進行其中苜蓿與盤固草之各別乾物重量（收穫材料於 80°C 下烘乾 48 小時後之重量），計算苜蓿比例及產量，每小區重複 4 次。

III. 統計分析

二因子變方分析以 SAS 之廣義線性模式 (general linear model, GLM) 進行，以 Duncan 比較差異顯著性。

結果與討論

I. 不耕犁草地間植播種套組開發

不整地套組（圖 1）播種流程包括：切草→碎土→切溝→下種→蓋土→鎮壓，為解決於堅硬盤固草地上的播種問題，完成破土、切溝及後端覆土、鎮壓等機件的設計製作，經多次試驗已能克服硬盤地切草與碎土問題，

使切溝、播種及鎮壓動作一次完成；設計之播種盤使破豆率由 3% 改善至無破豆，並可控制之播種密度，播種量介於 1.6 – 30 kg/ha，一次播種四行之株數為 50 – 500 株 /m；此外，可調整播種床寬度為 1 cm 至 6 cm (圖 2)。



圖 1. 不耕犁草地間植播種套組。套組含破土、切溝、下種、覆土及鎮壓功能。

Fig. 1. The no-till seeding system. This system includes functions for soil breaking, furrow cutting, seeding, covering, and compaction.



圖 2. 播種床 6 cm (左) 及播種床 1 cm (右) 之苜蓿發芽情形。

Fig. 2. The germination situation of alfalfa on seedbeds of 6 cm (left) and 1 cm (right).

本套組之開發已達成如下目標：1. 可裝置於國內一般真空播種機；2. 適用於國內多年未更新之盤固草地；3. 能製造適當播種床，能控制既有禾草的競爭又不過度破壞原有植生。

II. 播種床寬度、種子密度對牧草生長與混植草地產量的影響

本試驗於 2016/10/19 播種，翌年 1/12 全區刈割一次後，再生第 28 天、56 天、91 天之苜蓿及盤固草株高如圖 3。再生 28 天時 4 個處理之苜蓿株高介於 18 – 25 cm、盤固草株高介於 8 – 15 cm；91 天時苜蓿株高介於 28 – 45 cm、盤固草株高介於 14 – 24 cm，在恆春半島冬季氣候下，苜蓿再生速度高於盤固草，尤其再生 60 天後主莖抽高明顯。四個處理中，低苜蓿播種密度及窄播種床處理組 (1 cm – 100 seeds/m) 之盤固草較高而苜蓿較矮，可能為兩物種間的空間與養分競爭導致的消長關係。播種床寬度與播種密度主效應的影響是本研究探討的重點，經變方分析結果，再生第 28 天僅播種密度對於苜蓿株高及行寬有顯著差異影響，56 天時播種床寬度對盤固草株高有影響，91 天時播種床寬度及種子密度對苜蓿株高、盤固草株高均有影響。由表 1 的主效應平均值比較，對播種床寬度而言，6 cm 播種床寬度在後期顯示出降低盤固草株高而提高苜蓿株高的效果；播種密度方

面，28 天時高播種密度的苜蓿株高與行寬大於低密度處理組，91 天時高播種密度處理之苜蓿顯著較高，而盤固草較矮（表 1）。

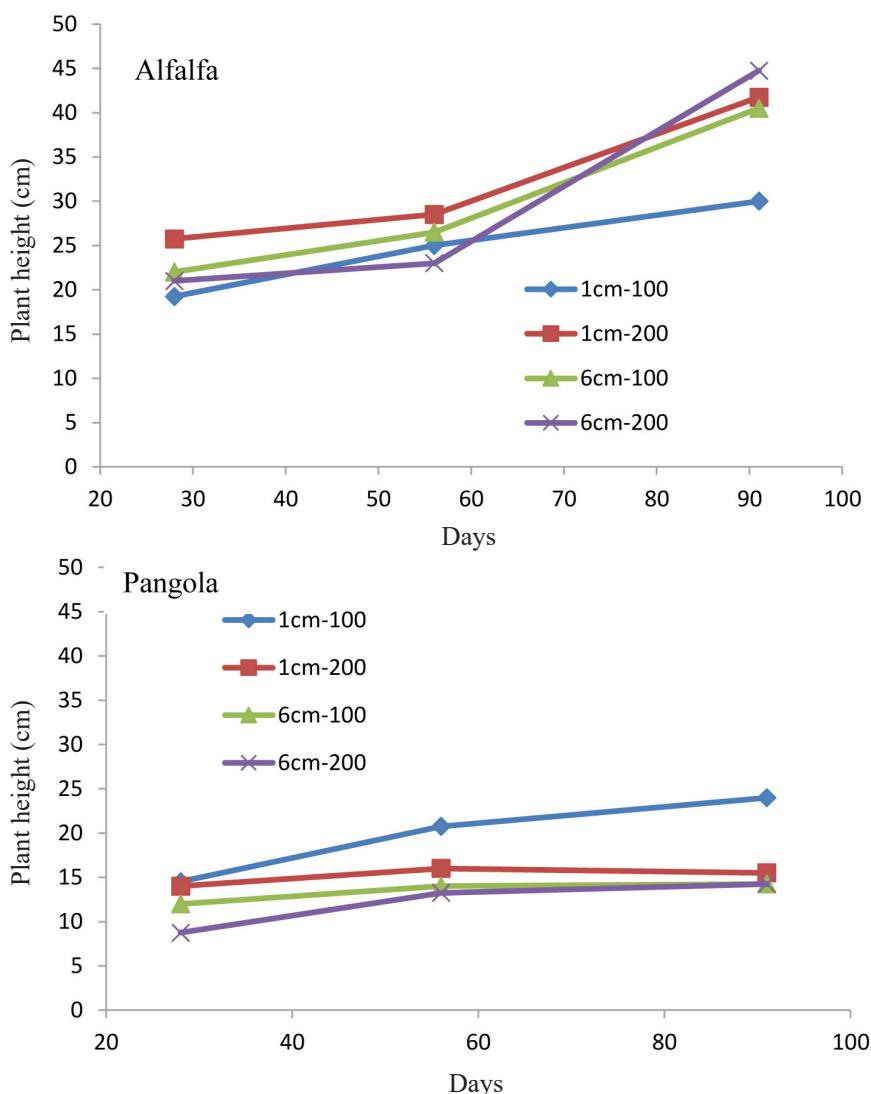


圖 3. 播種床寬度與播種密度處理組合之苜蓿(上圖)與盤固草(下圖)株高。

Fig. 3. Plant height of alfalfa (top) and pangola grass (bottom) under different treatment combinations of seedbeds width and seeding density. 1 cm-100: 1 cm seedbeds width-100 seeds/m, 1 cm-200: 1 cm seedbeds width-200 seeds/m, 6 cm-100: 6 cm seedbeds width-100 seeds/m, 6 cm-200: 6 cm seedbeds width-200 seeds/m.

表 1. 苜蓿高度、行寬及盤固草高度之播種床寬度與播種密度主效應比較 (試驗 I)

Table 1. Comparison of main effects of seeding bed width and seeding density on alfalfa height, row width and pangolagrass height in Experiment I

Item	28 days			56 days			91 days		
	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high
Seedbeds width	cm								
1 cm	22.5	19.5	14.3	26.8	13.3	20.9 ^a	34.6 ^b	18.5	19.3 ^a
6 cm	21.5	21.0	10.4	24.8	14.5	13.6 ^b	42.6 ^a	19.3	14.3 ^b
Seeding density									
100/m	20.6 ^b	17.8 ^b	13.3	25.8	14.0	17.4	34.0 ^b	18.3	18.9 ^a
200/m	23.4 ^a	22.8 ^a	11.4	25.8	13.8	17.1	43.3 ^a	19.5	14.8 ^b

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

以 2017/4/27、6/6 兩次產量累加為 2017 年例行盤固草產季前之禾豆混植產量，2018/2/22 及 6/22 的兩次產量累加為 2018 年盤固草產季前之禾豆混植產量（圖 4）。2017 年四個處理中，產量以窄播種床—低播種密度（1 cm – 100 seeds/m）處理組最低，公頃產量不足 4 噸，其他三個處理介於 6.5 – 7.8 mt/ha 之間；2018 年則以寬播種床—高播種密度（6 cm – 200 seeds/m）處理最高，達 8.2 mt/ha，其他三個處理介在 5.4 – 6.2 mt/ha 之間。表 2 為產量的主效應平均值比較，2017 年之 6 cm 播種床寬度的盤固草產量為 4.1 mt/ha 顯著高於 1 cm 播種床之 2.5 mt/ha；而對苜蓿產量、禾豆總產量及苜蓿比例的差異均未達顯著水準。2017 年之播種密度方面，高播種密度處理之苜蓿產量為 3.9 mt/ha，顯著高於低密度處理之 2.3 mt/ha；苜蓿比例為 53.7%，高於低密度組之 39.9%；盤固草產量及總產量的差異則未達顯著水準（表 2）。此結果顯示，苜蓿播種密度對於第一年苜蓿產量的影響大於播種床寬度。至第二年（2018 年），6 cm 播種床處理之苜蓿產量較低、盤固草產量較高、禾豆總產量較高而苜蓿比例較低，且差異都達到顯著水準；2018 年之播種密度方面，苜蓿產量與苜蓿比例無差異，而高播種密度組之盤固草產量及總產量均高於低密度處理（表 2）。由表 1、表 2 結果可知，對多年生混植草地而言，生長期之株高、行寬等性狀僅代表當時之生長狀況，但最終的產量消長與持續性等，又是另一段競爭或互補等關係的綜合表現。

