

畜產研究編審委員會

主任委員：黃振芳

審查委員：朱志成 成游貴 余 碧 吳信志 沈添富

林俊臣 徐濟泰 許振忠 許福星 黃文理

(本期審查委員名單，以姓名筆劃為序)

編輯委員：林德育 陳怡兆 楊鎮榮 劉芳爵 盧啟信 蕭庭訓

(以姓名筆劃為序)

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

J. F. HUANG, EDITOR-IN-CHIEF,

DIRECTOR GENERAL,

LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE, COUNCIL OF AGRICULTURE

HSINHUA, TAINAN, TAIWAN

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

C. C. CHU Y. K. CHENG P. YU H. C. WU T. F. SHEN

C. C. LIN C. T. HSU C. C. HSU F. H. HSU W. L. HUANG

EDITORS:

D. Y. LIN Y. C. CHEN J. R. YANG F. C. LIU C. H. LU

T. H. HSIAO



畜產研究

編者：行政院農業委員會畜產試驗所

發行人：黃振芳

發行所：行政院農業委員會畜產試驗所

地址：臺南市新化區牧場 112 號

電話：(06) 5911211

網址：<http://www.tlri.gov.tw>

編輯\印製者：振緯企業有限公司

地址：臺南市公園路 134 號

電話：(06) 2288009

出版日期：中華民國 107 年 9 月出版

定價：新台幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五南文化廣場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

國家網路書店：<http://www.govbook.com.tw>

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

畜產研究

第 51 卷第 3 期

中華民國 107 年 9 月

目 錄

	頁
1. 蘭嶼豬血液生化性狀之分析 吳昇陽、章嘉潔	157
2. 多能性幹細胞技術發展之回顧 廖御靜、唐品琦、陳立人、楊鎮榮	166
3. 不同溫溼度指數對荷蘭泌乳牛乳產量與乳成分之影響 張俊達、蕭宗法、楊德威、林義福、李春芳、吳鈴彩、王思涵	179
4. 添加糖、有機酸、水溶性碳水化合物與青貯發酵對山羊適口性之探討 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰	185
5. 飼糧添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿產茸性能、鹿茸組成及免疫力之影響 張以恆、林信宏、林正鏞	193
6. 飼糧中補充鋅、銅與錳對高溫濕度指數期間荷蘭泌乳牛行動分數與性能表現之影響 張俊達、蕭宗法、王思涵、吳鈴彩、蔡銘洋、李春芳、林義福	201
7. 盤固草生物炭的特性研究與對牧草生長的影響 王紓愍、劉信宏、游翠凰、陳嘉昇	209
8. 臺灣冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地之經濟效益評估 梁世祥、葉益男、王思涵、蕭振文、徐濟泰、吳榮杰	217

蘭嶼豬血液生化性狀之分析⁽¹⁾

吳昇陽⁽²⁾ 章嘉潔⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：105 年 9 月 4 日；接受日期：107 年 4 月 2 日

摘 要

本試驗在分析蘭嶼豬血液生化性狀，提供使用小型豬做動物實驗研究參考依據。採用全自動化生化分析儀測定蘭嶼豬 20 個生化性狀，針對不同性別及不同月齡的血液生化值進行分析與比較。試驗結果顯示，蘭嶼豬血清生化檢驗項目測定結果，3 月齡之雌、雄蘭嶼豬之間僅鎂 (Mg) 及無機磷 (P) 等指標具顯著差異 ($P < 0.05$)。6 月齡雌、雄蘭嶼豬有為丙氨酸氨基轉移酶 (ALT)、鹼性磷酸酶 (ALP)、葡萄糖 (GLU)、總膽固醇 (CHOL)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (CREAT)、Mg、鈉 (Na)、氯化物 (Cl) 和鈣 (Ca) 等 10 項檢驗項目具有顯著差異 ($P < 0.05$)，其他各項檢驗項目，雌、雄蘭嶼豬間均無顯著差異。公豬 3 及 6 月齡間血液生化檢驗項目的統計分析結果有 ALT、乳酸脫氫酶 (LDH)、血清白蛋白 (ALB)、總蛋白 (TP)、甘油三酯 (TG)、CHOL、BUN、Mg、Na、Cl、Ca 及 P 等 12 項指標具顯著差異 ($P < 0.05$)，母豬 3 及 6 月齡間血液生化檢驗項目的統計分析結果，僅 ALP、GLU、TP、TG、Ca 及 P 等 6 項指標具差異顯著 ($P < 0.05$)。於 20 項血液生化檢驗指標觀察，其中有 9 項和人類相接近，此血液生化檢驗項目濃度值比較，將有助於做為小型豬生物資料庫之建立。

關鍵詞：蘭嶼豬、生化檢驗項目、血液。

緒 言

蘭嶼豬為臺灣特有小型豬種，於民國 69 年畜產試驗所為因應「發展豬隻供作醫學研究之用」的政策 (臺東種畜繁殖場, 1996)，自蘭嶼引進種畜 4 公 16 母，以此為基礎進行生醫用小型豬繁殖與選育，於 2008 年完成蘭嶼豬保種品系 Lanyu 200 及蘭嶼豬 GPI-CRC-PGD 基因型純合品系 Lanyu 300 等小型豬新品種與新品系之登記 (張等, 2012)。小型豬其解剖、生理特性與人類極為相似，具有醫學研究和特殊應用價值，是理想的實驗動物，為充分利用其遺傳資源，有必要進行系統性資料收集與研究。近年來，許多研究單位對小型豬的培育及生物特性備受重視，並對血液生化檢驗項目進行相關研究 (Rispat *et al.*, 1993; Kawaguchi *et al.*, 2012; Ellegaard Gottingen Minipig, 2016)，因此有必要對實驗用蘭嶼豬血液生化檢驗項目進行系統性的收集與建立，提供小型豬作為實驗動物研究應用之參考資料。臺東種畜繁殖場蘭嶼豬豬群為封閉族群，適合選育發展實驗動物，而本次進行血液生化檢驗項目的比較與更新，為建立實驗動物標準化和提供推廣使用者更為詳盡與實用的參考資訊。

材料與方法

I. 實驗動物

蘭嶼豬於臺東種畜繁殖場飼養條件為自然溫度、濕度、光照和適宜的餵飼量，由畜產試驗所配製飼料，在相同條件下按常規進行飼養管理，自由採食與飲水。試驗分為 2 組：3 月齡與 6 月齡，雌、雄性各為 10 頭，蘭嶼豬於 6 月齡雌性和雄性均可達到性成熟 (行政院農業委員會畜產試驗所, 2010)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2583 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所臺東種畜繁殖場。

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

II. 實驗方法

採血前禁食 12 小時及自由飲水，早上空腹餵飼前，採前仰臥位保定前腔靜脈採血，每頭 5 mL 血液置入含促凝劑之黃頭採血管中，送至大統醫學檢驗中心進行血液細胞生化分析測定。血液生化檢測項目共 20 項，包括：天冬氨酸氨基轉移酶 (AST, U/L)、丙氨酸氨基轉移酶 (ALT, U/L)、穀氨醯基氨基轉移酶 (GGT, U/L)、肌酸激酶 (CK, U/L)、鹼性磷酸酶 (ALP, U/L)、葡萄糖 (GLU, mmol/L)、乳酸脫氫酶 (LDH, U/L)、血清白蛋白 (ALB, g/L)、總蛋白 (TP, g/L)、甘油三酯 (TG, mmol/L)、總膽固醇 (CHOL, mmol/L)、尿素氮 (BUN, mmol/L)、肌酐 (CREAT, mmol/L)、鉀 (K, mmol/L)、鎂 (Mg, mmol/L)、鈉 (Na, mmol/L)、氯化物 (Cl, mmol/L)、鈣 (Ca, mmol/L)、無機磷 (P, mmol/L)，採用日本日立公司生產的全自動生化儀 (Automatic Biochemical Analyzer, Hitachi 7020, Japan)，常規操作測定各類血液生化檢測項目。

III. 資料分析

計算豬隻各群體血液生化檢測項目的平均數，並進行差異顯著性檢驗，對同月齡不同性別及不同月齡同性別的血生化檢測項目測定值進行 *t*-檢定比較，用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示，以 $\alpha = 0.05$ 為檢定顯著水準。並以中國實驗用小型豬 (馮等, 2013) 和國外哥廷根小型豬 (Ellegaard Gottingen Minipig, 2016) 品種之相應檢測項目進行比較與結果討論，及來自於大統醫學檢驗中心所提供之人類各項生化檢測項目為參考依據。

結果與討論

蘭嶼豬血液中 6 項酶活性之生化檢測項目測定結果見表 1。3 月齡雌、雄蘭嶼豬間均無顯著差異。中國實驗用小型豬 3 月齡有 3 項指標雌、雄動物間差異顯著，分別為 ALT、GGT 和 CREA ($P < 0.05$)，其他各檢測項目雌、雄間均無顯著差異 (馮等, 2013)。蘭嶼豬 6 月齡有 2 項檢測項目分別為 ALT 和 ALP 於雌、雄動物間具顯著差異 ($P < 0.05$)，其他各項雌、雄間均無顯著差異。中國實驗用小型豬 6 月齡有 2 項檢測項目雌、雄動物間具差異顯著，分別為 GGT 和 CK ($P < 0.05$)，其他各項雌、雄間均無顯著差異 (馮等, 2013)。蘭嶼豬公豬 3 及 6 月齡間血液酶活性檢測項目的比較，統計分析結果具差異顯著項目為 ALT 及 LDH 等 2 項指標 ($P < 0.05$)，母豬 3 及 6 月齡間血液酶活性之生化檢測項目比較，僅 ALP 指標具顯著差異 ($P < 0.05$)。

蘭嶼豬血糖、總蛋白質及三酸甘油酯之 8 項血液生化檢測項目測定結果，列於表 2。3 月齡雌、雄間均無顯著差異。比較中國實驗用小型豬 3 月齡則有 3 項雌、雄動物間具差異顯著，分別為 CREA、CHOL 和 TG ($P < 0.05$)，其他各項指標雌、雄間均無顯著差異 (馮等, 2013)。蘭嶼豬 6 月齡有 4 項檢測項目分別為 GLU、CHOL、BUN 和 CREAT 等雌、雄動物間具顯著差異 ($P < 0.05$)，其他各檢測項目雌、雄間均無顯著差異。中國實驗用小型豬 6 月齡雌、雄動物間僅 A/G、BUN 指標無顯著差異，其他各檢測項目均呈顯著差異 (馮等, 2013)。蘭嶼豬公豬 3 及 6 月齡間血糖、總蛋白質及三酸甘油酯之 8 項血液生化檢測項目比較，統計分析結果呈差異顯著項目為 ALB、TP、TG、CHOL 及 BUN 等 5 項指標 ($P < 0.05$)。母豬 3 及 6 月齡間血液生化檢測項目的比較，經統計分析結果具差異顯著項目僅 GLU、TP 及 TG 等 3 項 ($P < 0.05$)。3 月齡蘭嶼豬 TG 含量平均為 0.2 mmol/L，低於哥廷根小型豬 0.4 至 0.5 mmol/L 和中國實驗用小型豬 0.4 至 0.6 mmol/L，亦有所不同於之前所測 3 月齡蘭嶼豬之 0.4 mmol/L (行政院農業委員會畜產試驗所, 2010)。三酸甘油酯 (triacylglycerol, TG) 是由乳糜微粒及極低密度脂蛋白所組成 (Thomson *et al.*, 1988; Pufal *et al.*, 1995)，於血液輸送脂肪成分之一，作為全身脂質代謝的重要指標 (Chen *et al.*, 2013)。三酸甘油酯檢測值低，可能與三酸甘油酯的代謝、醣類及油脂的攝取量有關，攝食障礙、營養不良疾病、長期腹瀉、營養吸收障礙、藥物與甲狀腺功能異常等 (Nafikov and Beitz, 2007; Helfman, 2013)。另一指標 GLU，中國實驗用小型豬 5.4 至 5.8 mmol/L 和哥廷根小型豬 4.6 至 5.1 mmol/L，均處於人類值範圍 3.9 至 5.6 mmol/L 中，蘭嶼豬 3 月齡測得為 7.1 mmol/L 含量，與蘭嶼豬之前所測 3 至 6 月齡 4.6 mmol/L 亦有差別 (行政院農業委員會畜產試驗所, 2010)。血糖主要是由胰島素 (insulin) 及升糖素 (glucagon) 來控制，胰島素可幫助葡萄糖進入身體細胞，把血糖值降至正常範圍。當血糖值降得太低時，升糖素會刺激肝臟釋出儲存的肝醣及轉變成為葡萄糖來升高血糖到正常的範圍。若體內的胰島素分泌不足，會影響醣類、蛋白質和脂肪等營養物質之代謝，造成檢測血糖較高。學者研究豬醣類代謝似乎有相當大的個體差異，目前已發現洋種豬的日常血糖值從 2.1 mmol/L 至 27.8 mmol/L 的變化，平均為 7.1 mmol/L。禁食豬群血糖調查，從 1.7 mmol/L 到 15.5 mmol/L 的變化，年齡較老的豬傾向於有較高血糖值 (Eveleth, 1934)。目前檢測 TG、GLU 生化值之變化，可能與蘭嶼豬的生活環境及飼養管理上的差異有關，有待進一步釐清。

蘭嶼豬血液中 6 項血液電解質檢測項目測定結果如表 3 所示。3 月齡雌、雄蘭嶼豬間僅 Mg 及 P 兩項具顯著差異 ($P < 0.05$)，其餘項目均無顯著差異。中國實驗用小型豬 3 月齡有 2 項檢測項目雌、雄動物間差異顯著，分別為 K

和 Ca ($P < 0.05$)，其他各項指標雌、雄間均無顯著差異 (馮等, 2013)。蘭嶼豬 6 月齡有 4 項檢測項目雌、雄動物間差異顯著，分別為 Mg、Na、Cl 和 Ca 等指標 ($P < 0.05$)，其他各項雌、雄間均無顯著差異。中國實驗用小型豬 6 月齡有 3 項指檢測項目雌、雄動物間差異顯著，分別為 K、Cl 和 Ca ($P < 0.05$)，其他各項指標雌、雄間均無顯著差異 (馮等, 2013)。測定蘭嶼豬公豬 3 及 6 月齡間血液電解質檢測項目的統計分析，結果具差異顯著項目為 Mg、Na、Cl、Ca 及 P 等 5 項指標 ($P < 0.05$)，母豬 3 及 6 月齡間血液生化檢測項目的比較，統計分析結果 Ca 及 P 二項指標具顯著差異 ($P < 0.05$)。血液生化檢測項目反映了動物體內代謝狀況及生理機能 (Braun *et al.*, 2010)，然而這些指標受遺傳、品種、生活環境、氣候條件、飼養管理及測定方法等因素的影響，而表現一定的差異性 (Humann-Ziehank and Ganter, 2012)。蘭嶼豬血液生化平均檢測值處於人類血液生化參考值範圍中的有 9 項：AST、ALB、A/G、TP、BUN、CREAT、Na、Cl 及 Ca。中國實驗用小型豬處於人類血液生化參考值範圍中的亦有 9 項：GLU、ALB、TP、TG、BUN、CREAT、Na、Cl 及 Ca。哥廷根小型豬處於人類血液生化參考值範圍中的 10 項：AST、GGT、LDH、GLU、ALB、A/G、CREAT、K、Mg 及 Ca。蘭嶼豬比人類血液生化參考最大值高的範圍項目有 9 項：ALT、GGT、CK、ALP、LDH、GLU、K、Mg 及 P。中國實驗用小型豬比人類血液生化參考最大值高的範圍亦有 9 項：AST、ALT、GGT、CK、ALP、LDH、K、Mg 及 P。哥廷根小型豬比人類血液生化參考最大值高的範圍項目有 4 項：ALT、CK、ALP 及 P。至於蘭嶼豬比人類血液生化參考最小值低的範圍則有 2 項：TG 及 CHOL。中國實驗用小型豬比人類血液生化參考最小值低的範圍有 1 項：CHOL。哥廷根小型豬比人類血液生化參考最小值低的範圍有 3 項：TP、CHOL、Na 及 Cl。上述比較顯示不同品種可能影響各血液生化檢測項目在不同群體間之差異。

本研究參與比較小型豬豬種為中國實驗用小型豬 (Chinese experimental minipig, CEMP)，是中國農業大學於 1985 年以貴州小型香豬為原始族群，經過全同胞交配、近交選育、後裔測定培育所形成的一個小型實驗豬種，具有體重適宜、抗病性強及遺傳背景穩定等優點 (滕, 1998；於等, 2003)。另一對照哥廷根小型豬係由德國哥廷根大學選育而成，培育工作起始於 1962 年，其組成來源於明尼蘇達小型豬、越南大腹豬雜交，和德國大白豬再進行回交選育之品系 (陳, 2008；張等, 2012)，採封閉式的育種，是目前世界最成功商品化生物醫學研究用小型豬種 (Bollen and Ellegaard, 1996) 其正常血液學和臨床生物化學的相關檢測已研究發表 (Ellegaard *et al.*, 1995; Petroianu *et al.*, 1997; Damm Jorgensen *et al.*, 1998; Christoffersen *et al.*, 2007, 2013)，FDA 管理規章的認可，故可提供選擇做為藥理毒理測試研究對象。本研究所探討三種小型豬的飼育環境和檢測方式並不相同，檢測資料反映小型豬品種之間血液生化檢測值的差異可提供參考，蘭嶼豬性成熟階段為 4 至 5 月齡 (行政院農業委員會畜產試驗所, 2010)，透過試驗對蘭嶼豬 3、6 月齡 20 項血液學生化檢測指標的分析，可較全面地反映了性成熟前、後階段的血液生化狀態，並與中國實驗用小型豬 (馮等, 2013) 和哥廷根小型豬 (Ellegaard Gottingen Minipig, 2016) 進行比較研究，檢測大多數血液測定值接近，且與之前測定的結果近似 (行政院農業委員會畜產試驗所, 2010)。蘭嶼豬 20 項血液生化檢測項目中就有 9 個項目和人類正常參考值相近，說明蘭嶼豬和人類的生理、生化可能存在某些相似性，本次採樣數據結果涉及品種、個體代謝差異、營養及飼養管理、檢測環境以及數量等方面有關，後續將持續擴大樣本數，穩定豬隻營養需求，以減少技術誤差之影響，使檢測結果更齊全完善、更加準確。本研究結果可作為更新實驗用蘭嶼豬血液生化檢測項目值，並提供比較研究，為蘭嶼豬血液生物資料庫提供參考依據。

表 1. 蘭嶼豬、哥廷根小型豬和中國小型豬血液中酶活性項目比較
Table 1. Comparison of blood enzyme activity values among the Lanyu pig, Gottingen minipig and Chinese experimental minipig

Item	Human															
	Reference															
	Lanyu pig				Gottingen minipig ^a				Chinese experimental minipig ^b							
----- 3 months -----													----- 6 months -----			
	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 17)	♂ (n = 17)	♀ (n = 45)	♂ (n = 58)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 17)	♂ (n = 33)	♀ (n = 89)			
AST (U/L)	41.9 ± 17.4	37.3 ± 7.2	23.0 ± 7.6	19.4 ± 4.1	69.1 ± 31.6	63.0 ± 23.1	36.5 ± 7.4	32.6 ± 8.9	37.6 ± 43.5	29.4 ± 26.5	54.9 ± 25.2	51.5 ± 23.9				
ALT (U/L)	46.4 ± 8.0	44.1 ± 7.7	56.5 ± 14.1	47.0 ± 13.5	94.4 ± 30.7	77.3 ± 23.4	68.0 ± 8.7 [#]	48.4 ± 7.6 [*]	76.5 ± 80.6	61.8 ± 38.2	62.1 ± 20.2	54.5 ± 15.8				
GGT (U/L)	67.5 ± 6.8	72.2 ± 10.2	58.2 ± 15.6	54.6 ± 14.4	64.5 ± 13.2	83.7 ± 23.9	76.2 ± 21.3	73.3 ± 9.6	54.0 ± 12.6	54.0 ± 22.2	56.8 ± 12.6	86.7 ± 27.1				
CK (U/L)	1,107.3 ± 105.4	972.7 ± 472.2	299.4 ± 213.5	235.3 ± 118.8	670.2 ± 686.9	662.1 ± 441.8	609.5 ± 404.5	1,393.1 ± 1,842.5	1,686.5 ± 3,826.5	1,924.7 ± 3,905.9	510.5 ± 472.2	881.0 ± 857.7				
ALP (U/L)	227.0 ± 52.5	275.8 ± 70.9	215.9 ± 57.6	213.5 ± 64.7	428.2 ± 218.3	373.2 ± 134.9	232.3 ± 43.4	159.0 ± 38.6 [#]	150.0 ± 40.0	135.3 ± 53.0	228.8 ± 155.3	257.3 ± 143.4				
LDH (U/L)	864.4 ± 142.1	919.7 ± 115.1	404.8 ± 111.4	394.5 ± 122.8	748.7 ± 141.4	715.0 ± 156.9	1,102.6 ± 124.4 [#]	916.8 ± 123.6	401.8 ± 210.2	401.8 ± 195.2	533.2 ± 141.8	583.7 ± 172.1				

