

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十九卷 第一期 中華民國一〇五年 三月 季刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 59 No. 1 March 2026



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 李春芳 李淵百
李滋泰 李德南 沈朋志 辛坤鎰 辛岱倫 周明顯 林原佑 林資哲
姜中鳳 洪國翔 唐品琦 徐濟泰 張仲彰 張秀鑾 張啟聖 莊士德
許奕婷 許振忠 郭猛德 陳立人 陳志峰 陳志銘 陳怡綦 陳明汝
陳彥伯 陳洵一 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 萬一怒 廖宗文 趙清賢
鄭永祥 鄭裕信 盧啟信 顏念慈 蘇忠楨

(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 洪靖崎 張世融 廖仁寶

(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. 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	C. F. LEE
Y. P. LEE	T. T. LEE	D. N. LI	P. C. SHEN	K. Y. HSIN
D. L. XIN	M. S. CHOU	Y. Y. LIN	Z. Z. LIN	Z. F. JIANG
G. X. HONG	P. C. TANG	J. T. HSU	S. H. CHANG	H. L. CHANG
C. S. CHANG	S. T. CHUANG	Y. T. HSU	C. C. HSU	M. D. KUO
L. R. CHEN	C. F. CHEN	C. M. CHEN	C. Y. CHEN	M. J. CHEN
Y. P. CHEN	S. E. 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	Y. N. WAN	C. W. LIAO
C. H. CHAO	T. M. CHEN	Y. X. ZHENG	C. H. LU	N. C. YAN
J. J. SU				

EDITORS:

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



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 115 年 3 月出版
定價：新臺幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五南文化廣場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

國家網路書店：www.govbook.com.tw

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

DOI : 10.6991/JTLR

畜產研究

第 59 卷第 1 期

中華民國 115 年 3 月

目 錄

	頁
1. 調查涼、熱季環境條件下飼養蘭嶼豬之直腸溫度、呼吸速率及血液生理生化值變化李士昕、吳昇陽、王漢昇、陳益隆、黃昱翎、章嘉潔	1
2. 不同堆肥化日數之雞糞可見近紅外光光譜特徵與腐熟度相關性評估吳卓穎、吳柏輝、李欣蓉、許正一	13
3. 探討環境溫度對白肉雞生理值、血液生化及血液學之影響丘昀融、蔡和滢、洪哲明、林正鏞、蔡銘洋	23
4. 純種母豬產仔數候選標記 NR4A1、EXOC4 及 FSH β 之評估 ...廖仁寶、王思雅、陳若菁、盧昱誼、蔡秀容、賴永裕、劉桂柱、陳裕信、程梅萍	34
5. 枯草芽孢桿菌發酵大豆粕產物取代大豆粕對白肉雞生長性能、屠體及血液性狀之影響李宗育、廖仁寶、施柏齡	44
6. 銀合歡 (<i>Leucaena leucocephala</i>) 經不同調製處理作為青貯利用之研究劉必謙、Rajendra Adak、陳建德、朱明宏	54
7. 高溫濕度指數下補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對亞臨床性乳房炎荷蘭泌乳牛之泌乳性能與血液性狀之影響張俊達、范耕榛、王思涵、吳鈴彩	63
8. 經產與初產阿爾拜因山羊陰道黏液導電度、酸鹼度及陰道溫度變化康定傑、曾楷扉、陳綵慈、陳裕信、曲鳳翔、蔡佩均	72
9. 畜試土雞高畜 9 號品系於涼、熱季環境之生理參數、血液生化值及血液學調查梁筱梅、康獻仁、劉曉龍	82
10. 微衛星標記應用於褐色菜鴨復養族群配種制度建立 ...張怡穎、陳若菁、張喬茵、郭雅心、鄭智翔、蘇晉暉、魏良原、陳志峰、張經緯	91

調查涼、熱季環境條件下飼養蘭嶼豬之直腸溫度、呼吸速率及血液生理生化值變化⁽¹⁾

李士昕⁽²⁾⁽³⁾ 吳昇陽⁽²⁾ 王漢昇⁽²⁾ 陳益隆⁽²⁾ 黃昱翎⁽²⁾ 章嘉潔⁽²⁾

收件日期：113 年 9 月 19 日；接受日期：114 年 4 月 22 日

摘 要

本研究旨在調查涼、熱季環境條件下，飼養之蘭嶼豬直腸溫度、呼吸速率及血液生理生化值變化，透過測量了解季節變化對蘭嶼豬生理狀態的影響，進一步制定合適飼養管理策略。試驗於涼熱季分別使用 3 月及 6 月齡蘭嶼豬 10 頭，公母各半。收集不同月齡豬隻，上、下午時段之生理值數據，並採集其血液樣本進行血液生理及生化值檢測。研究結果顯示，於熱季對直腸溫度的影響僅在 3 月齡蘭嶼豬上午測定時有顯著上升 ($P < 0.05$)，對 6 月齡蘭嶼豬則無顯著差異。此外，不同月齡和時段，熱季呼吸速率與涼季相比皆顯著增加 ($P < 0.05$)。血液生化項目在四碘甲狀腺素 (T4)、免疫球蛋白 G (IgG)、皮質醇 (cortisol)、白血球 (WBC)、葡萄糖 (GLU)、尿素氮 (BUN)、肌酸酐 (CRE)、總蛋白質 (TP)、血清球蛋白 (GLO)、白蛋白 / 球蛋白的比值 (A/G)、丙麩胺醯氨轉酸酶 (GGT)、肌酸磷激酶 (CPK) 及乳酸脫氫酶 (LDH) 等 13 項，不同月齡於季節上均顯著差異 ($P < 0.05$)。本研究成果提供了蘭嶼豬在不同季節下生理變化的詳細資料，有助於未來針對季節性氣候變化調整飼養管理策略，進一步提升蘭嶼豬的健康與生產效益，實現更科學化的畜牧管理。

關鍵詞：蘭嶼豬、涼季、熱季、生理值。

緒 言

在氣候變遷的影響下，動物生產能力和健康都面臨嚴峻的挑戰，由於豬隻缺乏汗腺，且在圈飼環境下體溫調節效率差，造成豬隻對炎熱環境條件更加敏感 (Nardone *et al.*, 2010)。當豬隻受到熱緊迫時，可能會對豬隻的生理、行為、免疫、健康和生產力產生不利影響，進而對豬肉產業造成損失 (Gregory, 2010; González *et al.*, 2020; Chauhan *et al.*, 2021; Podder *et al.*, 2022)。

隨著全球氣候變遷，臺灣近 30 年的觀測資料顯示，日最高溫及日最低溫均有上升的趨勢，這也代表未來極端高溫事件將日趨嚴重 (陳, 2018)。當動物暴露在環境壓力下時，其生理值變化可以透過呼吸頻率和直腸溫度的變化來測量 (Mirkena *et al.*, 2010)。隨著動物呼吸頻率的上升，會同時增加肺部氣體交換和水分蒸發，並藉此釋放額外的熱量 (McGlone, 1999)。動物對其內部和外部環境的生理反應也會反映在血液分析中，可藉此評估環境引起的壓力程度 (Mmereole, 2008) 以及動物對特定環境條件的適應能力 (Sejian *et al.*, 2014)。

蘭嶼豬源自於熱帶氣候的蘭嶼，在過去研究中發現，蘭嶼豬以相同商業用肉豬餵養條件下，其生長速度雖然較慢，但具有較好的耐熱性及環境適應力 (陳, 2020)。然而，溫度變化對其生理生化值的影響仍需了解，並建立相關的資料。本研究針對 3 至 6 月齡蘭嶼豬進行調查，評估涼季和熱季對蘭嶼豬直腸溫度、呼吸速率及血液生理生化影響，為未來研究應用提供重要參考。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2823 號。

(2) 農業部畜產試驗所東區分所。

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

材料與方法

I. 試驗動物

在本研究使用豬隻均通過畜產試驗所東區分所臺東場區實驗照護及使用小組的核准(畜試動字 109-06 號)。依據交通部中央氣象署臺東地區近 5 年氣候資料，分為涼季(11 至 3 月)、熱季(6 至 9 月)，於 2020 至 2021 年試驗期間。每一季節、每一齡期(3 月齡與 6 月齡)各使用 10 頭蘭嶼豬(公母各半)，共重複兩年，故每組樣本數為 20 頭。蘭嶼豬飼養於畜產試驗所東區分所臺東場區，分別安置在保育豬舍(3 月齡)和成長豬舍(6 月齡)欄位。飼養條件為自然溫度、濕度和光照，飼料組成如表 1，其中粗蛋白含量為 15.11% 及粗脂肪含量為 2.47%。依照生醫用小型豬工作人員管理標準作業程序書(TAPS-DLT-2-03)，在相同飼養條件下，每日每頭豬依各階段營養需求由現場人員餵飼兩餐，並自由攝取飲水。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. The composition of experimental diets

Ingredients	%
Corn	65.65
Soybean meal, 43.5%	18
Wheat bran	10
Limestone	1
Dicalcium phosphate	1.4
Choline	0.2
Molasses	3
Salt	0.5
Vitamin premix ^a	0.1
Mineral premix ^b	0.15
Total	100
Analyzed value	
Crude protein, %	15.11
Crude fiber, %	2.87
Crude fat, %	2.47
Crude ash, %	6.00
Calcium, %	1.27
Acid detergent fiber, %	3.65
Neutral detergent fiber, %	9.97
Gross energy, kcal/kg	3,796

^a Vitamin supplied the following per kilogram of diet: vitamin A, 6,000 IU; vitamin D₃, 400 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K₃, 2 mg; vitamin B₁, 2.6 mg; vitamin B₂, 2 mg; Niacin, 30 mg; Pantothenic acid, 30 mg; Pyridoxine, 3 mg; vitamin B₁₂, 0.06 mg; Biotin, 0.2 mg.

^b Mineral supplied the following per kilogram of diet: 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.

II. 試驗方法及資料收集

(i) 於 2020 – 2021 年試驗期間，收集了 1 至 3 月的涼季環境參數和 6 至 9 月的熱季環境參數。測定畜舍環境的溫、濕度，在豬舍欄位前以及兩相鄰豬舍的遮雨棚下，距離地面 1 公尺的位置分別放置 1 組溫濕度記錄器

(AZ Temp. RH USB Data Logger 88162)，共計 3 組。記錄器的環境溫度測量範圍為 -30 至 70°C，精確度為 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 。相對濕度測量範圍為 0.1 至 99.9%，在 25°C 時的精確度為 $\pm 3\%$ 。在試驗期間，每隔 10 分鐘連續測定並記錄溫度和濕度一次，然後每週將這些數據轉錄到電腦中，以便進行豬舍環境參數的統計和分析。使用 National Oceanic and Atmospheric Administration (1976) 的方法來計算 THI 值，此公式已在許多豬隻研究中被廣泛運用 (Wegner *et al.*, 2014; Wegner *et al.*, 2016; Hörtenhuber *et al.*, 2020)。THI 的計算公式如下： $\text{THI} = 9/5T + 32 - 0.55 \times (1 - \text{RH}) \times (9/5T - 26)$ 。在這個公式中，THI 代表溫濕度指數，T 代表氣溫 ($^\circ\text{C}$)，而 RH 代表相對濕度 (%)。

- (ii) 直腸溫度及呼吸速率測定：每週 2 日，分別在上午 09:00 和下午 13:00 各進行 1 次測量，總共進行 4 次測定，以評估試驗豬隻的直腸溫度和呼吸速率。測量直腸溫度時，將豬隻固定在保定籠中，並使用軟管溫度計 (MT-B132FA, Geon corporation, Taiwan) 進行測量，其測量範圍為 32 至 43°C。呼吸速率的測定是透過目視，觀察站立且靜止的豬隻計算腹脇部呼吸起伏次數。
- (iii) 血液檢測：採血操作分別於涼季的 2 月和熱季的 8 月進行。在進行血液採集前，試驗豬隻需禁食 12 小時，但可自由飲水。血液採集方式為從前腔靜脈採取 5 毫升的血液，分別置入含有凝固活化劑的採血管和含有 K2EDTA 抗凝劑的採血管中。隨後，樣本送至大統醫學檢驗中心 (Taitung, Taiwan)，總共進行 25 項血液生理生化檢驗，包括四碘甲狀腺素 (thyroxine, T4)、三碘甲狀腺素 (triiodothyronine, T3)、免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)、皮質醇 (cortisol)、白血球計數 (white blood cell count, WBC)、紅血球計數 (red blood count, RBC)、血紅素 (hemoglobin, Hb)、血球容積比 (hematocrit, Ht)、平均紅血球體積 (mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素量 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板 (platelet)、飯前血糖 (glucose Ac, GLU)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (creatinine, CRE)、總膽固醇 (total cholesterol, CHOL)、三酸甘油酯 (triglycerides, TG)、總蛋白質 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, ALB)、球蛋白 (globulin, GLO)、白蛋白 / 球蛋白比 (albumin / globulin ratio, A/G)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、丙麩胺醯氨轉酸酶 (gamma glutamyl transferase, GGT)、肌酸磷激酶 (creatine phosphokinase, CPK)、乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase, LDH)。

III. 資料分析

針對收集的生理值、血液生化值、環境參數等試驗資料使用 SAS 統計軟體 (SAS, 2014) 進行統計分析。分析過程採用一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析。透過 F 檢驗 (F-test) 評估各效應的顯著性。同時使用最小顯著性差異法 (least significant difference test, LSD)，來比較不同處理組之間的差異是否具有統計顯著性。

結果與討論

I. 試驗期間畜舍環境溫溼度及 THI 指數變化

在 2020 至 2021 年的試驗期間，對保育豬舍、成長豬舍和戶外環境的溫度、濕度及溫濕度指數 (THI) 進行連續地監測並分析。結果顯示，無論是涼季還是熱季，戶外環境的平均溫度和最高溫度均較 2017 至 2019 年有所上升。臺東地區受中央山脈的阻隔，在熱季常出現背風效應，導致焚風現象並引發極端高溫。這種現象近年來因氣候變遷而變得更加嚴重。在 2021 年熱季，戶外環境已記錄到高達 41.1°C 戶外的極端高溫。

表 2 顯示，在涼季期間，保育豬舍的環境溫度和 THI 均為最高，2020 年和 2021 年的平均溫度分別為 23.3°C 和 21.6°C，THI 分別為 71.7 和 69.5。相比之下，成長豬舍和戶外環境的平均溫度和 THI 指數相對較低，尤其是 2017 至 2019 年的涼季，戶外環境的平均 THI 僅為 69.0，顯示戶外環境的溫度變化幅度較豬舍大。

在熱季期間，戶外環境的平均溫度和 THI 均高於保育豬舍和成長豬舍。2020 年和 2021 年，戶外環境的平均溫度分別達到 29.6 和 29.8°C，THI 則分別為 81.9 和 82.5。2021 年熱季的戶外環境甚至記錄到最高溫 40.9°C 和 THI 89.3。保育豬舍在熱季的平均溫度 29.5°C 和 THI 81.6 則較為穩定，略低於戶外環境但高於成長豬舍。

綜合上述，2020 至 2021 年試驗期間的數據顯示，戶外環境在涼季和熱季的溫度和 THI 均比 2017 至 2019 年有所增加，這與近年來氣候變遷和極端天氣事件的頻率增加有關。涼季期間，保育豬舍的溫度和 THI 相對較高，顯示其環境控制較為溫暖和穩定；而在熱季，戶外環境的溫度和 THI 顯著升高，尤其是在 2021 年，顯示出戶外環境溫度波動性增大及 THI 顯著上升的趨勢。這些結果亦顯示在面對氣候變遷挑戰時，持續加強環境管

理措施的重要性，以確保豬舍內維持適宜的生長環境，並減緩高溫對豬隻的影響。

表 2. 試驗期間 (2020 – 2021) 之保育豬舍、成長豬舍、戶外和近三年戶外 (2017 – 2019) 在涼季和熱季的溫度、相對濕度及溫濕度指數 (THI) 的平均值和最大值

Table 2. During the trial period (2020-2021), the mean and maximum values of temperature, relative humidity, and temperature-humidity index (THI) in the nursery, grower, outdoors, and outdoors over the past three years (2017-2019) during the cool and hot seasons

Season	Unit	Temperature (°C)		Humidity (%)	THI	
		Mean	Maximum ³	Mean	Mean	Maximum
Cool season ¹	Nursery					
	2020	23.3	29.7	74.7	71.7	80.3
	2021	22.5	30.1	75.5	70.6	81.4
	Grower					
	2020	22.4	31.2	78.9	70.7	82.1
	2021	21.6	30.9	80.0	69.5	82.1
	Outdoors ⁴					
	2020	22.5	36.2	77.9	70.7	85.1
	2021	21.6	33.5	81.2	69.4	85.1
2017 – 2019	21.6	32.7	73.7	69.0	81.7	
Hot season ²	Nursery					
	2020	29.5	36.0	76.3	81.6	86.5
	2021	29.5	36.3	77.4	81.6	88.0
	Grower					
	2020	29.5	36.7	79.3	81.9	86.7
	2021	29.8	38.6	75.4	81.6	87.9
	Outdoors ⁴					
	2020	29.6	40.9	78.6	81.9	89.6
	2021	29.8	41.1	83.0	82.5	90.3
2017-2019	28.8	35.9	77.8	80.7	87.1	

¹ Cool season data collected for Jan. to Mar. of 2020 and 2021.

² Hot season data collected for Jun. to Sep. of 2020 and 2021.

³ Maximum: Collecting one set of temperature and humidity data every 10 minutes, and use the maximum value from each set of data as the basis for determining the "maximum".

⁴ The outdoor weather data for the years 2017 to 2019 is provided by the Central Weather Bureau's weather observation data.

從圖 1 可以觀察到以下趨勢：涼季的平均溫度在上午 5 點降至一天中的最低點，並在中午 12 點達到最高點；而在熱季，平均溫度在同樣上午 5 點降至最低點，但在下午 1 點才達到最高點。涼季的平均濕度在上午 6 點後迅速下降，並在上午 11 點達到最低點；相對應的，熱季的平均濕度在上午 5 點後快速下降，在中午 12 點達到最低點。THI 受溫度和濕度的交互作用影響。在涼季的平均 THI 在上午 6 點降至一天中的最低點，並在中午 12 點達到最高點；而在熱季，平均 THI 則在上午 5 點降至最低點，在下午 1 點升至最高點。一天內各環境參數的變化可以觀察到，溫度、濕度和 THI 值的變化幅度依次為：戶外環境 > 成長豬舍 > 保育豬舍。

Haeussermann *et al.* (2007)、Botto *et al.* (2014) 及 Mellado *et al.* (2018) 研究發現，當 $THI \leq 74$ 時，豬隻處於舒適狀態；當 $75 < THI \leq 78$ 時，豬隻處於輕度熱緊迫狀態；當 $79 < THI \leq 83$ 時，豬處於中度熱緊迫狀態；而 $THI > 84$ 則表示豬處於嚴重熱緊迫狀態。在兩年的試驗期間，臺東地區熱季的 THI 顯著高於涼季 ($P < 0.05$)。從圖 1 數據顯示，試驗豬舍在涼季的平均 THI 值都在 69.4 至 71.7 範圍，即豬隻是處於舒適的狀態。而在熱季，平均 THI 值都在 81.6 和 82.5 之間，表示豬隻在熱季期間處於中度熱緊迫的飼養環境中。

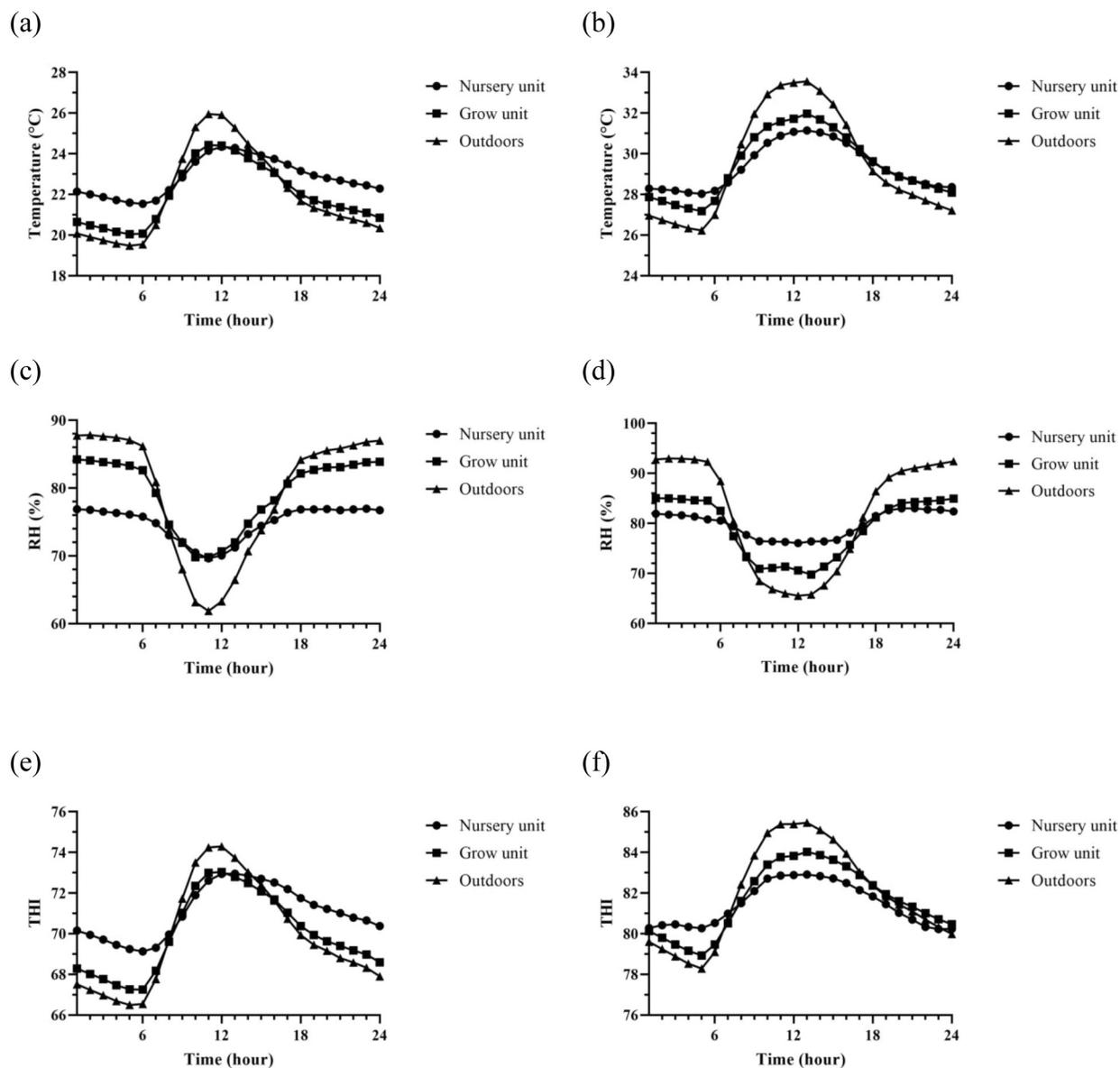


圖 1. 試驗期間 (a) 涼季溫度、(b) 熱季溫度、(c) 涼季濕度、(d) 熱季濕度、(e) 涼季 THI 及 (f) 熱季 THI 之一天平均變化。

Fig. 1. Daily average variations of (a) cool-season temperature, (b) hot-season temperature, (c) cool-season humidity, (d) hot-season humidity, (e) cool-season THI and (f) hot-season THI.

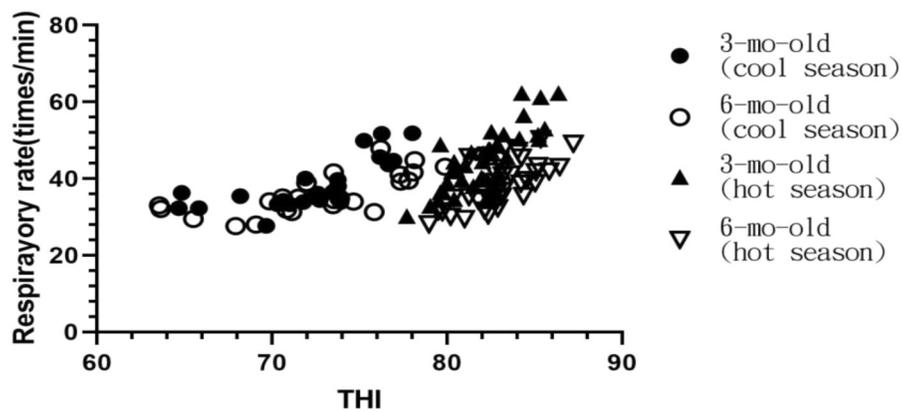


圖 2. 試驗期間 THI 與呼吸速率變化。

Fig. 2. Changes in THI and respiratory rate.

II. 直腸溫度及呼吸速率之測定

動物會透過調節自身的直腸溫度和呼吸速率，以應對環境溫度和濕度的變化如表 3 所示，故相關生理指標被廣泛用作熱壓力的評估依據 (Yu *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2022)。根據涼、熱季在上午及下午時段之直腸溫度及呼吸速率分析結果，顯示熱季對於直腸溫度的影響，在 3 及 6 月齡、上下午時段皆有增加趨勢，但統計上僅在 3 月齡蘭嶼豬上午測定時有顯著上升 ($P < 0.05$)，對 6 月齡蘭嶼豬則無顯著差異。此外，3 月齡蘭嶼豬在各時段的直腸溫度皆高於 6 月齡蘭嶼豬 ($P < 0.05$)。在呼吸速率方面，熱季期間 3 及 6 月齡豬隻呼吸速率均顯著高於涼季 ($P < 0.05$)。3 月齡蘭嶼豬在各時段之呼吸速率皆顯著高於 6 月齡 ($P < 0.05$)。

透過比較涼熱季 THI 值與呼吸速率的散佈圖，發現在相同 THI 值時，3 月齡蘭嶼豬與 6 月齡相比具有較高的呼吸速率，且 3 月齡的呼吸速率更易受 THI 值的變化影響。當 THI 值大於 74 時，各月齡蘭嶼豬的呼吸速率便開始頻繁出現有每分鐘 40 次之數據。從圖中亦可發現，各月齡豬隻 THI 值和呼吸速率的數據分佈，在涼季與熱季都有明顯的分群，且在熱季，儘管 THI 值超過 74，部份豬隻呼吸速率數據仍低於每分鐘 40 次，這也驗證蘭嶼豬對於高溫的耐受性及其環境適應性。

熱季對蘭嶼豬的生理指標有明顯影響，尤其是對年齡較小的豬隻，導致 3 月齡豬隻直腸溫度和呼吸速率的顯著上升，顯示出其對高溫環境的反應。年齡較大的豬隻在應對高溫環境變化方面可能具有穩定性，反應表現為其生理指標的變化幅度較小。這些數據說明，年齡和季節共同影響蘭嶼豬的對熱適應的調適，尤其在熱季，應特別關注年齡較小的豬隻以減少熱緊迫影響。

表 3. 蘭嶼豬於涼季和熱季之直腸溫度與呼吸速率變化

Table 3. The changes in rectal temperature and respiratory rate of Lanyu pigs during the cool and hot seasons

Items	Season	
	Cool ¹	Hot ²
3-month-old (n = 20)		
Morning ³		
Rectal temperature (°C)	38.98 ± 0.36 ^{b,A}	39.84 ± 0.31 ^{a,A}
Respiratory rate (breaths/minute)	27.70 ± 1.04 ^{b,A}	32.80 ± 2.10 ^{a,A}
Afternoon ⁴		
Rectal temperature (°C)	39.31 ± 0.37 ^A	39.71 ± 0.29 ^A
Respiratory rate (breaths/minute)	30.40 ± 2.13 ^{b,A}	36.60 ± 3.49 ^{a,A}
6-month-old (n = 20)		
Morning		
Rectal temperature (°C)	38.72 ± 0.28 ^B	38.81 ± 0.30 ^B
Respiratory rate (breaths/minute)	25.30 ± 0.57 ^{b,B}	29.30 ± 2.13 ^{a,B}
Afternoon		
Rectal temperature (°C)	38.49 ± 0.45 ^B	38.76 ± 0.34 ^B
Respiratory rate (breaths/minute)	26.70 ± 1.14 ^{b,B}	32.80 ± 3.73 ^{a,B}

¹ Cool season data collected for Jan. to Mar. of 2020 and 2021.

² Hot season data collected for Jun. to Sep. of 2020 and 2021.

³ 8:00 a.m. measurements: Cool season: Inside barn avg. temp. 22.87°C, humidity 71.98%, THI 70.83. Outside avg. temp. 23.68°C, humidity 67.91%, THI 71.69. Hot season: Inside barn avg. temp. 30.37°C, humidity 72.23%, THI 82.29. Outside avg. temp. 31.96°C, humidity 68.50%, THI 84.06.

⁴ 1:00 p.m. measurements: Cool season: Inside barn avg. temp. 24.20°C, humidity 71.53%, THI 72.81. Outside avg. temp. 25.21°C, humidity 66.65%, THI 73.82. Hot season: Inside barn avg. temp. 31.79°C, humidity 70.40%, THI 84.13. Outside avg. temp. 33.52°C, humidity 66.00%, THI 85.91.

The data are given as mean ± standard deviation.

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

^{A,B} Means in the same column with different superscripts differ significantly between ages at the same time point ($P < 0.05$).

III. 豬隻血液生理生化值之測定

蘭嶼豬涼熱季節血液生理生化值資料如表 4 及表 5 所示。在熱季時，3 月齡蘭嶼豬的 T4、BUN、CRE、TP、GLO、GGT、CPK 及 LDH 會顯著上升 ($P < 0.05$)，而 cortisol、Hb、MCH、A/G、ALP 則會顯著下降 ($P < 0.05$)；6 月齡蘭嶼豬的 IgG、RBC、Hb、Ht、BUN、CRE、TP、GLO、GGT 及 LDH 顯著上升 ($P < 0.05$)，而 cortisol、WBC、GLU、A/G 則會顯著下降 ($P < 0.05$)；整體而言，蘭嶼豬在熱季時，其 T4、IgG、BUN、CRE、TP、GLO、GGT、CPK 及 LDH 濃度會高於涼季 ($P < 0.05$)，而 cortisol、WBC、GLU、A/G 濃度則是低於涼季 ($P < 0.05$)，上述結果顯示，儘管過去研究蘭嶼豬對環境變化具較高耐受性，在熱季中依舊會受到高溫和高濕的影響，導致其生理狀態發生變化。

甲狀腺激素是控制新陳代謝的重要激素，能影響豬的食慾和代謝速率。當甲狀腺激素濃度較高時，豬的食慾通常會增加，從而增加飲食攝入量；反之，當甲狀腺激素濃度過低時可能導致食慾下降，進而減少飲食攝入量。Ingram and Ślebodziński (1965) 研究熱緊迫對印度 Ghoongroo 原生種豬甲狀腺的影響，發現 35°C 高環境溫度會促使豬隻增加代謝活動以調節體溫，進而影響甲狀腺活性降低，使豬隻能藉由減少熱產生和節約能量以適應高溫環境。與之相似的研究，Borah *et al.* (2020) 發現對不同季節雜交肉豬，在熱季時，為了減少熱量產生，T4 濃度同樣較涼季低。Macari *et al.* (1986) 將適應 12°C 低溫環境的豬隻暴露在 32°C 高溫環境，以及將適應高溫環境的豬隻暴露在低溫環境，結果顯示適應炎熱環境的豬隻暴露在低溫環境會增加甲狀腺素的濃度，這與適應熱帶高溫的蘭嶼豬在涼季時 T4 有較低濃度的結果一致。

肌酸酐是肌肉代謝過程中產生的代謝物質，主要由肌肉中的肌酸代謝而來，Ortega *et al.* (2023) 及 Mendoza *et al.* (2017) 皆指出，生長肥育階段的豬隻在高溫環境飼養下會導致血清肌酸酐濃度上升。其成因推測是豬隻在高溫環境下會加速新陳代謝以進行熱調節，這便導致肌酸酐濃度的上升。本試驗中，不同月齡的蘭嶼豬在熱季肌酸酐濃度亦有顯著上升。

Mendoza *et al.* (2017) 試驗中發現，處於短期熱緊迫 (3 天) A/G 比例就有下降的情形，而長期熱緊迫的飼養條件 (28 天) 則會使 GLO 上升。此發現亦與本試驗結果一致。高溫環境下，動物因氧化緊迫和細胞損傷導致 GGT 濃度上升，故 GGT 常被用作動物緊迫判斷的指標 (Kataria *et al.*, 2014; Singhal *et al.*, 2019)，在本試驗中，熱季 3 月齡和 6 月齡蘭嶼豬的 GGT 濃度亦有顯著上升。此外，Hao *et al.* (2014) 發現，處於肥育期階段的豬隻在持續 21 天 30°C 高溫飼養下，其血漿 CPK 和 LDH 有顯著升高，與本試驗結果一致 ($P < 0.05$)。

在熱緊迫狀態下，豬隻的免疫系統可能受到抑制，導致 IgG 的含量下降。但在群飼條件下，高溫和社會壓力之間存在顯著的交互作用，進而影響免疫球蛋白的濃度 (Morrow-Tesch *et al.*, 1994)。本試驗結果顯示，3 月齡蘭嶼豬在熱季的 IgG 濃度無顯著差異，但在 6 月齡時，IgG 濃度則顯著上升 ($P < 0.05$)。Sutherland *et al.* (2006) 發現，當豬隻處於長期熱緊迫時，其血漿皮質醇濃度會顯著下降，本試驗中，不同月齡蘭嶼豬在熱季的皮質醇亦呈現相同趨勢。

家畜會藉由呼吸、體液循環、出汗和飲水來調節血球生理參數，從而在熱緊迫時增強熱量散失，在冷緊迫時保存熱量。在本研究中，蘭嶼豬 WBC 在熱季有下降的趨勢，尤其在 6 月齡的豬隻表現明顯 ($P < 0.05$)。Habibu *et al.* (2018) 指出家畜在熱緊迫時，血液中的 MCV 通常會因為豬隻代謝率加快，造成身體水分流失、脫水，導致紅血球的體積變小並下降。本試驗中，雖然 MCV 在熱季有下降趨勢，但在統計上未達到顯著差異，而在 3 月齡蘭嶼豬中，MCH 在熱季上顯著下降。

熱季對蘭嶼豬的血液生理生化參數均有顯著影響，尤其與免疫相關參數如白血球和 IgG 和代謝相關參數如血糖、BUN 和 CRE。年齡對蘭嶼豬的生理和生化參數的影響也很明顯，在年齡較大 6 月齡豬隻，於高溫環境下顯示較大的生理反應變化，可能與增強代謝應對有關。目前結果有助設計更為精準管理策略，以維護蘭嶼豬隻在不同環境下的健康福祉。

結 論

本研究發現，當蘭嶼豬在熱季的中度熱緊迫環境 ($79 < \text{THI} \leq 83$) 下飼養時，其生理指標顯示出顯著的季節性變化。當熱季時蘭嶼豬其呼吸速率已有顯著上升，表明其面臨熱緊迫。此外，在熱季期間，其 cortisol、WBC、GLU、A/G 會低於涼季；T4、IgG、BUN、CRE、TP、GLO、GGT、CPK 及 LDH 則高於涼季。由此可見，即便是源自熱帶氣候的蘭嶼豬，在臺東地區的半開放式豬舍飼養環境中，其生理值指標在不同季節仍有顯著變化，顯示出熱季對其生理狀態的影響。

表 4. 蘭嶼豬於涼季和熱季之血液生理變化
Table 4. Hematological changes of Lanyu pigs in cool and hot seasons

Items	Samples	WBC 10 ⁹ /L	RBC 10 ¹² /L	Hb g/L	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/L	Platelet 10 ⁹ /L
Season									
Cool	40	17.9 ^a	7.6	138.1	46.7	61.6	18.2	296.5	311.7
Hot	40	15.8 ^b	7.8	138.4	46.8	60.2	17.8	295.4	312.6
SEM		0.9	0.1	3.4	1.0	1.0	0.3	4.7	50.8
3-month-old									
Cool	20	18.6	7.7	137.2 ^a	46.5	60.6	17.9 ^a	296.5	343.8
Hot	20	16.9	7.6	128.5 ^b	44.7	58.7	16.9 ^b	287.5	351.9
SEM		1.4	0.2	4.6	1.6	1.5	0.4	6.8	94.0
6-month-old									
Cool	20	17.3 ^a	7.5 ^b	139.1 ^b	47.0 ^b	62.6	18.5	296.5	279.7
Hot	20	14.7 ^b	7.9 ^a	148.3 ^a	48.9 ^a	61.8	18.7	303.4	273.4
SEM		1.0	0.2	4.0	1.1	1.1	0.3	6.3	38.3

WBC: white blood cell count, RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular haemoglobin, MCHC: mean corpuscular haemoglobin concentration.

The data are given as mean.

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

表 5. 蘭嶼豬於涼季和熱季之血液生化值變化

Table 5. Changes in blood biochemistry values of Lanyu pigs during the cool and hot seasons

Items	Samples	T4 μg/dL	T3 ng/mL	IgG mg/dL	Cortisol μg/dL	GLU mmol/L	BUN mmol/L	CRE μmol/L	CHOL mmol/L	TG mmol/L	TP g/L	ALB g/L	GLO g/L	A/G %	ALP U/L	GGT U/L	CPK U/L	LDH U/L	
Season																			
Cool	40	8.3 ^b	1.8	643.5 ^b	11.5 ^a	7.72 ^a	1.7 ^b	106.1 ^b	2.8	0.6	67.5 ^b	35.6	31.9 ^b	1.2 ^a	168.4	64.7 ^b	989.5 ^b	890.9 ^b	
Hot	40	9.7 ^a	1.7	710.1 ^a	7.3 ^b	6.18 ^b	2.6 ^a	123.8 ^a	2.8	0.5	75.4 ^a	36.7	38.7 ^a	1.0 ^b	154.4	93.7 ^a	2,448.0 ^a	1,867.0 ^a	
SEM		0.5	0.1	31.5	0.8	0.4	0.13	8.8	0.1	0.1	1.2	0.8	1.3	0.1	15.5	6.3	667.7	263.2	
3-month-old																			
Cool	20	8.4 ^b	2.0	586.0	12.9 ^a	7.5	1.6 ^b	97.2 ^b	3.1	0.6	65.4 ^b	34.5	30.9 ^b	1.2 ^a	219.0 ^a	70.8 ^b	1,170.0	1,047.0 ^b	
Hot	20	10.0 ^a	1.9	644.2	8.1 ^b	7.4	2.53 ^a	114.9 ^a	3.0	0.5	73.1 ^a	35.4	37.8 ^a	1.0 ^b	179.4 ^b	106.1 ^a	2,752.0	2,025.0 ^a	
SEM		0.7	0.2	40.8	1.2	0.5	0.13	8.8	0.1	0.1	1.8	1.0	2.0	0.1	22.0	9.8	1,028.0	410.0	
6-month-old																			
Cool	20	8.3	1.7	701.1 ^b	10.2 ^a	8.0 ^a	1.7 ^b	114.9 ^b	2.5	0.5	69.7 ^b	36.7	33.0 ^b	1.1 ^a	117.8	58.5 ^b	818.3	734.7 ^b	
Hot	20	9.4	1.5	776.0 ^a	6.5 ^b	4.9 ^b	2.7 ^a	132.6 ^a	2.6	0.5	77.6 ^a	38.1	39.6 ^a	1.0 ^b	129.5	81.3 ^a	2,144.0	1,708.0 ^a	
SEM		0.8	0.2	40.2	1.0	0.5	0.3	8.8	0.1	0.1	1.3	1.0	1.7	0.1	12.7	6.8	876.5	333.3	

T4: thyroxine, T3: triiodothyronine, IgG: immunoglobulin G, GLU: glucose, BUN: blood urea nitrogen, CRE: creatinine, CHOL: cholesterol, TG: Triglyceride, TP: total protein, ALB: albumin, GLO: Globulin, A/G: albumin globulin ratio, ALP: alkaline phosphatase, GGT: Gamma-glutamyl transferase, CPK: creatine phosphokinase, LDH: lactate dehydrogenase.

The data are given as mean.

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

參考文獻

- 陳永明。2018。臺灣氣候的過去與未來－臺灣氣候變遷科學報告 2017- 物理現象與機制重點摘錄。臺北：國家災害防救科技中心。
- 陳益隆。2020。落實動物福祉的生醫用小型豬飼養。科學發展 574：60-65。
- Borah, S., S. Soren, R. Talukdar, J. Gogoi, S. Chakraborty, K. Saikia, and U. R. Tamuli. 2020. Study on the effect of seasonal variation on expression of serum biochemicals in pigs. *Indian J. Anim. Sci.* 90: 1265-1269.
- Botto, F., P. Alonso-Coello, and M. T. Chan. 2014. Myocardial injury after oncardiac surgery: A large, international, prospective cohort study establishing diagnostic criteria, characteristics, predictors, and 30-day outcomes. *Anesthesiology* 120: 564-578.
- Chauhan, S. S., V. P. Rashamol, M. Bagath, V. Sejian, and F. R. Dunshea. 2021. Impacts of heat stress on immune responses and oxidative stress in farm animals and nutritional strategies for amelioration. *Int. J. Biometeorol.* 65: 1231-1244.
- González, N., M. Marquès, M. Nadal, and J. L. Domingo. 2020. Meat consumption: Which are the current global risks? A review of recent (2010–2020) evidences. *Food Res. Int.* 137: 109341.
- Gregory, N. G. 2010. How climatic changes could affect meat quality. *Food Res. Int.* 43: 1866-1873.
- Habibu, B., T. Dzenda, J. O. Ayo, L. S. Yaqub, and M. U. Kawu. 2018. Haematological changes and plasma fluid dynamics in livestock during thermal stress, and response to mitigative measures. *Livest. Sci.* 214: 189-201.
- Haeussermann, A., E. Vranken, J. M. Aerts, E. Hartung, T. Jungbluth, and D. Berckmans. 2007. Evaluation of control strategies for fogging systems in pig facilities. *Trans. ASABE.* 50: 265- 274.
- Hao, Y., Y. Feng, P. Yang, J. Feng, H. Lin, and X. Gu. 2014. Nutritional and physiological responses of finishing pigs exposed to a permanent heat exposure during three weeks. *Arch. Anim. Nutr.* 68: 296-308.
- Hörtenhuber, S. J., G. Schauburger, C. Mikovits, M. Schönhart, J. Baumgartner, K. Niebuhr, and W. Zollitsch. 2020. The effect of climate change-induced temperature increase on performance and environmental impact of intensive pig production systems. *Sustainability* 12: 9442.
- Ingram, D. L. and A. Ślebodziński. 1965. Oxygen consumption and thyroid gland activity during adaptation to high ambient temperatures in young pigs. *Res. Vet. Sci.* 6: 522-530.
- Kataria, N., A. Joshi, N. Mohammed, and A. K. Kataria. 2014. Interrelation of aldosterone with oxidative stress and electrolytes in hot climate in pigs from arid tracts. *Porcine Res.* 4: 7-14.
- Macari, M., S. M. Zuim, E. R. Secato, and J. Guerreiro. 1986. Effects of ambient temperature and thyroid hormones on food intake by pigs. *Physiol. Behav.* 36: 1035-1039.
- McGlone, J. J. 1999. Managing heat stress in the outdoor pig breeding herd. In a Symposium on Outdoor Pig Production, Brazil.
- Mellado, M., L. Gaytán, U. Macías-Cruz, L. Avendaño, C. Meza-Herrera, E. A. Lozano, Á. Rodríguez, and J. Mellado. 2018. Effect of climate and insemination technique on reproductive performance of gilts and sows in a subtropical zone of Mexico. *Austral J. Vet. Sci.* 50: 27-34.
- Mendoza, S. M., R. D. Boyd, P. R. Ferket, and E. V. Heugten. 2017. Effects of dietary supplementation of the osmolyte betaine on growing pig performance and serological and hematological indices during thermoneutral and heat-stressed conditions. *J. Anim. Sci.* 95: 5040-5053.
- Mirkena, T., G. Duguma, A. Haile, M. Tibbo, A. M. Okeyo, M. Wurzinger, and J. Sölkner. 2010. Genetics of adaptation in domestic farm animals: A review. *Livest. Sci.* 132: 1-12.
- Mmereole, F. U. C. 2008. The effects of replacing groundnut cake with rubber seed meal on the haematological and serological indices of broilers. *Int. J. Poult. Sci.* 7: 622-624.
- Morrow-Tesch, J. L., J. J. McGlone, and J. L. Salak-Johnson. 1994. Heat and social stress effects on pig immune measures. *J. Anim. Sci.* 72: 2599-2609.
- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera, M. S. Ranieri, and U. Bernabucci. 2010. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest. Sci.* 130: 57-69.
- National Oceanic and Atmospheric Administration. 1976. Livestock hot weather stress. Regional Operations Manual Letter C-31-76. US Dep. Commerce, Natl. Oceanic and Atmospheric Admin. Natl. Weather Service Central Region, Kansas

City, Missouri, USA.

- Ortega, A. D. S. V., L. Babinszky, O. H. Oriedo, B. Csernus, X. E. Ozsváth, L. Czeglédi, and C. Szabó. 2023. Impact of heat stress length and dietary antioxidant supplementation on the nutrient digestibility, metabolism and immune response of fattening pigs. *Ann. Agric. Sci.* 68: 87-96.
- Podder, M., S. Bera, S. Naskar, D. Sahu, J. Mukherjee, and A. K. Patra. 2022. Physiological, blood-biochemical and behavioural changes of Ghongroo pigs in seasonal heat stress of a hot-humid tropical environment. *Int. J. Biometeorol.* 66: 1349-1364.
- SAS Institute. 2014. SAS User's Guide: Statistics, Version 13.2 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC. USA.
- Sejian, V., A. K. Singh, A. Sahoo, and S. M. K. Naqvi. 2014. Effect of mineral mixture and antioxidant supplementation on growth, reproductive performance and adaptive capability of m alpura ewes subjected to heat stress. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98: 72-83.
- Singhal, S. S., R. Maan, S. Pareek, B. S. Saini, M. Saini and N. Kataria. 2019. Variations in erythrocytic antioxidants in indigenous pig from arid tracts during hot and cold ambiences. *Vet. Pract.* 20: 18-20.
- Sutherland, M. A., S. R. Niekamp, S. L. Rodriguez-Zas, and J. L. Salak-Johnson. 2006. Impacts of chronic stress and social status on various physiological and performance measures in pigs of different breeds. *J. Anim. Sci.* 84: 588-596.
- Wegner, K., C. Lambertz, G. Daş, G. Reiner, and M. Gaulty. 2014. Climatic effects on sow fertility and piglet survival under influence of a moderate climate. *Animals* 8: 1526-1533.
- Wegner, K., C. Lambertz, G. Das, G. Reiner, and M. Gaulty. 2016. Effects of temperature and temperature-humidity index on the reproductive performance of sows during summer months under a temperate climate. *J. Anim. Sci.* 87: 1334-1339.
- Yu, J., P. Yin, F. Liu, G. Cheng, K. Guo, A. Lu, and J. Xu .2010. Effect of heat stress on the porcine small intestine: a morphological and gene expression study. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 156: 119-128.
- Zheng, Y., T. Xie, S. Li, W. Wang, Y. Wang, Z. Cao, and H. Yang. 2022. Effects of selenium as a dietary source on performance, inflammation, cell damage, and reproduction of livestock induced by heat stress: A review. *Front. Immunol.* 12: 820-853.

Investigation of changes in rectal temperature, respiratory rate, and blood physiological and biochemical values of Lanyu pigs under cool and hot seasonal environmental conditions ⁽¹⁾

Shih-Hsin Lee ⁽²⁾⁽³⁾ Sheng-Yang Wu ⁽²⁾ Han-Sheng Wang ⁽²⁾ Yi-Long Chen ⁽²⁾
Yu-Ling Wang ⁽²⁾ and Chia-Chieh Chang ⁽²⁾

Received: Sep. 19, 2024; Accepted: Apr. 22, 2025

Abstract

This study aimed to investigate changes in rectal temperature, respiratory rate, and blood physiological and biochemical values of Lanyu pigs reared under cool and hot seasonal conditions. By measuring these parameters, the impact of seasonal variations on the physiological state of Lanyu pigs can provide a basis for developing appropriate management strategies. The experiment involved 10 pigs of 3 and 6 months of age, with an equal number of males and females in each season. Physiological data were collected during the morning and afternoon, and blood samples were taken for physiological and biochemical analysis. The results showed that during the hot season, a significant increase in rectal temperature was observed only in 3-month-old Lanyu pigs in the morning ($P < 0.05$), with no significant differences in 6-month-old pigs. Additionally, respiratory rates in both age groups significantly increased in the hot season compared to the cool season, across different times of day ($P < 0.05$). The study also found significant seasonal differences ($P < 0.05$) in 13 blood biochemical parameters, including thyroxine (T4), immunoglobulin G (IgG), cortisol, white blood cells (WBC), glucose (GLU), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRE), total protein (TP), globulin (GLO), albumin/globulin ratio (A/G), gamma-glutamyl transferase (GGT), creatine phosphokinase (CPK), and lactate dehydrogenase (LDH), across both age groups. The results of this study offer valuable insights into the physiological responses of Lanyu pigs to seasonal variations, facilitating the development of optimized management strategies to mitigate climate impacts. This will improve both the health and productivity of Lanyu pigs, advancing scientific livestock management practices.

Key words: Lanyu pig, Cool season, Hot season, Physiological values.