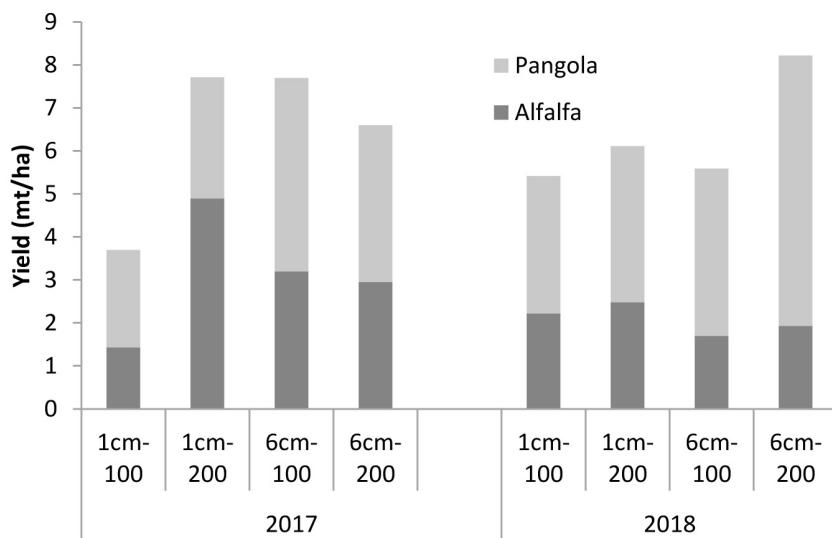


圖 4. 播種床寬度與播種密度處理組合之兩年度盤固草產季前之混植草地乾物產量（試驗 I）。

Fig. 4. The dry matter yield of mixed grassland of the treatment combinations of seeding bed width and seeding density for the two years before pangolagrass production season in Experiment I. 1 cm-100: 1 cm seedbeds width-100 seeds/m, 1 cm-200: 1 cm seedbeds width-200 seeds/m, 6 cm-100: 6 cm seedbeds width-100 seeds/m, 6 cm-200: 6 cm seedbeds width-200 seeds/m.

表 2. 於盤固草產季前混植苜蓿、盤固草乾物產量與苜蓿比例之播種床寬度與播種密度主效應比較

Table 2. Comparison of main effects of bed width and planting density on the dry matter yield and alfalfa ratio of mixed grasslands before pangolagrass production season

Item	2017				2018			
	Alfalfa yield mt/ha	Pangola yield mt/ha	Total yield mt/ha	Alfalf %	Alfalfa yield mt/ha	Pangola yield mt/ha	Total yield mt/ha	Alfalf %
<hr/>								
Seedbeds width	----- 1 cm	3.2	2.5 ^b	5.7	50.7	2.4 ^a	3.4 ^b	5.8 ^b
	6 cm	3.1	4.1 ^a	7.2	43.0	1.8 ^b	5.1 ^a	6.9 ^a
<hr/>								
Seeding density	100/m	2.3 ^b	3.4	5.7	39.9 ^b	2.0	3.5 ^b	5.5 ^b
	200/m	3.9 ^a	3.2	7.2	53.7 ^a	2.2	5.0 ^a	7.2 ^a

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

管理物種間的競爭是禾豆混植成功與否的主要課題，其目標為提高豆科的存活率、促進初期生長與產量，降低禾草的競爭力、但不減損禾草的產量。盤固草的地上部匍匐性強而密，是極適合本地環境生長的草種，雖

然播種時間已選擇於盤固草生長減緩且較適苜蓿發芽的秋冬季節，然據前期田間操作之觀察，苜蓿仍有難以避免被盤固草莖葉覆蓋之狀況，國外有使用除草劑以降低原禾本科生長的方法 (Hart *et al.*, 1985; Coblenz *et al.*, 1999)，本播種技術為利於有機混植草地的應用，開發可調整寬度之切溝裝置，可透過增加播種床寬度，以爭取苜蓿幼苗在播種後不被盤固草莖葉覆蓋壓制的時間。由試驗結果，增加播種床寬度在初期確有提高苜蓿株高、降低盤固草株高的效果，但經產量調查發現，苜蓿比例並無提高，反而可能因高比例的破土、碎土的更新效果提升了盤固草的產量。此外，播種密度提高的確有助於第一年的苜蓿產量與比例，但對第二年的比例則無顯現效果，此與行距較密者在後續的年度並無顯示比例差異的前人結果相似 (Chocarro and Lloveras, 2015; Dahakal *et al.*, 2019)。第二年苜蓿比例均明顯下降，可能已非建立技術之問題，而是物種生態學上之限制。由臺灣本地的研究顯示，苜蓿需水量大，卻不耐浸水，因此，中南部夏季高溫多雨可能是造成苜蓿第二年比例下降的因素之一 (蕭, 2002；林等, 2007)。

III. 灌溉、施肥對牧草生長與混植草地產量的影響

本試驗以三月間(完全無雨水)補充三次灌水之有、無，及有、無施用化肥組合為4個處理。生長62天時4個處理之苜蓿株高介於17–26 cm、盤固草株高介於11–16 cm；至91天時苜蓿株高介於15–34 cm、盤固草株高介於14–23 cm (圖5)。不同於試驗I於初期刈割一次後再進行調查，本試驗在播種後未予刈割，因初期生長較慢，至播種後62天才開始調查，也因此試驗II於62天調查的苜蓿株高接近於試驗I刈割再生28天的株高。

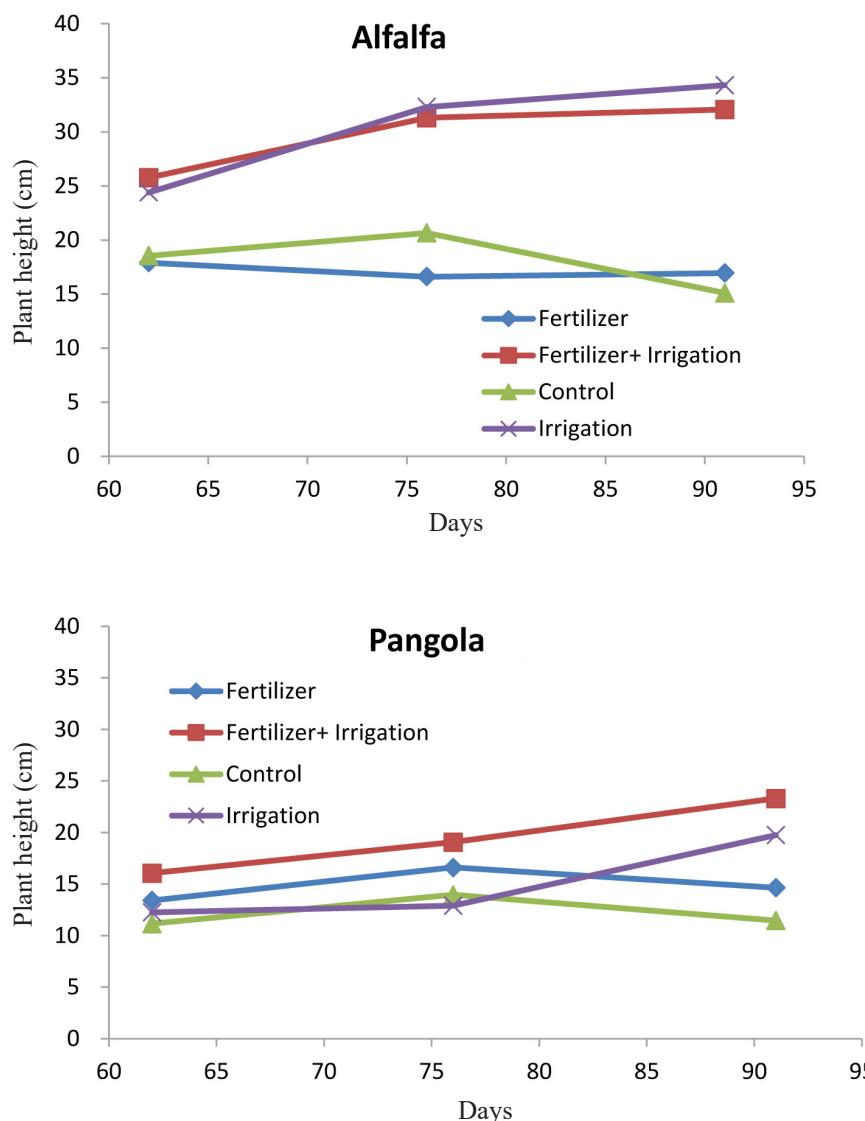


圖5. 施肥與灌溉處理組合之苜蓿(上圖)與盤固草(下圖)株高。

Fig. 5. Plant height of alfalfa (top) and pangolagrass (bottom) of the treatment combinations of fertilizer and irrigation in Experiment II.

由表3的主效應平均值比較，施肥對苜蓿株高於三個調查日期均無影響，對苜蓿行寬在62天時有顯著效果，但在其後則無顯示差異。對盤固草株高，則施肥對於三個調查日期均高於不施肥者。灌溉處理除在76天的盤固草株高未有顯著差異外，其餘在有、無施肥間的差異達顯著水準。

表3. 苜蓿高度、行寬及盤固草高度之施肥與灌溉主效應比較(試驗II)

Table 3. Comparison of main effects of fertilization and irrigation on alfalfa height, row width and pangolagrass height in Experiment II

Item	62 days			76 days			91 days		
	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high	Alfalfa high	Alfalfa width	Pangola high
cm									
Fertilizer	21.8	15.2 ^a	14.7 ^a	21.5 ^b	13.5	17.4 ^a	21.9	10.0	17.5 ^a
No fertilizer	21.4	14.3 ^b	11.7 ^b	24.5 ^a	14.6	13.6 ^b	21.4	9.4	14.2 ^b
Irrigation	25.1 ^a	15.6 ^a	14.1 ^a	31.8 ^a	17.3 ^a	15.9	33.1 ^a	14.0 ^a	21.5 ^a
No irrigation	18.2 ^b	13.9 ^b	12.2 ^b	18.6 ^b	12.4 ^b	15.3	16.0 ^b	7.6 ^b	13.0 ^b