*P < 0.05; significantly different from male. [#]P < 0.05; significantly different from age.
^a The published profiles of Gottingen minipig (Ellegaard Gottingen Minipigs. 2016).
^b The published profiles of Chinese experimental minipig (馮等, 2013)

表 2. 蘭嶼豬、哥廷根小型豬和中國小型豬血液血糖、蛋白質及脂質項目的比較
Table 2. Comparison of blood sugar, protein, and lipid values among the Lanyu pig, Gottingen minipig and Chinese experimental minipig

Item	Human Reference	Lanyu pig				Chinese experimental minipig ^b				Gottingen minipig ^a				Chinese experimental minipig ^b			
		3 months				6 months				3 months				6 months			
		♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)	♂ (n = 45)	♀ (n = 58)
GLU (mmol/L)	3.9-5.6	7.1 ± 2.0	7.1 ± 2.1	4.6 ± 1.0	5.1 ± 1.2	5.8 ± 1.6	5.4 ± 2.1	6.7 ± 1.0	5.4 ± 0.8 [#]	6.7 ± 1.0	5.4 ± 0.8 [#]	4.5 ± 0.9	4.8 ± 1.2	5.4 ± 1.5	4.6 ± 1.2		
ALB (g/L)	35.0-50.0	35.6 ± 2.3	37.4 ± 2.4	39.1 ± 8.1	38.8 ± 8.3	39.4 ± 3.7	38.6 ± 4.7	40.5 ± 1.8 [#]	38.0 ± 4.8	40.5 ± 1.8 [#]	38.0 ± 4.8	40.4 ± 8.8	43.2 ± 8.0	39.3 ± 5.8	38.2 ± 5.0		
A/G	1.0-2.0	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1	---	---	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	---	---		
TP (g/L)	60.0-80.0	66.5 ± 3.0	69.3 ± 3.6	52.3 ± 11.2	52.8 ± 10.1	66.1 ± 6.9	65.5 ± 6.0	74.3 ± 5.2 [#]	76.5 ± 7.8 [#]	74.3 ± 5.2 [#]	76.5 ± 7.8 [#]	53.0 ± 11.8	60.2 ± 13.0	78.2 ± 4.7	75.6 ± 7.1		
TG (mmol/L)	0.5-1.50	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.2 [#]	0.4 ± 0.2 [#]	0.4 ± 0.2 [#]	0.4 ± 0.2 [#]	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2		
CHOL (mmol/L)	3.1-5.2	2.4 ± 0.4	2.6 ± 0.3	1.7 ± 0.5	2.2 ± 0.5	2.1 ± 0.4	2.4 ± 0.4	2.8 ± 0.3 [#]	2.4 ± 0.3 [*]	2.8 ± 0.3 [#]	2.4 ± 0.3 [*]	1.3 ± 0.4	2.1 ± 0.5	2.0 ± 0.5	2.5 ± 0.5		
BUN (mmol/L)	2.1-7.9	2.7 ± 0.5	3.3 ± 1.0	1.9 ± 0.5	2.2 ± 0.6	4.7 ± 1.2	5.2 ± 1.6	4.5 ± 0.6 [#]	3.5 ± 0.6 [*]	4.5 ± 0.6 [#]	3.5 ± 0.6 [*]	1.7 ± 0.5	2.3 ± 0.7	5.2 ± 2.2	5.1 ± 1.7		
CREAT (umol/L)	53.0-132.6	111.4 ± 17.3	109.6 ± 11.9	59.5 ± 9.7	62.5 ± 10.4	61.6 ± 16.5	78.2 ± 28.9	123.8 ± 8.3	102.5 ± 15.1 [*]	123.8 ± 8.3	102.5 ± 15.1 [*]	76.7 ± 13.2	74.2 ± 20.6	70.4 ± 15.2	101.9 ± 18.3		

*P < 0.05; significantly different from male. [#]P < 0.05; significantly different from age.
^a The published profiles of Gottingen minipig (Ellegaard Gottingen Minipigs. 2016).
^b The published profiles of Chinese experimental minipig (馮等, 2013)

表 3. 蘭嶼豬、哥廷根小型豬和中國小型豬血液電解質項目的比較
Table 3. Comparison of blood electrolyte values among the Lanyu pig, Gottingen minipig and Chinese experimental minipig

Item	Human Reference	Lanyu pig				Gottingen minipig ^a				Chinese experimental minipig ^b			
		3 months				6 months							
		♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)
K (mmol/L)	3.5-5.5	6.5 ± 0.5	6.8 ± 0.7	4.1 ± 0.7	4.0 ± 0.6	5.7 ± 0.9	6.3 ± 1.3	6.5 ± 0.6	6.6 ± 0.6	♂ (n = 10)	♀ (n = 10)	♂ (n = 17)	♀ (n = 17)
Mg (mmol/L)	0.7-1.0	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1*	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1#	1.1 ± 0.1*	1.1 ± 0.1#	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1
Na (mmol/L)	135.0-155.0	141.0 ± 0.9	141.0 ± 2.7	133.0 ± 16.2	134.2 ± 14.2	142.0 ± 3.1	143.1 ± 3.2	146.9 ± 2.0#	142.6 ± 3.1*	146.9 ± 2.0#	142.6 ± 3.1*	131.1 ± 16.6	133.3 ± 7.5
Cl (mmol/L)	96.0-106.0	103.2 ± 1.2	103.2 ± 3.0	91.7 ± 11.3	92.5 ± 9.5	120.5 ± 149.5	99.0 ± 2.9	109.1 ± 2.0#	105.1 ± 3.2*	109.1 ± 2.0#	105.1 ± 3.2*	91.4 ± 12.1	91.5 ± 12.5
Ca (mmol/L)	2.1-2.9	2.6 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.4	2.6 ± 0.2	2.8 ± 0.3	2.7 ± 0.1#	2.6 ± 0.1*#	2.7 ± 0.1#	2.6 ± 0.1*#	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.4
P (mmol/L)	0.8-1.5	2.6 ± 0.2	2.9 ± 0.2*	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.5	2.7 ± 0.4	2.7 ± 0.5	2.3 ± 0.3#	2.4 ± 0.4#	2.3 ± 0.3#	2.4 ± 0.4#	2.2 ± 0.5	2.4 ± 0.5

*P < 0.05; significantly different from male. #P < 0.05; significantly different from age.
^a The published profiles of Gottingen minipig (Ellegaard Gottingen Minipigs. 2016).
^b The published profiles of Chinese experimental minipig (馮等, 2013)

誌 謝

本試驗承行政院農業委員會科技計畫(106 農科 -2.7.6- 畜 -L1) 經費補助，試驗期間承蒙臺東種畜繁殖場許聰明、孫明德、黃德昇、陳榮樹、南嘉柔等同仁之協助，特此誌謝。

參考文獻

- 臺東種畜繁殖場。1996。小型豬。臺灣省畜產試驗所臺東種畜繁殖場編印。pp. 1-16。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2010。實驗用小型豬生產與供應。<http://minipigs.angrin.tlri.gov.tw/modules/tinyd0/index.php?id=20>。
- 於書敏、王傳武、趙德明。2003。中國實驗用小型豬培育和病原淨化。實驗動物科學與管理 20：44-46。
- 張之維、洪俊偉、張俊達、朱有田、林正鏞、吳明哲、朱賢斌。2012。賓朗豬之毛色遺傳與繁殖及生長性能。中國畜牧學會會誌 41：89-99。
- 張賀、王承利、王洋、陳克研、蘇鵬、孫倩。2012。小型豬動物模型在醫學領域中的研究應用。中國畜牧獸醫 39：263-266。
- 陳華。2008。小型豬在醫學研究領域的應用進展。中國實驗動物學報 16：366-367。
- 馮媛媛、白雪源、賀津、葉建華、陳香美。2013。中國實驗用小型豬血液指標正常參考值分析。中國畜牧獸醫 40：139-141。
- 滕嶽峰。1998。中國小型豬資源豐富。世界農業 10：41-43。
- Bollen, P. J. A. and L. Ellegaard. 1996. Developments in breeding miniature swine for experimental purposes. In: Advances in swine for biomedical research, Vol. I, Tumbleson M. E. and L. B. Schook, Eds, Plenum Press, New York, pp. 59-66.
- Braun, J. P., C. Trumel and P. Bezille. 2010. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. Small Ruminant Res. 92: 10-18.
- Chen, C., B. Bang, Z. Zeng, H. Yang, C. Liu, J. Ren and L. Huang. 2013. Genetic dissection of blood lipid traits by integrating genome-wide association study and gene expression profiling in a porcine model. BMC Genomics 14: 848.
- Christoffersen, B., V. Golozoubova, G. Pacini, O. Svendsen and K. Raun. 2013. The young Gottingen minipig as a model of childhood and adolescent obesity: Influence of diet and gender. Obesity 21: 149-158.
- Christoffersen, B. O., N. Grand, V. Golozoubova, O. Svendsen and K. Raun. 2007. Gender-associated differences in metabolic syndrome-related parameters in Gottingen minipigs. Comp. Med. 57: 493-504.
- Damm Jorgensen, K., T. S. A. Kledal, O. Svendsen and N. E. Skakkeboek. 1998. Hematological and clinical chemical values in pregnant and juvenile Gottingen minipigs. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 25: 181-190.
- Ellegaard, L., K. D. Jorgensen, S. Klastrup, A. K. Hansen and O. Svendsen. 1995. Hematologic and clinical chemical values in 3 and 6 months old Gottingen minipigs. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 22: 239-248.
- Ellegaard Gottingen Minipigs. 2016. Human reference hematological parameters source.http://minipigs.dk/uploads/media/Clinical_chemistry_Background_data.pdf.
- Eveleth, D. F. 1934. The blood chemistry of swine I. Blood changes following the ingestion of glucose. J. Biol. Chem. 104: 559-563.
- Helfman, T. 2013. Very low triglyceride level. <http://www.livestrong.com/article/308824-very-low-triglyceride-level/>.
- Humann-Ziehank, E. and M. Ganter. 2012. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. Animal 6：1115-1123.
- Kawaguchi, H., T. Yamada, N. Miura, Y. Takahashi, T. Yoshikawa, H. Izumi, T. Kawarasaki, N. Miyoshi and A. Tanimoto. 2012. Reference values of hematological and biochemical parameters for the world smallest microminipigs. J. Vet. Med. Sci. 74: 933-936.
- Nafikov R. A. and D. C. Beitz. 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals symposium: History of nutrition: impact of research with cattle, pigs, and sheep on nutritional concepts. J. Nutr. 137: 702-705.
- Petroianu, G., W. Maleck, S. Almannsberger, A. Jatzko and R. Rufer. 1997. Blood coagulation, platelets and haematocrit in male, female, and pregnant Gottingen minipigs. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 24: 31-40.
- Pufal, D. A., P. T. Quinlan and A. M. Salter. 1995. Effect of dietary triacylglycerol structure on lipoprotein metabolism: a

comparison of the effects of dioleoylpalmitoylglycerol in which palmitate is esterified to the sn-2 or 1(3)-position of the glycerol. *Biochim. Biophys. Acta* 1258: 41-48.

Rispat, G., M. Slaoui, D. Weber, P. Salemink, C. Berthoux and R. Shrivastava. 1993. Hematological and plasma biochemical values for healthy Yucatan micropigs. *Lab. Anim.* 27: 368-373.

Thomson, A. B., M. Keelan, M. L. Garg and M. T. Clandinin. 1988. Intestinal aspects of lipid absorption: in review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67: 179-191.

Analysis of Blood Biochemical Parameters in Lanyu pigs ⁽¹⁾

Sheng-Yang Wu ⁽²⁾ and Chia-Chieh Chang ^{(2) (3)}

Received: Sep. 4, 2016; Accepted: Apr. 2, 2018

This assay was aimed to examine the blood biochemical values in the Lanyu pigs, so as to provide the reference data for experiments on minipigs animals. Twenty biochemical blood values in Lanyu pigs were measured using automatic biochemical analyzer. The differences between sexes, and two age groups were analyzed. The results showed that among the blood biochemical values, only Mg and P showed significant difference between male and female Lanyu pigs at 3 month old ($P < 0.05$). ALT, ALP, GLU, CHOL, BUN, CREAT, Mg, Na, Cl and Ca showed significant difference between male and female Lanyu pigs at 6 month old ($P < 0.05$). The other values were not different between the genders. The results showed among the blood biochemical values, ALT, LDH, ALB, TP, TG, CHOL, BNU, Mg, Na, Cl, Ca and P showed significant difference between 3 and 6 month old in male Lanyu pigs ($P < 0.05$). Only ALP, GLU, TP, TG, Ca and P showed significant difference between 3 and 6 month old in female Lanyu pigs ($P < 0.05$). Nine observed values of twenty biochemical blood in Lanyu pigs were the same as for human beings. The comparison of blood biochemical values would be helpful in establishing the biological database of minipigs bred.

Key words: Lanyu pig, Biochemical values, Blood.

(1) Contribution No. 2583 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Taitung Animal Propagation Station, COA-LRI, Taitung 95444, Taiwan, R. O. C.

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

多能性幹細胞技術發展之回顧⁽¹⁾

廖御靜⁽²⁾⁽³⁾ 唐品琦⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 陳立人⁽²⁾⁽⁶⁾ 楊鎮榮⁽²⁾⁽⁷⁾

收件日期：106 年 10 月 23 日；接受日期：107 年 1 月 9 日

摘 要

近年來，已發展出多種建立多能性幹細胞之技術，如胚幹細胞技術 (embryonic stem cells, ESCs)、單一胚葉胚幹細胞 (single blastomere-derived embryonic stem cells)、體細胞核轉置胚幹細胞 (somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells)、孤雌生殖胚幹細胞 (parthenogenetic embryonic stem cells) 及誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSCs) 等。其中，誘導性多能幹細胞自 2006 年發表以來已歷 10 餘年，迄今已被廣泛應用於疾病模式、藥物篩選及細胞治療等多項生物醫學之研究，開創幹細胞科技與再生醫學領域的全新發展。iPSC 技術之發展乃建立在體細胞再程式化 (reprogramming)、轉錄因子 (transcription factors) 的發現與胚幹細胞培養技術上，這些研究成果成就了 iPSC 的誕生。然而，iPSC 技術並非完美無瑕，尚有許多問題仍待進一步研究，如 iPSC 產製方式的改進、產製效率的提升及產製品質的控制等。本篇報告將介紹多能性幹細胞技術的發展歷程、家畜幹細胞進展及未來展望，讓讀者更瞭解這項新興科技。

關鍵詞：誘導性多能幹細胞、胚幹細胞、畜產動物。

緒 言

生命科學史在 2006 年時有了一項重大的突破，日本京都大學的山中伸彌 (Shinya Yamanaka) 教授利用 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因進行轉染，即可將體細胞 (somatic cells) 的基因表現與分化潛能提升至相當於胚幹細胞 (embryonic stem cells, ESCs) 的層級，此細胞稱為誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) (Takahashi and Yamanaka, 2006)，自此這 4 個轉錄因子被命名為 Yamanaka factors。接著 6 年後，50 歲的山中伸彌教授因這項技術，與 79 歲的英國發育生物學家約翰格登爵士 (John Gurdon)，共同榮獲 2012 年諾貝爾生理與醫學獎殊榮。iPSC 技術發展至今已 10 餘年，在 2006 年發表的文獻，亦被引用逾 2 萬次，舉凡齧齒動物、實驗動物、畜產動物，甚至人類，欲建立該物種之 iPSC 皆引用此技術與文獻。而基礎醫學領域與臨床前研究，皆因此項技術能有更進一步的突破。本篇報告即對多能性幹細胞技術發展歷程做詳細的回顧。

I. 幹細胞分化潛能分類

幹細胞學所述的細胞分化 (differentiation) 與未分化 (undifferentiation) 之分別係以細胞是否特化為區分。分化細胞為特化出特定細胞之特徵，並可執行特定生理功能，如肌肉細胞、皮膚細胞與神經細胞等；而未分化細胞即尚未特化，需於特定環境條件下，方可分化成特定細胞，並具有執行特定生理功能的能力。幹細胞即屬於未分化階段的細胞，體內可無限制地進行細胞分裂，並分化為特定細胞 (Sreenivas *et al.*, 2011)。不同種類幹細胞其分化潛能亦不同，分化潛能由高至低可分類為分化全能性 (totipotency)、分化多能性 (pluripotency)、分化複能性 (multipotency)、分化寡能性 (oligopotency) 與分化單能性 (unipotency) (表 1)。根據 NIH (2001) 對分化全能性之定義為「非常早期的胚細胞具有分化成胚體及胎膜等所有各類組織與器官之能力」。因此，當受精卵開始進行卵裂後，在發育至 4 至 8 細胞期之前，每顆胚葉細胞 (blastomere) 均保有最強的分化潛能，此時每一個胚葉細胞即具備有分化全能性之潛能，此為目前已知分化潛能最強之細胞。而分化多能性是指「單一細胞具有發育分化成

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2584 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 國立中興大學動物科學系。

(4) 國立中興大學農業生物科技發展中心。

(5) 國立中興大學鳥禽類演化與基因體研究中心。

(6) 國立成功大學生物科技研究所。

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

內胚層、中胚層與外胚層等三種胚層之分化潛能」，而常見的 ESC 與本文介紹的 iPSC 即屬於分化多能性之細胞。分化複能性係指該幹細胞具有分化成多種特化細胞的分化潛能，例如間葉幹細胞 (mesenchymal stem cells) 與造血幹細胞 (hematopoietic stem cells) 即屬於分化複能性。具分化寡能性的幹細胞分化能力有限，僅能分化成少數幾種細胞，例如少數骨髓來源幹細胞即屬於分化寡能性。分化單能性之幹細胞只能朝單一方向分化，例如肌肉幹細胞即屬於分化單能性，分化潛力最低，僅能分化為肌肉細胞 (NIH, 2001; Bellomo, 2006; Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)。

表 1. 幹細胞分化潛能分類

Table 1. Classification of stem cell differentiation potential

Classification	Differentiation potential	Examples
Totipotency	Embryo and placenta	Oocytes, zygotes
Pluripotency	Three germ layers	ESC, iPSC
Multipotency	Cell types of their original tissue sites	Mesenchymal stem cells, hematopoietic stem cells
Oligopotency	Few cells	Lymphoid stem cells, myeloid stem cells
Unipotency	One single cell type	Type II pneumocytes, muscle stem cells

(Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)

若依取得來源不同，幹細胞可區分為 ESC 與成體幹細胞 (adult stem cells) 兩類，兩者之特性如表 2 所示。ESC 源自於囊胚 (blastocyst) 的內細胞團 (inner cell mass)，屬於分化多能性幹細胞，可分化超過 220 種細胞，但因為無法分化成為胎盤細胞。因此，不具備有分化全能性之潛能。然因 ESC 係源自於胚，因此使用上一直存在醫學倫理與道德爭議等問題。此外，ESC 移植後是否會出現免疫反應與排斥現象，亦是應用上的一大疑慮。相較於 ESC，成體幹細胞源自於體內各種組織，如腦、骨髓、血液、血管、骨骼肌細胞、牙齒、心臟、腸道、皮膚、肝臟、卵巢上皮與睪丸等來源之幹細胞平常處於休眠階段，若疾病發生或組織受損才會活化。然而，成體幹細胞數量稀少，且分離純化與繼代培養技術困難，又隨年齡增長以及環境、毒物或 DNA 複製錯誤影響，皆會提高成體幹細胞 DNA 發生異常的風險。反之，成體幹細胞之取得較 ESC 容易，僅需患者同意即可，且細胞移植上較不易有排斥現象。因此，醫學上亦有許多應用成體幹細胞進行治療與研究之例證 (Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)。

表 2. 胚幹細胞與成體幹細胞之特性

Table 2. Characteristics of embryonic stem cells and adult stem cells

Items	Embryonic stem cells	Adult stem cells
Source	Embryo	Adult tissue
Potency	Pluripotency	Limited differentiation
Cell culture	Easy	Hard
Transplant rejection	Yet to know	Less likely
Usage	Ethical concern	Patient consent

(Maron-Gutierrez *et al.*, 2009)

II. 多能性幹細胞的建立技術

近年來，隨著幹細胞技術不斷進步，由最初自囊胚之內細胞團建立 ESC 之技術 (Evans and Kaufman, 1981; Thomson *et al.*, 1998)，已發展出可獲得與 ESC 相似之多能性幹細胞技術，如單一胚葉胚幹細胞 (single blastomere-derived embryonic stem cells) (Chung *et al.*, 2006)、體細胞核轉置胚幹細胞 (somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells, SCNT ESCs) (Wakayama *et al.*, 2001)、孤雌生殖胚幹細胞 (parthenogenetic embryonic stem cells) (Revazova *et al.*, 2007) 與 iPSC (Takahashi and Yamanaka, 2006) 等分化多能性幹細胞 (圖 1)。以下針對各項技術做簡短之介紹：