(1) Contribution No. 2823 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

不同堆肥化日數之雞糞可見近紅外光光譜特徵 與腐熟度相關性評估⁽¹⁾

吳卓穎⁽²⁾⁽³⁾ 吳柏輝⁽²⁾ 李欣蓉⁽⁴⁾ 許正一⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：113 年 11 月 13 日；接受日期：114 年 4 月 23 日

摘 要

堆肥化可使雞糞之含水量、氨氣濃度與碳氮比降低，進而減少生雞糞施用所引發的農作物危害，及環境品質和公共衛生疑慮。然而，堆肥腐熟度評估需依靠多項實驗室分析數據，不利於提供快速且客觀的雞糞腐熟度判定。相較之下，可見—近紅外光譜 (visible and near infrared spectroscopy, vis-NIR) 法可透過量測官能基之分子振動，即刻反映雞糞的物化性質，因而被視為具有發展潛力的腐熟度鑑定工具。有鑒於此，本研究收集來自五個雞糞堆肥場，涵蓋生雞糞、不同堆置天數之雞糞及粒肥等樣品，並量測其 vis-NIR 光譜及堆肥品質參數 (含水量、氨氣濃度、pH 值、電導度、總有機碳含量及總氮含量)，以釐清光譜特徵及堆肥性質之關聯。相關性分析與主成分分析結果皆顯示，代表水分子 (1,450 及 1,900 nm)、胺類化合物 (1,450 及 1,930 nm) 及有機質 (1,170、1,780 及 2,275 nm) 的波長反射率除了與含水量及氨氣濃度呈顯著負相關 ($P < 0.01$)，亦可有效劃分不同腐熟度的雞糞樣品。相對於依賴濕化學分析及雞糞堆肥場自主紀錄的堆肥性質，本研究證實 vis-NIR 光譜法可提供客觀的腐熟度評估依據。未來可望藉由結合本研究篩選的 vis-NIR 光譜波長與機器學習演算法，開發雞糞腐熟度鑑定技術，有益於其源頭管理及畜牧業永續發展。

關鍵詞：雞糞、堆肥化、腐熟度、近端感測。

緒 言

將未腐熟的生雞糞作為肥料，除了肥效高之外，還兼備取得容易及價格便宜的優點。然而，生雞糞所含有的病原體及異味與容易形成還原環境而導致作物根部缺氧的問題導致田間施用生雞糞存在農作物損害、土壤及水污染，並有公共衛生的疑慮 (Huang *et al.*, 2017)。堆肥化是一個由微生物作用所促進的高溫氧化過程。此過程涉及有機質的礦化及部分的腐質化，從而提高腐熟雞糞中有機質的穩定性提高，且導致二氧化碳及含氮氣體揮發。此外，堆肥化作用亦可使雞糞之水分含量的下降，因而可大幅降低作物病蟲害發生及人類病媒蚊孳生的機率，同時減少了雞糞儲存與清運之重量與體積 (Ashworth *et al.*, 2020)。因此，堆肥化處理被視為生雞糞管理及資源化的必要策略之一 (Azim *et al.*, 2018)。除了堆肥化處理之外，生雞糞添加廢菇包與米糠後，以 70°C 以上高溫持續乾燥 30 分鐘，以達殺滅病原之目的，再輔以壓實造粒，例如我國雞糞加工肥料 (品目編號 5-08) 亦為達到上述生雞糞管理的管道之一。

雞糞的腐熟度為涵蓋物理、化學及生物性質之綜合表現，其評量標準包含氣味、顏色、水分含量、醱酵溫度、pH、碳氮比、電導度 (electrical conductivity, EC) 及種子發芽率等 (Wu *et al.*, 2000; Bernal *et al.*, 2009)。然而，化學及生物性質仰賴實驗室分析，堆置時間、醱酵溫度及水分則依靠堆肥場自行檢核與執法人員查驗，皆不利於提供即時且客觀的雞糞腐熟度鑑定結果，進而輔導堆肥場妥善清運及農民正確使用雞糞。相較之下，可見—近紅外光譜法 (visible and near infrared spectroscopy, vis-NIR) 透過測量可見光波段 (350 – 700 nm) 及近紅外光波段 (700 – 2,500 nm)，由堆肥中不同組成份官能基的 O-H、C-H、C=O 及 N-H 等分子振動所產生的能階躍遷 (energy level transition)

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2824 號。
(2) 國立臺灣大學農業化學系。
(3) 東海大學環境科學與工程學系。
(4) 農業部畜產試驗所飼料作物組。
(5) 通訊作者，E-mail: zyhseu@ntu.edu.tw。

之能量差，在僅需要少量樣品前處理的情況下（例如，攪拌混勻），可於稽查現場進行量測，並準確反映前述評估堆肥品質的各項參數變化，為腐熟度的判斷提供具有發展潛力之整合性乾化學量測方案 (Cruz-Conesa *et al.*, 2022)。Ueno *et al.* (2008) 發現牛糞的堆置天數在 2,303 nm 的特徵峰吸收率呈現顯著 ($r = -0.79$; $P < 0.01$) 的負相關；Vergnoux *et al.* (2009) 研究顯示，工業廢水污泥堆肥隨著堆置時間的增加，其水分含量與代表水分子特徵峰的 1,450 nm 及 1,900 nm 之吸收率，皆隨著堆置時間的增加而逐漸下降；Rueda *et al.* (2023) 指出相對於未經堆置的橄欖油渣，半腐熟與完成腐熟堆肥的脂肪族化合物位於 2,200 nm 的特徵峰吸收率由 2.0 下降至 0.4 – 0.8，對應隨著堆肥腐熟度提高，脂肪族化合物會被微生物分解為二氧化碳及水分。上述的研究均顯示，vis-NIR 光譜數據可於堆肥化過程中反映有機物及水分之變化之事實。

快速、操作容易且客觀的雞糞腐熟度判定標準及檢測技術，是農業部「加強推廣禽畜糞肥料」和「輔導農民正確使用腐熟雞糞肥料」政策方向，及達到畜牧業的永續發展與促進循環經濟的重要關鍵。因此，本研究收集臺灣不同堆肥場之不同處理樣態雞糞樣品的堆肥品質參數及 vis-NIR 光譜資料，旨在：(1) 建立在地化不同腐熟度雞糞 vis-NIR 光譜資料庫；(2) 釐清堆肥物理及化學性質和光譜特徵之關聯；(3) 篩選可用於開發雞糞腐熟度快篩方法的特定波段。

材料與方法

I. 樣品收集及前處理

本研究收集來自臺灣五個雞糞堆肥場 (A、B、C、D 及 E 雞糞堆肥場) 共 51 個雞糞樣品，其中包含生雞糞 ($n = 4$)、添加調整材的不同堆肥化天數雞糞 ($n = 42$) 及乾燥雞糞肥料樣品 ($n = 5$)。所有樣品除了生雞糞 ($n = 4$) 之外，皆含有 60% 純雞糞及 40% 廢菇包、稻殼或麩皮等混合料源之調整材。所收集之雞糞樣品，皆經風乾、磨碎及利用篩目為 0.425 mm 之篩網過篩的前處理，以備實驗室性質分析。

II. 樣品性質分析

雞糞之水分含量及氨氣濃度皆於樣品未經前處理之時進行檢測。水分含量以水分儀 (M-700S, RiXEN, New Taipei City, Taiwan) 之探針 (15 cm) 完全沒入雞糞樣品量測；氨氣濃度以 1 L 塑膠封口袋盛裝 200 g 雞糞樣品，靜置 30 分鐘後，以氨氣檢測儀 (AR8500, Smart Sensor, Guangdong Province, China) 量測。儀器量測所得之單位為體積濃度 (ppm)，根據以下計算式轉換為質量濃度 (mg/m^3)：

$$\text{質量濃度} (\text{mg}/\text{m}^3) = \text{體積濃度} (\text{ppm}) \times \frac{\text{氨氣分子量}}{(\text{室溫} \times \text{理想氣體定律常數})} \quad (\text{式一})$$

氨氣分子量：17 g/mole

室溫：假定為 25°C，298.15 K

1 atm 下理想氣體定率常數：0.082

樣品之 pH 值及 EC 值分別參考農業部農糧署 (2020) 公告之肥料檢驗方法—AFS2904-1 與 AFS2905-1，以粉碎後樣品 (粒徑 < 0.45 mm) 和去離子水以 1:10 (w/v) 比例混合，配合玻璃電極及電導度計分別測量。總氮 (total nitrogen, TN) 含量參考農業部農糧署公告之肥料檢驗方法—AFS1110-1，以水楊酸—硫代硫酸鈉分解，再以凱氏定氮法 (Kjeldahl method) 定量 (農業部農糧署，2020)。總有機碳 (total organic carbon, TOC) 含量參考國際標準化組織公告方法—ISO 10694:1995，以總碳分析儀 (multi N/C 2100S, Analytik Jena, Jena, Germany) 定量 (International Organization for Standardization, 1995)。上述性質根據農業部農糧署公告之「肥料種類品目及規格部分規定修正規定」，每十個樣品進行一次重複性實驗，相對誤差皆小於 10% (農業部農糧署，2020)。

III. vis-NIR 光譜數據收集及前處理

未經風乾及研磨之雞糞樣品先於樣品袋中混合，再盛滿直徑 9.5 cm，厚度 2 cm 之玻璃培養皿，以確保樣品厚度均一，再以 NaturaSpec™ Portable Spectroradiometer (Spectral Evolution, MA, USA) 內建鎢鹵素光源 (tungsten halogen light source) 之接觸探針 (contact probe) 直接貼合樣品表面，收集其 350 – 2,500 nm 的反射光譜資料。此外，考量未經前處理之新鮮雞糞樣品的不均質性，所有樣品皆經三點 120° 之三重覆 vis-NIR 全波段光譜資料測定。

本研究所使用的光譜儀於 350 – 1,000 nm (vis-NIR 波段) 使用矽光二極體陣列 (silicon photodiode array) 為

偵測器，於 1,000 – 2,500 nm (NIR 波段) 使用則砷化銦鎵二極體 (InGaAs photodiode) 為偵測器。光譜之偵測解析度於 350 – 700 nm、701 – 1,500 nm 及 1,501 – 2,100 nm 分別為 2.7、5.5 及 5.8 nm，而最終輸出的光譜解析度則為 1 nm。此外，於樣品分析前，利用白色標準板 (NaturaSpec™ White Reflectance Plate P/N STDWP-0505, Spectral Evolution, MA, USA) 進行空白校正，且每測量 20 個樣品即重新進行空白校正，其校正的反射率差異皆小於 2%。

所有雞糞樣品之光譜數據皆以 R studio version 4.1.0 中 ‘prospectr’ 所包含的函數，根據下列步驟進行前處理，以凸顯光譜特徵 (R Core Team, 2024)：(1) 三重複光譜反射率取平均值；(2) 修剪光譜邊界，僅保留 404 – 2,451 nm 波長範圍，以消除邊緣效應 (edge effect)；(3) 標準常態變數轉換 (standard normal variate transformation, SNV)，以校正光散射。

IV. 統計分析

以皮爾森相關係數分析 (Pearson’s correlation coefficient) 檢定雞糞的物化性質及經 SNV 處理後的波長反射率之間的線性關係，其顯著水準表達方式如下：* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 及 *** $P < 0.001$ 。此外，為了建立雞糞物化性質與 vis-NIR 特徵光譜反射率之關聯，因此在沒有相關前人文獻供查找之前提下，以無需額外解釋變數之主成分分析 (principal component analysis, PCA) 量化上述變異數間的交互關係，及其與雞糞樣品腐熟度之關聯。以上統計分析皆利用 R studio version 4.1.0 進行 (R Core Team, 2024)。

結果與討論

I. 雞糞樣品物理化學性質

本研究收集堆肥化處理 0 – 88 天不等的雞糞與雞糞粒肥樣品，其中水分含量及氨氣濃度以溼基 (wet matter basis) 測定，而 pH、EC 值、TOC 含量及 TN 含量則以乾基 (dry matter basis) 分析 (表 1)。所有樣品之水分含量介於 12.9 – 46.7%，而氨氣濃度則介於 1.46 – 69.4 mg/m³。來自不同堆肥場之樣品的水分及氨氣濃度，隨著堆置天數增加而下降，顯示堆肥腐熟度的提高，使雞糞逐漸乾燥且氨氣逐漸揮發 (Bernal *et al.*, 2009)。此外，雞糞樣品 pH 值涵蓋酸性至鹼性 (pH 5.1 – 9.5)，且隨著堆置天數增加，堆肥 pH 值皆出現先下降後上升的趨勢 (表 1)。上述 pH 值的變化，推測是由於雞糞於堆肥化初期，有機質被分解釋出有機酸，導致酸性增強，而後，由於易分解的有機質被微生物消耗和含氮化合物的礦化，使 pH 值逐漸上升，且受到腐植質所提供的緩衝作用影響，雞糞的 pH 值變化趨於穩定 (Azim *et al.*, 2018；表 1)。另一方面，樣品的 EC 值、TOC 含量和 TN 含量範圍，分別介於 2.6 – 15.6 dS/m、16.4 – 94.9% 和 1.03 – 8.22% (表 1)。相對於水分含量、氨氣濃度及 pH 值，雞糞受到起始組成成分與堆肥化條件所影響，因此，相同堆肥場樣品之 EC 值、TOC 含量和 TN 含量出現高度同質性。此外，縱使上述測值與堆置天數呈現不規則變化，B-1-6、C-1-6、C-2-6、C-3-9、D-2-5 及 D-3-7 等各堆肥場堆置天數最長的雞糞和 A-1-5 雞糞粒肥之 C/N 比 (C/N ratio) 為 6 – 16 (表 1)，符合多數研究所支持的穩定且完全腐熟之堆肥 C/N < 20 標準 (Bernal *et al.*, 2009; Antil *et al.*, 2014; Azim *et al.*, 2018)。

表 1. 雞糞樣品之堆置時間及物化性質 (n = 51)

Table 1. Composting time and physiochemical properties of chicken manure samples (n = 51)

Sample	Composting time	Moisture ^a	NH ₃ ^a	pH ^b	EC ^{bc}	TOC ^{bd}	TN ^{be}	C/N ^{bf}
	Day	%	mg/m ³		dS/m	%	%	
A-1-1	0	45.1	13.9	9.2	3.63	27.2	3.83	7.1
A-1-2	1	44.6	18.5	9.3	5.38	26.9	4.24	6.3
A-1-3	2	15.4	8.5	9.1	4.60	30.3	3.85	7.9
A-1-4	High temperature drying preprocessed	14.4	14.8	8.9	5.23	33.3	4.92	6.8
A-1-5	Granulated manure product	12.9	1.5	8.1	5.13	26.1	4.34	6.0
B-1-1	0	46.7	69.4	8.8	7.20	22.7	2.21	10.3
B-1-2	10	43.3	16.6	8.8	5.66	41.3	1.72	24.0
B-1-3	20	45.8	14.7	7.6	7.93	27.9	1.58	17.7
B-1-4	30	44.2	51.6	7.9	7.27	27.1	1.67	16.2
B-1-5	40	41.1	16.4	8.4	7.02	23.8	1.86	12.8

表 1. 雞糞樣品之堆置時間及物化性質 (n = 51) (續)

Table 1. Composting time and physiochemical properties of chicken manure samples (n = 51) (continued)

Sample	Composting time	Moisture ^a	NH ₃ ^a	pH ^b	EC ^{bc}	TOC ^{bd}	TN ^{be}	C/N ^{bf}
	Day	%	mg/m ³		dS/m	%	%	
B-1-6	High temperature drying preprocessed	45.2	3.9	8.0	4.92	35.2	2.62	13.4
C-1-1	3	45.7	4.7	6.4	10.97	37.5	5.78	6.5
C-1-2	7	40.5	2.4	6.3	11.97	32.1	5.92	5.4
C-1-3	14	35.1	2.4	6.5	12.43	30.2	6.35	4.8
C-1-4	21	37.6	4.2	6.3	14.26	31.3	5.83	5.4
C-1-5	28	41.2	2.4	5.4	12.34	38.7	5.12	7.6
C-1-6	> 28	32.5	2.4	5.2	13.68	36.5	5.01	7.3
C-2-1	9	43.1	4.2	6.5	13.73	32.8	3.77	8.7
C-2-2	17	34.2	2.8	6.1	13.87	35.0	4.07	8.6
C-2-3	34	46.3	3.0	6.0	15.56	34.4	4.04	8.5
C-2-4	48	44.2	1.7	5.1	13.68	41.6	2.77	15.0
C-2-5	60	43.7	2.6	5.2	15.30	32.6	5.33	6.1
C-2-6	> 60	40.4	3.3	5.6	13.93	94.9	8.22	11.5
C-3-1	0	41.8	5.9	6.9	7.93	34.6	6.96	5.0
C-3-2	14	33.5	5.0	6.7	9.42	36.1	6.14	5.9
C-3-3	28	38.3	6.0	6.7	9.00	33.5	5.45	6.2
C-3-4	40	45.2	9.5	6.5	12.64	32.1	3.47	9.3
C-3-5	52	45.3	9.1	6.3	14.04	32.7	3.36	9.7
C-3-6	64	44.1	35.2	7.5	12.51	30.9	5.61	5.5
C-3-7	76	43.7	45.2	7.7	13.12	30.4	2.72	11.2
C-3-8	88	41.6	37.1	7.6	10.58	31.1	2.45	12.7
C-3-9	> 88	16.5	10.1	6.3	14.03	28.0	2.99	9.4
D-1-1*	1	43.8	4.3	6.6	2.55	36.6	1.03	35.5
D-2-1	7	46.0	69.4	7.8	7.65	29.1	2.22	13.1
D-2-2	11	45.9	69.4	7.5	7.79	25.9	2.44	10.6
D-2-3	20	43.7	69.4	8.0	7.55	27.6	2.35	11.7
D-2-4	27	40.6	15.9	7.8	7.09	24.7	2.66	9.3
D-2-5	> 27	43.8	13.1	9.5	3.81	28.3	1.73	16.3
D-3-1	3	46.2	69.4	7.8	6.35	34.1	3.58	9.5
D-3-2	8	45.2	69.4	8.1	6.48	31.3	2.68	11.7
D-3-3	15	45.7	69.4	8.2	6.38	38.7	3.75	10.3
D-3-4	22	45.1	69.4	8.3	4.00	16.4	2.94	5.6
D-3-5	29	45.8	69.4	8.9	4.55	32.7	2.44	13.4
D-3-6	36	45.9	69.4	9.3	6.19	22.6	1.78	12.7
D-3-7	> 36	44.8	11.2	8.0	7.72	21.8	1.54	14.2
E-1-1	0	44.3	2.4	7.1	4.81	32.6	3.26	10.0
E-1-2	7	44.5	6.0	6.9	6.06	31.2	4.08	7.6
E-1-3	14	43.0	2.4	7.1	6.58	31.4	2.84	11.1
E-1-4	21	44.3	1.7	6.5	5.57	44.0	3.80	11.6
E-1-5	28	43.9	3.2	6.6	6.54	32.4	3.64	8.9
E-1-6	35	41.9	1.5	6.9	6.15	37.8	3.88	9.7

* Mixed with rice husk.

^a wet matter basis.^b dry matter basis.^c electrical conductivity.^d total organic carbon.^e total nitrogen.^f total organic carbon/ total nitrogen.

II. 雞糞之 vis-NIR 光譜特徵

雞糞之 vis-NIR 光譜以經 SNV 前處理的反射率呈現於圖 1，初步利用 SNV 處理後訊號強弱判定特徵峰，且根據不同波長的特徵峰所對應之官能基，可分為下列三組：(1) 1,170 nm、1,780 nm 及 2,275 nm；(2) 1,450 nm 及 1,900 nm；(3) 1,450 nm 及 1,930 nm。第一組 1,170 nm 及 1,780 nm 處所出現的波峰，分別來自烷基本 C-H 的第二及第一倍頻 (overtone)，而 2,275 nm 則為脂肪族化合物 C-H 第一倍頻的特徵峰，三個波長皆對應雞糞中結構單純的有機質 (Weyer, 1985; Viscarra Rossel and Behrens, 2010)。第二組位於 1,450 nm 的特徵峰由水分子中的 O-H 第一倍頻所貢獻，1,900 nm 的波峰來自水分子 O-H 伸縮 (stretching) 與 H-O-H 彎曲 (bending) 的合頻 (combination)，此兩波長處明顯的吸收峰，意味著堆肥樣品中普遍大於 40% 的含水量 (表 1；圖 1；Vergnoux *et al.*, 2009)。第三組之波長與第二組相近，不過，環狀胺類化合物的第一倍頻同樣位於 1,450 nm，而在 1,930 nm 觀察到的微弱波峰則為胺類化合物 N-H 伸縮與 H-N-H 彎曲的合頻 (Weyer, 1985)，顯示樣品中含氮化合物的存在。

本研究所收集的雞糞樣品之特徵吸收峰皆來自 NIR 區段，其所代表的官能基能準確對應影響腐熟度的堆肥性質，例如，水分、氨氣濃度、TOC 含量與 TN 含量 (圖 1)。然而，NIR 區段主要由重疊嚴重的弱吸收峰所組成 (Workman and Weyer, 2012)，容易出現前述水分子與含氮化合物之倍頻和合頻波長相同或相近的情況。換言之，僅憑肉眼不易識別雞糞的特色光譜指紋，進而判斷其組成分及腐熟度差異。有鑑於此，本研究以統計工具，輔助解釋 vis-NIR 光譜對於堆肥樣品的定性結果，以進一步釐清不同特定光譜波長於雞糞腐熟度鑑定的實用性。

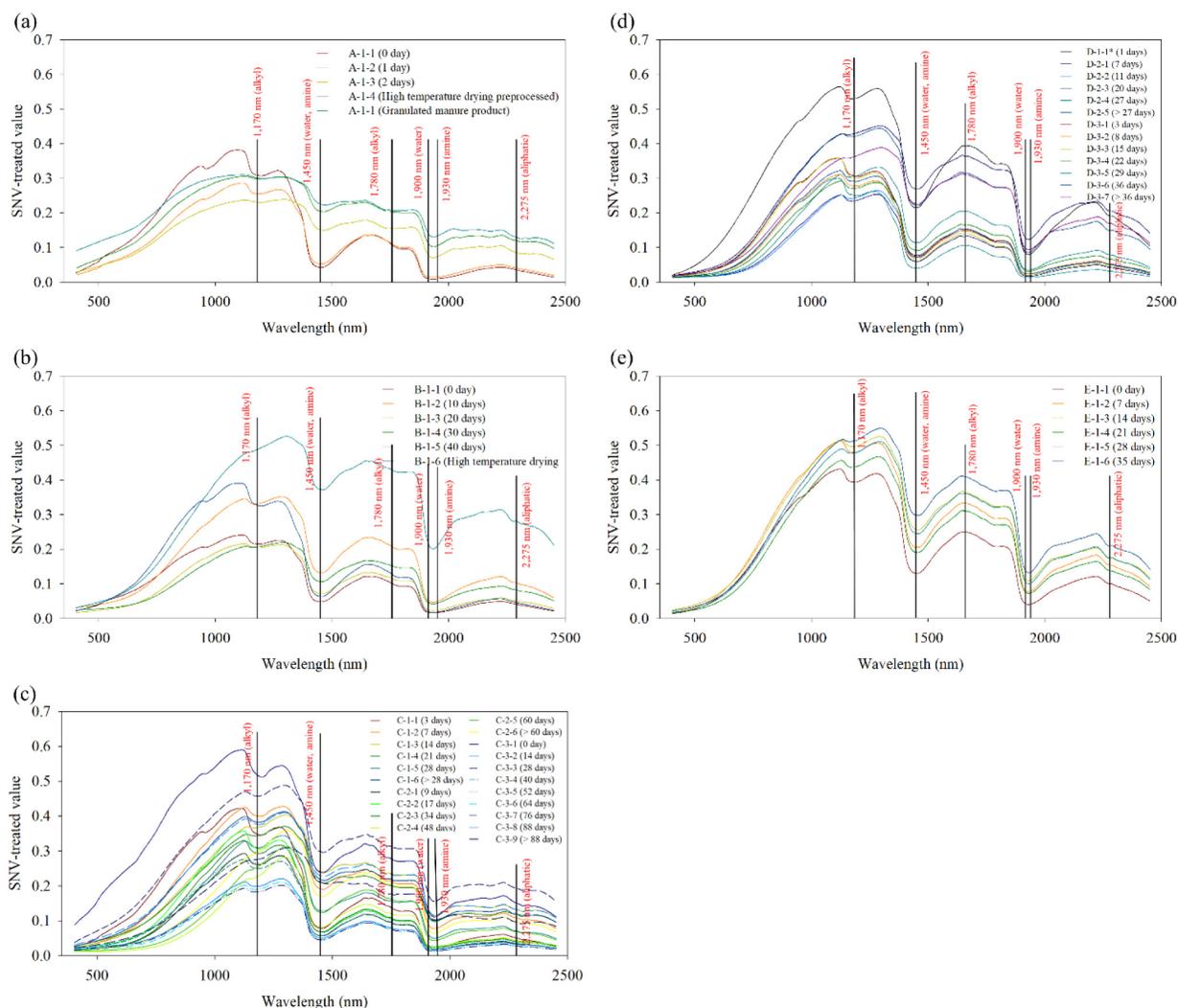


圖 1. 雞糞樣品經標準常態變數轉換之 vis-NIR 光譜 (a) A 堆肥場；(b) B 堆肥場；(c) C 堆肥場；(d) D 堆肥場；(e) E 堆肥場。

Fig. 1. Vis-NIR spectra of chicken manure composts after standard normal variate transformation (a) A poultry farm; (b) B poultry farm; (c) C poultry farm; (d) D poultry farm; (e) E poultry farm.

III. 雞糞 vis-NIR 波長與物化性質之關係

皮爾森相關係數分析結果顯示，氨氣濃度隨著水分含量上升而增強 (表 2)，凸顯在農田施用未經妥善堆置腐熟的生雞糞，恐帶來的惡臭逸散隱憂 (Huang *et al.*, 2017)。另一方面，氨氣濃度與 pH 呈顯著正相關 ($r = 0.53$, $P < 0.001$)，與 TOC 和 TN 則呈現顯著負相關 ($P < 0.05$)。此結果是由於生雞糞所含的氨，在堆肥化初期會逐漸揮發，同時有機質分解產生的二氧化碳及有機酸使 pH 降低，而二氧化碳的揮發使 TOC 降低；然而，隨後礦化作用所產生的銨離子 / 氨使 pH 上升，同時造成氨氣濃度增強，TN 亦因為氨的揮發而降低 (Azim *et al.*, 2018)。

表 2. 雞糞之物化性質及經 SNV 前處理後之特定波長反射率的皮爾森相關係數 (r) ($n = 51$)

Table 2. Pearson's correlation coefficient (r) for selected chicken manure properties and the reflectance after SNV preprocess of selected wavelengths ($n = 51$)

	Moisture ^a	NH ₃ ^a	pH ^b	EC ^{bc}	TOC ^{bd}	TN ^{bc}	1,170 nm	1,450 nm	1,780 nm	1,900 nm	1,930 nm	2,275 nm
Moisture ^a												
NH ₃ ^a	0.32*											
pH ^b	-0.01	0.53***										
EC ^{bc}	-0.04	-0.30*	-0.74***									
TOC ^{bd}	0.01	-0.30*	-0.44**	0.28*								
TN ^{bc}	-0.27	-0.43**	-0.49***	0.46***	0.51***							
1,170 nm	0.02	-0.46***	-0.17	-0.30*	0.07	0.15						
1,450 nm	-0.37**	-0.50***	-0.15	-0.14	0.05	0.20	0.79***					
1,780 nm	-0.15	-0.45***	-0.09	-0.30*	0.05	0.04	0.89***	0.95***				
1,900 nm	-0.44**	-0.48***	-0.12	-0.12	0.02	0.22	0.74***	0.99***	0.91***			
1,930 nm	-0.46***	-0.47***	-0.11	-0.11	0.01	0.22	0.71***	0.98***	0.88***	1.00***		
2,275 nm	-0.21	-0.43**	-0.03	-0.30*	0.00	0.03	0.84***	0.97***	0.99***	0.94***	0.93***	

^a wet matter basis.

^b dry matter basis.

^c electrical conductivity.

^d total organic carbon.

^e total nitrogen.

由於本研究的 vis-NIR 光譜資料以不同波長的反射率呈現，因此，可觀察到代表水分子的 1,900 nm、代表胺類化合物的 1,930 nm，以及同時由上述兩種組成分所貢獻的 1,450 nm 波長反射率與雞糞的水分含量和氨氣濃度呈顯著負相關 ($P < 0.01$; 表 2)。此統計結果呼應先前所描述之堆肥品質參數間的關聯，意即堆肥化過程除了使雞糞水分含量降低，礦化作用所引起的部分氨氣揮發，會導致臭味增強。另一方面，儘管來自有機質的 1,170、1,780 及 2,275 nm 反射率未與 TOC 呈顯著相關，其反射率皆隨著氨氣臭味增加而下降 (表 2)，意味著生雞糞及堆肥化天數較短者氨氣濃度較高，較易分解的有機質尚未因為腐植化作用而分解，並生成具有高度穩定性的腐植質 (Antil *et al.*, 2014)。

IV. 雞糞之 vis-NIR 波長與腐熟度之關聯

腐熟度是判斷雞糞的醱酵程度，以評估其是否適合施用於農田的綜合性指標 (Wu *et al.*, 2000)。因此，本研究利用 PCA 量化堆肥品質參數與 vis-NIR 波長間的交互關係，並將上述變數在特徵值 (eigenvalue) 大於 1 的三個主成分中的負荷量 (loading) 列於表 3。

PC1 可解釋 50.06% 的變異量，而含水量、氨氣濃度與象徵水分子、胺類化合物及有機質的 vis-NIR 波長反射率除了在此主成分中具有較強的負荷量之外，水分與氨氣濃度及反射率分別具有負及正特徵向量 (eigenvector; 圖 2)，再次證明 vis-NIR 波長可反映雞糞性質變化。另一方面，PC2 可解釋 23.02% 的變異量，其中，pH 值的負荷量為正值，而 EC 值、TOC 含量及 TN 含量則為負值，此四項堆肥品質參數正負相反的特徵向量呼應相關性分析所得到的顯著負相關 ($P < 0.01$; 表 2)。

表 3. 雞糞之物化性質及經標準常態變數轉換後之特定波長反射率的 PCA 結果 (n = 51)

Table 3. Results of PCA for selected chicken manure properties and the reflectance after standard normal variate transformation of selected wavelengths (n = 51)

	PC1	PC2	PC3
Moisture ^a	-0.15	0.08	-0.80
NH ₃ ^a	-0.24	0.31	-0.01
pH ^b	-0.08	0.50	0.22
EC ^{bc}	-0.06	-0.51	0.06
TOC ^{bd}	0.04	-0.38	-0.25
TN ^{be}	0.10	-0.45	0.13
1,170 nm	0.35	0.07	-0.36
1,450 nm	0.40	0.03	0.04
1,780 nm	0.39	0.12	-0.19
1,900 nm	0.40	0.03	0.13
1,930 nm	0.39	0.03	0.16
2,275 nm	0.39	0.13	-0.10
Eigenvalue	6.01	2.76	1.19
% of variation	50.06	23.02	9.92
% of accumulative variation	50.06	73.08	83.00

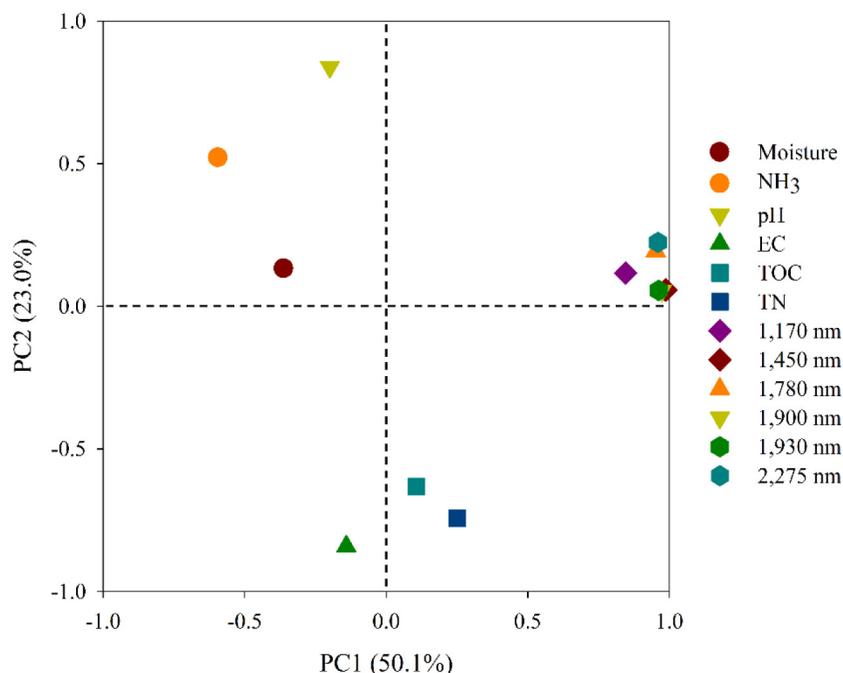
^a wet matter basis.

^b dry matter basis.

^c electrical conductivity.

^d total organic carbon.

^e total nitrogen.

圖 2. PCA 之負荷圖 (n = 51)。NH₃：氨氣濃度；EC：電導度；TOC：總有機碳；TN：總氮含量。Fig. 2. The loading plot of the PCA results (n = 51). NH₃: ammonia concentration; EC: electrical conductivity; TOC: total organic carbon; TN: total nitrogen.

在以 PC1 和 PC2 重新繪製的座標平面中 (圖 3)，A-1-5、B-1-5、C-1-6、C-2-6、C-3-9、D-2-4、D-2-5、D-3-7、E-1-5 及 E-1-6 等堆置天數較長的雞糞樣品和雞糞粒肥集中於第一及第四象限，意味著其具有較高的反射

率 and 較低的水分含量及氨氣濃度 (Ueno *et al.*, 2008; Vergnoux *et al.*, 2009; Rueda *et al.*, 2023)。此外，A、B、D 及 E 等四個堆肥場的堆肥樣品根據其來源分別群聚，且由於樣品具有較高的 pH 值 (pH 6.5 – 9.5)，因而分布於座標平面的第一及第二象限；來自 C 堆肥場的雞糞則是因為 pH 值明顯較低 (pH 5.1 – 7.7)，而集中於第三及第四象限 (表 1；圖 3)。此樣品分群結果，推測是由於 pH 值、EC 值、TOC 含量及 TN 含量隨雞糞堆置天數改變，呈現不規則變化，且容易受到堆肥場各異的雞糞組成份與堆肥化條件所影響 (Antil *et al.*, 2014)，因此在本研究中不易用於區分堆肥之腐熟度。根據 PCA 結果顯示的變數負荷量與樣品分群可歸納得知，PC1 代表雞糞的腐熟度，而 PC2 則顯示堆肥來源 (圖 2、3)，且凸顯 vis-NIR 光譜波長相對於傳統堆肥品質參數，可以有效區分不同腐熟度之雞糞。

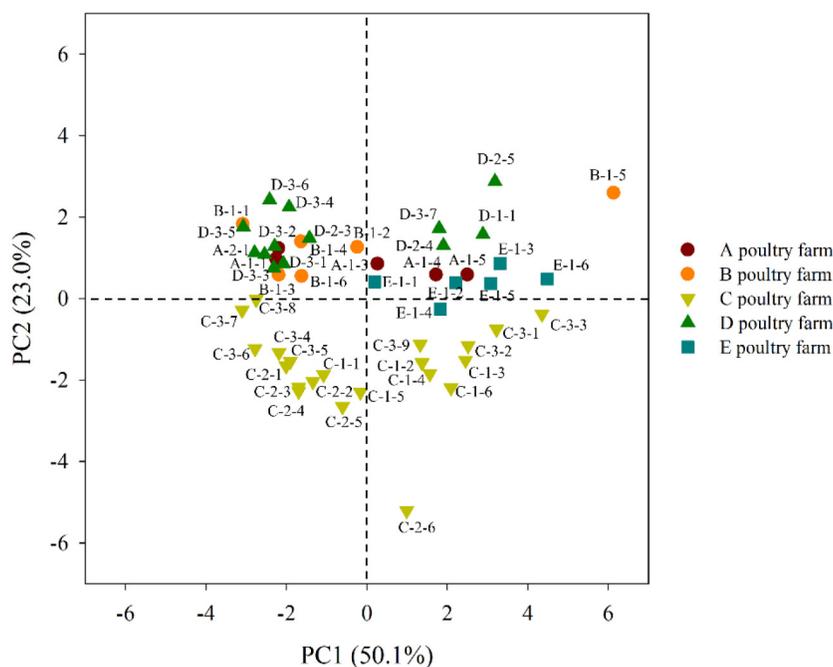


圖 3. 主成分分析之分數圖 (n = 51)。

Fig. 3. The score plot of the PCA results (n = 51).

結 論

堆肥化過程中，雞糞的水分含量、氨氣濃度、pH 值、EC 值、TOC 含量和 TN 含量皆會隨著堆置天數增加而變化。然而，上述堆肥品質參數除了容易受到雞糞來源與堆肥化條件所影響，亦需要依賴實驗室分析才得以判斷雞糞肥的腐熟度。本研究收集不同來源及不同堆肥化天數之雞糞樣品與雞糞粒肥的 vis-NIR 光譜資料，並透過統計工具連結光譜特徵峰與堆肥品質參數，達到堆肥組成定性，且篩選出可用於腐熟度判定的 6 個特徵波長。未來可望以本研究為基礎，並將 vis-NIR 光譜法結合機器學習演算法，針對雞糞的物化性質個別建立數值預測模型，再根據雞糞樣品之不同堆置天數，利用上述性質的模型推估值，建立雞糞腐熟程度的綜合判定指標分數。利用 vis-NIR 光譜儀單一樣品檢驗時間僅需 3 秒鐘，再精進後可應用於堆肥廠稽查，以發展快速的雞糞腐熟度 vis-NIR 光譜鑑別技術。

誌 謝

本研究承農業部畜產試驗所計畫 (編號：113 農科 -14.1.2- 畜 -04) 經費補助，特此誌謝。

參考文獻

號公告修正。

- Antil, R. S., D. Raj, N. Abdalla, and K. Inubushi. 2014. Physical, chemical and biological parameters for compost maturity assessment: a review. pp. 83-101. In: *Composting for sustainable agriculture*. Maheshwari, D. K. (ed.) Springer, Berlin, Germany.
- Ashworth, A. J., J. P. Chastain, and P. A. Moore Jr. 2020. Nutrient characteristics of poultry manure and litter. pp. 63-87. In: *Animal manure: production, characteristics, environmental concerns, and management*. Waldrip, H. M. P. H. Z. Pagliari, and Z. He (eds.). Am. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, USA.
- Azim, K., B. Soudi, S. Boukhari, C. Perissol, S. Roussos, and I. Thami Alami. 2018. Composting parameters and compost quality: a literature review. *Org. Agric.* 8: 141-158.
- Bernal, M. P., J. A. Albuquerque, and R. Moral. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresour. Technol.* 100: 5444-5453.
- Cruz-Conesa, A., J. Ferré, A. M. Pérez-Vendrell, M. P. Callao, and I. Ruisánchez. 2022. Use of visible-near infrared spectroscopy to predict nutrient composition of poultry excreta. *Anim. Feed Sci. Technol.* 283: 115169.
- Huang, J., Z. Yu, H. Gao, X. Yan, J. Chang, C. Wang, J. Hu, and L. Zhang. 2017. Chemical structures and characteristics of animal manures and composts during composting and assessment of maturity indices. *PloS One* 12: e0178110.
- International Organization for Standardization. 1995. Soil quality: determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- R Core Team. 2024. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rueda, M. P., F. Comino, V. Aranda, M. J. Ayora-Cañada, and A. Domínguez-Vidal. 2023. Understanding the compositional changes of organic matter in torrefied olive mill pomace compost using infrared spectroscopy and chemometrics. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 293: 122450.
- Ueno, M., E. Taira, Y. Kawamitsu, Y. Komiya, and K. Kikuchi. 2008. Application of FT-NIR spectroscopy to the evaluation of compost quality. *Eng. Agric. Environ. Food.* 1: 51-56.
- Vergnoux, A., M. Guiliano, Y. Le Dréau, J. Kister, N. Dupuy, and P. Doumenq. 2009. Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Sci. Total Environ.* 407: 2390-2403.
- Viscarra-Rossel, R. and T. Behrens. 2010. Using data mining to model and interpret soil diffuse reflectance spectra. *Geoderma* 158: 46-54.
- Weyer, L. G. 1985. Near-infrared spectroscopy of organic substances. *Appl. Spectrosc. Rev.* 21: 1-43.
- Workman, J. and L. Weyer. 2012. *Practical guide and spectral atlas for interpretive near-infrared spectroscopy*. CRC press, Boca Raton, FL, USA.
- Wu, L., L. Q. Ma, and G. A. Martinez. 2000. Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *J. Environ. Qual.* 29: 424-429.

Evaluating the relationships between vis-NIR spectral characteristics and maturity of chicken manure under different composting duration ⁽¹⁾

Cho-Yin Wu ⁽²⁾⁽³⁾ Po-Hui Wu ⁽²⁾ Hsin-Jung Lee ⁽⁴⁾ and Zeng-Yei Hseu ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Nov. 13, 2024; Accepted: Apr. 23, 2025

Abstract

Composting is able to eliminate the potential damage on the crops, the environmental quality, and the public health concern caused by the application of raw chicken manures as fertilizers in fields by reducing their moisture content and ammonia concentration as well as stabilizing their organic matters. However, the maturity assessment relies on multiple physical, chemical, and biological laboratory analyses which are insufficient to provide a rapid and objective evaluation of manure maturity. In comparison, visible and near infrared spectroscopy (vis-NIR) can provide the real-time characterization of chicken manure by measuring the specific molecular vibrations in its functional groups, and is thus regarded as a potential scheme for assessing compost maturity. In terms of that, this study collected the vis-NIR spectra and compost quality parameters from chicken manures with diverse maturities and granular fertilizers from five chicken farms, in order to clarify the relationships between their spectral features and compost properties. Both Pearson's correlation analysis and principal component analysis results indicated that the reflectance from wavelengths representing water (1,450 nm and 1,900 nm), amines (1,450 nm and 1,930 nm), and organic matters (1,170 nm, 1,780 nm, and 2,275 nm) in the manures not only significantly and negatively correlated with their moisture content and ammonia concentration ($P < 0.01$), but efficiently grouped the chicken manures according to their composting days, or says the maturity. This study evidenced that, comparing to the chicken manures properties depending on the wet chemical analyses in the laboratory and self-reporting from chicken farms, vis-NIR spectroscopy could provide reliable evaluation standards for evaluating compost maturity. Additionally, in the future, by applying the wavelength selected by this study in the machine learning algorithm, a maturity screen strategy can be developed for the chicken manure composts, in order to improve their source control and further achieve the sustainability of animal husbandry.

Key words: Chicken manure, Composting, Maturity, Proximal sensing.

(1) Contribution No. 2824 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei 106319, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of Environmental Science and Engineering, Tunghai University, Taichung City 407224, Taiwan, R. O. C.

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

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

探討環境溫度對白肉雞生理值、血液生化 及血液學之影響⁽¹⁾

丘昫融⁽²⁾ 蔡和潔⁽²⁾ 洪哲明⁽²⁾ 林正鏞⁽²⁾ 蔡銘洋⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：113 年 11 月 14 日；接受日期：114 年 5 月 5 日

摘 要

本研究調查白肉雞於不同季節下生理值、血液生化及血液學之變化，以了解極端氣候對白肉雞生產性能之影響。本試驗使用白肉雞品種 (Ross 308) 1 日齡公母，分別於 2020 年涼季公母各 25 隻，熱季公母各 15 隻，2021 年涼季和熱季公母各 15 隻，合計 4 批次，共 140 隻，飼養於非開放雞舍，試驗期 35 天。試驗結果顯示，白肉雞舍環境溫度、濕度及溫濕度指數 (temperature-humidity index, THI) 於涼季和熱季皆呈顯著性差異 ($P < 0.05$)。白肉雞於涼、熱季泄殖腔溫度分別為 $41.36 \pm 0.58^\circ\text{C}$ 與 $41.77 \pm 0.69^\circ\text{C}$ ，也呈現顯著性差異 ($P < 0.05$)。熱季白肉雞 5 週齡體重 $1,788 \pm 373 \text{ g}$ 顯著低於涼季 $1,977 \pm 277 \text{ g}$ ($P < 0.05$)。血液生化值分析結果顯示，熱季血液中肌酸酐、肌酸激酶、總蛋白質、白蛋白、白蛋白 / 球蛋白比、鹼性磷酸酶、總膽固醇、三酸甘油酯、鈉、鈣及磷等 11 項數值顯著較涼季數值高 ($P < 0.05$)。涼季血液中血醣、丙胺酸轉胺酶、總膽紅素、鉀及醣類皮質素等 5 項數值顯著較熱季數值高 ($P < 0.05$)。血液學分析結果顯示，熱季血液中白血球、異嗜球、單核球、嗜鹼性球、血小板、異嗜球 / 淋巴球比例與免疫球蛋白 A 等 7 項數值顯著較涼季數值高 ($P < 0.05$)。涼季血液中血容比、紅血球、血紅素、纖維素原與免疫球蛋白 G 等 5 項數值顯著較熱季數值高 ($P < 0.05$)。本研究證明極端氣候對白肉雞健康及生產性能具潛在影響，未來應針對不同季節的飼養管理措施進行調整，以提升白肉雞的生產效益與健康狀況。

關鍵詞：白肉雞、血液生化、血液學。

緒 言

臺灣位處亞熱帶地區，夏季平均溫度達 28 至 29°C，高溫甚至可達 39.3°C。高溫氣候對於雞隻生長與生產相當不利，雞隻沒有汗腺，無法利用汗腺來散熱，主要藉由蒸發與非蒸發方式進行散熱。蒸發方式又稱為不知覺性散熱，即為呼吸道蒸發水分方式；另非蒸發方式則稱為知覺性散熱，包括輻射、傳導及對流方式散熱。雞隻接收溫度、相對濕度及通風等環境因子變異訊息，經神經將訊息傳遞至下視丘，再藉由神經內分泌傳遞訊息，進行顫抖產熱、非顫抖產熱、喘氣、知覺性散熱、血管與肌肉的收縮或舒張、內分泌腺作用及行為等生理與行為上自主與不自主性的反應來調節體溫 (季, 1989)。當白肉雞暴露於極端溫度條件下，會出現呼吸頻率增加、心率加快、以及體溫異常升高等反應。據報告指出，在高溫條件下，白肉雞的生長效率顯著下降，飼料轉化率變差，甚至可能導致嚴重的死亡率增加 (Yahav *et al.*, 1997)，雞隻體溫受環境溫度影響甚大，當氣溫高於 35°C 時，雞隻開始降低採食，造成營養利用率下降，進而影響生長、產蛋率、蛋重、採食量及蛋殼厚度等性能表現 (Yalcin *et al.*, 2005)。相對地，低溫環境則可能增加能量需求，進而影響體內代謝和營養利用效率 (de Basilio *et al.*, 2001)。

血液生化數值反映動物體內代謝及器官功能狀態，環境溫度會顯著影響白肉雞血液生化數值，包括血糖、血清蛋白、脂質代謝及電解質平衡等。Sahin *et al.* (2001) 發現高溫會導致白肉雞血液中醣類皮質激素分泌增加，進而影響醣代謝與免疫功能。同時，低溫也會導致血清葡萄糖及尿素氮濃度的變化，表現出明顯代謝壓力 (Zhou *et al.*, 2014)。而血液學，特別是紅血球和白血球數量，對於環境改變極為敏感。當白肉雞暴露於高溫或低溫時，常會出現白血球減少或增加的現象，這可能反映免疫系統的調節機制。Ali *et al.* (2020) 研究指出，當白肉雞遭受熱緊迫時，

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2825 號。

(2) 農業部畜產試驗所畜產經營組。

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

其血液中紅血球數量下降，白血球數量上升，顯示著其面臨免疫挑戰與生理壓力。此外，低溫環境則可能導致紅血球數量增加，以補償寒冷環境下氧氣需求增大的結果。

因此，本研究旨在探討不同環境溫度下，白肉雞生理值、血液生化及血液學數值變化，並藉此為改善白肉雞飼養管理提供科學數據，以建立最佳的飼養條件，提高白肉雞生產性能和健康品質。

材料與方法

本試驗於農業部畜產試驗所(以下簡稱畜試所)畜產經營組雞舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容，經畜產試驗所實驗動物照護及使用小組以畜試動字 110 - 22 號核准在案。

I. 試驗雞隻之飼養管理及試驗方法

試驗白肉雞品種 (Ross 308) 1 日齡公母，分別於 2020 年涼季公母各 25 隻，熱季公母各 15 隻，2021 年涼季和熱季公母各 15 隻，合計 4 批次，共 140 隻，飼養於非開放雞舍。試驗期 35 天，飼料及飲水採任食，分為第 1 期料為 1 日齡至 10 日齡，第 2 期料為 11 日齡至 24 日齡及第 3 期料為 25 日齡至 35 日齡，飼料配方與成分如表 1。

表 1. 試驗基礎飼糧配方與組成

Table 1. The composition of the experimental basal diets

Ingredients (%)	Days of age		
	1 – 10	11 – 24	25 – 35
Corn, yellow	52.33	55.28	58.34
Soybean meal, CP 44%	35.50	33.00	30.00
Fish meal, CP 65%	5.00	4.00	3.00
Soybean oil	3.6	4.40	5.60
Limestone, pulverized	1.10	1.05	1.00
Dicalcium phosphate	1.25	1.14	1.05
Vitamin -mineral premix ^a	0.4	0.4	0.4
Lysine, 65%	0.2	0.15	0.06
DL-Methionine, 99%	0.27	0.22	0.20
Choline chloride, 50%	0.05	0.05	0.05
Iodized salt	0.3	0.3	0.3
Total	100.0	100.0	100.0
.....			
Calculated values			
Crude protein, %	22.32	20.67	18.77
ME, kcal/kg	3,726	4,005	3,917

^a Supplied per kg of diet :Vitamin A, 10,000 IU; vitamin D₃, 1,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K, 3 mg; thiamin, 3 mg; riboflavin, 5 mg; pyridoxine, 3 mg; vitamin B₁₂, 0.03 mg; Ca-pantothenate, 10 mg; niacin, 50 mg; biotin, 0.1 mg; and folic acid, 3 mg; Mn, 60 mg (MnSO₄H₂O); Zn, 60 mg (ZnO); Cu, 5 mg (Cu₂SO₄ · 5H₂O); Fe, 70 mg (FeSO₄ · 7H₂O); Se, 0.1 mg (Na₂SeO₃); and I, 0.45 mg.

II. 檢測項目與方法

(i) 依據中央氣象署 CODiS 氣候觀測資料查詢系統 (<https://codis.cwa.gov.tw>) 收集及分析 2020 至 2021 年臺南市新化區畜產試驗所觀測站溫濕度紀錄 (站碼 B2N890) (經緯度座標 120.3364°E, 23.0590°N)。1 月至 12 月平均溫濕度指數 (temperature-humidity index, THI) 以 1 月份 62.01 ± 2.45 最低，接著持續上升，於 7 月份 80.86 ± 0.44 最高，之後持續下降 (如圖 1)。1 至 2 月平均溫度為 17.9 ± 1.4°C，平均相對濕度為 80.5 ± 4.8%，平均 THI 63.5 ± 2.2，視為本試驗定義之涼季。6 至 8 月平均溫度為 28.0 ± 0.8°C，平均相對濕度為

85.1 ± 3.1 %，平均 THI 80.3 ± 1.0，視為本試驗定義之熱季 (如圖 1)。

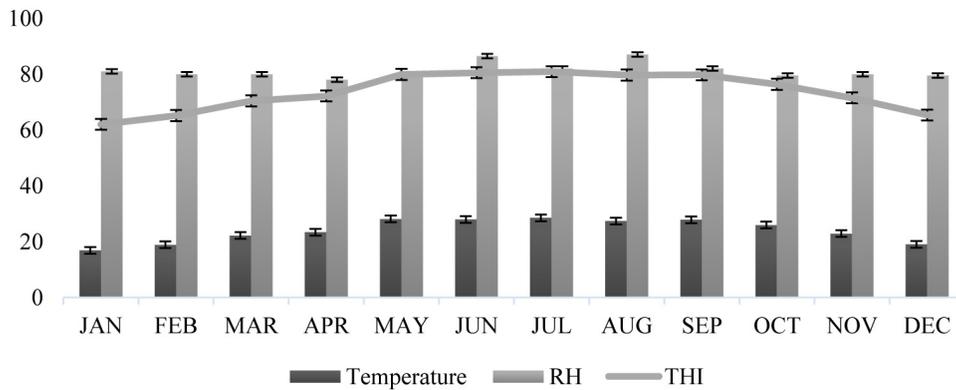


圖 1. 2020 – 2021 年每月平均溫度、濕度及 THI 值。

Fig. 1. Changes of temperature, relative humidity (RH), and THI value from January to December 2020 and 2021.

(ii) 記錄檢測白肉雞舍環境溫、濕度及 THI 值，進行統計分析。

$$THI = (1.8 \times AT + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times AT - 26)]$$

AT = air temperature (°C); RH = relative humidity (%) (Habeb *et al.*, 2018)。

- (iii) 基礎體溫及呼吸數：涼季於 1 月至 2 月，熱季於 6 至 7 月，每星期測定一次，在早上 10 點及下午 2 點，量肛門內溫及雞隻翻身待平靜後，觀測 1 分鐘內腹部起伏之次數。肛門內溫與呼吸頻率之樣本數為試驗期間累積之有效量測筆數，係由各週實際量測之雞隻數乘以每日兩個量測時段 (上午與下午) 後加總而得；因此，涼季完成之量測紀錄為公雞 392 筆、母雞 384 筆；熱季則為公雞 300 筆、母雞 299 筆。飼養期間同步記錄雞舍內環境溫度與相對濕度，於每次基礎體溫及呼吸數測定時進行記錄；每批次試驗共量測 5 週、每週 2 個時段，合計 10 次環境量測，兩批次共 20 筆環境溫溼度紀錄。
- (iv) 體重：於 35 天試驗期結束後進行秤重。兩批次合併後，涼季實際完成秤重之雞隻為公雞 39 隻、母雞 38 隻；熱季公雞 30 隻、母雞 29 隻。
- (v) 血液學：含肝素全血送至屏東科技大學獸醫系附設動物醫院進行全血細胞計數 (complete blood count, CBC)，包含血容比 (pack cell volume)、紅血球 (red blood cell, RBC)、血紅素 (hemoglobin, Hb)、紅血球容積 (mean corpuscular volume, MCV)、紅血球血紅素含量 (mean cell hemoglobin, MCH)、紅血球血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、白血球 (white blood cell, WBC)、異嗜球 (heterophils)、淋巴球 (lymphocytes)、單核球 (monocytes)、嗜酸性球 (eosinophils)、嗜鹼性球 (basophils)、血小板 (platelet, PLT) 及纖維素原 (fibrinogen)。涼季實際完成血液學檢驗之雞隻為公雞 30 隻、母雞 29 隻；熱季公雞 27 隻、母雞 29 隻。
- (vi) 血液生化值：於 35 日齡，每批次之各別處理組選取 15 隻，由翼靜脈採血 3 mL，加入含肝素抗凝血管 (BD Vacutainer® Lithium Heparin)，經離心後 (3,000 rpm, 10 min, 4°C) 上層血漿送至健康醫事檢驗所和立人醫事檢驗所進行血液生化值檢測。血液生化值測定 22 個項目，包含天門冬胺酸胺酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (alanine aminotransferase, ALT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、總蛋白質 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, Alb)、球蛋白 (globulin, Glb)、白蛋白/球蛋白比值 (A/G)、總膽紅素 (total bilirubin, TBIL)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (creatinine, Cre)、血醣 (glucose, Glu)、血鈉 (sodium, Na)、血鉀 (potassium, K)、尿酸 (uric acid, UA)、三酸甘油酯 (triglyceride, TG)、總膽固醇 (total cholesterol, TC)、肌酸激酶 (creatine kinase, CK)、鈣 (calcium, Ca)、磷 (phosphate, P)、醣類皮質素 (glucocorticoid)、免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, Ig A)、免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, Ig G)。其中醣類皮質素、免疫球蛋白 A、免疫球蛋白 G 使用商業套組 (Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd., China) chicken glucocorticoid (GC)、chicken immunoglobulin A (Ig A) 及 chicken immunoglobulin G (Ig G) ELISA kit 進行酵素結合免疫吸附分析定量。涼季與熱季中，實際完成血液生化值檢測之雞隻，公雞與母雞各為 30 隻。

III. 統計分析

試驗所得數值資料，利用 SAS 套裝軟體 (SAS, 2014)，以一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，再以並以 Student-Newman-Keuls' test (SNK test)，比較差異顯著性 ($P < 0.05$)，數據以均值 ± SD 表示。

結果與討論

I. 涼、熱季環境變化對白肉雞泄殖腔溫度與呼吸頻率影響

涼、熱季雞舍溫度、濕度、THI 以及白肉雞泄殖腔溫度、呼吸頻率以及體重結果，如表 2 所示。本研究結果顯示，環境溫度和濕度變化對白肉雞的生理指標和生長性能產生顯著影響，特別是在熱季，禽舍內溫度 ($31.50 \pm 2.29^\circ\text{C}$) 與濕度 ($73.65 \pm 7.78\%$) 顯著高於涼季溫度 ($25.05 \pm 2.59^\circ\text{C}$) 與濕度 ($54.10 \pm 11.02\%$) ($P < 0.05$)，且 THI (Temperature-Humidity Index) 指數亦在熱季達到 84.10 ± 2.29 顯著高於涼季的 72.24 ± 3.44 ($P < 0.05$)，顯示熱季環境對白肉雞產生較大的生理壓力。白肉雞在不同季節的泄殖腔溫度也出現顯著差異，熱季時泄殖腔溫度 ($41.77 \pm 0.69^\circ\text{C}$) 顯著高於涼季 ($41.36 \pm 0.58^\circ\text{C}$) ($P < 0.05$)，泄殖腔溫度通常用來反應家禽體溫，當環境溫度上升時，家禽為了調節體內的熱平衡，體溫也會相對上升，此結果與 Yahav *et al.* (2005) 研究，當白肉雞暴露於高溫環境下，其體溫會顯著隨著升高一致。熱季白肉雞的呼吸頻率顯著高於涼季 (73.65 ± 7.78 vs. 54.10 ± 11.02) ($P < 0.05$)，主要是藉由加快呼吸來促進蒸發散熱 (Geraert *et al.*, 1996)。熱緊迫不僅對白肉雞的生理狀態產生影響，甚至影響其生長表現，熱季時白肉雞體重 ($1,788 \pm 373$ g) 顯著低於涼季 ($1,977 \pm 277$ g)，表示於高溫環境下，白肉雞的生長受到抑制，這可能與高溫條件下飼料採食量減少所致，因為家禽在面臨熱緊迫時，會降低飼料消耗以減少代謝產熱 (de Basilio *et al.*, 2001)。Teeter and Belay (1996) 也指出，熱緊迫會降低家禽的飼料轉化率，導致生產性能下降。

比較不同性別白肉雞泄殖腔溫度、呼吸頻率及 5 週齡體重，如表 3 所示，本研究結果顯示，環境溫度對公雞和母雞的生理狀態及生長性能有顯著影響，特別是在高溫環境下 (熱季)，公雞和母雞的泄殖腔溫度和呼吸頻率均有所上升，且母雞的生長性能顯著下降，進一步證實熱緊迫對家禽有負面影響。熱季期間公雞的泄殖腔溫度 ($41.72 \pm 0.69^\circ\text{C}$) 顯著高於涼季 ($41.33 \pm 0.54^\circ\text{C}$) ($P < 0.05$)，母雞的泄殖腔溫度也呈現相同趨勢 (熱季： $41.81 \pm 0.69^\circ\text{C}$ ；涼季： $41.37 \pm 0.61^\circ\text{C}$)，在高溫條件下，白肉雞無法有效地調節體內溫度，導致體溫升高。此外，公雞在熱季呼吸頻率 (71.83 ± 15.83 次 / 分鐘) 顯著高於涼季 (68.98 ± 13.84 次 / 分鐘) ($P < 0.05$)，主要是加快呼吸散熱以應對高溫環境。呼吸頻率的增加有助於促進蒸發散熱，這是一種在高溫下常見的熱緊迫應對策略 (Geraert *et al.*, 1996)。在 5 週齡體重方面，本研究僅在母雞發現，涼季體重 ($1,867 \pm 204$ g) 顯著高於熱季 ($1,650 \pm 295$ g) ($P < 0.05$)，而公雞在涼季體重 ($2,083 \pm 298$ g) 及熱季體重 ($1,921 \pm 395$ g) 並未出現顯著差異。母雞於熱季出現顯著泄殖腔溫度上升及體重下降，而其呼吸頻率未隨季節變化，推測其可能採取不同於公雞之熱緊迫調適策略，進而影響生長性能。這與 Sahin *et al.* (2001) 的研究一致，該研究指出，熱緊迫會通過降低飼料攝取量和營養吸收效率，進一步導致生長減緩。熱緊迫會導致內分泌功能變化，尤其是與代謝和免疫系統相關的激素變化 (de Basilio *et al.*, 2001)，這也可能解釋母雞在熱季體重下降的原因。公雞和母雞在熱緊迫狀態下的反應存在一定差異。Ali *et al.* (2020) 指出，性別差異可能會影響家禽在熱緊迫條件下的體溫調節和行為反應，因此在制定家禽飼養管理策略時應將性別納入考量。

II. 涼、熱季環境變化對白肉雞血液生化值影響

涼、熱季對白肉雞血液生化值分析，如表 4 所示，結果顯示以熱季血液中肌酸酐、肌酸激酶、總蛋白質、白蛋白、白蛋白 / 球蛋白比、鹼性磷酸酶、總膽固醇、三酸甘油酯、鈉、鈣及磷等 11 項數值顯著較涼季高 ($P < 0.05$)。而相反地，涼季血液中血糖、丙胺酸轉胺酶、總膽紅素、鉀及醣類皮質素等 5 項數值顯著較熱季高 ($P < 0.05$)。

熱季白蛋白會與血液中鈣結合，有明顯上升之現象。長期熱緊迫會使肌酸激酶及天門冬氨酸轉胺酶上升。熱季總膽紅素濃度下降與血紅素下降有關。

本研究結果顯示，環境溫度顯著影響白肉雞的血液生化數值，特別是熱季和涼季之間的差異，顯示家禽在高溫環境下的代謝、肝腎功能、脂質代謝和電解質平衡發生明顯變化。在熱季，白肉雞血液中的肌酸酐和肌酸激酶濃度顯著高於涼季，這可能與高溫環境下家禽肌肉代謝增加有關。肌酸酐是一種與肌肉代謝有關的代謝產物，通常在肌肉活動增加或肌肉損傷時，血液中的肌酸酐濃度會上升 (Geraert *et al.*, 1996)。熱緊迫會導致家禽代謝增加，加速能量消耗、腎功能不良、腎臟血流量降低、脫水有關，從而導致肌酸酐和肌酸激酶的上升。de Basilio *et al.* (2001) 也指出，熱緊迫會加劇肌肉損傷，進而影響血液相關酵素上升。熱季白肉雞血液中總蛋白質、白蛋白和白蛋白 / 球蛋白比均顯著高於涼季，這可能反映在高溫條件下，與體內大量體液損耗有關。白蛋白是肝臟合成的一種主要血清蛋白，其濃度的升高通常與體內脫水或代謝需求增加有關 (Teeter and Belay, 1996)。在熱緊迫環境下，家禽通常會通過提高呼吸頻率以增加散熱，導致體內水分流失，從而引發血液濃縮現象，進

表 2. 涼、熱季雞舍溫度、濕度、THI 及白肉雞泄殖腔溫度、每分鐘呼吸頻率和體重

Table 2. Ambient temperature, relative humidity, THI value in the chicken house, and cloacal temperature and respiration rate of broilers under the cool or hot season

Seasons	Ambient temperature (°C)	Ambient humidity (%)	THI value	Cloacal temperature (°C)	Respiration rate/min	Weight at 5 weeks of age, g/bird
Cool	25.05 ± 2.59 ^b (n = 20)	54.10 ± 11.02 ^b (n = 20)	72.24 ± 3.44 ^b (n = 20)	41.36 ± 0.58 ^b (n = 776)	70.93 ± 13.17 (n = 776)	1,977 ± 277 ^a (n = 77)
Warm	31.50 ± 2.29 ^a (n = 20)	73.65 ± 7.78 ^a (n = 20)	84.10 ± 2.29 ^a (n = 20)	41.77 ± 0.69 ^a (n = 599)	71.49 ± 15.42 (n = 599)	1,788 ± 373 ^b (n = 59)

ⁿ Sample size, Mean ± standard deviation. For ambient temperature, relative humidity, and THI, n represents the number of measurement time points; for cloacal temperature and respiration rate, n represents the cumulative number of measurements recorded during the experimental period; for body weight, n represents the number of birds weighed at 5 weeks of age.