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

四個處理之苜蓿產量、盤固草產量及禾豆總產量如圖6。經變方分析進行主效應比較如表4，無施肥組之苜蓿產量為5.6 mt/ha，高於施肥處理之4.8 mt/ha；無施肥組之盤固草產量為4.6 mt/ha，亦高於施肥處理之4.1 mt/ha；總產量亦以無施肥處理之10.2 mt/ha，高於施肥組之8.9 mt/ha；苜蓿比例均超過50%，兩處理之間無顯著差異。由於土壤環境、牧草生長狀況及與因子間的交互作用都可能影響施肥處理效果(Ma, et al., 2024)，唯確切原因尚待進一步探討。灌溉方面，灌溉處理之苜蓿產量為5.7 mt/ha，高於無灌溉組之4.8 mt/ha；灌溉處理之盤固草產量為4.6 mt/ha，高於無灌溉組之4.1 mt/ha；禾豆總產量亦以灌溉組之10.2 mt/ha，高於無灌溉組之8.9 mt/ha；苜蓿比例亦均超過50%，兩處理之間無顯著差異。

恆春半島於10月中旬起進入乾季，在此之前因氣溫過高，不利苜蓿發芽與生長，因此只宜在進入乾季時進行間植苜蓿的播種，在乾季的播種後進行灌溉或噴灌是必要的措施，以促進種子發芽，尤其以不耕犁方式播種者，將土壤浸潤以利與種子密接及確保發芽。本文所探討者並非上述播種期的噴灌，而是比較後續旱季生育期間之補充灌水對混植草地的影響。由試驗結果可知，相對於施肥處理，灌溉的效果顯著，推測不僅水分的提高促進生長，因水分的灌施浸潤堅硬的盤固草表土，有利苜蓿根系的向下穿透因而亦可能提高了產量。苜蓿生長對水分(灌溉的有無)的反應高於盤固草；肥料施用對盤固草株高有影響，但對產量並無顯現效果。前人研究中，氮素施用的結果依狀況而異(Stringer et al., 1994; Haby et al., 1999)，亦可知肥料並非促進第一年初期生產的首要因素。推論為在既有盤固草地上建立苜蓿的混植草地，宜重視灌溉(提供水分及軟化硬實的盤固草地)以促進苜蓿生長，控制肥料以減少盤固草競爭。

禾豆混植草地在溫帶地區普遍可見，但在熱帶地區成功的例子較少，主要原因有：缺乏持久性佳、適應性廣的豆科品系、也因研究投入較少而缺乏可信賴的模式(Thomas, 1995; Springer et al., 2001; Belesky et al., 2002)。

苜蓿與盤固草混植除小面積有機寵物草生產之外(陳等, 2011)，尚未予推廣，其原因在於多項限制未予克服，如：1. 混植操作不便；2. 苜蓿的耐逆境能力不佳，不能形成穩定持久的混植組合；3. 苜蓿較盤固草更難乾燥；4. 減少外源肥料投入的減碳誘因不足。而今，隨著時空環境演進，上述因素可望逐項獲得解決。本研究之不耕犁草地間植播種套組，即為克服操作不便而開發，使切溝、播種及鎮壓動作可以一次完成。而苜蓿與盤固草不能形成穩定持久的混植組合的問題，可因間植播種操作簡便，每2–3年再行補植苜蓿種子一次應可將苜蓿維持於一定比例之上。此外，乾燥問題確為國產乾草品質無法穩定的主因，混植草地半乾青貯調製技術已成熟(陳等, 2017)，而近年國內牧草節能乾燥機械的開發(盧及謝, 2018；陳等, 2024)不僅可解決乾燥問題，並可因苜蓿與盤固草混合乾燥而大幅提高適口性(陳, 2021)，實現國產乾草加值。因應淨零議題，盤固草單植是耗肥生產模式，禾豆混植減少外源肥料的減碳措施應更受重視。綜上，國內禾豆混植生產難度雖高，但其產業化的技術面障礙已逐一克服，而利基則不斷提升。本文僅初步探討主要栽培因子的影響，由於混植草地的表現因氣候、土壤的影響更形複雜，產業化應用時應視不同環境條件加以更深入的探討。

表 4. 於盤固草產季前混植苜蓿、盤固草產乾物量與苜蓿比例之施肥與灌溉主效應比較

Table 4. Comparison of main effects of fertilization and irrigation on the dry matter yield and alfalfa proportion of mixed grasslands before pangolagrass production season

Item	Alfalfa yield	Pangola yield	Total yield	Alfalfa %
	mt/ha			%
Fertilizer	4.8 ^b	4.1 ^b	8.9 ^b	53.9
No fertilizer	5.6 ^a	4.6 ^a	10.2 ^a	54.9
Irrigation	5.7 ^a	4.6 ^a	10.2 ^a	55.1
No irrigation	4.8 ^b	4.1 ^b	8.9 ^b	53.7

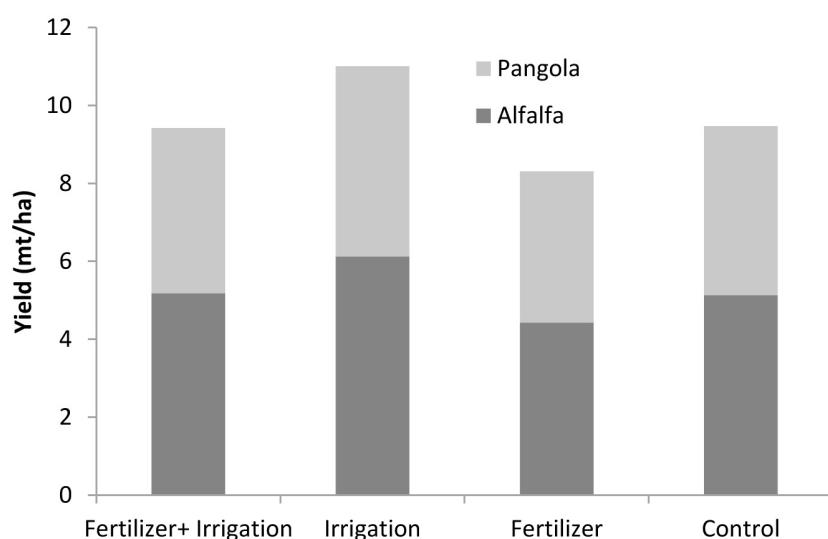
^{a,b} Means in the same column within the same section with different superscripts are significantly different at 5%.

圖 6. 施肥與灌溉處理組合於盤固草產季前之混植草地乾物產量 (試驗 II)。

Fig. 6. The dry matter yield of mixed grassland under different treatment combinations of fertilizer and irrigation before pangolagrass production season in Experiment II.

結論

本研究開發可直接於既有多年生禾草地上播種之不耕犁播種套組，已克服硬盤地破土問題，使切溝、播種及鎮壓動作一次完成，同時降低破豆率，並設計可調整播種床寬度。後續宜配合適播期選擇、降低競爭等生態學管理方法，以建立良好的禾豆混植草地。苜蓿與盤固草雖不能形成穩定持久的混植組合，因間植播種操作簡便，每 2–3 年再行補植苜蓿種子一次可將苜蓿維持於某比例之上，重視灌溉及減少前期盤固草競爭，可有效在既有盤固草地上建立苜蓿的混植草地。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇、游翠凰、劉信宏。2010。豆科牧草與綠肥作物之氮產量與季節性變動。畜產研究 43：339-350。
- 金文蔚。1998。本省牧草混植研究。芻料作物研究研討會論文集。畜產試驗所專輯第 53 號。
- 林正斌、楊翎、劉景平。淹水對苜蓿產量、品質及根部組織之影響。畜產研究 40：193-202。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰、劉信宏。2010。低投入的有機芻料生產研究－指草屬 (*Digitaria* spp.) 與花生屬 (*Arachis* spp.) 混植。畜產研究 43：167-179。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰、劉信宏。2011。低投入的有機芻料生產研究－指草屬 (*Digitaria* spp.) 與苜蓿 (*Medicago sativa*) 混植。畜產研究 44：37-49。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰。2017。多年生禾豆混植草青貯醣酵探討。畜產研究 50：52-61。

陳嘉昇、劉信宏、游翠凰、王紹愍、盧琛、廖翊丞、謝禮丞。2024。圓包牧草乾燥機效能評估及與含水率、重量關係之探討。畜產研究：已接受。

陳偉群。2021。應用國產芻料於臺灣水鹿產草之研究。國立屏東科技大學動物科學與畜產系，碩士論文，屏東縣。
盧琛、謝禮丞。2018。牧草圓包乾燥設備之自動化裝置與熱源供應系統研究。國立中興大學生物產業機電工程學系，碩士論文，臺中市。

蕭素碧。苜蓿在臺灣生產之展望。畜產專訊 42 : 4-6。

Belesky, D. P., J. M. Fedders, J. M. Ruckle, and K. E. Turner. 2002. Bermudagrass – white clover – bluegrass sward production and botanical dynamics. Agron. J. 94: 575-584.

Chocarro, C. and J. Lloveras. 2015. The effect of row spacing on alfalfa seed and forage production under irrigated Mediterranean agricultural conditions. Grass Forage Sci. 70: 651-660.

Coblentz, W. K., K. P. Coffey, J. E. Turner, K. F Harrison, L. B. Daniels, C. F. Rosenkrans, Jr., and D. S. Hubbell. 1999. Evaluation of seeding rate and herbicide treatment on growth and development of sod-seeded oat, wheat, and rye. Arkansas Animal Science Department Report 1999, pp. 162-167.

Dhakal, M., C. P. West, and C. Villalobos. 2019. Establishment and stand development of alfalfa interseeded into native grass mixture: Cultivar and row spacing effects. Crop Sci. 59: 2271-2279.

Dhakal, M., C. P. West, C. Villalobos, P. Brown, and P. E. Green. 2020. Interseeding alfalfa into native grassland for enhanced yield and water use efficiency. Agron. J. 23: 1931-1942.

Haby V. A., J. V. Davis, and A. T. Leonard. 1999. Response of overseeded alfalfa and bermudagrass to alfalfa row spacing and nitrogen rate. Agron. J. 91: 902-910.