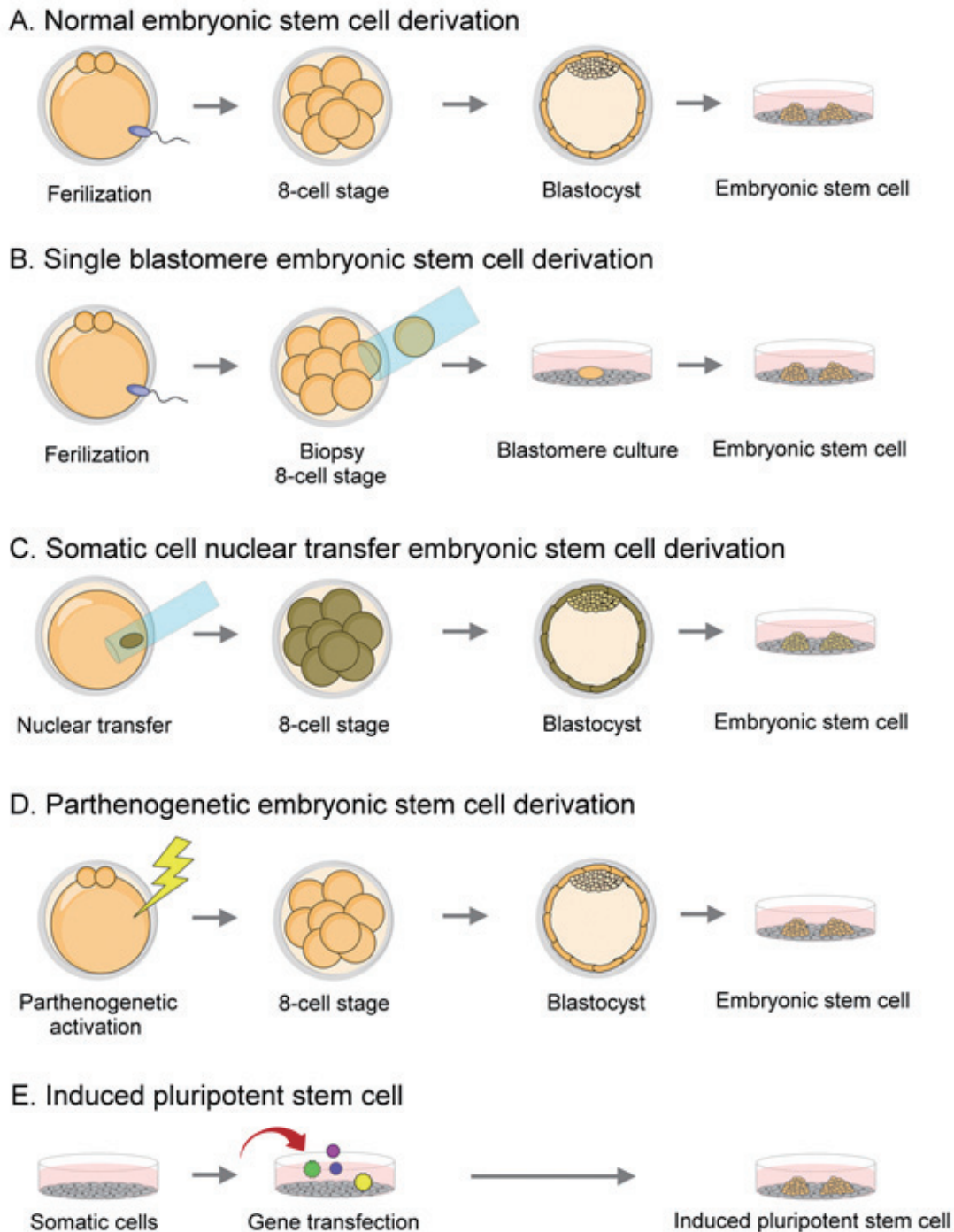


圖 1. 多能性幹細胞的建立方式 (石與郭, 2011; Kao *et al.*, 2008)。

Fig. 1. The methods to establish pluripotent stem cells (石與郭, 2011; Kao *et al.*, 2008).

(i) 內細胞團胚幹細胞技術

最初建立 ESC 之技術係先取得囊胚，將內細胞團與滋養層細胞 (trophectoderm) 分離後進行培養，以株化建立 ESC (圖 1A)。而獲得內細胞團建立 ESC 之方法有：(1) 免疫外科法 (immunosurgery method)：品質良好的囊胚先以蛋白酶 (pronase) 溶解囊胚之透明帶 (zona pellucida)，再利用抗滋養層細胞之多價抗體免疫球蛋白 (polyvalent immunoglobulins) 與天竺鼠補體 (guinea pig complement)，去除囊胚外圍之滋養層細胞後，取得內細胞團進行培養而建立 ESC (陳等, 1991a, 1991b; Solter and Knowles, 1975; Chen *et al.*, 1999)。(2) 部分胚培養法 (partial-embryo culture method)：將普通等級之囊胚利用顯微操作技術切除大部分的滋養層細胞後，僅取其中品質較佳的內細胞團進行培養而建立 ESC (Kim *et al.*, 2005)。(3) 全胚培養法 (whole-embryo culture method)：僅具有少量內細胞團之囊胚，利用蛋白酶溶解囊胚之透明帶後，將全胚進行培養而建立 ESC (Evans and Kaufman, 1981; Martin, 1981; Chen *et al.*, 1999)。

(ii) 單一胚葉胚幹細胞技術

著床前檢測基因缺陷時，常取出受精胚中的胚葉細胞做檢測。因受精卵發育至 4 – 8 細胞期時，每顆胚葉細胞仍保有分化全能性，僅取出單一胚葉細胞進行培養，可成功建立 ESC，此即為單一胚葉胚幹細胞技術 (Chung *et al.*, 2006) (圖 1B)。

(iii) 體細胞核轉置胚幹細胞技術

複製羊桃莉 (Dolly) 的誕生證實體細胞核轉置技術，可使細胞再程式化重回到分化全能性階段 (Wilmut *et al.*, 1997)。利用此技術可獲得完整囊胚以提供內細胞團，並進一步建立 ESC，此即為體細胞核轉置胚幹細胞技術 (Wakayama *et al.*, 2001) (圖 1C)。

(iv) 孤雌生殖胚幹細胞技術

孤雌生殖為一種無性生殖方式，即卵未經受精即發育成完整個體，為自然界許多生物的繁衍方式。小鼠、兔、豬、綿羊、牛與狢猴 (marmoset) 的卵母細胞亦可經人工孤雌激活 (parthenogenetic activation) 發育成囊胚，然而因未受精使銘印基因 (imprinting genes) 缺陷，胚著床後無法正常發育成個體 (Allen *et al.*, 1994; Brevini and Gandolfi, 2008; Hsieh *et al.*, 2010)。利用孤雌激活發育之囊胚，取得內細胞群培養後獲得 ESC，即為孤雌生殖胚幹細胞技術 (Revazova *et al.*, 2007) (圖 1D)。

(v) 誘導性多能幹細胞技術

山中伸彌教授利用 4 個特定基因 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 轉染入已分化之體細胞中，獲得分化能力與 ESC 相似的多能性幹細胞。此類幹細胞經由基因轉染誘導而成，且與 ESC 同屬於分化多能性，故稱作誘導性多能幹細胞 (Takahashi and Yamanaka, 2006) (圖 1E)。前揭之四項技術仍需利用卵母細胞、早期胚或囊胚為材料，方可建立 ESC，並未完全克服道德爭議；然而，iPSC 不需經由囊胚即可獲得，可完全避免犧牲囊胚之爭議。

III. 多能性幹細胞之形態特性

多能性幹細胞於體外培養時易發生自發性分化 (spontaneous differentiation)，產生異於正常幹細胞形態之細胞族群而失去分化多能性，因此定期更新供養層細胞 (feeder cells) 與更換新鮮培養液，為維持幹細胞分化多能性之重要工作。多能性幹細胞之體外培養過程中，如何判斷其細胞特定形態與未分化狀態是否維持良好，亦相當重要。未分化之多能性幹細胞外觀形態上具有以下 4 種特徵：

1. 緊密的細胞群落：群落中每顆細胞的界限難以辨別 (圖 2A)。
2. 細胞群落邊界明顯：細胞群落與供養層細胞之界線明顯 (圖 2A)。
3. 較大的核質比：擁有較大細胞核與少量的細胞質 (圖 2B)。
4. 明顯的核仁 (nucleoli)：顯微鏡觀察下，可見到細胞核內有明顯的核仁。

若多能性幹細胞開始走向分化，上述特徵將逐漸失去，並朝向群落邊界模糊、細胞形狀異常或不正常堆疊等方向生長 (圖 2C、2D)。朝向分化之多能性幹細胞較常分佈於細胞群落週圍或中心區域，因此細胞群落中可能同時含有未分化與已分化之幹細胞 (圖 2E)。此外，不同物種的多能性幹細胞之細胞群落形態亦有些許差異，如靈長類 (人或猴) 或有蹄類 (豬) 的多能性幹細胞形態為扁平狀 (flat-shaped) (圖 2A)，而齧齒類 (大鼠或小鼠) 的多能性幹細胞形態為圓丘狀 (dome-shaped) (圖 2F) (Chen *et al.*, 1999; 錢, 2008)。

IV. 多能性幹細胞的發展歷程

多能性幹細胞大多源自於早期胚，然而 2006 年日本京都大學山中伸彌教授發現，已分化的成體細胞亦可經由轉染某些特定的轉錄因子，而回復至分化多能性階段，利用此技術僅需利用體細胞即可獲得誘導性多能幹細胞。如同其他科學研究，iPSC 的技術乃立基於前人的研究成果而得，而該項技術的基礎有以下 3 項：

(i) 體細胞核轉置的再程式化

約翰格登爵士於 1962 年，發現將成年非洲爪蟾的腸道上皮細胞的細胞核移置未受精的卵子內，可成功發育成蝌蚪 (Gurdon, 1962)。35 年後，英國胚胎學家伊恩威爾穆特 (Ian Wilmut) 首次以乳腺上皮細胞成功複製出桃莉羊 (Wilmut *et al.*, 1997)。這些研究成果證實，已分化的體細胞含有可供發育成完整個體的基因訊息，且卵子含有許多因子可將已分化之體細胞核再程式化。此外，研究亦發現未分化的 ESC 本身亦有許多因子，可再程式化體細胞，也因此亦可利用 ESC 來達到體細胞再程式化的效果 (Tada *et al.*, 2001)。

(ii) 轉錄因子的發現

轉錄因子為一種可與 DNA 結合，進而調控基因表現的蛋白質。有研究發現果蠅 (*Drosophila*) 的 Antenna-pedia 轉錄因子可使觸角發育成腳 (Schneuwly *et al.*, 1987)，而 MyoD 轉錄因子可使纖維母細胞 (fibroblasts) 轉變成肌細胞 (myocytes) (Davis *et al.*, 1987)。這些結果顯示，轉錄因子可以使細胞朝新的走向發展。而常見與幹細胞分化多能性有關之轉錄因子有 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4*、*c-Myc*、*Nanog*、*Lin28* 與 *Glis1* 等。

(iii) 胚幹細胞研究進展

英國生物學家馬丁約翰埃文斯爵士 (Martin John Evans) 與美國蓋爾羅伯塔馬丁 (Gail Roberta Martin) 教授，同於 1981 年分別成功建立小鼠 ESC (Evans and Kaufman, 1981; Martin, 1981)，爾後發現維持多能性的關鍵因子為白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) (Smith *et al.*, 1988)。於 17 年後，美國發育生物學家詹姆斯亞歷山大湯姆森 (James Alexander Thomson) 成功建立人類 ESC (Thomson *et al.*, 1998)，亦發現維持其多能性的關鍵因子為鹼性纖維母細胞生長因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)。

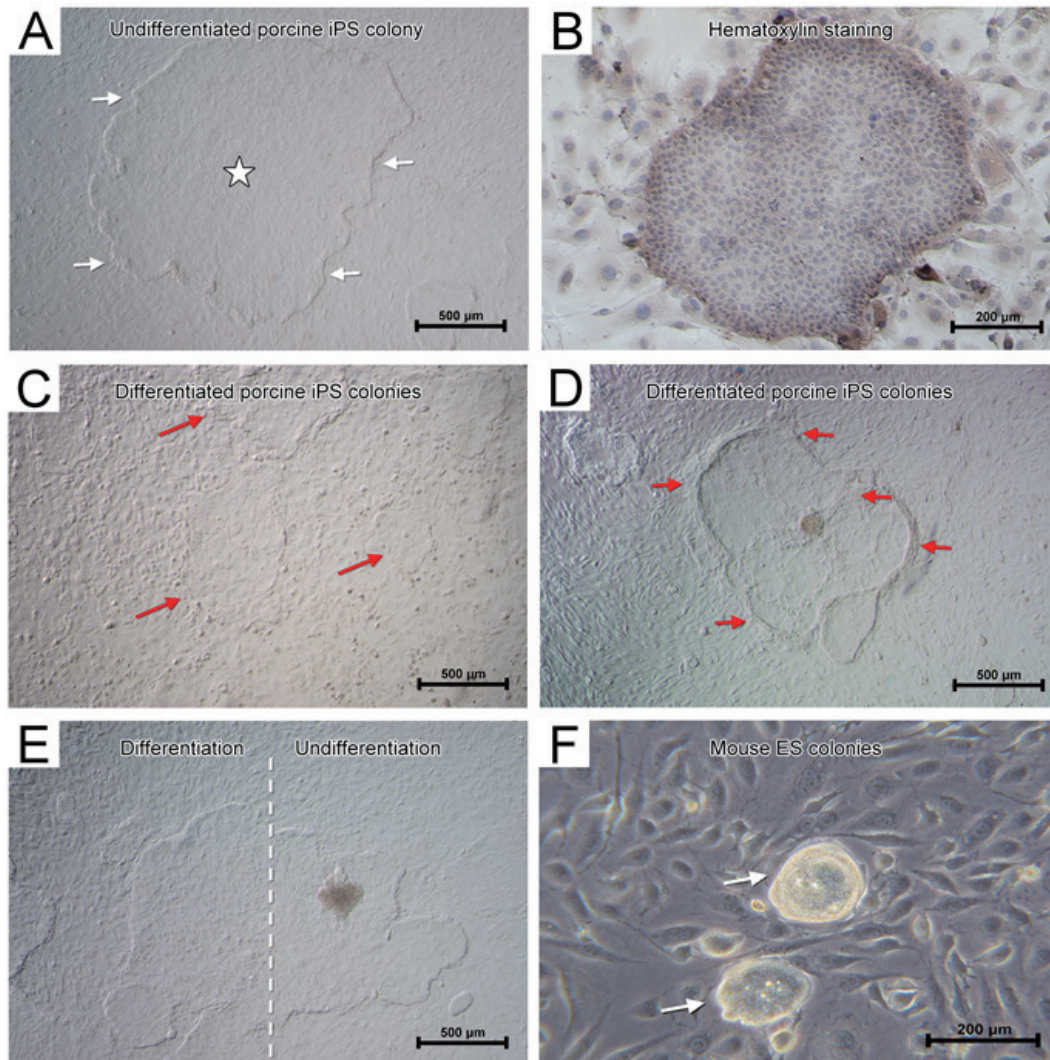


圖 2. 多能性幹細胞的形態。未分化的豬誘導性多能幹細胞，其細胞群落緊密 (☆)、邊界明顯 (白色箭頭) (A) 且細胞核質比大 (利用 hematoxylin 染色觀察) (B)。已分化的豬誘導性多能幹細胞，其細胞群落邊界模糊 (黑色箭頭) (C)，細胞不正常堆疊生長 (黑色箭頭) (D)。細胞群落中可能同時存在未分化 (虛線右邊) 與已分化之細胞 (虛線左邊)，未分化細胞的界線仍清楚，已分化細胞的界線模糊 (E)。小鼠胚幹細胞形態呈現圓丘狀 (白色箭頭) (F)。

Fig. 2. Morphology of pluripotent stem cells. The undifferentiated porcine iPS show compact colonies (☆) with intact boundary (white arrows) (A) and high nucleus-to-cytoplasm ratio (by hematoxylin staining) (B). The differentiated porcine iPS show blurry boundary in colonies (black arrows) (C) and irregular growth (black arrows) (D). The undifferentiated (right side of dashed line) and differentiated cells (left side of dashed line) might exist in the same colony, and the boundaries of them are intact and blurry, respectively (E). The mouse ESC show dome-like morphology (white arrows) (F).

綜合上述研究成果推知，卵子或 ESC 內含多種因子，可使體細胞再程式化回溯到胚胎階段。此外，胚幹細胞培養條件的建立，使幹細胞能持續維持分化多能性狀態。這些研究結果為 iPSC 技術之發展奠定了基礎 (圖 3) (Yamanaka, 2012)。起初，山中伸彌教授的研究團隊將 *Ecat1*、*Dppa5* (*Esg1*)、*Fbxo15*、*Nanog*、*Eras*、*Dnmt3l*、*Ecat8*、*Gdf3*、*Sox15*、*Dppa4*、*Dppa2*、*Fthl17*、*Sall4*、*Oct3/4* (*Pou5f1*)、*Sox2*、*Rex1* (*Zfp42*)、*Utf1*、*Tcl1*、*Dppa3* (*Stella*)、*Klf4*、 β -catenin、*c-Myc*、*Stat3* 與 *Grb2* 等 24 個基因經反轉錄病毒 (retrovirus) 轉染入小鼠胎體纖維母細胞 (mouse embryonic fibroblasts)，獲得與 ESC 相似的細胞群落。經過不斷的篩選與驗證，發現僅需 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因，即可使小鼠體細胞回復多能性狀態 (Takahashi and Yamanaka, 2006)。隔年，山中伸彌教授與詹姆斯亞歷山大湯姆森的研究團隊相繼發表了人類 iPSC 的研究成果 (Takahashi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007)。

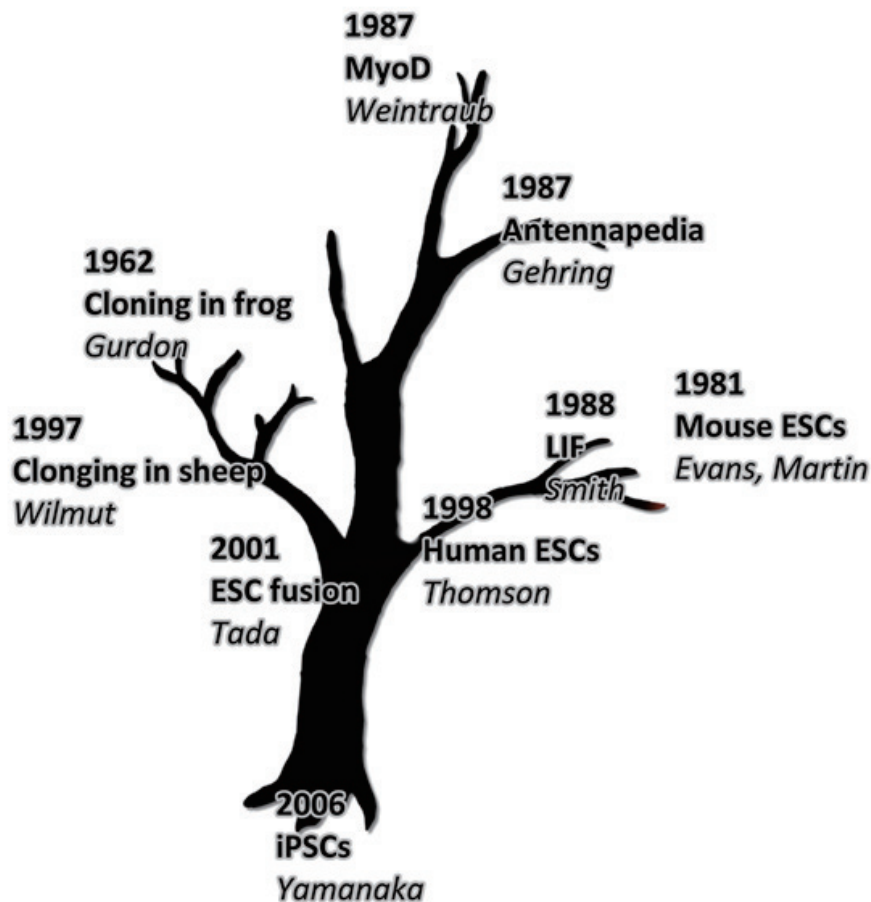


圖 3. 誘導性多能幹細胞發展基礎 (Yamanaka, 2012)。

Fig. 3. The foundation of induced pluripotent stem cell development (Yamanaka, 2012).