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

表 3. 白肉雞涼、熱季公雞和母雞泄殖腔溫度與每分鐘呼吸頻率

Table 3. The mean cloacal temperature and respiration rate of male and female broilers under the cool or hot season

Seasons	Male			Female		
	Cloacal temperature (°C)	Respiration rate/min	Weight at 5 weeks of age, g/bird	Cloacal temperature (°C)	Respiration rate/min	Weight at 5 weeks of age, g/bird
Cool	41.33 ± 0.54 ^b (n = 392)	68.98 ± 13.84 ^b (n = 392)	2,083 ± 298 (n = 39)	41.37 ± 0.61 ^b (n = 384)	72.91 ± 12.13 (n = 384)	1,867 ± 204 ^a (n = 38)
Warm	41.72 ± 0.69 ^a (n = 300)	71.83 ± 15.83 ^a (n = 300)	1,921 ± 395 (n = 30)	41.81 ± 0.69 ^a (n = 299)	71.15 ± 15.01 (n = 299)	1,650 ± 295 ^b (n = 29)

ⁿ Sample size, Means ± standard deviation. For cloacal temperature and respiration rate, n represents the cumulative number of measurements recorded during the experimental period; for body weight, n represents the number of birds weighed at 5 weeks of age.

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

一步導致白蛋白及總蛋白濃度上升。熱季時白肉雞的鹼性磷酸酶、總膽固醇及三酸甘油酯水準顯著高於涼季。鹼性磷酸酶是一種反映肝功能和骨骼代謝的酵素，其升高通常與肝膽系統受損或代謝活性增加有關 (Geraert *et al.*, 1996)。熱緊迫增加家禽脂肪代謝，從而導致總膽固醇及三酸甘油酯數值升高。Sahin *et al.* (2001) 指出，在高溫條件下，白肉雞的脂質代謝活動增加，與本研究結果相符。熱季白肉雞血液中的鈉、鈣及磷濃度顯著高於涼季，這可能與體內電解質平衡變化有關，當家禽面臨高溫環境時，為了維持正常的生理功能，其電解質平衡會發生變化，尤其是鈉和磷的濃度上升可能是由於熱緊迫導致的代謝激烈反應和水分喪失有關 (Teeter and Belay, 1996)。此外，熱緊迫還會影響鈣的吸收和調節，導致鈣濃度升高，這在本研究中也得到證實。與熱季相比，涼季白肉雞血液中的血醣、丙胺酸轉胺酶 (ALT)、總膽紅素及鉀數值顯著較高。血醣濃度的上升顯示在低溫環境下，家禽可能有較高的能量需求，從而促進糖質新生作用 (gluconeogenesis) (Yahav *et al.*, 2005)。此外，涼季的 ALT 數值較高，可能反映出涼季環境對肝臟的緊迫反應較低，因此肝臟能夠更好地進行代謝活動。總膽紅素的升高則可能是因為在涼季，家禽的紅血球破壞和肝臟的清除功能較為活躍。血液中的鉀濃度的變化也與環境溫度有關，涼季的鉀濃度較高可能與家禽體內電解質平衡及水分調節的差異有關 (de Basilio *et al.*, 2001)。涼季家禽血液中醣類皮質素顯著高於熱季，與 Sahin *et al.* (2001) 報告不同，醣類皮質素是一類由腎上腺皮質分泌的類固醇荷爾蒙，具有調節免疫反應、維持血壓和心血管功能、以及參與蛋白質、醣類和脂肪代謝等多重生理功能。在特殊壓力情況下，腎上腺會大量分泌醣類皮質素以應對緊急需求，這使其成為著名的壓力荷爾蒙，研究顯示，在高溫環境下 (如 45°C)，雞隻血漿中的醣類皮質素濃度顯著提高。當 35 日齡白肉雞在 31 和 36°C 的熱緊迫處理下飼養 7 天時，其血漿中腎上腺皮質素濃度均顯著高於 21°C 的對照組，且隨著溫度的升高，醣類皮質素濃度也相應增加 (Khan *et al.*, 2023)，與本研究結果相反，須進一步探討原因。此外，部分血液生化指標呈現標準差大於平均值之情形，顯示其數據分布範圍較為廣泛，且個體間差異明顯。由於多數個體之血液生化值偏低，僅少數個體出現相對較高數值，進而導致整體標準差大於平均值，此結果反映真實個體間的生理反應差異。

表 4. 白肉雞涼、熱季血液生化值分析

Table 4. Analysis of blood biochemical parameters of broiler in the cool and warm seasons

Parameters	Unit	Cool season (n = 60)	Warm season (n = 60)
GLU	mg/d	248 ± 40 ^a	204 ± 28 ^b
BUN	mg/d	2.13 ± 1.53	2.47 ± 1.17
CREA	mg/dL	0.06 ± 0.09 ^b	0.32 ± 0.32 ^a
UA	mg/dL	5.02 ± 1.96	4.62 ± 1.21
AST	U/L	236 ± 93	242 ± 129
ALT	U/L	13.00 ± 5.25 ^a	7.12 ± 4.16 ^b
TBIL	mg/dL	0.10 ± 0.05 ^a	0.07 ± 0.04 ^b
TP	g/dL	2.48 ± 0.41 ^b	2.72 ± 0.26 ^a
ALB	g/dL	1.11 ± 0.16 ^b	1.30 ± 0.21 ^a
GLO	g/dL	1.37 ± 0.28	1.42 ± 0.18
A/G		0.83 ± 0.09 ^b	0.94 ± 0.21 ^a
TC	mg/dL	109 ± 23 ^b	122 ± 17 ^a
TG	mg/dL	76.40 ± 24.23 ^b	102.50 ± 33.26 ^a
Na	meq/L	144 ± 4 ^b	149 ± 2 ^a
K	meq/L	5.90 ± 1.25 ^a	5.30 ± 0.96 ^b
Ca	mg/dL	9.29 ± 1.54 ^b	11.22 ± 0.80 ^a
P	mg/dL	7.21 ± 1.24 ^b	7.81 ± 1.18 ^a
AMY	U/L	582 ± 278	583 ± 245
Glucocorticoid	ng/mL	1.48 ± 1.29 ^a	0.36 ± 0.25 ^b

* GLU: glucose, BUN: blood urea nitrogen, CREA: creatinine, UA: uric acid, CPK: creatine phospho-Kinase, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, TBIL: total bilirubin, TP: total protein, ALB: Albumin, GLB: Globulin, A/G: ALB/GLB, Alk-P: alkaline phosphatase, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, Na: Sodium, K: Potassium, Ca: Calcium, P: Phosphate, AMY: amylase.

ⁿ Sample size, Means ± standard deviation.

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

表 5. 白肉雞涼、熱季公雞和母雞血液生化值分析

Table 5. Analysis of blood biochemical parameters of broiler male and female in the cool and warm seasons

Parameters	Unit	Cool		Warm	
		Male (n = 30)	Female (n = 30)	Male (n = 30)	Female (n = 30)
GLU	mg/d	257 ± 41	238 ± 36	204 ± 25	204.1 ± 31.5
BUN	mg/d	1.80 ± 1.27	2.46 ± 1.70	2.40 ± 1.19	2.5 ± 1.2
CREA	mg/dL	0.04 ± 0.06	0.07 ± 0.10	0.32 ± 0.32	0.32 ± 0.31
UA	mg/dL	5.25 ± 2.17	4.78 ± 1.70	4.63 ± 1.34	4.6 ± 1.1
AST	U/L	244 ± 106	229 ± 79	240 ± 132	243.3 ± 127.3
ALT	U/L	13.53 ± 5.74	12.46 ± 4.70	7.36 ± 4.42	6.86 ± 3.94
TBIL	mg/dL	0.10 ± 0.06	0.09 ± 0.03	0.06 ± 0.04	0.06 ± 0.03
TP	g/dL	2.29 ± 0.38 ^b	2.66 ± 0.40 ^a	2.68 ± 0.25	2.8 ± 0.3
ALB	g/dL	1.03 ± 0.15 ^b	1.18 ± 0.10 ^a	1.26 ± 0.20	1.3 ± 0.2
GLO	g/dL	1.25 ± 0.23 ^b	1.47 ± 0.30 ^a	1.42 ± 0.19	1.4 ± 0.2
ALB/GLO		0.83 ± 0.07	0.82 ± 0.10	0.91 ± 0.21	1.0 ± 0.2
TC	mg/dL	110 ± 28	109 ± 18	119 ± 18	124.6 ± 15.4
TG	mg/dL	82.17 ± 23.92	70.63 ± 23.51	105.57 ± 36.63	99.37 ± 29.81
Na	meq/L	145 ± 3	143 ± 4	149 ± 20	149.3 ± 1.7
K	meq/L	5.77 ± 1.42	6.02 ± 1.05	5.40 ± 1.08	5.12 ± 0.80
Ca	mg/dL	9.04 ± 1.54	9.52 ± 1.50	11.35 ± 0.85	11.08 ± 0.72
P	mg/dL	7.02 ± 1.03	7.39 ± 1.40	8.02 ± 1.15	7.59 ± 1.18
AMY	U/L	536 ± 248	627 ± 302	576 ± 150	591 ± 316
Glucocorticoid	ng/mL	1.36 ± 1.17	1.59 ± 1.40	0.36 ± 0.22	0.36 ± 0.26

* GLU: glucose, BUN: blood urea nitrogen, CREA: creatinine, UA: Uric acid, CPK: creatine phospho-kinase, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, TBIL: total bilirubin, TP: total protein, ALB: albumin, GLB: globulin, A/G: ALB/GLB, Alk-P: Alkaline phosphatase, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, Na: Sodium, K: Potassium, Ca: Calcium, P: Phosphate, AMY: amylase.

ⁿ Sample size, Means ± standard deviation.

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

不同性別白肉雞血液生化值結果，如表 5 所示，涼季母雞於總蛋白質、白蛋白、白蛋白 / 球蛋白比顯著較公雞高 ($P < 0.05$)。熱季公雞和母雞無顯著差異。球蛋白則與免疫反應有關，白蛋白 / 球蛋白比的增高，可能反映了母雞在涼季具有較高的蛋白質儲備及肝臟代謝效率 (Gous and Morris, 2005)。Geraert *et al.* (1996) 也提出，在溫和環境下，性別差異會影響白肉雞的代謝模式，特別是在蛋白質合成和利用上。

III. 涼、熱季環境變化對白肉雞血液學影響

涼、熱季白肉雞血液學分析結果，如表 6 所示，熱季血液中白血球、異嗜球、單核球、嗜鹼性球、血小板、異嗜球 / 淋巴球比例與免疫球蛋白 A 等 7 項數值顯著較涼季為高 ($P < 0.05$)。相反地，涼季血液中血容比、紅血球、血紅素、纖維素原與免疫球蛋白 G 等 5 項數值顯著較熱季為高 ($P < 0.05$)。高溫環境下血容比及血紅素濃度較低溫環境為低之原因，可能是由於血液體積較多所致 (Gee and Huston, 1965; Soliman and Huston, 1974)，亦有可能是因高溫下白肉雞飲水較多，導致血液稀釋 (Subaschandran and Balloun, 1967)。在熱季白肉雞白血球、異嗜球、單核球、嗜鹼性球及異嗜球 / 淋巴球比例顯著高於涼季，表示在高溫緊迫環境下，家禽的免疫系統和緊迫反應被強烈激活，白血球數目增加，通常是動物面臨外界刺激或感染時的一種防禦性反應，而異嗜球、單核球和嗜鹼性球的增加，表示家禽可能經歷炎症或過敏反應。異嗜球 / 淋巴球比例是一個常用的緊迫指標，異嗜球數量的增加和淋巴球的相對減少，顯示家禽在熱緊迫下經歷強烈的激烈反應 (Maxwell and Robertson, 1998)。Sahin *et al.* (2001) 也指出，在熱緊迫環境下，家禽免疫系統會被激發，進而引發免疫細胞增加，這種增加可能是家禽試圖抵禦由於高溫引起的生理損傷和感染風險。血小板和免疫球蛋白 A (IgA) 在熱季顯著增加，這與家禽在高溫環境中的免疫防禦機制有關，血小板是血液凝固和組織修復的重要成分，其增加可能是因為家禽在高溫下出現微血管損傷，導致體內需要更多的血小板來修復組織 (Altan *et al.*, 2000)，此外，IgA 是黏膜免疫

抗體，可增強家禽在腸道和呼吸道的防禦能力，熱季 IgA 的上升可能是為了應付熱緊迫所帶來的免疫壓力，進一步保護家禽免受病原感染。在涼季，血容比、紅血球、血紅素及纖維蛋白原數值顯著高於熱季，紅血球和血紅素的增加顯示家禽在涼季具有更好的血氧攜帶能力，這有助於支持代謝需求和增強運動能力，涼季較低的環境溫度使家禽需要更多的能量來維持體溫，因此需要更高效的氧氣輸送來支持代謝 (Yahav *et al.*, 1997)。此外，纖維蛋白原的升高則與炎症反應和凝血有關，家禽在涼季時免疫系統的活動性較高 (Maxwell *et al.*, 1990)。涼季白肉雞血液中免疫球蛋白 G 顯著高於熱季，顯示涼季環境有助於增強家禽的免疫系統，免疫球蛋白 G 是體液免疫中最重要的抗體之一，能夠中和病原體並促進吞噬作用。涼季較為溫和的氣候條件可能減少了家禽面臨的緊迫，從而使其免疫系統能夠更有效地發揮作用，增強免疫保護能力 (Yahav *et al.*, 1997)。這與 de Basilio *et al.* (2001) 在家禽涼季增加免疫功能結果一致。在血液學分析中，部分指標呈現較高變異度，呈現標準差大於平均值之情形，顯示不同個體在血液學反應上具有明顯差異。此類指標易受緊迫程度、免疫活化狀態及個體生理條件影響，少數對環境變化反應較為強烈之個體，其數值可能顯著偏高，進而拉大整體數據之離散程度，該結果反映白肉雞在不同環境條件下之實際血液學之反應差異。

表 6. 涼、熱季白肉雞血液學分析

Table 6. Analysis of hematological parameters of broiler in the cool and warm seasons

Parameters	Unit	Cool season (n = 59)	Warm season (n = 56)
PCV	%	30.25 ± 2.48 ^a	28.18 ± 2.81 ^b
RBC	× 10 ⁶ /μL	2.45 ± 0.26 ^a	2.22 ± 0.18 ^b
Hb	g/dL	11.2 ± 0.88 ^a	10.37 ± 0.91 ^b
MCV	fL	124 ± 11.00	127 ± 7.00
MCH	pg	46 ± 4.00	46.72 ± 1.65
MCHC	g/dL	37.12 ± 2.44	36.91 ± 2.03
WBC	× 10 ³ /μL	14.77 ± 5.27 ^b	18.35 ± 3.93 ^a
Heterophils	/μL	2,913 ± 1,657 ^b	6,954 ± 3,635 ^a
Lymphocytes	/μL	9,964 ± 5,678	8,619 ± 2,879
Monocytes	/μL	809 ± 571 ^b	1,500 ± 1,181 ^a
Eosinophils	/μL	545 ± 492	437 ± 472
PLT	× 10 ³ /μL	13.46 ± 20.37 ^b	26.04 ± 19.38 ^a
Fibrinogen	g/dL	0.27 ± 0.19 ^a	0.18 ± 0.16 ^b
H/L		0.46 ± 0.66 ^b	1.22 ± 2.18 ^a
Ig G	μg/mL	26.87 ± 14.75 ^a	11.37 ± 6.80 ^b
Ig A	μg/mL	227 ± 112 ^b	285 ± 159 ^a

* PCV: packed cell volume, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, MCV: mean corpuscular volume MCH: mean cell hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, WBC: white blood cell, PLT: Platelet, H/L: Heterophils/Lymphocytes, Ig G: Immunoglobulin G, Ig A: Immunoglobulin A.

ⁿ Sample size, Means ± standard deviation.

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

不同性別白肉雞血液學分析，如表 7 所示，涼季母雞於紅血球和嗜酸性球顯著較公雞為高 (P < 0.05)，而公雞於紅血球血紅素含量與免疫球蛋白 G 等數值顯著較母雞為高 (P < 0.05)。熱季母雞於血容比、紅血球和血紅素顯著較公雞為高 (P < 0.05)，而公雞僅於嗜鹼性球數值顯著較母雞為高 (P < 0.05)。在涼季，母雞的紅血球數量及嗜酸性球數值顯著高於公雞，顯示母雞在低溫環境下的血液攜氧能力更強，紅血球數量增加可能反映了母雞在涼季對氧氣需求的增加，這與其高代謝需求和生殖相關能量需求有關 (Gous and Morris, 2005)。嗜酸性球增加則可能與母雞的免疫反應或抗寄生蟲感染有關 (Maxwell and Burns., 1985)。在熱季，母雞的血容比、紅血球及血紅素水準顯著高於公雞，這表明在高溫條件下，母雞更需要強化其血液系統來應對熱緊迫。由於高溫會導致家禽的水分流失，母雞可能需要更多的紅血球來維持血液中氧氣的運輸和水分平衡 (Sahin *et al.*, 2001)，這可能是母雞在熱緊迫下的生理反應，通過增加血容比和紅血球來提升體內的氧氣傳輸效率，從而減少熱緊迫對其健

康的負面影響。公雞在熱季的嗜鹼性球數值顯著高於母雞，這可能表明公雞在高溫緊迫下更容易出現過敏性反應或組織損傷。嗜鹼性球與過敏反應和發炎反應有關，其增加可能是公雞在面對高溫環境時對外界刺激的反應 (Maxwell and Robertson, 1998)。

表 7. 白肉雞涼、熱季公雞和母雞血液學分析

Table 7. Analysis of hematological parameters of broiler male and female in the cool and warm seasons

Parameters	Unit	Cool		Warm	
		Male (n = 30)	Female (n = 29)	Male (n = 27)	Female (n = 29)
PCV	%	30.1 ± 2.69	30.4 ± 2.27	27.31 ± 3.30 ^b	28.98 ± 2.00 ^a
RBC	× 10 ⁶ /μL	2.38 ± 0.22 ^b	2.51 ± 0.28 ^a	2.15 ± 0.19 ^b	2.27 ± 0.15 ^a
Hb	g/dL	11.1 ± 0.97	11.2 ± 0.78	10.07 ± 0.96 ^b	10.64 ± 0.77 ^a
MCV	fL	126.6 ± 9.75	121.7 ± 11.11	126.4 ± 7.86	127.2 ± 5.86
MCH	pg	47 ± 2.79 ^a	44.9 ± 4.02 ^b	46.67 ± 1.64	46.75 ± 1.68
MCHC	g/dL	37.29 ± 2.6	36.93 ± 2.27	37.04 ± 2.37	36.78 ± 1.68
WBC	× 10 ³ /μL	15.58 ± 5.25	13.92 ± 5.23	18.67 ± 4.14	18.04 ± 3.76
Heterophils	/μL	3,137 ± 1,533	2,680 ± 1,773	7,238 ± 4,058	6,689 ± 3,242
Lymphocytes	/μL	10,622 ± 6,197	9,282 ± 5,104	8,499 ± 2,703	8,730 ± 3,077
Monocytes	/μL	850 ± 610	765 ± 534	1,277 ± 840	1,706 ± 1,411
Eosinophils	/μL	389 ± 281 ^b	705 ± 605 ^a	542 ± 535	339.5 ± 387
PLT	× 10 ³ /μL	10.1 ± 13.6	16.93 ± 25.36	28.96 ± 24.18	23.31 ± 13.37
Fibrinogen	g/dL	0.26 ± 0.21	0.28 ± 0.14	0.17 ± 0.17	0.19 ± 0.14
H/L		0.53 ± 0.79	0.4 ± 0.49	1.03 ± 0.78	1.37 ± 2.94
Ig G	μg/mL	32.52 ± 10.71 ^a	21.21 ± 16.17 ^b	10.5 ± 7	12.22 ± 6.59
Ig A	μg/mL	206.32 ± 92.84	246.91 ± 127.38	296.8 ± 188.63	274.16 ± 123.9

* PCV: packed cell volume, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, MCV: mean corpuscular volume MCH: mean cell hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, WBC: white blood cell, PLT: Platelet, H/L: Heterophils/Lymphocytes, Ig G: Immunoglobulin G, Ig A: Immunoglobulin A.

ⁿ Sample size, Means ± standard deviation.

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

結 論

本研究顯示，涼季與熱季試驗中，可能因環境控制、疾病風險、管理方式及數據分析方法的差異，導致研究結果應用於實際生產時產生誤差。熱季條件下，規模效應更為顯著，研究可能低估熱緊迫對大規模商業飼養的實際影響；涼季試驗中，環境控制細微變化亦可能造成結果偏差。

鑑於臺灣位處亞熱帶地區，夏季平均氣溫 28 – 29°C，高溫可達 39.3°C，高溫高濕氣候對白肉雞生產的影響較歐美溫帶地區更為嚴重。因此，調查臺灣白肉雞在熱季與涼季的基礎體溫、呼吸頻率及血液生化值等生理指標，有助於建立適用於臺灣氣候的家禽生理參考值，為提升家禽耐熱性及產業應用提供科學依據。

參考文獻

季培元。1989。家畜解剖生理學，第 891-894 頁。合記圖書出版社。

Ali, A., J. Kang, J. Park, and D. Kim. 2020. Effect of heat stress on broiler chicken hematology and physiology. *Poult. Sci.* 99(2): 871-877.

Altan, O., A. Altan, I. Oguz, A. Pabuccuoglu, and S. Konyalioglu. 2000. Effects of heat stress on some blood parameters in

- broilers. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 24(2): 145-148.
- de Basilio, V., M. Vilariño, M. Ledur, and V. Moraes. 2001. Broiler performance and feed efficiency influenced by ambient temperature. *J. Appl. Poultry. Res.* 10(3): 381-385.
- Gee, G. F. and T. M. Huston, 1965. Effects of feed and water deprivation on body fluid compartments in the domestic fowl. *Poult. Sci.* 44: 1372 (Abster.).
- Geraert, P. A., J. C. Padilha, and S. F. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: Growth performance, body composition and energy retention. *Br. J. Nutr.* 75(2): 195-204.
- Gous, R. M. and T. R. Morris. 2005. Nutritional interventions in the alleviation of heat stress. *World Poult. Sci. J.* 61(3): 463-472.
- Habeeb, A. A., A. E. Gad, and M. A. Atta. 2018. Temperature-humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with Relation to production and reproduction of farm animals. *Int. J. Biotechnol. Recent. Adv.* 1(1): 35-50.
- Khan, R. U., Naz, S., Ullah, H., Ullah, Q., Laudadio, V., Qudratullah and Tufarelli, V. 2023. Physiological dynamics in broiler chickens under heat stress and possible mitigation strategies. *Anim. Biotechnol.* 34(2): 438-447.
- Maxwell, M. H. and R. B. Burns. 1985. Blood eosinophilia in adult bantams naturally infected with *Trichostrongylus tenuis*. *Res. Vet. Sci.* 39: 122-123.
- Maxwell, M. H., G. W. Robertson, S. Spence, and C. C. McCorquodale. 1990. Comparison of haematological values in restricted and ad libitum-fed domestic fowls: White blood cells and thrombocytes. *Br. Poult. Sci.* 31(3): 399-405.
- Maxwell, M. H. and G. W. Robertson. 1998. The avian heterophil leucocyte: A review. *World Poultry Sci. J.* 54(2): 155-178.
- SAS Institute. 2014. SAS® University Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sahin, K., N. Sahin, and O. Küçük. 2001. Effects of dietary vitamin E and selenium on heat stress induced changes in serum hormone concentrations and some metabolic parameters in broilers. *Biol. Trace Elem. Res.* 83(1-3): 53-64.
- Soliman, K. F., and T. M. Huston. 1974. Effect of dietary protein and fat on the plasma cholesterol and packed cell volume of chickens exposed to different temperature. *Poult. Sci.* 53:161-166.
- Subaschandran, D. V. and S. L. Balloun. 1967. Acetylpaminophenol and Vitamin C in heat-stressed birds. *Poult. Sci.* 46: 1073-1076.
- Teeter, R. G. and T. Belay. 1996. Broiler management during heat stress. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58: 127-142.
- Yalcin, S., S. Ozkan, M. Cabuk, J. Buyse, E. Ducuyperre, and P. B. Siegel. 2005. Pre- and post-natal conditioning responses and relative asymmetry of broilers originating from young and old breeder flocks. *Poult. Sci.* 84: 967-976.
- Yahav, S., D. Shinder, J. Tanny, and S. Cohen. 1997. Ventilation, sensible heat loss, broilers' performance and meat quality. *Poult. Sci.* 76(5): 692-699.
- Zhou, W., D. Wu, X. Zhang, and W. Zheng. 2014. Effects of low temperature on metabolic status and intestinal mucosal immunity in broilers. *Poult. Sci.* 93(10): 2339-2346.

Effects of environmental temperature on the physiological parameter, blood biochemistry, and hematology of Broilers ⁽¹⁾

Yun-Jung Chiu ⁽²⁾ Ho-Ching Tsai ⁽²⁾ Che-Ming Hung ⁽²⁾ Cheng-Yung Lin ⁽²⁾ and Ming-Yang Tsai ⁽²⁾⁽³⁾

Received: Nov. 14, 2024; Accepted: May 5, 2025

Abstract

This study investigated the physiological parameters, blood biochemistry, and hematological changes in broilers across different seasons to understand the impact of extreme climate on their production performance. This experiment used 1-day-old male and female broiler chickens of the Ross 308 breed. Separately, 25 males and 25 females were used in the cool season of 2020, 15 males and 15 females in the hot season of 2020, and 15 males and 15 females each in both the cool and hot seasons of 2021. This comprised a total of 4 batches, summing to 140 birds. They were reared in a non-open (or closed) chicken house for an experimental period of 35 days. The results showed significant differences in temperature, humidity, and THI between the cool and hot seasons ($P < 0.05$). The cloacal temperatures of broilers during the cool and hot seasons differ significantly as $41.36 \pm 0.58^{\circ}\text{C}$ vs. $41.77 \pm 0.69^{\circ}\text{C}$, respectively ($P < 0.05$). The body weight at age of 35 days during the hot season was significantly lower ($1,788 \pm 373$ g) than that in the cool season ($1,977 \pm 277$ g) ($P < 0.05$). Blood biochemistry analysis revealed that levels of creatinine, creatine kinase, total protein, albumin, albumin/globulin ratio, alkaline phosphatase, total cholesterol, triglycerides, sodium, calcium, and phosphorus were significantly higher in the hot season than those in the cool season ($P < 0.05$). Conversely, birds grown in the cool season had higher blood glucose, alanine aminotransferase, total bilirubin, potassium, and glucocorticoid levels than those reared under cool season compared to the hot season ($P < 0.05$). Hematological analysis showed that white blood cell count, eosinophil, monocyte, basophil, and platelets number, eosinophil/lymphocyte ratio, and immunoglobulin A levels were significantly higher in the hot season ($P < 0.05$), whereas hematocrit, red blood cell count, hemoglobin, fibrinogen, and immunoglobulin G levels were significantly higher in the cool season ($P < 0.05$). This study demonstrates that extreme climate has a potential impact on the health and production performance of broiler chickens. Future management practices should be adjusted according to seasonal variations to enhance production efficiency and health status in broilers.

Key words: Broiler, Blood biochemistry, Hematology.

(1) Contribution No. 2825 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

純種母豬產仔數候選標記 NR4A1、EXOC4 及 FSH β 之評估⁽¹⁾

廖仁寶⁽²⁾ 王思雅⁽²⁾ 陳若菁⁽³⁾ 盧昱誼⁽⁴⁾ 蔡秀容⁽³⁾
賴永裕⁽³⁾ 劉桂柱⁽⁴⁾ 陳裕信⁽⁵⁾ 程梅萍⁽⁶⁾⁽⁷⁾

收件日期：114 年 3 月 3 日；接受日期：114 年 5 月 6 日

摘 要

本研究之目的在於鑑別臺灣種豬場純種母豬產仔數候選標記 NR4A1、EXOC4 及 FSH β 基因型，再以基因型與總產仔數資料進行相關性分析。分析 301 頭純種母豬 3 種候選遺傳標記基因型，再分品種進行基因型與總產仔數性狀之相關性分析。結果顯示，NR4A1-AG 與 GG 基因型藍瑞斯母豬，在全胎次的總產仔數分析中，其每胎平均產仔數均非常顯著高於 AA 基因型 ($P < 0.001$)，總產仔數依前基因型分別為 13.28 ± 0.22 頭、 13.45 ± 0.33 頭、 12.04 ± 0.30 頭；若以排除初產次的總產仔數資料來比較，AG 與 GG 基因型母豬之每胎平均產仔數亦均非常顯著高於 AA 基因型 ($P < 0.001$)。另於約克夏母豬在排除初產胎次總產仔數的分析中，發現 NR4A1-AG 基因型顯著高於 GG 基因型 ($P < 0.05$)。在杜洛克母豬 2 至末產與全胎次總產仔數與其 EXOC4 基因型的相關性分析顯示，CT 基因型母豬之每胎平均產仔數顯著高於 CC 基因型 ($P < 0.05$)。然母豬之 FSH β 基因型與總產仔數相關性，三個品種皆無發現顯著性相關。綜而言之，經過分析後，候選標記 NR4A1 與 EXOC4 具種豬產仔數有利基因型選育應用之潛力。

關鍵詞：產仔數、候選標記、母豬。

緒 言

提升種豬繁殖性能對養豬產業之競爭力至關重要，尤以熱帶地區為甚。若能有效提升種豬的繁殖表現，不僅能減少種豬的飼養數量，尚能節省養豬場的日常開銷，如降低飼料、管理及廢棄物處理等成本 (Koketsu *et al.*, 2017; Menegat, 2023)。根據 2021 年臺灣養豬手冊資料，分析 9,599 胎示範戶雜交母豬的數據，顯示平均每胎總產仔數為 10.92 頭，活仔數為 9.73 頭 (財團法人中央畜產會，2022)。相比之下，歐美養豬大國如丹麥的成績，每胎可達 19.4 頭，差距明顯 (<https://danbred.com/high-litter-size-with-high-piglet-survival/>)。種豬繁殖性能的改善，可從遺傳育種、營養、畜舍環境、管理及生物安全等方面著手 (Flowers, 2015)，基於源頭改善的觀點，遺傳育種便為核心，出色的性能表現取決於優良的遺傳因子。持續且策略性地推進遺傳育種，方能使種豬族群的性能不斷提升。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2826 號。
(2) 農業部畜產試驗所飼料作物組。
(3) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(4) 台灣區種豬產業協會。
(5) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(6) 農業部畜產試驗所副所長室。
(7) 通訊作者，E-mail: mpcheng@mail.tlri.gov.tw。

有關豬隻數量性狀基因座的資訊，以國外 Pig QTLdb 資料庫 (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>) 較為完善，依據 2025 年 1 月 20 日的查詢顯示，資料庫含有 56,615 個數量性狀基因座 (quantitative trait locus, QTL) 資訊，其中歸類為繁殖性狀類別 (reproduction trait classes) 相關的 QTL 有 7,338 個，性狀類型 (trait types) 為產仔性狀 (litter traits) 者占有 2,628 個 QTL，而性狀為子代數 (offspring number) 的 QTL 則有 1,908 個。在先前的微衛星遺傳標記研究分析中，得到多個與產仔數性狀有顯著相關的遺傳標記，而這些標記分析結果具品種差異性，如 OPN (廖等, 1999)；SW373、SW1301 及 SW1514 (廖等, 2006)；KS140、KS141、KS148、KS168、S188、KS192、SW61 及 SW1843 (廖等, 2013)；MP35、SW1129、SW2406 及 SW1881 (廖等, 2014)。Liu *et al.* (2011) 發現大白豬 (Large White) NR4A1 (nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1) 基因第 5 個內含子 (intron) 的單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) (A/G) 與總產仔數 (total number of piglets born, TNB) 和活仔數 (number of piglets born alive, NBA) 有顯著的相關性，NR4A1 基因可能調控與排卵相關基因的表現 (Liu *et al.*, 2011)。Kumchoo and Mekchay (2015) 分析藍瑞斯豬與大白豬 NR4A1 與 GNB2L1 (guanine nucleotide binding protein beta polypeptide 2 like-1) 基因型與母豬產仔性狀的相關性，發現 NR4A1-AA 型藍瑞斯母豬除初產外其他胎次之 TNB、NBA、離乳活仔數 (number of piglets weaned alive, NWA)、離乳窩重 (litter weight at weaning, LW) 均顯著高於 GG 型；GNB2L1-CC 型大白豬母豬除初產外其他胎次之出生窩仔重 (litter weight at birth) 顯著高於 CT 與 TT 型。Pang *et al.* (2019) 之研究發現 ESR (estrogen receptor)、FSH β (follicle stimulating hormone b subunit)、CTNNAL1 (catenin alpha like 1) 及 miR-27a 與大白豬產仔性能有關，其中 FSH β 基因會影響排卵率與產仔數 (Scaramuzzi *et al.*, 2011)。研究指出 EXOC4 (exocyst complex component 4) 基因對人類與動物的發育與成長極其重要，其中一個 SNP rs81471943 (C/T) 位於基因的 intron，與豬隻繁殖性狀相關，經分析杜洛克豬之 EXOC4 基因型後，發現 CC 型杜洛克母豬之 NBA、離乳仔豬數 (number of piglets weaned, NW) 及 LW 高於 CT 與 TT 基因型 (He *et al.*, 2021)。

本研究針對產仔數相關候選標記 NR4A1、EXOC4 及 FSH β ，利用臺灣母豬之 DNA 與其產仔數資料，進行相關性分析，以評估上述之候選標記於臺灣種母豬產仔數性狀選育之適用性。若經評估為有效的遺傳標記，將可進行早期選拔種母豬，以減少選育成本並提升選育效率。

材料與方法

I. 種豬血液樣品收集

配合台灣區種豬產業協會，計收集 301 頭母豬血液樣品，包括藍瑞斯 (Landrace, L) 豬 161 頭、約克夏 (Yorkshire, Y) 豬 123 頭及杜洛克 (Duroc, D) 豬 17 頭。利用商業核酸萃取套組 (EasyPure[®] Genomic DNA Kit, TransGen Biotech, China) 進行 DNA 分離純化，測定濃度後，稀釋配製工作溶液，使 DNA 濃度為 50 ng/ μ L。

II. 遺傳標記基因型分析

參考前人研究發表，進行 NR4A1、EXOC4 及 FSHB 基因型鑑別。所使用之引子對序列分別為 5'-TTCCTCTGGGTCACAACG-3' + 5'-CTCACAGAGTCAATGCCG-3' (Liu *et al.*, 2011)；5'-ACAGCCTCGGCTCAACCTTA-3' + 5'-TGCTTTTACGAAGGGGACA-3' (He *et al.*, 2021)；5'-CCTTTAAGACAGTCAATGGC-3' + 5'-ACTGGTCTATTCATCCTCTC-3' (Liu *et al.*, 2009)。

以上 3 種遺傳標記基因型分析之 PCR 反應組成皆為 50 ng 模板 DNA、0.25 mM dNTPs、每個引子 0.5 μ M、1 \times 反應緩衝液及 0.5 U (單位) Taq 聚合酶 (TaKaRa TaqTM DNA Polymerase, TaKaRa Bio Inc., Japan)，反應總體積為 20 μ L。利用 PCR 儀器 (SureCycler 8800, Agilent, USA) 進行標的 DNA 片段的增幅，PCR 反應條件：第一步變性，94 $^{\circ}$ C、5 min；第二步循環增幅 35 次，94 $^{\circ}$ C、30 s，58 (NR4A1、EXOC4) 或 54 $^{\circ}$ C (FSHB)、30 s，72 $^{\circ}$ C、45 s；第三步延長，72 $^{\circ}$ C、5 min。其中 FSHB 基因型分析鑑別，直接取 PCR 產物進行電泳分離，即可依據 DNA 條帶大小 (500 bp、220 bp)，以區別基因型。另 NR4A1 與 EXOC4 基因型鑑別則需要將其 PCR 產物進行限制酶之切割作用，所使用之限制酶分別為 *DdeI* 與 *MbiI* (Thermo)，反應組成如下：10 μ L PCR 產物、1 \times 反應緩衝液、10 U 限制酶及超純水，反應總體積為 15 μ L，在 37 $^{\circ}$ C 作用 2.5 h 後，取 10 μ L 進行 3% (NR4A1 基因型分析) 或 1.5% (EXOC4 基因型分析) 瓊脂膠體電泳分析 (Mupid-2plus, Advance, Japan)，再予以染色成像，並以影像分析儀 (AlphaImagerTM, Alpha Innotech, USA) 擷取電泳影像儲存，以利後續基因型鑑別。

III. 遺傳標記基因型與產仔數相關性分析

所收集的藍瑞斯、約克夏及杜洛克母豬頭數與產次資料，如表 1 所示，計 301 頭、1,015 產次。參考廖

等 (2023a) 分析母豬遺傳標記基因型與總產仔數之相關性，應用 SAS (Statistical Analysis System) 套裝軟體之一般線性模式 (general linear model, GLM) 與最小平方平均法 (least square means) 進行各品種與產次組合 (初產、2 至末產、全胎次) 的各自獨立分析，以比較各基因型效應 (SAS, 2013)。

表 1. 母豬品種與產次分布

Table 1. Distribution of sow breeds and parities

Parity	Number of sows		
	Landrace	Yorkshire	Duroc
1	161	123	17
2	114	100	15
3	88	83	7
4	69	65	7
5	39	38	3
6	28	21	1
7	18	8	1
8	6	0	0
9	2	0	0
10	1	0	0

結果與討論

I. NR4A1 基因型頻率與總產仔數相關性分析

應用 Liu *et al.* (2011) 鑑別 NR4A1 基因型的方法，進行 301 頭母豬基因型的鑑別。將 PCR 產物進行限制酶 *DdeI* 作用，128 bp 條帶代表 A 對偶基因；93 bp 與 35 bp 二條帶代表 B 對偶基因，因 35 bp 條帶在一般的瓊脂膠體電泳圖上不易辨別，故由電泳分離結果得知僅含 1 個 128 bp 條帶者為 AA 基因型；含有 93 bp 與 128 bp 二條帶者為 AG 基因型；含 1 個 93 bp 條帶且不含 128 bp 條帶者為 GG 基因型 (圖 1)。鑑別結果如表 2 所示，藍瑞斯 (L)、約克夏 (Y) 及杜洛克 (D) 母豬 AA、AG 及 GG 基因型的百分比，依各品種分別為 L：29.2、50.9、19.9% vs. Y：45.5、44.7、9.8% vs. D：41.2、58.8、0.0%，A 與 G 對偶基因的頻率依各品種分別為 L：0.55 vs. 0.45；Y：0.68 vs. 0.32；D：0.71 vs. 0.29。杜洛克豬無 GG 基因型的原因為檢測的樣品數少所致，依據 112 年研究計畫檢測 46 個杜洛克豬的結果顯示 GG 基因型為 19.6% (廖等, 2023b)。Liu *et al.* (2011) 分析 271 頭大白豬 NR4A1 基因型，其中 AA 基因型占 46.9%，AG 基因型占 24.0%，GG 基因型則占 29.1%，另 A 與 G 對偶基因頻率分別為 0.58 與 0.41；Kumchoo and Mekchay (2015) 分析 273 頭大白豬與 242 頭藍瑞斯豬 NR4A1 基因型，AA 基因型依品種分別為 44% vs. 69%，AG 基因型 37% vs. 28%，GG 基因型 19% vs. 3%，另 A 對偶基因頻率依品種分別為 0.62 vs. 0.83，G 對偶基因頻率依品種分別為 0.38 vs. 0.17。本研究中約克夏母豬的 A 與 G 對偶基因頻率之比值與 Liu *et al.* (2011) 及 Kumchoo and Mekchay (2015) 大白豬分析結果相較，A/G 比值分別為 2.1 vs. 1.4 vs. 1.6；另本研究與 Kumchoo and Mekchay (2015) 就藍瑞斯母豬 A 與 G 對偶基因頻率比值相較，分別為 1.3 vs. 4.9。

表 2. 純種母豬 NR4A1 基因型頻率

Table 2. NR4A1 genotype frequency of purebred sows

Breed	Number of sows	NR4A1 genotype percentage, %			Allele frequency	
		AA	AG	GG	A	G
Landrace	161	29.2	50.9	19.9	0.55	0.45
Yorkshire	123	45.5	44.7	9.8	0.68	0.32
Duroc	17	41.2	58.8	0.0	0.71	0.29
Total	301	36.5	48.8	14.6	0.61	0.39

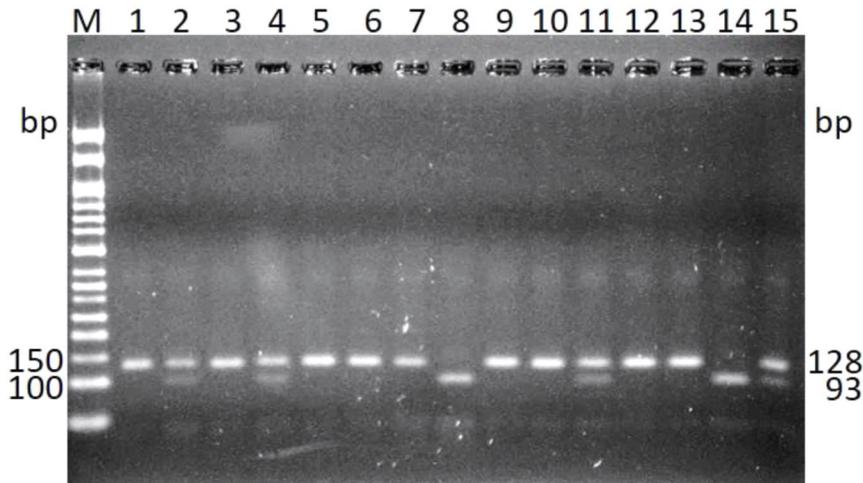


圖 1. 以 PCR-RFLP/DdeI 法鑑別 NR4A1 基因型。

M: DNA 大小標梯; AA 基因型: Lanes 1、3、5、6、7、9、10、12、13; AG 基因型: Lanes 2、4、11、15; GG 基因型: Lanes 8, 14。

Fig. 1. NR4A1 genotyping by PCR-RFLP/DdeI.

M: DNA size ladder; AA genotype: Lanes 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8; AG genotype: Lanes 2, 4, 11, 15; GG genotype: Lanes 8, 14.

由表 3 顯示基因型與總產仔數相關性分析結果，藍瑞斯母豬為 AG 與 GG 基因型，在全胎次的分析中，其總產仔數均非常顯著高於 AA 基因型 ($P < 0.001$)，總產仔數依前基因型分別為 13.28 ± 0.22 頭、 13.45 ± 0.33 頭、 12.04 ± 0.30 頭；若以第 2 胎至末產胎次的總產仔數來比較，同樣地 AG 與 GG 基因型母豬之總產仔數均非常顯著高於 AA 基因型 ($P < 0.001$)，總產仔數依序為 14.04 ± 0.26 頭、 13.83 ± 0.38 頭及 11.94 ± 0.36 頭，由此推論 G 對藍瑞斯母豬總產仔數而言，屬有利之對偶基因。另在約克夏母豬的分析中，AG 基因型在 2 至末產胎次的總產仔數顯著高於 GG 基因型 ($P < 0.05$)。Liu *et al.* (2011) 分析大白豬與實驗合成品系 (DIV) 母豬 NR4A1 基因型與產仔數性狀相關性，統計分析結果顯示，在第一胎中，實驗合成品系 (DIV) 母豬中，AG 基因型比 GG 基因型多生產 1.805 頭仔豬 ($P < 0.05$)。在大白豬所有胎次中，GG 基因型比 AA 基因型平均多產 0.877 頭仔豬，且活產仔豬數多 0.780 頭 ($P < 0.05$)。因此，認為 NR4A1 可當作選育提高母豬產仔數的適用遺傳標記。Kumchoo and Mekchay (2015) 分析 242 頭藍瑞斯母豬 NR4A1 基因型，結果顯示有利基因型 AA 與 AB (本研究之 AG 基因型) 的頻率合計 97%，其總產仔數、活仔數及離乳數 (初產除外) 皆顯著高於 GG 基因型 ($P < 0.05$)。在 273 頭大白豬的分析中，各基因型與總產仔數、活仔數及離乳數 (初產除外) 皆無顯著性差異。綜合以上，本研究在藍瑞斯母豬的統計分析中，呈現 AG 與 GG 為有利基因型，然 Kumchoo and Mekchay (2015) 則指出藍瑞斯豬 AA 與 AG 為有利基因型，與本研究結果相同之處為 AG 屬有利基因型，相異之處為本研究分析結果顯示 GG 為有利基因型，但 Kumchoo and Mekchay (2015) 則認為 AA 為有利基因型，且在兩個研究中 A 與 B (或 G) 對偶基因的頻率差異甚大。另於約克夏母豬的統計分析中，本研究分析呈現 AG 為有利基因型，而 Liu *et al.* (2011) 則指出 AG 與 GG 為有利基因型。此現象類似 ESR/PCR-PvuII 基因型與產仔數分析結果，以研究對象為相同品種的大白豬為例，有些研究認為 B 為有利的對偶基因 (Short *et al.*, 1997; Yurina *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2023)，但有些卻認為 A 是有利對偶基因 (Goliášová and Wolf, 2004; Pang *et al.*, 2019)，以上研究分析的差異性可能是源自品系與環境的不同，未來值得繼續追蹤與關注。

表 3. 純種母豬 NR4A1 基因型與總產仔數之相關性分析

Table 3. Association analysis between NR4A1 genotypes and TNB of purebred sows

Breed	Parity	No. of litters	Litter size (least square means \pm SE)		
			AA	AG	GG
Landrace	First	161	12.23 \pm 0.49	11.52 \pm 0.37	12.44 \pm 0.59
	Second to last	365	11.94 \pm 0.36 ^B	14.04 \pm 0.26 ^A	13.83 \pm 0.38 ^A
	All	526	12.04 \pm 0.30 ^B	13.28 \pm 0.22 ^A	13.45 \pm 0.33 ^A
Yorkshire	First	123	13.02 \pm 0.51	13.67 \pm 0.51	14.00 \pm 1.09
	Second to last	315	14.06 \pm 0.34 ^{ab}	14.37 \pm 0.33 ^a	12.63 \pm 0.73 ^b
	All	438	13.77 \pm 0.28	14.18 \pm 0.28	13.02 \pm 0.61
Duroc	First	17	8.57 \pm 1.04	7.70 \pm 0.87	—
	Second to last	34	9.30 \pm 0.77	8.96 \pm 0.50	—
	All	51	9.00 \pm 0.62	8.59 \pm 0.44	—

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

^{A, B} Means within the same row without the same superscripts differ ($P < 0.001$).

“—” No animal.

II. EXOC4 基因型頻率與總產仔數相關性分析

依據 He *et al.* (2021) 發表之方法進行 SNP rs81471943 (C/T) 基因型分析，電泳分析結果如圖 2 所示，僅具一個 539 bp 條帶者為 TT 基因型；具 539 bp、396 bp 及 143 bp 條帶者為 CT 基因型；具 396 bp 與 143 bp 條帶者為 CC 基因型，然此結果與 He *et al.* (2021) 所述 CC 基因型含 565 bp 與 75 bp 二條帶；CT 基因型含 640 bp、565 bp 及 75 bp 三條帶；TT 基因型僅具 640 bp 條帶的論述相異，經以 He *et al.* (2021) 所述之引子對，利用 UCSC In-Silico PCR 網頁 (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>) 豬基因體序列進行分析，結果獲致 539 bp 之 DNA 序列片段，序列經限制酶 *Mbi*I 分析後，所得之結果與本研究相符，由此顯示 He *et al.* (2021) 的基因型分析可能有誤。



圖 2. 以 PCR-RFLP/*Mbi*I 法鑑別 EXOC4 基因型。

M: DNA 大小標梯; CC 基因型: Lanes 1、3、4、5、7、8、9、10、12; CT 基因型: Lanes 2、6、11; TT 基因型: Lane 13。

Fig. 2. EXOC4 genotyping by PCR-RFLP/*Mbi*I.

M: DNA size ladder; CC genotype: Lanes 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12; CT genotype: Lanes 2, 6, 11; TT genotype: Lane 13.

本研究 EXOC4 基因型分析結果顯示，藍瑞斯母豬 CC、CT 及 TT 基因型分別為 61.5、34.2 及 4.4%，約克夏母豬全為 CC 基因型，而 CC 與 CT 基因型在杜洛克豬的頻率分別為 70.6 與 23.5% (表 4)。總計而言，3 個豬種 C 與 T 對偶基因的平均頻率為 0.88 與 0.12。本研究在杜洛克經產母豬 2 至末產與全胎次總產仔數與其基因型的相關性分析如表 5 顯示，CT 基因型母豬之產仔數顯著高於 CC 基因型 ($P < 0.05$)。於另兩個品種的分析結果，皆無顯著性差異。He *et al.* (2021) 分析 994 頭杜洛克母豬基因型與其產仔數性狀相關性後，發現 CC 為有利基因

型，有更大的 NBA、NW 及 LWW，且 C 對偶基因頻率占比較 T 對偶基因為高。該研究並認為此 SNP (C/T) 與位於上游啟動子正向調控元件的 SNP -1781G/A 連鎖，而 SNP -1781G/A 可能會影響潛在的轉錄因子 P53、ELK1 和 / 或 MZF1 的結合，進而調控杜洛克母豬 EXOC4 基因的表現。然因本研究杜洛克母豬的樣本數量甚少僅 17 頭、51 胎，尚待樣品數量增加後方能做出更有效的評估。

表 4. 純種母豬 EXOC4 基因型頻率

Table 4. EXOC4 genotype frequency of purebred sows

Breed	Number of sows	EXOC4 genotype percentage, %			Allele frequency	
		CC	CT	TT	C	T
Landrace	161	61.5	34.2	4.3	0.79	0.21
Yorkshire	123	100.0	0.0	0.0	1.00	0.00
Duroc	17	70.6	23.5	5.9	0.82	0.18
Total	301	77.7	19.6	2.7	0.88	0.12

表 5. 純種母豬 EXOC4 基因型與總產仔數之相關性分析

Table 5. Association analysis between NR4A1 genotypes and TNB of purebred sows

Breed	Parity	No. of litters	Litter size (least square means \pm SE)		
			CC	CT	TT
Landrace	First	161	11.67 \pm 0.34	12.35 \pm 0.45	12.00 \pm 1.27
	Second to last	365	13.39 \pm 0.25	13.45 \pm 0.29	14.80 \pm 1.15
	All	526	12.83 \pm 0.21	13.16 \pm 0.25	13.65 \pm 0.87
Yorkshire	First	123	13.40 \pm 0.63	—	—
	Second to last	315	14.07 \pm 0.23	—	—
	All	438	13.88 \pm 0.19	—	—
Duroc	First	17	7.83 \pm 0.82	9.00 \pm 1.41	7.00 \pm 2.82
	Second to last	34	8.67 \pm 0.50 ^b	10.86 \pm 0.87 ^a	8.33 \pm 0.94 ^{ab}
	All	51	8.36 \pm 0.43 ^b	10.18 \pm 0.74 ^a	8.14 \pm 0.93 ^{ab}

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

“—” No animal.