Hart, M., S. S. Waller, S. R. Lowry, and R. N. Gates. 1985. Discing and seeding effects on sod bound mixed prairie. J. Range Management 38: 121-125.

Ma, H., P. Jiang, X. Zhang, W. Ma, Z. Cai, and Q. Sun. 2024. Effects of nitrogen fertilization combined with subsurface irrigation on alfalfa yield, water and nitrogen use efficiency, quality, and economic benefits. Front. Plant Sci. 15: 1339417.

Mueller J. P and D. S. Chamblee. 1984. Sod-Seeding of Ladino clover and alfalfa as Influenced by seed placement, seeding date, and grass suppression. Agron. J. 76: 284-289.

Sleugh, B., K. J. Moore, J. R. George, and E. C. Brummer. 2000. Binary legume - grass mixtures improve forage yield, quality, and seasonal distribution. Agron. J. 92: 24-29.

Springer, T. L., G. E. Aiken, and R. W. McNew. 2001. Combining ability of binary mixtures of native, warm-season grasses and legumes. Crop Sci. 41: 818-823.

Stringer W. C. , A. Khalilian, D. J. Undersander, G. S. Stapleton, and W. C. Bridges Jr. 1994. Row spacing and nitrogen: Effect on alfalfa-bermudagrass yield and botanical composition. Agron. J. 86: 72-76.

Thomas, R. J. 1995. Role of legumes in providing N for sustainable tropical pasture systems. Plant and Soil. 174:103-118.

Tilman, D., P. B. Reich, J. Knops, D. Wedin, T. Mielke, and C. Lehman. 2001. Diversity and productivity in long-term grassland experiment. Science 26: 843-845.

Tow, P. G., A. Lazenby, and J. V. Lovett. 1997. Relationships between a tropical grass and lucerne on a solodic soil in a subhumid, summer-winter rainfall environment. Aust. J. Exp. Agric. 37: 335-342.

Tracy, B. F. and M. A. Sanderson. 2004. Productivity and stability relationships in mowed pasture communities of varying species composition. Crop Sci. 44: 2180-2186.

Waddington, J. 1992. A comparison of drills for direct seeding alfalfa into established grassland. J. Range Management. 45: 483-487.

Investigation of techniques for interseeding alfalfa into pangola grasslands using the no-till method⁽¹⁾

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

Received: Jul. 2, 2024; Accepted: Oct. 4, 2024

Abstract

Mixing alfalfa with grasslands can enhance the nutritional value of forage, balance soil nutrient utilization, and provide a cost-effective nitrogen source through the nitrogen-fixing ability of legumes. This study developed a no-till seeding system suitable for interseeding alfalfa into compacted pangola grasslands. Two field experiments were conducted using this seeding system to investigate the effects of seedbeds width, seeding density, irrigation, and fertilization on establishing mixed grasslands. The developed system can be fitted into domestic standard vacuum seeders, which overcomes the challenges in cutting grass and breaking soil and allows for simultaneous trenching, seeding, and compaction operations in one action. The seedbeds width can be adjusted from 1 cm to 6 cm. Results of experiment I showed that increasing seedbeds width can initially increase alfalfa height and lower grass height. However, the yield survey showed that in the proportion of alfalfa did not increase but rather elevated the level of soil breaking and crushing improvement of pangolagrass yields. Increased alfalfa seeding density enhanced first-year alfalfa yield and proportion, which showed no significant effect on the second-year proportion but significant decreases in the second-year alfalfa yield. Experiment II revealed that irrigation significantly promoted alfalfa growth compared to fertilization treatments that did not have any significant effect. Alfalfa showed greater responsiveness to irrigation than pangolagrass. Fertilizer application helped with early growth of pangolagrass but did not lead to a significantly yield increase. Although alfalfa and pangolagrass did not form a stable and lasting mixed planting combination, the simple interseeding process allows alfalfa to reseed every 2-3 years and maintain a desired proportion. The emphasis on irrigation and minimization of initial grass competition can effectively establish a mixed planting grassland of alfalfa in existing compacted pangola grasslands.

Key words: Grass-legume mixture, Alfalfa (*Medicago sativa*), *Digitaria decumbens*.

(1) Contribution No. 2805 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-LRI, Pingtung 946, Taiwan, R. O. C.

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

飼糧離胺酸與可代謝能含量對蘭嶼豬生長性能 與血液生化值之影響⁽¹⁾

王漢昇⁽²⁾⁽⁶⁾ 陳彥璋⁽³⁾ 黃昱翎⁽⁴⁾ 陳益隆⁽⁵⁾
 李士昕⁽⁵⁾ 吳明峰⁽⁵⁾ 章嘉潔⁽⁵⁾

收件日期：111 年 12 月 12 日；接受日期：113 年 10 月 24 日

摘要

本研究旨在探討離乳後蘭嶼豬餵飼不同飼糧離胺酸 (lysine, Lys) 搭配不同可代謝能 (metabolizable energy, ME) 含量對其生長性能、飼料效率 (gain/feed, G/F) 及血液生化值之影響。試驗使用 32 頭 (公母各半) 平均體重 6.2 kg 之離乳後 8 週齡蘭嶼豬，並逢機分配至兩種 ME 含量 (2,400 kcal/kg 與 2,800 kcal/kg) 與兩種 Lys 濃度 (0.64% 與 1.00%) 所組成之 2×2 複因子試驗組別，進行 12 週之試驗。結果顯示，試驗結束時豬隻平均體重與平均日增重 (average daily gain, ADG) 均以餵飼 Lys 1.00% 之組別顯著大於餵飼 Lys 0.64% 者 ($P < 0.05$)；G/F 以 ME 2,800 kcal/kg 組極顯著高於 ME 2,400 kcal/kg 者 ($P < 0.01$)。平均每日採食量 (average daily feed intake, ADFI) 及背脂厚度 (backfat thickness, BF) 增加量則不受 ME 與 Lys 濃度之影響，ME 與 Lys 之交互效應亦對各生長性狀無顯著影響。在血液生化值部分，試驗結束時豬隻之血液尿素氮含量 (blood urea nitrogen, BUN) 處於正常生理範圍中，但以含 Lys 0.64% 搭配 ME 2,400 kcal/kg 及 Lys 1.00% 搭配 ME 2,800 kcal/kg 者顯著大於含 Lys 0.64% 搭配 ME 2,800 kcal/kg 組者，而在肌酸酐 (creatinine, CRE)、三酸甘油酯 (triacylglycerol, TG) 及膽固醇 (cholesterol, CHO) 方面，則各組間無顯著差異。綜上所述，在 Lys 1.00% 或 ME 2,800 kcal/kg 之飼糧對蘭嶼豬雖有較佳之生長性能，但僅以在生醫用途而言，在飼糧中使用 Lys 0.64% 與 ME 2,400 kcal/kg 即可維持具正常生理表現之蘭嶼豬生長。

關鍵詞：離胺酸、可代謝能、蘭嶼豬、生長性能、血液生化值。

緒言

自 1940 年代起，豬隻逐漸被使用於生醫實驗用途。體型較小之豬隻有易於操作、飼養成本低以及醫藥試劑與麻醉劑需求較少等優點，於是多種野豬品種或品系首先在美國陸續被建立，其中亦包含部分實驗室獨立選育出各自之品種，然而實驗室對於小型豬的飼養、推廣及保種缺乏資源與能力，間接也導致試驗結束後該品種或品系隨之消失 (Panepinto, 1996)。此外，許多小型豬品種也來自於不同品種之小型豬、野豬、商業用家豬間的雜交。由於豬相較於小鼠而言其基因體與人類相似度較高 (Bendixen *et al.*, 2010)，其解剖及生理學構造也與人類較為類似，因此國內於 1970 年代起開始推動發展生醫用小型豬種計畫，分別自 1975 及 1980 年於臺灣大學畜牧系及畜產試驗所引進蘭嶼豬，目前也以蘭嶼豬為基礎陸續育成李宋豬、畜試花斑豬、畜試迷彩豬及賓朗豬 (朱, 2006)，供應全國各研究機構生醫研究使用。

由於畜試所東區分所之小型豬已取得國際認證，可提供為優質生醫研究用途，同時有取代進口實驗動物之潛力。過去針對小型豬育種、生理、生物安全及動物福祉等已有投入相當程度之研究，但有關小型豬理想營養需求及專用飼糧的設計開發則尚需深入探討。由於小型豬主要為生醫用途，其與肉豬的營養供應不盡相同，加上國內各研究單位使用後之回饋意見指出，蘭嶼豬有體脂肪過高等問題，不便試驗操作。因此對於小型豬營養需求等相關試驗，仍有持續改善之空間。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2806 號。

(2) 新竹縣關西鎮公所。

(3) 桃園市楊梅區公所。

(4) 農業部動植物防疫檢疫署高雄分署。

(5) 農業部畜產試驗所東區分所。

(6) 通訊作者，E-mail: 30073770hchg@gmail.com。

過去已有部分研究針對蘭嶼豬在限飼、青料補充、粗蛋白質、ME、營養調整以及粗纖維來源等對於生長性能之探討。李等(2003)發現蘭嶼豬每日餵飼含粗蛋白質17.5%、Lys 0.97% 與可消化能(digestible energy, DE) 3,500 kcal/kg 之飼糧限飼 1 kg，並搭配任飼狼尾草可有正常之生長效果；陳等(2017)則發現蘭嶼豬餵飼含粗蛋白質16% 與 ME 2,800 kcal/kg 之飼糧相較於含粗蛋白質13% 與 ME 3,100 kcal/kg 者有較合適之生長情形；劉及林(2019)指出蘭嶼豬餵飼美國農業部(United States Department of Agriculture, USDA)小型豬推薦飼糧配方USDA 1160 飼糧(粗蛋白質14.1%、Lys 0.75% 與 DE 3,327 kcal/kg)即可有正常之生長狀況；李及劉(2020)則指出以麩皮取代USDA 1160 中之苜蓿作為粗纖維來源可維持蘭嶼豬之生長；廖等(2020)則發現蘭嶼豬使用含粗蛋白質14%之飼糧，同時補充Lys至1.0%時，較之含粗蛋白質16%與Lys 1.0%之飼糧對於豬隻生長性能與BF，並無顯著之影響。綜上試驗結果，可發現目前蘭嶼豬試驗之研究發現粗蛋白質量在14 – 16%、Lys 0.75 – 1.00% 與 ME 2,800 kcal/kg 為一可被接受之營養濃度範圍。探究目前國際市場上所販售之小型豬商用生長飼糧(LabDiet® 5081, Land O' Lakes, Inc)，其營養濃度多設定在粗蛋白質不低於14%、Lys濃度不低於0.65%與ME約為2,410 kcal/kg，此濃度較前人以蘭嶼豬試驗之結果為低。Bee *et al.* (2002)更指出在飼糧中粗脂肪含量相似情況下，餵飼低DE之飼糧可使肉豬屠體脂肪含量顯著降低。爰此，本試驗固定飼糧中粗蛋白質含量，同時參考小型豬商用生長飼糧之營養濃度，調降其Lys與ME含量，以探討其對於蘭嶼豬生長性能、血液生化值及BF之影響，期能逐步建立適當之專用配方，供生產醫研究所需之高品質的試驗豬隻。