由於約翰格登爵士與山中伸彌教授的研究證實體細胞能回復至多能性狀態，兩位於 2012 年同時獲得諾貝爾生理醫學獎。隨後於 2014 年，日本理化研究所發育生物學 (RIKEN Center for Developmental Biology) 研究人員高橋雅代 (Masayo Takahashi) 與山中伸彌教授合作，進行首次 iPSC 的人體試驗。研究團隊將來自患有黃斑部病變 (macular degeneration) 患者的體細胞，建立患者自身的 iPSC。經進一步分化為視網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium) 後移植回患者眼睛，改善了黃斑部病變。然而，於 2015 年進行第二次人體試驗時，山中伸彌教授發現患者的 iPSC 與移植細胞的基因有兩處發生變化，為了患者安全因此中止試驗 (Scudellari, 2016)。

V. 誘導性多能幹細胞的建立方法

iPSC 技術發展至今已 10 餘年，當初的建立方法經不斷的改進，現已超過 10 種方法可成功產製出 iPSC。然而，產製方式仍以基因轉染為主，效率約 0.001% – 1% 左右，因轉染方式或細胞來源的不同而異。轉染選用的轉錄因子基因也由原先的 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種，增加 *Nanog*、*Lin28* 與 *Glis1* 等 3 種可供選擇。轉染方式可分為病毒性與非病毒性載體，其中病毒性載體轉染為目前最常用的方式。常用的病毒載體為反轉錄病毒、慢病毒 (lentivirus)、腺病毒 (adenovirus) 與仙臺病毒 (sendai virus)。其中反轉錄病毒與慢病毒載體屬於嵌

入型 (integration)，病毒 DNA 會與宿主 DNA 相結合；腺病毒與仙臺病毒載體則屬於非先嵌入型 (non-integration)。然而，病毒載體轉染方式可能使宿主細胞產生基因毒性 (genotoxicity)，因此發展出非病毒性載體的轉染方式，以增進再生醫學上的應用 (Kumar *et al.*, 2015)。例如重組蛋白 (recombinant proteins) (Kim *et al.*, 2009)、附加型載體 (episomal vectors) (Yu *et al.*, 2009)、piggyBac transposon (Woltjen *et al.*, 2009)、小分子 (small molecules) (Despots and Ding 2010)、微環 DNA (minicircle DNA) (Jia *et al.*, 2010)、質體載體 (plasmid vector) (Okita *et al.*, 2010)、mRNA (Warren *et al.*, 2010) 與 Sleeping Beauty transposon (Kues *et al.*, 2013) 等轉染方式，均已證實可成功建立 iPSC (圖 4)。

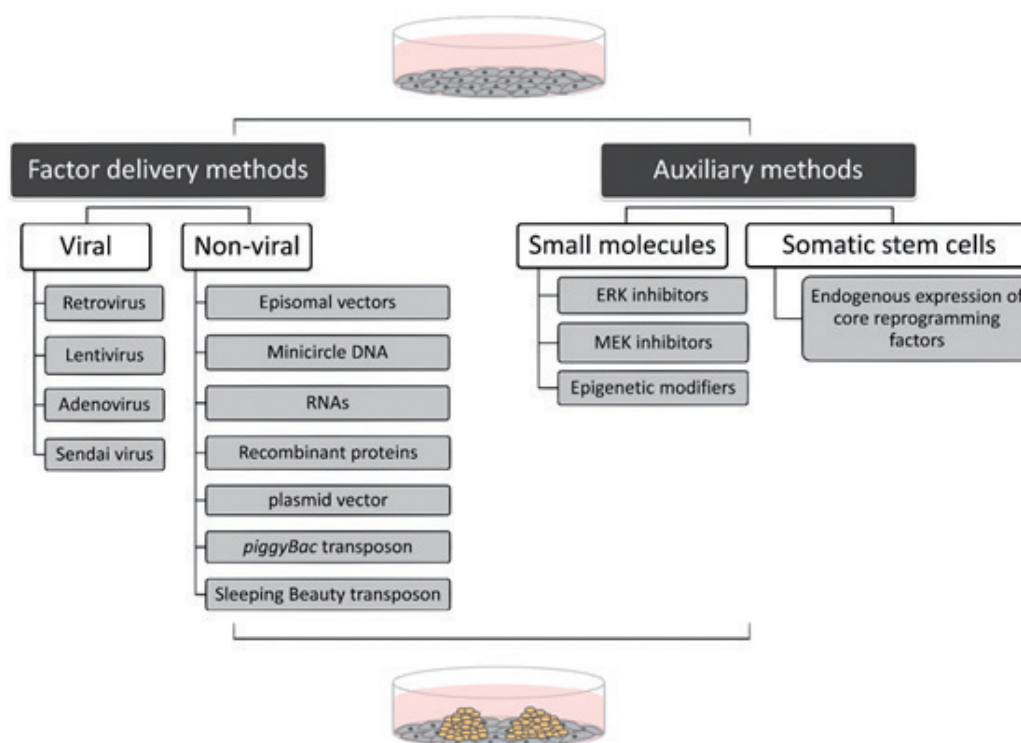


圖 4. 誘導性多能幹細胞的建立方式 (Kumar *et al.*, 2015)。

Fig. 4. Methods in establishment of induced pluripotent stem cells (Kumar *et al.*, 2015).

VI. 誘導性多能幹細胞的評估指標

評估 iPSC 特性的方式與 ESC 相同，除直接觀察形態外，也可利用分子鑑定與分化能力檢測來評估。分子鑑定即檢測細胞表面與分化多能性相關之標誌的表現，分化能力即檢視其是否可分化為他種細胞。齧齒類 (如大鼠、小鼠) 與靈長類 (如人類) 的 iPSC，其細胞表面抗原不同。例如，小鼠 iPSC 之細胞表面抗原可被 stage-specific embryonic antigens-1 (SSEA-1) 抗體偵測；而人類 iPSC 則表現 SSEA-3 與 SSEA-4 表面抗原，而非 SSEA-1。分化能力檢測又可分为體外與體內分化。體外分化可利用誘發類胚體形成 (embryoid body formation) 或定向分化 (directed differentiation)，檢測受檢細胞在特殊的體外分化培養條件下，是否可分化為特定體細胞。體內分化即將細胞移植入動物體內以檢視分化情形，例如將受檢細胞移植於免疫缺陷小鼠 (immuno-deficient mice) 以促其形成畸胎瘤 (teratoma)，然後檢視畸胎瘤內的細胞是否分化為歸屬於三胚層 (three germ layers) 之細胞譜系。或將受檢細胞移植入囊胚中與囊胚本身的內細胞團形成嵌合，經胚移植後產下的嵌合體 (chimera)，檢視其體內的器官、組織與細胞是否有發育自移植入的受檢細胞 (錢, 2008; Stadtfeld and Hochedlinger, 2010)。

VII. 誘導性多能幹細胞的醫學應用

iPSC 的技術使再生醫學、藥理研究與動物生物技術的發展邁進一大步。特定條件下，iPSC 能定向分化為特定細胞。因此，可用來檢測藥物對細胞之毒性，協助瞭解藥物的作用機制，有利於人類新藥的開發。iPSC 對產製轉基因動物或復育瀕臨絕種的動物亦有很大的幫助。若將 iPSC 分化為精子或卵子，可增加孕育下一代的機會 (Kumar *et al.*, 2015)。此外，結合 iPSC 的分化能力與藥物篩選技術，有益於人類疾病治療。例如，可從脊髓性肌肉萎縮症 (spinal muscular atrophy, SMA) 患者身上取得體細胞，建立患者自身的 iPSC，再將其誘導分化為運動神經元 (motor neuron)。利用此帶有 SMA 缺陷的運動神經元進行藥物篩選，可直接找出最適合患者的藥物，

以減少藥物的使用量並進行精準醫療。此外，亦可利用基因工程方式修復 iPSC 的 SMA 缺陷，再將正常的 iPSC 分化為運動神經元，最後移植回患者身上進行神經修復 (Stadtfield and Hochedlinger, 2010)。

VII 誘導性多能幹細胞與胚幹細胞的比較

雖然 iPSC 產製方式與 ESC 不同，兩者無論細胞形態、分子標誌特徵或分化能力方面，卻有相似的特性。然而隨著研究不斷進步，於 2009 年後，許多文獻開始探討兩者間的差異，例如人類 iPSC 與 ESC 的基因表現有上百種的差異 (Chin *et al.*, 2009)，人類 iPSC 仍表現來供體細胞 (donor cells) 的基因 (Marchetto *et al.*, 2009; Ghosh *et al.*, 2010)，以及 DNA 甲基化 (methylation) 程度的差異 (Deng *et al.*, 2009)。隨後，亦發現人類 iPSC 的後生遺傳記憶 (epigenetic memory) 現象，即來源體細胞的細胞特質仍存在於人類 iPSC，使分化時易朝向原細胞形態的胚層分化。(Kim *et al.*, 2011; Lister *et al.*, 2011; Ohi *et al.*, 2011)。相反的，亦有研究持反對意見，指稱兩者間的差異可以忽略。認為不同的誘導或培養條件，即使會讓 iPSC 與 ESC 的基因產生變化，然兩者間的變化趨勢相似 (Guenther *et al.*, 2010; Newman and Cooper, 2010)，且兩者無論在基因表現或 DNA 甲基化程度，相較於整體的基因體之基因總數而言，皆難以辨別差異 (Bock *et al.*, 2011)。此外，雖然神經分化試驗顯示人類 ESC 有 90% 的分化能力，而僅有 10 – 50% 的人類 iPSC 可成功分化為神經細胞 (Hu *et al.*, 2010)。然而，另一項研究顯示，兩者分化為運動神經元的能力無顯著差異 (Boulting *et al.*, 2011)。由於不同的誘導或培養條件皆會造成不同的結果，而 iPSC 產製過程較 ESC 容易產生變異，因此兩者間是否有明顯的差異仍有爭議。此外，認為兩者有差異的文獻，其研究中所使用的細胞數目，遠少於認為兩者相同的研究文獻所使用的細胞數目 (表 3) (Yamanaka, 2012)。因此，各實驗室產製的 iPSC 品質差異大，仍需更進一步探討兩者的差異。

表 3. 文獻中誘導性多能幹細胞與胚幹細胞的使用量

Table 3. Number of iPSC and ESC clones analyzed in published articles

Items	Clone Numbers		References
	iPSC	ESC	
Difficult to distinguish	68	23	Newman and Cooper, 2010
	54	36	Guenther <i>et al.</i> , 2010
	12	20	Bock <i>et al.</i> , 2011
Notable differences	5	3	Chin <i>et al.</i> , 2009
	2	2	Marchetto <i>et al.</i> , 2009
	4	3	Deng <i>et al.</i> , 2009
	4	6	Ghosh <i>et al.</i> , 2010
	9	3	Doi <i>et al.</i> , 2009
	9	3	Ohi <i>et al.</i> , 2011
	12	6	Kim <i>et al.</i> , 2011
	5	2	Lister <i>et al.</i> , 2011

(Yamanaka, 2012)

IX. 幹細胞與畜產動物

自 1990 年至今，家畜 ESC 研究已逾 20 餘載，其中以豬與牛的研究最多，然目前仍未有一株家畜 ESC 的特性與小鼠 ESC 相似。培養過程中，家畜 ESC 可能會遇到無法持續繼代的問題，且大多數分化潛能較差，幾乎無法形成嵌合體與畸胎瘤 (Ezashi *et al.*, 2015)。而家畜 iPSC 的研究量比家畜 ESC 多，且大多使用病毒轉染的方式將 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因轉染纖維母細胞而得 (Liao *et al.*, 2014; Ezashi *et al.*, 2015; Kumar, *et al.*, 2015)。目前所有家畜 iPSC 皆可成功形成畸胎瘤，然是否可形成嵌合體或具有性腺遺傳 (germline transmission) 能力，仍需更進一步驗證。小鼠 iPSC 的研究已相當透徹，最終的結果期盼能應用於人類。然而因風險與道德問題，致使人類 iPSC 的許多後續試驗如形成嵌合體或性腺遺傳能力仍無法驗證。iPSC 於齧齒動物、家畜與人類之研究進展如表 4 所示 (Kumar *et al.*, 2015)。此外，行政院農業委員會畜產試驗所建立之豬胚幹細胞 (Yang *et al.*, 2009) 已應用於帕金森氏症 (楊, 2012; Yang *et al.*, 2010)、脊髓損傷 (Yang *et al.*, 2013a) 與牙周炎 (Yang *et al.*, 2013b) 等動物模式上，並獲得良好的治療效果。雖然家畜幹細胞的研究成果不如小鼠豐碩多樣，然而家畜幹細胞無論形態、分子標誌與分化能力皆近似人類幹細胞，因此家畜可作為人類研究上的橋樑，其重要性亦不容忽視。

表 4. 誘導性多能幹細胞於齧齒動物、家畜與人類之研究進展

Table 4. Achievements of induced pluripotent stem cells from rodents, farm animals and humans

Achievements of iPSC	Rodents	Farm animals	Humans
<i>In vivo</i> differentiation	Fully proven	Fully proven	Fully proven
<i>In vitro</i> differentiation	Fully proven	Fully proven	Fully proven
Chimera	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*
Germline transmission	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*
Follow up generations	Fully proven	Not achieved yet	NA/NCD*
Transplantation of iPSC-derived cells	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*

* NA/NCD: not allowed or no clinical data

(Kumar *et al.*, 2015)

結 論

多能幹細胞提供疾病研究良好的研究平臺，而其中誘導性多能幹細胞使近 10 年內的醫學研究，無論是在疾病發病機制或治療方針皆有重大突破 (Shi *et al.*, 2017)。然而，不同之多能性幹細胞其分化能力未盡相同，例如即使體細胞來源相同，誘發產製的 iPSC 的分化能力仍有差異，因此其應用時需格外注意 (Inoue *et al.*, 2014)。相較於齧齒動物，畜產動物尤其是豬，其體型、器官大小、解剖構造、生理功能、代謝與病理狀態皆與人類較為相似，對於人類臨床前的研究有相當大的幫助 (Gün and Kues, 2014)，因此家畜幹細胞的研究對人類疾病機制和治療方法的開發亦可提供有效的線索和貢獻。

參考文獻

- 石力、郭紘志。2011。建立多能性幹細胞株的方式與技術發展。中國畜牧學會會誌 40(3)：141-157。
- 楊鎮榮。2012。豬胚幹細胞應用於帕金森氏症治療之研究。農業生技產業季刊 31：44-51。
- 錢宗良。2008。幹細胞學。幹細胞與組織工程教學資源中心。臺北市。
- 陳立人、吳明哲、王建平。1991a。哺乳動物胚幹細胞之體外培養 (II) 小鼠與豬囊胚衍生物之體外培養。中國畜牧學會會誌 20(3)：327-339。
- 陳立人、吳明哲、許登造。1991b。分離小鼠與豬囊胚內細胞群之兔抗血清的製備。中國畜牧學會會誌 20(1)：61-67。
- Allen, N. D., S. C. Barton, K. Hilton, M. L. Norris and M. A. Surani. 1994. A functional analysis of imprinting in parthenogenetic embryonic stem cells. *Development* 120: 1473-1482.
- Bellomo, M. 2006. The stem cell divide: the facts, the fiction, and the fear driving the greatest scientific, political, and religious debate of our time. American Management Association. New York, NY, USA.
- Bock, C., E. Kiskinis, G. Versteppen, H. Gu, G. Boulting, Z. D. Smith, M. Ziller, G. F. Croft, M. W. Amoroso, D. H. Oakley, A. Gnirke, K. Eggan and A. Meissner. 2011. Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines. *Cell* 144: 439-452.
- Boulting, G. L., E. Kiskinis, G. F. Croft, M. W. Amoroso, D. H. Oakley, B. J. Wainger, D. J. Williams, D. J. Kahler, M. Yamaki, L. Davidow, C. T. Rodolfa, J. T. Dimos, S. Mikkilineni, A. B. MacDermott, C. J. Woolf, C. E. Henderson, H. Wichterle and K. Eggan. 2011. A functionally characterized test set of human induced pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 29: 279-286.
- Brevini, T. A. and F. Gandolfi. 2008. Parthenotes as a source of embryonic stem cells. *Cell Prolif.* 41: 20-30.
- Chen, L. R., Y. L. Shiue, L. Bertolini, J. F. Merdrano, R. H. BonDurant and G. B. Anderson. 1999. Establishment of pluripotent cell lines from porcine preimplantation embryos. *Theriogenology* 52: 195-212.
- Chin, M. H., M. J. Mason, W. Xie, S. Volinia, M. Singer, C. Peterson, G. Ambartsumyan, O. Aimiwu, L. Richter, J. Zhang, I. Khvorostov, V. Ott, M. Grunstein, N. Lavon, N. Benvenisty, C. M. Croce, A. T. Clark, T. Baxter, A. D. Pyle, M. A. Teitell, M. Pelegri, K. Plath and W. E. Lowry. 2009. Induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells are distinguished by gene expression signatures. *Cell Stem Cell* 5: 111-123.

- Chung, Y., I. Klimanskaya, S. Becker, J. Marh, S. J. Lu, J. Johnson, L. Meisner and R. Lanza. 2006. Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres. *Nature* 439: 216-219.
- Davis, R. L., H. Weintraub and A. B. Lassar. 1987. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 51: 987-1000.
- Deng, J., R. Shoemaker, B. Xie, A. Gore, E. M. LeProust, J. Antosiewicz-Bourget, D. Egli, N. Maherali, I. H. Park, J. Yu, G. Q. Daley, K. Eggan, K. Hochedlinger, J. Thomson, W. Wang, Y. Gao and K. Zhang. 2009. Targeted bisulfate sequencing reveals changes in DNA methylation associated with nuclear reprogramming. *Nat. Biotechnol.* 27: 353-360.
- Despots, C. and S. Ding. 2010. Using small molecules to improve generation of induced pluripotent stem cells from somatic cells. *Methods Mol. Biol.* 636: 207-218.
- Doi, A., I. H. Park, B. Wen, P. Murakami, M. J. Aryee, R. Irizarry, B. Herb, C. Ladd-Acosta, J. Rho, S. Loewer, J. Miller, T. Schlaeger, G. Q. Daley and A. P. Feinberg. 2009. Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. *Nat. Genet.* 41: 1350-1353.
- Evans, M. J. and M. H. Kaufman. 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156.
- Ezashi, T., Y. Yuan and R. M. Roberts. 2015. Pluripotent stem cells from domesticated mammals. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 4: 223-253.
- Ghosh, Z., K. D. Wilson, Y. Wu, S. Hu, T. Quertermous and J. C. Wu. 2010. Persistent donor cell gene expression among human induced pluripotent stem cells contributes to differences with human embryonic stem cells. *PLoS ONE* 5: e8975.
- Guenther, M. G., G. M. Frampton, F. Soldner, D. Hockemeyer, M. Mitalipova, R. Jaenisch and R. A. Young. 2010. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 7: 249-257.
- Gün, G. and W. A. Kues. 2014. Current progress of genetically engineered pig models for biomedical research. *BioResearch Open Access* 3: 255-264.
- Gurdon, J. B. 1962. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 10: 622-640.
- Hsieh, Y. C., P. Intawicha, N. W. Lo, K. H. Lee and J. C. Ju. 2010. Characterization and applications of embryonic stem cells derived from parthenogenetically activated embryos- A review. *J. Agri. Assoc. China* 11: 580-601.
- Hu, B. Y., J. P. Weick, J. Yu, L. X. Ma, X. Q. Zhang, J. A. Thomson and S. C. Zhang. 2010. Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 4335-4340.
- Inoue, H., N. Nagata, H. Kurokawa and S. Yamanaka. 2014. iPS cells: a game changer for future medicine. *EMBO J.* 33: 409-417.
- Jia, F., K. D. Wilson, N. Sun, D. M. Gupta, M. Huang, Z. Li, N. J. Panetta, Z. Y. Chen, R. C. Robbins, M. A. Kay, M. T. Longaker and J. C. Wu. 2010. A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. *Nat. Methods* 7: 197-199.
- Kao, C. F., C. Y. Chuang, C. H. Chen and H. C. Kuo. 2008. Human pluripotent stem cells: Current status and future perspectives. *Chin. J. Physiol.* 51: 214-225.
- Kim, D., C. H. Kim, J. I. Moon, Y. G. Chung, M. Y. Chang, B. S. Han, S. Ko, E. Yang, K. Y. Cha, R. Lanza and K. S. Kim. 2009. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 4: 472-476.
- Kim, H. S., S. K. Oh, Y. B. Park, H. J. Ahn, K. C. Sung, M. J. Kang, L. A. Lee, C. S. Suh, S. H. Kim, D. W. Kim and S. Y. Moon. 2005. Methods for derivation of human embryonic stem cells. *Stem Cells* 23: 1228-1233.
- Kim, K., R. Zhao, A. Doi, K. Ng, J. Unternaehrer, P. Cahan, H. Huo, Y. H. Loh, M. J. Aryee, M. W. Lensch, H. Li, J. J. Collins, A. P. Feinberg and G. Q. Daley. 2011. Donor cell type can influence the epigenome and differentiation potential of human induced pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 29: 1117-1119.
- Kues, W. A., D. Herrmann, B. Barg-Kues, S. Haridoss, M. Nowak-Imialek, T. Buchholz, M. Streeck, A. Grebe, I. Grabundzija, S. Merkert, U. Martin, V. J. Hall, M. A. Rasmussen, Z. Ivics, P. Hyttel and H. Niemann. 2013. Derivation and characterization of sleeping beauty transposon-mediated porcine induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev.* 22: 124-135.