III. FSH β 基因型頻率與總產仔數相關性分析

FSH β 的基因型鑑定方式係參考 Liu *et al.* (2009) 發表之方法，可直接經由 PCR 產物電泳圖的條帶分子量大小進行鑑別，僅具一條 500 bp 條帶者為 AA 基因型，BB 基因型為僅含一條 220 bp 條帶，而 AB 基因型則含有 220 bp 與 500 bp 之二個條帶 (圖 3)，而二個條帶差異 280 bp 係因反轉錄轉座子 (retropon) 的有無所致 (Zhao *et al.*, 1998)。由本研究基因型鑑別結果顯示，藍瑞斯、約克夏及杜洛克母豬 AA、AB 及 BB 基因型的百分比，依各品種分別為 L : 3.7、36.0、60.3% vs. Y : 2.4、41.5、56.1% vs. D : 0.0%、5.9、94.1%，A 與 B 對偶基因的頻率依各品種分別為 0.03 vs. 0.97 ; 0.22 vs. 0.78 ; 0.23 vs. 0.77 (表 6)。分析結果顯示杜洛克豬未發現 AA 基因型，可能的原因為檢測樣品數目甚少，依據 111 年研究計畫檢測 371 個杜洛克豬的結果顯示 AA 基因型為 8.1% (廖等, 2022)。Liu *et al.* (2009) 分析 36 頭約克夏豬 FSH β 基因型，AA、AB 及 BB 基因型百分比分別為 5.6、16.7 及 77.8%，而由 37 頭大白豬的基因型分析，上述之基因型百分比分別為 8.1、13.5 及 78.4%，約克夏與大白豬 A 與 B 對偶基因的頻率相近，分別為 13.9 vs. 14.9% ; 86.1 vs. 85.1%。

表 7 顯示，在分析 3 個品種經產母豬計 1,015 胎次總產仔數資料與其 FSH β 基因型的相關性後，兩者並無顯著性差異。然在約克夏母豬全胎次總產仔數與其基因型的比較，BB 基因型的每胎平均產仔數 14.12 \pm 0.25 頭略高於 AA 基因型之 13.36 \pm 1.19 頭。Li *et al.* (2002) 從 11 個族群計 408 胎次的分析中發現，AA 基因型的 TNB 與 NBA 均顯著高於 BB 基因型，且 AA 基因型主要見於中國本土豬種，並認為可能是中國豬多產的主要因素之

一。Pang *et al.* (2019) 分析 432 頭具產仔性狀資料的大白豬母豬，在共計 1,587 胎數資料中，AA 基因型 42 胎，AB 基因型 368 胎，BB 基因型 1,177 胎，發現 BB 基因型每胎平均產仔數之 11.22 ± 0.09 頭顯著高於 AA 基因型之 9.87 ± 0.61 頭，此結果與本研究約克夏豬的分析類似，顯示 BB 為有利的基因型。

表 6. 純種經產母豬 FSH β 基因型頻率

Table 6. FSH β genotype frequency of purebred sows

Breed	Number of sows	FSH β genotype percentage, %			Allele frequency	
		AA	AB	BB	A	B
Landrace	161	3.7	36.0	60.3	0.22	0.78
Yorkshire	123	2.4	41.5	56.1	0.23	0.77
Duroc	17	0.0	5.9	94.1	0.03	0.97
Total	301	3.0	36.5	60.5	0.21	0.79

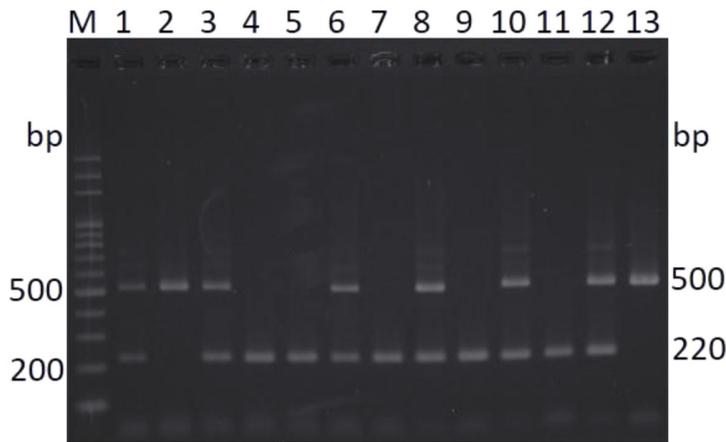


圖 3. 不同 FSH β 基因型 PCR 產物的瓊脂糖凝膠電泳圖。

M: DNA 大小標梯; AA 基因型: Lanes 2、13; AB 基因型: Lanes 1、3、6、8、10、12; BB 基因型: Lanes 4、5、7、9、11。

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis image for PCR products of different FSH β genotypes.

M: DNA size ladder; AA genotype: Lanes 2, 13; AB genotype: Lanes 1, 3, 6, 8, 10, 12; BB genotype: Lanes 4, 5, 7, 9, 11.

表 7. 純種母豬 FSH β 基因型與總產仔數之相關性分析

Table 7. Association analysis between FSH β genotypes and TNB of purebred sows

Breed	Parity	No. of litters	Litter size (least square means \pm SE)		
			AA	AB	BB
Landrace	First	161	12.50 ± 1.37	11.62 ± 0.44	12.05 ± 0.34
	Second to last	365	13.82 ± 1.09	13.15 ± 0.30	13.66 ± 0.25
	All	526	13.35 ± 0.87	12.72 ± 0.25	13.14 ± 0.21
Yorkshire	First	123	14.33 ± 2.17	12.73 ± 0.53	13.87 ± 0.45
	Second to last	315	13.00 ± 1.42	13.94 ± 0.35	14.22 ± 0.30
	All	438	13.36 ± 1.19	13.60 ± 0.29	14.12 ± 0.25
Duroc	First	17	—	8.00 ± 2.79	8.06 ± 0.70
	Second to last	34	—	9.06 ± 0.41	—
	All	51	—	8.00 ± 2.55	8.74 ± 0.36

“—” No animal.

結 論

本研究利用具產仔數資料母豬與其 DNA 進行候選遺傳標記 NR4A1、EXOC4 及 FSH β 之評估，發現具 NR4A1-GG 或 AG 基因型藍瑞斯母豬的每胎平均總產仔數顯著高於 AA 基因型 ($P < 0.001$)，另在約克夏母豬的分析中，排除初產的其他產次情形下，AG 基因型每胎平均總產仔數顯著高 GG 基因型 ($P < 0.05$)，然 GG 基因型不見於杜洛克豬中。EXOC4 的分析結果，初步發現 CT 基因型之杜洛克母豬比 TT 基因型有較高的每胎平均總產仔數 ($P < 0.05$)，而約克夏豬僅有 CC 基因型。然於 FSH β 的分析中，並未發現基因型與總產仔數的顯著相關性，杜洛克豬亦未發現有 AA 基因型。綜而言之，候選遺傳標記 NR4A1 與 EXOC4 經分析後，未來極具應用於種母豬群產仔數性能提升之潛力。

致 謝

本研究承農業部經費支持 (113 農科 -2.1.5- 畜 -L1 與 113 農科 -2.1.4- 畜 -01)，試驗期間承蒙多家種豬場之支持，始克其功，特此致謝。

參考文獻

- 財團法人中央畜產會。2022。2021 臺灣養豬統計手冊。第 9 頁。臺北市。
- 廖仁寶、王思雅、盧昱誼、陳若菁、賴永裕、劉桂柱、程梅萍。2023a。豬隻產仔性狀候選標記 miR-27a 分析法之改進。畜產研究 57：91-97。
- 廖仁寶、朱家德、呂岳錚、賴永裕、謝佳容、涂榮珍、陳裕信、林德育、程梅萍。2023b。種豬優良性狀基因選拔及其應用。農業部畜產試驗所 112 年度科技計畫研究報告。
- 廖仁寶、朱家德、賴永裕、謝佳容、劉振發、蕭振文、陳立人、程梅萍、許晉賓。2022。種豬優良性狀基因選拔及其應用。行政院農業委員會畜產試驗所 111 年度科技計畫研究報告。
- 廖仁寶、張秀鑾、賴永裕、劉錦條、吳明哲。1999。母豬造骨蛋白遺傳型對新生仔豬存活率之影響。中畜會誌 28：33-39。
- 廖仁寶、黃鈺嘉、賴永裕、吳明哲、張秀鑾。2013。豬第 8 號染色體微衛星型遺傳標記與經產母豬產仔性能之相關性研究。畜產研究 46：21-32。
- 廖仁寶、黃鈺嘉、賴永裕、吳明哲、張秀鑾。2014。豬第 6 號染色體微衛星遺傳標記與經產母豬產仔性能之相關性研究。畜產研究 47：71-82。
- 廖仁寶、黃鈺嘉、賴永裕、顏念慈、吳明哲、張秀鑾。2006。以豬第一號染色體微衛星行遺傳標記交替基因頻率與序列比較經產母豬產仔性能。畜產研究 39：99-110。
- Flowers, W. L. (2015). Factors affecting the reproductive efficiency of the breeding herd. Swine Reproduction: Challenges and Opportunities, 1-24. North Carolina State University.
- Goliášová, E. and J. Wolf. 2004. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. Anim. Genet. 35: 293-297.
- He, Y., X. Zhou, R. Zheng, Y. Jiang, Z. Yao, X. Wang, Z. Zhang, H. Zhang, J. Li, and X. Yuan. 2021. The association of an SNP in the EXOC4 gene and reproductive traits suggests its use as a breeding marker in pigs. Animals (Basel) 11: 521.
- Koketsu, Y., S. Tani, and R. Iida. 2017. Factors for improving reproductive performance of sows and herd productivity in commercial breeding herds. Porcine Health Manag. 3: 1.
- Kumchoo, T. and S. Mekchay. 2015. Association of NR4A1 and GNB2L1 genes with reproductive traits in commercial pig breeds. Genet. Mol. Res. 14: 16276-16284.
- Li, F., Y. Xiong, C. Deng, S. Jiang, and R. Zheng. 2002. Frequencies, inheritance of porcine FSH- β retroposon and its association with reproductive traits. Asian-Australas J. Anim. Sci. 15: 179-183.
- Liu, J. J., X. Q. Ran, S. Li, Y. Feng, and J. F. Wang. 2009. Polymorphism in the first intron of follicle stimulating hormone beta gene in three Chinese pig breeds and two European pig breeds. Anim. Reprod. Sci. 111(2-4): 369-375.
- Liu, L. Q., F. E. Li, C. Y. Deng, and Y. Z. Xiong. 2011. Molecular cloning, tissue expression and association of porcine

- NR4A1 gene with reproductive traits. *Mol. Biol. Rep.* 38: 103-14.
- Menegat, M. 2023. 169 Minimizing Sow Feeding Cost While Enhancing Production. *J. Anim. Sci.* 101(Suppl 2): 197.
- Pang, P., Z. Li, H. Hu, L. Wang, H. Sun, S. Mei, and F. Li. 2019. Genetic effect and combined genotype effect of ESR, FSH β , CTNNAL1 and miR-27a loci on litter size in a Large White population. *Anim. Biotechnol.* 30: 287-292.
- SAS. 2013. SAS user guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC., USA.
- Scaramuzzi, R. J., D. T. Baird, B. K. Campbell, M. A. Driancourt, J. Dupont, J. E. Fortune, R. B. Gilchrist, G. B. Martin, K. P. McNatty, A. S. McNeilly, P. Monget, D. Monniaux, C. Viñoles, and R. Webb. 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.* 23: 444-467.
- Short, T. H., M. F. Rothschild, O. I. Southwood, D. G. McLaren, A. de Vries, H. van der Steen, G. R. Eckardt, C. K. Tuggle, J. Helm, D. A. Vaske, A. J. Mileham, and G. S. Plastow. 1997. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J. Anim. Sci.* 75: 3138-3142.
- Wu, S., J. Xie, T. Zhong, L. Shen, Y. Zhao, L. Chen, M. Gan, S. Zhang, L. Zhu, and L. Niu. 2023. Genetic polymorphisms in ESR and FSH β genes and their association with litter traits in Large White pigs. *Anim. Biotechnol.* 34: 4713-4720.
- Yurina, A., E. Skovorodin, and I. Dolmatova. 2021. Evaluation of reproductive traits and ovarian and uterine morphology of sows with different genotypes for the estrogen receptor, prolactin receptor, and follicle-stimulating hormone subunit beta genes. *Can. J. Vet. Res.* 85: 186-192.
- Zhao, Y., N. Li, L. Xiao L, G. Cao, Y. Chen, S. Zhang, Y. Chen, C. Wu, J. Zhang, S. Sun, and X. Xu. 1998. FSH β subunit gene is associated with major gene controlling litter size in commercial pig breeds. *Sci. China C Life Sci.* 41: 664-668.

Evaluation of candidate markers NR4A1, EXOC4, and FSH β for litter size in purebred sows ⁽¹⁾

Ren-Bao Liaw ⁽²⁾ Si-Ya Wang ⁽²⁾ Jo-Ching Chen ⁽³⁾ Yu-Syuan Lu ⁽⁴⁾ Hsiu-Jung Tsai ⁽³⁾ Yung-Yu Lai ⁽³⁾ Kuei-Juh Liu ⁽⁴⁾ Yu-Hsin Chen ⁽⁵⁾ and Mei-Ping Cheng ⁽⁶⁾⁽⁷⁾

Received: Mar. 3, 2025; Accepted: May 6, 2025

Abstract

The purpose of this study was to identify candidate genetic markers NR4A1, EXOC4, and FSH β associated with litter size in purebred sows from Taiwanese pig farms. An association analysis was then conducted between genotypes and litter size data to assess the applicability of these candidate genetic markers in pig breeding. A total of 301 sows were genotyped for the three candidate genetic markers, followed by an association analysis between genotypes and litter size at birth. The results showed that for Landrace sows, individuals with the NR4A1-AG and GG genotypes had significantly higher average litter sizes per parity compared to those with the AA genotype ($P < 0.001$). The average litter sizes for AG, GG, and AA genotypes were 13.28 ± 0.22 , 13.45 ± 0.33 , and 12.04 ± 0.30 piglets, respectively. When excluding first parity data, the average litter size per parity for AG and GG genotypes remained significantly higher than that of the AA genotype ($P < 0.001$). For Yorkshire sows, analysis of litter size excluding first parity data revealed that the AG genotype had a significantly higher average litter size than the GG genotype ($P < 0.05$). For Duroc sows, an association analysis between EXOC4 genotype and litter size across second to last parity and overall parity showed that CT genotype sows had significantly higher average litter sizes than those with the CC genotype ($P < 0.05$). However, no significant correlation was found between FSH β genotype and litter size traits in any of the three breeds. In summary, the candidate markers NR4A1 and EXOC4 after evaluation show potential for future application in genetic selection for improving litter size in pig breeding.

Key words: Litter size, Candidate marker, Sow.

(1) Contribution No. 2826 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Forage Crops Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 712009, Taiwan, R. O. C.

(3) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 712009, Taiwan, R. O. C.

(4) Formosan Farmers Association for Swine Improvement, Taipei 100011, Taiwan, R. O. C.

(5) Livestock Management Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 712009, Taiwan, R. O. C.

(6) Deputy Director General Office, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 712009, Taiwan, R. O. C.

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

枯草芽孢桿菌發酵大豆粕產物取代大豆粕對白肉雞 生長性能、屠體及血液性狀之影響⁽¹⁾

李宗育⁽²⁾ 廖仁寶⁽³⁾ 施柏齡⁽²⁾⁽⁴⁾

收件日期：113 年 10 月 8 日；接受日期：114 年 5 月 20 日

摘 要

本研究旨在探討以枯草芽孢桿菌 TLRI 211-1 進行大豆粕之不同水分固態發酵條件，以較佳水分條件發酵後之大豆粕產物添加不同含量並取代飼糧中大豆粕，以評估對白肉雞生長性能改善情形。大豆粕添加菌液後分別調整水分含量為 50% 及 60%，進行 48 小時固態發酵，結果顯示 60% 水分組之菌數、pH 值及粗蛋白含量均略優於 50% 組，其中必需胺基酸組成亦較高，故後續以 60% 水分組之發酵大豆粕產物進行動物試驗。以 1 日齡白肉雞 160 隻，逢機分配於 4 組，分別為對照組 (0%)，發酵產物分別以 0.5% 組、1% 組及 2% 組用量取代飼糧中大豆粕，每組 40 隻，各組 4 重複，每重複 10 隻，試驗期至 35 日齡，試驗期間測定生長性能、屠體及血液性狀等。結果顯示試驗全期飼糧中含大豆粕發酵物 (The product of *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 fermented soybean meal, FSMP) 之體增重顯著優於對照組 ($P < 0.05$)，飼料轉換率則以 1% 及 2% FSMP 組顯著高於對照組 ($P < 0.05$)；在屠體性狀方面，FSMP 之各組屠體重均顯著高於對照組；在血液生化值結果顯示，FSMP 1% 與 2% 組的血液尿素氮濃度顯著高於對照組 ($P < 0.05$)，且其尿酸濃度顯著低於對照組 ($P < 0.05$)，而 FSMP 0.5% 組其血液生化值之各項血液生化值均與對照組無顯著差異。綜上，本研究推薦以枯草芽孢桿菌大豆粕固態發酵物使用 0.5% 於飼糧中，對白肉雞之血液生化值無影響且有助提高體增重及屠體重量。

關鍵詞：白肉雞、發酵大豆粕產物、生長性能。

緒 言

生長用抗生素禁止添加於飼料中，因而益生菌、益生素和有機酸為應用最多的飼料添加物，其對家禽在飼料能量和蛋白質利用有益 (Houshmand *et al.*, 2012)。益生菌自 1970 年起，即作為保健或促進生長飼料添加物使用 (Abd - Talib *et al.*, 2013)。芽孢桿菌屬 (*Bacillus* spp.) 之內生孢子 (endospore)，於飼料製造過程與貯藏過程、宿主胃酸與膽鹽等不良環境下具有保護菌體活力之作用 (黃, 2007; Sharp *et al.*, 1989)，因而成為優良的飼料添加用益生菌。而枯草芽孢桿菌 (*Bacillus subtilis*) 廣泛分布於自然環境中，可產生內孢子抵抗高溫、低 pH 值、膽鹽及消化酶之傷害，同時可分泌多種酵素、黏蛋白 (mucin)、胺基酸及礦物質 (許, 2003)，主要用於蛋白酶、澱粉酶及納豆的生產 (黃, 2007)。

枯草芽孢桿菌飼予白肉雞，顯示除可改善腸道菌群外 (Hosoi *et al.*, 1999)，並可緩解下痢 (Maruta *et al.*, 1996)、改善體增重及飼料轉換率 (Jiraphocakul *et al.*, 1990)。枯草芽孢桿菌 PB6 作為飼料添加物，可改善白肉雞體增重和飼料轉換率 (Teo and Tan, 2006)。以本所自篩之 *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 菌株已證實，於飼糧中添加菌液 0.1% 可改善白肉雞生長性能及生產效率因子 (production efficiency factor, PEF) (李等, 2022)，亦可顯著提高蛋雞之飼料換蛋率，及維持儲存期之蛋品質 (Tsai *et al.*, 2023)。

固態發酵 (solid-state fermentation, SSF) 通常定義為微生物生長在較少自由水 (free water) 含量的固體基質上，基質水分含量約 40 至 80%，而基質作為微生物發酵所需之碳氮源，即是利用微生物可進行發酵生產各種有用的物質或發酵品的過程 (Singhania *et al.*, 2009)。由於固態發酵的操作簡單、發酵產率高、容易將產物濃縮以及不易產生污

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2827 號。
(2) 農業部畜產試驗所動物營養組。
(3) 農業部畜產試驗所飼料作物組。
(4) 通訊作者，E-mail: borling@mail.tlri.gov.tw。

染物等特性，使得固態發酵相較液態發酵更具有優勢 (Raimbault, 1998)。固態發酵過程菌株利用碳源進行培養，因此大豆粕經發酵後可降解大分子蛋白質，增加大豆粕中小分子蛋白質及可利用離胺酸含量，提高大豆粕之可溶性蛋白質含量，並改善蛋白質消化率及吸收率 (Chen *et al.*, 2009; Medeiros, 2015; Zheng *et al.*, 2017)。Kiers *et al.* (2003) 分別以 *Rhizopus microspores* Lu573 及 *Bacillus subtilis* LUB83 進行大豆粕發酵處理，餵飼保育豬而可提高其體增重、採食量及飼料轉換率。諸多研究顯示，發酵大豆粕產物 (fermented soybean meal product, FSMP) 可改善肉雞體增重及飼料轉換率 (Wang *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Soumeh *et al.*, 2019)；另有其他研究顯示，發酵大豆粕產物可調節肉雞迴腸及盲腸微生物組成、腸道型態、免疫性狀及屠體性狀 (Li *et al.*, 2014; Chachaj *et al.*, 2019; Soumeh *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2020)；然亦有不同的結果顯示發酵大豆粕產物不影響肉雞上市體重及體增重 (Wang *et al.*, 2012; Jazi *et al.*, 2019)。

本研究以自行篩選之枯草芽孢桿菌作為菌源，添加於不同水分大豆粕中進行固態發酵後分析發酵產物性狀，並取較佳之發酵大豆粕產物添加於飼料中，探討對白肉雞生長性能、屠體及血液性狀之影響。

材料與方法

I. 枯草芽孢桿菌及發酵大豆粕產物製備

以本所自篩之枯草芽孢桿菌 TLRI 211-1 (*Bacillus subtilis* TLRI 211-1)，將枯草芽孢桿菌菌株 TLRI 211-1 接種於 TSB 培養液 (Tryptic Soy Broth, Merck®)，並放置於 37°C 培養箱培養 24 小時後，調整菌液為 1×10^9 CFU/mL。以大豆粕作為發酵基質使總含水率為 50 及 60%。發酵基質在發酵之前先以 125°C、1.21 kg/cm² 滅菌 20 分鐘，等待冷卻。在發酵基質中加入 10% 枯草芽孢桿菌菌液 (10^9 CFU/mL)，於 37°C 下好氧發酵 48 小時，發酵完成後以 65°C 乾燥發酵原料，使水分含量至 12% 以下。發酵前後取樣，進行一般成分及胺基酸組成分析。pH 值分析：1 g 飼料與 9 mL 滅菌水震盪混合後予以靜置，而後以 pH meter (digital pH meter, Goodly, Taiwan) 直接測定 pH 值。菌數分析：取約 1 g 發酵產物與 9 mL 生理食鹽水震盪混合後序列稀釋至適當倍率厚塗盤於 TSA (tryptic Soy Agar, merck, Germany)、PDA (Potato Dextrose Agar, NEOGEN, USA) 及 MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, merck, Germany) 盤，分別培養 24、72 及 24 小時後計算其菌數。

II. 試驗動物與處理

動物試驗經過農業部畜產試驗所 (以下簡稱畜試所) 實驗動物照護及使用小組審核通過 (編號 109-34)，並於畜試所動物營養組雞舍進行。以 1 日齡 (ROSS 308 品系) 白肉雞 160 隻 (體重 42 ± 1 g)，分配於對照組 (空白組) 與處理組，處理組以 60% 水分進行固態發酵之發酵大豆粕產物分別以 0.5、1 或 2% 取代飼糧中大豆粕，每組 4 重複，每重複 10 隻，公母各半，試驗至 35 日齡結束，飼料及飲水均為任飼。雞隻飼養期間分為育雛期 (0 - 21 日齡) 及生長期 (22 - 35 日齡)，營養分標準依 NRC (1994) 營養推薦調配，並依 AOAC (2000) 分析粗蛋白質、鈣及磷等含量，飼糧配方如表 3 及 4。

III. 動物試驗測定項目

試驗於雞隻 35 日齡時，每組每重複選取 2 隻雞各採血一次，自翼靜脈採血 6 mL。試驗結束時雞隻人道犧牲，秤量屠體重、肝臟、腹脂、腸道重、腺胃砂囊重，並採結直腸內容物。

(i) 生長性狀：雞隻分別於 1、21 及 35 日齡進行秤重，並於 21 及 35 日齡時記錄採食量及雞隻死亡率，並計算雞隻增重、飼料轉換率、育成率及生產效率因子 (Production efficiency factor, PEF) (Rehman *et al.*, 2017)。

$$\text{PEF} = \text{育成率} (\%) \times \text{最終活體重} (\text{kg}) / (\text{屠宰日齡} (\text{d}) \times \text{飼料轉換率}) \times 100。$$

(ii) 育成率：於試驗期間記錄雞隻死亡隻數，以計算雞隻累加育成率。

(iii) 屠體性狀：試驗結束時，各處理組取 8 隻，公母各半，人道犧牲後進行屠宰並測定屠宰率，並採取心臟、肝臟、腹脂、腺胃、砂囊及腸道 (小腸+大腸) 秤重，計算與體重之重量百分比。

屠體重測定：移除腹脂與內臟後之屠體重。

$$\text{屠宰率} (\text{Dressing, } \%) = (\text{屠體重} / \text{活體重}) \times 100。$$

$$\text{腹脂重} (\%) = (\text{腹脂重} / \text{活體重}) \times 100。$$

$$\text{各器官重} (\%) = (\text{各器官重} / \text{活體重}) \times 100。$$

(iv) 血液生化性狀：於試驗結束時，各組所採之 8 隻白肉雞血液樣品，公母各半靜置 1 小時後置入離心機，以 $3,000 \times g$ ，離心 10 分鐘，取血清凍存於 -20°C 備檢。以血液生化分析儀 (Hitachi 7150, Japan) 分析血清中麩胺酸草醋酸轉胺酶 (glutamate oxaloacetate transaminase, GOT)、丙酮酸轉胺酶 (glutamic phosphate transaminase,

GPT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 及肌酸磷酸酶 (creatinine kinase, CK) 之活性，以及葡萄糖 (glucose, Glu)、膽固醇 (cholesterol, CHOL)、三酸甘油酯 (triglycerides, TG)、總蛋白質 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, ALB)、球蛋白 (globulin, GLO)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (creatinine, CREA) 及尿酸 (uric acid, UA) 之濃度。

IV. 統計分析

試驗所獲得之資料，利用統計分析系統 (SAS, 2002)，以一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，若有顯著性，再以杜凱確實差異檢定 (Tukey honestly significant difference test) 比較各組平均值差異之顯著性，差異顯著性訂為 $P < 0.05$ 。

表 1. 不同發酵水分之大豆粕發酵物物理性狀

Table 1. Physiological characterizations of FSMP fermented with different water content

	UFSMP	FSMP water content, %		SEM
		50	60	
pH				
Initial	—	6.32	6.33	0.04
Fermentation	—	8.12 ^b	8.18 ^a	0.01
Dry	—	6.23 ^b	6.33 ^b	0.02
<i>Bacillus</i> -like, log cfu/g				
Initial	—	6.70	6.78	0.05
Fermentation	—	8.30 ^b	8.80 ^a	0.03
Dry	—	7.51 ^b	7.65 ^a	0.04
Nutrient composition, %				
Water content	10.70	11.00	10.90	0.13
Crude protein	42.85 ^b	44.52 ^a	44.58 ^a	0.21
Ca	0.27	0.28	0.28	0.01
P	0.52	0.52	0.51	0.01

FSMP = fermented soybean meal product.

UFSMP = unfermented soybean meal.

Data are the means of 4 batches of FSMP; each batch was tested in triplicates (n = 3).

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

表 2. 不同水分含量之大豆粕發酵物胺基酸組成

Table 2. Amino acid composition analysis of the FSMP supplement of different water content

	UFSMP	Water content, %		SEM
		50	60	
Total amino acid	43.23 ^b	45.09 ^a	45.63 ^a	0.15
Total essential amino acid	18.29 ^b	22.25 ^a	21.21 ^a	0.10
Arginine	2.93	2.84	2.86	0.01
Histidine	1.07	1.31	1.27	0.01
Isoleucine	1.90	2.32	2.23	0.01
Leucine	3.32	4.05	3.91	0.02
Lysine	2.68 ^b	3.07 ^a	2.95 ^a	0.01
Methionine	0.50 ^b	0.89 ^a	0.92 ^a	0.01
Phenylalanine	2.09 ^b	2.62 ^a	2.48 ^a	0.02
Threonine	1.63	1.84	1.81	0.01
Valine	2.17 ^b	2.86 ^a	2.78 ^a	0.01
Total nonessential amino acid	24.94	22.84	24.42	0.02
Cysteine	0.59	0.83	0.91	0.01

表 2. 不同水分含量之大豆粕發酵物胺基酸組成 (續)

Table 2. Amino acid composition analysis of the FSMP supplement of different water content (continued)

	UFSMP	Water content, %		SEM
		50	60	
Aspartic acid	4.62 ^b	5.27 ^a	5.17 ^a	0.03
Serine	1.97	1.96	2.02	0.01
Glutamic acid	7.17 ^b	8.85 ^a	8.51 ^a	0.06
Proline	2.66	2.64	2.64	0.01
Alanine	2.59	1.89	1.88	0.01
Glycine	2.09	1.80	1.81	0.01
Tyrosine	1.57	1.28	1.54	0.04

FSMP = fermented soybean meal product.

UFSMP = unfermented soybean meal product.

Data are the means of 3 batches of FSMP; each batch was tested in triplicates (n = 3).

表 3. 白肉雞 (1 - 21 日齡) 基礎飼糧組成

Table 3. The composition of experimental basal diets in 1-21 days of age of broilers

Ingredient, %	Control	FSMP, %		
		0.5	1	2
Yellow corn, grain	47.5	47.5	47.5	47.5
Soybean meal, 44% CP	38.5	38	37.5	36.5
Fish meal, 65% CP	5	5	5	5
Soybean oil	5.5	5.5	5.5	5.5
Dicalcium phosphate	1.2	1.2	1.2	1.2
Limestone, pulverized	1.2	1.2	1.2	1.2
FSMP, 44.5% CP	—	0.5	1	2
Salts	0.3	0.3	0.3	0.3
DL-Methionine	0.2	0.2	0.2	0.2
Choline chloride, 50%	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamin premix ¹	0.2	0.2	0.2	0.2
Mineral premix ²	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	100	100	100	100
Calculated value				
CP, %	23	23	23	23
ME, kcal/kg	3,150	3,150	3,150	3,150
Calcium, %	0.96	0.96	0.96	0.96
Available phosphorus, %	0.48	0.48	0.48	0.48
Analyzed value, %				
Crude protein	23.12	23.20	23.22	23.18
Calcium	0.95	0.96	0.91	0.94
Total phosphorus	0.68	0.66	0.66	0.67

FSMP = fermented soybean meal product.

¹ Supplied per kilogram of diet: vitamin A, 3,000 IU; vitamin D₃, 400 IU; vitamin E, 10 IU; vitamin K₃, 1 mg; vitamin B₁, 3.6 mg; vitamin B₂, 5.4 mg; vitamin B₆, 7.0 mg; Ca-pantothenate, 20.0 mg; niacin, 70 mg; biotin, 0.3 mg; folic acid, 1.1 mg; and vitamin B₁₂, 0.02 mg.

² Supplied per kilogram of diet: Cu (CuSO₄ · 5H₂O, 25.45% Cu), 8 mg; Fe (FeSO₄ · 7H₂O, 20.09% Fe), 80 mg; Mn (MnSO₄ · H₂O, 32.49% Mn), 60 mg; Zn (ZnO, 80.35% Zn), 40 mg; and Se (Na₂SeO₃, 45.7% Se), 0.15 mg.

表 4. 白肉雞 (22 – 35 日齡) 基礎飼糧組成

Table 4. The composition of experimental basal diets in 22-35 days of age of broilers

Ingredient, %	Control	FSMP, %		
		0.5	1	2
Yellow corn, grain	50	50	50	50
Soybean meal, 44% CP	36	35.5	35	34
Fish meal, 65% CP	5	5	5	5
Soybean oil	5.5	5.5	5.5	5.5
Dicalcium phosphate	1.2	1.2	1.2	1.2
Limestone, pulverized	1.2	1.2	1.2	1.2
FSMP, 44.5% CP	—	0.5	1	2
Salts	0.3	0.3	0.3	0.3
DL-Methionine	0.2	0.2	0.2	0.2
Choline chloride, 50%	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamin premix ¹	0.2	0.2	0.2	0.2
Mineral premix ²	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	100	100	100	100
Calculated value				
CP, %	21	21	21	21
ME, kcal/kg	3,120	3,120	3,120	3,120
Calcium, %	0.87	0.87	0.87	0.87
Available phosphorus, %	0.43	0.43	0.43	0.43
Analyzed value, %				
Crude protein	21.12	21.23	21.24	21.22
Calcium	0.89	0.88	0.89	0.90
Total phosphorus	0.63	0.65	0.63	0.64

FSMP = fermented soybean meal product.

¹ Supplied per kilogram of diet: vitamin A, 3,000 IU; vitamin D₃, 400 IU; vitamin E, 10 IU; vitamin K₃, 1 mg; vitamin B₁, 3.6 mg; vitamin B₂, 5.4 mg; vitamin B₆, 7.0 mg; Ca-pantothenate, 20.0 mg; niacin, 70 mg; biotin, 0.3 mg; folic acid, 1.1 mg; and vitamin B₁₂, 0.02 mg.

² Supplied per kilogram of diet: Cu (CuSO₄ · 5H₂O, 25.45% Cu), 8 mg; Fe (FeSO₄ · 7H₂O, 20.09% Fe), 80 mg; Mn (MnSO₄ · H₂O, 32.49% Mn), 60 mg; Zn (ZnO, 80.35% Zn), 40 mg; and Se (Na₂SeO₃, 45.7% Se), 0.15 mg.

結果與討論

I. 固態大豆粕發酵物一般成分分析

以大豆粕為基質添加 *B. subtilis* TLRI 211-1，其 50 或 60% 含水率發酵物之物理性狀如表 1 所示。枯草芽孢桿菌添加於基質中進行 48 小時發酵，以 60% 含水率組之 pH 及 *Bacillus* like 菌數顯著高於含水率 50% 組 ($P < 0.05$)，同時於發酵產物乾燥後仍顯著高於含水率 50% 組 ($P < 0.05$)。FSMP 組粗蛋白質顯著高於 UFSMP 組 ($P < 0.05$)。枯草芽孢桿菌可利用基質中碳源進行增殖，同時以基質中氮源產生代謝物 (如酵素、胜肽代謝物) (Singhania *et al.*, 2009)。經由發酵過程中分解粗蛋白質使 pH 值上升，可知 *B. subtilis* TLRI 211-1 具利用大豆粕中碳源及氮源之能力，進而增加菌數及提高粗蛋白質含量。

II. 固態大豆粕發酵物胺基酸組成

枯草芽孢桿菌固態發酵大豆粕產物胺基酸組成，如表 2 所示。以 *B. subtilis* TLRI 211-1 接種於 50、60% 含水率之大豆粕中，進行固態發酵，因試驗初始以 70% 含水率進行固態發酵，發現水分易集中於培養盤下方導致腐爛發臭，故而不做後續試驗檢測。以大豆粕經發酵後產物之總胺基酸量，在含水率 50 及 60% 培養基分別為

45.09 及 45.63%，顯著高於大豆粕之總胺基酸量 43.23% ($P < 0.05$)。固態發酵培養物之天門冬胺酸、麩胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、胱胺酸、纈胺酸及甲硫胺酸含量及比例顯著高於大豆粕。其意味高分子量的不可降解蛋白質，在固態發酵期間被枯草芽孢桿菌所釋放酵素分解為低分子量的蛋白質、胜肽或游離胺基酸 (Teng *et al.*, 2012; Rayaprolu *et al.*, 2013)；此與 Teng *et al.* (2012) 利用 *B. subtilis* 以大豆粕進行固態發酵後成分相近，同時表示 *B. subtilis* TLRI 211-1 菌株可分解大豆粕，並產生高菌數及代謝產物。因以含水率 60% 具顯著較高菌數 (表 1)，且粗蛋白質及總胺基酸含量 (表 2) 略優於含水率 50% 發酵組，故後續以發酵水分 60% 之大豆粕發酵產物進行動物試驗之飼料添加物。

III. 生長性能

以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對白肉雞生長性能之影響，詳如表 5。飼糧中含發酵大豆粕產物不影響 1 – 21 日齡白肉雞生長性狀，但可以顯著增加 22 – 35 日齡間體增重 ($P < 0.05$)，飼料轉換率僅 2% 的 FSMP 組有顯著差異 ($P < 0.05$)。飼養全期 (1 – 35 日齡)，飼糧使用發酵大豆粕產物可顯著增加體增重，並以 1 及 2% 使用量可進一步改善飼料轉換率及 PEF (生產效率因子) ($P < 0.05$)。

本試驗以枯草芽孢桿菌 (*B. subtilis* TLRI 211-1) 添加於 60% 水分之大豆粕進行固態發酵後，其發酵物含有 7.65 log cfu/g 菌數，粗蛋白質 44.58%，同時改變發酵物胺基酸比例，尤其以總必需胺基酸、總非必需胺基酸含量增加，此與前人試驗結果一致 (Teng *et al.*, 2012)。大豆粕經發酵後可降解大分子蛋白質，及增加大豆粕中小分子蛋白質及可利用離胺酸含量，提高大豆粕之可溶性蛋白質含量，進而改善白肉雞體增重及飼料轉換率 (Wang *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Soumeh *et al.*, 2019)。而以本所自篩之 *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 接種於大豆粕，並以 60% 水分進行固態發酵後，當使用 1% 於白肉雞飼料中即可具有促進生長之功效。

表 5. 以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對白肉雞採食量及生長性狀之影響

Table 5. Effects of replacing soybean meal with FSMP on feed intake and growth performance of broilers

Items	Control	FSMP, %			SEM
		0.5	1	2	
1 to 21 days of age					
Weight gain, g/bird	865	879	879	867	9.8
Feed intake, g/bird	1,219	1,142	1,107	1,109	17
Feed conversion ratio, feed intake/weight gain	1.41	1.30	1.26	1.28	0.08
22 to 35 days of age					
Weight gain, g/bird	1,262 ^b	1,338 ^a	1,389 ^a	1,383 ^a	26
Feed intake, g/bird	2,082	2,234	2,224	2,143	31
Feed conversion ratio, feed intake/weight gain	1.65 ^a	1.67 ^a	1.60 ^a	1.55 ^b	0.02
1 to 35 days of age					
Weight gain, g/bird	2,128 ^b	2,217 ^a	2,268 ^a	2,250 ^a	40
Feed intake, g/bird	3,301	3,376	3,331	3,252	44
Feed conversion ratio, feed intake/weight gain	1.55 ^a	1.52 ^{ab}	1.46 ^b	1.44 ^b	0.08
Survival rate, %	97.5	100	97.5	97.5	2.9
PEF*	382 ^b	416 ^{ab}	430 ^a	432 ^a	18

FSMP = fermented soybean meal product.

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

* Production efficiency factor, PEF = (Survival rate (%) × BW (kg)) / (age (d) × feed conversion ratio) × 100.

n = 4.

IV. 屠體性狀

以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對白肉雞屠體性狀之影響，如表 6。在活體重方面，飼糧中使用枯草芽孢桿菌固態發酵產物可顯著優於對照組 ($P < 0.05$)，在屠體重亦具相同趨勢。發酵大豆粕產物使用 1% 於飼糧在屠體之相對腹脂重顯著高於對照組 ($P < 0.05$)，與其他組別間則無顯著差異 ($P > 0.05$)，雖然其他處理組相較對照組間未具顯著差異，但腹脂重則高於對照組。相對腺胃砂囊重及相對腸道重在飼糧添加枯草芽孢桿菌固態

發酵物處理均顯著低於對照組 ($P < 0.05$)，由於本試驗雞隻採禁食後屠宰，因此處理組在消化道重量與對照組相近，故而使相對消化道之重量，均顯著低於對照組 ($P < 0.05$)。故於飼糧使用枯草芽孢桿菌固態發酵產物有較佳屠體重，進而降低腸道相對重量。

表 6. 以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對白肉雞屠體性狀之影響

Table 6. The effect of replacing soybean meal with FSMP on carcass characteristics of broilers

Items	Control	FSMP, %			SEM
		0.5	1	2	
Carcass weight, g	1,883 ^b	2,141 ^a	2,086 ^a	2,107 ^a	39.7
----- as percentage of live BW -----					
Dressing ¹	83.4	82.5	83.4	83.2	0.21
Heart	0.57	0.58	0.55	0.56	0.018
Liver	1.95	1.84	1.64	1.76	0.047
Abdominal fat	0.34 ^b	0.45 ^{ab}	0.57 ^a	0.47 ^{ab}	0.028
Proventriculus and gizzard	2.91 ^a	2.25 ^b	2.24 ^b	2.14 ^b	0.069
Intestine	3.92 ^a	3.39 ^b	3.27 ^b	3.41 ^b	0.072

FSMP = fermented soybean meal product.

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

¹ Dressing = (carcass weight / body weight) × 100.

n = 8.

V. 血液性狀

以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對白肉雞血液性狀之影響，如表 7。以發酵大豆粕產物使用 2% 於飼糧中時雞隻血清中球蛋白含量顯著低於對照組 ($P < 0.05$)，但飼糧含發酵大豆粕產物 1 及 2% 於血清中尿素氮含量顯著高於飼糧中使用發酵大豆粕產物 0.5% 組 ($P < 0.05$)，血中尿酸含量則顯著低於對照組及 0.5% 組 ($P < 0.05$)。

表 7. 以發酵大豆粕產物取代飼糧中大豆粕對 35 日齡白肉雞血液生化值之影響

Table 7. Effects of replacing soybean meal with FSMP on serum biochemical characteristics of broilers

Items ¹	Control	0.5%	1%	2%	SEM
GOT, U/L	252	272	259	280	18.9
GPT, U/L	10.4	12.0	11.3	12.0	0.89
CK, U/L	1,786	1,651	1,445	1,364	208
ALP, U/L	1,217	1,429	1,740	1,631	110
Glu, mg/dL	263	273	274	261	3.34
CHOL, g/dL	108	104	111	101	2.83
TG, mg/dL	58.5	53.6	54.0	48.7	1.81
TP, g/dL	3.28	3.00	3.31	2.77	0.087
ALB, g/dL	1.45	1.33	1.51	1.31	0.035
GLO, g/dL	1.83 ^a	1.66 ^{ab}	1.80 ^{ab}	1.46 ^b	0.058
BUN, mg/dL	1.00 ^b	1.13 ^{ab}	1.63 ^a	1.67 ^a	0.098
CREA, mg/dL	0.015	0.011	0.020	0.012	0.01
UA, mg/dL	6.35 ^a	6.20 ^a	3.58 ^b	4.56 ^b	0.53

FSMP = fermented soybean meal product.

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

¹ GOT = glutamate oxaloacetate transaminase; GPT = glutamic phosphate transaminase; CK = creatine kinase; ALP = alkaline phosphatase; GLU = glucose; CHOL = cholesterol; TG = triglycerides; TP = total protein; ALB = albumin; GLO = globulin; BUN = blood urea nitrogen; CREA = creatinine; UA = uric acid.

n = 8.

GOT、GPT、CK 分別為肝臟及肌肉腎臟之炎症及疾病指標 (白等, 1997)。本試驗以 *B. subtilis* TLRI 211-1 接種於大豆粕進行固態發酵後, 並添加於飼糧中對白肉雞血液中 GOT、GPT 及 CK 活性均不影響, 此與李等 (2022) 以 *B. subtilis* TLRI 211-1 直接添加於飼糧中不影響白肉雞具身體發炎之相關指標酵素, 再次證實 *B. subtilis* TLRI211-1 菌株及其發酵產物餵飼予白肉雞無肝炎或毒性反應產生情形。

尿酸、尿素氮及肌酸酐為動物腎功能評估之重要指標 (Abdelhalim *et al.*, 2020)。尿素氮是體內蛋白質代謝終端產物, 當飲食中嘌呤含量較低時, 尿酸則下降 (Ekpenyong and Daniel, 2015; Adewole *et al.*, 2021)。由於發酵產物之胺基酸組成及必需胺基酸含量顯著優於對照組, 故有較高之尿素氮含量, 而各組間尿酸含量雖符合正常值, 但以發酵大豆粕產物 1 及 2% 組較低, 可能與發酵產物中屬嘌呤先質之甘胺酸及麩胺酸比例較低如表 2, 同時可能添加發酵產物增加蛋白質及胺基酸之利用率 (Lee *et al.*, 2024), 而使血中尿酸含量較低。

結 論

以枯草芽孢桿菌 TLRI 211-1 添加含 60% 水分大豆粕進行固態發酵, 發酵物中可獲得較高菌數及總必需胺基酸含量, 同時以 60% 水分發酵之發酵物以 1% 於飼糧中並取代大豆粕, 可改善白肉雞增重、飼料轉換率及生產效率因子, 顯示以本所自篩枯草芽孢桿菌 TLRI 211-1 經 60% 水分大豆粕所得固態發酵物可作為白肉雞飼料添加物。

參考文獻

- 白火城、黃森源、林仁壽。1997。家畜臨床血液生化學。立宇出版社, 臺南市。
- 李宗育、廖仁寶、王嘉惠、施柏齡、范耕榛、林義福。2022。飼糧添加枯草芽孢桿菌 TLRI 211-1 對白肉雞生長性能、屠體性狀及血液生化值之影響。畜產研究 54 : 292-299。
- 黃忠村。2007。食品微生物。臺灣復文圖書有限公司。臺南市。
- 許元勳。2003。現代科技的新寵兒—神奇納豆菌。生物產業 14 : 53-59。
- Abdelhalim, M. A. K., H. A. Qaid, Y. H. Al-Mohy, and M. M. Ghannam. 2020. The protective roles of vitamin E and α -lipoic acid against nephrotoxicity, lipid peroxidation, and inflammatory damage induced by gold nanoparticles. *Int. J. Nanomed.* 15: 729-734. doi: 10.2147/ijn.s192740.
- Abd-Talib, N., S. H. Mohd-Setapar, A. K. Khamis, L. Nian-Yian, and R. Aziz. 2013. Survival of encapsulated probiotics through spray drying and non-refrigerated storage for animal feeds application. *Agric. Sci.* 04: 78-83. doi: 10.4236/as.2013.45b015.
- Adewole, D. I., S. Oladokun, and E. Santin. 2021. Effect of organic acids-essential oils blend and oat fiber combination on broiler chicken growth performance, blood parameters, and intestinal health. *Anim. Nutri.* 7: 1039-1051. doi: 10.1016/j.aninu.2021.02.001.
- Association of Official Agricultural Chemists. 2000. Official methods of analysis. 14th ed. Washington, D. C. Association of Official Analytical Chemists.
- Chachaj, R., I. Sembratowicz, M. Krauze, and K. Ognik. 2019. The effect of partial replacement of soybean meal with fermented soybean meal on chicken performance and immune status. *J. Anim. Feed Sci.* 28: 263-271.
- Chen, K. L., W. L. Kho, S. H. You, R. H. Yeh, S. W. Tang, and C. W. Hsieh. 2009. Effects of *Bacillus subtilis* var. natto and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. *Poult. Sci.* 88: 309-315.
- Ekpenyong, C. E., and N. Daniel. 2015. Roles of diets and dietary factors in the pathogenesis, management and prevention of abnormal serum uric acid levels. *Phar. Nutr.* 3: 29-45. doi: 10.1016/j.phanu.2014.12.001.
- Houshmand, M., K. Azhar, I. Zulkifli, M. H. Bejo, and A. Kamyab. 2012. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, immunity and intestinal morphology of broilers fed different levels of protein. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 42: 22-32.
- Hosoi, T., A. Ametani, K. Kiuchi, and S. Kaminogawa. 1999. Changes in fecal microflora induced by intubation of mice with *Bacillus subtilis* (natto) spores are dependent upon dietary components. *Can. J. Microbiol.* 45: 59-66.
- Jazi, V., H. Mohebodini, A. Ashayerizadeh, A. Shabani, and R. Barekatin. 2019. Fermented soybean meal ameliorates

- Salmonella Typhimurium* infection in young broiler chickens. *Poult. Sci.* 98: 5648-5660. doi: 10.3382/ps/pez338.
- Jiraphocakul, S., T. W. Sullivan, and K. M. Shahani. 1990. Influence of a dried *Bacillus subtilis* culture and antibiotics on performance and intestinal microflora in turkeys. *Poult. Sci.* 69: 1966-1973.
- Kiers, J. L., J. C. Meijer, M. J. R. Nout, F. M. Rombouts, M. J. A. Nabuurs, and J. van der Meulen. 2003. Effect of fermented soya beans on diarrhoea and feed efficiency in weaned piglets. *J. Appl. Microb.* 95: 545-552.
- Lee, T. Y., Y. S. Lee, C. P. Wu, K. W. Chan, and K. L. Chen. 2024. *Bacillus amyloliquefaciens* CU33 fermented feather-soybean meal product improves the crude protein digestibility, diarrhea status, and growth performance of goat kids. *Animals.* 14: 2809.
- Li, C. Y., J. J. Lu, C. P. Wu, and T. F. Lien. 2014. Effects of probiotics and bromelain fermented soybean meal replacing fish meal on growth performance, nutrient retention and carcass traits of broilers. *Livest. Sci.* 163:94-101. doi: 10.1016/j.livsci.2014.02.005.
- Maruta, K., H. Miyazaki, S. Masuda, M. Takahashi, T. Marubashi, Y. Tadano, and H. Takahashi. 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on the intestinal microflora in broilers. *Anim. Sci. Technol.* 67: 273-280.
- Medeiros, S. 2015. Improving the nutritional value of soybean meal through fermentation using newly isolated bacteria. MS Thesis. University of Guelph, Guelph.
- National Research Council. 1994. Nutrient Requirement of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington, D. C., USA.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electron. J. Biotech.* 1: 26-27. doi: 10.4067/S0717-34581998000300007.
- Rayaprolu, S. J., N. S. Hettiarachchy, P. Y. Chen, A. Kannan, and A. Mauromostakos. 2013. Peptides derived from high oleic acid soybean meals inhibit colon, liver and lung cancer cell growth. *Food Res. Intern.* 50: 282-288.
- Rehman, Z. ur, N. Chand, and R. U. Khan. 2017. The effect of vitamin E, l-carnitine, and ginger on production traits, immune response, and antioxidant status in two broiler strains exposed to chronic heat stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24: 26851-26857.
- SAS. 2002. SAS User's Guide. Statistical Institute, Inc., Cary, N.C.
- Sharp, R. J., M. D. Scawen, and T. Atkinson. 1989. Fermentation and downstream processing of *Bacillus*. Pages 255-292 in *Bacillus*. C. R. Harwood, ed. Plenum Press, New York, NY.
- Singhania, R. R., A. K. Patel, C. R. Soccol, and A. Pandey. 2009. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochem Eng J.* 44: 13-18. doi: 10.1016/j.bej.2008.10.019.
- Soumei, E. A., H. Mohebodini, M. Toghyani, A. Shabani, A. Ashayerizadeh, and V. Jazi. 2019. Synergistic effects of fermented soybean meal and mannan-oligosaccharide on growth performance, digestive functions, and hepatic gene expression in broiler chickens. *Poult. Sci.* 98: 6797-6807. doi: 10.3382/ps/pez409.
- Teng, D., M. Gao, Y. Yang, B. Liu, Z. Tian, and J. Wang. 2012. Bio-modification of soybean meal with *Bacillus subtilis* or *Aspergillus oryzae*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 1: 32-38.
- Teo, A. Y. and H. M. Tan. 2006. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. *J. Appl. Poult. Res.* 15: 229-235.
- Tsai, M. Y., B. L. Shih, R. B. Liaw, W. T. Chen, T. Y. Lee, H. W. Hung, K. H. Hung, and Y. F. Lin. 2023. Effect of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 on laying performance, egg quality and blood characteristics of Leghorn layers. *Anim. Biosci.* 36: 609-618.
- Wang, L. C., C. Wen, Z. Y. Jiang, and Y. M. Zhou. 2012. Evaluation of the partial replacement of high-protein feedstuff with fermented soybean meal in broiler diets. *J. Appl. Poult. Res.* 21: 849-855. doi: 10.3382/japr.2012-00563.
- Wu, P., M. K. Golly, Y. Guo, H. Ma, R. He, X. Luo, S. Luo, C. Zhang, L. Zhang, and J. Zhu. 2020. Effect of partial replacement of soybean meal with high-temperature fermented soybean meal in antibiotic-growth-promoter-free diets on growth performance, organ weights, serum indexes, intestinal flora and histomorphology of broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Tech.* 269: 114616. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114616.
- Zheng, L., D. Li, Z. L. Li, L. N. Kang, Y. Y. Jiang, X. Y. Liu, Y. P. Chi, Y. Q. Li, and J. H. Wang. 2017. Effects of *Bacillus* fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soybean meal. *Lett. Appl. Microb.* 65: 520-526.

Effects of replacing feed soybean meal with soybean meal fermented by *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 on growth performance, carcass, and blood characteristics of broilers ⁽¹⁾

Tsung-Yu Lee ⁽²⁾ Ren-Bao Liaw ⁽³⁾ and Bor-Ling Shih ⁽¹⁾⁽⁴⁾

Received: Oct. 8, 2024; Accepted: May 20, 2025

Abstract

This study aimed to explore the effects of solid-state fermentation of soybean meal inoculation with *Bacillus subtilis* TLRI 211-1 under different moisture conditions. The study then evaluated the impact of using the fermented soybean meal product (FAMP), with optimal moisture content, at different levels to the diet on the growth performance of broiler chickens. The moisture content of the soybean meal was adjusted to 50%, and 60% after inoculation, followed by 48 hours of solid-state fermentation. The results showed that the 60% moisture group had superior bacterial count, pH value, and crude protein content compared to the other groups, with higher levels of essential amino acids. Therefore, the fermented soybean meal product from the 60% moisture group was selected for subsequent animal trials. In the animal trial, 160 one-day-old broiler chickens were evenly distributed into four groups: a control group (0%), and three experimental groups replacing feed soybean meal with 0.5%, 1%, and 2% of the FSMP in the diet, with each group consisting of 40 chickens, divided into four replicates of 10 chickens each. The trial period lasted until the chickens were 35 days old, during which growth performance, carcass traits, and blood parameters were measured. The results indicated that body weight gain was significantly higher in all groups fed with the FSMP compared to the control group ($P < 0.05$), and with feed efficiency were significantly improved in the 1% and 2% FSMP groups ($P < 0.05$). Additionally, there was a significant increase in blood urea nitrogen and a decrease in uric acid levels ($P < 0.05$). In conclusion, this study recommends using 1% of *Bacillus subtilis* FSMP in the diet, as it is beneficial for improving the growth performance of broiler chickens.

Key words: Broilers, Fermented soybean products, Growth performance.

(1) Contribution No. 2827 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Nutrition Division, MOA-LRI, No. 112, Farm Rd, Hsinhua, 71246, Tainan, Taiwan, R. O. C.

(3) Forage Crops Division, MOA-LRI, No. 112, Farm Rd, Hsinhua, 71246, Tainan, Taiwan, R. O. C.