材料與方法

I. 試驗飼糧配方設計

試驗配方使用玉米、麩皮及苜蓿為基礎原料，採用不同 Lys 與 ME 含量之 2×2 複因子設計(如表 1)，營養濃度含量參考使用之飼料原料特性、蘭嶼豬的研究以及國外商用小型豬飼糧標準，將 Lys 濃度設定為 0.64% 或 1.00% 以及 ME 設定為 2,400 或 2,800 kcal/kg。試驗飼糧分別為 Treatment 1 (Lys 0.64%、ME 2,400 kcal/kg)、Treatment 2 (Lys 1.00%、ME 2,400 kcal/kg)、Treatment 3 (Lys 0.64%、ME 2,800 kcal/kg) 及 Treatment 4 (Lys 1.00%、ME 2,800 kcal/kg)。

II. 試驗動物與飼養管理

本試驗通過農業部畜產試驗所東區分所實驗動物照護及使用委員會審查(畜試動字 108-05)。共計使用 32 頭(公母各半)8 週齡、平均體重(body weight, BW) 6.2 kg 之蘭嶼豬，逢機分配於 4 組試驗配方(如表 1)，每組 8 頭，每 2 頭為一欄，飼養於 3.5 m × 1.2 m 之欄舍中，進行 12 週之試驗，期間水及飼料皆採任飼給予。

III. 生長試驗及血液生化值測定

豬隻自試驗開始即測定初始體重(initial BW)，每兩週進行秤重以計算試驗期間之 ADG。每四週測定 BF(測定位置為第 4 肋、最後肋及最後腰椎三點之平均值)；BF 增加量則使用後期 BF 減去前期 BF，試驗亦記錄採食量以計算試驗期間之平均每日採食量(average daily feed intake, ADFI) 及 G/F。另於試驗開始(8 週齡)、試驗第 6 週(14 週齡)及試驗結束(20 週齡)時，經人工保定後進行頸靜脈採血，收集所有試驗豬隻血液供測定血液生化值，血液經採集後置入血清管中，待凝血完成後以離心機(Beckman Coulter Allegra X-22R, U.S.A.) 經 4°C、3,000 rpm 離心 15 分鐘後，將上清液析出，並經血清生化分析儀(Hitachi 7170, Japan) 進行分析，測定項目包含 BUN、CRE、TG 及 CHO 濃度。

IV. 統計分析

試驗收集之生長性能及血液生化值資料，使用 SAS 9.4 統計軟體之一般線性模式(General linear model procedure, GLM) 進行變方分析，若產生顯著差異後以最小均方平均值法(Least-square means, LSMEANS) 進行各處理組平均值差異之顯著性檢定。

表 1. 試驗飼糧配方及其營養成分組成

Table 1. Compositions of feed ingredients with calculated crude protein and energy values in the experimental diet^a

Ingredient, kg	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4
Corn	246.8	253.2	532.5	538.5
Soybean meal, 43.5%	18.6	23.0	100.0	104.2
Wheat bran	474.9	459.1	129.2	114.3
Limestone	12.9	12.6	6.3	6.1
Dicalcium phosphate	0.0	0.7	16.0	16.3
Molasses	30.0	30.0	30.0	30.0
Salt	4.0	4.0	4.0	4.0
Alfalfa meal	210.0	210.0	180.0	180.0
Vitamin premix ^b	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ^c	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Lysine • HCl (98.5%)	0.8	5.4	0.0	4.6
Total	1,000.0	1,000.0	1,000.0	1,000.0
Calculated composition				
CP, %	14.0	14.0	14.0	14.0
Lys, %	0.64	1.00	0.64	1.00
ME, kcal/kg	2,400	2,400	2,800	2,800

^a Treatment 1: Lys 0.64%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 2: Lys 1.00%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 3: Lys 0.64%, ME 2,800 kcal/kg; Treatment 4: Lys 1.00%, ME 2,800 kcal/kg.

^b Vitamins concentrations per kilogram diet are vitamin A, 6,000 IU; vitamin D₃, 400 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K₃, 2 mg; vitamin B₁, 2.6 mg; vitamin B₂, 2 mg; Niacin, 30 mg; Pantothenic acid, 30 mg; Pyridoxine, 3 mg; vitamin B₁₂, 0.6 mg; Biotin, 0.2 mg.

^c Mineral content per kilogram diet are Fe (FeSO₄ • 7H₂O, 20.09% Fe), 80 mg; Cu (CuSO₄ • 5H₂O, 25.45% Cu), 5 mg; Mn (MnSO₄ • H₂O, 32.49% Mn), 6 mg; Zn (ZnSO₄, 80.35% Zn), 45 mg; I (KI), 0.2 mg; Se (NaSeO₃, 45.56% Se), 0.1 mg; Co (CoSO₄ • H₂O, 32% Co), 0.35 mg.

結果與討論

I. 生長性能

試驗之生長性能如表 2 所示，於試驗結束時豬隻之平均體重、ADG、ADFI、G/F、平均 BF 及 BF 增加量不受飼糧 Lys 與 ME 含量之交感效應影響，因此探討主效應之影響，在 Lys 主效應部分，試驗結束之平均體重及試驗期間 ADG 以 Lys 1.00% 組顯著大於 Lys 0.64% 組 ($P < 0.05$)，而試驗結束之平均 BF、試驗期間之 ADFI、G/F 及 BF 增加量則無顯著差異。在 ME 主效應部分，試驗期間之 G/F 以 ME 2,800 kcal/kg 組極顯著大於 ME 2,400 kcal/kg 組 ($P < 0.01$)，其餘在試驗結束之平均體重、平均 BF、試驗期間之 ADG、ADFI、BF 增加量則無顯著差異。此外，在飼糧 Lys 與 ME 含量之交感效應中，平均體重、ADG、平均 BF、BF 增加量及 G/F 以 Treatment 4 的 33.6 kg、0.32 kg、20.96 mm、14.67 mm 及 0.33 於數據上較高，而 ADFI 以 Treatment 2 的 1.05 kg 於數據上較高。

陳等 (2017) 於蘭嶼豬試驗中發現以粗蛋白質 16% 飼糧餵飼小型豬，其增重及飼料轉換率皆優於粗蛋白質 13% 之飼糧，而飼料中含 ME 2,800 kcal/kg 或 3,100 kcal/kg 對小型豬 ADFI、ADG 及 BF 則無影響，同時於涼季時蘭嶼豬的 ADFI 與 ADG 皆較熱季為高。然而 BF 在涼熱季間並無差異。在本試驗中則發現試驗結束時之平均體重、ADG、ADFI、平均 BF 及 BF 增加量不受能量效應之影響；此與陳等 (2017) 研究結果一致；然而豬隻平均體重及 ADG 則受到 Lys 效應影響，且 G/F 受 ME 效應影響。故如以生長表現為目的，以本試驗之高 Lys 或高 ME 組有助於提高豬隻生長性能。Bollen *et al.* (2005) 則在 Göttingen 小型豬以粗蛋白質 12%、ME 11.9 MJ/kg，

與粗蛋白質 20%、ME 13.5 MJ/kg 且任飼方式進行生長性能調查。結果發現，在 21 週齡時平均體重不受飼料營養濃度之影響，但受性別效應之影響，然其 ME 與本試驗之 2,400 kcal/kg 及 2,800 kcal/kg 有別，而與陳等 (2017) 之試驗較為接近，同時陳等 (2017) 及 Bollen *et al.* (2005) 使用較高之 ME 下相較於低 ME 對於蘭嶼豬及哥廷根小型豬隻生長並無造成差異。本試驗進一步降低 ME 情況下則發現低 ME 顯著降低 G/F。劉及林 (2019) 則使用 USDA 小型豬推薦飼糧配方 (USDA 1160：粗蛋白質 14.1%、DE 3,327 kcal/kg 及 Lys 0.75%) 為基礎，並予以降低或增加 10% 營養濃度，且採定量餵飼的方式進行蘭嶼豬餵食試驗。結果發現以餵飼 USDA 1160 或增加 10% 營養濃度配製之飼料 (粗蛋白質 15.6%、DE 3,326 kcal/kg 及 Lys 0.86%) 相較於降低 10% 營養濃度配製之飼料 (粗蛋白質 12.7%、DE 3,329 kcal/kg 及 Lys 0.64%) 時，在 8 – 25 kg 之蘭嶼豬有較大的體增重；但以 USDA 1160 營養濃度餵飼時即可正常生長。本試驗所使用之飼糧配方營養含量雖與 USDA 1160 有別，但於增加 Lys 含量下可提升體重與 ADG 等生長性能，與劉及林 (2019) 之研究一致。李及劉 (2020) 則餵飼蘭嶼豬含 5% 首蓿、10% 麥皮及 20% 麥皮等不同粗纖維來源之飼糧，發現生長性能與 BF 在各組間皆相近。本試驗亦選用首蓿與麥皮做為粗纖維來源，並同時調整 ME 含量，結果發現低 ME 雖不影響生長性能但降低 G/F。廖等 (2020) 則指出 10.9 – 17.7 kg 蘭嶼豬限飼餵給含有 Lys 0.8% 之飼糧，以及體重介於 17.7 – 23 kg 者餵給含有 Lys 1.0% 之飼糧，即可滿足生長所需，並獲較佳飼料轉換率與較少的 BF 增加量。本試驗亦發現給予含 Lys 1.0% 之飼糧組有顯著較佳之生長性能，符合廖等 (2020) 所述，然而 BF 有較高之趨勢，可能因本試驗加入 ME 的影響效應，導致對豬隻 BF 之影響與文獻略有差異。另於脂肪蓄積方面，Hermesch (2008) 發現第一肋測定之背脂厚度與腹脇肉脂肪含量之表型相關達 0.68；Kolstad *et al.* (1996) 使用電腦斷層掃描則發現皮下脂肪厚度與體腔間脂肪含量相關性在不同品種間約為 0.26 到 0.59，顯見背脂厚度用以推估豬隻體脂肪含量雖然有限，但或尚有部分參考價值。由於蘭嶼豬主要作為生醫研究使用，故應著重維持其健康的生理狀態，儘量避免其體脂肪過度堆積而造成肥胖 (Bollen *et al.*, 2000)，因此如何在飼糧營養濃度、餵飼方式、體態間以及健康生理狀態之間取得平衡點為一重要研究方向。