- Kumar, D., T. R. Talluri, T. Anand and W. A. Kues. 2015. Induced pluripotent stem cells: Mechanisms, achievements and perspectives in farm animals. *World J. Stem Cells* 7: 315-328.
- Liao, Y. J., C. H. Liao, J. W. Liao, K. Yuan, Y. Z. Liu, Y. S. Chen, L. R. Chen and J. R. Yang. 2014. Establishment and characterization of novel porcine induced pluripotent stem cells expressing hrGFP. *J. Stem Cell Res. Ther.* 4: 208.
- Lister, R., M. Pelizzola, Y. S. Kida, R. D. Hawkins, J. R. Nery, G. Hon, J. Antosiewicz-Bourget, R. O'Malley, R. Castanon, S. Klugman, M. Downes, R. Yu, R. Stewart, B. Ren, J. A. Thomson, R. M. Evans and J. R. Ecker. 2011. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature* 471: 68-73.
- Marchetto, M. C., G. W. Yeo, O. Kainohana, M. Marsala, F. H. Gage and A. R. Muotri. 2009. Transcriptional signature and memory retention of human-induced pluripotent stem cells. *PLoS ONE* 4: e7076.
- Maron-Gutierrez, T., I. Araujo, M. M. Morales, C. S. Garcia and P. R. Rocco. 2009. Stem cell therapy in acute respiratory distress syndrome. *Rev. Bras. Ter. Intensiva.* 21: 51-57.
- Martin, G. R. 1981. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 7634-7638.
- Newman, A. M. and J. B. Cooper. 2010. Lab-specific gene expression signatures in pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 7: 258-262.
- NIH. 2001. Stem cells: Scientific progress and future research directions. Terese Winslow Press. Alexandria, VA, USA.
- Ohi, Y., H. Qin, C. Hong, L. Blouin, J. M. Polo, T. Guo, Z. Qi, S. L. Downey, P. D. Manos, D. J. Rossi, J. Yu, M. Hebrok, K. Hochedlinger, J. F. Costello, J. S. Song and M. Ramalho-Santos. 2011. Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPS cells. *Nat. Cell Biol.* 13: 541-549.
- Okita, K., H. Hong, K. Takahashi and S. Yamanaka. 2010. Generation of mouse induced pluripotent stem cells with plasmid vectors. *Nat. Protoc.* 5: 418-428.
- Revazova, E. S., N. A. Turovets, O. D. Kochetkova, L. B. Kindarova, L. N. Kuzmichev, J. D. Janus and M. V. Pryzhkova. 2007. Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts. *Cloning Stem Cells* 9: 432-449.
- Schneuwly, S., R. Klemenz and W. J. Gehring. 1987. Redesigning the body plan of *Drosophila* by ectopic expression of the homoeotic gene *Antennapedia*. *Nature* 325: 816-818.
- Scudellari, M. 2016. A decade of iPS cells. *Nature* 534: 310-312.
- Shi, Y., H. Inoue, J. C. Wu and S. Yamanaka. 2017. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 16: 115-130.
- Smith, A. G., J. K. Heath, D. D. Donaldson, G. G. Wong, J. Moreau, M. Stahl and D. Rogers. 1988. Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature* 336: 688-690.
- Solter, D. and B. B. Knowles. 1975. Immunosurgery of mouse blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72: 5099-5102.
- Sreenivas, S. D., A. S. Rao, S. S. Satyavani, B. H. Reddy and S. Vasudevan. 2011. Where will the stem cells lead us? Prospects for dentistry in the 21st century. *J. Indian. Soc. Periodontol.* 15: 199-204.
- Stadtfield, M. and K. Hochedlinger. 2010. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev.* 24: 2239-2263.
- Tada, M., Y. Takahama, K. Abe, N. Nakatsuji and T. Tada. 2001. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr. Biol.* 11: 1553-1558.
- Takahashi, K. and S. Yamanaka. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676.
- Takahashi, K., K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda and S. Yamanaka. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872.
- Thomson, J. A., J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro, M. A. Waknitz, J. J. Swiergiel, V. S. Marshall and J. M. Jones. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147.
- Wakayama, T., V. Tabar, I. Rodriguez, A. C. Perry, L. Studer and P. Mombaerts. 2001. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 292: 740-743.
- Warren, L., P. D. Manos, T. Ahfeldt, Y. H. Loh, H. Li, F. Lau, W. Ebina, P. K. Mandal, Z. D. Smith, A. Meissner, G. Q. Daley, A. S. Brack, J. J. Collins, C. Cowan, T. M. Schlaeger and D. J. Rossi. 2010. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 7: 618-630.
- Wilmut, I., A. E. Schnieke, J. McWhir, A. J. Kind and K. H. Campbell. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult

- mammalian cells. *Nature* 385: 810-813.
- Woltjen, K., I. P. Michael, P. Mohseni, R. Desai, M. Mileikovsky, R. Hämäläinen, R. Cowling, W. Wang, P. Liu, M. Gertsenstein, K. Kaji, H. K. Sung and A. Nagy. 2009. *piggyBac* transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 458: 766-770.
- Yamanaka, S. 2012. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell* 10: 678-684.
- Yang, J. R., C. H. Liao, C. Y. Pang, L. L. H. Huang, Y. L. Chen, Y. L. Shiue and L. R. Chen. 2013a. Transplantation of porcine embryonic stem cells and their derived neuronal progenitors in a spinal cord injury rat model. *Cytotherapy* 15: 201-208.
- Yang, J. R., C. H. Liao, C. Y. Pang, L. L. H. Huang, Y. T. Lin, Y. L. Chen, Y. L. Shiue and L. R. Chen. 2010. Directed Differentiation into neural lineages and therapeutic potential of porcine embryonic stem cells in rat Parkinson's disease model. *Cell Reprogram.* 12: 447-461.
- Yang, J. R., C. W. Hsu, S. C. Liao, Y. T. Lin, L. R. Chen and K. Yuan. 2013b. Transplantation of embryonic stem cells improves the regeneration of periodontal furcation defects in a porcine model. *J. Clin. Periodontol.* 40: 364-731.
- Yang, J. R., Y. L. Shiue, C. H. Liao, S. Z. Lin and L. R. Chen. 2009. Establishment and characterization of novel porcine embryonic stem cell lines expressing hrGFP. *Cloning Stem Cells* 11: 235-244.
- Yu, J., K. Hu, K. Smuga-Otto, S. Tian, R. Stewart, I. I. Slukvin and J. A. Thomson. 2009. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science* 324: 797-801.
- Yu, J., M. A. Vodyanik, K. Smuga-Otto, J. Antosiewicz-Bourget, J. L. Frane, S. Tian, J. Nie, G. A. Jonsdottir, V. Ruotti, R. Stewart, I. I. Slukvin and J. A. Thomson. 2007. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318: 1917-1920.

An historical overview on the development of pluripotent stem cell technology⁽¹⁾

Yu-Jing Liao⁽²⁾⁽³⁾ Pin-Chi Tang⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ Lih-Ren Chen⁽²⁾⁽⁶⁾ and Jenn-Rong Yang⁽²⁾⁽⁷⁾

Received: Oct. 23, 2017; Accepted: Jan. 9, 2018

Abstract

Recently, various techniques for establishment of pluripotent stem cells has been developed, such as embryonic stem cells (ESCs), single blastomere-derived embryonic stem cells, somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells, parthenogenetic embryonic stem cells, and induced pluripotent stem cells (iPSCs). Among these techniques, the success of iPSC technology in 2006 was more than a decade which had been widely used for biomedical research, such as disease modeling, drug screening, and cell therapy. This technique had opened an avenue for stem cell technology and regenerative medicine. Thanks to the previous studies that verified the mechanism for reprogramming somatic cells, discovered transcription factors, and optimized culture conditions of ESCs, foundations established from these basic researches promote the development of iPSCs. However, many issues, such as production efficiency, and quality of iPSCs, should be improved. In this review, we discussed in detail and looked back the history of pluripotent stem cells, stem cell development in farm animals, and the future perspectives for better understanding of this new technology.

Key words: Induced pluripotent stem cells, Embryonic stem cells, Farm animals.

(1) Contribution No. 2584 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Department of Animal Science, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(4) Agricultural Biotechnology Center, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(5) Center for the Integrative and Evolutionary Galliformes Genomics, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(6) Institute of Biotechnology, National Cheng Kung University, Tainan 70101, Taiwan. R. O. C.

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

不同溫溼度指數對荷蘭泌乳牛乳產量與乳成分之影響⁽¹⁾

張俊達⁽²⁾ 蕭宗法⁽²⁾ 楊德威⁽²⁾ 林義福⁽²⁾ 李春芳⁽³⁾ 吳鈴彩⁽²⁾⁽⁵⁾ 王思涵⁽⁴⁾

收件日期：107 年 1 月 11 日；接受日期：107 年 1 月 23 日

摘 要

本研究旨在探討不同溫溼度指數 (temperature-humidity index, THI) 對荷蘭種泌乳牛產乳量與乳成分之影響。試驗期間自 2015 年至 2017 年，每天記錄畜舍溫度與相對濕度並計算 THI，試驗使用共 1,368 筆 DHI 資料，依不同 THI 程度 (THI < 72、THI 72 – 78 與 THI > 78) 下進行分析，分析項目包括乳量 (daily milk yield, DMY)、乳脂率 (milk fat percentage, MFP)、乳蛋白率 (milk protein percentage, MPP)、乳糖率 (milk lactose percentage, MLP)、乳無脂固形物 (milk solids-not-fat percentage, MSNFP)、乳總固形物 (milk total solid percentage, MTSP)、乳體細胞數 (somatic cell counts, SCC)、乳體細胞分數 (somatic cell score, SCS) 及乳蛋白質與乳脂肪之比值 (protein to fat ratio, PF)。結果顯示，畜舍每年 12 月份至隔年 3 月份 THI 皆小於 72，而每年 4 月份及 11 月份 THI 則介於 72 – 78 之間，其餘每年 5 月份至 10 月份 THI 皆大於 78。測定項目 DMY、MFP、MLP、MSNFP 及 MTSP 皆隨著 THI 增加而降低的現象。而 SCC、SCS 與 PF 則隨著 THI 增加有提高之趨勢。綜上所述，荷蘭種泌乳牛在熱環境下確實會對產乳性能產生負面的影響。因此，當 THI 大於 72 時，建議應採取減緩牛隻因熱緊迫所帶來的負面影響及可能帶來經濟上的損失之相關策略。

關鍵詞：荷蘭泌乳牛、乳組成、溫溼度指數。

緒 言

生乳是良好的營養來源，對人類的生長與能量的供應相當重要。生乳的營養價值會隨著生乳的組成分產生變異，且生乳的組成有很大程度上會決定牛乳的營養價值與製造乳酪的品質特性，因此如何維持產生良好的生乳品質相當重要 (Fox and McSweeney, 1998)。現行臺灣酪農戶也是依據生乳的品質進行計價，因此生乳的組成對所收購酪農原料的乳品加工廠影響甚鉅。生乳的部分成分不僅影響著牛乳與乳製品之營養價值 (Kefford *et al.*, 1995)，也反映乳品質與牛隻健康 (Auldist *et al.*, 1996)。因此，需要探討影響生乳組成之因素，以期透過飼養管理及營養補充來改善牛乳的品質與產量。氣候為主要影響家畜動物福利與生產性能的重要因素 (Hill and Wall, 2015)。炎熱的環境可能對泌乳牛的乳產量產生負面的影響，特別是高泌乳量的牛隻 (Kadzere *et al.*, 2002)。由於牛乳合成會產生代謝熱負荷 (metabolic heat load)，故泌乳牛對熱緊迫相當敏感 (Beede and Shearer 1991)。藉由 THI 可評估飼養環境對牛隻性能的影響，且 THI 是一個獨特的指標，代表了環境溫度和濕度的綜合影響 (Kendall and Webster, 2009)。因此，本研究探討在臺灣南部於不同 THI 程度下對荷蘭泌乳牛產乳量及牛乳組成之影響。

材料與方法

I. 試驗動物與飼糧

本試驗為 2015 年 1 月至 2017 年 12 月飼養在行政院農業委員會畜產試驗所產業組之荷蘭泌乳牛群。泌乳牛飼糧依 NRC (2001) 泌乳牛營養標準配製之完全混合日糧 (total mixed ration, TMR)，飼糧組成包括盤固乾草、苜

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2585 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(5) 通訊作者，E-mail：wlt@mail.tlri.gov.tw。

蓆乾草、青貯玉米、大豆穀粒、高粱酒粕、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 量與下午 2：30 配製 2/3 量。另以自動給水槽供乾淨飲水及礦鹽任食。

II. 資料收集

- (i) 溫溼度指數：牛舍為開放式自由牛舍 (free stall) 設計，依牛舍長度分成 3 等份，在牛頸夾與牛床上離地 2 m 高度各設置 1 組溫溼度感應器 (HOBO pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, MA, USA) 進行溫度與濕度測定，共計 6 組，於試驗期間連續每隔 0.5 小時測定及記錄溫溼度一次，每週將資料轉錄至電腦中以進行牛舍環境參數的累計與分析，THI 值以 National Oceanic and Atmospheric Administration (1976) 法計算。其公式 $THI = 9/5T + 32 - 0.55 \times (1 - RH) \times (9/5T - 26)$ 。式中 THI 為溫濕度指數；T 為氣溫 (單位℃)；RH 為相對濕度。
- (ii) 乳成分：每日擠乳兩次，分別為清晨 5：00 與下午 3：30，由電腦記錄個別牛隻泌乳量 (daily milk yield, DMY)。每個月初收集乳樣並送至行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所 DHI 乳樣檢驗中心進行分析，分析包括 MFP、MPP、MLP、MSNFP、MTSP 及 SCC 等分析。其中 SCS 則是依據 Ali and Shook (1980) 之公式為 $SCS = \log_2 (SCC/100,000) + 3$ 進行轉換計算。依據行政院農業委員會乳品加工廠收購酪農原料生乳驗收及計價要點之生乳品質分級基準，將牛乳體細胞數大於 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 之資料剔除。共得 1,368 筆產乳量與 DHI 資料進行統計分析，所收集泌乳性狀資料，如表 1。本試驗牛群胎次之分布為第一胎 43.64% (n = 597)；第二胎 29.68% (n = 406)；第三胎 16.00% (n = 219)；第四胎 6.58% (n = 90)；第五胎 3.87% (n = 53)。

表 1. 收集 DHI 資料之分布

Table 1. Description of collected DHI data

DHI Data ¹	Average	Minimum	Maximum
Parity	1.97 ± 1.09	1.00	5.00
DMY, kg/d	26.36 ± 7.45	6.70	50.20
MFP, %	4.08 ± 0.71	2.21	7.35
MPP, %	3.13 ± 0.36	2.20	4.65
PF	0.79 ± 0.18	0.39	3.05
MLP, %	4.77 ± 0.24	3.42	5.34
MSNFP, %	8.61 ± 0.41	7.11	10.06
MTSP, %	12.68 ± 0.87	9.77	16.00
SCC, 10 ⁴ /mL	19.06 ± 21.32	0.10	99.90
SCS	3.19 ± 1.51	-3.64	6.32

¹DMY = daily milk yield; MFP = milk fat percentage; MPP = milk protein percentage; MLP = milk lactose percentage; MSNFP = milk solids-not-fat percentage; MTSP = milk total solid percentage; SCC = Somatic cell counts; SCS = Somatic cell score; PF = protein to fat ratio.

III. 統計分析

研究所得資料利用 SAS 統計分析軟體 (SAS, 1999)，以一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行統計分析，以鄧肯式新多變測定法 (Duncan's new multiple rang test) 比較不同 THI 之差異顯著性，當 $P < 0.05$ 表差異顯著， $P < 0.01$ 表差異極顯著。

結果與討論

圖 1 顯示，2015 年至 2017 年各月份平均 THI。THI 為利用氣溫及相對濕度結合之計算值，可用來警示家畜生產業及運輸業者家畜受熱緊迫之狀況 (Harrington and Bowles, 2004)。當氣候在高溫及高濕結合時，限制牛隻散去過多之體熱，此對家畜形成生產上之熱緊迫 (Hahn *et al.*, 2001; Mader, 2003)。此數值已發展為氣候安全指標 (climatic safety index) 用以確認及降低因熱緊迫所造成的損失 (Nasr and El-Taraban, 2017)。另外，West (1995) 及 Chase (2006) 也指出，當畜舍溫度大於 25℃ 或 THI 值大於 72，容易使牛隻產生熱緊迫，其症狀包括減少乾物質採食量、產乳量、擾亂代謝作用、乳牛會藉由尋覓遮蔭而調整體溫，增加呼吸率及血管擴張等，進而影響採食量。由本研究近三年調

查可發現，自 4 月份開始畜舍內的平均 THI 就已達到 72 以上，一直持續到 11 月份，顯示臺灣南部地區每年約有近 8 個月的時間，牛隻是在於熱緊迫的狀態。臺灣每年 3 至 5 月份為梅雨季節天氣常陰雨連綿，畜舍潮濕再加上本研究 4 月份與 5 月份所測得畜舍溫度平均高於 25°C，已超過泌乳牛之適溫範圍 -0.5 至 20°C 之間 (Johnson, 1987)，顯示臺灣除了夏(熱)季以外，南部地區梅雨期間也會對牛隻造成緊迫。因此臺灣酪農業，特別是南部地區，應提早至每年 4 月份開始須針對牛隻飼養管理進行調整，包括因應牛隻熱緊迫之營養管理以及畜舍風扇與灑水或噴霧之啟動，以儘早防範或減緩牛隻熱緊迫之產生。雖然 THI 主要用來評估牛隻熱緊迫的指標，但是 THI 若能考量風速、太陽輻射等因素並加以調整，將可較準確評估動物是否處於不舒服或熱緊迫之狀態 (Huber, 1996)。

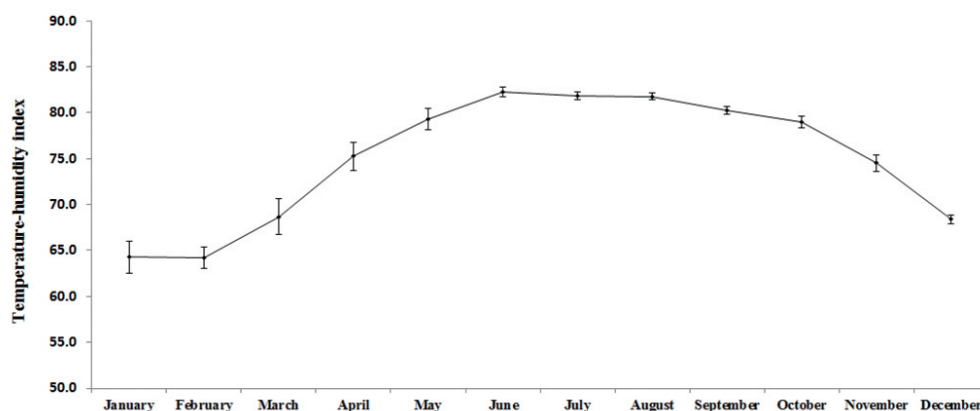


圖 1. 2015 年至 2017 年之月平均溫溼度指數。

Fig. 1. Monthly average temperature-humidity index from 2015 to 2017.

牛隻在 THI 大於 78 下，其 DMV 則顯著低於 THI 小於 72 組及 THI 72 – 78 組 ($P < 0.05$) (表 2)。而 MLP 以 THI 小於 72 情況下顯著高於 THI 72 – 78 組與 THI 大於 78 組。Kohli *et al.* (2014) 指出，高產量的泌乳牛對熱緊迫相當敏感，特別是炎熱環境。可能是因為高泌乳產量而有顯著提高動物體內代謝熱 (metabolic heat) 的產生 (West *et al.*, 2003)。在高氣溫與高濕度環境下會使牛隻體溫提高，牛隻為了減少熱的差距 (heat disparity)，其採食量、代謝、體重及產乳量會有降低的現象 (Wheelock *et al.*, 2010)。而造成產乳量的降低可能是因為，(1) 在熱環境下為了進行冷卻則轉變血液流動至周邊組織，因此可能改變營養代謝而降低乳產量 (Hossein-Zadeh *et al.*, 2013)；(2) 熱緊迫下會使肝臟葡萄糖的合成降低、葡萄糖轉化率下降以及能量需要葡萄糖量增加，而減少乳腺組織合成乳糖所需的葡萄糖。乳產量的多寡決定於乳糖，因為乳糖是最重要決定乳量的滲透調節因子，因此低的葡萄糖利用率會導致牛乳產量下降 (Baumgard and Rhoads, 2007)。暴露在高 THI 下會降低牛乳乳糖濃度 (Nardone *et al.*, 1997; Shwartz *et al.*, 2009)，可能是因為在熱緊迫下會直接與間接影響前驅物質 (即葡萄糖) 傳送到乳腺組織 (Bernabucci *et al.*, 2010)。

表 2. 溫溼度指數對荷蘭泌乳牛生乳組成分之影響

Table 2. Effect of temperature-humidity index (THI) on raw milk composition in Holstein cows

Row milk composition ¹	Temperature-humidity index (THI)			SEM
	THI < 72	THI 72-78	THI > 78	
DMY, kg/d	27.4 ^a	27.3 ^a	25.1 ^b	0.37
MLP, %	4.83 ^a	4.76 ^b	4.75 ^b	0.02
MFP, %	4.15 ^a	4.09 ^{ab}	4.02 ^b	0.03
MPP, %	3.14	3.14	3.13	0.02
PF	0.77 ^b	0.80 ^{ab}	0.81 ^a	0.01
MSNFP, %	8.67 ^a	8.60 ^b	8.59 ^b	0.02
MTSP, %	12.74 ^a	12.74 ^a	12.61 ^b	0.03
SCC, 10 ⁴ /mL	17.15 ^b	18.44 ^{ab}	20.23 ^a	1.06
SCS	2.92 ^b	3.04 ^b	3.31 ^a	0.07

¹ DMY = daily milk yield; MFP = milk fat percentage; MPP = milk protein percentage; MLP = milk lactose percentage; MSNFP = milk solids-not-fat percentage; MTSP = milk total solid percentage; SCC = Somatic cell counts; SCS = Somatic cell score; PF = protein to fat ratio.