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

銀合歡 (*Leucaena leucocephala*) 經不同調製處理 作為青貯利用之研究⁽¹⁾

劉必謙⁽²⁾ Rajendra Adak⁽³⁾ 陳建德⁽³⁾ 朱明宏⁽⁴⁾⁽⁵⁾

收件日期：114 年 3 月 11 日；接受日期：114 年 5 月 23 日

摘 要

銀合歡 (*Leucaena leucocephala*) 具有生長速度快、環境適應性與再生能力強等特性，其葉片、嫩枝及豆莢對於反芻動物適口性佳且營養豐富，適合作為芻料。然而，因含有對動物具毒性的含羞草鹼 (mimosine) 而限制其利用。本研究以不同添加處理 (對照組無添加、添加 2×10^6 cfu/kg 乳酸菌、添加 5% 糖蜜與 2×10^6 cfu/kg 乳酸菌) 及不同青貯時間 (30、73 及 120 天) 進行銀合歡青貯，探討添加處理與青貯時間對於青貯品質、含羞草鹼及其具毒性代謝物 3,4- 雙羥基吡啶 (3,4-dihydroxypyridine, 3,4-DHP)、2,3- 雙羥基吡啶 (2,3-dihydroxypyridine, 2,3-DHP) 含量之影響。試驗結果顯示，添加糖蜜與乳酸菌經青貯 30 天後 pH 為 4.5，青貯評分達到 97.7 分之優良水準；對照組與僅添加乳酸菌經青貯 73 天後 pH 均為 5.2，青貯評分分別達到 92.7 與 95.3 分。各處理中以添加糖蜜與乳酸菌青貯之平均品質最佳，具有較低之 pH (4.4)、較高之乳酸含量 (6.34%) 與青貯評分 (95.6)，對照組與僅添加乳酸菌青貯之揮發性脂肪酸含量與青貯評分彼此間均無顯著差異，隨著青貯時間增加，兩者之 pH 值下降、乙酸及乳酸含量增加，但對青貯評分影響不顯著。青貯可降低銀合歡之含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量，其中以含羞草鹼與 2,3-DHP 的降幅較顯著 ($P < 0.05$)。添加處理中以添加糖蜜與乳酸菌青貯降解效果最佳，含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量分別僅 0.3、0.8 及 0.16%，又青貯時間對於含羞草鹼及其代謝物含量影響均不顯著。本研究結果顯示，銀合歡可透過添加糖蜜與乳酸菌的調製方式顯著提升青貯發酵品質並降低其毒性，當發酵穩定後，青貯品質與含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量不再隨青貯時間延長而變動，可作為後續利用之參考。

關鍵詞：青貯時間、乳酸菌、銀合歡、糖蜜、青貯。

緒 言

銀合歡 (*Leucaena leucocephala*) 屬於豆科銀合歡屬木本植物，原產於中美洲，由於能適應多種氣候環境、生長旺盛且再生能力強，因此在全球廣泛分布 (Shelton and Brewbaker, 1994)，又因其性喜高溫多雨、富含蛋白質、類胡蘿蔔素、礦物質且適口性佳，成為許多亞熱帶與熱帶地區提高動物生產力的重要芻料用灌木 (Akingbade *et al.*, 2004; Giang *et al.*, 2016)。

雖然銀合歡營養價值高，但因含有對動物具毒性的含羞草鹼 (mimosine)，造成在牲畜飼養的利用上受到限制。對反芻動物而言，含羞草鹼的毒性影響包含脫毛、食慾不振、體重下降、甲狀腺腫大、流產甚至不孕等症狀 (Blaney, 2005; Vijayakumar and Srinivasan, 2018)。這些毒性效應來自於動物取食銀合歡後，含羞草鹼與其代謝物 3,4-dihydroxypyridine (3,4-DHP) 及 2,3-dihydroxypyridine (2,3-DHP) 均是酪胺酸的結構類似物，會取代酪胺酸並抑制酪胺酸脫羧酶 (tyrosine decarboxylase) 與酪胺酸酶 (tyrosinase) 等酵素，導致依賴酪胺酸的相關蛋白質合成、代謝途徑及酵素功能喪失 (Negi *et al.*, 2014)。然而，Jones (1981) 研究顯示，以銀合歡餵飼夏威夷與印尼的山羊或牛未發生含羞草鹼中毒的臨床症狀，其原因來自於兩地的山羊與牛瘤胃中含有厭氧的革蘭氏陰性菌 (*Synergistes jonesii*) 可將含羞草鹼代謝成無毒產物，又將此細菌接種至澳洲的山羊與牛，可使動物在餵飼 100% 銀合歡飼糧下未出現毒害作用 (Jones and Megarritty, 1986)。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2828 號。
(2) 國立岡山高級農工職業學校。
(3) 國立中興大學農藝學系。
(4) 農業部畜產試驗所南區分所。
(5) 通訊作者，E-mail: mmchu@mail.tlri.gov.tw。

菌液接種雖然可有效降低銀合歡的毒害，但執行技術門檻高，為了利用富含營養的銀合歡，許多降解含羞草鹼來避免毒害的方法已開發，如乾燥、浸泡及青貯等。在 1,000°C 下乾熱處理可降低 9.45 – 14.52% 含羞草鹼含量。在 70% 濕度下進行 1,000°C 的加熱處理可顯著降低 50% 含羞草鹼含量 (Akbar and Gupta, 1985)。將葉片在 60°C 下乾燥 24 小時，然後以室溫浸泡溶液中 72 小時，再於 60°C 下乾燥 48 小時，可將含羞草鹼含量由 4.4% 降至 0.2% (Chanchay and Poosaran, 2009)。這些方法雖能有效降低含羞草鹼含量，但費時或成本高而不易大量生產。透過青貯的方式，將銀合歡葉與 20% 米糠混合後可使含羞草鹼含量減少超過 90%，青貯品質亦可達到良好等級 (Angthong *et al.*, 2007)。此外，銀合歡嫩枝與葉片在分別添加蔗糖、蔗糖與乳酸菌後青貯，青貯後兩者分別可使含羞草鹼含量減少 49 與 48%，亦具有較高的乳酸含量，較低的乙酸、丙酸與丁酸含量 (Chen *et al.*, 2014)，顯示調製處理有助於提升銀合歡青貯品質，亦可降低含羞草鹼含量。然而，除了動物可代謝含羞草鹼，銀合歡亦具有內源性酵素 (mimosinase) 可降解含羞草鹼為 3,4-DHP 與 2,3-DHP (Negi *et al.*, 2014)，青貯能否降低同樣具毒害的 3,4-DHP 與 2,3-DHP 含量，又青貯時間長短是否影響銀合歡青貯品質與含羞草鹼含量，目前尚無文獻探討。

臺灣過去為了滿足造紙原料、木材及工業用燃料的需求，自國外引進銀合歡進行造林，憑藉著強盛的生長與繁殖能力，銀合歡成為極為強勢的入侵物種，造成全島與各外離島的生物多樣性備受影響。為了減少對生態與環境的衝擊，移除與造林成為降低銀合歡數量最立竿見影的方式，但如善用其營養特性開發成當地牧場可就地取材的芻料，更可發揮其利用價值。王等 (2010) 指出銀合歡是生產有機臺灣黑山羊的廉價芻料，雖然羊隻在試驗期間未出現毒害症狀，但長期飼養仍需注意羊隻肝功能可能產生的負面影響。為了增加銀合歡的利用性，本研究以添加糖蜜、乳酸菌的調製方式進行青貯，探討不同添加處理與青貯時間對銀合歡青貯品質、含羞草鹼及其毒害代謝物含量的影響，作為銀合歡應用於反芻動物飼養的參考。

材料與方法

I. 試驗材料

銀合歡試驗材料於 2024 年 1 月 9 日取自農業部畜產試驗所南區分所放牧區 (屏東縣恆春鎮)，採集時將整株銀合歡鋸下，選取直徑 5 mm 以下之柔嫩莖桿及其所附帶之葉片、花、豆莢作為試驗材料，取樣之材料於蔭棚下堆置 2 小時後進行植體芻料化學組成分析及青貯試驗。

II. 植體芻料化學組成分析

青貯前之樣品經取樣後以 60°C 烘乾，至恆重後計算乾物率。烘乾後的樣品研磨成粉 (篩網孔徑 1 mm) 進行植體芻料化學組成分析，分析項目包含粗蛋白質 (crude protein, CP)、酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 及中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 含量。分析方法如下：CP 定量參照 AOAC (2019) 之方法，ADF 及 NDF 的測定參考 Vogel *et al.* (1999) 以 ANKOM²⁰⁰ 纖維分析儀進行。

III. 青貯試驗

銀合歡經 2 小時堆置後細切至約 2 cm，分為以下方式進行青貯試驗，對照組：青貯時無任何添加劑；接種組：青貯時添加商用乳酸菌劑 (*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*，接種量為 2×10^6 cfu/kg 材料鮮重)、添加糖蜜 (5% 鮮重) 與商用乳酸菌劑 (接種量為 2×10^6 cfu/kg 材料鮮重) 混合等兩種處理，糖蜜與乳酸菌劑均以水溶液噴灑接種。材料均勻混合後密封於真空塑膠袋內，每袋裝填 1 kg，每種處理 3 重複，於室溫下分別青貯 30、73 及 120 天後開封，測定青貯發酵品質。

IV. 青貯品質測定

取 20 g 開封後之青貯樣品加蒸餾水 180 mL，打碎過濾後以酸鹼度計測定青貯酸鹼值。利用氣體層析儀依 Jones and Kay (1976) 的方法測定青貯之乙酸、丙酸、丁酸及乳酸含量。青貯品質以 Flieg 氏評分法表示，Flieg 氏評分法以青貯中乳酸、乙酸及丁酸各佔所測定揮發性脂肪酸與乳酸總合之當量百分比，將三項數值依 Woolford (1984) 評分公式加總計算。

V. 含羞草鹼 (mimosine) 及其代謝物之萃取與測定

參考 Wu *et al.* (2012) 試驗方法，調整為以下方式測定含羞草鹼與其代謝物 3,4- 雙羥基吡啶 (3,4-dihydropyridine, 3,4-DHP)、2,3- 雙羥基吡啶 (2,3-dihydropyridine, 2,3-DHP) 含量。秤取測定銀合歡芻料化學組成之剩餘粉末 1 g，加入 20 mL 0.1N 鹽酸水溶液，靜置 1 分鐘後劇烈震盪 10 分鐘，避光靜置 24 小時，再從中取 1 mL 以 0.1N 鹽酸水溶液添加至 5 mL，經 0.22 μ m 聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 過

濾膜過濾，濾液以高效液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC) 搭配光二極體陣列式檢測器 (Photodiode array detector, PDA) 分析含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量。分析過程使用動相 0.1% (v/v) 磷酸水溶液：乙腈 (acetonitrile) = 90 : 10，分析管柱為 Agilent HC-C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm)，管柱流速為 1.0 mL/min，測定標準品為純度 98% 之左旋含羞草鹼 (L-mimosine from Koa hoale seeds, CAS:10182-48-6, Sigma-Aldrich)、純度 99% 之 3,4-DHP (CAS:10182-48-6, Combi-Blocks) 及純度 98% 之 2,3-DHP (CAS:16867-04-2, Combi-Blocks)，分別以波長 290、280 及 310 nm 之訊號測定含羞草鹼 (retention time: 5.60 min)、3,4-DHP (retention time: 6.48 min) 及 2,3-DHP (retention time: 9.56 min) 含量。

VI. 數據統計分析

試驗數據以 SAS 統計軟體 (Statistical Analysis System, SAS 9.4, SAS Institute, Cary, NC, USA) 進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，如達顯著差異，各處理平均值再以最小顯著差異 (least significance difference, LSD) 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. 青貯之發酵產物含量與品質

青貯前之銀合歡乾物率與芻料化學組成如表 1，由於採集時間為較乾燥的冬季且植株經堆置 2 小時後才進行青貯，因此乾物率較高 (41.4%)，CP、ADF 及 NDF 含量分別為 21.7、35.8 及 45.4%。Garcia *et al.* (1996) 研究顯示，銀合歡葉片之 CP 與粗纖維含量分別為 24.0 – 34.4% 與 18.0 – 20.4%，可媲美高品質苜蓿之營養組成；葉片含枝條之 CP、ADF 及 NDF 含量分別為 10.0 – 30.1%、34.1 – 36.1% 及 32.0 – 42.0%。銀合歡芻料化學組成之差異來自於品種、收穫季節及植株成熟度等因素影響，當割期相同，雨季與乾季之全株 CP 含量無顯著差異，但銀合歡在雨季因生長快速而木質化程度較高，其 ADF 與 NDF 含量因而高於乾季 (Casanova-Lugo *et al.*, 2014)。本試驗銀合歡雖於乾燥的冬季採集，但纖維含量略高於前人研究，推測為採集時植株已開花並具少許豆莢，植株成熟度較高導致纖維含量較高。

表 1. 銀合歡青貯前之乾物率及芻料化學組成

Table 1. Dry matter content and forage chemical composition of pre-ensiled *Leucaena leucocephala*

DM [†]	CP	ADF	NDF
%	% of DM		
41.4 ± 0.2 [‡]	21.7 ± 0.2	35.8 ± 1.2	45.4 ± 0.1

[†] DM, dry matter content; CP, crude protein; ADF, acid detergent fiber; NDF neutral detergent fiber.

[‡] Values are means ± standard error.

銀合歡與桑樹、構樹及辣木等高營養價值之木本植物相似，均具有含水率高、植體緩衝能力 (buffering capacity) 強且水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrates, WSC) 含量不足等特性，不易單獨製成良好青貯 (Du *et al.*, 2023)。以不同添加處理 (糖蜜、乳酸菌劑添加與否) 與青貯時間 (30、73 及 120 天) 進行銀合歡青貯試驗，青貯之 pH、丁酸含量及品質評分均極顯著受到添加處理與青貯時間之交感效應影響，又 pH 與乳酸含量均極顯著受到添加處理、青貯時間之個別主效應影響 (表 2)。由交互效應之分析結果顯示 (表 3)，對照組於青貯 30 天後開封檢測，pH 與丁酸含量最高，分別為 5.6 與 0.15%，青貯評分最低 (77.0)。添加糖蜜與乳酸菌後青貯，三種青貯天數之 pH 與丁酸含量均最低，青貯評分均可達 92.0 以上之優良品質，而對照組或僅添加乳酸菌之處理均需超過 30 天之發酵時間才能具有較佳的青貯品質，此結果與 Chen *et al.* (2014) 相似，銀合歡嫩枝與葉片分別添加蔗糖、乳酸菌、蔗糖與乳酸菌後青貯，於不同時間開封檢測。在青貯 7 天內，添加蔗糖、蔗糖與乳酸菌之 pH 顯著下降，乳酸含量顯著增加且高於無添加與僅添加乳酸菌者，乙酸含量雖增加但顯著低於無添加與僅添加乳酸菌者，添加蔗糖、蔗糖與乳酸菌在青貯 15 天後其 pH 與揮發性脂肪酸含量趨於穩定，但僅添加乳酸菌與無添加之青貯需 30 至 60 天後發酵狀態才穩定。桑葉青貯亦有相似的發酵結果 (Wang *et al.*, 2019)，青貯之 pH、乳酸、乙酸、乳酸菌及大腸桿菌 (coliform bacteria) 含量均會受到添加物與青貯時間之個別主效應及交互效應影響，添加乳酸菌與蔗糖之處理在青貯 7 天後即可達到 pH 4.0 以下且高乳酸菌與乳酸、低大腸桿菌與乙酸含量的理想青貯品質。綜合本試驗與前人研究結果，糖類與乳酸菌的添加可快速促進乳酸菌之乳酸發酵，在短時

間內生成乳酸、降低 pH 而抑制其他微生物活性，達到優良的青貯品質，亦可減少乙酸、丙酸及丁酸等不利於青貯品質的有機酸生成。

表 2. 不同添加處理與青貯時間對銀合歡青貯發酵產物與品質影響之變方分析

Table 2. Analysis of variance of the effects of different additives and ensiling times on the fermentation products and quality of *Leucaena leucocephala* silage

Source	DF	Mean square					
		pH	A [†]	P	B	L	Score
Additive treatment (A)	2	0.41*	0.43	0.02	0.00	7.29*	72.44*
Ensilng time (E)	2	2.13*	0.03*	0.00	0.00	50.53*	213.78
A × E	4	0.06*	0.04	0.02	0.02*	0.53	130.56*
Error	18	0.01	0.01	0.01	0.00	0.39	25.22

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score.

* significance at 1% levels.

表 3. 添加處理對於銀合歡不同青貯時間之發酵產物含量與品質影響

Table 3. Effect of additive treatment on fermentation products and quality of *Leucaena leucocephala* silage at different ensiling times

Ensilng time	CK [†]	L	LM
		pH	
30 d	0.98 ± 0.04 ^{aa‡}	1.03 ± 0.08 ^{aA}	0.76 ± 0.02 ^{ab}
73 d	0.89 ± 0.03 ^{ba}	0.88 ± 0.03 ^{ba}	0.75 ± 0.03 ^{ab}
120 d	0.89 ± 0.02 ^{ba}	0.87 ± 0.01 ^{ba}	0.81 ± 0.04 ^{ab}
		Butyric acid (% of DM)	
30 d	0.15 ± 0.02 ^{aA}	0.14 ± 0.06 ^{aA}	0.03 ± 0.02 ^{ab}
73 d	0.08 ± 0.03 ^{ba}	0.00 ± 0.00 ^{bb}	0.04 ± 0.02 ^{aAB}
120 d	0.04 ± 0.02 ^{ba}	0.02 ± 0.01 ^{ba}	0.04 ± 0.01 ^{aA}
		Flieg's score	
30 d	77.0 ± 0.6 ^{bc}	83.3 ± 2.0 ^{bb}	97.7 ± 2.3 ^{aA}
73 d	92.7 ± 3.8 ^{aA}	95.3 ± 2.1 ^{aA}	92.0 ± 3.1 ^{aA}
120 d	88.3 ± 3.8 ^{ab}	88.7 ± 4.5 ^{abB}	97.0 ± 2.1 ^{aA}

[†] CK, without any addition; L, addition of lactic acid bacteria; LM, addition of lactic acid bacteria and molasses.

[‡] Values are means ± standard error. Values within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

比較添加處理之個別主效應對銀合歡青貯發酵產物含量與品質之影響 (表 4)，不同處理間之乙酸、丙酸及丁酸含量均不具顯著差異，但添加糖蜜與乳酸菌之青貯在發酵後的乳酸含量 (6.34%) 顯著較高，因此其青貯評分 (95.6) 顯著高於對照組與僅添加乳酸菌之青貯。然而，僅添加乳酸菌之青貯與無添加之對照組在發酵產物含量及品質均不具顯著差異，推測 WSC 含量對於銀合歡青貯品質之影響較顯著。Du *et al.* (2023) 指出，青貯發酵的適宜乾物率為 30 – 40%，在此範圍內可促進乳酸菌進行乳酸發酵，進而抑制其他有害微生物的繁殖。若青貯乾物率過低 (< 25% DM)，容易導致發酵時間延長且產生以梭狀菌 (*Clostridia*) 為主的丁酸發酵，該過程會分解蛋白質並產生氨氮 ($\text{NH}_3\text{-N}$)，因而降低青貯發酵品質。反之，若青貯乾物率過高 (> 50% DM)，乳酸菌會因水分活性不足而生長受到抑制，無法產生大量乳酸來降低青貯 pH。本試驗之銀合歡雖然乾物率略高 (41.4%，表 1)，但對照組青貯發酵生成的乳酸、乙酸、丙酸及丁酸含量均與添加乳酸菌之青貯無顯著差異 (表 4)，又兩者之青貯評

分與乳酸含量顯著低於添加糖蜜與乳酸處理組，顯示銀合歡需添加適量之 WSC，才能發酵成品質良好之青貯。

分析青貯時間之個別主效應對銀合歡青貯發酵產物含量與品質之影響 (表 4)，丙酸與丁酸含量均不受青貯時間影響，但青貯 120 天後具有顯著較高之乳酸含量 (4.62%)，其乙酸含量 (0.82%) 亦顯著較高，但青貯評分之影響不具顯著差異，此結果與銀合歡葉片青貯相似 (Anghong *et al.*, 2007)。銀合歡葉片與 20% 米糠混合後經 21、51、81 及 111 天青貯，除 81 天青貯之乳酸含量較高外，pH、乙酸、丁酸及乳酸含量在不同青貯天數間均無顯著差異，青貯品質均可達到良好等級。然而，Chen *et al.* (2014) 研究指出，銀合歡經添加蔗糖或乳酸菌後青貯，各處理之 pH 與揮發性脂肪酸含量在 7 天內變化最顯著，30 天後各處理之 pH 與揮發性脂肪酸含量便趨於穩定，顯示青貯時間對於銀合歡青貯之發酵產物含量與品質的影響應存在於青貯初期 (< 30 天)，可待進一步分析探討。

表 4. 不同添加處理與青貯時間對銀合歡青貯在之發酵產物含量與品質之影響比較

Table 4. Comparisons of the effects of different additive treatments and ensiling times on the fermentation products and quality of *Leucaena leucocephala* silage

	pH	A [†] (%)	P (%)	B (%)	L (%)	Score
Additive treatment						
CK	5.3 ± 0.1 ^{ab}	0.51 ± 0.10 ^a	0.05 ± 0.02 ^a	0.08 ± 0.02 ^a	2.07 ± 0.27 ^b	86.0 ± 2.8 ^b
L	5.3 ± 0.1 ^a	0.62 ± 0.08 ^a	0.08 ± 0.04 ^a	0.06 ± 0.03 ^a	2.42 ± 0.28 ^b	89.1 ± 2.3 ^b
LM	4.4 ± 0.1 ^b	0.57 ± 0.05 ^a	0.07 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.02 ^a	6.34 ± 0.42 ^a	95.6 ± 1.5 ^a
Ensiling time						
30 d	5.2 ± 0.2 ^a	0.42 ± 0.05 ^b	0.09 ± 0.04 ^a	0.07 ± 0.02 ^a	2.89 ± 0.75 ^b	87.8 ± 3.1 ^a
73 d	5.0 ± 0.1 ^a	0.47 ± 0.02 ^b	0.07 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	3.32 ± 0.62 ^b	93.3 ± 1.6 ^a
120 d	4.8 ± 0.1 ^b	0.82 ± 0.06 ^a	0.10 ± 0.05 ^a	0.07 ± 0.03 ^a	4.62 ± 0.76 ^a	89.6 ± 2.7 ^a

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score; CK, without any addition; L, addition of lactic acid bacteria; LM, addition of lactic acid bacteria and molasses.

[‡] Values are means ± standard error. Values in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

II. 含羞草鹼與其代謝物含量之變化

銀合歡青貯後之含羞草鹼與其代謝物 3,4-DHP 含量均受到添加處理之主效應影響，又 3,4-DHP 含量亦受到添加處理與青貯時間之交感效應影響，但添加處理與青貯時間對 2,3-DHP 之影響均不具顯著差異 (表 5)。由交互效應之分析結果顯示 (表 6)，對照組與僅添加乳酸菌經 30 天青貯之 3,4-DHP 含量最高，分別為 0.98% 與 1.03%。添加糖蜜與乳酸菌處理之 3,4-DHP 含量，顯著低於其他處理組，且其含量在 30、73 及 120 天之不同青貯時間下並無顯著差異，分別為 0.76、0.75 及 0.81%，又對照組及僅添加乳酸菌處理組之 3,4-DHP 含量均以存放 73 與 120 天顯著低於存放 30 天。

表 5. 不同添加處理與青貯時間對銀合歡含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量影響之變方分析

Table 5. Analysis of variance of the effects of additive treatments and ensiling times on mimosine, 3,4-DHP and 2,3-DHP content of *Leucaena leucocephala* silage

Source	DF	Mean square		
		mimosine	3,4-DHP	2,3-DHP
Additive treatment (A)	2	0.0010*	0.0325**	0.0029
Ensiling time (E)	2	0.0090	0.0193	0.0002
A × E	4	0.0010	0.0442**	0.0016
Error	18	0.0000	0.0043	0.0026

*,** significance at 5% and 1% levels, respectively.

表 6. 添加處理對於銀合歡不同青貯時間之 3,4-DHP 含量影響

Table 6. Effect of additive treatments on 3,4-DHP content in *Leucaena leucocephala* silage at different ensiling times

Ensiling time	CK [†]	L	LM
	% of DM		
30 d	0.98 ± 0.04 ^{aA‡}	1.03 ± 0.08 ^{aA}	0.76 ± 0.02 ^{aB}
73 d	0.89 ± 0.03 ^{bA}	0.88 ± 0.03 ^{bA}	0.75 ± 0.03 ^{aB}
120 d	0.89 ± 0.02 ^{bA}	0.87 ± 0.01 ^{bA}	0.81 ± 0.04 ^{aB}

[†] CK, without any addition; L, addition of lactic acid bacteria; LM, addition of lactic acid bacteria and molasses.

[‡] Values are means ± standard error. Values within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Chen *et al.* (2014) 指出，銀合歡分別添加蔗糖、乳酸菌、蔗糖與乳酸菌後青貯，在相同青貯時間下，添加蔗糖、蔗糖與乳酸菌之青貯料含羞草鹼含量顯著低於無添加與僅添加乳酸菌者。比較相同青貯時間之青貯 pH 與乳酸含量，添加蔗糖、蔗糖與乳酸菌之 pH 顯著較低，兩者之乳酸含量亦顯著高於無添加與僅添加乳酸菌者，推測青貯發酵品質較佳（較低之 pH 與高乳酸含量）有助於降低含羞草鹼含量，又發酵愈快穩定且品質愈佳之青貯其含羞草鹼含量降低之速度愈快且愈顯著，此結果與本試驗之 3,4-DHP 含量及其所對應之 pH、乳酸含量及青貯品質相同（表 3、表 4 及表 6）。

本試驗青貯前之銀合歡含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量分別為 1.6、1.01 及 0.29%（表 7），含羞草鹼含量較低於前人研究（1.6 – 10%，Yanuartono *et al.*, 2019）。銀合歡之含羞草鹼含量受到品種、植株部位及生育階段等因素影響，莖稈、葉片及種子中的含量以葉片最高（1.6 – 10.0%），種子次之（3.2 – 5.0%），莖稈最低（0.1 – 2.3%），相同部位又以幼嫩者之含量較高（Yanuartono *et al.*, 2019; Honda and Borthakur, 2024），本試驗銀合歡因含有葉片、嫩莖稈、少量豆莢及花，因此含羞草鹼含量低於主要以葉片為試驗材料之前人研究。此外，含羞草鹼是銀合歡因應土壤酸鹼、乾旱、淹水及病蟲害等逆境的調控物，藉由含羞草鹼的生合成、降解為 3H4P（3 hydroxy-4-pyridone）或 3,4-DHP 與 2,3-DHP，可提升銀合歡對生物性與非生物性逆境之抗性，又 3,4-DHP 與 2,3-DHP 均為 3H4P 之同分異構物（isomer），彼此間可相互轉換來調控含羞草鹼之合成與降解（Negi *et al.*, 2014; Honda and Borthakur, 2024）。由本試驗分析結果顯示（表 7），銀合歡植株中以含羞草鹼與 3,4-DHP 含量較高，2,3-DHP 含量顯著較低。

表 7. 不同添加處理與青貯時間對銀合歡青貯之含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量影響之比較

Table 7. Comparisons of the effects of different additive treatments and ensiling times on mimosine, 3,4-DHP and 2,3-DHP content in *Leucaena leucocephala* silage

	mimosine	3,4-DHP	2,3-DHP
	% of DM		
Before ensiling	1.6	1.01	0.29
Additive treatment			
CK [†]	0.5 ± 0.1 ^{a‡}	0.92 ± 0.05 ^a	0.17 ± 0.02 ^a
L	0.3 ± 0.0 ^b	0.92 ± 0.03 ^a	0.17 ± 0.01 ^a
LM	0.3 ± 0.0 ^b	0.80 ± 0.03 ^b	0.16 ± 0.01 ^a
Ensiling time			
30 d	0.4 ± 0.1 ^a	0.92 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.02 ^a
73 d	0.4 ± 0.1 ^a	0.85 ± 0.04 ^a	0.16 ± 0.02 ^a
120 d	0.4 ± 0.0 ^a	0.86 ± 0.03 ^a	0.16 ± 0.01 ^a

[†] CK, without any addition; L, addition of lactic acid bacteria; LM, addition of lactic acid bacteria and molasses.

[‡] Values are means ± standard error. Values in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

銀合歡藉由添加米糠、蔗糖、乳酸菌後青貯，均可顯著提升青貯品質並降低含羞草鹼含量（Anghong *et al.*,

2007; Chen *et al.*, 2014), 本試驗結果顯示青貯有助於降低含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量, 其中對於含羞草鹼與 2,3-DHP 的降幅尤為顯著(表 7)。各處理中以添加糖蜜與乳酸菌之效果最佳, 青貯後之含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量分別為 0.3、0.83 及 0.16%, 均顯著低於對照組與僅添加乳酸菌者, 僅添加乳酸菌之含羞草鹼含量亦低於無添加者, 但 3,4-DHP 與 2,3-DHP 含量在兩種處理間無顯著差異, 此與 Chen *et al.* (2014) 研究結果相似, 添加蔗糖與乳酸菌之青貯可使含羞草鹼含量降低 48%, 僅添加乳酸菌與無添加之含羞草鹼含量僅分別降低 30.7 與 25.5%。

本試驗三種青貯時間之含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量均低於青貯前, 但青貯時間長短對於三者含量之影響均無顯著差異, 分別為 0.4%、0.85% – 0.92% 及 0.16% – 0.19%, 此結果與 Angthong *et al.* (2007) 相同, 銀合歡葉片青貯前之含羞草鹼含量為 1.79%, 青貯 21、51、81 及 111 天後分別為 0.13、0.14、0.16 及 0.12%, 彼此間無顯著差異, 可降低含羞草鹼含量 91.06 – 93.30%。然而, Chen *et al.* (2014) 研究顯示, 相同青貯時間下以青貯發酵品質較佳(低 pH、高乳酸、低乙酸、丙酸及丁酸含量)之含羞草鹼含量顯著較低, 其含羞草鹼降低之速度與程度亦較顯著, 又發酵達穩定狀態後, 含羞草鹼含量不會隨著青貯時間延長而下降。由青貯後之結果顯示(表 7), 在各種添加處理與青貯時間延長下, 含羞草鹼與 2,3-DHP 含量降低顯著, 3,4-DHP 含量雖下降但程度未若其他兩者, 推測青貯發酵可有效降低含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量, 但 3,4-DHP 之降解與含羞草鹼代謝為 3,4-DHP 之間可能相互抵消, 造成青貯後之 3,4-DHP 含量下降不顯著。

結 論

本試驗以不同添加處理(無添加、糖蜜、糖蜜與乳酸菌)及青貯時間(30、73 及 120 天)進行銀合歡青貯試驗, 添加糖蜜與乳酸菌經青貯 30 天後即具有優良之青貯品質, 亦能顯著降低其含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量, 僅添加乳酸菌與無添加者均需至青貯 73 天後才具有相同之青貯品質與代謝物含量。試驗結果顯示青貯發酵可降低銀合歡之含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量, 當發酵穩定後, 青貯品質與含羞草鹼、3,4-DHP 及 2,3-DHP 含量不再隨青貯時間延長而變動。

參考文獻

- 王勝德、蘇安國、楊深玄。2010。有機銀合歡進行臺灣黑山羊有機生產之可行性研究。畜產研究 39: 199-209。
- Akbar, M. A., and P. C. Gupta. 1985. Proximate composition and tannin and mineral contents of various plant parts of subabul (*Leucaena leucocephala*). Indian J. Anim. Sci. 55: 808-812.
- Akingbade, A. A., I. V. Nsahlai, and C. D. Morris. 2004. Reproductive performance, colostrum and milk constituents of mimosine-adapted South African Nguni goats on *Leucaena leucocephala*-grass or natural pastures. Small Rumin. Res. 52: 253-260.
- Angthong, W., B. Cheva-Isarakul, S. Promma, and B. Cheva-Isarkul. 2007. Beta-carotene, mimosine and quality of leucaena silage kept at different duration. Kasetsart J. Nat. Sci. 41: 282-287.
- A. O. A. C. 2019. Official Methods of Analysis. 21st ed. Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlingmt, VA.
- Blaney, B. J. 2005. Plant and fungal toxins as contaminants of feed and meat. In: Improving the safety of fresh meat. Woodhead Publishing. pp. 77-101.
- Casanova-Lugo, F., J. Petit-Aldana, F. J. Solorio-Sánchez, D. Parsons, and L. Ramírez-Avilés. 2014. Forage yield and quality of *Leucaena leucocephala* and *Guazuma ulmifolia* in mixed and pure fodder banks systems in Yucatan, Mexico. Agrofo. Syst. 88: 29-39.
- Chanchay N., and N. Poosaran. 2009. The reduction of mimosine and tannin contents in leaves of *Leucaena leucocephala*. As. J. Food and Ag-Ind. Special Issue: S137-S144.
- Chen, X. Z., F. Feng, Q. H. Liu, and J. G. Zhang. 2014. Degrading mimosine and tannins of *Leucaena leucocephala* by ensiling. Appl. Mech. Mater. 618: 349-353.
- Du, Z., F. Yang, J. Fang, S. Yamasaki, T. Oya, D. Nguluve, H. Kumagai, and Y. Cai. 2023. Silage preparation and sustainable livestock production of natural woody plant. Front. Plant Sci. 14: 1253178.
- Giang, N. T. T., M. Wanapat, K. Phesatcha, and S. Kang. 2016. Level of *Leucaena leucocephala* silage feeding on intake,

- rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy steers. *Trop. Anim. Health Prod.* 48: 1057-1064.
- Garcia, G. W., T. U. Ferguson, F. A. Neckles, and K. A. E. Archibald. 1996. The nutritive value and forage productivity of *Leucaena leucocephala*. *Anim. Feed Sci. Tech.* 60: 29-41.
- Honda, M. D. H., and D. Borthakur. 2024. Mimosine concentration in giant leucaena (*Leucaena leucocephala* subsp. *glabrata*) fluctuates with age and plant part. *Trop. Grassl. -Forrajes trop.* 12: 11-23.
- Jones, D. W. and J. J. Kay. 1976. Determination of volatile fatty acid C1-C6 and lactic acid in silage juice. *J. Sci. Food Agric.* 27: 1005-1014.
- Jones, R. J. 1981. Does ruminal metabolism of mimosine explain the absence of leucaena toxicity in Hawaii ?. *Aust. Vet. J.* 57: 55-56.
- Jones, R. J. and R. G. Megarrity. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. *Aust. Vet. J.* 63: 259-262.
- Negi, V. S., J. P. Bingham, Q. X. Li, and D. Borthakur. 2014. A carbon-nitrogen lyase from *Leucaena leucocephala* catalyzes the first step of mimosine degradation. *Plant Physiol.* 164: 922-934 .
- Shelton, H. M. and J. L. Brewbaker. 1994. *Leucaena leucocephala* – the most widely used forage tree legume. In: Gutteridge, R. C., Shelton, H. M. (eds.), *Forage tree legumes in tropical agriculture*. CAB Intl. pp. 15-29. Oxon, UK.
- Vijayakumar, S. and P. Srinivasan. 2018. Clinical management of spontaneous *Leucaena leucocephala* (Subabul) poisoning in non descriptive goat. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7: 1148-1151.
- Vogel, K. P., J. F. Pedersen, S. D. Masterson, and J. J. Toy. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.* 39: 276-279.
- Wang, Y., X. Chen, C. Wang, L. He, W. Zhou, F. Yang, and Q. Zhang. 2019. The bacterial community and fermentation quality of mulberry (*Morus alba*) leaf silage with or without *Lactobacillus casei* and sucrose. *Bioresour. Technol.* 293: 122059.
- Woolford, M. K. 1984. Factors affecting silage in and out of the silo. In: M. K. (eds.), *The silage fermentation*. Marcel Dekker, Inc. pp. 133-155. New York, USA.
- Wu, C. M., H. M. Yuan, G. Jia, G., Z. S. Wang, and X. Q. Wu. 2012. Determination of mimosine and 2,3-dihydropyridine in *Leucaena leucocephala* by reversed phase high-performance liquid chromatography. *Appl. Mech. Mater.* 140: 296-301.
- Yanuartono, Y., S. Indarjulianto, A. Nururrozi, S. Raharjo, and H. Purnamaningsih. 2019. Brief review: the negative impact of mimosin in *L. leucocephala* in ruminant animals and processing methods to reduce poisoning effects on ruminant livestock. *J. Livest. Sci. Prod.* 3: 199-213.

Study on *Leucaena leucocephala* with different ensiling treatments for silage use ⁽¹⁾

Pi-Chain Liu ⁽²⁾ Rajendra Adak ⁽³⁾ Chien-Te Chen ⁽³⁾ and Ming-Hung Chu ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Received: Mar. 11, 2025; Accepted: May 23, 2025

Abstract

Leucaena leucocephala (leucaena) is characterized by rapid growth, strong environmental adaptability, and high regenerative capacity. Its leaves, tender branches, and pods are highly palatable and rich in nutrients, making it a suitable forage resource for ruminants. However, its utilization is limited due to the presence of mimosine, a toxic compound to animals. This study aimed to investigate the effects of different additive treatments (no additives (CK), 2×10^6 cfu/kg lactic acid bacteria (LAB), and 5% molasses with 2×10^6 cfu/kg LAB) and ensiling duration (30, 73, and 120 days) on the silage quality of leucaena, and the contents of mimosine and its toxic metabolites, 3,4-dihydropyridine (3,4-DHP) and 2,3-dihydropyridine (2,3-DHP). The results showed that silage with molasses and LAB reached a pH of 4.5 and achieved a Flieg's score of 97.7, indicating excellent quality after 30 days of ensiling. In contrast, CK or with only LAB required 73 days of storage to reach a pH of 5.2, with corresponding Flieg's scores of 92.7 and 95.3, respectively. Among all treatments, the silage containing molasses and LAB exhibited the best silage quality, with a lower pH (4.4), higher lactic acid content (6.34%), and a higher silage score (95.6). There were no significant differences in volatile fatty acid content or silage score between CK and only LAB treatment. As ensiling time increased, the pH of CK and only LAB treatment silage decreased, while acetic acid and lactic acid contents increased; however, these changes did not significantly affect the silage score. Ensiling effectively reduce the contents of mimosine, 3,4-DHP, and 2,3-DHP in leucaena, with the most significant reductions observed in mimosine and 2,3-DHP ($P < 0.05$). The greatest degradation was achieved with molasses and LAB treatment, resulting in final concentration of mimosine, 3,4-DHP, and 2,3-DHP of 0.3, 0.8, and 0.16%, respectively. Furthermore, ensiling time had no significant effect on the residual content of mimosine and its metabolites. In conclusion, the results of this study indicated that the silage quality of leucaena can be significantly improved and its toxicity effectively reduced by addition of molasses and lactic acid bacteria. Once fermentation stabilizes, further ensiling does not substantially alter silage quality or the concentrations of mimosine, 3,4-DHP, and 2,3-DHP, which can serve as a reference for use.

Key words: Ensiling time, Lactic acid bacteria, *Leucaena leucocephala*, Molasses, Silage.

(1) Contribution No. 2828 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) National Kangshan Agriculture and Industrial Vocational Senior High School, Kaohsiung 820001, Taiwan, R. O. C.

(3) National Chung Hsing University, Department of Agronomy, Taichung 402202, Taiwan, R. O. C.

(4) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 946004, Taiwan, R. O. C.

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

高溫濕度指數下補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對亞臨床性乳房炎荷蘭泌乳牛之泌乳性能與血液性狀之影響⁽¹⁾

張俊達⁽²⁾ 范耕榛⁽²⁾ 王思涵⁽³⁾ 吳鈴彩⁽⁴⁾⁽⁵⁾

收件日期：114 年 2 月 19 日；接受日期：114 年 5 月 23 日

摘 要

本試驗探討高溫濕度指數下 (temperature-humidity index, THI；大於 72) 額外補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對荷蘭乳牛泌乳性能與血液性狀之影響。使用 21 頭亞臨床性乳房炎的荷蘭泌乳牛逢機分成三組，包括對照組 (不補充)、處理 1 組 (每天每頭額外補充 500 IU 維生素 E 與 6 mg 硒)、以及處理 2 組 (每天每頭額外補充 500 IU 維生素 E、6 mg 硒與 600 mg β -胡蘿蔔素)，試驗期為 30 天包括第 1 至 20 天為適應期與第 21 天至 30 天為採樣期。結果顯示，試驗期間 THI 平均為 74.6 ± 2.8 。高 THI 下補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素並不影響採食量、產乳量與泌乳效率。乳成分部分，補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素較對照組增加乳脂率 ($P = 0.19$ ，增加 2.5%) 及減少體細胞之趨勢 ($P = 0.15$ ，減少 8.1%)。血液性狀部分，補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素組較對照組增加麩胱甘肽過氧化物酶 ($P = 0.15$) 與總抗氧化能力 ($P = 0.13$) 之趨勢。綜上所述，高 THI 下補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素降低牛乳體細胞數可能與提升抗氧化能力有關，因此可作為酪農在熱季期間營養補充之參考。

關鍵詞：荷蘭泌乳牛、亞臨床性乳房炎、高溫濕度指數。

緒 言

根據交通部中央氣象署農業氣象觀測網監測系統之歷史資料顯示，臺灣南部地區近三年每年 6 至 9 月份常發生高溫 (平均大於 28°C) 且高相對濕度 (平均大於 RH 80%) 之現象。在這樣的氣候條件下，容易引起畜舍環境產生高 THI 造成牛隻熱緊迫，且每年這段時間對酪農戶都是需要去面臨的一項挑戰。Chase (2006) 的研究證實，當畜舍溫度超過 25°C 或 THI 大於 72 時牛隻易產生熱緊迫的現象。Loven (1988) 與 Ganaie *et al.* (2013) 均指出，暴露在高溫下緊迫會產生自由基造成氧化緊迫 (oxidative stress)，主要是因為動物暴露在熱環境下會提高活性氧類 (reactive oxygen species, ROS) 與誘發氧化緊迫而導致細胞毒性 (cytotoxicity) (Bernabucci *et al.*, 2002)。因此，動物在熱環境下也會造成內源性抗氧化物質 (endogenous antioxidants) 的減少 (Pandey *et al.*, 2012)，因此補充抗氧化物質可能是減少氧化緊迫最適方法。維生素 E 可被視為脂質過氧化抑制者的阻斷 (chain blocker)，而硒是一種微量營養素且也是穀胱甘肽過氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-PX) 正常功能所必需的元素。穀胱甘肽過氧化物酶是一種預防性抗氧化劑，因為它可催化過氧化物為化為穩定的非自由基產物，從而抑制自由基的產生。 β -胡蘿蔔素既可以作為預防性抗氧化劑，也可以作為鏈斷裂 (chain-breaking) 抗氧化劑，因為它可以有效清除單線態氧和其他活性氧，以防止氧化的引發，並捕獲自由基以阻止鏈式反應的傳播 (Krinsky, 1989)。維生素 E 與 β -胡蘿蔔素對抵抗脂質過氧化反應產生協同作用，其中維生素 E 為破壞脂肪酸過氧化物鏈的反應，而 β -胡蘿蔔素則是預防脂肪酸過氧化物鏈的開始 (Weiss, 2005)。因此本試驗目的在探討熱季高 THI 期間維生素 E、硒或 β -胡蘿蔔素探討對荷蘭泌乳牛隻乾物質採食量、產乳量、乳成分以及血液生化反應之影響。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2829 號。
(2) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(3) 農業部畜產試驗所北區分所。
(4) 農業部畜產試驗所畜產加工組。
(5) 通訊作者，E-mail: wlt@mail.tlri.gov.tw。

材料與方法

本試驗動物之使用、飼養及實驗之內容皆依據農業部畜產試驗所實驗動物照護與使用小組之審查同意文件 (同意書編號: 113-20) 及試驗準則進行。

I. 動物試驗環境

使用 21 頭荷蘭泌乳牛飼養在農業部畜產試驗所畜產經營組牛舍, 試驗區域為長與寬分別為 24 m 與 10 m, 每頭牛可活動空間為 11.4 m², 試驗期間提供降溫設施包括全日開起的 8 臺風扇 (36 吋, 2 馬力, 3 葉片, 風量 26,300 m³/h), 風扇置於採食走道及牛床上方所測得的風速介於 4 – 5 m/s, 而灑水降溫系統則設置在採食區頸部上方, 於每日 8:00 – 8:30、9:00 – 9:30、10:00 – 10:30、15:50 – 16:20、16:50 – 17:20、17:50 – 18:20、22:00 – 22:30 與 23:00 – 23:30 共 8 次進行, 每次 6 循環, 每循環 5 分鐘, 包括噴水 1 分鐘與停止噴水 4 分鐘。

II. 試驗動物及飼養管理

自乳牛群性能改良計畫 (Dairy Herd Improvement, DHI) 的測乳結果, 挑選 21 頭亞臨床性乳房炎之荷蘭種泌乳牛, 其體細胞數持續維持在 200,000 cells/mL 以上, 且無任何臨床症狀 (乳房之紅、腫、熱、痛與乳質異常等) 分 3 組每組 7 頭, 各組皆包含 4 頭非懷孕牛隻與 3 頭懷孕牛隻, 其中對照組則依據 NRC (2021) 推薦給予因應熱緊迫調整飼糧 (Staples, 2007; Das *et al.*, 2016) 以滿足預期之蛋白質、礦物質與維生素需要量。而處理組為在對照組的相同基礎上, 再針對亞臨床性乳房炎額外補充, 包括處理 1 組則是每天每頭額外補充 500 IU 維生素 E (50% dl- α -tocopherol acetate, Sigma-Aldrich Production GmbH, Switzerland) 與 6 mg 硒 (商用甲硫胺酸螯合硒, 硒含量為 0.1%, Zinpro[®] Availa[®] Zn, zinpro corporation, US) (處理 1 組)、以及處理 2 組為每天每頭額外補充 500 IU 維生素 E、6 mg 硒與 600 mg β -胡蘿蔔素 (Rovimix[®] β -Carotene containing 10% β -carotene; DSM Nutrition Products France, Village-Neuf, France)。對照組、處理 1 組與處理 2 組之牛隻乳量分別為 25.9 \pm 6.5、26.2 \pm 6.8 與 25.6 \pm 8.7kg; 胎次則分別為 1.9 \pm 0.9、2.0 \pm 0.8 及 1.8 \pm 1.1 胎; 泌乳天數分別為 204 \pm 24、194 \pm 30 與 210 \pm 26 天。試驗期為 30 天, 其中前 21 天為適應期, 第 22 至 30 天為採樣期。完全混合日糧 (total mixed ration, TMR) 組成包括百慕達乾草、苜蓿乾草、青貯玉米、麩皮、啤酒粕及以玉米與大豆粕為主之精料, 每日配製兩次, 分別於上午 7:00 配製 1/3 量及下午 2:30 配製 2/3 量, 其飼糧組成如表 1。另以自動給水槽供乾淨飲水及礦鹽任食。

表 1. 試驗牛群之完全混合日糧之組成及營養成分

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the total mixed ration for lactating cows in trial

Ingredients	Percentage, % DM
Corn silage	15.49
Bermuda hay	16.38
Alfalfa hay	14.15
Brewer's grain, wet	5.44
Wheat bran	4.78
Corn, ground	23.92
Soybean meal, 43% CP	8.68
Soybean oil	2.47
Fish meal, 60% CP	3.91
Salt	0.27
Calcium phosphate	1.18
Limestone	1.18
Sodium bicarbonate	1.45
Premix ¹	0.30
Total	100.00
Composition, % of DM	
Crude protein, %	17.1

表 1. 試驗牛群之完全混合日糧之組成及營養成分 (續)

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the total mixed ration for lactating cows in trial (continued)

Ingredients	Percentage, % DM
Neutral detergent fiber, %	33.2
Acid detergent fiber, %	18.0
Calcium, %	1.3
Phosphorus, %	0.7
Net energy of lactation ² , Mcal/kg	1.69

¹ Each kilogram of premix contains: Vit. A, 10,000,000 IU; Vit. E, 70,000 IU; Vit. D₃, 1,600,000 IU; Fe, 50 g; Cu, 10 g; Zn, 40 g; I, 0.5 g; Se, 0.1 g; Co, 0.1 g.

² Net energy of lactation value is calculated according to NRC (2001).

III. 測定項目

(i) 牛舍環境參數

牛舍內分別放置各 3 組溫濕度感應器 (HOBO pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, MA, USA)。於試驗期間連續每隔 1 小時測定及記錄溫濕度一次，每週將資料轉錄至電腦中以進行牛舍與運動場環境參數的累計與分析並計算 THI 值，THI 值以 National Oceanic and Atmospheric Administration (1976) 法計算，其公式 $THI = 9/5 \times T + 32 - 0.55 \times (1 - RH) \times (9/5 \times T - 26)$ ，T 為氣溫 (°C)；RH 為相對濕度 (%)，風速則是依據中央氣象局畜產試驗所分站所測量。

(ii) 牛隻性能表現

- 牛隻乾物質採食量：每日記錄各組牛群的 TMR 下午上午提供量、隔日下午剩餘量及實際各組牛頭數，並依牛隻採食情形適當增減 TMR 提供量，調整各組剩料量為其配製量的 5 至 10%。每日採集各組 TMR 與各組剩料，密封於 -20°C 凍存，或即開始 55°C 的烘乾 48 hr 秤重，以計算每組每日乾物質採食量。
- 乳量及乳成分：每日擠乳兩次，分別為清晨 4：30 與下午 3：45，由電腦記錄個別牛隻泌乳量。於試驗開始時與第 29 與 30 天採集個別牛隻乳樣兩天，混合個別牛各日上、下午乳樣後，送至農業部畜產試驗所北區分所 DHI 乳樣檢驗中心，以多功能快速乳製品成分分析儀 (MilkoScan™ FT+, Denmark)，分析乳脂率、乳糖率、乳蛋白質率、無脂固形物率、總固形物率、尿素氮以及體細胞數。另於試驗開始後若發現體細胞數大於 50 萬 /mL，則進行加州乳房炎試驗 (California mastitis test, CMT) 來檢驗牛乳，若 CMT 呈現陽性反應，則判定為乳房炎牛隻。
- 血液生化值分析測定：於試驗開始後第 30 天，試驗牛隻於上午餵食後 3 小時進行以不含抗凝劑之採集管經尾靜脈採集血液 10 mL，靜置後以 3,000 × g 離心 15 分鐘 4°C (Cheng *et al.*, 2016) 取得血清後並以 -40°C 下保存，以血液生化分析儀 (Hitachi 7070, Japan) 分析超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、穀胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、總抗氧化能力 (total antioxidant capacity, TAC)、麩胺酸草乙酸轉胺酶 (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)、麩胺酸丙酮酸轉胺酶 (glutamic pyruvate transaminase, GPT)、肌酸磷酸激酶 (creatine phosphokinase, CPK)、乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 及鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 等分析。

IV. 統計分析

溫濕度指數、產乳量、乾物質採食量、乳成分及血液性狀以平均值表示。試驗所得資料以統計分析系統套裝軟體 (SAS, 2002) 進行統計分析，並使用一般線性模式 (general linear model, GLM) 進行有 / 無變積校正的 CRD (completely randomized design) 統計分析。當 $P < 0.05$ ，代表各組間有顯著差異，再以最小平方均值 (least squares mean) 測定法比較各組平均值間差異之顯著性。

結果與討論

試驗期間牛舍內 (24 小時) 之平均 THI 變化如圖 1。牛舍整天的平均 THI 為 74.6 ± 2.8 ，試驗期間平均每日整點時間所測得的 THI 皆大於 72，特別是上午 5 點之後 THI 就逐漸上升至下午 2 點，然後逐漸下降至隔天早上 4 點。其測定的結果與張及范 (2024) 所測得的 THI (76.4 ± 2.8) 結果相似，牛隻皆屬於輕度熱緊迫環境 (THI 介於 72

至 78)。當 THI 大於 72 時，牛隻易產生熱緊迫現象，進而影響到牛隻採食量下降與生乳體細胞數之增加 (Chase, 2006)。顯示臺灣南部在每年熱季可能容易造成畜舍多處於高溫多濕的環境，Shiao *et al.* (2011) 指出畜舍內增加降溫設施可以舒緩，但是高溫多濕的環境仍會造成牛隻產生熱緊迫狀態。因此酪農每年 6 至 10 月皆需要去面臨與克服的問題。

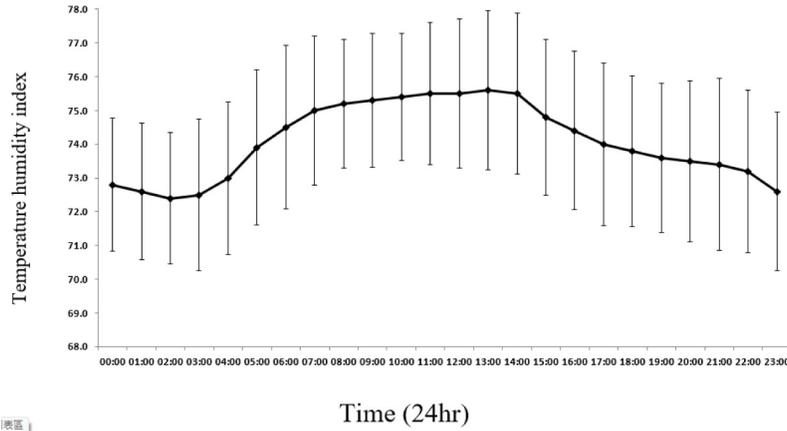


圖 1. 試驗期間 (2024 年 6 至 7 月份) 牛舍環境之溫濕度指數變化。

Fig. 1. Daily temperature and humidity index changes in cowshed during June-July in 2024 (means \pm SD).

高 THI 下補充微量元素對荷蘭泌乳牛泌乳表現的影響如表 2。結果顯示，雖然乾物質採食量、產乳量與泌乳效率 (產乳量 / 乾物質採食量) 皆未受試驗處理呈顯著影響，但是補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素較對照組可分別增加 2% 乾物質採食量與 2.1% 產乳量。張等 (2016) 在熱季期間 (THI 平均為 81.95 ± 3.3) 於荷蘭泌乳牛飼糧中補充維生素 E 與硒，結果發現也並未對採食量、產乳量與泌乳效率產生顯著差異。Guerra *et al.* (2012) 則是使用 20 頭艾爾夏 (Ayrshire) 泌乳牛分 2 組進行試驗，分別為對照組 (不補充) 與處理組為補充 300 IU 維生素 E 與 0.3 ppm 硒，結果指出雖然採食量未受到影響，但是補充維生素 E 與硒有顯著提升產乳量。de Ondarza *et al.* (2009) 使用荷蘭泌乳牛於每天每頭補充 425 mg β -胡蘿蔔素發現並未影響產乳量，但是 Arechiga *et al.* (1998) 發現於熱緊迫下荷蘭泌乳牛每天每頭補充 400 mg β -胡蘿蔔素則有顯著增加產乳量，該作者指出增加產乳量可能是因為 β -胡蘿蔔素可以提高乳腺的抗氧化狀態從而維持乳腺泡上皮細胞 (alveolar epithelial cells) 的功能。

表 2. 熱季期間補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對荷蘭泌乳牛泌乳表現之影響

Table 2. Effect of vitamin E, selenium, and β -carotene supplementation on lactation performance of Holstein lactating cows during the hot season

Items	Dietary treatments*			P-value
	Control	Vit E + Se	Vit E + Se + β -Caroten	
Dry matter intake, kg	18.9	19.2	19.3	0.65
Body weight, kg	634	648	639	0.53
Milk production, kg	23.7	23.9	24.2	0.64
Milk efficiency (milk/intake)	1.25	1.24	1.25	0.58
Milk composition				
Fat, %	3.60	3.63	3.69	0.19
Protein, %	3.23	3.22	3.26	0.92
Lactose, %	4.84	4.84	4.89	0.67
Solid of non-fat, %	8.87	8.91	8.96	0.68
Somatic cell counts, 10,000/mL	28.4	26.9	26.1	0.15
Mastitis, %	42% (3/7)	28% (2/7)	14% (1/7)	

* Dietary treatments were no trace element included with top dress (Control), 500 IU Vitamin E and 6 mg Selenium included with top dress (Vit E + Se) or 500 IU Vitamin E, 6 mg Selenium and 600 mg β -Carotene included with top dress (Vit E + Se + β -Carotene).