表 2. 飼糧離胺酸及可代謝能對蘭嶼豬生長性能之影響

Table 2. Effects of dietary lysine (Lys) and metabolizable energy (ME) levels on the growth performance of growing Lanyu pigs^a

Items	Lys, %		ME, kcal/kg		SEM	Pooled LYS	Significance	
	0.64	1.00	2,400	2,800			ME	LYS × ME
Initial BW, kg	6.2	6.2	6.2	6.2	0.20	NS	NS	NS
Initial BF, mm	6.13	6.40	6.50	6.02	0.20	NS	*	NS
12 th wk BW, kg	29.9	32.6	30.9	31.6	1.27	*	NS	NS
12 th wk BF, mm	19.33	20.48	19.71	20.10	0.95	NS	NS	NS
Overall performance								
ADG [#] , kg	0.28	0.31	0.29	0.30	0.01	*	NS	NS
ADFI, kg	0.95	1.02	1.03	0.94	0.04	NS	NS	NS
Gain/Feed	0.29	0.31	0.28	0.32	0.01	NS	**	NS
Increment of BF, mm	13.21	14.08	13.21	14.08	0.91	NS	NS	NS

^a Values are means, n = 16 (values were collected the same effect).

* P < 0.05; ** P < 0.01; NS: Not significant (P > 0.05).

[#] ADG: Average daily gain.; ADFI: Average daily feed intake.; SEM: standard error of the mean.

II. 血液生化值

血清生化值如表 3 與表 4 所示，在飼糧 Lys 與 ME 含量之交互效應部分，試驗第 6 週之 BUN、CRE、TG 及 CHO 皆無顯著差異，試驗結束之 BUN 以 Treatment 1 (10.25 mg/dL) 與 Treatment 4 (9.00 mg/dL) 顯著高於 Treatment 3 (6.63 mg/dL) 者 (P < 0.05)，而 CRE、TG 及 CHO 在處理間並無顯著差異，但在 CRE 及 CHO 部分則分別以 Treatment 1 的 0.80 mg/dL 及 83.75 mg/dL 較高，TG 則以 Treatment 2 (64.38 mg/dL) 較高。在 Lys 主效應方面，試驗第 6 週與結束時之 BUN、CRE、TG 與 CHO 皆無顯著差異。ME 主效應部份，在試驗第 6 週之 BUN、CRE、TG 與 CHO 亦無顯著差異。試驗結束之 BUN 以 ME 2,400 kcal/kg 組顯著大於 ME 2,800 kcal/kg 組，而在 CRE、TG 及 CHO 濃度則無顯著差異。

表3. 飼糧離胺酸及可代謝能對蘭嶼豬(20週齡)血液生化值之影響

Table 3. Effects of dietary lysine (Lys) and metabolizable energy (ME) levels on the blood biomedical parameters of growing Lanyu pigs (20 wks)^a

Items	Lys, %		ME, kcal/kg		Pooled SEM [#]	Significance		
	0.64	1.00	2,400	2,800		LYS	ME	LYS × ME
Initial								
BUN, mg/dL	10.50	10.06	9.19	11.38	0.80	NS	*	NS
Creatinine (CRE), mg/dL	0.85	0.79	0.79	0.86	0.08	NS	NS	NS
Triacylglycerol (TG), mg/dL	47.13	50.13	48.38	48.88	4.37	NS	NS	NS
Cholesterol (CHO), mg/dL	88.31	85.69	82.94	91.06	6.11	NS	NS	NS
6th wk								
BUN, mg/dL	7.50	8.25	8.81	6.94	1.18	NS	NS	NS
Creatinine (CRE), mg/dL	0.43	0.56	0.50	0.48	0.07	NS	NS	NS
Triacylglycerol (TG), mg/dL	57.75	60.31	57.44	60.63	2.11	NS	NS	NS
Cholesterol (CHO), mg/dL	76.38	75.50	79.19	72.69	4.99	NS	NS	NS
12th wk								
BUN, mg/dL	8.44	8.94	9.56	7.81	0.80	NS	*	*
Creatinine (CRE), mg/dL	0.77	0.78	0.79	0.76	0.07	NS	NS	NS
Triacylglycerol (TG), mg/dL	58.38	61.56	61.13	58.81	5.35	NS	NS	NS
Cholesterol (CHO), mg/dL	78.69	77.06	81.50	74.25	4.26	NS	NS	NS

^a Values are means, n = 16 (values were collected the same effect).[#] SEM: standard error of the mean.

* P < 0.05; NS: Not significant (P > 0.05)

表4. 飼糧離胺酸及可代謝能交感效應對蘭嶼豬(20週齡)血液生化值之影響

Table 4. Interactive effects of dietary lysine (Lys) and metabolizable energy (ME) levels on the blood biomedical parameters of growing Lanyu pigs (20wks)*

Items	Treatment 1 ^{\$}	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4	Pooled SEM [#]
Initial					
BUN, mg/dL	8.88	9.50	12.13	10.63	0.80
Creatinine (CRE), mg/dL	0.78	0.80	0.93	0.79	0.08
Triacylglycerol (TG), mg/dL	45.00	51.75	49.25	48.50	4.37
Cholesterol (CHO), mg/dL	78.00	87.88	98.63	83.50	6.11
6th wk					
BUN, mg/dL	8.75	8.88	6.25	7.63	1.18
Creatinine (CRE), mg/dL	0.49	0.51	0.37	0.60	0.07
Triacylglycerol (TG), mg/dL	55.38	59.50	60.13	61.13	2.11
Cholesterol (CHO), mg/dL	82.25	76.13	70.50	74.88	4.99
12th wk					
BUN, mg/dL	10.25 ^a	8.88 ^{ab}	6.63 ^b	9.00 ^a	0.80
Creatinine (CRE), mg/dL	0.80	0.78	0.74	0.77	0.07
Triacylglycerol (TG), mg/dL	57.88	64.38	58.88	58.75	5.35
Cholesterol (CHO), mg/dL	83.75	78.25	73.63	74.88	4.26

* Values are means, n = 8.

[#] SEM: standard error of the mean.^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).^{\$} Treatment 1: Lys 0.64%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 2: Lys 1.00%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 3: Lys 0.64%, ME 2,800 kcal/kg; Treatment 4: Lys 1.00%, ME 2,800 kcal/kg.

由文獻中可發現血液生化值可能受到年齡、性別、營養條件、品系、遺傳組成、環境、氣候條件乃至於檢測方式等影響 (Humann-Ziehank and Ganter, 2012)，使得蘭嶼豬、Yucatan、哥廷根小型豬與越南大肚豬雜交種間在相同項目之數值範圍上仍有所差異 (吳及章, 2018；劉及林, 2019；李及劉, 2020；廖等, 2020；Rispal *et al.*, 1993；Ellegaard *et al.*, 1995；Bollen *et al.*, 2000；Bollen *et al.*, 2005；Kawaguchi *et al.*, 2012)。在本試驗中，各組飼糧之豬隻於試驗結束時在 BUN、CRE、TG 及 CHO 分別介於 6.63 – 10.25 mg/dL、0.74 – 0.80 mg/dL、57.88 – 64.38 mg/dL 與 73.63 – 83.75 mg/dL。與吳及章 (2018) 之結果相比，CRE 及 CHO 較低而 TG 則較高，故可能即為飼糧條件與環境等差異所致。在 ME 之比較部分，陳等 (2017) 在蘭嶼豬試驗中發現餵飼 ME 2,800 kcal/kg 進行 17 週試驗後，其 BUN、CRE 及 TG 分別為 10.89 mg/dL、0.99 mg/dL 及 43.90 mg/dL，與本試驗 ME 2,800 kcal/kg 處理組之結果相差不大，同時各處理組之蘭嶼豬所檢測之血液生化值亦在小型豬、野豬及家豬之正常生理範圍內 (Rispal *et al.*, 1993; Klem *et al.*, 2010; Casas-Diaz *et al.*, 2015)。然因小型豬為生醫產業實驗動物模式扮演重要之角色，故其各項生理數值極具參考價值，提供後續各項試驗與品系間交叉比較之依據。在營養與血液生化值層次部分，Cai *et al.* (1995) 指出豬隻攝取較多能量時其血漿中 BUN 會顯著降低，主要因在低能量攝取會使豬隻利用氧化胺基酸產生能量，進而產生尿素氮，此一發現與本試驗在試驗結束時，高代謝能處理組之 BUN 顯著比低代謝能處理組為低之結果一致 (表 3)。此外，一般認為 CRE 含量可反映骨骼肌組成量之高低，因 CRE 為骨骼肌當中肌酸與磷酸肌酸之代謝產物，同時體內之肌酸與磷酸肌酸約有 95% 存於骨骼肌當中，而每日磷酸肌酸之自然代謝比例又較為恆定，約佔體內 2% (Braun and Lefebvre, 2008; Casas-Diaz *et al.*, 2015)，因此在腎臟代謝功能為正常之前提下，不同年齡及大小之豬隻可造成 CRE 含量上之差異。以本試驗結果而言，各組間數值無顯著差異，但低於吳及章 (2018) 之結果，可能導因於本試驗結束時豬之週齡約 20 週，而吳及章 (2018) 所使用之蘭嶼豬為 6 月齡所致。然這些數值仍符合小型豬、野豬及家豬之正常生理範圍 (Rispal *et al.*, 1993; Klem *et al.*, 2010; Casas-Diaz *et al.*, 2015)。而 TG 及 CHO 含量與脂質代謝及脂肪分解有關 (DelGiudice *et al.*, 1990; Kaneko *et al.*, 2008)；在本試驗所得數值亦仍落於小型豬、野豬及家豬之正常生理範圍中 (Rispal *et al.*, 1993; Klem *et al.*, 2010; Casas-Diaz *et al.*, 2015)。