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

本研究的 MFP 則以 THI 小於 72 最高，而 THI 大於 78 顯著最低 ($P < 0.05$)。THI 小於 72 組的 MSNFP 顯著低於 THI 介於 72 – 78 組及 THI 大於 78 組 ($P < 0.05$)。MTSP 則以 THI 大於 78 組顯著最低 ($P < 0.05$)。在炎熱環境下造成乳成分降低以及改變可能是因為採食量的降低，使能量採食減少而導致牛乳的合成降低。熱緊迫也會降低唾液的產生，造成瘤胃的緩衝能力受到影響。降低瘤胃 pH 可能降低乳脂的合成 (Emery, 1978)。本研究 PF 值 (乳蛋白質率 / 乳脂肪率) 則以 THI 大於 78 組顯著最高 ($P < 0.05$)。此部分可能是因為本研究調查乳蛋白質率各組間無差異情況下，而乳脂肪隨著 THI 顯著降低，而導致 PF 值有隨著 THI 增加有提高的現象。

本研究的 SCC 及 SCS 隨著 THI 增加而有提高的現象且以 THI 大於 78 組顯著最高 ($P < 0.05$)，此結果與其他研究結果相似 (Bertocchi *et al.*, 2014; Zeinhom *et al.*, 2016)。然而生乳中的高 SCC 代表有較高的亞臨床性乳房炎 (subclinical mastitis) 發病率，且導致 SCC 增加的主要病原體為大腸桿菌和無乳鏈球菌屬 (Harmon, 1994)。在熱緊迫下，特別是 THI 大於 78 情況下，造成 SCC 增加可能主要是因為有較高的金黃色葡萄球菌和大腸桿菌比率導致 (Zeinhom *et al.*, 2016)。在暖季或在濕熱環境下，牛床墊上的環境細菌的生長與數量會增加 (Harmon, 1994)，且在這些條件下，當乳房與牛床、土壤、水和糞便接觸時，可能就會增加乳房受到病原菌污染的機會 (Jayarao *et al.*, 2004)，而造成生乳有較高的 SCC。

結 論

由本研究調查與分析結果發現，高 THI 確實與高 SCC 有相關性，並且也會降低產乳量與乳品質。因此，當 THI 大於 72 時，建議採取減緩牛隻因發生熱緊迫產生的負面反應，同時亦可改善動物福祉與牛乳的經濟收益。

誌 謝

試驗期間承畜產試驗所產業組一股全體同仁協助，謹致謝忱。

參考文獻

- Ali, A. K. A. and G. E. Shook. 1980. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 63:487-490.
- Auldist, M. J., S. Coats, B. J. Sutherland, J. J. Mayes, G. H. McDowell and G. L. Rogers. 1996. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 63: 269-280.
- Baumgard, L. H. and R. P. Rhoads. 2007. The effects of hyperthermia on nutrient partitioning. In: *Proceedings of Cornell Nutrition Conference*, Ithaca, New York, pp. 93-104.
- Beede, D. K. and J. K. Shearer. 1991. Nutritional management of dairy cattle during hot weather. *Agricul. Pract.* 12: 164-170.
- Bernabucci, U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, R. P. Rhoads, B. Ronchi and A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal* 4: 1167-1183.
- Bertocchi, L., A. Vitali, N. Lacetera, A. Nardone, G. Varisco and U. Bernabucci. 2014. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. *Animal* 8: 667-674.
- 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.
- Emery, R. S. 1978. Feeding for increased milk protein. *J. Dairy Sci.* 61: 825-828.
- Fox, P. F. and P. L. H. McSweeney. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London, UK: Blackie Academic and Professional. London. UK.
- Hahn, G. L., T. Mader, D. Spiers, J. Gaughan, J. Nienaber, R. Eigenberg, T. Brown-Brandl, Q. Hu, D. Griffin, L. Hungerford, A. Parkhurst, M. Leonard, W. Adams and L. Adams. 2001. Heat wave impacts on feedlot cattle: Considerations for improved environmental management. In *Proc. 6th International Livestock Environment Symposium*, American Society of Agricultural and Engineering. St. Joseph, MI, USA. pp. 129-130.
- Harrington, J. A. and Jr. E. Bowles. 2004. A climatology of hourly THI values for livestock producers. 14th Conference on Applied Climatology. Poster Session 1-12, The 84th AMS Annual Meeting, Seattle, USA.

- Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77: 2103-2113.
- Hill, D. L. and E. Wall. 2015. Dairy cattle in a temperate climate: the effects of weather on milk yield and composition depend on management. *Animal* 9: 138-149.
- Hossein-Zadeh, G. N., A. Mohit and N. Azad. 2013. Effect of temperature-humidity index on productive and reproductive performances of Iranian Holstein cows. *Iranian J. Vet. Res.* 14: 106-112.
- Huber, J. T. 1996. Amelioration of heat stress in dairy cattle. In: *Progress in Dairy Science* Ed. C. J. C. Philips. CAB International, Oxon, UK.
- Jayarao, B. M., S. R. Pillai, A. A. Sawant, D. R. Wolfgang and N. V. Hegde. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 87: 3561-3573.
- Johnson, H. D. 1987. Bioclimates and livestock. *Bioclimatology and the Adaptation of Livestock*. World Animal Science. H. D. Johnson, ed. Elsevier Science Publ. Co., New York.
- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77: 59-91.
- Kefford, B., M. P. Christian, B. J. Sutherland, J. J. Mayes and C. Grainger. 1995. Seasonal influences on Cheddar cheese manufacture: Influence of diet quality and stage of lactation. *J. Dairy Res.* 62: 529-537.
- Kendall, P. E. and J. R. Webster. 2009. Season and physiological status affects the circadian body temperature rhythm of dairy cows. *Livest. Sci.* 125: 155-160.
- Kohli, S., U. K. Atheya and A. Thapliyal. 2014. Assessment of optimum thermal humidity index for crossbred dairy cows in Dehradun district, Uttarakhand, India. *Vet. World* 7: 916-921.
- Mader, T. L. 2003. Environmental stress in confined beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81: E110-E119.
- Nasr, M. A. and M. S. El-Tarabany. 2017. Impact of three THI levels on somatic cell count, milk yield and composition of multiparous Holstein cows in a subtropical region. *J. Therm. Biol.* 64: 73-77.
- 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. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th ed. Washington, D. C. National Academy Press. USA.
- Nardone, A., N. Lacetera, U. Bernabucci and B. Ronchi. 1997. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *J. Dairy Sci.* 80: 838-844.
- SAS Institute. 1999. SAS System for Windows. Release 8.01. SAS Institute, Cary, NC. USA.
- Shwartz, G., M. L. Rhoads, M. J. VanBaale, R. P. Rhoads and L. H. Baumgard. 2009. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92: 935-942.
- West, J. W. 1995. Managing and feeding lactating dairy cows in hot weather. Bulletin 956/1995. The University of Georgia and Ft. Valley State College, the U.S.D.A. and counties of the state cooperating, USA.
- West, J. W., B. G. Mullinix and J. K. Bernard. 2003. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 232-242.
- Wheelock, J. B., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, S. R. Sanders and L.H. Baumgard. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93: 644-655.
- Zeinhom, M. M. A., R. L. Abdel Aziz, A. N. Mohammed and U. Bernabucci. 2016. Impact of seasonal conditions on quality and pathogens content of milk in Friesian cows. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 29: 1207-1213.

Impact of different THI levels on milk yield and composition of Holstein dairy cows ⁽¹⁾

Chun-Ta Chang ⁽²⁾ Tzong-Faa Shiao ⁽²⁾ Der-Wei Yang ⁽²⁾ Yih-Fwu Lin ⁽²⁾
Churng-Faung Lee ⁽³⁾ Ling-Tsai Wu ⁽²⁾⁽⁵⁾ and Szu-Han Wang ⁽⁴⁾

Received: Jan. 11, 2018; Accepted: Jan. 23, 2018

Abstract

This study aimed at assessing the impact of temperature-humidity index (THI) on milk yield and composition of Holstein dairy cows. Experiment animals were carried out inside the barn and in a dairy farm. Daily ambient temperature and relative humidity were recorded and used to calculate the daily THI from 2015 to 2017. A total of 1,368 sets of complete Dairy Herd Improvement data were obtained and grouped by THI levels (THI < 72, THI 72-78, and THI > 78). These data included daily milk yield (DMY), milk fat percentage (MFP), milk protein percentage (MPP), milk lactose percentage (MLP), milk solids-not-fat percentage (MSNFP), milk total solid percentage (MTSP), somatic cell counts (SCC), somatic cell score (SCS), and protein to fat ratio (PF). The results showed that THI were less than 72 from December to March between 72 and 78 in April and November, and greater than 78 from May to October for each year. DMY, MFP, MLP, MSNFP, and MTSP were decreased with the increase of THI, but SCC, SCS and PF tended to increase with the THI. In conclusions, the results of this study indicated the seriousness of the negative effects of hot conditions on milk yield and composition. Thus, when the THI is greater than 72, measures should be taken to alleviate negative consequences of heat stress in dairy cows and related economic losses.

Key words: Holstein dairy cows, Milk composition, Temperature-humidity index.

(1) Contribution No. 2585 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

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

添加糖、有機酸、水溶性碳水化合物與 青貯發酵對山羊適口性之探討⁽¹⁾

陳嘉昇⁽²⁾⁽³⁾ 王紓愍⁽²⁾ 游翠鳳⁽²⁾

收件日期：106 年 11 月 16 日；接受日期：107 年 1 月 30 日

摘 要

本研究由 6 批次偏好性試驗探討，1. 山羊對乾草添加蔗糖、有機酸的反應；2. 以收穫調製處理改變乾草水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrate, WSC) 含量，測試其對適口性影響；以及 3. 青貯發酵的影響。由試驗 1、2 結果顯示，添加 1% 乙酸的效果為負面；添加 1% 乳酸或 1% 蔗糖有提高偏好性與前期採食量的效果。以同田區兩品種燕麥經不同刈割時間及乾燥速度，製造具 WSC 含量變異的燕麥乾草供試驗比較 (試驗 3、4)。品種 Saia 的 WSC 變動範圍為 2.5% – 7.7%，Swan 為 2.9 – 10.7%，而 WSC 含量的改變亦大幅影響其他植體成分比例。由試驗 3、4 結果顯示，以刈割調製方式所產生的 WSC 含量變動範圍之下，並未影響羊隻適口性。青貯發酵的影響方面，試驗 5、6 結果顯示，1. 羊隻對半乾青貯表現出高度且穩定的偏好性，對盤固草半乾青貯的偏好性高於乾燥半乾青貯，且高於進口百慕達乾草，以盤固乾草的適口性最低，2. 乾燥半乾青貯的乾物質含量高於半乾青貯，故乾燥半乾青貯的乾物質採食量可能高於半乾青貯，3. 國產盤固乾草的適口性不高於進口百慕達乾草，半乾青貯發酵是有效的改善之道，再經乾燥後亦有同樣效果。

關鍵詞：適口性、山羊、盤固草、燕麥。

緒 言

牧草適口性 (palatability) 影響動物採食意願及採食量，而適口性的決定因子複雜，包括飼糧因素、採食後回饋等 (Baumont, 1996)、草種的特性、物理性質、化學性質與調製保存良窳等都在適口性的影響因素之列 (Baumont *et al.*, 2000)。適口性對做為買賣商品的乾草或半乾青貯的商品價值影響甚大，尤其在夏季採食不佳的情況之下，適口性良好、能刺激食慾的乾草成為飼主重要的考量，其重要性甚且高於消化率或粗蛋白質含量等營養成分。適口性是指飼糧引起動物感官性反應的性質，被定義為引起動物選擇性反應的飼糧特性或狀態 (Greenhalgh and Reid, 1971; Church, 1979)。Matthews (1983) 認為適口性與偏好性 (preference) 兩個名詞可以通用，決定於飼糧的味道、氣味、外觀、溫度及質地。Forbes (1995) 則指出適口性不單只是決定於飼糧的品質，也依賴動物的經驗與代謝狀態，亦即飼糧適口性並非單方面的性質，也與動物的飢餓程度有關。

綜上，適口性是由飼糧所引起、激發動物食慾的一種描述，初期採食速率是動物食慾的一個判斷標準，而適口性涉及為所有對食慾有影響的物理 (堅硬度、毛刺等) 與化學 (氣味、口味等) 的特性 (Arsenos and Kyriazakis, 1999)。Dumont and Petit (1995) 指出在放牧草地，被採食的難易程度是影響選擇性的主要因素；一般圈飼動物餵以相同的乾草，其對長草、切段與粉碎的採食速率不同。適口性雖是一「定性」的描述，但是如果能在單位時間內計量，則可加以「定量」的測量。適口性的評估方法因目的而異，但都難以避免學習的影響，而最理想的評估方法須不受先前餵食及採食後的干擾 (Church, 1979)。

國產乾草以盤固草為大宗，其營養價值與進口百慕達草相當，但因收穫後調製問題使國產乾草生產利用受限制，商品價值低於進口百慕達草。利用後端加工克服天候因素，使能適期收穫，並獲得穩定品質之乾草或半乾青貯

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2586 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

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

草是改善國產乾草的途徑。然後端加工增加乾草生產成本，若能在增加成本的同時調製出適口性佳的產品，使物超所值，將使加工技術的開發應用更為可行。

本研究以系列山羊偏好性試驗為平臺，了解羊隻對草料適口性差異的變因與差異程度，進而探討可能提升風味與適口性的調製方法。本研究由 6 批次偏好性試驗探討，1. 山羊對乾草添加蔗糖、有機酸的反應；在獲得對甜味與乳酸的正向結果後，接著以 2. 收穫調製處理改變乾草水溶性碳水化合物含量 (WSC)，測試其對適口性差異的影響；3. 青貯發酵的影響。

材料與方法

I. 試驗材料

- (i) 盤固乾草添加蔗糖、有機酸試驗 (試驗 1 與試驗 2)：四個處理分別為：每公斤盤固乾草 (以乾基計算) + 100 mL 水 (對照組)、盤固乾草 + 100 mL 10% 蔗糖 (1% 蔗糖組)、盤固乾草 + 100 mL 10% 乳酸 (1% 乳酸組)、盤固乾草 + 100 mL 10% 乙酸 (1% 乙酸組)。盤固乾草收穫自恆春分所剪草區，試驗 1 及試驗 2 來自同批收穫之不同草捆，植體成分平均含量：酸洗纖維 (ADF) 39.2%、中洗纖維 (NDF) 70.3%、粗蛋白質 (CP) 7.2%，乾物含量 85%。各處理以不同處理溶液噴施混合均勻後餵飼，每日每盆參試材料 190 g。每日調查結束後每隻羊給予精料 300 g、百慕達草 300 g。
- (ii) 燕麥乾草 WSC 含量改變試驗：試驗 3 與試驗 4 草料分別為燕麥品種 Saia 與 Swan。11 月 26 日種於恆春分所，生長 90 日後，於 9 時及 14 時分別刈割，刈割後的牧草再分別以烘乾機快速乾燥 (F) 及置於戶外曝曬 5 天 (S)，調製完成的乾草置於冷藏庫保存，二星期後取出回溫切段 (約 5 公分，含水率 10%) 進行餵飼試驗。四個處理分別為 9S (9 時收穫，慢速乾燥)、9F (9 時收穫，快速乾燥)、14S (14 時收穫，慢速乾燥)、14F (14 時收穫，快速乾燥)，燕麥乾物含量約 90%，植體成分含量如表 3。每日每盆參試材料 40 g。每日調查結束後每隻羊給予精料 300 g、百慕達草 600 g。
- (iii) 青貯反應 (試驗 5 與試驗 6)：分別測試兩批不同調製條件之盤固草半乾青貯及其乾燥材料 (前項材料置烘箱烘乾)，與同田區收穫之乾草及進口百慕達乾草之比較。試驗 5 之半乾青貯於調製時接種乳酸菌，試驗 6 未接種乳酸菌，半乾青貯及其乾燥後材料之 pH、揮發性脂肪酸、青貯評分見表 6。試驗 5 每盆起始重量半乾青貯為 270 g (乾物含量 59%)，乾草 180 g；試驗 6 每盆起始重量半乾青貯為 320 g (乾物含量 50%)，乾草 180 g。每日調查結束後每隻羊給予精料 300 g、百慕達乾草 300 g。

II. 動物試驗

自恆春分所飼養之墾丁山羊族群中挑選體型接近之閹公羊 4 頭，分別隔離於 $1.5 \times 3 \text{ m}^2$ 的個別飼養欄進行偏好性試驗，4 頭羊試驗開始體重分別為 41.9 kg、42.1 kg、43.1 kg、41.3 kg。

每一試驗，前 4 天為適應期，後 4 天為試驗期。每個飼養欄之長條飼料槽上放置 4 個直徑 30 公分、深 20 公分圓形飼槽，飼槽內分別放置定量之前述草料處理。圓形飼槽位置每日輪替放置，避免位置效應之影響。每日 13:30 開始餵飼試驗，紀錄前 20 分鐘之每分鐘採食標的，及 0.5 小時、1 小時、1.5 小時、2 小時、3 小時之採食量。16:30 記錄結束後移除圓形食槽，施予前述定量之精料與百慕達乾草，以補足每日所需之採食量。翌日上午 9:00 清空飼料槽，13:30 再開始餵飼試驗。

III. 統計分析

試驗結果以 SAS 軟體 (SAS, 2002, ver.9) 之 GLM Procedure 進行變方分析，各組效應均為固定型，以鄧肯氏法 (Duncan's test) 測驗處理間的差異顯著性。

結 果

I. 乾草添加蔗糖、有機酸的影響

試驗 1 結果，盤固乾草添加乳酸可吸引山羊採食，添加乙酸則明顯降低採食次數。添加乳酸組的前 5 分鐘採食次數 (每分鐘紀錄一次) 為 1.9 次，6 – 10 分鐘的採食次數為 1.6 次，添加乙酸組分別為 0.2 次及 0.3 次，前者的採食偏好次數為後者的 5 倍以上。添加 1% 蔗糖與不添加的對照組則居中，兩者無顯著差異。以採食量而言，添加乳酸組前 30 分鐘的採食量為 45.1 g、添加蔗糖組 38.3 g、對照 32.7 g，顯著高於添加乙酸的 14.9 g；

前 1 小時的採食量，添加乳酸與糖者分別為 106.6 g 與 98.8 g，高於對照的 73.8 g 與添加乙酸的 63.5 g。可知添加 1% 乳酸與糖都有提升適口性的效果。

試驗 2 中，盤固乾草添加蔗糖組的前 5 分鐘採食次數最高，但未達顯著差異；6 — 10 分鐘的採食次數為 1.95 次，顯著高於其他組，添加乙酸者最低，僅 0.4 次。對採食量而言，添加蔗糖者前 30 分鐘的採食量為 73.5 g，高於添加乳酸者與對照組，最低者為添加乙酸的 25.2 g；前 1 小時的採食量，亦以添加乙酸組最低。

由試驗 1、2 可知添加 1% 乳酸或 1% 蔗糖有提高偏好性及前期採食量的效果；添加 1% 乙酸的效果為負面。推測改變（提高）牧草植體本身含糖量或乳酸發酵有可能提升牧草適口性，而兩者又是收穫調製程序中有機會加以調整者。

表 1. 盤固乾草、盤固乾草添加 1% 蔗糖、1% 乳酸、1% 乙酸對前期採食次數及採食量之影響（試驗 1）

Table 1. The effects of adding of 1% sucrose, 1% lactic acid, 1% acetic acid to pangola hay on bouts and dry matter intake in experiment 1

Treatment	Bouts		Dry matter intake (g/goat)				
	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr
Pangola hay	0.9 ^b	1.1 ^a	32.7 ^a	73.8 ^b	110.6 ^a	119.4 ^{ab}	127.9
Add 1% sucrose	0.9 ^b	0.9 ^{ab}	38.8 ^a	106.6 ^a	119.7 ^a	127.8 ^a	133.6
Add 1% lactic acid	1.9 ^a	1.6 ^a	45.1 ^a	98.8 ^a	117.3 ^a	123.5 ^a	129.5
Add 1% acetic acid	0.2 ^b	0.3 ^b	14.9 ^b	63.5 ^b	88.4 ^b	102.0 ^b	116.2

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

表 2. 盤固乾草、盤固乾草添加 1% 蔗糖、乳酸、乙酸對前期採食次數及採食量之影響（試驗 2）

Table 2. The effects of adding 1% sucrose, lactic acid, acetic acid to pangola hay on bouts and dry matter intake in experiment 2