乳成分部分，試驗補充維生素 E 與硒並未影響乳成分，此結果與張等 (2016) 於熱季期間補充維生素 E 與硒結果相似，但是本試驗補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素較對照組增加乳脂率 ($P = 0.19$ ，增加 2.5%) 及減少體細胞數之趨勢 ($P = 0.15$ ，減少 8.1%) 之趨勢，且本試驗補充維生素 E 與硒或補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素可分別減少 14% 及 28% (每組 7 頭其中對照組發生 3 頭、維生素 E 與硒組發生 2 頭以及維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素組發生 1 頭) 的乳房炎發生。de Ondarza *et al.* (2009) 每天每頭補充 425 mg β -胡蘿蔔素有增加荷蘭泌乳牛隻 (泌乳天數 0 至 200 天) 乳脂率的趨勢，該作者推測並指出可能是因為補充 β -胡蘿蔔素改變瘤胃生物氫化作用 (rumen biohydrogenation) 並減少瘤胃中反式 10 異構體 (trans-10 isomers) 的形成，進而減少乳脂的抑制作用，或者也有可能是因為補充 β -胡蘿蔔素對瘤胃纖維素分解菌有正面效應 (Hino *et al.*, 1993)。Kumar *et al.* (2020) 使用 12 頭雜交泌乳牛分成 2 組包括對照組 (不補充) 與試驗組為每天每頭補充 500 mg β -胡蘿蔔素且試驗持續 30 天，結果發現補充 β -胡蘿蔔素補充到第三週有減少生乳體細胞數之趨勢 ($P = 0.17$)，到了第四週有顯著降低生乳體細胞數 ($P < 0.05$)，作者表明在牛群飼糧中添加 β -胡蘿蔔素，可透過降低體細胞數來改善生乳品質。Oliveira *et al.* (2015) 於經產泌乳牛每天每頭補充 1.2 g β -胡蘿蔔素，結果指出有降低大於 20 萬體細胞之比例的趨勢，作者指出此部分可能是因為 β -胡蘿蔔素可作為抗氧化劑有關。然而補充 β -胡蘿蔔素也可能與提升免疫能力有關，Michal *et al.* (1994) 發現每天每頭補充 300 mg 或 600 mg β -胡蘿蔔素可提高血中 β -胡蘿蔔素濃度，但是補充 600 mg β -胡蘿蔔素可增加淋巴球的增殖 (lymphocyte proliferation)，作者指出 β -胡蘿蔔素可能透過提高淋巴細胞與吞噬細胞的功能來增強宿主的防禦機制進而降低某些生殖疾病的發生率。本試驗在試驗期間每組各有 4 頭未懷孕的泌乳牛，其中對照組於試驗後第 11 天經觸診發生 1 頭懷孕、維生素 E 與硒組則是於試驗後 18 天發生 1 頭，而維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素組則分別於試驗後第 18 天與第 25 天經觸診各發現 1 頭懷孕共計 2 頭。但是本試驗的試驗天數為 30 天且試驗牛隻並未進行同期化，因此本試驗的繁殖結果是否是因為補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素所造成的影響仍有待評估，未來可能需要有較長的試驗時間以及同期化處理來進一步探討。Figueiredo *et al.* (2024) 指出子宮內膜炎容易造成人工授精後受精作用的損害及早期胚胎死亡率增加，進而降低受胎率。Arechiga *et al.* (1998) 的研究報告指出每天每頭補充 400 mg β -胡蘿蔔素可提高牛隻的懷孕率。Lotthammer (1979) 指出補充 β -胡蘿蔔素可以提高子宮復舊與排卵，並降低卵巢囊腫與早期胚胎死亡率的發生率。泌乳牛每天補充 β -胡蘿蔔素可能有利於 β -胡蘿蔔素在子宮與卵巢轉化為維生素 A (Schweigert, 2003)。細胞培養研究 (Young *et al.*, 1995) 指出， β -胡蘿蔔素在黃體細胞中可防止側鏈裂解酶 (side-chain cleavage enzymes) 失去活性，而側鏈裂解酶可能與類固醇合成過程中透過非二硫鍵 (nondisulfide) 與皮質鐵氧還蛋白 (adrenodoxin) 提供的電子以共價鍵交聯。這可能意味著 β -胡蘿蔔素可以保護膽固醇側鏈裂解酶免受氧自由基的傷害。

熱季期間補充維生素 E 與硒或補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對血中酵素與抗氧化狀態的影響如表 3 所示。結果顯示，不管是補充維生素 E 與硒或補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素皆未對 GOT、GPT、AP、CPK 及 LDH 產生顯著影響。張等 (2016) 在熱季期間 (THI 平均為 81.95 ± 3.3) 於荷蘭泌乳牛飼糧中補充維生素 E 與硒也未對 GOT、AP、LDH 及 CPK 產生顯著影響，但是 GPT 有受到維生素 E 與硒的補充有減少的趨勢 (減少 17%， $P = 0.18$)，而本試驗補充維生素 E 與硒或補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素則分別減少 7 及 5%。GPT 存在於血漿及多種身體組織中，最常與肝臟關聯，而 GPT 濃度含量的增加往往與肝損傷等疾病存在 (Kauppinen, 1984)。然而健康泌乳牛隻 (泌乳期 90 天至泌乳期結束) 之血中 GOT 與 GPT 數值分別為 44.91 ± 6.93 與 20.08 ± 3.74 IU/L，而本試驗三組牛隻的 GOT 及 GPT 數值分別 64.6 至 66.4 及 24.4 至 26.3 IU/L 皆較 Stojevi *et al.* (2005) 所述的牛隻為高，顯示可能有受熱緊迫現象。抗氧化狀態部分，補充維生素 E 與硒或補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素並未增加 SOD 含量，但是補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素較對照組有提高 GSH-Px ($P = 0.15$) 趨勢。酵素型抗氧化系統 (enzymatic antioxidants) 可透過其額外電子消除氧化分子的不成對價電子，並在控制氧化平衡中發揮至關重要的作用 (Suresh *et al.*, 2009)。先前的研究顯示，熱緊迫下會使乳牛血中的 TAC 和 SOD 水平降低導致氧化壓力的增加 (Megahed *et al.*, 2008; Safa *et al.*, 2008)。本試驗的結果顯示維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素等各元素之間可能產生協同作用，使得 TAC 有增加的傾向 ($P = 0.13$)。因此，本試驗牛乳體細胞數的減少可能是受到補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素使得體內的抗氧化能力提升有關。

表 4 熱季期間補充微量元素對荷蘭泌乳牛之經濟效益評估。本試驗額外補充維生素 E、有機硒與 β -胡蘿蔔素之每天每頭成本分別為 0.6 元、0.03 元以及 2.16 元，因此補充維生素 E 與有機硒之額外補充成本約新臺幣 0.63 元，而補充維生素 E、有機硒與 β -胡蘿蔔素之額外補充成本為約新臺幣 2.79 元。每日每頭飼料費分別為新臺幣 298.6 元、303.4 元及 304.9 元。每日乳款收入扣除飼料費後之粗收益，額外補充維生素 E、有機硒與 β -胡蘿蔔素組較對照組增加 1.5% 之粗收益。

表 3. 熱季期間補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對荷蘭泌乳牛血液生化值之影響Table 3. Effect of vitamin E, selenium, and β -carotene supplementation on blood biochemical values of Holstein lactating cows during the hot season

Items	Dietary treatments*			P-value
	Control	Vit E + Se	Vit E + Se + β -Caroten	
Glutamic-oxal actaic transminase (IU/L)	66.4	65.2	64.6	0.54
Glutamate-pyruvate transiniase (IU/L)	26.3	24.4	24.9	0.42
Alkaline phosphatase (IU/L)	30.5	29.0	28.6	0.45
Lactate dehydrogenase (IU/L)	667	658	629	0.35
Creatine phosphokinase (IU/L)	165	149	150	0.52
Superoxide dismutase (U/mL)	45.4	45.1	44.5	0.35
Glutathione peroxidase (U/L)	294	312	325	0.15
Total antioxidant capacity (μ M)	643	669	690	0.13

* Dietary treatments were no element included with top dress (Control), 500 IU Vitamin E and 6 mg Selenium included with top dress (Vit E + Se) or 500 IU Vitamin E, 6 mg Selenium and 600 mg β -Carotene included with top dress (Vit E + Se + β -Carotene). Top dress vehicle was 300 g of dried concentrate.

表 4. 熱季期間補充維生素 E、硒與 β -胡蘿蔔素對荷蘭泌乳牛之經濟效益評估Table 4. Evaluation of economic benefit of dietary additional supplementation vitamin E, selenium, and β -carotene for Holstein lactating cows

Items	Dietary treatments*		
	Control	Vit E + Se	Vit E + Se + β -Caroten
Diet price, NT\$/kg DM	15.8	15.8	15.8
Diet fee, NT\$/cow/day	298.6	303.4	304.9
Milk price, NT\$/kg	30.6	30.6	30.6
Milk income, NT\$/cow/day	725.2	731.3	740.5
IOFC, NT\$/cow/day ¹	426.6	427.9	435.4
IOFC, %	(100%)	(100%)	(102.0%)

* Dietary treatments were no element included with top dress (Control), 500 IU Vitamin E and 6 mg Selenium included with top dress (Vit E + Se) or 500 IU Vitamin E, 6 mg Selenium and 600 mg β -Carotene included with top dress (Vit E + Se + β -Carotene). Top dress vehicle was 300 g of dried concentrate.

¹ IOFC: income over feed cost.

結 論

熱季期間 (THI 為 74.6 ± 2.8) 泌乳牛隻額外補充 500 IU 維生素 E、6 mg 硒與 600 mg β -胡蘿蔔素並不影響牛隻乾物質採食量、產乳量與泌乳效率，但是有提升抗氧化狀態與減少乳體細胞之趨勢。本試驗之結果可提供酪農於熱季期間牛隻營養補充之參考。

參考文獻

張俊達、蕭宗法、楊德威、歐修汶、林義福、李春芳、王思涵。2016。飼糧中添加維生素 E 與硒對熱季期間荷蘭泌乳牛泌乳與血液性狀之影響。臺灣農學會報 17: 318-329。
張俊達、范耕榛。2024。高溫多濕指數下提供夜間運動場對泌乳早期荷蘭泌乳牛行動分數、泌乳性能與血液生化值

之影響。臺灣農學會報 23 : 135-145。

- Arechiga, C., S. Charles, L. R. McDowell, and P. J. Hansen. 1998. Effects of timed insemination and supplemental β -carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J. Dairy Sci.* 81: 390-402.
- Bernabucci, U, B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.* 85: 2173-2179.
- Chase, L. E. 2006. Climate change impacts on dairy science. In: *Climate change and Agriculture: Promoting Practical and Profitable Responses*, held at March 7th, Baltimore, MD, USA.
- Cheng, J., N. Zheng, X. Sun, S. Li, J. Wang, and Y. Zhang. 2016. Feeding rumen-protected gamma-aminobutyric acid enhances the immune response and antioxidant status of heat-stressed lactating dairy cows. *J. Therm. Biol.* 60: 103-108.
- Das, R., L. Sailo, N. Verma, P. Bharti, J. Saikia, Imtiwati, and R. Kumar. 2016. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet. World* 9: 260-268.
- de Ondarza, M. B., J. W. Wilson, and M. Engstrom. 2009. Case study: Effect of supplemental beta-carotene on yield of milk and milk components and reproduction of dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 25: 510-516.
- Figueiredo, C. C., H. F. Monteiro, F. Cunha, D. Z. Bisinotto, A. R. Ruiz, G. A. Duarte, Y. Ge, F. S. Lima, M. Mohamadzadeh, K. N. Galvão, and R. S. Bisinotto. 2024. Shifts in uterine microbiome associated with pregnancy outcomes at first insemination and clinical cure in dairy cows with metritis. *Sci. Rep.* 14: 11864.
- Ganaie, A. H., G. Shanker, N. A. Bumla, R. S. Ghasura, and N. A. Mir. 2013. Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *Iran J. Appl. Amin. Sci.* 4: 423-430.
- Guerra, L. J. E., O. J. A. Saltijeral, V. H. Castaneda, N. A. Cervantes, A. Cordova-Izquierdo, and Q. J. Moreno. 2012. Effects of the selenium and vitamin e in the production, physicochemical composition and somatic cell count in milk of Ayrshire Cows. *J. Anim. Veter. Adv.* 11: 687-691.
- Hino, T., N. Andoh, and H. Ohgi. 1993. Effects of β -carotene and α -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long chain fatty acids and cellulose. *J. Dairy Sci.* 76: 600-605.
- Kauppinen, K. 1984. ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT, activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows. *Zbl. Vet. Med.* 31: 567-576.
- Krinsky, N. I. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic. Biol. Med.* 7: 617-635.
- Kumar, V., V. K. Paswan, D. Kumar, T. R. Bhosale, B. Jakhar, and R. Kumar. 2020. Effect of β -carotene on somatic cells count in cow milk. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 11: 2297-3002.
- Lotthammer, K. H. 1979. Importance of beta-carotene for the fertility of dairy cattle. *Feedstuffs.* 51: 37-38
- Loven, D. P. 1988. A role for reduced oxygen species in heat induced cell killing and the induction of thermo tolerance. *Med Hypotheses* 26: 39-50.
- Megahed, G., M. Anwar, S. Wasfy, and M. Hammad. 2008. Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant treatment. *Reprod. Domest. Anim.* 43: 672-677.
- Michal, J. J., L. R. Heirman, T. S. Wong, B. P. Chew, M. Frigg, and L. Volker. 1994. Modulatory effects of dietary β -carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1408-1421.
- National Oceanic and Atmospheric Administration. 1976. Livestock hot weather stress. Regional Operations Manual Letter C-31-76. US Dep. Commerce, Natl. Oceanic and Atmospheric Admin., Natl. Weather Service Central Region, Kansas City, Missouri, USA.
- National Research Council. 2021. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Oliveira, R. C., B. M. Guerreiro, N. N. Morais, R. L. Araujo, and R. A. Pereira. 2015. Supplementation of parturient dairy cows with beta-carotene. *J. Dairy Sci.* 98: 6304-6314.
- Pandey, N., N. Kataria, A. K. Kumar, A. Joshi, and S. L. Narayan. 2012. Extreme ambiances vis-a-vis endogenous antioxidants of Marwari goat from arid tracts in India. *ELBA Bioflux.* 4: 29-33.
- Safa, S., S. Kargar, G. A. Moghaddam, M. G. Ciliberti, and M. Caroprese. 2019. Heat stress abatement during the postpartum period: effects on whole lactation milk yield, indicators of metabolic status, inflammatory cytokines, and biomarkers of the oxidative stress. *J Anim. Sci.* 97: 122-132.
- SAS. 2002. *SAS User's guide: basics*, 2002 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- Schweigert, F. J. 2003. Changes in the concentration of β -carotene, alpha-tocopherol and retinal in the bovine corpus luteum

- during the ovarian cycle. *Archives of Anim. Nutri.* 57: 307-310.
- Shiao, T. F., J. C. Chen, D. W. Yang, S. N. Lee, C. F. Lee, and W. T. K. Cheng. 2011. Feasibility assessment of a tunnel-ventilated, water-padded barn on alleviation of heat stress for lactating Holstein cows in a humid area. *J. Dairy Sci.* 94: 5393-5404.
- Staples, C. R. 2007. Nutrient and feeding strategies to enable cows to cope with heat stress conditions. Pages 93-108 in 22nd Annu. Southwest Nutr. Manage. Conf., Tempe, AZ. Univ. Arizona, Tempe.
- Stojevi, Z., J. Piršljn, S. Milinkovi-Tur, M. Zdelar-Tuk, and B. B. Ljubi. 2005. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Vet. Arh.* 75: 67-73.
- Suresh, D. R., V. Annam, K. Pratibha, and B. M. Prasad. 2009. Total antioxidant capacity - a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *J. Biomed. Sci.* 16: 61-65.
- Weiss, W. P. 2005. Antioxidants nutrients, cow health and milk quality. p.11-18. Dairy Cattle Nutrition Workshop, Department of Dairy and Animal Sciences, Penn State.
- Young, F. M., W. B. Luderer, and R. J. Rodgers. 1995. The antioxidant β -carotene prevents covalent cross-linking between cholesterol sidechain cleavage cytochrome P450 and its electron donor, adrenodoxin, in bovine luteal cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 109: 113-118.

Effects of vitamin E, selenium and β -carotene supplementation on lactation performance and blood parameters of Holstein lactating cows with subclinical mastitis under high temperature humidity index ⁽¹⁾

Chun-Ta Chang ⁽²⁾ Geng-Jen Fan ⁽²⁾ Szu-Han Wang ⁽³⁾ and Ling-Tsai Wu ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Received: Feb. 19, 2025; Accepted: May 23, 2025

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of dietary supplementation of vitamin E, selenium and β -carotene on milking performance and blood biochemical response of Holstein lactating cows with subclinical mastitis under high temperature-humidity index (THI greater than 72). A total of 21 Holstein lactating cows were assigned into three groups according to their body weight, milk yield, parity and days in milk. Cows received diets containing 0 (control), and 500 IU vitamin E, 0.3 ppm selenium, and 500 IU vitamin E, 0.3 ppm selenium and 600 mg β -carotene daily for 30 days. The average THI during the hot season was 74.2 ± 1.2 . Dry matter intake, milk yield, and lactation efficiency were not affected among treatments under high THI. Compared to the control, milk fat increased by 2.5% ($p = 0.19$) and decreased milk somatic cell count (SCC) by 8.1% ($P = 0.15$) with vitamin E, Se, and β -carotene supplementation. Compared to the control group, blood glutathione peroxidase ($p = 0.15$) and total antioxidant capacity ($p = 0.13$) were trendily increased by vitamin E, Se, and β -carotene supplementation. In summary, adding vitamin E, Se and β -carotene to dairy cows tended to increase antioxidant capacity, resulting in a decrease in SCC under high THI. Therefore, dairy farmers can use it as a reference to supplement nutrition during the hot season.

Key words: Holstein lactating cow, Subclinical mastitis, Temperature humidity index.

(1) Contribution No. 2829 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

(3) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Xihu, Miaoli 368003, Taiwan, R. O. C.

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

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

經產與初產阿爾拜因山羊陰道黏液導電度、酸鹼度 及陰道溫度變化⁽¹⁾

康定傑⁽²⁾⁽⁵⁾ 曾楷扉⁽²⁾ 陳綵慈⁽²⁾ 陳裕信⁽³⁾ 曲鳳翔⁽⁴⁾ 蔡佩均⁽⁴⁾

收件日期：113 年 9 月 20 日；接受日期：114 年 6 月 2 日

摘 要

本研究旨在探討經產與初產阿爾拜因母羊於發情同期化處理期間，陰道黏液導電度、pH 值及陰道溫度的變化，並分析這些生理指標與懷孕結果的相關性。試驗採用 CIDR[®] 陰道植入進行發情同期化，第 9 天肌肉注射 PGF2 α (5.3 mg/0.5 mL) 與 PMSG 500 IU，第 11 天移除 CIDR[®]。自 CIDR[®] 移除 (0 h) 起，每 6 h 測量陰道導電度、pH 值及溫度，持續至 60 h，並於 40 h 進行人工授精。結果顯示，經產懷孕羊的陰道黏液導電度自 0 h 起逐步下降，並於 24 h 達最低點，且 18 – 30 h 期間顯著低於未懷孕羊 ($P < 0.05$)。未懷孕羊則於 24 h 達低點，且導電度在 40 h 後逐漸下降。初產羊方面，懷孕與未懷孕羊在導電度的變化趨勢上無顯著差異。陰道 pH 值方面，經產懷孕羊於 0 h 後逐步上升，40 h 達高峰，隨後緩步下降，且整體 pH 值顯著高於未懷孕羊。未懷孕羊則於 24 h 急速上升，40 h 達高峰後又迅速下降。初產未懷孕羊則於 40 h 時 pH 值顯著高於懷孕羊，其餘時間無顯著差異。陰道溫度方面，經產懷孕羊於 6 – 42 h 期間溫度緩步上升，並顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$)，42 h 後溫度開始下降，48 – 60 h 期間顯著低於 ($P < 0.05$) 未懷孕羊。未懷孕羊則於 24 h 開始急劇上升，並於 40 h 後略為下降後再度上升直至監測結束。初產羊方面，懷孕羊自 0 h 起溫度顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$)，並於 30 – 40 h 期間顯著升高，其中於 30 h 時顯著低於 ($P < 0.05$) 未懷孕者。於 40 – 60 h 則維持在高原狀態，僅 40 及 42 h 顯著高於 ($P < 0.05$) 未懷孕者。此外，相關性分析顯示，陰道溫度與 pH 值之間呈正相關 ($r = 0.60$)，而溫度與導電度則呈負相關 ($r = -0.50$ 至 -0.70)。pH 值與導電度亦呈負相關，但受多種因素影響，關聯性較為複雜。研究結果顯示，陰道導電度、pH 值及溫度之變化能有效反映母羊生理狀態，並可作為判斷發情期與預測排卵時機的重要指標，進而提高人工授精成功率。

關鍵詞：阿爾拜因山羊、人工授精、陰道黏液導電度、陰道黏液 pH 值、陰道溫度。

緒 言

山羊人工授精 (artificial insemination, AI) 是畜牧業中一項重要的生殖技術，對於遺傳優化、疾病控制和繁殖效率的提高都有顯著貢獻。提升山羊人工授精成功率的方法研究有很多面向，包括提升精液冷凍保存效率 (Dhara *et al.*, 2023)、發情同期化和排卵技術 (Alexander *et al.*, 2010) 及提升人工授精精確性 (Ahanger *et al.*, 2024) 等。目前人工授精技術輔以公畜駕乘刺激發情測試以及人工授精時陰道黏液狀況判斷，使得人工授精成功率獲得改善 (Lim *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2017; Murtaza *et al.*, 2020)。其中尤以陰道黏液狀況對提升人工授精成功率至為關鍵。但是利用肉眼判斷太過主觀，需要一個客觀科學數值加以佐證。因此，本研究將以三合一偵測器 (導電度、酸鹼度與溫度) 針對陰道黏液進行實際測量，並以人工授精後母羊懷孕與否作為評估依據，探討母羊懷孕狀況與上述 3 種實測數據間之關聯性，使人工授精適期的判斷更加精確。

一般而言可自發情週期期間的外部行為或陰道細胞學變化，檢測綿羊或牛等母畜的發情徵候。在排卵期間，上皮細胞和基底細胞的角質化比例發生變化 (Zaid, 2011)，母牛在發情週期中由於生殖激素分泌狀態改變，導致行為、體溫和生殖道黏液的物理特性發生變化 (Redden *et al.*, 1993)。此外，雌二醇 (estradiol, E₂) 水平、陰道細胞學和外陰部外觀的評估亦可用作初產動物發情週期的預測指標 (Mayor *et al.*, 2006)；在發情期，羊會受到雌激素的影響，從綿

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2830 號。
(2) 農業部畜產試驗所南區分所。
(3) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(4) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(5) 通訊作者，E-mail: tckang@mail.tlri.gov.tw。

羊行為或外陰部變化可以直接看出發情徵候。然而，綿羊經常會出現靜默發情 (silent heat) 現象，即無發情的排卵現象，尤其多見於初產羊。靜默發情常發生在第一個發情週期，這也可能是雌激素缺乏所致。在這些條件下，母羊不會出現發情徵候，因此無法通過肉眼觀察得知 (Santos-Jimenez *et al.*, 2022)。在乳牛的研究中發現，陰道溫度與陰道黏液導電度在發情前與發情期間會有顯著的變化，在排卵前 2 – 3 天，陰道溫度會出現短暫下降；陰道黏液的導電度也開始逐漸上升，在排卵前約 25 h 達到最高值， E_2 濃度增加一致，這表明導電度變化與陰道上皮細胞水合作用增加有關；在發情期陰道溫度會明顯上升，最高溫度出現在排卵前約 23 h，排卵前，溫度會略微下降，然後再次回升，此恰與黃體刺激素 (luteinizing hormone, LH) 高峰期相吻合；而陰道黏液導電度在發情結束後，導電度迅速下降至基礎水平，此變化與黃體素 (progesterone, P_4) 濃度回升同步。因此均可作為判斷發情的指標 (Higaki *et al.*, 2018)。乳牛的結果在水牛的研究中也被驗證，在發情期間，陰道電阻 (vaginal electric resistance, VER) 明顯降低，與 P_4 下降和 E_2 升高同步，且發現在 VER 降至最低時進行授精，顯示較高的受孕率，隨著 VER 升高則受精率顯著下降 (Purohit *et al.*, 2020)。在一個陰道綜合體內溫度、pH 值及電阻 (resistance, RES) 的多參數測量研究以菲律賓商業山羊場中 1 型山羊 (*capra hircus*) 為對象進行試驗，結果發現，發情期內陰道溫度會顯著上升、pH 值顯著下降，而電阻 (或導電度) 則明顯降低，三項指標的同步變化為模糊系統提供了穩定的判決依據；與單一閾值法相比，模糊邏輯能夠透過連續會員函數及推理規則，減少誤判並提升對個體差異的耐受度 (Olegario *et al.*, 2020)。在許多研究中發現由於動物個體間基線值差異甚大，單一時間點測量易導致誤判，故宜採用相對於自身基線的「趨勢變化」分析，而非絕對閾值。在乳牛利用穿戴陰道感測器每 15 分鐘連續量測體溫 (vaginal temperature, VT) 與導電度 (vaginal conductivity, VC)，並將當前值與前 3 天同一時段的平均值比較，分別計算殘差 VT (rVT) 及導電度比率 (VCr)，作為分析特徵。此方法可避免不同牛隻間的基線差異之影響，專注於變化趨勢，顯著提升發情檢測的準確度與穩定性 (Higaki *et al.*, 2019)；肉牛的研究則顯示當陰道溫度較自身 2 – 3 天基線平均值持續上升 $\geq 0.4^\circ\text{C}$ 且維持 3 h 以上，即判定為發情。此「持續時間 + 相對變化」的策略，避免了絕對溫度閾值因個體差異而失靈的問題 (Kyle *et al.*, 1998)；在 Rathi 牛的研究中，PG 注射後觀察到陰道溫度與電阻值先短暫下降，接著再上升至發情高峰，顯示必須透過多點連續記錄並分析波峰波谷的趨勢曲線，才能準確判定發情時機，而非仰賴單一測值 (Mcena *et al.*, 2003)。

透過陰道塗片法確定發情週期，意即利用藉助陰道上皮細胞和多核白血球細胞的細胞學變化用以判定發情期別 (Vidal *et al.*, 2013)。即利用發情週期各階段之陰道抹片檢查來評估山羊發情週期或發情期判斷研究試驗中，其乃評估 20 頭撒能山羊，體重 45 – 55 公斤，3 – 4 歲齡且發情週期在 19 – 22 天，所有的山羊均為自然發情，在不進行發情同期處理下，收集陰道抹片和陰道 pH 值。結果顯示陰道細胞數在發情週期的每個階段都有顯著不同；在發情期，上皮細胞的比例占最大部分 (Sitaresmil *et al.*, 2019)。此外，該作者也獲得發情期的最高 pH 值明顯高於在其他階段之結果而認為陰道 pH 值可作為山羊授精最佳時間指標 (Sitaresmil *et al.*, 2019)。撒能山羊於發情週期中不同時期之陰道 pH 值變化與雌性素及皮質醇亦有相關性。發情期 (estrus) 陰道 pH 值和雌激素含量最高，而發情間期 (diestrus) 陰道 pH 值和雌激素含量最低 (Widayati *et al.*, 2018)。此外，皮質醇濃度在發情週期的每個階段都有顯著差異；在發情前期 (proestrus) 觀察到最高濃度的皮質醇 (Widayati *et al.*, 2018)。

本研究藉由 CIDR[®] 移除後母羊陰道黏液導電度、pH 值及陰道溫度之量測值，並進一步比對相對應母羊於人工授精後懷孕與否之相關性評估，以取得人工授精適期之判斷依據，期能進一步提升人工授精成功率。

材料與方法

I. 試驗動物申請，動物飼糧及環境條件

試驗所使用之 2 到 3 歲齡阿爾拜因經產母羊 45 頭，1 歲齡初產母羊 20 頭，均依法進行實驗動物申請，並經過原行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所實驗動物照護及使用小組審查同意，同意書編號：畜試恆動字第 11110。試驗期間為民國 111 年 1 – 2 月及 9 – 12 月。試驗期間每頭動物每日飼糧銀飼量為 1.8 – 2.0 kg；精粗料比為 3：7。精料來源為農業部畜產試驗所飼料廠配置之乳羊空白料及苜蓿粒，餵飼重量比為 8：2；粗料則為畜產試驗所南區分所生產之盤固拉乾草。試驗位置為北緯 21.94 度，東經 120.80 度。全年度溫溼度表如表 1 所示。

II. 環境溫度及濕度測量

實驗期間之環境溫度與相對濕度，係使用數位記錄器泰仕電子溫溼度紀錄儀 (TES-I361C, TES Electrical Electronic Corp., Taipei, Taiwan) 進行監測，並以每 2 h 為間隔記錄測量數值。

III. 山羊發情同期化及人工授精

發情同期化處理使用 CIDR[®](Controlled internal drug release, CIDR[®], EAZI-breed, Rydalmere, Australia) 搭配孕馬血清激性腺素 (pregnant mare's serum gonadotropin, PMSG, Prospec-Tany, Israel) 及前列腺素 F2 α (prostaglandin F2 α , PGF2 α , analogue cloprostenol, Estrumate, Merck animal healthy Intervet Inc., USA.) 進行。CIDR[®] 植入陰道為第 0 天，第 9 天肌肉注射 PGF2 α (5.3 mg/0.5 mL) 及 PMSG 500 IU，第 11 天移除 CIDR[®]，且以此 CIDR[®] 移除時間定義為試驗之第 0 h。其後於 CIDR[®] 移除後 12 h 觀察母羊發情狀況，並記錄公羊穩定駕乘母羊的時間，後續往後推 24 h 執行人工授精。於試驗中多數羊隻的穩定地可供駕乘時間，若以 CIDR[®] 移除時間計算，則約為移除後 40 h。因此，本研究中母羊之人工授精時間則以 CIDR[®] 移除後第 40 h 統一進行。

表 1. 各月份溫度及濕度表

Table 1. Monthly variations in temperature and humidity

Month	Temperature (°C)	Humidity (%)
January	21.2 \pm 1.1	82.7 \pm 3.2
February	23.3 \pm 1.9	72.1 \pm 7.1
March	23.9 \pm 2.7	70.2 \pm 13.4
April	25.8 \pm 2.7	80.0 \pm 14.4
May	29.9 \pm 2.5	96.1 \pm 8.6
June	30.4 \pm 1.7	95.4 \pm 10.3
July	31.5 \pm 2.1	95.4 \pm 10.3
August	28.8 \pm 1.8	98.4 \pm 10.3
September	28.1 \pm 3.7	89.7 \pm 3.2
October	26.1 \pm 1.5	84.7 \pm 2.8
November	22.8 \pm 1.1	80.7 \pm 3.2
December	19.1 \pm 1.6	78.7 \pm 3.2

Means \pm SE.

IV. 懷孕檢測

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

V. 陰道黏液導電度、pH 值及陰道溫度測量

- (i) 本研究中陰道黏液導電度、pH 值及陰道溫度均使用泰仕電子工業股份有限公司之三合一檢測器 (TES-1381) 進行測量。pH 值的解析度為 0.001，精確度達到 ± 0.01 。導電度的解析度從 0.001 μ S/cm 到 0.01 mS/cm 不等，精確度介於 $\pm 2\%$ 到 $\pm 5\%$ FS。溫度的解析度為 0.1°C 或 0.1°F，在攝氏溫度 (°C) 上的精確度為 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ，在華氏溫度 (°F) 上的精確度為 $\pm 0.9^\circ\text{F}$ 。
- (ii) 陰道黏液導電度測量之前先將探頭浸於 3% 生理食鹽水中進行校正，校正後之探頭以氯己定雙乙酸鹽溶液 (Chlorhexidine diacetate solution, Nolvosol) 浸潤 1 次，續以滅菌水浸潤 2 次進行清潔。之後直接將探頭伸入羊隻陰道中 (抵住子宮頸口) 進行測量。每頭動物測量後均需依照校正後探頭清潔方法清潔後再用於下一頭動物。
- (iii) 羊隻陰道黏液導電度、酸鹼度及陰道溫度測量時間點以 CIDR[®] 移除後開始測量 (0 h)，之後每隔 6 h 測量一次，持續測量 60 h，並於人工授精執行時間 (40 h) 增加一次測量。
- (iv) 主要測定羊隻為處於繁殖季節之阿爾拜因山羊，並區分為初產 (初配之初產羊) 及經產 (1 產以上) 母羊。

VI. 統計分析

本試驗各處理組所得數據均以 SAS (Statistical Analysis System, 2012) 套裝軟體中 T-test 進行變異分析 (analysis of variance, ANOVA)，各處理組性能表現平均值間之差異顯著性以 $P < 0.05$ 為具差異顯著性。

相關性分析使用皮爾森積差相關係數 (Pearson correlation coefficient) 來分析各個變數與溫濕度指數 (temperature humidity index, THI) 之間的線性關係，皮爾森相關係數用來測量兩個連續變數間的線性相關程度，其數值範圍介於 -1 至 1 之間。當係數為 1 時，表示兩變數具有完全正相關；當係數為 -1 時，表示完全負相關；當係數為 0 時，表示沒有線性相關性。

結果與討論

本研究主要目的為探討經產及初產阿爾拜因母羊於發情同期化處理期間，陰道黏液導電度、pH 值及陰道溫度之變化，並分析這些指標與母羊懷孕與否的相關性。試驗之發情同期化程序以 CIDR[®] 植入陰道當作第 0 天，第 9 天肌肉注射 PGF2 α (5.3 mg/0.5 mL) 及 PMSG 500 IU，第 11 天移除 CIDR[®]。測量陰道導電度、pH 值及陰道溫度的時間自 CIDR[®] 移除 (0 h) 開始，每隔 6 h 一次，連續測量至 60 h，並於人工授精 (40 h) 額外增加一次測量。本研究懷孕率檢測均為人工授精後 45 天以超音波為之。使用之經產羊合計 45 頭，有 27 頭懷孕，18 頭未懷孕。使用之初產羊合計 20 頭，有 8 頭懷孕，12 頭未懷孕。

山羊的發情周期為多週期性 (polyestrous)，每個發情週期約為 18 至 22 天，平均約為 21 天。發情週期可分為以下四個主要階段：發情前期 (proestrus)、發情期 (estrus) 發情後期 (metestrus) 及發情間期 (diestrus)。每個階段都會伴隨荷爾蒙的改變，這些變化會引起母羊生理及行為的改變 (Rahman *et al.*, 2008; Neely, 2018)。本研究測定時間以 CIDR[®] 移除為第 0 h，並持續監測到 60 h 後結束。因為使用荷爾蒙進行處理，在 CIDR[®] 移除後山羊血液中的 P₄ 濃度下降，會自然的重新誘發發情反應及排卵。也就是說經發情同期化處理後的羊隻發情週期，會跳過發情前期的階段而直接進入發情期。一般而言，發情期持續時間約 24 – 48 h (約為本研究監測時間點 18 至 54 h)，此一時期雌激素達到高峰，行為變化則顯現出明顯的接受行為，如允許公羊騎乘、主動接近公羊、頻繁聞嗅、表現出翹尾、頻尿及叫聲頻繁等現象。隨後 LH 高峰產生，誘發排卵。排卵通常在發情結束後 12 – 24 h 內發生。

I. 陰道黏液導電度

在本研究中陰道黏液導電度之結果顯示，不論母羊為經產或初產，亦不論未來是否懷孕，陰道黏液導電度於記錄開始 (0 h) 時皆為整個測量區間內的最高點 (經產羊見圖 1，初產羊見圖 2)。經產懷孕母羊於 0 h 之溫度變化在個體間幅度較大，因而在統計上與未懷孕母羊間並無顯著差異。經產懷孕及未懷孕羊的陰道黏液導電度自 0 h 起逐步下降，懷孕羊於 18 h 降至最低點，未懷孕羊則於 24 h 達低點，且懷孕羊在 18 – 30 h 之陰道黏液導電度均顯著低於未懷孕者 ($P < 0.05$)。經產懷孕羊在 18 h 降至最低點後開始緩步上升，於 36 h 後再次轉折緩步下降直至監測結束；未懷孕羊則在 18 – 40 h 時維持較平緩的上升變化，並於 40 h 後緩步下降直至監測結束。懷孕羊在 36 h 後的緩步下降過程中，在 48 及 60 h 顯著低於未懷孕羊。在經產羊的整個監測過程中，懷孕羊的陰道黏液導電度始終低於未懷孕羊 (圖 1)。初產懷孕與未懷孕羊隻在整個監測的 60 h 中變化趨勢相似，且兩者之間無任何顯著性差異，陰道黏液導電度自 0 h 起便為整個監測區間的最高點，隨著時間推移，懷孕羊在 40 h，未懷孕羊於 36 h 達到最低點後微幅上升並維持到監測結束 (圖 2)。本研究依據實際觀察羊隻的穩定可供公羊駕乘時間，有 50% 的羊隻會集中在 18 – 30 h 區間，由人工授精後 45 天的超音波懷孕檢測結果發現，此一區間成功懷孕比率亦為最高。在乳牛的研究顯示陰道黏液導電度在發情結束後，會迅速下降至基礎水平，而此一變化與 P₄ 濃度回升同步 (Higaki *et al.*, 2018)；另一研究也發現牛隻陰道電阻於發情期間有顯著下降的趨勢

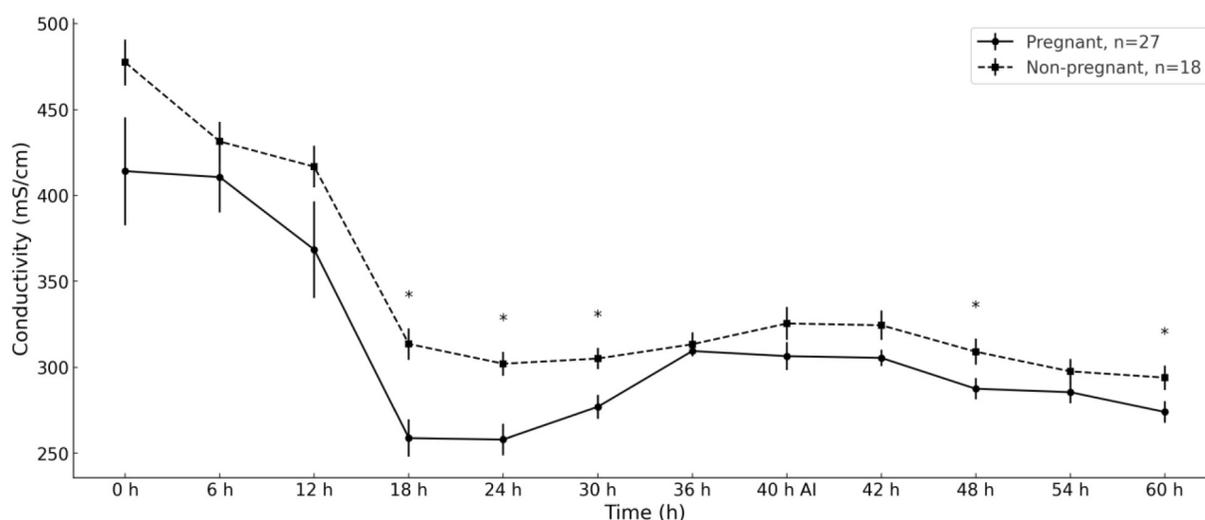


圖 1. 懷孕與未懷孕經產羊陰道黏液導電度於發情同期化處理時之變化。

Fig. 1. The variation in vaginal mucus conductivity of pregnant and non-pregnant multiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

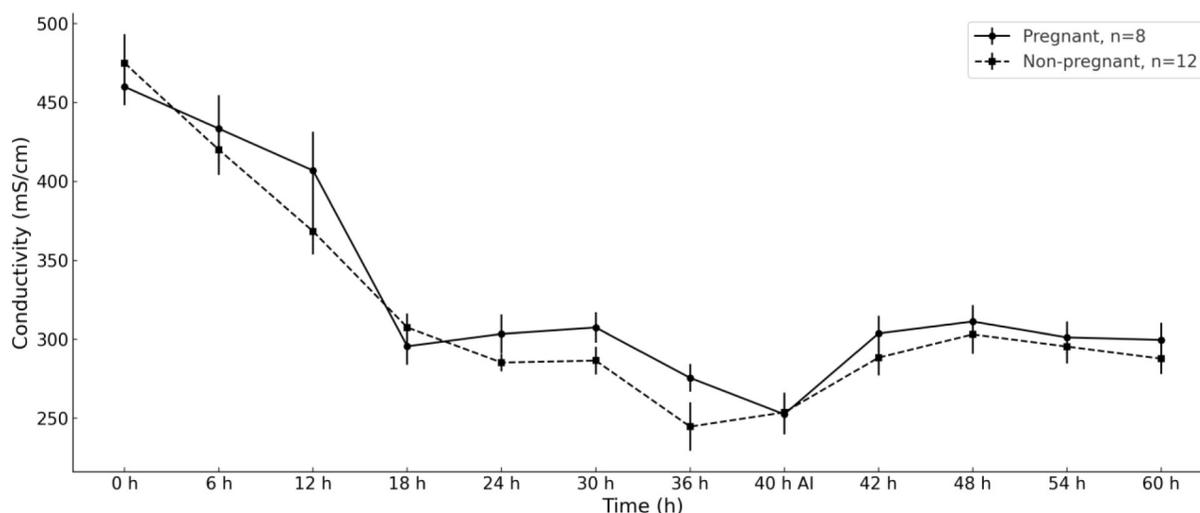


圖 2. 懷孕與未懷孕初產羊陰道黏液導電度於發情同期化處理時之變化。

Fig. 2. The variation in vaginal mucus conductivity of pregnant and non-pregnant primiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

(Meena *et al.*, 2003)。在本研究中發現，在 CIDR[®] (0 h)，動物血液中的 P₄ 濃度仍存在 CIDR[®] 所釋放之 P₄ 而使其維持在高點，相對的陰道黏液導電度亦處於高點；隨著 P₄ 下降，E₂ 增高，導電度在 18 – 30 h 下降後誘發動物體自發性再發情及排卵，此陰道黏液導電度與 P₄ 的連動性變化情形與 Higaki *et al.* (2018) 研究的結果相同。Nain *et al.* (2020) 研究指出，羊隻陰道導電度在發情間期開始上升，至發情前之後期達最高峰後下降，在發情期時降至最低，此一結果亦與本研究導電度變化趨勢相符。此外，Aboul-Ela *et al.* (1983) 提及陰道不同深度位置雖會影響測量數值，但發情期導電度較低之趨勢並不會改變，而本研究之測定點均位於子宮頸口前端，並不存在位置效應，且於發情期呈現低導電度之結果亦與該作者一致。本研究所呈現經產懷孕羊相較於未懷孕者具有較低的陰道導電度，則可能反映出較高的雌激素水平，進而致使具有較佳的發情徵候 (Higaki *et al.*, 2018; Purohit *et al.*, 2020)。

II. 陰道黏液 pH 值

經產懷孕羊的陰道黏液 pH 值於整個觀測期間的每個時間點均顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$)。其中，經產懷孕羊陰道黏液 pH 值自 0 h 逐步上升，在 40 h 達高峰後呈現緩步下降直至測量結束；而經產未懷孕羊則自 24 h 開始轉折向升 (圖 3)，曾有研究以撒能雜交山羊為試驗對象，觀察發情週期中陰道 pH 值與雌激素和皮質醇濃

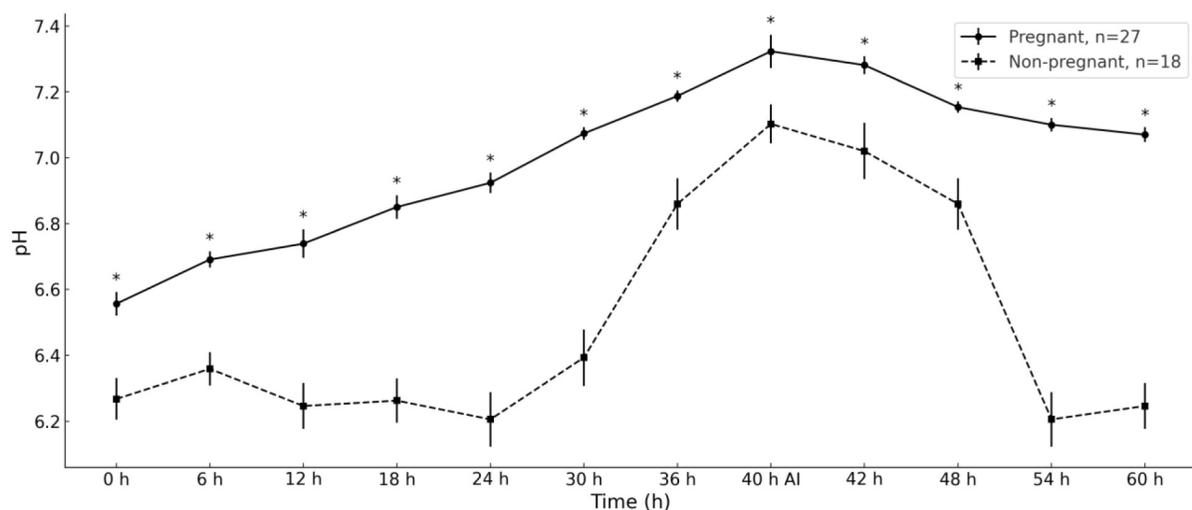


圖 3. 懷孕與未懷孕經產羊陰道黏液 pH 值於發情同期化處理時之變化。

Fig. 3. The variation in vaginal mucus pH value of pregnant and non-pregnant multiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

度變化相關性的研究發現，在發情期間，陰道 pH 值和雌激素含量均為最高，而在發情期之階段後期，陰道 pH 值和雌激素含量開始降低 (Widayati *et al.*, 2018)；其他研究亦發現陰道 pH 值僅於發情期升高並於排卵期附近降低 (Polat *et al.*, 2015)。此等結果與本研究在發情階段 (0 – 42 h) pH 值所呈現逐漸增高的趨勢相同，而在發情期之後期即將完成排卵時 (60 h) 開始降低的結果亦相符合。此外，在監測馬陰道 pH 值以判斷其排卵期的研究發現，排卵當日的陰道 pH 值顯著低於發情期其他日期的 pH 值，此也意謂，陰道 pH 值的顯著降低是排卵的特徵，且隨著發情週期的進展，特別是在排卵前後，陰道 pH 值會顯著變化；排卵前後三天內的 pH 值測量顯示了連續的週期內顯著差異，排卵當天的 pH 值最低，說明 pH 值的降低與排卵密切相關 (Polak and Willian, 1981)。綜合上述文獻與本研究之結果可說明陰道 pH 值可用以判斷母羊生殖狀態及排卵時機。然而，本研究中也發現，初產懷孕與未懷孕羊的 pH 值變化，除了在 40 h 未懷孕羊顯著高於懷孕羊 ($P < 0.05$) 外，其餘監測時間點均無顯著差異，且初產懷孕羊的高峰 (42 h) 則略晚於未懷孕 (40 h) 者 (圖 4)，此或是以 pH 值監測初產母羊適當配種適期之依據時間點。

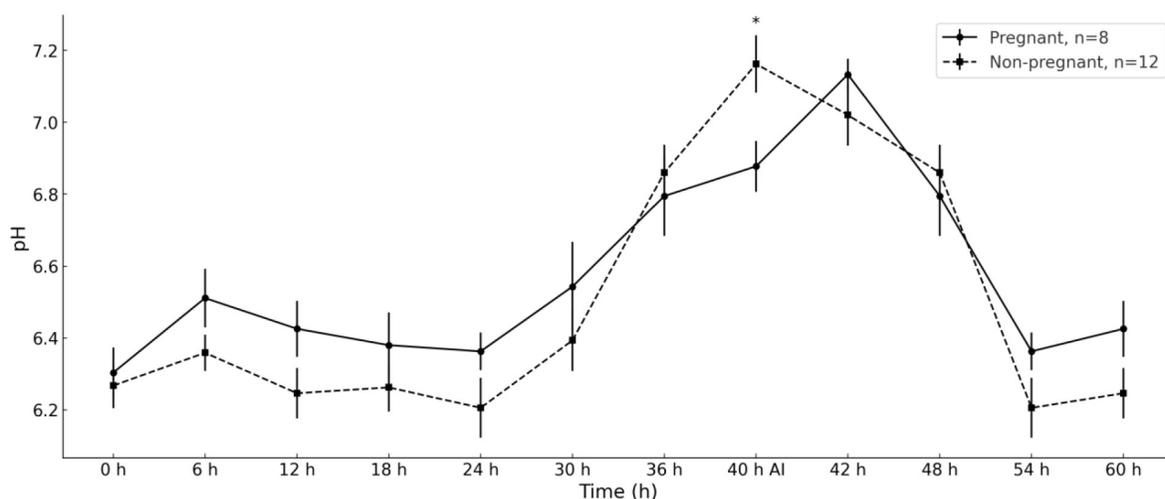


圖 4. 懷孕與未懷孕初產羊陰道黏液 pH 值於發情同期化處理時之變化。

Fig. 4. The variation in vaginal mucus pH value of pregnant and non-pregnant primiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

III. 陰道溫度

經產懷孕羊陰道溫度於 0 – 42 h 區間皆顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$)，但 42 h 後出現交叉反轉情形，48 – 60 h 溫度則顯著低於未懷孕羊，且經產懷孕母羊的陰道溫度自 6 h 開始緩步上升，直到 42 h 開始下降 (圖 5)。此一結果洽與 Higaki *et al.* (2018) 在乳牛的研究發現，發情期陰道溫度會明顯上升 (本研究 12 h – 42 h)，最高溫度出現在排卵前約 23 h (本研究 42 h 的觀察點)，排卵前，溫度會略微下降之結果相符合，而此一變化又與 LH 高峰期之變化相同。經產未懷孕羊的陰道溫度上升時間較早 (24 h)，並持續升高到 40 h 後短暫下降 (42 h) 後持續上升至測量結束 (圖 5)，此與懷孕羊之變化不同，此似推測經產未懷孕羊之內分泌變化可能存在不正常模式，所以無法正常懷孕。

在初產羊方面，初產懷孕羊於起始 (0 h) 時溫度即顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$)，其後雖然波動較小但與未懷孕羊間無顯著差異；其後，於 30 h 時懷孕羊隻溫度突然下降，並顯著低於未懷孕羊 ($P < 0.05$)；而未懷孕羊陰道溫度在 24 h 開始急遽上升，懷孕羊陰道溫度的上升則略晚 (30 h)，且自 30 – 40 h 急遽上升，並於 40 – 60 h 維持在高原區直至監測結束，於 40 – 42 h (約人工授精執行時間點) 懷孕羊溫度顯著高於未懷孕羊 ($P < 0.05$) (圖 6)。初產羊隻陰道溫度的變化，不論懷孕與否，主要差異出現在 30 h 以後，但相較於經產羊，初產懷孕與未懷孕羊的溫度變化曲線較為相近，此亦可反映出初產羊隻的荷爾蒙變化較為紊亂，即便如此羊隻亦可懷孕，除了荷爾蒙外，且亦可能存在其他因子參與干擾。Wang *et al.* (2020) 發現乳牛發情期陰道溫度增加 0.3°C ，並於發情結束前回復正常。而本研究經產懷孕羊隻陰道溫度於監測期間，溫度差異在 0.4°C ，且溫度於發情期間升高 (0 – 42 h) 的趨勢與 Wang *et al.* (2020) 者一致。另有研究調查體溫與陰道溫度對綿羊人工授精成功率之關係，其利用陰道上皮細胞型態學進行評估，結果顯示陰道溫度於 $39.1 - 39.2^{\circ}\text{C}$ 時與發情期陰道上皮細胞型態之間有顯著相關性存在，可以做為人工授精時間點之判斷 (Anggriawan *et al.*, 2017)。Hoy-petersen *et al.* (2023) 針對野生麋鹿的調查

也發現，黃體活動的開始與陰道溫度升高有關，且陰道溫度的變化可以作為預測黃體活動開始的生理指標。

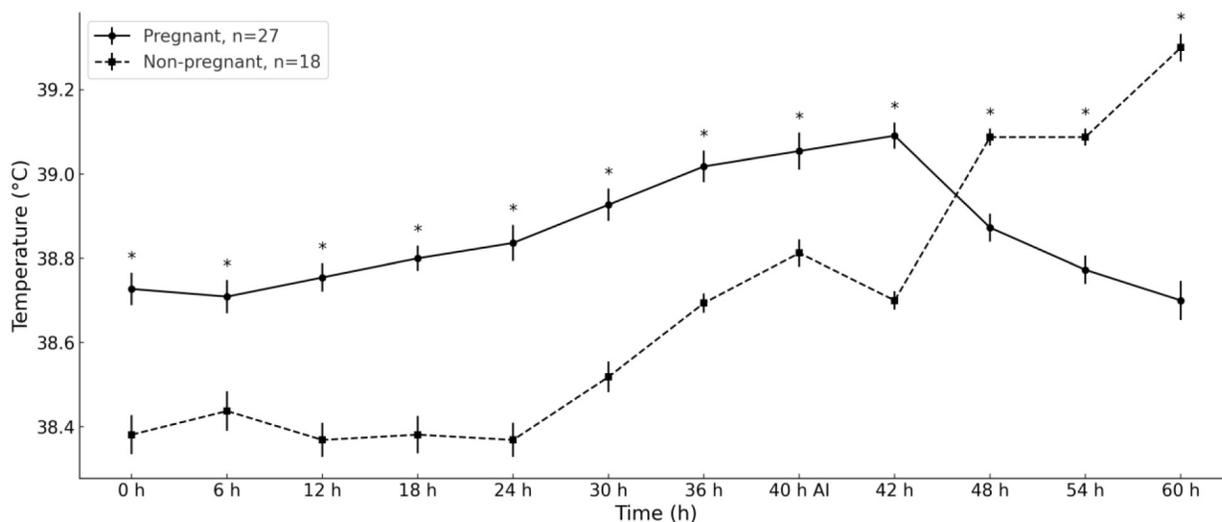


圖 5. 懷孕與未懷孕經產羊陰道溫度於發情同期化處理時之變化。

Fig. 5. The variation in vaginal temperature of pregnant and non-pregnant multiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

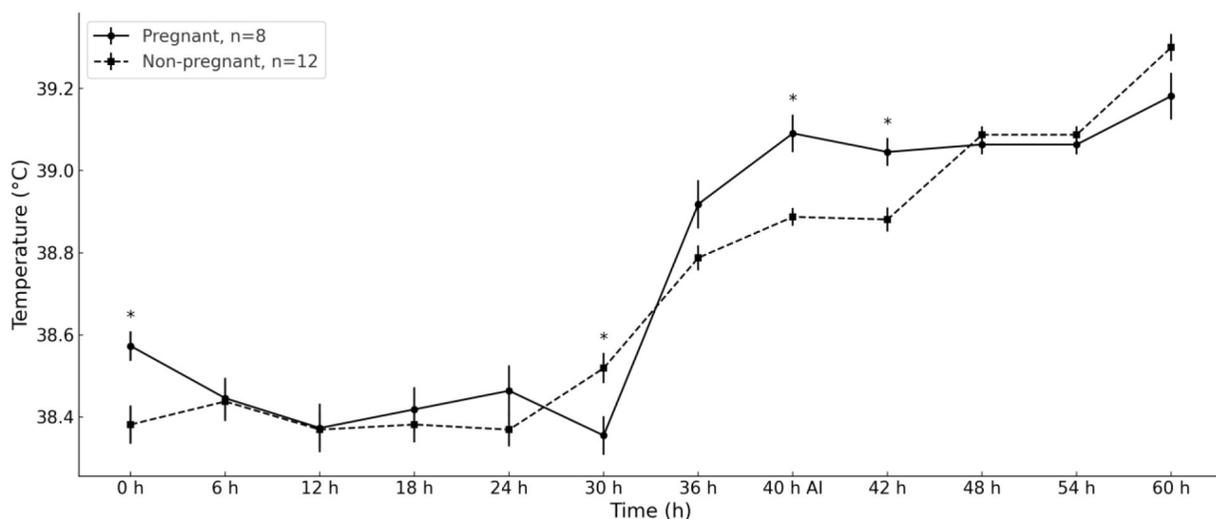


圖 6. 懷孕與未懷孕初產羊陰道溫度於發情同期化處理時之變化。

Fig. 6. The variation in vaginal temperature of pregnant and non-pregnant primiparous goats during estrus synchronization treatment.