本試驗各組試驗料之公母豬血液生化值如表 5，由於參考過往蘭嶼豬研究以及試驗目的，因此本次試驗中未將性別設定為主效應，僅以敘述性統計做為參考，結果發現不同性別間並無明顯之趨勢，然而 Ellegaard *et al.* (1995) 於 3 月齡與 6 月齡哥廷根小型豬及 Rispal *et al.* (1993) 於 20 至 80 混合週齡之 Yucatan 豬種則發現在 TG 及 CHO 以女豬有較公豬高之趨勢，Bollen *et al.* (2005) 則發現哥廷根小型豬餵飼 CP 12.0%、ME 11.9 kJ/kg 之營養濃度時，於 21 週齡試驗結束之 TG 及 CHO 以女豬有大於公豬之趨勢，但在 8 週齡時則無相關趨勢，同時 BUN 及 CRE 則在公母間無明顯趨勢存在。雖本試驗部分血液生化值之趨勢與前人研究稍有不同，然而如前述，影響血液生化值的因素甚多 (Humann-Ziehank and Ganter, 2012)，未來仍可望逐漸建立蘭嶼豬之生理範圍值。

結 論

綜觀本研究結果發現高 Lys 有顯著提升 ADG 之效果，而高 ME 有效提升 G/F。此外，飼糧中使用 Lys 0.64% 與 ME 2,800 kcal/kg 會造成 BUN 顯著較 Lys 0.64% 及 ME 2,400 kcal/kg 及 Lys 1.00% 搭配 ME 2,800 kcal/kg 組低之情形，然而數值仍在豬隻正常生理範圍中。其餘之血液生化值在各處理間則無顯著差異。由於蘭嶼豬需進行生醫用途，非以經濟性為主要考量，因此需要合適之營養濃度，既不影響生理維持又可儘量降低脂肪堆積。由本試驗觀之，在 Lys 1.00% 或 ME 2,800 kcal/kg 之飼糧對蘭嶼豬有較佳之生長，而使用 Lys 0.64% 搭配 ME 2,400 kcal/kg 可維持具有正常生理表現之蘭嶼豬生長，同時低離胺酸及低可代謝能有降低背脂厚度之趨勢，然未來仍需持續深入探討並了解不同營養濃度在不同飼養模式下對於生長性能及生理性狀之影響。

參考文獻

- 朱賢斌。2006。畜產遺傳資源 - 小型豬。科學發展 405 : 34-39。
- 李恒夫、劉芳爵。2020。飼糧中粗纖維來源及含量對蘭嶼豬生長性能、背脂厚度及血液生化值之影響。畜產研究 53 : 159-168。
- 李啟忠、廖宗文、黃政齊、曾穎玉、朱賢斌、陳文誠、鄭連春。2003。蘭嶼豬餵飼飼料及狼尾草對其生長及屠體性能之影響。畜產研究 36 : 157-164。

表 5. 不同飼糧及性別之蘭嶼豬血液生化值比較
Table 5. Blood biochemical parameters of Lanyu pigs with different treatments and sexes^a

Items	Treatment 1 [#]				Treatment 2				Treatment 3				Treatment 4			
	Barrows		Gilts		Barrows		Gilts		Barrows		Gilts		Barrows		Gilts	
Initial																
BUN, mg/dL (Range)	9.00 ± 1.08 7.00 - 12.00	8.75 ± 1.31 5.00 - 11.00	8.75 ± 1.03 7.00 - 11.00	10.25 ± 0.85 8.00 - 12.00	13.00 ± 0.58 12.00 - 14.00	11.25 ± 1.31 9.00 - 14.00	10.00 ± 1.35 6.00 - 12.00	11.25 ± 1.49 7.00 - 14.00								
Creatinine (CRE), mg/dL (Range)	0.83 ± 0.12 0.53 - 1.08	0.73 ± 0.10 0.56 - 0.97	0.64 ± 0.11 0.37 - 0.89	0.97 ± 0.08 0.74 - 1.11	1.00 ± 0.12 0.72 - 1.26	0.86 ± 0.09 0.71 - 1.12	0.78 ± 0.13 0.56 - 1.10	0.79 ± 0.08 0.62 - 0.96								
Triacylglycerol (TG), mg/dL (Range)	38.50 ± 5.17 33.00 - 54.00	51.50 ± 6.03 44.00 - 61.00	50.25 ± 3.79 37.00 - 88.00	53.25 ± 11.88 41.00 - 52.00	47.75 ± 2.66 45.00 - 64.00	50.75 ± 4.46 36.00 - 59.00	50.25 ± 4.96 46.75 ± 7.34	50.25 ± 4.96 46.75 ± 7.34								
Cholesterol (CHO), mg/dL (Range)	71.75 ± 8.62 52.00 - 89.00	84.25 ± 4.11 57.00 - 95.00	77.25 ± 7.60 57.00 - 93.00	98.50 ± 5.95 83.00 - 112.00	93.00 ± 10.29 71.00 - 112.00	104.25 ± 14.44 79.00 - 139.00	82.75 ± 4.03 72.00 - 91.00	84.25 ± 7.72 69.00 - 99.00								
6th wk																
BUN, mg/dL (Range)	10.75 ± 1.80 6.00 - 14.00	6.75 ± 0.85 5.00 - 9.00	8.50 ± 2.02 5.00 - 14.00	9.25 ± 1.65 5.00 - 13.00	8.00 ± 1.78 5.00 - 13.00	4.50 ± 0.87 2.00 - 6.00	8.50 ± 2.02 5.00 - 12.00	6.75 ± 1.44 3.00 - 9.00								
Creatinine (CRE), mg/dL (Range)	0.57 ± 0.05 0.46 - 0.71	0.41 ± 0.04 0.30 - 0.47	0.46 ± 0.11 0.18 - 0.68	0.57 ± 0.04 0.47 - 0.63	0.50 ± 0.08 0.32 - 0.70	0.25 ± 0.13 0.10 - 0.62	0.61 ± 0.11 0.41 - 0.87	0.59 ± 0.11 0.28 - 0.78								
Triacylglycerol (TG), mg/dL (Range)	53.00 ± 4.34 43.00 - 64.00	57.75 ± 7.54 43.00 - 77.00	54.75 ± 5.30 46.00 - 75.00	64.25 ± 6.51 48.00 - 82.00	6 3.75 ± 7.05 40.00 - 67.00	56.50 ± 6.36 50.00 - 96.00	65.00 ± 10.47 46.00 - 64.00	57.25 ± 4.31 69.25 ± 3.94								
Cholesterol (CHO), mg/dL (Range)	90.50 ± 6.70 80.00 - 110.00	74.00 ± 1.78 71.00 - 79.00	71.50 ± 10.36 42.00 - 89.00	80.75 ± 5.59 71.00 - 94.00	75.75 ± 5.27 66.00 - 88.00	65.25 ± 10.27 53.00 - 96.00	80.50 ± 5.52 71.00 - 94.00	69.25 ± 3.94 61.00 - 76.00								
12th wk																
BUN, mg/dL (Range)	9.00 ± 1.35 7.00 - 13.00	11.50 ± 1.19 10.00 - 15.00	9.25 ± 0.85 7.00 - 11.00	8.50 ± 1.04 6.00 - 9.00	7.00 ± 0.71 4.00 - 8.00	6.25 ± 0.85 5.00 - 14.00	9.50 ± 1.94 7.00 - 10.00	8.50 ± 0.65 3.00 - 9.00								
Creatinine (CRE), mg/dL (Range)	0.77 ± 0.07 0.58 - 0.92	0.84 ± 0.17 0.57 - 1.33	0.74 ± 0.02 0.72 - 0.80	0.83 ± 0.04 0.75 - 0.92	0.71 ± 0.08 0.57 - 0.88	0.77 ± 0.13 0.50 - 1.06	0.63 ± 0.06 0.54 - 0.81	0.91 ± 0.05 0.81 - 0.99								
Triacylglycerol (TG), mg/dL (Range)	53.00 ± 6.65 41.00 - 65.00	62.75 ± 7.56 56.00 - 77.00	59.50 ± 7.24 51.00 - 68.00	59.25 ± 3.57 49.00 - 88.00	66.25 ± 9.66 37.00 - 58.00	51.50 ± 4.87 46.00 - 98.00	65.00 ± 11.37 43.00 - 67.00	52.50 ± 5.12 74.75 ± 5.23								
Cholesterol (CHO), mg/dL (Range)	76.00 ± 5.49 66.00 - 86.00	91.50 ± 7.58 76.00 - 111.00	77.25 ± 5.12 68.00 - 90.00	81.25 ± 8.30 62.00 - 102.00	73.25 ± 2.29 68.00 - 78.00	74.00 ± 3.94 65.00 - 84.00	75.00 ± 8.03 63.00 - 98.00	74.75 ± 5.23 67.00 - 90.00								

^a Values are means ± standard error, n = 4.