Treatment	Bouts		Dry matter intake (g/goat)				
	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr
Pangola hay	1.0	0.7 ^b	41.9 ^b	97.2 ^a	117.4 ^a	123.5 ^a	128.3 ^a
Add 1% sucrose	1.5	1.9 ^a	73.5 ^a	111.2 ^a	122.6 ^a	131.6 ^a	137.2 ^a
Add 1% lactic acid	1.2	0.9 ^b	45.3 ^b	103.3 ^a	118.6 ^a	121.4 ^a	123.5 ^a
Add 1% acetic acid	0.8	0.4 ^b	25.2 ^b	71.2 ^b	95.5 ^b	104.6 ^b	110.3 ^b

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

II. 收穫調製處理改變乾草 WSC 含量的影響

由試驗 1 及試驗 2 結果顯示，添加 1% 蔗糖有提升乾草適口性的效果，本研究進而以同田區燕麥材料，以收穫調製程序製造不同 WSC 含量的燕麥乾草供試驗比較。以不同刈割時間及乾燥速度製造的燕麥乾草成分如表 3。下午收穫的 WSC 高於上午收穫者，快速乾燥者又高於慢速乾燥者，而乾燥速度造成的 WSC 含量差異度又大於上下午收穫處理。收穫時間與乾燥程序不僅改變 WSC 含量，亦連動影響植體其他成分比例，隨著 WSC 降低，CP 提高、澱粉降低、ADF、NDF 大幅提高。兩品種的改變趨勢相同，然成分比例與變化幅度不同。相對於商業生產者本試驗燕麥收穫期偏早，Saia 的 CP 達 20% 以上，Swan 的 CP 亦在 13% 左右。受測材料 WSC 的變動範圍，Saia 為 2.5% — 7.7%，Swan 為 2.9 — 10.7%，用以測試在此人為調控的範圍下適口性是否改變。

試驗 3（燕麥品種 Saia）的變方分析結果，處理主效應僅前 5 分鐘採食次數乙項達顯著水準，處理間在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘的採食量均無顯著差異，有採食量差異的反而是羊隻之間與重覆天數之間。處理間的 5 分鐘採食次數差異發生於 9S 的 1.68 次與 14S 的 0.69 次，與 WSC 高低無關，6 — 10 分鐘即無差異。顯示在本燕麥品種 Saia 的試驗中，此 WSC 的變動對適口性無影響。

試驗 4（燕麥品種 Swan）結果，前 5 分鐘採食次數以 9S、14F 高於 9F、14S，6 — 10 分鐘即無差異。前 20 分鐘的採食量有顯著但幅度不大的差異，最高為 14F 的 33.9 g，最低為 14S 的 26.9 g，由 4 個參試材料的 WSC 含量觀之，其採食差異與 WSC 高低順序無關；至 40 分鐘時不同材料間的採食量均無顯著。

由試驗 3、4 結果，在本研究以刈割調製方式所能產生的 WSC 含量變動範圍之下，並未影響羊隻適口性，

而 WSC 含量的改變亦連動影響其他植體成分比例，且變動幅度不小，其綜合效應需要進一步試驗才能釐清。

表 3. 不同刈割時間及乾燥速度之燕麥乾草營養成分

Table 3. Nutrient components of oat hay cut at 9 and 14 o'clock and drying by fast and slow speed

Forage	CP	NDF	ADF	WSC	Starch
----- % -----					
SA-9-F*	22.9 ± 1.2	51.7 ± 2.5	29.5 ± 1.7	5.5 ± 0.6	3.0 ± 0.2
SA-9-S	23.1 ± 1.1	58.9 ± 2.8	34.6 ± 1.4	2.5 ± 0.5	2.5 ± 0.3
SA-14-F	22.5 ± 1.1	53.0 ± 2.3	28.9 ± 1.9	7.7 ± 1.2	3.5 ± 0.4
SA-14-S	23.3 ± 0.9	56.6 ± 1.9	32.1 ± 2.7	4.2 ± 0.7	2.7 ± 0.4
SW-9-F	13.5 ± 0.7	53.2 ± 2.5	31.5 ± 2.1	10.0 ± 1.9	5.6 ± 0.5
SW-9-S	16.1 ± 0.8	63.3 ± 2.8	39.1 ± 2.5	2.9 ± 1.3	3.5 ± 1.1
SW-14-F	11.3 ± 0.7	57.0 ± 2.5	33.5 ± 2.0	10.7 ± 1.1	4.1 ± 0.9
SW-14-S	13.2 ± 1.1	58.9 ± 2.8	35.4 ± 1.9	7.67 ± 0.7	3.5 ± 0.7

* SA: Variety Saia.

SW: Variety Swan.

9: Mowed at 9 o'clock.

14: Mowed at 14 o'clock.

F: Drying in 60°C-oven for 2 days.

S: Drying outdoors for 5 days.

表 4. 燕麥品種 Saia 於不同刈割時間及乾燥速度所獲得乾草的前期採食次數及採食量 (試驗 3)

Table 4. Bouts and dry matter intake of oat hay cut at 9 and 14 o'clock and drying by fast and slow speed for variety Saia

Treatment	Bouts		Dry matter intake (g/goat)		
	1-5 min	6-10 min	20 min	40 min	60 min
9S*	1.7 ^a	1.0	41.9 ^b	97.2 ^a	128.3 ^a
9F	1.3 ^{ab}	0.8	73.5 ^a	111.2 ^a	137.2 ^a
14S	0.7 ^b	1.3	45.3 ^b	103.3 ^a	123.5 ^a
14F	1.1 ^{ab}	0.8	25.2 ^b	71.2 ^b	110.3 ^b

* The same as in table 3.

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

表 5. 燕麥品種 Swan 於不同刈割時間及乾燥速度所獲得乾草的前期採食次數及採食量 (試驗 4)

Table 5. Bouts and dry matter intake of oat hay mowed at 9 and 14 o'clock and drying by fast and slow speed for variety Swan

Treatment	Bouts		Dry matter intake (g/goat)		
	1-5 min	6-10 min	20 min	40 min	60 min
9S*	1.7 ^a	0.9	32.9	34.3	35.3
9F	0.6 ^b	1.3	27.4	33.0	35.6
14S	0.7 ^b	0.9	26.9	35.2	35.5
14F	1.7 ^a	1.5	33.9	34.8	35.7

* The same as in table 3.

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

III. 青貯發酵的影響

由試驗 1 及試驗 2，添加 1% 乳酸有提升山羊對乾草適口性的效果，本研究進一步探討半乾青貯發酵的影響，並測試國產盤固草半乾青貯或乾燥後的半乾青貯的適口性能否高於進口百慕達草。

試驗 5 的變方分析結果，牧草種類的變方主成分效應遠高於其他，顯示牧草材料間適口性的差異大且一致性高。盤固草半乾青貯的前 5 分鐘及 6 – 10 分鐘採食次數為 3.4 次與 3.5 次，盤固乾草與進口百慕達乾草都僅在 0.5 次以下，表示半乾青貯的吸引力遠高於後兩者。半乾青貯前 30 分鐘的採食量為 120.5 g (以乾物量計)，高於乾燥半乾青貯的 50.0 g、盤固乾草的 25.5 g，及進口百慕達乾草的 40.5 g，後三者差異不顯著；前 1 小時的採食量，亦以半乾青貯 152.5 g 高於乾燥半乾青貯 102.7 g、進口百慕達乾草 83.0 g 及盤固乾草 60.2 g，四者間差異均達顯著水準。

試驗 6 的變方分析亦顯示相似的結果，牧草種類的變方主成分效應遠高於其他，顯示牧草材料間適口性的差異大。即使試驗 6 之半乾青貯評分僅有 50 分，且有丁酸產生，前 5 分鐘及 6 – 10 分鐘採食次數亦以半乾青貯最高，而乾燥半乾青貯次之。與試驗 5 結果不同的是乾燥半乾青貯的採食量高於半乾青貯 (雖差異不顯著)，兩者前 30 分鐘的採食量為 106.1 g 及 89.9 g，遠高於盤固乾草的 6.9 g 與進口百慕達乾草的 12.5 g；前 1 小時的採食量的比較亦然。乾燥半乾青貯的採食量自 0.5 小時起即高於半乾青貯 (雖差異不顯著)，至 2 小時及 3 小時則顯著高於半乾青貯，應為乾燥半乾青貯的偏好性雖稍低於半乾青貯 (半乾青貯採食次數較高)，然乾燥半乾青貯的乾物率較高所導致乾物質採食量較高。

由上述試驗結果顯示，1. 羊隻對半乾青貯表現出高度且穩定的偏好性，對盤固草半乾青貯的偏好性高於乾燥半乾青貯，又高於進口百慕達乾草，以盤固乾草的適口性最低，2. 乾燥半乾青貯的乾物率高於半乾青貯，故乾燥半乾青貯的乾物採食率可能高於半乾青貯，3. 國產盤固乾草的適口性稍遜於進口百慕達乾草，半乾青貯發酵是有效的改善之道，再經乾燥後亦有同樣效果。

表 6. 盤固草半乾青貯料與乾燥後之青貯料之 pH、揮發性脂肪酸含量及青貯評分 (試驗 5 與 6)

Table 6. The pH, volatile fatty acid and Fleig's scores of haylage and dried haylage of pangolagrass in experiment 5 and 6

	Dry matter content	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid	pH	Fleig's score
	----- % -----						
Exp 5 Haylage	59	0.19	0.0	0.11	0.99	4.68	80
Dry haylage	90	0.29	0.0	0.09	1.27	4.83	82
Exp 6 Haylage	50	0.37	0.08	0.57	1.07	5.24	50
Dry haylage	90	0.23	0.0	0.07	1.12	4.71	83

表 7. 盤固草半乾青貯料、乾燥後之青貯料、盤固乾草與百慕達乾草的前期採食次數及採食量之比較 (試驗 5)

Table 7. Bouts and dry matter intake of pangola haylage, dried haylage, hay and Bermuda hay in experiment 5

Forage	Bouts		Dry matter intake (g/goat)				
	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr
Pangola haylage	3.4 ^a	3.5 ^a	120.5 ^a	152.5 ^a	154.8 ^a	156.3 ^a	157.7 ^a
Pangola dry haylage	0.1 ^b	0.3 ^b	50.0 ^b	102.7 ^b	117.9 ^b	128.5 ^b	135.5 ^b
Pangola hay	0.4 ^b	0.3 ^b	25.5 ^b	60.2 ^d	78.9 ^c	96.3 ^c	115.1 ^c
Bermuda hay	0.5 ^b	0.5 ^b	40.5 ^b	83.0 ^c	105.7 ^b	120.4 ^b	139.0 ^b

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

表 8. 盤固草半乾青貯料、乾燥後之青貯料、盤固乾草與百慕達乾草的前期採食次數及採食量之比較 (試驗 6)

Table 8. Bouts and dry matter intake of pangola haylage, dried haylage, hay and Bermuda hay in experiment 6

Forage	Bouts		Dry matter intake (g/goat)				
	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr
Pangola haylage	2.1 ^a	2.0 ^a	89.9 ^a	129.5 ^a	135.4 ^a	138.7 ^b	140.0 ^b
Pangola dry haylage	1.2 ^{ab}	0.9 ^b	106.1 ^a	144.4 ^a	158.9 ^a	165.1 ^a	173.0 ^a
Pangola hay	0.4 ^b	0.5 ^b	69.0 ^b	62.5 ^b	68.5 ^b	79.7 ^c	93.0 ^c
Bermuda hay	0.5 ^b	0.7 ^b	12.5 ^b	53.3 ^b	82.2 ^b	100.2 ^c	114.0 ^c

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

討 論

適口性的影響因子複雜，觸覺、嗅覺、味覺、外觀以及採食後的反應都可能影響動物飼糧的適口性。本研究的目的，非廣泛性的探討影響牧草適口性的因子與差異，而是以未來有否可能經由生產過程的調整改善，以提升適口性的方向來進行本文及後續的測試。因此，本報告中首先測試甜味的提高及添加青貯發酵主要的有機酸產物（乳酸、乙酸）對盤固乾草適口性的可能改變。經適當的收穫時間調整、減少損耗以提高牧草糖分含量 (Rotz and Muck, 1994; Burritt *et al.*, 2005; Undersander and Craig, 2013)，以及將乾草生產改為半乾青貯調製，都是芻料生產過程中可行的改變方式。

在試驗 1、2 中，1% 的蔗糖及有機酸添加，對 WSC 變動及青貯有機酸的產生是一個合理不高估的添加量，由試驗結果可看到添加乳酸、蔗糖、乙酸對盤固乾草適口性的改變。對採食次數與採食量，乳酸、蔗糖相對於對照組均呈現顯著正向反應。對甜味提高的反應似較合乎預期，雖前人結果因狀況而異 (Goatcher and Church, 1970b)。針對山羊的 Two-bottle 試驗也有從無差異至輕微或強烈正向都有的結果，Ginane *et al.* (2011) 綜合前人研究結果，推論甜味「似乎」對牛及山羊為正反應。

對有機酸的反應則較難預期，因前人文獻中對「酸味」的結果並不確定。探討酸味對適口性影響的測試有乙酸、丙酸、丁酸、鹽酸等，另有丙二酸 (malonic acid)，以乙酸為多 (Goatcher and Church, 1970c; Gherardi and Black, 1991; Ginane *et al.*, 2011)。與植物體有關的酸尚有其他多種，選這些酸進行測試的理由並不清楚 (Ginane *et al.*, 2011)。早期的研究中，乙酸的反應顯示不顯著或強烈負面 (Goatcher and Church, 1970a)，僅 Ginane *et al.* (2011) 在綿羊的試驗中，添加 0.5% 與 1% 乙酸獲得顯著正向偏好結果。丁酸在許多青貯適口性中被認為是負向，但 Gherardi and Black (1991) 在低濃度添加下綿羊有正向的反應。有機酸的種類與濃度應是前人研究中反應不一致的重要因素，而本文添加 1% 的乙酸呈現負向結果，添加 1% 的乳酸則呈現強度正向結果。

前人對反芻動物味覺與偏好性研究中，似未曾單獨進行乳酸的測試，但在依比例將乳酸與乙酸混合添加於綿羊採食量的探討中，顯示單獨提高乙酸含量將減少綿羊的青貯料採食量 (Buchanan-Smith, 1990)。

因試驗 1、2 以外加方法提升甜味及添加乳酸可獲得正向結果，本研究接著進行兩個方向的探討，1. 能否由內生含量的提高（或減少降低）來提升適口性；2. 以青貯方式促進乳酸發酵，能否藉以提高芻料適口性。

在改變燕麥 WSC 含量試驗中，同一田區，經過收穫乾燥調控製造出的含量變異幅度相當的大，品種 Saia 的 WSC 含量為 2.5% – 7.7%，Swan 為 2.9 – 10.7% (表 3)，而該含量改變也連動改變其他成分比例。然經兩品種分別餵飼試驗的結果，該批材料間的適口性幾乎無顯著差異，無法重現外加蔗糖的效果。

為何內生 WSC 的提升無助於適口性的提升？雖然前人推論相對於綿羊，牛與山羊對甜味有較正向的反應，但山羊的研究仍較有限，結果也由無反應至輕微或強烈均有 (Goatcher and Church, 1970b); Burritt *et al.* (2005) 的綿羊試驗，獲得下午刈割的苜蓿偏好性與採食量高於上午採收者的結果，而其總非結構性碳水化合物化合物的差異並不大 (7.21% vs. 6.75%)。本試驗無法獲得正向結果，或因動物別不同，或因 WSC 的改變連動了其他成分，使測試的結果不純然是甜度的影響。然若以本文兩次試驗的結果即推測內生 WSC 不影響適口性亦恐失之武斷，宜再進一步測試不同的草種、或再提高 WSC 含量等，另再探討以提升 WSC 提升乾草適口性的可行性。

相對上述提高 WSC 途徑的不確定性，青貯發酵似為立即可行的提高適口性的方式。在半乾青貯試驗（試驗 5、6 及後續未發表試驗）中，相對於乾草，半乾青貯及乾燥後之半乾青貯料獲得一致的結果，且適口性優於進口乾草。青貯料的適口性在前人的試驗結果變動性亦大，推測應與其青貯品質優劣有關 (Gerlach *et al.*, 2014)。Müller and Udén (2007) 發表馬匹的禾本科牧草偏好性試驗，青貯草優於高乾物質含量的半乾青貯，再優於低乾物質含量的半乾青貯，乾草最差，作者推測其原因可能為青貯草的葉片掉落較少，也有可能是青貯草比較像鮮草的柔軟質地，而其真正原因未明。據本研究的觀察，發酵良好的青貯或半乾青貯擁有吸引山羊的氣味，經過適應期的訓練後，能刺激其喜採食的反應 (hedonic response)，由前 5 分鐘或 10 分鐘採食次數的差距即可知。柔軟多汁可能也是正向因素。但由試驗 5、6，乾燥後半乾青貯的採食量不亞於半乾青貯可知質地並非影響度那麼大的因子。以提升國產乾草競爭力的角度而言，僅良好乾燥似不能大幅提高適口性，後續研究應朝如何掌握良好發酵，以提升對動物吸引力的方向，並以適度的加工程序提升適口性。

參考文獻

Arsenos, G. and I. Kyriazakis. 1999. The continuum between preferences and aversions for flavoured foods in sheep conditioned by administration of casein doses. *Anim. Sci.* 68: 605-616.

- Baumont, R. 1996. Palatability and feeding behaviour in ruminants. A review. *Annales de zootechnie*, INRA/EDP Sciences, 45 (5), pp. 385-400.
- Baumont, R., S. Prache, M. Meuret and P. Morand-Fehr. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* 64: 15-28.
- Buchanan-Smith J. G. 1990. An investigation into palatability as a factor responsible for reduced intake of silage by sheep. *Anim. Prod.* 50: 253-260.
- Burritt, E. A., H. F. Mayland, F. D. Provenza, R. L. Miller and J. C. Burns. 2005. Effect of added sugar on preference and intake by sheep of hay cut in the morning versus the afternoon. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 94: 245-254.
- Church, D. C. 1979. Taste, appetite and regulation of energy balance and control of food intake. I. Appetite, taste and palatability. In: *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants*. ed. D. C. Church, Oxford Press, pp. 281-290.
- Dumont, B. and M. Petit. 1995. An indoor method for studying the preferences of sheep and cattle at pasture. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 46: 67-80.
- Forbes, J. M. 1995. Physical limitation of feed intake in ruminants and its interactions with other factors affecting intake. In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology*. eds. W. V. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, Ferdinand Enke Verlag, pp. 217-232.
- Gerlach, K., F. Rob, K. Weib, W. Büscher and K. -H. Südekum. 2014. Aerobic exposure of grass silages and its impact on dry matter intake and preference by goats. *Small Ruminant Res.* 117: 131-141.
- Gherardi, S. G. and J. L. Black. 1991. Effect of palatability on voluntary feed intake by sheep. I. Identification of chemicals that alter the palatability of a forage. *Aust. J. Agric. Res.* 42: 571-584.
- Ginane C., R. Baumont and A. Favreau-Peigné. 2011. Perception and hedonic value of basic tastes in domestic ruminants. *Physiol. Behav.* 104: 666-674.
- Goatcher, W. D. and D. C. Church. 1970a. Taste response in ruminants. II. Reactions of sheep to acids, quinine, urea and sodium hydroxide. *J. Anim. Sci.* 30: 784-790.
- Goatcher, W. D. and D. C. Church. 1970b. Taste responses in ruminants. III. Reactions of pygmy goats, normal goats, sheep and cattle to sucrose and sodium chloride. *J. Anim. Sci.* 31: 364-372.
- Goatcher, W. D. and D. C. Church. 1970c. Taste responses in ruminants. IV. Reactions of pygmy goats, normal goats, sheep and cattle to acetic acid and quinine hydrochloride. *J. Anim. Sci.* 31: 373-382.
- Greenhalgh, J. F. D. and G. W. Reid. 1971. Relative palatability to sheep of straw, hay and dried grass. *Brit. J. Nutr.* 26: 107-116.
- Matthews, L. R. 1983. General introduction. In: *Measurement and scaling of food preferences in dairy cows: concurrent schedule and free-access techniques*. PhD Thesis, University of Waikato, New Zealand, p. 236.
- Müller, C. and P. Udén. 2007. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 132: 66-78.
- Rotz, C. A. and R. E. Muck. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, eds. G. C. Fahey, Jr. *et al.* Am. Soc. Agron., Madison, WI. USA. pp. 828-868.
- SAS. 2002. SAS version 9.00. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- Undersander, D. and S. Craig. 2013. Field drying forage for hay and haylage. Univ. of Wisconsin Coop Ext Focus on Forage. www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/SwathDrying-FOF.pdf.