* Data are expressed as mean \pm standard error.

本研究分析經產羊陰道導電度、pH 值與溫度之間的相關性發現，溫度與 pH 值具正相關 (r 為 0.60)，顯示溫度上升伴隨 pH 值升高。溫度與導電度則具負相關 (r 值界於 -0.50 至 -0.70)，導電度降低時溫度逐步上升；pH 值與導電度亦呈負相關。然而也有研究指出 pH 值和導電度相關性不是線性的，且受到許多因素的影響，包括離子類型、濃度和溶劑特性等，因此，解釋這兩者之間的關係較為複雜，需要更為具體的情況分析後才能判斷 (Leveling, 2002)。另外，以實際人工授精後的結果進行觀察，經產羊的懷孕率為 60%，初產羊的懷孕率為 40%，兩者有著 20% 的差距；比對試驗進行的各項量測數據亦發現，經產懷孕羊的各項數據紀錄結果與經產未懷孕羊在陰道黏液導電度、陰道黏液 pH 及陰道溫度的差異均較明顯，但是懷孕及未懷孕初產羊在各項數值測量，兩者間差異很小且不顯著。其中經產未懷孕羊在各項數據鑑測結果也較接近初產羊。

綜合上述，各項指標變化能反映母羊不同生理狀態，可用以輔助確認發情期或預測排卵時機，進而提高人工授精之成功率。本研究實驗結果指出人工授精適合時機 (40 - 42 h) 時，經產懷孕羊的陰道黏液導電度、陰道黏液 pH 值與陰道溫度相較於其他條件羊隻的監測結果來說，較具參考價值。若能將人工授精時間點更為準確判

定，則仍需要更為細緻的監控及更多數據的累積，此也是未來之修正重點。

參考文獻

- Aboul-Ela, M. B., J. H. Topps, and C. Macdonald. 1983. Relationships between intravaginal electrical resistance, cervicovaginal mucus characteristics and blood progesterone and LH. *Anim. Reprod. Sci.* 5(4): 259-273.
- Ahanger, S. A., U. Y. Wani, and M. A. Rather. 2024. Artificial insemination: a new horizon for scientific goat breeding in kashmir's backyard farming sector. *BKAP.* 39(3-4): 340-341.
- Ahmed, M., M. K. Chowdhury, M. M. Rahman, J. Bhattacharjee, and M. M. U. Bhuiyan. 2017. Relationship of electrical resistance of vaginal mucus during oestrus with post-ai pregnancy in cows. *Bangl. J. Vet. Med.* 15(2): 113-117.
- Alexander, B., G. Mastromonaco, and W. Allan King. 2010. Recent advances in reproductive biotechnologies in sheep and Goat. *J. Vet. Sci. Technol.* 1: 101.
- Anggriawan, R. P., S. Utama, and H. Eliyani. 2017. The relation of body temperature and vaginal cytology examination in time artificial insemination rate fat-tailed sheep (*Ovis Aries*) in the District Sidoarjo East Java. *VMIC.* p. 642-649.
- Dhara, S., S. Thakur, S. M. S. Anwar, M. D. Gupta, and S. Sinha. 2023. Artificial insemination in goat: a new prospect for scientific goat breeding. *Anim. Reprod. Update.* 3(2): 1-5.
- Higaki, S., R. Miura, T. Suda, L. M. Andersson, H. Okada, Y. Zhang, T. Itoh, F. Miwakeichi, and K. Yoshioka. 2019. Estrous detection by continuous measurements of vaginal temperature and conductivity with supervised machine learning in cattle. *Theriogenology.* 123: 118-126.
- Hoy-Petersen, J., L. Lemiere, D. P. Thompson, A. Theiel, J. A. Crouse, E. Ropstad, A. R. Graesli, J. M. Arnemo, and A. Evans. 2023. Vaginal temperature and collar activity variations in relation to fecal progestogens of captive moose. *Anim. Biotelem.* 11(36): 1-13.
- Kyle, B. L., A. D. Kennedy, and J. A. Small. 1998. Measurement of vaginal temperature by radiotelemetry for the prediction of estrus in beef cows. *Theriogenology.* 49(8): 1437-1449.
- Leveling, T. 2002. The relationship between pH and conductivity in a lithium contaminated, de-ionized water system. *Pbar Note:* 674.
- Lim, H. J., J. K. Son, H. B. Yoon, K. S. Baek, T. I. Kim, Y. S. Jung, and E. G. Kwon. 2014. Physical properties of estrus mucus in relation to conception rates in dairy cattle. *J. Emb. Trans.* 29(2): 157-161.
- Mayor, P., D. A. Guimaraes, F. L. Gatiús, and M. L. Bej. 2006. First postpartum estrous and pregnancy in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the amazon. *Theriogenology.* 66(8): 2001-2007.
- Meena, R. S., S. S. Sharma, and G. N. Purohit. 2003. Efficiency of vaginal electrical resistance measurements for oestrous detection and insemination in Rathi cows. *Animal Science.* 76(3): 433-437.
- Murtaza, A., M. Irfan-ur-Rehman Khan, M. Abbas, N. Hameed, W. Ahmad, I. Mohsin, and M. Z. Tahir. 2020. Optimal timing of artificial insemination and changes in vaginal mucous characteristics relative to the onset of standing estrus in Beetal goats. *Anim. Reprod. Sci.* 213: 106249.
- Nain, S., D. Kumar, B. Prakash, and G. N. Purohit. 2020. Vaginal electrical resistance (VER) measurements in goats in different reproductive states. *Int. J. Livest.* 10(6): 122-126.
- Neely, B. L. 2018. The estrous cycle and seasonality in sheep and goats. *LSU AgCenter Pub.* 3631.
- Olegario, T. V., R. A. Bedruz, D. M. Pacis, and N. T. Bugtai. 2020. Design of a Fuzzy System for Detecting Estrus from Intravaginal Temperature, pH and Resistance. 2020 IEEE 12th International Conference on HNICEM. 1-4.
- Polak, K. L., and G. K. William. 1981. Vaginal pH during estrus in mares. *Theriogenology.* 15(3): 271-276.
- Purohit, G. N., and D. Kumar. 2020. Electronic measurements of vaginal electric resistance (ver): current status for estrus detection, timing insemination and pregnancy diagnosis in cattle and buffalo. *Rumin. Sci.* 8(2): 145-152.
- Rahman, A. N. M. A., R. B. Abdullah, and W. E. Wan-Khadijah. 2008. Estrus Synchronization and Superovulation in Goats: A Review. *Journal of Biological Sciences.* 8(4): 1129-1137.
- Redden, K. D., A. D. Kennedy, J. R. Ingalls, and T. L. Gilson. 1993. Detection of estrous by radioelement monitoring of vaginal and ear skin temperature and pedometer measurements of activity. *J. Dairy Sci.* 76: 713-721.
- Santos-Jimenez, Z., P. Martínez-Ros, T. Encinas, *et al.* 2022. Ovarian Response and Fertility after Short-Term Progestagen/

- eCG Treatments Are Compromised in Nulliparous Sheep during Non-Breeding Season. *Vet Sci.* 9(12): 663.
- SAS. 2012. SAS User's Guide: Statistics, SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA.
- Sitairesmi, P. I., B. P. Widjibroto, S. Bintara, and D. T. Widayati. 2019. Exfoliative vaginal cytology of Saanen goat (*Capra hircus*) during estrus cycle. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* 387: 012007.
- Stokhof, S. J. H., N. M. Soede, and B. Kemp. 1996. Vaginal mucus conductivity as measured by the Walsmeta MKIV does not accurately predict the moment of ovulation or the optimum time for insemination in sows. *Anim. Reprod. Sci.* 41: 305-310.
- Vidal, B. R., G. F. D. Silva, J. S. Santos, F. E. F. Dias, A. K. F. Lima, E. B. Viana, W. C. Neves, G. E. N. Viana, M. G. T. Gomes, and T. V. Cavalcante. 2013. Estrous identification through coloproctology in sows in intensive free-range breeding. *J. Vet. Adv.* 3(10): 281-284.
- Wang, S., H. Zhang, H. Tian, X. Chen, S. Li, Y. Lu, L. Li, and D. Wang. 2020. Alterations in vaginal temperature during the estrous cycle in dairy cows detected by a new intravaginal device-a pilot study. *Trop. Anim. Health Pro.* 52: 2265-2271.
- Widayati, D. T., P. I. Sitaresmi, S. Bintara, and B. P. Widjibroto. 2018. Estrus detection through vaginal pH in Saanen etawah crossbreed goats. *Pak. J. Biol. Sci.* 21(8): 383-386.
- Zaid, N. W. 2011. Metachromasia in the exfoliated vaginal cells of awassi does. *Kufa Jou. Vete. Med. Sci.* 2(1): 114-120.

The variation in vaginal mucus electrical conductivity, pH, and vaginal temperature during estrus synchronization in multiparous and primiparous Alpine goats during the breeding season ⁽¹⁾

Ting-Chieh Kang ⁽²⁾⁽⁵⁾ Kai-Fei Tseng ⁽²⁾ Yu-Hsin Chen ⁽³⁾
Fung-Hsiang Chu ⁽⁴⁾ and Pei-Chun Tsai ⁽⁴⁾

Received: Sep. 20, 2024; Accepted: Jun. 2, 2025

Abstract

This study aimed to measure variations in the electrical conductivity, pH, and temperature of vaginal mucus in primiparous and multiparous Alpine does during synchronized estrus to establish a quantifiable standard that aids in accurately determining the optimal timing for artificial insemination and thereby enhances fertilization success rates. The conductivity of the vaginal mucus peaked at the onset of estrus and declined as signs of estrus became more apparent. In multiparous doe, conductivity dipped to its lowest at 18 hours and slightly recovered thereafter, while in primiparous does, it reached its lowest point between 36 to 40 hours. Significant differences in conductivity were observed between pregnant and non-pregnant multiparous and primiparous does ($P < 0.05$), especially between 18 to 36 hours. The pH of the vaginal mucus peaked between 40 to 42 hours, with changes in pregnant multiparous does being more gradual; significant differences in pH were evident at most time points ($P < 0.05$), particularly at 54 and 60 hours. For primiparous does, differences in pH between pregnant and non-pregnant does were significant after 30 hours ($P < 0.05$), especially at 30, 36, and 40 hours. Regarding temperature, it gradually increased in pregnant multiparous does from 0 to 42 hours, peaked, and then declined, while in primiparous does, it began to rise after 30 hours and remained elevated from 42 to 60 hours. Significant temperature differences were observed between pregnant and non-pregnant doe at specific times ($P < 0.05$). Successful pregnancy post-artificial insemination in multiparous and primiparous does was associated with vaginal mucus conductivity of 307 ± 25 mS/cm vs. 323 ± 31 mS/cm, pH values of 7.12 ± 0.36 vs. 7.16 ± 0.32 , and vaginal temperatures of 39.13 ± 0.33 °C vs. 39.05 ± 0.23 °C, respectively. Observations of variations in vaginal mucus conductivity, pH, and temperature (lower in pregnant than non-pregnant does) can serve as references for the optimal timing of artificial insemination, thus potentially increasing success rates.

Key words: Alpine goat, Artificial insemination, Vaginal mucus conductivity, Vaginal mucus pH, Vaginal temperature.

(1) Contribution No. 2830 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

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

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

畜試土雞高畜 9 號品系於涼、熱季環境之生理參數、 血液生化值及血液學調查⁽¹⁾

梁筱梅⁽²⁾⁽⁴⁾ 康獻仁⁽²⁾ 劉曉龍⁽³⁾

收件日期：114 年 4 月 23 日；接受日期：114 年 7 月 1 日

摘 要

本研究旨在探討涼、熱季環境對畜試土雞高畜 9 號品系 (TLKT-09) 生理與血液參數之影響。試驗期間為 2020 與 2021 年之涼季 (1 - 2 月) 及熱季 (6 - 8 月)，使用畜試土雞高畜 9 號品系 18 至 37 週齡之公、母雞各 15 隻，每年 60 隻，兩年進行二批次 (涼、熱季各 60 隻)，合計 120 隻。試驗期間分別於上午 10 時及下午 14 時記錄雞隻泄殖腔溫度和每分鐘呼吸頻率，另於涼季與熱季最後一週採血，分析其血液生化值及血液學。試驗期間記錄雞舍環境溫溼度，並計算溫溼度指數 (temperature-humidity index, THI)。結果顯示，於涼季與熱季時雞舍內之 THI 分別為 76.1 ± 1.9 與 82.8 ± 2.1 ；雞隻泄殖腔溫度於涼、熱季時分別為 $41.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 與 $41.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ；呼吸頻率為每分鐘 39.1 ± 6.4 次與 38.8 ± 6.4 次，兩生理參數於涼、熱季間未呈顯著差異。血液生化值部分，試驗雞隻血液中之血糖、肌酸酐、尿酸、總膽紅素、鹼性磷酸酶與三酸甘油酯等濃度於涼、熱季節間有顯著差異，此顯示雞隻在涼、熱季時能維持體溫與呼吸頻率皆穩定，具一定的熱適應能力，而血液生化值的變化反映出其體內代謝調節對環境溫度的反應。另於血液學部份，試驗雞隻之紅血球容積比、紅血球數、平均紅血球體積、平均細胞血紅素、白血球、單核細胞、嗜鹼性球、血小板與 IgG 等數值於涼、熱季間有顯著差異，其中熱季雞隻之平均紅血球容積、平均紅血球血紅素、嗜鹼性球、血小板及免疫球蛋白 G 等數值顯著高於涼季時之血液檢測值，這些血液學變化反映雞隻藉提升輸氧效率與免疫功能以因應熱環境。試驗分析血液生化值及血液學所測得數值均屬雞隻正常範圍內，且雞隻之體溫與呼吸頻率於涼、熱季間未呈顯著差異，顯示於高 THI (82.8) 環境下畜試土雞高畜 9 號品系仍具備良好熱適應性。

關鍵詞：畜試土雞高畜 9 號、血液生化值、血液學、熱緊迫。

緒 言

雞隻因缺乏汗腺而對環境溫度極為敏感，需仰賴呼吸散熱進行體溫調節，導致其在氣候劇烈變化時，容易出現熱緊迫或冷緊迫反應，進而影響健康與生產效能。雞隻的生長和產蛋性能等生產力是綜合體內生理機制協調後的整體反應表現，影響雞隻熱緊迫之主要因素為高溫環境，其影響層面包括雞隻生理、行為和免疫反應的表現、啟動下視丘-腦下垂體-腎上腺軸 (HPA axis) 作用和改變神經內分泌系統的運作等一連串複雜的生理機制調控，使採食量下降，進而影響雞隻生長和產蛋性狀的生產能力 (Pawar *et al.*, 2016)。許多研究指出熱緊迫造成雞隻採食量降低、生長速率遲緩及飼料效率差等生長性能衰退 (Deeb and Cahaner, 2002; Attia *et al.*, 2011; Ghazi *et al.*, 2012; Sohail *et al.*, 2012)。Baziz *et al.* (1996) 研究指出，在 22 至 32°C 之間，每升高 1°C 肉雞採食量下降 3.6%；Sohail *et al.* (2012) 將 1 日齡雞隻飼養於 35°C 至 42 日齡，結果長期熱處理雞隻比飼養於 26°C 之雞隻降低採食量 16.4%，體重下降 32.6%，並說明雞隻為降低體內熱生成而減少採食。熱緊迫造成雞隻採食量減少、消化率降低、血漿中蛋白質和鈣離子濃度下降等情形，亦導致生產性能低落的原因 (Lara and Rostagno, 2013)。

溫溼度指數 (temperature-humidity index, THI) 係一綜合考量氣溫與相對溼度之環境指標，廣泛應用於畜禽熱緊迫狀態之評估。其設計目的在於反映環境熱負荷對動物體溫恆定系統之挑戰程度，提供一量化標準以判斷動物處於

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2831 號。
(2) 農業部畜產試驗所南區分所。
(3) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(4) 通訊作者，E-mail: hlliang@mail.tlri.gov.tw。

熱舒適或熱不適條件 (Marai *et al.*, 2007)。目前 THI 已供判斷肉雞與蛋雞生產中舒適或熱不適的重要工具 (Moraes *et al.* 2008; Ribeiro *et al.* 2020)。Moraes *et al.* (2008) 亦將 THI 數值對應雞隻舒適與否的範圍進行定義，當 $THI \leq 72$ 時，表示該地區在無需環境調整的情況下即可飼養雞隻，且雞隻處於完全舒適狀態；當 THI 介於 73 至 76 時，該地區適合飼養，但需進行部分環境監控與調節，雞隻處於輕度不適狀態；當 THI 介於 77 至 80 時，該地區之使用受到限制，需進行環境調整，雞隻處於中度不適狀態；當 THI 介於 81 至 84 時，該地區限制性更高，需進行多項環境改造，雞隻處於嚴重不適狀態。當 THI 超過 85 時，則該地區不適合飼養家禽，禽隻將處於危及生命的狀態。

雞隻血液生化值分析與血液學檢測，是了解其生理狀態、健康狀況與對環境或飼養條件反應的重要工具，可作為評估其健康狀態、生理調節能力與免疫功能的重要依據 (Weiss and Wardrop, 2010; Mujahid, 2011)，常用之指標包含血糖、肌酸激酶、紅血球數、血紅素濃度、白血球分類與血小板等 (Weiss and Wardrop, 2010; Willemsen *et al.*, 2011)。在環境壓力或熱緊迫下，血液生化值與血液學參數常呈現變動，例如血糖、肌酸激酶、血容比、白血球數量或紅血球容積等皆可能隨之改變 (Altan *et al.*, 2000; Nazifi *et al.*, 2011; Willemsen *et al.*, 2011)。因此，血液生化值分析與血液學的監測不僅可提供疾病或營養失衡的警訊，也可作為評估雞隻對環境變異反應的科學依據。

臺灣位處亞熱帶，夏季氣溫動輒突破 35°C ，冬季則可降至 10°C 以下。此種季節溫度變化劇烈的環境對雞隻構成潛在壓力，尤其為追求高生產性能而進行長期人為選育的結果，將造成雞隻對熱緊迫的感受性較大，尤其是在熱帶地區的亞洲和南美洲 (Daghir, 2008)，因此選育雞隻的耐熱或耐寒能力更應重視 (Havenstein *et al.*, 1994)。畜試土雞高畜 9 號品系 (TLKT-09) 為農業部公告之種雞品系，且研究證實可處於 42°C 環境達 2 小時，具有急性耐熱性 (康等, 2018)，惟尚未建立對不同氣候條件之適應性分析資料，因此本研究旨在探討畜試土雞高畜 9 號品系於涼季與熱季環境下之生理值、血液生化與血液學變化，藉以評估其對不同氣候條件之適應性，以供氣候變遷下本土雞種選育與飼養管理策略之參考。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗設計

- (i) 本研究所涉及之動物試驗於農業部畜產試驗所南區分所屏東場區執行，動物之使用、飼養及實驗內容皆依農業部畜產試驗所南區分所屏東場區實驗動物管理委員會核准之文件 (動物實驗核准編號為高實 109-4、高實 110-7) 與試驗準則進行。
- (ii) 試驗於 2020 與 2021 年進行，分別於涼季 (1 - 2 月) 及熱季 (6 - 8 月) 逢機選擇 18 至 37 週齡種公雞及種母雞，種公雞於已施行採精，種母雞達 37 週齡的產蛋數約 60 枚，公、母各 15 隻，每年 60 隻 (即 2020 年涼季採集公 15 隻、母 15 隻血樣，熱季採集公 15 隻、母 15 隻血樣，2021 年之涼季採集公 15 隻、母 15 隻血樣，熱季採集公 15 隻、母 15 隻血樣)，兩年進行二批次，合計 120 隻。
- (iii) 試驗雞隻飼養於水泥結構半開放式禽舍空間，採個別籠飼 (每籠長 60 cm × 寬 45 cm × 高 80 cm)，光照採 17 小時長光照 (17L : 7D)，光照強度 10 - 20 lux，飼糧營養成分為代謝能 2,751 kcal/kg、粗蛋白質 15.5%，飲水及飼料皆任食。
- (iv) 防疫計畫為雞隻 18 週齡施打里奧病毒不活疫苗，及 30 週齡施打雞新城病 (ND) + 傳染性支氣管炎 (IB) + 傳染性華氏囊病 (IBD) 死毒疫苗注射。
- (v) 於 2020 與 2021 年涼季與熱季每兩星期檢測一次，分別於上午 10 時及下午 14 時進行保定，記錄雞隻泄殖腔溫度和每分鐘呼吸頻率。

II. 檢測項目與方法

- (i) 以高精度溫溼度連續紀錄器 (THD-8[®]，久德電子科技股份有限公司，臺灣) 置放雞舍內外，距離地面 1.5 公尺處，記錄試驗期涼季與熱季環境溫度與溼度，並以 $THI = (1.8 \times AT + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times AT - 26)]$ (AT: air temperature ($^{\circ}\text{C}$); RH: relative humidity (%)) 之公式計算 THI 值 (Habeeb *et al.*, 2018)。
- (ii) 將雞隻保定和穩定後，以體溫計測量泄殖腔溫度，並以人工目測及紀錄雞隻胸腹部起伏次數，計算每分鐘之呼吸頻率。
- (iii) 2020 與 2021 年分別於 2 月與 8 月最後一週，由雞翼靜脈抽血 3 mL，分別加入含肝素抗凝血管 (BD Vacutainer[®] Lithium Heparin, USA) 與凝血管 (BD Vacutainer[®] Serum Blood Collection Tube, USA) 採集血液。其中之凝血管經離心後 (3,000 rpm、10 min 及 4°C) 將上層血清送至屏東科技大學家禽疾病診斷中心及立人檢驗事務所進行血液生化值檢測。血液生化值測定 22 個項目，包含血糖 (Glucose, Glu)、尿素氮 (Blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (Creatinine, Cre)、尿酸 (Uric acid, UA)、肌酸激酶 (Creatine kinase, CK)、天門冬胺酸轉胺

酶 (Aspartate aminotransferase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (Alanine aminotransferase, ALT)、鹼性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, ALP)、總膽紅素 (Total bilirubin, TBIL)、總蛋白質 (Total protein, TP)、白蛋白 (Albumin, Alb)、球蛋白 (Globulin, Glb)、白蛋白/球蛋白比值 (Albumin/Globulin, A/G)、總膽固醇 (Total cholesterol, TC)、三酸甘油酯 (Triglyceride, TG)、血鈉 (Sodium, Na)、血鉀 (Potassium, K)、血鈣 (Calcium, Ca)、血磷 (Phosphate, P)、醣類皮質素 (Glucocorticoid)、免疫球蛋白 A (Immunoglobulin A, Ig A)、免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, Ig G)。其中醣類皮質素、免疫球蛋白 A、免疫球蛋白 G 使用商業套組 Chicken glucocorticoid (GC)、Chicken immunoglobulin A (Ig A) 及 Chicken immunoglobulin G (Ig G) ELISA kit (Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd.) 進行酵素結合免疫吸附分析定量。含肝素全血送至屏東科技大學附設獸醫教學醫院進行全血細胞計數 (Complete blood count, CBC) 檢測，包含血容比 (Packed cell volume, PCV)、紅血球 (Red blood cells, RBC)、血紅素 (Hemoglobin, Hb)、平均紅血球容積 (Mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素含量 (Mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (Mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、白血球 (White blood cells, WBC)、異嗜球 (Heterophils)、淋巴球 (Lymphocytes)、單核球 (Monocytes)、嗜酸性球 (Eosinophils)、嗜鹼性球 (Basophils)、血小板 (Platelet, PLT) 及纖維素原 (Fibrinogen) 等 14 項分析。

III. 統計分析

試驗資料以 IBM® SPSS® Statistics version 22 (SPSS, 2013) 軟體進行統計分析，以單因子變異數分析 (One-way ANOVA) 比較各組間之差異顯著性，當 $P < 0.05$ 表差異顯著。

結果與討論

I. 涼、熱季環境變化對畜試土雞高畜 9 號之泄殖腔溫度與呼吸頻率影響

由於本試驗場域之地理位置接近中央氣象署高雄氣象站統計範圍，經統計分析該署高雄氣象站 2020 至 2021 年之觀測資料結果如表 1。根據氣象資料並以 Habeeb *et al.* (2018) 所提出之溫溼度指數 (THI) 公式進行計算，結果顯示，2020 年涼季 (1 及 2 月) THI 分別為 67.70 與 68.98；2021 年涼季 (1 及 2 月) THI 分別為 63.76 與 67.68；2020 年熱季 (6、7 及 8 月) THI 分別為 82.61、83.09 與 81.77；2021 年熱季 (6、7 及 8 月) THI 分別為 80.58、81.62 與 81.19。本試驗場域之氣候整體而言，其涼季 THI 落於 63 – 69 間，屬於無熱緊迫等級 (Moraes *et al.* 2008)；而熱季 THI 均超過 80，已達中度或重度熱緊迫門檻 (Moraes *et al.* 2008)。這顯示試驗場域每年 6 – 8 月之熱季環境確實對雞隻產生潛在熱緊迫壓力，需適當管理通風、遮蔭及水分供應，降低雞隻散熱負擔。

表 1. 2020 至 2021 年氣象觀測試驗場域之涼、熱季溫溼度指數變化

Table 1. Changes of Temperature-Humidity Index (THI) at the site of feeding trial during cool and hot seasons from 2020 to 2021

Month	Average Temperature (°C)	Relative Humidity (%)	THI*
Year 2020			
Jan.	20.9	70	67.70
Feb.	21.8	69	68.98
Jun.	30.3	75	82.61
Jul.	30.5	76	83.09
Aug.	29.1	82	81.77
Year 2021			
Jan.	18.3	69	63.76
Feb.	20.8	72	67.68
Jun.	28.2	84	80.58
Jul.	29.1	81	81.62
Aug.	28.4	86	81.19

* $THI = (1.8 \times AT + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times AT - 26)]$, AT = Average Temperature (°C), RH = Relative Humidity (%).

試驗以高精度溫溼度連續紀錄器置於雞舍內外記錄溫溼度，並分析涼、熱季雞舍 THI 及畜試土雞高畜 9 號之泄殖腔溫度與呼吸頻率，其結果如表 2。飼養畜試土雞高畜 9 號品系之雞舍 THI 值於涼季與熱季分別為 76.1 ± 1.9 與 82.8 ± 2.1 ($P < 0.05$)。然而依據氣象資料觀測本試驗場域之涼季 THI 值落於 63 – 69 間，溫溼度連續紀錄器記錄雞舍外 THI 值為 76.0 ± 4.6 ，而同時期雞舍內之 THI 值為 76.1 ± 1.9 ，顯示雞舍內環境與雞舍外環境同樣溼熱。熱季亦有相同情形，依據氣象資料觀測本試驗場域之熱季 THI 值落於 80 – 83 間，溫溼度連續紀錄器記錄雞舍外 THI 值為 84.3 ± 4.1 ，而同時期雞舍內之 THI 值為 82.8 ± 2.1 。顯示飼養雞隻時，雖有開窗及抽風扇運行以調控雞舍內溫度，惟這些措施並未讓雞舍環境溫度 THI 有效地下降，需再行檢討改善措施，如增加風扇或增加排風設備等。但經測量雞隻生理值顯示，涼、熱季時，雞隻體溫分別為 $41.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 及 $41.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ，均屬雞隻體溫正常值，且於涼、熱季時每分鐘呼吸數分別為 39.1 ± 6.4 次及 38.8 ± 6.4 次，亦維持穩定，顯示即使在熱季雞舍內部 THI 達 82.8 (可能接近或達到熱緊迫情形)，畜試土雞高畜 9 號品系雞隻仍能維持體溫及呼吸頻率穩定，對高溫環境有較佳的耐受性，不易受到熱緊迫之影響。

表 2. 涼、熱季雞舍 THI 及畜試土雞高畜 9 號之泄殖腔溫度與呼吸頻率

Table 2. THI value of the poultry house, cloacal temperature and respiration rate of TLKT-09 chickens under cool and hot seasons

Season*	THI in door	THI out door	Cloacal Temperature, °C (n = 60)	Respiration rate, time/min (n = 60)
Cool	76.1 ± 1.9^a	76.0 ± 4.6^a	41.4 ± 0.4	39.1 ± 6.4
Hot	82.8 ± 2.1^b	84.3 ± 4.1^b	41.6 ± 0.5	38.8 ± 6.4

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

* Cool season: Jan. - Feb.; Hot season: Jun. - Aug.

Values are mean \pm SD.

II. 涼、熱季環境變化對畜試土雞高畜 9 號品系血液生化值影響

本試驗於涼、熱季對畜試土雞高畜 9 號品系之血液生化值分析結果列於表 3。結果顯示其測得數值均屬雞隻正常範圍 (曾, 2007; Weiss and Wardrop, 2010)。試驗雞隻血液中之血糖、肌酸酐、尿酸、總膽紅素、鹼性磷酸酶與三酸甘油酯等指標於涼、熱季節間有顯著差異 ($P < 0.05$)，顯示儘管雞隻在涼、熱季中之泄殖腔溫度與呼吸頻率皆維持穩定，具一定的熱適應能力，然而血液生化值的變化仍反映出其體內代謝對環境溫度改變的調節反應。研究指出，高溫環境可能引起雞隻熱緊迫反應，誘發體內皮質酮濃度升高，為了在熱緊迫下維持能量需求，雞隻會透過糖質新生作用，將丙酮酸與其他非葡萄糖來源 (如肌肉蛋白質) 轉化為葡萄糖，進而導致血糖濃度上升 (Garriga *et al.*, 2006; Mujahid, 2011)。然而試驗雞隻於涼季時的血糖濃度 269.0 ± 11.7 mg/dL 反而比熱季血糖濃度 234.0 ± 26.6 mg/dL 高，與前述研究結果不同，推測於涼季時雞舍溫度對雞隻並未造成緊迫，採食情形正常，消化代謝飼糧而促使血糖濃度較高，而熱季時雞舍的高 THI 值，可能造成雞隻採食量下降，消化代謝飼糧少而致使血糖濃度顯著較低 ($P < 0.05$)。然而熱緊迫會促使雞隻體內皮質酮濃度上升，導致肌肉蛋白質分解增加，蛋白質代謝與腎功能作用的調節，進而使雞隻血液中的尿酸與肌酸酐濃度升高 (Nazifi *et al.*, 2011)，然而本試驗雞隻於熱季時之肌酸酐濃度 0.20 ± 0.07 mg/dL 與尿酸濃度 10.60 ± 3.68 mg/dL 均比涼季時之肌酸酐濃度 0.10 ± 0.03 mg/dL 與尿酸濃度 7.00 ± 2.21 mg/dL 顯著較高 ($P < 0.05$)，但試驗雞隻之皮質酮濃度於涼、熱季之間並無顯著差異，推測可能由於雞隻的適應性反應，長期暴露於高溫環境下的肉雞可能會產生適應性反應，使得皮質酮的分泌趨於穩定，從而在不同季節間無顯著差異。惟儘管皮質酮濃度未顯著變化，熱緊迫仍可能通過其他代謝途徑導致尿酸和肌酸酐濃度上升 (Qaid and Al-Garadi, 2021)。膽紅素是血紅素分解的主要最終產物，是膽汁中的重要成分，可透過測量血液中膽紅素的濃度來評估肝臟功能 (Sticova and Jirsa, 2013)。試驗雞隻於熱季時血清總膽紅素濃度 0.70 ± 0.30 mg/dL 顯著高於涼季時之 0.11 ± 0.05 mg/dL ($P < 0.05$)，推測熱季高溫有增加肝臟代謝調節的負荷所致。鹼性磷酸酶廣泛分佈於哺乳動物的細胞中，其確切的生理功能尚不完全明瞭，但儘管如此，鹼性磷酸酶的活性仍廣泛用於判斷肝臟疾病 (Fernandez and Kidney, 2007)。試驗雞隻於熱季時之血清鹼性磷酸酶活性 766.0 ± 95.1 IU/L 顯著高於涼季時之 465.0 ± 264.0 IU/L ($P < 0.05$)，此情形與上述血清總膽紅素濃度分析結果一致，推測熱季高溫有增加肝臟代謝調節的負荷所致。試驗雞隻於涼季時之血清三酸甘油酯濃度 $1,110 \pm 122$ mg/dL 高於熱季時之血清三酸甘油酯濃度 918 ± 129 mg/dL，此情形與上述血糖濃度分析結果一致，推測為涼季時試驗雞隻採食情形正常，消化代謝飼糧而促使血清三酸甘油酯濃度較高所致。整體而言，血液生化指標的變動顯示畜試土雞高畜 9 號品系雞隻在不同季節環境中，會透過內部代謝調節機制來維持生理穩定，展現出一定

程度的熱緊迫的適應性。

表 3. 畜試土雞高畜 9 號品系於涼、熱季時之血液生化值

Table 3. Blood biochemical parameters of TLKT-09 chickens under cool and hot seasonal conditions

Items	Cool season* (n = 60)	Hot season* (n = 60)
Glucose, mg/dL	269.0 ± 11.7 ^a	234.0 ± 26.6 ^b
Blood urea nitrogen, mg/dL	1.80 ± 0.27	2.00 ± 0.31
Creatinine, mg/dL	0.10 ± 0.03 ^a	0.20 ± 0.07 ^b
Uric acid, mg/dL	7.00 ± 2.21 ^a	10.60 ± 3.68 ^b
Creatine kinase, IU/L	5,652 ± 3,574	3,657 ± 2,538
Aspartate aminotransferase, U/L	245.0 ± 52.5	295.0 ± 80.1
Alanine aminotransferase, U/L	5.60 ± 1.89	7.21 ± 2.87
Total bilirubin, mg/dL	0.11 ± 0.05 ^a	0.70 ± 0.30 ^b
Total protein, g/dL	5.60 ± 1.22	5.30 ± 1.15
Albumin, g/dL	1.90 ± 0.31	1.80 ± 0.28
Globulin, g/dL	3.70 ± 0.94	3.50 ± 0.91
A/G (Albumin/ Globulin)	0.50 ± 0.06	0.50 ± 0.08
Alkaline phosphatase, IU/L	465.0 ± 264.0 ^a	766.0 ± 95.1 ^b
Total cholesterol, mg/dL	112.0 ± 45.7	130.0 ± 40.6
Triglyceride, mg/dL	1,110 ± 122 ^b	918 ± 129 ^a
Sodium, meq/L	156.0 ± 2.52	154.0 ± 3.66
Potassium, meq/L	3.60 ± 0.40	4.00 ± 0.87
Calcium, mg/dL	18.20 ± 6.76	16.40 ± 8.72
Phosphate, mg/dL	4.10 ± 0.87	3.80 ± 0.87
Amylase, U/L	363.0 ± 98.20	442.0 ± 260.0
Glucocorticoids, ng/mL	15.9 ± 3.2	17.5 ± 11.3

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

* Cool season: Jan. - Feb.; Hot season: Jun. - Aug.

Values are mean ± SD.

III. 涼、熱季環境變化對畜試土雞高畜 9 號品系血液學影響

本試驗於涼、熱季對畜試土雞高畜 9 號品系之血液學分析結果列於表 4。結果顯示其測得血液學與免疫相關之數值屬於正常範圍內 (曾, 2007; Weiss and Wardrop, 2010)。試驗雞隻之紅血球容積比、紅血球數、平均紅血球體積、平均細胞血紅素、白血球、單核細胞、嗜鹼性球、血小板與 IgG 等數值於涼、熱季間有顯著差異。試驗雞隻於熱季之紅血球容積比 $41.90 \pm 8.46\%$ 、平均紅血球體積 157.00 ± 6.01 fL、平均細胞血紅素 56.70 ± 5.51 pg 均顯著高於涼季之紅血球容積比 $37.10 \pm 7.50\%$ 、平均紅血球體積 130.00 ± 6.78 fL、平均細胞血紅素 49.70 ± 3.47 pg ($P < 0.05$)。而熱季時試驗雞隻之紅血球數 $2.70 \pm 0.51 \times 10^6/\mu\text{L}$ 顯著低於涼季時之 $2.90 \pm 0.51 \times 10^6/\mu\text{L}$ ($P < 0.05$)。此結果與紅血球在熱緊迫條件下的反應一致 (Aengwanich *et al.*, 2002)。熱緊迫導致雞隻水分流失增加，進而造成血液濃縮，使紅血球容積比顯著上升 (Chinrasri and Aengwanich, 2007)。雖然紅血球數下降，但平均紅血球體積與平均細胞血紅素顯著增加，可能為生理性代償反應，以提升紅血球的攜氧能力來應對組織對氧的需求。此一現象顯示熱緊迫下，雞隻可能透過增加紅血球體積與血紅素含量，以維持血氧輸送效率與基本代謝功能。單核球是源自骨髓的白血球，循環於血液與脾臟中。它們的特徵在於能夠透過模式識別受體 (pattern recognition receptors) 辨識危險訊號，單核球具有吞噬與呈遞抗原的能力，能分泌趨化激素 (chemokines)，並在感染與組織損傷時增殖反應 (Chiu and Bharat, 2016)。然而熱季時試驗雞隻之白血球中的單核細胞數 $1,528 \pm 821 \mu\text{L}$ 顯著低於涼季之單核細胞數 $2,069 \pm 1,401 \mu\text{L}$ ，推測高溫環境並非引起涼季雞隻單核球增加的主要生理緊迫因素，可能存有其他飼養管理不良因素所致。此外，Maxwell *et al.* (1992) 發現肉雞於運輸過程中遭受熱緊迫時，白血球中的

嗜鹼性球數量顯著上升，本研究亦有相同趨勢，試驗雞隻於熱季時之嗜鹼性球數 $420 \pm 114 \mu\text{L}$ 顯著高於涼季之嗜鹼性球數 $346 \pm 161 \mu\text{L}$ 。Wieten *et al.* (2010) 研究指出熱緊迫會影響免疫功能，包括 T 細胞數量、抗體與細胞激素的分泌、免疫球蛋白濃度，以及淋巴細胞的增殖能力。試驗雞隻於熱季時之 IgG 濃度 $29.7 \pm 15.7 \mu\text{g/mL}$ 均顯著高於涼季之 IgG 濃度 $10.3 \pm 6.7 \mu\text{g/mL}$ ，此情形與前述研究結果相似。在正常生理狀況下，動物體內血球細胞的數量，藉由持續的耗損與補充，維持動態平衡 (Buttari *et al.*, 2015)。綜上顯示畜試土雞高畜 9 號品系在不同季節環境中，儘管泄殖腔溫度與呼吸頻率穩定，但其體內代謝與免疫系統已出現熱調節性的反應。

表 4. 畜試土雞高畜 9 號品系於涼、熱季時之血液學分析

Table 4. Hematological parameters of TLKT-09 chickens under cool and hot seasons.

Items	Cool season* (n = 60)	Hot season* (n = 60)
Packed cell volume, %	37.10 ± 7.50^a	41.90 ± 8.46^b
Red blood cell, $\times 10^6 / \mu\text{L}$	2.90 ± 0.51^b	2.70 ± 0.51^a
Hemoglobin, g/dL	14.30 ± 3.28	15.10 ± 2.93
Mean corpuscular volume, fL	130.00 ± 6.78^a	157.00 ± 6.01^b
MCH (Mean corpuscular hemoglobin), pg/cell	49.70 ± 3.47^a	56.70 ± 5.51^b
MCHC (Mean corpuscular hemoglobin concentration), g/dL	38.30 ± 1.72	36.10 ± 3.16
White blood cell, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	15.10 ± 0.39^a	13.30 ± 0.53^b
Heterophils, / μL	$4,989 \pm 2,361$	$4,962 \pm 2,746$
Lymphocytes, / μL	$7,267 \pm 2,383$	$5,755 \pm 3,082$
Monocytes, / μL	$2,069 \pm 1,401^a$	$1,528 \pm 821^b$
Eosinophils, / μL	439 ± 312	601 ± 258
Basophils, / μL	346 ± 161^a	420 ± 114^b
Platelets, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	15.7 ± 6.1^a	19.0 ± 10.2^b
Total protein, g/dL	6.20 ± 1.59	6.10 ± 1.14
Fibrinogen, g/dL	0.40 ± 0.27	0.50 ± 0.22
Immunoglobulin G, $\mu\text{g/mL}$	10.3 ± 6.7^a	29.7 ± 15.7^b
Immunoglobulin A, $\mu\text{g/mL}$	216 ± 139	282 ± 185

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

* Cool season: Jan. - Feb.; Hot season: Jun. - Aug.

Values are mean \pm SD.

Soleimani *et al.* (2011) 將馬來西亞種原土雞、一般土雞及商用雞飼養於 26°C 環境下，並分析其體溫、血漿皮質固酮濃度以及異嗜球與淋巴球的比率，隨後將雞隻暴露於 36°C 環境中達 3 小時。結果顯示，商用雞隻的體溫、血漿皮質固酮以及異嗜球與淋巴球比值的升幅最為顯著；相對地，馬來西亞種原土雞在上述指標的變動最小，顯示其具較佳的熱耐受性。本試驗觀察高畜 9 號品系於涼季 (1 與 2 月) 及熱季 (6、7 與 8 月) 之長期溫溼度變動下的生理反應，結果顯示其體溫、血漿皮質固酮、異嗜球與淋巴球比例等指標均未出現顯著變化，即使在高溫溼指數 (THI) 達 82.8 的環境中，該品系仍展現出穩定的生理參數與免疫反應，顯示其具備良好的熱適應性。

結 論

畜試土雞高畜 9 號品系在涼、熱季環境下，能維持穩定的泄殖腔溫度與呼吸頻率，顯示其具一定的熱適應能力。試驗期間雞隻之部分血液生化值與血液學參數，於涼、熱季節間仍呈現顯著差異，反映出雞隻體內代謝與免疫系統因溫度變化而啟動相應的調節機制。熱季環境下，雞隻表現出血糖濃度下降、尿酸與肌酸酐濃度上升、總膽紅素與鹼性磷酸酶活性增加，顯示高溫對雞隻體內之能量、蛋白質代謝與肝功能造成影響；此外，紅血球容積比、平均紅血球體積與平均細胞血紅素增加，推測雞隻可能透過增加紅血球攜氧能力進行代償；而嗜鹼性球與 IgG 濃度顯

著升高，顯示其免疫系統亦產生調節性反應以因應熱緊迫。整體而言，畜試土雞高畜9號品系具備環境溫度變化的適應能力。本研究結果可做為選育具熱適應性本土雞種及優化高溫環境下飼養管理之參考依據，以減緩極端氣候所導致之生產損失。

參考文獻

- 曾秋隆。2007。曾氏家禽臨床血液學。藝軒出版社。臺北市。
- 康獻仁、林正鏞、林德育、梁筱梅。2018。熱休克蛋白 70 基因型對急性熱緊迫雞隻耐受力之影響。中畜會誌 47(1) : 37-50。
- Aengwanich, W., A. Tanomtong, R. Pattanarungson, and S. Simaraks, 2002. Blood cell characteristic, hematological and serum biochemistry values of Painted Stork (*Mycteria leucocephala*). Songklanakarin J. Sci. Technol. 24: 473-479.
- Altan, Ö., A. Altan, M. Çabuk, and H. Bayraktar. 2000. Effects of heat stress on some blood parameters in broilers. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 24: 145-148.
- Attia, Y. A., R. A. Hassan, E. D. A. E. Tag, and B. M. Abou-Shehema. 2011. Effect of ascorbic acid or increasing metabolizable energy level with or without supplementation of some essential amino acids on productive and physiological traits of slow-growing chicks exposed to chronic heat stress. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 95: 744-755.
- Baziz, H. A., P. A. Geraert, J. C. F. Padilha, and S. Guillaumin. 1996. Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. Poult. Sci. 75: 505-513.
- Buttari, B., E. Profumo, and R. Riganò. 2015. Crosstalk between red blood cells and the immune system and its impact on atherosclerosis. Biomed Res Int. 2015: 1-8.
- Chinrasri O. and W. Aengwanich. 2007. Blood cell characteristics, hematological values and average daily gained weight of Thai indigenous, Thai indigenous crossbred and broiler chickens. Pak J Biol Sci. 10: 302-309.
- Chiu, S. and A. Bharat. 2016. Role of monocytes and macrophages in regulating immune response following lung transplantation. Curr Opin Organ Transplant. 21: 239-245.
- Daghir, N. J. 2008. Poultry production in hot climates. 2nd Edition. Cromwell Press, Trowbridge. pp. 48-79.
- Deeb, N. and A. Cahaner. 2002. Genotype-by-environment interaction with broiler genotypes differing in growth rate. 3. Growth rate and water consumption of broiler progeny from weight-selected versus non selected parents under normal and high ambient temperatures. Poult. Sci. 81: 293-301.
- Fernandez, N. J. and B. A. Kidney. 2007. Alkaline phosphatase: beyond the liver. Vet Clin Pathol. 36: 223-233.
- Garriga, C., R.R. Hunter, C. Amat, J.M. Planas, M. A. Mitchell, and M. Moretó. 2006. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 290: 195-201.
- Ghazi, S. H., M. Habibian, M. M. Moeini, and A. R. Abdolmohammadi. 2012. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Bio. Trace. Elem. Res. 146: 309-317.
- Habeeb, A. A. M., A. E. Gad, and M. A. Atta. 2018. Temperature-humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of farm animals. Int J Biotechnol Recent Adv 2: 10-19.
- Havenstein, G. B., P. R. Ferket, S. E. Scheideler, and B. T. Larson. 1994. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 1991 broilers when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. Poult. Sci. 73: 1785-1794.
- Lara, L. J. and M. H. Rostagno. 2013. Impact of heat stress on poultry production. Animals 3: 356-369.
- Marai, I. F. M., M. S. Ayyat, and U. M. Abd El-Monem. 2007. Growth performance and reproductive traits of male rabbits as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian conditions. Trop. Subtrop. Agroeco. 7: 191-206.
- Maxwell, M. H., G. M. Robertson, M. A. Mitchell, and A. J. Carlisle. 1992. The fine structure of broiler chicken blood cells, with particular reference to basophils, after severe heat stress. Comp. Haematol. Int. 2: 190-200.
- Moraes, S. R. P., J T. Yanagi, and A. L. R. Oliveira. 2008. Classification of the temperature and humidity index (THI), aptitude of the region, and conditions of comfort for broilers and layer hens in Brazil. XXXVII Brazilian Congress of Agricultural Engineering, International Livestock Environment Symposium. Lguassu Falls, Brazil. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20093272870>.
- Mujahid, A. 2011. Acute heat stress in poultry: a review. Poult. Sci. J. 48: 1-12.

- Nazifi, S., M. Saeb, and E. Rowghani. 2011. Evaluation of some blood serum biochemical parameters in broiler chickens under heat stress and non-heat stress conditions. *Comp. Clin. Path.* 20: 373-377.
- Pawar, S. S., S. Basavaraj, L. V. Dhansing, K. N. Pandurang, K. A. Sahebrao, N. A. Vitthal, B. M. Pandit, and B. S. Kumar. 2016. Assessing and mitigating the impact of heat stress in poultry. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 4: 332-341.
- Qaid, M. M. and M. A. Al-Garadi. 2021. Protein and amino acid metabolism in poultry during and after heat stress: A Review. *Animals* 11: 1167.
- Ribeiro, B. P. V. B., J. T. Yanagi, D. D. Oliveira, R. R. Lima, and M. G. Zangeronimo. 2020. Thermoneutral zone for laying hens based on environmental conditions, enthalpy and thermal comfort indexes. *J. Therm. Biol.* 93: 102678.
- Sohail, M. U., M. E. Hume, J. A. Byrd, D. J. Nisbet, A. Ijaz, A. Sohail, M. Z. Shabbir, and H. Rehman. 2012. Effect of supplementation of prebiotic mannan oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poult. Sci.* 91: 2235-2240.
- Soleimani, A. F., I. Zulkifli, A. R. Omar, and A. R. Raha (2011) Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poult. Sci.* 90: 1435-1440.
- SPSS. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Sticova E. and M. Jirsa. 2013. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. *World J. Gastroenterol.* 19: 6398-6407.
- Weiss D. J. and K. J. Wardrop. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology: sixth edition.* John Wiley and Sons publishing. New Jersey. United States.
- Willemsen, H., Y. Li, E. Willems, L. Franssens, Y. Wang, E. Decuypere, and N. Everaert. 2011. Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. *Poult. Sci.* 90: 1302-1312.
- Wieten L, R. van der Zee, R. Spiering, J. Wagenaar-Hilbers, P. van Kooten, F. Broere, and W. van Eden. 2010. A novel heat-shock protein coinducer boosts stress protein Hsp70 to activate T cell regulation of inflammation in autoimmune arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 62: 1026-1035.

Investigation on Physiological, Blood Biochemical, and Hematological Parameters of the TLKT-09 Native Chickens under Cool and Hot Seasons ⁽¹⁾

Hsiao-Mei Liang ⁽²⁾⁽⁴⁾ Shann-Ren Kang ⁽²⁾ and Hsiao-Lung Liu ⁽³⁾

Received: Apr. 23, 2025; Accepted: Jul. 1, 2025

Abstract

This study aimed to investigate the effects of seasonal thermal conditions on the physiological and hematological parameters of the native strain of chickens TLKT-09 in TLRI. The experiment was conducted during the cool (January - February) and hot (June - August) seasons in 2020 and 2021. A total of 120 birds, including 15 males and 15 females aged 18 to 37 weeks per year, were used. Cloacal temperature and respiratory rate (breaths per minute) were recorded at 10:00 a.m. and 2:00 p.m. during the trial. Blood samples were collected in the final week of each season for biochemical and hematological analyses. Environmental temperature and humidity were monitored to calculate the Temperature-Humidity Index (THI). Results showed that the average THI values during the cool and hot seasons were 76.1 ± 1.9 and 82.8 ± 2.1 , respectively. Cloacal temperatures were $41.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ and $41.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$, while respiratory rates were 39.1 ± 6.4 and 38.8 ± 6.4 time/min in the cool and hot seasons, respectively; no significant seasonal differences were observed in these physiological indicators. However, blood biochemical analysis showed significantly higher levels of glucose, creatinine, uric acid, total bilirubin, and potassium in chickens during the hot season, indicating increased metabolic loading and electrolyte imbalance under heat stress. In addition, hematological parameters such as mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), basophil percentage, platelet count, and immunoglobulin G (IgG) were significantly elevated in the hot season, suggesting physiological adaptation via enhanced oxygen transport and immune function in response to heat stress. All measured biochemical and hematological values remained within the normal range for chickens. The absence of significant changes in cloacal temperature and respiratory rate, even under a high THI of 82.8, indicates that TLKT-09 native chicken possesses considerable thermotolerance.

Key words: TLKT-09 native chickens, Biochemical parameters, Hematology, Heat stress.