[#] Treatment 1: Lys 0.64%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 2: Lys 1.00%, ME 2,400 kcal/kg; Treatment 3: Lys 0.64%, ME 2,800 kcal/kg; Treatment 4: Lys 1.00%, ME 2,800 kcal/kg.

- 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。
- 陳亮君、楊凌緯、黃敏雄、朱賢斌、廖宗文。2017。飼糧不同粗蛋白質及代謝能含量在涼季和熱季對蘭嶼豬生長性能及背脂厚度的影響。畜產研究 50：45-51。
- 廖宗文、楊環菁、劉芳爵、陳立人。2020。不同飼糧離胺酸含量或降低粗蛋白質含量添加離胺酸對蘭嶼豬生長及背脂厚度之影響。中國畜牧學會會誌 49：317-328。
- 劉芳爵、林幼君。2019。不同飼糧粗蛋白質含量對蘭嶼豬體增重與血液生化值之影響。畜產研究 52：157-164。
- Bee, G., S. Gebert and R. Messikommer. 2002. Effect of dietary energy supply and fat source on the fatty acid pattern of adipose and lean tissues and lipogenesis in the pigs. J. Anim. Sci. 80: 1564-1574.
- Bendixen, M., M. Danielsen, K. Larsen, and C. Bendixen. 2010. Advances in porcine genomics and proteomics—a toolbox for developing the pig as a model organism for molecular biomedical research. Brief. Funct. Genomics 9: 208-219.
- Bollen, P., A. K. Hansen, and H. J. Rasmussen. 2000. The Laboratory Swine. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Bollen, P. J., L.W. Madsen, O. Meyer, and J. Ritskes-Hoitinga. 2005. Growth differences of male and female Göttingen minipigs during ad libitum feeding: a pilot study. Lab. Anim. 39: 80-93.
- Braun, J. P. and H. P. Lefebvre. 2008. Kidney function and damage. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press Inc. San Diego, U.S.A.
- Cai, Y., D. R. Zimmerman, and R. C. Ewan. 1995. Blood urea and amino acid concentrations in pigs of two breed combinations as affected by energy intakes. J. Anim. Sci. 73:145-150.
- Casas-Díaz E, F. Closa-Sebastià, I. Marco, S. Lavín, and R. Cuenca. 2015. Hematologic and biochemical reference intervals for Wild Boar (*Sus scrofa*) captured by cage trap. Vet. Clin. Pathol. 44: 215-222.
- DelGiudice, G. D., L. D. Mech, and U. S. Seal. 1990. Effects of winter undernutrition on body composition and physiological profiles of white-tailed deer. J. Wildl. Manage. 54: 539-550.
- Ellegaard, L., K. D. Jorgensen, S. Klastrup, A. K. Hansen, and O. Svendsen. 1995. Haematologic and clinical chemical values in 3 and 6 months old Göttingen minipigs. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 22: 239-248.
- Hermesch, S. 2008. Genetic relationships between composition of pork bellies and performance, carcass and meat quality traits. Animal 2: 1178-1185.
- Humann-Ziehank, E. and M. Ganter. 2012. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. Animal 6: 1115-1123.
- Kaneko, J., J. Harvey, and M. Bruss. 2008. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- Kawaguchi, H., T. Yamada, N. Miura, Y. Takahashi, T. Yoshikawa, H. Izumi, T. Kawarasaki, N. Miyoshi, and A. Tanimoto. 2012. Reference values of hematological and biochemical parameters for the world smallest microminipigs. J. Vet. Med. Sci. 74: 933-936.
- Klem, T. B., E. Bleken, H. Morberg, S. I. Thoresen, and T. Framstad. 2010. Hematologic and biochemical reference intervals for Norwegian crossbreed grower pigs. Vet. Clin. Pathol. 39: 221-226.
- Kolstad, N., N. B. Jopson, and O. Vangen. 1996. Breed and sex differences in fat distribution and mobilization in growing pigs fed at maintenance. Livest. Prod. Sci. 47: 33-41.
- Panepinto, L. M. 1996. Miniature swine breeds used worldwide in research. In M. Tumbleson and B. Lawrence (eds), Advances in Swine in Biomedical Research. New York, NY: Plenum Press.
- Rispal, G., M. Slaoui, D. Weber, P. Salemink, C. Berthoux, and R. Shrivastava. 1993. Haematological and plasma biochemical values for healthy Yucatan micropigs. Lab. Anim. 27: 368-373.

Effects of dietary lysine and metabolizable energy levels on the growth performance and blood biomedical parameters of Lanyu pigs⁽¹⁾

Han-Sheng Wang⁽²⁾⁽⁶⁾ Yen-Chang Chen⁽³⁾ Yu-Ling Huang⁽⁴⁾ Yi-Long Chen⁽⁵⁾
Shih-Hsin Lee⁽⁵⁾ Ming-Fung Wu⁽⁵⁾ and Chia-Chieh Chang⁽⁵⁾

Received: Dec. 12, 2022; Accepted: Oct. 24, 2024

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of different dietary lysine (Lys) incorporated with metabolizable energy (ME) levels on the growth performance, gain/feed (G/F) and blood biochemical parameters of weaned Lanyu pigs. Thirty-two weaned Lanyu pigs (16 males and 16 females each) averaging 6.2 kg of body weight were randomly allotted to different diets in a 2×2 factorial arrangement including two Lys levels (0.64% and 1.00%) and two ME levels (2,400 kcal/kg and 2,800 kcal/kg) for twelve weeks. The results showed that the average body weight and average daily gain of Lys 1.00% group were higher than the Lys 0.64% group significantly ($P < 0.05$) at the end of experiment. Meanwhile, the G/F of ME 2,800 kcal/kg group was higher than ME 2,400 kcal/kg group significantly ($P < 0.01$). However, the average daily feed intake and the increment of backfat thickness were not significantly different while the interactive effects of Lys and ME levels on the growth performance were not significantly different either. In blood biochemical parameters, the blood urea nitrogen was in accordance with normal physiological rang of minipigs, wild boar and *Sus domesticus*. Whereas, the Lys 0.64% with ME 2,400 kcal/kg and Lys 1.00% with ME 2,800 kcal/kg groups were higher than Lys 0.64% with ME 2,800 kcal/kg group significantly ($P < 0.05$) at the end of experiment. Besides, the creatinine, triacylglycerol and cholesterol were not significantly different among treatments. We concluded that Lanyu pigs fed diet with Lys 1.00 % or ME 2,800 kcal/kg would have better growth performance. However, Lanyu pigs fed diet contained Lys 0.64 % and ME 2,400 kcal/kg was adequate to maintain growth with normal physiological performance when considering the characteristics of biomedical researches.

Key words: Lysine, Metabolizable energy, Lanyu pig, Growth performance, Blood biochemical parameters.

(1) Contribution No. 2806 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Guanxi Township Office, Hsinchu 306001, Taiwan, R. O. C.

(3) Civil Affairs Office of Yangmei District, Taoyuan 326101, Taiwan, R. O. C.

(4) Kaohsiung Branch, Animal and Plant Health Inspection Agency (APHIA), Ministry of Agriculture.

(5) Eastern Region Branch, MOA-LRI, Taitung 95444, Taiwan, R. O. C.

(6) Corresponding author, E-mail: 30073770hchg@gmail.com.

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：℃、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. 2

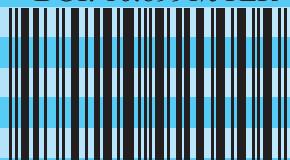
June 2025

CONTENTS

	Page
1. Exploring Taiwanese consumers' preferences for domestic fresh milk and Japanese milk from the perspectives of milk composition and sensory evaluation <i>Yi-Hsuan Chen, Yi-Hsin Yeh, Jen-Wen Shiau, Yi-Ming Chen, Ming-Kuew Yang, Yueh-Tung Chen, and Po-An Tu</i>	77
2. Breeding of Chihsin ducks <i>Liang-Yuan Wei, Jih-Yi Chen, Yi-Ying Chang, Ju-Chun Chiu, Hsiu-Chou Liu, and Ching-Wei Chang</i>	89
3. Effects of different particle sizes and forage species combined forage pellet on goat palatability <i>Shu-Min Wang and Chia-Sheng Chen</i>	98
4. An investigation of the mycobiota of the daily cow manure and black soldier fly frass <i>Shih-Hsiang Liang, Chia-Xin Lee, and Szu-Han Wang</i>	106
5. The differences in general composition, amino acid and protein composition between Formosan sambar deer and New Zealand's red deer velvet antler <i>Ching-Yun Kuo, Ruei-Han Yeh, and Ming-Ju Chen</i>	114
6. Study on monitoring pathogen and classical swine fever vaccine efficacy of Lanyu pigs <i>Yu-Ling Huang, Han-Sheng Wang, Yi-Long Chen, Shih-Sin Li, and Chia-Chieh Chang</i>	128
7. Investigation of techniques for interseeding alfalfa into pangola grasslands using the no-till method <i>Chia-Sheng Chen, Shu-Min Wang, Tsui-Huang Yu, and Hsin-Hung Liu</i>	135
8. Effects of dietary lysine and metabolizable energy levels on the growth performance and blood biomedical parameters of Lanyu pigs <i>Han-Sheng Wang, Yen-Chang Chen, Yu-Ling Huang, Yi-Long Chen, Shih-Hsin Lee, Ming-Fung Wu, and Chia-Chieh Chang</i>	145

中行
郵政
新聞局
出版事業
登記證
執字第
八號
登記
台省
誌為
雜誌
第六七
交寄
七號

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN:2005200015

定價：新臺幣二〇〇元