(1) Contribution No. 2831 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

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

微衛星標記應用於褐色菜鴨復養族群配種制度建立⁽¹⁾

張怡穎⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 陳若菁⁽³⁾ 張喬茵⁽²⁾ 郭雅心⁽²⁾ 鄭智翔⁽²⁾
蘇晉暉⁽²⁾ 魏良原⁽²⁾ 陳志峰⁽⁴⁾ 張經緯⁽²⁾

收件日期：114 年 4 月 16 日；接受日期：114 年 7 月 1 日

摘 要

褐色菜鴨高飼效品系為畜產試驗所東區分所透過殘差飼料採食量 (residual feed consumption, RFC) 選拔建立之新品系，2022 年因禽流感疫情，包含前述品系在內的所有種鴨族群皆遭防疫處置，2023 年始自己技術轉移的商業種鴨場引回無系譜族群進行復養。為確保引回種原及後代之類緣關係及遺傳多態性，本研究應用 11 組微衛星標記，自疫前族群模擬不同選配模式。結果顯示在四種模擬選配策略中，以最大分群遺傳距離法可最有效維持遺傳多態性。本研究進一步應用該法自復養族群繁殖其子代，並分析跨世代遺傳變異與族群結構變化。結果顯示，復養族群遺傳變異與疫前族群相當，惟復養子代則有遺傳變異下降趨勢，推測與另加選拔條件、候選種鴨數較少及繁殖時種鴨生殖狀態受限有關。遺傳結構分析結果亦顯示，同品系間，復養族群子代與其親代及疫前族群無明顯分化 (differentiation) 或僅有輕度分化；而比較同世代褐色菜鴨高飼效及其對照品系時，結果顯示隨復養後恢復選拔，兩品系間分化亦恢復上升。綜上所述，本研究提出一套適用於無系譜族群之可行配種策略，未來將應用於其他復養族群，並持續進行跨世代遺傳監測，以確保復養族群及其後代的遺傳多態性與族群穩定性，促其永續經營與應用。

關鍵詞：褐色菜鴨、微衛星標記、遺傳距離、配種策略。

緒 言

為提升蛋鴨飼料效率，畜產試驗所東區分所 (前為畜產試驗所宜蘭分所，以下簡稱東區分所) 於 2009 年自褐色菜鴨畜試一號建立褐色菜鴨高飼效品系，依據個體殘差飼料採食量 (residual feed consumption, RFC) 之表型值或育種價進行種鴨挑選 (行政院農業委員會，2018)。此品系於 2018 年完成命名，不僅與作為對照品系的褐色菜鴨畜試一號相同，具有高產蛋及蛋重較大的特性，相較對照品系可節省約一成飼料採食量。此品系於命名後持續選拔，並將該品系藉由技術移轉輔導推廣至商業種鴨場以提升產業生產效率。

商業種鴨場以營利為目的，管理模式不同於東區分所，無法將引進的種原進行系統性的保種作業。考量遺傳多態性為物種適應環境與持續選育之基礎資源 (Larbi *et al.*, 2018)，地方家禽常在缺乏系統選拔及未受控配種下亦面臨被高產商業品系取代之風險 (Malomane *et al.*, 2019)，因此，東區分所除了執行種鴨育種外，亦肩負種原保存責任。為進行保種或選拔，由於受限於飼養空間，各品系的族群大小僅在 200 隻至 400 隻之間，且皆為閉鎖族群，為避免嚴重近親衰退，需參考系譜資訊制定族群管理策略。如保種褐色菜鴨、白色菜鴨及五結黑色番鴨等 3 個種原保存鴨群皆分為 15 個家族，每年採輪迴配種制度繁殖下一代；而選育族群如褐色菜鴨畜試一號、高飼效品系、畜試三號、宜蘭白鴨台畜一號、五結白鴨、季新鴨及白色番鴨畜試 1 號，則依性能將候選種鴨排序，分為 12 - 20 個父系家族，再依系譜挑選母鴨，避開全、半同胞進行配種。

然東區分所之選育及保種鴨群於 2022 年 11 月因禽流感疫情進行防疫處置，原各項選拔計畫被迫中止。為維護國家珍貴畜產遺傳資源，並持續進行種鴨選育及其他鴨隻相關研究，本團隊自先前推廣至民間種鴨場之族群重新引入復養，然民間種鴨場因商業運作考量，多採 5,000 隻以上大群混養，未保有個體系譜資訊，難以應用前述輪迴配種或避開全、半同胞的方式進行配種。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2832 號。
(2) 農業部畜產試驗所東區分所。
(3) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(4) 國立中興大學動物科學系。
(5) 通訊作者，E-mail: yychang@mail.tlri.gov.tw。

Fernández *et al.* (2011) 提出，族群管理有兩大影響因素，其一為所挑選的動物將直接決定後續最大有效族群數量，其二則為配種制度。對於沒有系譜的動物，利用充足分子標記資訊取代系譜資訊，或是直接依現有動物分群結構制定配種計畫。若僅逢機挑選動物配種，在各族群皆歷經長期選拔下，可能更進一步喪失基因多樣性，更易近親衰退，或影響後續選拔改進的空間及族群對環境變化的適應能力 (Chang *et al.*, 2023)。

綜合以上考量，儘管東區分所已有既定的配種制度，如何挑選種鴨以在套用相關制度後保留原族群遺傳特性仍是一大挑戰；此外，民間大群混養的方式也不利於依據分群資訊進行精細配種。在缺乏系譜資訊的族群中，應用分子標記進行遺傳監測與配種策略規劃，已逐漸成為可行替代方案 (Gorjanc and Hickey, 2018; Meuwissen *et al.*, 2020)。本研究即以褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系為例，運用微衛星標記，分群遺傳距離作為配種依據，建立以個體平均遺傳距離為基礎的種鴨挑選方法，並制定配種表，重建系譜供後續應用，以促進各品系永續經營與發展。

材料與方法

I. 試驗動物

本試驗之供試動物為東區分所育成之褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系的疫前族群 (第 12 代)、復養族群及其子代。疫前族群包括褐色菜鴨高飼效品系 78 公 155 母及對照品系 56 公 89 母共 380 隻個體，復養族群係利用保生種鴨畜牧場先前技轉族群所產種蛋孵化，經抗體檢測後引回東區分所，包括褐色菜鴨高飼效品系 44 公 109 母及對照品系 26 公 61 母共 240 隻個體。另自復養族群應用本試驗制定的方法繁殖子代，實際配種生產高飼效品系雛鴨 200 隻及對照品系 165 隻，自兩品系復養子代再分別逢機挑選公鴨 10 隻及母鴨 20 隻進行試驗。另與先前研究 (Chang *et al.*, 2023) 獲得之褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系兩品系的第 2、4、5、6、7 及 8 代進行比較。

本研究涉及之動物試驗於東區分所執行，動物之使用、飼養及實驗內容係依據畜產試驗所宜蘭分所實驗動物照護及使用小組 (畜試宜動字第 112-07 號) 及畜產試驗所東區分所實驗動物照護及使用小組 (畜試東字第 113-05 號) 核准之試驗準則進行。

本計畫自前述試驗動物之翅靜脈採集新鮮血液，依 Gentra Puregene Blood Kit (QIAGEN, Netherlands) 說明書指示並參考 (Bush *et al.*, 2005) 調整用於萃取的血量以進行基因組 DNA 之萃取。所得基因組 DNA 置入 -20°C 冷凍櫃保存備用。

II. 微衛星標記基因型鑑別

本研究利用之微衛星標記係篩選自褐色菜鴨 (Hsiao *et al.*, 2008)，挑選具較佳多態性者如表 1，包括 APT001、APT004、APT008、APT010、APT012、APT017、APT020、APT025、APT026、APT032 及 APT033 等共 11 組 (位於第 1、2、3、7 及 Z 號染色體)。取試驗動物基因組 DNA 進行 PCR，其反應總體積為 10 μ L，其中包含 50 ng 模板基因組 DNA、正反引子各 0.2 μ M、1X PCR buffer、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM dNTP 及 0.375 U *Taq* DNA polymerase (TAKARA Co., Japan)。反應條件為 94°C 變性 10 分鐘，接著進行以下循環 30 次，包括 94°C 變性 20 秒、60°C 鍊合 30 秒及 72°C 延伸 30 秒，最後再以 72°C 延伸 10 分鐘。PCR 反應後，以 TBE 緩衝液製備 1% 瓊脂糖膠體進行電泳確認產物。基因型鑑別委請畜產試驗所臺灣畜產種原中心進行，經 ABI 3500 序列分析儀分析，以 GeneMapper 讀取各標記片段大小，再以人工整理分型。

III. 族群遺傳變異與遺傳結構分析

為模擬褐色菜鴨高飼效品系以不同策略配種後的族群遺傳多態性變化情形，本研究利用自行撰寫的 R 程式計算各標記的遺傳變異，包括交替基因數目 (Number of alleles, N_a)、有效交替基因數目 (Number of effective alleles, N_e) (Kimura and Crow, 1964)、觀測 (Observed heterozygosity, H_o) 與期望異質度 (Expected heterozygosity, H_e) (Nei, 1978)、多態性訊息含量 (Polymorphic information content, PIC) (Botstein *et al.*, 1980) 及 Wright's F-statistics 之族群近交係數 (Wright's F-statistics)。再利用 Cervus 3.0 軟體 (Kalinowski *et al.*, 2007) 針對前項所得基因型資料進行哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢定 (Guo and Thompson, 1992)。族群分析部分使用 FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) 依 (Weir and Cockerham, 1984) 所述估算族群兩兩之間之族群間分化指數 (among population genetic differentiation, F_{ST})，以評估族群間分化程度。並利用統計軟體 R 的 adegenet 套件進行族群主座標分析 (Principal coordinate analysis) 並繪圖 (Jombart and Ahmed, 2011)。

IV. 配種規畫與子代基因型模擬

本研究模擬四種利用微衛星基因型進行挑選種鴨並配種的方式，第一種方式係根據褐色菜鴨高飼效品系 G12 (疫前族群) 實際配種表及個體基因型，模擬產生受防疫處置子代基因型，因有 1 家族公鴨未能留存 DNA 樣本，為使實際系譜與不同策略模擬得以對照，故統一以 11 群進行模擬。配種表共分為 11 個公鴨家族，並依系譜挑選避開全、半同胞母鴨，共配對 11 公與 44 母。子代基因型依孟德爾遺傳定律進行模擬，每組微衛星標記分別從父母基因型各隨機獲得一個交替基因，並隨機指定性別。仿照實際留種方式，每隻種母鴨保留 3 公 4 母子代，達到預定性別留種數後，隨機移除多餘性別個體。每次模擬共產生 308 個子代個體基因型，為避免單次採樣基因型造成偏差，前述流程共模擬 100 次。

表 1. 菜鴨微衛星標記各組別之引子序列、煉合溫度及位於鴨染色體編號

Table 1. Primer sequences, annealing temperatures, and chromosome locations of the microsatellite markers in Tsaiya ducks

Locus ¹	Primer sequences (5' → 3')	Ta (°C) ²	Chr. ³	Duck genome scaffold no. ⁴
APT001	F: GTCCCACTGGTTGCTGTCC R: ACTACGCATGGCAGTGAGGTT	60	Z	1,509
APT004	F: GGGCAGGAAAATCTCCTGAAT R: TCTCAGTGGCTGAGCGGTC	60	3	192
APT008	F: CAAAGAAATCCTAGAACATCATTCAAAT R: TCTTCTGGCTTTTCACCTTAGTTTAGTA	60	1	358
APT010	F: CACTCAGGCTTTTAGGTCCATTAATA R: CATCTGAGAATGCACTTACTGTCAAA	60	2	1,199
APT012	F: TTGAGCCTCAGGTTCTAAACTCCTA R: TCATAACATTTTCAGACCAGTTTTCAGA	60	2	5
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA R: TGGAAGTTTTGATTTCTAGTGCTTACA	60	1	481
APT020	F: TTCCAAGTTTGTGTCATGCCAATAGA R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTTAG	60	1	197
APT025	F: TCCTAAGAAACGTTGCTTCATAGACC R: GAGTTAAGCTTCATCACTCTGTGACTG	60	2	121
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTTATATATCCA R: ATGTAAATAAAGTAGCCTTGACCGGT	60	7	477
APT032	F: TCACTTCTTGACTCTCCTTGGTTT R: TGACTTGAATTCTGTTTCAGGATAAATG	60	2	45
APT033	F: CTTACCCCTACCTCATAAGGAACTG R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATTA	60	Z	14

¹ Hsiao *et al.* (2008), developed from Tsaiya ducks.

² Annealing temperature.

³ Location on the duck chromosome.

⁴ Orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

第二與三種方式，則分別依最大與最小平均遺傳距離進行配種。為配合實務配種流程中需以家族為單位進行配種操作，本研究採兩階段策略制定配種表。首先以統計軟體 R 的 *poppr* 套件 (Kamvar *et al.*, 2014) 計算 Prevosti's distance (Prevosti *et al.*, 1975)，此遺傳距離不考慮突變及基因漂變，其比較個體交替基因差異的數量，並考慮了觀測差異與全體差異的比例，適用於各種類型分子標記。接著依此以 K-means 法 (Hartigan and Wong, 1979) 將公鴨與母鴨分別分為 11 群，再計算各分群間之 Nei's distance (Nei, 1978)，因設定每個公鴨家族與 4 隻以上母鴨配種，為避免種母鴨數量不足，每個公鴨分群先挑選遺傳距離前 6 個最大或最小的母鴨分群形成待配分群，再自每個待配分群依序隨機挑選公鴨，並依遺傳距離大小自待配種母鴨分群挑選母鴨，使每隻公鴨最後配對 4 個分群母鴨，再依第一種方式模擬產生 100 組 308 個子代基因型。

第四種方式則將公母個體分別隨機分配成 11 個分群，即未參考個體基因型與分群間的遺傳距離即形成待配分群，再依第二、三種方式產製配種表，及模擬產生 100 組 308 個子代基因型。

除第一種方式係根據實際系譜模擬子代基因型，故未另製作待配分群，而是直接模擬子代基因型，其他模

擬方式皆重複種鴨挑選後始模擬產生子代基因型。四種模擬方式產生之子代基因型，均進一步利用自行撰寫的 R 程式估算族群遺傳變異平均值與標準偏差，以評估不同選配模式對遺傳變異的影響。

V. 種鴨挑選配種模式驗證

鑒於前段模擬結果，本研究進一步以最大遺傳距離法實際進行復養族群的分群及配種，惟考量需儘量維持遺傳多態性，在引回復養族群中儘可能提高公鴨家族數與每個家族配種母鴨數，故將褐色菜鴨高飼效品系所有公鴨與母鴨依基因型分別分為 12 個分群，最終依據各公鴨分群所對應遺傳距離最大的 4 個母鴨分群，各自挑選 1 隻母鴨，製成模擬配種表，如同前段所述模擬產生 100 組子代基因型供計算各項遺傳變異。

另依模擬配種表結果，實際於高飼效品系中挑選 12 公 43 母 (選拔率 27 及 39%)，對照品系則選出 9 公 38 母 (選拔率 35 及 62%)。對照品系因參考主座標分析結果後，共剔除 4 隻明顯偏離族群分布個體，進而限制公母鴨分群數量，最終僅能分出 9 個公鴨分群。兩品系進行實際配種。最終繁殖出高飼效品系雛鴨 200 隻、對照品系 165 隻，自兩品系復養子代中分別隨機抽樣公鴨 10 隻與母鴨 20 隻進行微衛星標記檢測，並與疫前族群、復養族群及模擬復養子代進行比較，以確認遺傳多態性及族群結構變化情形。

結果與討論

I. 褐色菜鴨高飼效品系與對照品系疫前族群之遺傳變異分析

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系疫前族群 (G12) 於 11 組菜鴨微衛星標記的遺傳變異分別如表 2 至表 3。兩品系皆觀測到 57 個交替基因，高飼效品系與對照品系於各基因座所含交替基因數分別為 3 至 7 個與 3 至 8 個，平均每基因座皆含 5.2 個交替基因，平均有效交替基因數分別為 2.6 及 2.7 個有效交替基因。高飼效品系的平均觀測異質度為 0.532，平均期望異質度為 0.601，而對照品系的平均觀測異質度為 0.518，平均期望異質度為 0.582。高飼效品系的多態性訊息含量平均為 0.529，對照品系多態性訊息含量平均則為 0.527，兩品系在 11 組微衛星標記中，皆有 7 組標記具高度多態性 ($PIC > 0.5$)。

表 2. 菜鴨微衛星標記各組別於褐色菜鴨高飼效品系第 12 代之遺傳變異 (N = 233)

Table 2. Genetic variation at the microsatellite markers in the 12th generation of the Better Feed Efficiency Brown Tsaiya (BFEBT) line (N = 233)

Locus	Fragment (bp)	N_a^1	N_e^2	H_o^3	H_e^4	PIC^5	F_{is}^6
APT001*	178 – 206	6	2.4	0.275	0.591	0.509	0.536
APT004	286 – 314	7	3.3	0.648	0.698	0.658	0.071
APT008*	168 – 192	7	2.7	0.639	0.636	0.574	-0.005
APT010	180 – 208	7	2.0	0.511	0.495	0.431	-0.033
APT012	177 – 205	6	3.3	0.717	0.694	0.633	-0.032
APT017	173 – 185	4	2.6	0.541	0.615	0.545	0.120
APT020	177 – 201	5	2.9	0.639	0.650	0.584	0.016
APT025*	105 – 121	5	2.3	0.433	0.561	0.468	0.227
APT026	130 – 146	4	3.8	0.798	0.736	0.688	-0.084
APT032	207 – 259	3	1.8	0.408	0.434	0.342	0.061
APT033*	258 – 266	3	2.0	0.240	0.505	0.390	0.524
Average		5.2	2.6	0.532	0.601	0.529	0.127
SD		1.5	0.6	0.178	0.095	0.112	0.216

¹ Number of alleles.

² Effective number of alleles.

³ Observed heterozygosity.

⁴ Expected heterozygosity.

⁵ Polymorphic information content.

⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant ($P < 0.01$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 3. 菜鴨微衛星標記各組別於對照品系第 12 代之遺傳變異 (N = 145)

Table 3. Genetic variation at the microsatellite markers in the 12th generation of the control Brown Tsaiya line (N = 145)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _o ³	H _e ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	7	2.4	0.255	0.588	0.502	0.566
APT004	290 – 314	5	2.2	0.586	0.537	0.479	-0.092
APT008*	172 – 196	7	4.6	0.676	0.783	0.752	0.137
APT010	188 – 212	5	3.2	0.703	0.690	0.634	-0.019
APT012	177 – 209	8	3.3	0.731	0.696	0.642	-0.050
APT017	173 – 189	5	1.6	0.303	0.384	0.361	0.210
APT020	177 – 201	5	3.4	0.717	0.703	0.650	-0.021
APT025*	105 – 117	4	2.7	0.352	0.623	0.561	0.436
APT026	130 – 146	5	2.7	0.717	0.625	0.581	-0.148
APT032	207 – 259	3	1.7	0.379	0.399	0.322	0.048
APT033*	258 – 266	3	1.6	0.283	0.378	0.314	0.252
Average		5.2	2.7	0.518	0.582	0.527	0.120
SD		1.6	0.9	0.201	0.141	0.146	0.227

¹ Number of alleles.

² Effective number of alleles.

³ Observed heterozygosity.

⁴ Expected heterozygosity.

⁵ Polymorphic information content.

⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

比較褐色菜鴨高飼效品系與對照品系的第 12 代與先前世代 (Chang *et al.*, 2023) 的遺傳變異，各項多態性略高於第 8 代，尤以交替基因數為甚，推測由於第 12 代的樣本幾乎涵蓋族群所有個體，因此相較於其他先前世代觀測到較高交替基因數及多態性。其他各項變異則與歷代族群差異不大，有效交替基因數與族群近交係數亦與先前世代相近，顯示先前由每個家族平均挑選公母鴨進行遺傳監測的方式，確實可有效反映全族群的遺傳多態性。

II. 基於疫前族群不同選配模式模擬子代之遺傳變異

為評估以基因型資訊進行種鴨選配的可行性，本研究取前述褐色菜鴨高飼效品系疫前族群 (G12) 中種鴨個體的基因型，模擬四種不同配種模式以產子代族群，並供後續遺傳變異分析，分別為：

- (i) 根據實際系譜模擬子代的基因型。
- (ii) 依最大分群遺傳距離進行種鴨挑選及配種。
- (iii) 依最小分群遺傳距離進行種鴨挑選及配種。
- (iv) 重複隨機分配種鴨至公母分群、挑選種鴨配對。

除第一種方式直接根據實際系譜重複模擬產生子代外，其他三種每次皆重複種鴨挑選再產生子代，各模式皆產生 100 個族群，每個族群生產 308 隻個體。結果顯示如表 4。

比較四種選配模式，雖然有效交替基因數在根據實際系譜的方法中最高，但與最大平均分群遺傳距離法差異不大。多態性資訊含量在四種模擬方式皆相近，另各方法的族群近交係數皆不高，可能與四種模擬方式的假設皆符合孟德爾遺傳定律有關。整體來看，不同的模擬方式在各遺傳變異並無明顯差異，但以最大平均分群遺傳距離法在多數遺傳變異指標表現較高，顯示其具維持遺傳多態性的潛力。此外，實際系譜法於各項遺傳變異的標準偏差皆低於其他組別，尤其是交替基因數及有效交替基因數，顯示此兩項變異於確定配種個體時即已固定，不易因配種批次產生變動。而在需重複挑選種鴨的三種模式中，最大與最小分群遺傳距離法在各項遺傳變異的差異最大，顯示除了分群總數外，如何將種鴨分配至各群，仍會影響最終遺傳變異。基於模擬結果，後續試驗將採最大分群遺傳距離法做為復養族群選配的依據。

表 4. 褐色菜鴨高飼效品系模擬生產 308 隻子代之平均遺傳變異

Table 4. Average genetic variation in simulated offspring (308 individuals) of the BFEBT line under different mating strategies

Mating strategies in simulation ¹	N_a^2	N_e^3	H_O^4	H_E^5	PIC ⁶	F_{IS}^7
Based on actual pedigree repeated mating	4.27 ± 0.01	2.65 ± 0.02	0.590 ± 0.006	0.591 ± 0.003	0.522 ± 0.002	0.001 ± 0.011
Repeated selecting breeder and mating based on maximum average inter-cluster genetic distance	4.39 ± 0.19	2.61 ± 0.05	0.646 ± 0.013	0.596 ± 0.007	0.522 ± 0.007	-0.091 ± 0.020
Repeated selecting breeder and mating based on minimum average inter-cluster genetic distance	4.16 ± 0.18	2.58 ± 0.06	0.582 ± 0.013	0.586 ± 0.009	0.515 ± 0.009	0.009 ± 0.019
Random clustering and random mating	4.28 ± 0.19	2.58 ± 0.06	0.601 ± 0.017	0.588 ± 0.010	0.518 ± 0.009	-0.021 ± 0.025

¹ Except for the pedigree-based simulation, which repeated mating directly in 100 populations, all other simulations involved repeated selection of breeders prior to mating (100 populations each). For all simulations, each breeding female was retained to produce 3 male and 4 female offspring.

² Number of alleles.

³ Effective number of alleles.

⁴ Observed heterozygosity.

⁵ Expected heterozygosity.

⁶ Polymorphic information content.

⁷ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate and standard deviations.

III. 實際復養族群及基於其模擬復養子代之遺傳變異

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群 (S1R 及 C1R) 的遺傳變異分別如表 5 至表 6，褐色菜鴨高飼效品系復養族群共觀測到 55 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 8 個，平均每基因座含 5.0 個交替基因，有效交替基因數介於 1.7 至 4.0 個，平均每基因座具有 2.7 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.431 到 0.843，平均為 0.617；期望異質度介於 0.403 到 0.747，平均為 0.600。多態性訊息含量介於 0.322 到 0.714，平均為 0.537。而其對照品系復養族群共觀測到 56 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 8 個，平均每基因座含 5.1 個交替基因，有效交替基因數介於 1.6 至 5.1 個，平均每基因座具有 3.0 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.333 到 0.839，平均為 0.642；期望異質度介於 0.387 到 0.804，平均為 0.627。多態性訊息含量介於 0.312 到 0.778，平均為 0.572。

表 5. 菜鴨微衛星標記各組別於褐色菜鴨高飼效品系復養族群之遺傳變異 (N = 153)

Table 5. Genetic variation at the microsatellite markers in the recovered BFEFT population (N = 153)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _o ³	H _e ⁴	PIC ⁵	F _{is} ⁶
APT001*	178 – 206	7	4.0	0.562	0.747	0.714	0.248
APT004	290 – 314	6	2.2	0.569	0.556	0.521	-0.024
APT008*	184 – 196	4	2.6	0.582	0.615	0.546	0.054
APT010	192 – 212	4	2.0	0.556	0.496	0.419	-0.119
APT012	177 – 205	7	3.5	0.843	0.716	0.663	-0.178
APT017	169 – 189	6	2.6	0.660	0.611	0.550	-0.080
APT020	173 – 201	8	3.3	0.810	0.698	0.644	-0.161
APT025*	101 – 121	4	2.3	0.569	0.570	0.488	0.002
APT026	130 – 146	4	3.4	0.758	0.704	0.648	-0.077
APT032	207 – 259	2	1.7	0.451	0.403	0.322	-0.120
APT033*	258 – 270	3	1.9	0.431	0.481	0.391	0.103
Average		5.0	2.7	0.617	0.600	0.537	-0.032
SD		1.9	0.8	0.136	0.111	0.125	0.128

¹ Number of alleles.

² Effective number of alleles.

³ Observed heterozygosity.

⁴ Expected heterozygosity.

⁵ Polymorphic information content.

⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

與疫前族群及先前第 2、4、5、6、7 及 8 世代 (Chang *et al.*, 2023) 相較，兩品系的交替基因數相近，有效交替基因數與觀測異質度則以復養族群略高的情形，類似第 12 代的情況，由於復養族群基因型鑑定包含族群所有個體，推測因此使觀測到的交替基因及多態性略高於前幾代，而有效交替基因數在不同世代間則大致相近，顯示復養族群無明顯多態性喪失問題。

模擬子代之遺傳變異結果如表 7 所示，係以褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群基因型資料利用最大分群遺傳距離法後挑選種鴨，並模擬產生 336 隻子代基因型之遺傳變異，共重複 100 次取平均值及標準偏差。結果顯示高飼效品系的交替基因數為 4.76 ± 0.10 ，有效交替基因數為 2.58 ± 0.04 ，觀測異質度與期望異質度分別為 0.590 ± 0.011 與 0.584 ± 0.006 ，多態性訊息含量為 0.521 ± 0.006 。而對照品系的交替基因數為 5.40 ± 0.06 ，有效交替基因數為 3.01 ± 0.05 。該品系的觀測異質度與期望異質度分別為 0.644 ± 0.010 和 0.631 ± 0.005 ，多態性訊息含量為 0.575 ± 0.005 。

與復養族群及先前世代相較，高飼效品系的模擬子代各項遺傳變異稍低於 G12 及復養族群，尤其是平均交替基因數明顯較低，但仍高於先前其他世代；而對照品系的模擬子代則略高於復養族群及先前世代。兩品系以最大平均遺傳距離模擬生產的子代，其遺傳變異皆與復養族群接近，此與疫前第 12 代族群模擬結果相似。

IV. 實際復養子代之遺傳變異

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群子代 (S2R 及 C2R) 各逢機採樣 10 公 20 母，其遺傳變異分別如表 8 至表 9，褐色菜鴨高飼效品系復養族群共觀測到 38 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 5 個，平均每基因座含 3.5 個交替基因，有效交替基因數介於 1.4 至 3.2 個，平均每基因座具有 2.3 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.167 到 0.900，平均為 0.527；期望異質度介於 0.260 到 0.692，平均為 0.507。多態性訊息含量介於 0.226 到 0.642，平均為 0.454。而其對照品系復養族群子代共觀測到 38 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 5 個，平均每基因座含 3.5 個交替基因，有效交替基因數介於 1.5 至 2.7 個，平均每基因座具有 2.1 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.267 到 0.633，平均為 0.436；期望異質度介於 0.320 到 0.623，平均為 0.515。多態性訊息含量介於 0.269 到 0.564，平均為 0.451。

進一步將疫前族群、復養族群與復養子代之平均遺傳變異彙整於表 10。可看到復養族群子代 (S2R 及 C2R) 在各項遺傳變異上均明顯低於復養族群 (S1R 及 C1R)，尤以交替基因數減少為甚。推測此情形可能與起始候選種鴨篩選，公鴨分群數較低，及僅採樣部分復養子代個體，且未依家族平均採樣等原因有關。

由於復養族群係自技轉場引回，需經類緣關係確認始能納入候選種鴨，參考主座標分析結果後，對照品系共剔除 4 隻明顯偏離族群分布個體，最終僅能分出 9 個公鴨分群；另與模擬時未設定性狀選拔門檻不同，高飼效品系另根據殘差飼料採食量檢定結果篩選種鴨，而兩品系亦需繁殖時能有效採精或有產蛋者才能列入種鴨，對照品系因繁殖期間有產蛋率下降情形，導致種鴨挑選樣本基礎受限，如前面所述，交替基因數與有效交替基因數於挑選種鴨時即大致確立，可能因此造成實際配種時這兩項遺傳變異偏低。文獻指出提高選拔強度雖可加速遺傳改進，然往往伴隨遺傳多態性犧牲 (Zhang *et al.*, 2018; Pocrnic *et al.*, 2023)。故本研究復養子代遺傳變異下降，與疫前族群模擬之結果略有差異，可能與增加選拔門檻、種鴨數受限等有關。此外，復養子代樣本數僅為族群部分個體，雖 Malomanc *et al.* (2021) 研究指出，樣本數少於 15 並不顯著影響雜合度估計，但隨樣本數減少，族群遺傳結構可能更易因個別基因型變異影響，如本研究中復養子代與親代族群全面進行基因型鑑定之規模不同，且亦非如先前世代根據家族平均採樣，可能因此未能完整反映復養族群子代的實際遺傳多態性。

表 6. 菜鴨微衛星標記各組別於對照品系復養族群之遺傳變異 (N = 87)

Table 6. Genetic variation at the microsatellite markers in the recovered control population (N = 87)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	7	5.1	0.701	0.804	0.778	0.128
APT004	290 – 314	6	2.5	0.586	0.605	0.566	0.031
APT008*	184 – 196	4	3.2	0.828	0.684	0.620	-0.209
APT010	192 – 212	4	2.8	0.621	0.642	0.572	0.033
APT012	177 – 205	7	4.4	0.839	0.775	0.740	-0.083
APT017	169 – 189	4	1.9	0.333	0.480	0.430	0.305
APT020	173 – 201	8	3.6	0.701	0.722	0.682	0.029
APT025*	101 – 121	5	2.6	0.563	0.609	0.545	0.076
APT026	130 – 146	5	2.9	0.770	0.659	0.609	-0.168
APT032	207 – 259	2	1.6	0.425	0.387	0.312	-0.100
APT033*	258 – 270	4	2.1	0.690	0.531	0.434	-0.298
Average		5.1	3.0	0.642	0.627	0.572	-0.023
SD		1.8	1.1	0.159	0.125	0.139	0.170

¹ Number of alleles.² Effective number of alleles.³ Observed heterozygosity.⁴ Expected heterozygosity.⁵ Polymorphic information content.⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 7. 褐色菜鴨高飼效品系及對照品系復養族群依最大平均分群間遺傳距離模擬生產子代 336 隻個體之平均遺傳變異

Table 7. Average genetic variation in 336 simulated offspring per population, based on the maximum average inter-cluster genetic distance strategy using the recovered BFEBT and control populations

Simulated populations ¹	N_a^2	N_c^3	H_o^4	H_E^5	PIC^6	F_{IS}^7
BFEBT line	4.76 ± 0.10	2.58 ± 0.04	0.590 ± 0.011	0.584 ± 0.006	0.521 ± 0.006	-0.011 ± 0.018
Control line	5.40 ± 0.06	3.01 ± 0.05	0.644 ± 0.010	0.631 ± 0.005	0.575 ± 0.005	-0.024 ± 0.014

¹ Breeder selecting was repeated prior to mating in 100 simulated populations. For all simulations, each breeding female was retained to produce 3 male and 4 female offspring, totally 336 individuals per population.

² Number of alleles.

³ Effective number of alleles.

⁴ Observed heterozygosity.

⁵ Expected heterozygosity.

⁶ Polymorphic information content.

⁷ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate and standard deviations.

表 8. 11 組菜鴨微衛星標記於褐色菜鴨高飼效品系復養族群子代實際遺傳變異 (N = 30)

Table 8. Actual genetic variation at 11 microsatellite markers in the recovered offspring of the BFEFT line (N = 30)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	3	2.3	0.167	0.566	0.499	0.706
APT004	290 – 314	5	2.3	0.433	0.556	0.525	0.220
APT008*	184 – 196	3	1.9	0.667	0.462	0.404	-0.444
APT010	192 – 212	3	1.4	0.267	0.263	0.241	-0.015
APT012	185 – 205	4	3.1	0.867	0.675	0.619	-0.284
APT017	173 – 189	5	3.0	0.667	0.669	0.609	0.004
APT020	177 – 201	4	2.8	0.733	0.638	0.565	-0.149
APT025*	105 – 117	3	2.1	0.633	0.530	0.440	-0.194
APT026	130 – 146	4	3.2	0.900	0.692	0.642	-0.301
APT032	207 – 259	2	1.4	0.267	0.262	0.228	-0.017
APT033*	258 – 266	2	1.4	0.200	0.260	0.226	0.232
Average		3.5	2.3	0.527	0.507	0.454	-0.022
SD		1.0	0.7	0.270	0.172	0.160	0.320

¹ Number of alleles.² Effective number of alleles.³ Observed heterozygosity.⁴ Expected heterozygosity.⁵ Polymorphic information content.⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 9. 11 組菜鴨微衛星標記於對照品系復養族群子代之遺傳變異 (N = 30)

Table 9. Genetic variation at 11 microsatellite markers in the recovered offspring of the control line (N = 30)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	3	2.2	0.333	0.551	0.485	0.395
APT004	290 – 306	5	1.9	0.433	0.476	0.422	0.089
APT008*	184 – 196	4	2.7	0.633	0.623	0.560	-0.017
APT010	192 – 212	3	2.1	0.433	0.515	0.434	0.159
APT012	185 – 205	4	2.6	0.467	0.618	0.548	0.245
APT017	177 – 185	3	1.9	0.300	0.466	0.403	0.356
APT020	177 – 197	4	2.6	0.600	0.616	0.564	0.026
APT025*	105 – 117	3	2.2	0.567	0.551	0.485	-0.028
APT026	130 – 146	4	1.9	0.500	0.469	0.429	-0.065
APT032	207 – 259	2	1.5	0.267	0.320	0.269	0.167
APT033*	258 – 270	3	1.8	0.267	0.455	0.366	0.414
Average		3.5	2.1	0.436	0.515	0.451	0.158
SD		0.8	0.4	0.132	0.091	0.090	0.175

¹ Number of alleles.² Effective number of alleles.³ Observed heterozygosity.⁴ Expected heterozygosity.⁵ Polymorphic information content.⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 10. 褐色菜鴨高飼效品系 (S) 及其對照品系 (C) 第 2、4、5、6、7、8、12 代、復養族群 (S1R 及 C1R) 及復養族群子代 (S2R 及 C2R) 之平均遺傳變異*

Table 10. Average genetic variation in generations 2, 4, 5, 6, 7, 8, and 12 of the BFEFT (S) and control (C) lines, and in the recovered (S1R and C1R) and recovered offspring (S2R and C2R) populations

Line & Generation	N ¹	N _a ²	N _e ³	H _o ⁴	H _e ⁵	PIC ⁶	dHWE ⁷	F _{IS} ⁸
S2	17	3.8	2.5	0.529	0.578	0.499	0	0.090 ± 0.321
S4	26	4.1	2.4	0.517	0.584	0.507	0	0.131 ± 0.252
S5	31	4.0	2.7	0.478	0.618	0.543	0	0.242 ± 0.441
S6	50	4.1	2.7	0.531	0.609	0.538	2	0.134 ± 0.207
S7	48	4.1	2.4	0.496	0.574	0.503	1	0.137 ± 0.208
S8	48	3.5	2.5	0.517	0.580	0.497	2	0.123 ± 0.272
S12	233	5.2	2.6	0.532	0.601	0.529	4	0.127 ± 0.216
S1R	153	5.0	2.7	0.617	0.600	0.537	4	-0.032 ± 0.128
S2R	30	3.5	2.3	0.527	0.507	0.454	1	-0.022 ± 0.320
C2	23	4.1	2.9	0.617	0.639	0.563	0	0.057 ± 0.361
C4	24	3.9	2.9	0.527	0.640	0.561	0	0.173 ± 0.333
C5	29	3.9	2.9	0.473	0.650	0.577	1	0.285 ± 0.446
C6	46	3.9	3.0	0.550	0.636	0.567	2	0.141 ± 0.225
C7	48	3.9	2.6	0.561	0.595	0.530	0	0.084 ± 0.208
C8	48	3.9	2.5	0.504	0.572	0.512	2	0.106 ± 0.252
C12	145	5.2	2.7	0.518	0.582	0.527	4	0.120 ± 0.227
C1R	87	5.1	3.0	0.642	0.627	0.572	4	-0.023 ± 0.170
C2R	30	3.5	2.1	0.436	0.515	0.451	2	0.158 ± 0.411

¹Sample size; ²Number of alleles; ³Effective number of alleles; ⁴Observed heterozygosity; ⁵Expected heterozygosity; ⁶Polymorphic information content; ⁷Number of markers departed from Hardy-Weinberg equilibrium; ⁸Wright's fixation indice, within population inbreeding estimate and standard deviations.

* S12, S1R, S2R, C12, C1R and C2R were conducted in this study, the other populations were conducted in the before studies (Chang *et al.*, 2023).

此外，本研究顯示配種策略可能影響哈溫平衡與族群近交係數：兩品系中偏離哈溫平衡之標記數量皆減少，另相對於對照品系，高飼效品系復養子代之分群數與復養族群相同，加上以最大分群遺傳距離法，族群近交係數維持穩定，反觀對照品系之族群近交係數有上升趨勢，但並未明顯高於早期世代。顯示兩品系並未因復養族群數量受限，造成近交係數劇烈升高之情形。

綜合以上結果，針對無系譜種原之族群復育或繁殖管理，應透過良好飼養管理，使種鴨充分表現性能，儘可能增加候選種鴨的數量，避免如繁殖時期未產蛋等情況，影響最大交替基因數及有效交替基因數，進而減少可分群數及其他遺傳變異。另需避免分群數過少，可透過增加分群遺傳距離法制定配種表。

V. 疫前族群、實際復養族群及復養子代之遺傳結構跨世代比較

根據 Wright (1965) 所述，當族群分化指數小於 0.05 表幾乎無分化；介於 0.05 至 0.25 表低至中至高度分化；而大於 0.25 時表極高度分化。歷代品系間之族群分化結果如表 11 所示，從第 2 代至第 12 代，高飼效品系與對照品系之間的遺傳分化指數呈現增加趨勢。例如，S12 與 C12 之間的 F_{ST} 達到 0.1224，顯示兩品系在第 12 代達到高峰，此現象可能與第 12 代分析個體數較多有關，反映出這些世代間遺傳差異的穩定增加。

而比較同品系復養族群及其子代，表 11 中高飼效及對照品系內的 F_{ST} 分別為 0.0357 及 0.0409，顯示透過本計畫制定之最大分群遺傳距離法繁殖，復養子代與上一世代幾無分化，與疫前族群亦僅有輕度分化（高飼效與對照分別為 0.0524 及 0.0360）。而品系間部分的 F_{ST} ，以復養族群兩品系 (0.1068) 略低於疫前族群 (0.1224)，推測因兩品系自同一技轉場透過種蛋引回，場內有少數個體未能完整分群管理所致。故在繁殖復養子代時，本研究透過微衛星標記釐清兩品系種原，並剔除有疑慮的個體始繁殖配種，可能因此在復養族群子代的 F_{ST} 遽增至 0.1925，恢復原本分化趨勢。

表 11. 利用 11 組微衛星標記分析褐色菜鴨高飼效品系 (S) 及其對照品系 (C) 第 2、4、6、7、8、12 代、復養族群 (SIR 及 CIR) 及復養族群子代 (S2R 及 C2R) 之遺傳分化指數 (對角線右上)

Table 11. Pairwise F_{ST} among generations 2, 4, 6, 7, 8, and 12 of the BFEBT (S) and control (C) lines, and in the recovered (SIR and CIR) and recovered offspring (S2R and C2R) populations (above diagonal)

	S2	C4	S4	C6	S6	C7	S7	C8	S8	C12	S12	C1R	S1R	C2R	S2R
C2	0.0307	0.0054	0.0611*	0.0104	0.0332*	0.0387*	0.0649*	0.0606*	0.0738*	0.0671*	0.0842*	0.0485*	0.1027*	0.1128*	0.1577*
S2		0.0605*	0.0177	0.034	0.0287	0.0804*	0.0387	0.0945*	0.0510*	0.0920*	0.0605*	0.0854*	0.0692*	0.1421*	0.1105*
C4			0.054*	0.0028	0.0405*	0.0276*	0.0773*	0.0353*	0.0657*	0.0470*	0.0821*	0.0368*	0.0949*	0.0871*	0.1401*
S4				0.0428*	0.0191	0.1089	0.0227	0.1172*	0.0127*	0.1083*	0.0378*	0.1001*	0.0470*	0.1569*	0.0758*
C6					0.0217	0.0191*	0.0444*	0.024*	0.0524*	0.0300*	0.0691*	0.0250*	0.0779*	0.0667*	0.1209*
S6						0.0768	0.0008	0.0875*	0.0074*	0.0725*	0.0208*	0.0576*	0.0415*	0.1221*	0.0932*
C7							0.1123*	0.0008	0.1194*	0.0148*	0.1307*	0.0323*	0.1355*	0.0559*	0.1716*
S7								0.1235*	0.0085	0.1053*	0.0237*	0.0861*	0.0502*	0.1557*	0.1016*
C8									0.1271*	0.0175*	0.1382*	0.0380*	0.1413*	0.0502*	0.1703*
S8										0.1097*	0.0074*	0.0958*	0.0241*	0.1686*	0.0650*
C12											0.1224*	0.0184*	0.1217*	0.0360*	0.1546*
S12												0.1051*	0.0180*	0.1770*	0.0524*
C1R													0.1068*	0.0409*	0.1570*
S1R														0.1784*	0.0357*
C2R															0.1925*

* F_{ST} with significant differentiation ($P < 0.05$).

另利用統計軟體 R 的 *adeigenet* 套件對褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系各世代基因型資料進行族群主座標分析，至第二主座標之累積比例分別為 10.4%，取第一與第二主座標繪圖（圖 1）。褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系在圖上分布雖成兩群，其中仍有部分交疊，以 S2R 與 C2R 之範圍略小於先前世代，然各世代分布範圍無明顯差異，顯示復養族群與其子代之族群結構仍與疫前族群大致相同。未來仍應定期進行跨世代遺傳監測，以維護珍貴種原。

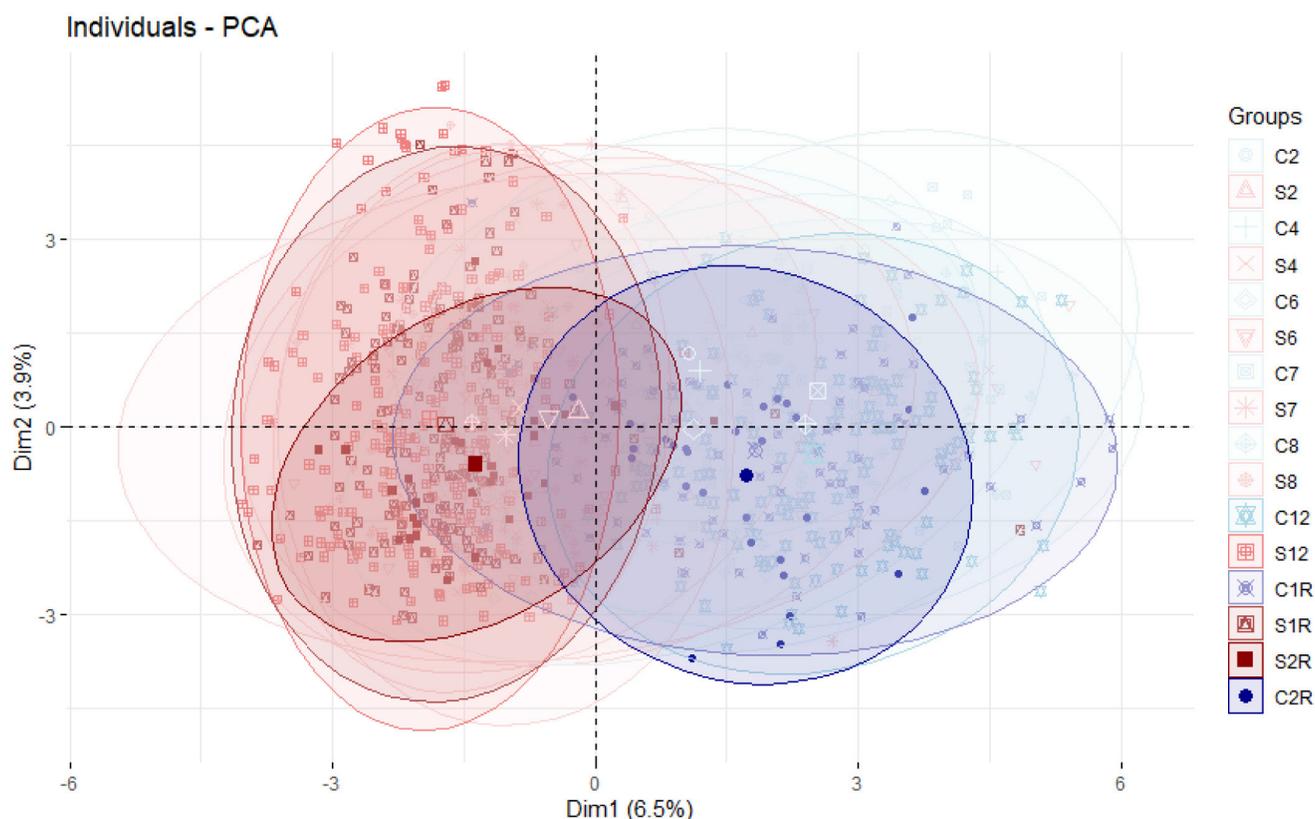


圖 1. 褐色菜鴨高飼效品系(S)及其對照品系(C)第2、4、6、7、8、12代、復養族群(S1R及C1R)及復養族群子代(S2R及C2R)之主座標分析圖，Dim1及2分別表示標記解釋族群遺傳變異的百分比。

Fig. 1. Principal coordinate analysis (PCoA) based on 11 microsatellite markers for generations 2, 4, 6, 7, 8, and 12 of the BFEFT (S) and control (C) lines, and for the recovered (S1R and C1R) and recovered offspring (S2R and C2R) populations. Dim1 and Dim2 represent the percentage of genetic variation explained by the first and second principal coordinates, respectively.

整體而言，族群分化指數與主座標結果分析顯示，褐色菜鴨高飼效品系與對照品系自歷代選拔以來逐漸分化，而復養後經適當管理，族群間結構仍能維持與疫前相近，復養族群與復養族群子代之性能與先前世代亦無顯著差異（未發表資料）。後續應持續進行跨世代族群結構與遺傳多樣性之監測，以維護珍貴種原，確保復育計畫之遺傳穩定性與永續經營。

根據 Zhang *et al.* (2018) 研究，確保育種計畫永續發展的關鍵常用策略包括最小化平均親緣關係、最適貢獻選拔 (Optimum Contribution Selection, OCS)、家族輪迴配種 (需系譜或分群資訊) 等方式，前兩者可透過分子標記應用，由於 OCS 需要全基因體資訊，考量成本及復養引種的時限，本研究仍使用微衛星標記，結果亦顯示在模擬與實際應用中，本法仍具備一定程度的遺傳多態性維持能力。未來將進一步考慮導入 OCS，以獲取遺傳改進及維持多態性間最佳平衡 (Henryon *et al.*, 2015) 或結合共同祖先率等參數 (Pocmic *et al.*, 2023) 的方式，並針對不同配種策略進行之量化比較，以於遺傳改進與多態性維持間取得更佳平衡。

結 論

針對無系譜種原的族群管理，需注意避免減少分群組數、並可透過增加平均組間遺傳距離制定配種方式。最重要的是種鴨挑選，將影響最大交替基因數及有效交替基因數，進而影響其他遺傳變異，此應透過良好飼養管理，使

種鴨能充分表現性能，避免如繁殖時期未產蛋等情況，儘可能增加候選種鴨的數量。本研究相關配種策略將應用至其他復養族群，未來除了持續性狀檢定與遺傳監測，隨分子標記與配種軟體發展，應再結合實務可行的選配策略，兼顧平衡遺傳改進及多態性保存，以因應環境變遷下珍貴種原的永續經營與應用。

誌 謝

本研究承農業部經費支持(112農科-2.5.1-畜-L1(7)、113農科-2.4.1-畜-01(2))。特別感謝畜產試驗所東區分所劉秀洲分所長(退休)慨予支持及指導，試驗期間承蒙林秀齡、林美葉、柯惠君、馮國銘及黃順和協助復養、採樣作業，另亦感謝畜產試驗所東區分所宜蘭場區所有同仁與保生種鴨畜牧場協助試驗之進行，特此誌謝。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2018。褐色菜鴨高飼效品系審定書。(農牧字第1070042719號)。
- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32(3): 314-331.
- Bush, K. L., M. D. Vinsky, C. L. Aldridge, and C. A. Paszkowski. 2005. A comparison of sample types varying in invasiveness for use in DNA sex determination in an endangered population of greater Sage-Grouse (*Centrocercus urophasianus*). *Conserv. Genet.* 6(5): 867-870.
- Chang, Y. Y., H. C. Liu, and C. F. Chen. 2023. Monitoring changes in the genetic structure of Brown Tsaiya duck selected for feeding efficiency by microsatellite markers. *Anim. Biosci.* 36(3): 417-428.
- Fernández, J., T. H. E. Meuwissen, M. A. Toro, and A. Mäki-Tanila. 2011. Management of genetic diversity in small farm animal populations. *Animal* 5(11): 1684-1698.
- Gorjanc, G. and J. M. Hickey. 2018. AlphaMate: a program for optimizing selection, maintenance of diversity and mate allocation in breeding programs. *Bioinformatics* 34(19): 3408-3411.
- Goudet, J. 2001. FSTAT a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 293). <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> (Accessed 3/22 2025).
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48(2): 361-372.
- Hartigan, J. A. and M. A. Wong. 1979. Algorithm AS 136: A K-means clustering algorithm. *J. R. Stat. Soc. Ser. C (Appl. Stat.)* 28(1): 100-108.
- Henryon, M., T. Ostensen, B. Ask, A. C. Sørensen, and P. Berg. 2015. Most of the long-term genetic gain from optimum-contribution selection can be realised with restrictions imposed during optimisation. *Genet. Sel. Evol.* 47(1): 21.
- Hsiao, M. C., H. C. Liu, Y. C. Hsu, Y. H. Hu, S. H. Li, and S. R. Lee. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers in Tsaiya duck. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 21(5): 624-627.
- Jombart, T. and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27(21): 3070-3071.
- Kalinowski, S. T., M. L. Taper, and T. C. Marshall. 2007. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16(5): 1099-1106.
- Kamvar, Z. N., J. F. Tabima, and N. J. Grünwald. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2: e281.
- Kimura, M. and J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49(4): 725-738.
- Larbi, M. B., N. M'Hamdi, and B. Rekik. 2018. The role of genetic diversity conservation in indigenous poultry production. *J. New Sci. Agric. Biotechnol.* 52(4): 3508-3511.
- Malomane, D. K., H. Simianer, A. Weigend, C. Reimer, A. O. Schmitt, and S. Weigend. 2019. The SYNBREED chicken diversity panel: a global resource to assess chicken diversity at high genomic resolution. *BMC Genomics* 20(1): 345.
- Malomane, D. K., S. Weigend, A. O. Schmitt, A. Weigend, C. Reimer, and H. Simianer. 2021. Genetic diversity in global

- chicken breeds in relation to their genetic distances to wild populations. *Genet. Sel. Evol.* 53(1): 36.
- Meuwissen, T. H. E., A. K. Sonesson, G. Gebregiwergis, and J. A. Woolliams. 2020. Management of genetic diversity in the era of genomics. *Front. Genet.* 11: 880.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3): 583-590.
- Pocrnic, I., J. Obšteter, R. C. Gaynor, A. Wolc, and G. Gorjanc. 2023. Assessment of long-term trends in genetic mean and variance after the introduction of genomic selection in layers: a simulation study. *Front. Genet.* 14: 1168212.
- Prevosti, A., J. Ocaña, and G. Alonso. 1975. Distances between populations of *Drosophila subobscura*, based on chromosome arrangement frequencies. *Theor. Appl. Genet.* 45(6): 231-241.
- Weir, B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19(3): 395-420.
- Zhang, M., W. Han, H. Tang, G. Li, M. Zhang, R. Xu, Y. Liu, T. Yang, W. Li, J. Zou, and K. Wu. 2018. Genomic diversity dynamics in conserved chicken populations are revealed by genome-wide SNPs. *BMC Genomics* 19(1): 598.

Establishment of a mating strategy for recovered Brown Tsaiya duck populations using microsatellite markers ⁽¹⁾

Yi-Ying Chang ⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ Jo-Ching Chen ⁽³⁾ Chao-Ying Chang ⁽²⁾ Ya-Hsin Kuo ⁽²⁾
Chih-Hsiang Cheng ⁽²⁾ Chin-Hui Su ⁽²⁾ Liang-Yuan Wei ⁽²⁾
Chih-FengChen ⁽⁴⁾ and Chin-Wei Chang ⁽²⁾

Received: Apr. 16, 2025; Accepted: Jul. 1, 2025

Abstract

Eastern Region Branch, Taiwan Livestock Research Institute previously established a Brown Tsaiya duck line, Better Feed Efficiency Brown Tsaiya (BFEFT), with improved residual feed consumption (RFC) through selection. In 2022, all duck populations, including the above line, were culled due to an avian influenza outbreak. In 2023, BFEFT and its control population without pedigree were reintroduced via technology transfer commercial breeding farm. To ensure the phylogeny and genetic diversity of the reintroduced populations and their descendants, this study applied 11 microsatellite markers to simulate different mating strategies based on the pre-outbreak population (S12 and C12). Among the four strategies, the method based on maximizing average inter-cluster genetic distance was found to be the most effective in maintaining genetic diversity. This method was further applied in the reproduction of the recovered populations (S1R and C1R) to their offspring (S2R and C2R), followed by analysis of cross-generational genetic analysis. The results showed that the genetic diversity of the S1R and C1R was comparable to that of the S12 and C12, while a decreasing trend in genetic variation was observed in S2R and C2R. This may be attributed to additional selection criteria, limited numbers of candidate breeders, and reproductive constraints during the breeding period. Population structure analysis also indicated that, within the same line, the S2R and C2R showed no significant or only mild differentiation from their parental (S1R and C1R) or pre-outbreak populations (S12 and C12), respectively. In contrast, comparisons between lines of the same generation (e.g., S2R vs. C2R) revealed increasing differentiation, likely due to the resumption of selection post-recovery. In conclusion, this study proposes a feasible mating strategy applicable to pedigree-unknown populations. The approach will be applied to other recovered lines and accompanied by continued intergenerational genetic monitoring to maintain genetic diversity and population stability, ensuring sustainable utilization and conservation of valuable genetic resources.

Key words: Brown Tsaiya duck, Microsatellite marker, Genetic distance, Mating strategy.

(1) Contribution No. 2832 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

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

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

(4) Department of Animal Science, National Chung Hsing University, No. 145, Xingda Rd., Taichung 40227, Taiwan, R. O. C.

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

農業部畜產試驗所「畜產研究」稿約

(民國 94 年 3 月修訂)

(民國 108 年 12 月修訂)

(民國 111 年 11 月修訂)

(民國 112 年 8 月修訂)

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

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

(2) 書本類

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

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

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

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

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

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

(3) 其他類

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

農業部。2023。農業部農業資料統計查詢。 <http://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/maintenance/Announce.aspx>。

SAS. 2015. SAS/STAT® 14.1. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.

SPSS. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. SPSS Inc., Chicago, IL. USA.

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

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 59 No. 1

March 2026

CONTENTS

	Page
1. Investigation of changes in rectal temperature, respiratory rate, and blood physiological and biochemical values of Lanyu pigs under cool and hot seasonal environmental conditions <i>Shih-Hsin Lee, Sheng-Yang Wu, Han-Sheng Wang, Yi-Long Chen, Yu-Ling Wang, and Chia-Chieh Chang</i>	1
2. Evaluating the relationships between vis-NIR spectral characteristics and maturity of chicken manure under different composting duration <i>Cho-Yin Wu, Po-Hui Wu, Hsin-Jung Lee, and Zeng-Yei Hseu</i>	13
3. Effects of environmental temperature on the physiological parameter, blood biochemistry, and hematology of Broilers <i>Yun-Jung Chiu, Ho-Ching Tsai, Che-Ming Hung, Cheng-Yung Lin, and Ming-Yang Tsai</i>	23
4. Evaluation of candidate markers NR4A1, EXOC4, and FSH β for litter size in purebred sows <i>Ren-Bao Liaw, Si-Ya Wang, Jo-Ching Chen, Yu-Syuan Lu, Hsiu-Jung Tsai, Yung-Yu Lai, Kuei-Juh Liu, Yu-Hsin Chen, and Mei-Ping Cheng</i>	34
5. Effects of replacing feed soybean meal with soybean meal fermented by <i>Bacillus subtilis</i> TLRI 211-1 on growth performance, carcass, and blood characteristics of broilers <i>Tsung-Yu Lee, Ren-Bao Liaw, and Bor-Ling Shih</i>	44
6. Study on <i>Leucaena leucocephala</i> with different ensiling treatments for silage use <i>Pi-Chain Liu, Rajendra Adak, Chien-Te Chen, and Ming-Hung Chu</i>	54
7. Effects of vitamin E, selenium and β -carotene supplementation on lactation performance and blood parameters of Holstein lactating cows with subclinical mastitis under high temperature humidity index <i>Chun-Ta Chang, Geng-Jen Fan, Szu-Han Wang, and Ling-Tsai Wu</i>	63
8. The variation in vaginal mucus electrical conductivity, pH, and vaginal temperature during estrus synchronization in multiparous and primiparous Alpine goats during the breeding season <i>Ting-Chieh Kang, Kai-Fei Tseng, Yu-Hsin Chen, Fung-Hsiang Chu, and Pei-Chun Tsai</i>	72
9. Investigation on Physiological, Blood Biochemical, and Hematological Parameters of the TLKT-09 Native Chickens under Cool and Hot Seasons <i>Hsiao-Mei Liang, Shann-Ren Kang, and Hsiao-Lung Liu</i>	82
10. Establishment of a mating strategy for recovered Brown Tsaiya duck populations using microsatellite markers <i>Yi-Ying Chang, Jo-Ching Chen, Chao-Ying Chang, Ya-Hsin Kuo, Chih-Hsiang Cheng, Chin-Hui Su, Liang-Yuan Wei, Chih-Feng Chen, and Chin-Wei Chang</i>	91

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

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN: 2005200015

定價：新臺幣二〇〇元