Study on forage palatability: I. The response of goat to forage with adding sugar, organic acids, changing the water soluble carbohydrate and ensiling ⁽¹⁾

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

Received: Nov. 16, 2017; Accepted: Jan. 30, 2018

Abstract

This report examined six batches of preference tests: 1. The responses of goats to hay with adding sucrose and organic acids; 2. Changing of the water-soluble carbohydrate (WSC) content in hay by harvest conditioning to test whether the change is sufficient to cause palatability differences; and 3. Effects of silage fermentation. Tests 1 and 2 showed that the effect of adding 1% acetic acid on palatability is negative; while adding 1% lactic acid or 1% sucrose had the effect of improving preference and intake in early stage. The study further compared two varieties of oat hay with variation of water-soluble carbohydrate (WSC) contents by different mowing time and drying speed (Tests 3 and 4). The WSC content varied from 2.5%-7.7% for Saia and 2.9-10.7% for Swan, while changes in WSC content also significantly affected the proportions of other components. The results of experiments 3 and 4 showed no impact on the palatability for goat under the range of variation of WSC content modulated in this study. As for the effects of silage fermentation, the results of tests 5 and 6 showed that: the goat showed a high and stable preference for pangola haylage, while dry haylage also showed higher palatability than imported Bermuda hay and pangola hay. The dry matter intake of dry haylage may be higher than haylage due to its higher dry matter content. Palatability of domestic pangola hay is not higher than imported Bermuda hay. Ensiling is an effective way to improve palatability, and has the same effect after drying.

Key words: Palatability, Goat, Pangolagrass, Oat.

(1) Contribution No. 2586 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

飼糧添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿產茸性能、鹿茸組成及免疫力之影響⁽¹⁾

張以恆⁽²⁾ 林信宏⁽²⁾ 林正鏞⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：106 年 12 月 5 日；接受日期：107 年 2 月 1 日

摘 要

本試驗旨在探討臺灣水鹿產茸期餵飼發酵飼料 (fermented feedstuff, FF) 與納豆菌及真菌發酵產物 (natto and fungal fermentative products, NF) 對鹿茸生產性能及免疫力之影響。本試驗利用臺灣水鹿公鹿 12 隻，依據個體前次鹿茸重量及年齡進行分組，分為對照組、發酵飼料組 (添加 1% 之發酵飼料)、納豆菌及真菌發酵產物組 (添加 1% 之發酵飼料及 0.15% 之納豆菌及真菌發酵產物) 共 3 組，於產茸期進行餵飼試驗，試驗平均長茸期為 70 天，試驗期間飼糧及飲水採任食。試驗結果顯示，臺灣水鹿產茸期之體增重於各組間並無顯著差異，但飼料乾物質採食量佔體重比例，則以發酵飼料組顯著較其他組為低 ($P < 0.05$)。鹿茸重量及鹿茸增幅於組間雖未達統計差異，但發酵飼料組之鹿茸重量及鹿茸增幅有提升之趨勢。鹿茸乾物質之灰分及磷含量，在發酵飼料組與納豆菌及真菌發酵產物組均顯著高於對照組 ($P < 0.05$)，鈣含量亦有提升之趨勢。血液中免疫球蛋白濃度於試驗前後，各組間均無顯著差異。綜合試驗結果，添加 1% 之發酵飼料於臺灣水鹿產茸期飼料中，具有顯著增加鹿茸灰分和磷含量，與增加鹿茸產量之趨勢。

關鍵詞：臺灣水鹿、發酵飼料、納豆菌及真菌發酵產物、產茸性能及鹿茸組成、免疫力。

緒 言

益生菌 (probiotics) 是指益於宿主健康之活微生物 (FAO/WHO, 2002)，被廣泛應用於食品及醫療產業，以促進人類健康。近年來許多研究指出，益生菌所含活菌並非能造成正面影響之必要條件，許多死的益生菌在人體或動物實驗中均觀察到對健康之助益 (Lahtinen, 2012)。因此，活菌體及其衍生或代謝產物、死菌體、菌萃取物等，都漸漸被納入益生菌的範圍。許多文化中均有利用生物質經益生菌發酵作為食品的歷史，如最多樣化的發酵乳製品、發酵蔬菜與納豆等，而發酵食物被認為與促進健康相關。在畜牧業中，利用益生菌添加於動物飼料，亦行之有年，對於動物腸胃道之消化吸收頗有助益。不僅如此，益生菌更成為相當有潛力的抗生素使用之替代方案，歐盟自 2006 年起全面禁止使用抗生素作為畜禽飼養之飼料添加物，研究學者更積極尋找能夠取代抗生素之植生劑 (phytogenics)，使得益生菌及其相關產物作為飼料添加物之研究更加蓬勃發展。飼料添加物利用發酵等生物技術，可提升其益生菌含量、酵素、代謝產物及重組產物，並可將化合物轉換成更有效之成分 (Stanbury *et al.*, 1995)，且其生產成本低、效率高，發酵後之產品較未經處理之原料更提高其營養價值，促進動物成長及改善飼料利用效率 (Lee and Yu, 2013)。

臺灣水鹿為反芻動物，其營養乃依賴瘤胃微生物分解飼糧中之粗纖維，代謝成動物體可利用之型式。圈飼為國內臺灣水鹿主要之飼養型式，完全圈飼下，飼養者提供之日糧為鹿隻唯一營養來源，常因飼糧調配失當與營養不足，影響瘤胃正常功能，降低瘤胃微生物之消化及代謝效率，導致產茸性能無法充分發揮，甚至影響健康 (劉, 2015)。鹿茸重量約佔雄鹿本身體重 1 – 5% (Huxley, 1931)，鹿隻個體之攝食情況、營養吸收及身體狀況直接反映在鹿茸之重量及品質上，每日 25 – 40% 之鈣攝取量供給鹿茸骨質生成時磷酸鈣沉積之礦化作用 (Muir *et al.*, 1987)。鹿茸快速生長期間，公馴鹿每日吸收至鹿茸上之鈣及磷達 25 g 及 12 g 以上 (Moen and Pastor, 1998)。美國鹿隻飼養者常使用商業化的益生菌添加物，以增加飼料利用效率及減少病原菌散播，促進鹿隻的營養吸收並達到增加產茸量的效果。加拿大為維持鹿隻消化道之健康，亦建議於精料中添加酵母和益生菌 (Deer feeding guide, 2012)。產茸期公

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2587 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場。

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

鹿為因應鹿茸快速生長，營養需求大幅提升，如養分及礦物質攝取或吸收不足，易造成鹿茸生長停滯等情況 (劉，2015)。一般養鹿業者相信使用益生菌有許多優點，可提高飼料利用效率、提高鹿茸生產量，並且降低成本且增加收益。

國內產業使用之飼料添加物多為進口產品，需積極開發國產飼料添加物，並了解其對鹿隻食用之安全性，以提高商業應用價值、動物生產能力及產業競爭力。近年來，國內開發多種益生菌發酵飼料或飼料添加物，其中包括發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物。相較於人類益生菌產品常使用的乳酸桿菌屬 (*Lactobacillus*)，在動物營養方面，常使用的益生菌種類為枯草桿菌屬 (*Bacillus*)、腸球菌屬 (*Enterococcus*) 以及酵母菌屬 (*Saccharomyces*) (Simon *et al.*, 2001)，發酵飼料與含納豆菌及真菌發酵產物即為利用枯草桿菌屬及酵母菌屬之菌種進行發酵製成之國產飼料添加物。黃等 (2016a) 研究利用 *Bacillus subtilis natto* 及 *Saccharomyces cerevisiae* 等菌種，利用二階段固態發酵產製發酵飼料。梁 (2015) 以 *B. subtilis natto* 進行發酵，製成含 poly- γ -glutamic acid (γ -PGA) 發酵產物，再以冬蟲夏草、靈芝、牛樟芝及紅樣葡萄座腔菌 (*Botryosphaeria rhodina*) 所培養之真菌菌絲體複合物混合數種中草藥，製成納豆菌及真菌發酵產物。*B. subtilis* 學名為枯草芽孢桿菌，*B. subtilis natto* 又稱為納豆菌，是枯草芽孢桿菌之亞種，除應用於日本傳統發酵食品外，亦常作為益生菌進行生物質發酵，以產生大量 γ -PGA，許多研究指出 γ -PGA 能促進動物對礦物質之利用率 (Tanimoto *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2008)。 γ -PGA 是一種無毒且可生物分解之羧胺酸聚合物，已廣泛應用於食品、醫療及廢水處理產業，而 *B. subtilis* 是最常用以生物性合成 γ -PGA 之菌種 (Luo *et al.*, 2016)。經 *B. subtilis natto* 發酵後之原料，能提升其營養組成及動物利用率，進而改善腸道微生物平衡 (Patterson and Burkholder, 2003)，促進腸道消化，提高動物生長性能 (Kasmani *et al.*, 2012)。

本試驗期透過富含益生菌、 γ -PGA 與 β -glucan 之發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物，添加於臺灣水鹿產茸期飼糧中，提升瘤胃之消化代謝能力以改善飼料利用效率，提高鹿隻礦物質利用率，並探討發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿免疫反應之影響，以期提升臺灣水鹿產茸能力，以加強國產鹿茸之市場競爭力。

材料與方法

I. 試驗設計與實驗動物

依據之前研究成果進行鹿隻飼糧營養成分設計 (黃等，2015；黃等，2016b)，各組飼糧含等代謝能與等蛋白質，分為三組，即對照組 (control group)、發酵飼料組 (FF group) 與納豆菌及真菌發酵產物組 (NF group)。本試驗使用之發酵飼料製程參考賴 (2014) 之方法，以動物性及植物性蛋白質原料進行混合成 CP 61% 之蛋白質混合粉做為發酵基質，額外添加 10% 水分後以 121°C 滅菌 30 分鐘，冷卻後進行二階段發酵。第一階段調整基質中 *B. subtilis natto* N21 菌數至 1×10^6 CFU/g 後，進行好氧發酵 2 天。第二階段以 *S. cerevisiae* Y10，調至菌數 1×10^6 CFU/g 後，進行厭氧發酵 3 天。發酵完畢後，以 65°C 乾燥至水分 12% 以下即得。納豆菌及真菌發酵產物以大豆粕作為發酵基質，調整水分至 65% 後以 121°C 滅菌 30 分鐘。冷卻後以 *B. subtilis natto* BS2 菌液，調整基質菌數至 1×10^6 CFU/g 後好氧發酵 3 天，以 55°C 乾燥至水分 12% 以下，為納豆發酵產物。再根據霍等 (2014) 之方法，以冬蟲夏草、靈芝、牛樟芝及紅樣葡萄座腔菌 (*B. rhodina*) 所培養之真菌菌絲體複合物 (含 3% β -glucan) 與中草藥 (辣椒、土肉桂、小葉葡萄等) 及納豆發酵產物以固定比例混合後，即為納豆菌及真菌發酵產物。試驗飼糧含粗蛋白質 15%、代謝能 2,400 kcal/kg、鈣 0.6% 與磷含量 0.4%。產茸期每日餵飼商用混合草料 70% (主要成分為梯牧草、百慕達草、葛蘭草、甜燕麥、苜蓿粒、大豆殼及玉米片，乾基含蛋白質 14.09%、代謝能 2,410 kcal/kg)、苜蓿草塊 10% 及試驗精料 20%。依據組別配製不同試驗精料，對照組中不含發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物，發酵飼料組含總飼糧 1% 之發酵飼料，而納豆菌及真菌發酵產物組含總飼糧 1% 發酵飼料及總飼糧 0.15% 之納豆菌及真菌發酵產物，試驗精料組成成分如表 1。

試驗動物採用高雄種畜繁殖場飼養之臺灣水鹿公鹿 12 隻，依據個體年齡及前次鹿茸重量進行區段隨機分組，每組 4 隻，各組之年齡與前次茸重如表 2。鹿隻飼養於個別欄位，每日餵飼兩次，試驗期間提供充足飲水與飼糧任食。鹿茸採割時間平均為硬角解角後 70 天，試驗結束時採割鹿茸並測量整副鹿茸重量。

II. 測定項目與方法

(i) 採食量及體重

試驗開始前兩週為試驗料適應期，採逐漸增加比例方式進行飼糧置換。試驗期間記錄個體採食量，以個體當日餵飼總重扣除隔日早上剩料重為鹿隻日採食量。試驗開始前及採割鹿茸日以磅秤量測體重。

(ii) 血液生化值

試驗開始時及取茸日進行鹿隻頸靜脈採血，離心後取血清樣本，利用免疫比濁法以 ABBOTT c16000 機型進行血液中免疫球蛋白 (immunoglobulin) IgG, IgA 及 IgM 之濃度檢測。

表 1. 試驗精料組成分

Table 1. Formulation of diets for Taiwan Formosan sambar deer during antler growing period

Ingredients, %	Control group	FF* group	NF** group
Yellow corn (CP 7.5%)	53.00	53.00	53.00
Soybean meal (CP 43.5%)	20.00	15.00	14.25
Wheat bran	25.00	25.00	25.00
Salt	1.60	1.60	1.60
Vitamin premix ¹	0.20	0.20	0.20
Mineral premix ₂	0.20	0.20	0.20
Fermented feedstuff (FF)	—	5.00	5.00
Natto and fungal fermentative product (NF)	—	—	0.75

*FF: fermented feedstuff.

**NF: natto and fungal fermentative products.

¹ Supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 1,000 IU; Vitamin D₃, 500 IU; Vitamin E, 500 IU.

² Supplied per kilogram of diet: Cu (CuSO₄•5H₂O), 16 mg; Mn (MnSO₄), 6 mg; Co (CoCO₃), 0.2 mg; Zn (ZnO), 30 mg; I (KI), 1.5 mg; Se (Na₂SeO₃), 0.3 mg.

表 2. 鹿隻分組後各組平均年齡及前次茸重

Table 2. Average of last antler velvet weight and ages of each group

Items	Control group	FF* group	NF** group
Last velvet weight, kg	1.38 ± 0.51	1.38 ± 0.51	1.38 ± 0.48
Age, years	6.86 ± 1.97	8.42 ± 3.28	8.08 ± 4.17

*FF and **NF as Table 1 described.

(iii) 產茸性狀及鹿茸成分

試驗結束時採割鹿茸並測量整副鹿茸重量後，冷凍保存於 -20℃ 待測成分。將冷凍後鹿茸以電動切片機切片，分為蠟片（尖端）、血片（上段）、風片（中段）與骨片（基部）四部位，等比例混合後測定鹿茸中水分、粗蛋白質、粗脂肪、粗灰分、鈣及磷之含量。水分含量測定利用 65℃ 烘箱每隔 4 小時取出量測樣品重量，烘乾至前後次樣品重量變化小於 0.5% 為止，計算其水分含量。烘乾後之樣品以組織研磨機製成粉末狀，混勻後取樣進行成分測定。粗蛋白質、粗脂肪及粗灰分含量測定依據中華民國國家標準飼料檢驗法 (1986) 制定方法進行分析，鈣及磷含量測定依據 AOAC(2000) 制定方法進行分析。

III. 統計分析

試驗數據以統計分析軟體 GraphPad Prism 6.01 (2012) 進行統計分析，結果以平均值 ± 標準誤差表示。以 t 檢驗 (Student's t test) 進行兩組間平均值比較，以單因子變異數分析 (One-way ANOVA) 進行多組間之平均值比較，並以 Tukey's 多重比較 (Tukey's multiple comparison test) 作為事後檢定之標準。當 P < 0.05 時達統計顯著差異。

結果與討論

I. 採食表現與體重變化

飼糧中添加發酵飼料或添加納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿產茸期採食量及體增重之影響如表 3 所示。發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物均含有特殊氣味，納豆菌及真菌發酵產物則有刺激味，於適應期直接換料恐影響鹿隻食慾，而於試驗開始前 2 週以對照組飼料稀釋，逐漸增加餵飼比例。結果顯示，臺灣水鹿產茸期之乾物質採食量及體增重於各組間並無顯著差異，但進一步以乾物質採食量佔體重比例分析，則發現發酵飼料組顯著較其他組為低。簡 (2012) 於探討臺灣水鹿鹿茸組織中抗氧化酶含量與鹿茸品質之關係時，發現調整飼糧中粗

蛋白質含量 (11, 13, 15%) 亦不顯著影響臺灣水鹿隻日採食量及產茸量。臺灣水鹿體成熟年齡約為 5 至 6 歲，本試驗使用鹿隻平均年齡為 7.8 歲，體重已趨於平穩，在採食量與體增重方面可能較不易產生明顯變化。

表 3. 飼糧中添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿採食量及體重之影響

Table 3. The effects of fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) on dry matter (DM) intake and body weight of Formosan sambar deer

Items	Control group	FF group	NF group
Average DM intake, kg/d	3.80 ± 0.70	2.82 ± 0.78	3.44 ± 0.88
Initial body weight ¹ , kg	131.05 ± 12.60	127.20 ± 18.40	116.63 ± 12.04
Finished body weight ¹ , kg	143.95 ± 25.44	125.50 ± 23.66	129.42 ± 23.64
Body weight gain ² , %	9.54 ± 13.64	-2.09 ± 5.72	10.24 ± 10.07
DM intake / body weight ³ , %	2.76 ± 0.30 ^a	2.20 ± 0.34 ^b	2.78 ± 0.55 ^a

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

¹ Body weights were measured at the beginning and the end of trial as the first and second body weight, respectively.

² Body weight gain, % = (finished body weight - initial body weight) / (initial body weight) × 100.

³ DM intake / body weight, % = average DM intake / (average of initial and finished body weight) × 100.

II. 產茸性能

臺灣水鹿產茸期飼糧添加發酵飼料或納豆菌及真菌發酵產物對鹿茸產量之影響如表 4 所示。結果顯示，飼糧中添加發酵飼料或額外添加納豆菌及真菌發酵產物相較於對照組對該產茸期之鹿茸重量並無顯著差異，但發酵飼料組之鹿茸重量有增加之趨勢，為對照組之 1.17 倍。將試驗該次產茸重量與前次產茸重量進行比較以計算其產茸增幅，顯示各組之產茸增幅無顯著差異。然進一步分析數據得知，發酵飼料組內 3/4 個體之鹿茸產量增幅達 30% 以上 (38.3%、37.1% 與 32.4%)，有明顯增加之趨勢，平均產茸增幅為對照組之 1.56 倍，顯示餵飼發酵飼料對產茸性能有正向影響之趨勢。綜合本試驗採食量與體重變化數據得知，臺灣水鹿產茸期飼糧中添加發酵飼料在不顯著影響體重變化下，具有以略低之採食量而表現出較佳產茸性能之潛力。

表 4. 飼糧中添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿產茸性能之影響

Table 4. The effects of fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) on antler velvet performances of Formosan sambar deer

Items	Control group	FF group	NF group
Antler velvet weight, kg	1.47 ± 0.21	1.72 ± 0.63	1.39 ± 0.24
Last antler velvet weight, kg	1.38 ± 0.51	1.38 ± 0.51	1.38 ± 0.48
Antler velvet growing rate ¹ , %	17.41 ± 31.97	27.10 ± 15.48	9.20 ± 23.94

¹ Antler velvet growing rate, % = average of [(individual antler velvet weight - last antler velvet weight) / antler velvet weight] × 100.

III. 鹿茸成分

飼糧中添加發酵飼料或添加納豆菌及真菌發酵產物，對臺灣水鹿鹿茸成分之影響如表 5 所示。結果顯示，在臺灣水鹿產茸期飼糧添加發酵飼料或添加納豆菌及真菌發酵產物，其鹿茸之灰分、磷及鈣等礦物質含量較對照組有增加之現象。餵飼含發酵飼料或納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿鹿茸之水分含量並無顯著差異，乾物質中粗蛋白質及粗脂肪含量亦無顯著影響。以粗灰分作為礦物質含量指標之檢測顯示，在發酵飼料組與納豆菌及真菌發酵產物組，其鹿茸乾物質中之粗灰分含量均顯著較對照組增加 ($P < 0.05$)。進一步檢測鹿茸乾物質中鈣及磷含量發現，發酵飼料組與納豆菌及真菌發酵產物組之鹿茸乾物質中磷含量均顯著高於對照組 ($P < 0.05$)；鈣含量雖未達統計顯著差異，但在發酵飼料組 ($P < 0.058$) 與納豆菌及真菌發酵產物組 ($P < 0.060$) 亦有較對照組增加之趨勢。

先前研究指出，*B. subtilis* 能不斷地分泌 γ -PGA 於培養液中，多種 *Bacillus* 屬的菌均有分泌 γ -PGA 至細胞外之能力 (Shih *et al.*, 2004)。 γ -PGA 對於礦物質吸收有顯著促進之效果，不論在體外或體內中都有增加鈣溶解度的現象。體外實驗 γ -PGA 可直接增加鈣離子溶解度，給予單一劑量之 γ -PGA 顯著地增加大鼠小腸中之可溶性鈣含

量 (Yang *et al.*, 2008)。在停經期女性給予單一劑量之 γ -PGA 亦能促進其腸內鈣吸收，尤其在吸收能力較低者結果更為顯著 (Tanimoto *et al.*, 2007)。 γ -PGA 於 1937 年被發現存在於 *B. anthracis* 細胞壁中，現今利用微生物於生物質發酵而生合成 γ -PGA 已是最有經濟效益之產製方式，並廣泛應用於食品加工業 (Luo *et al.*, 2016)。本試驗中利用 *Bacillus* 菌屬產製之發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物，添加於臺灣水鹿產茸期飼糧中，顯著增加其鹿茸中粗灰分及磷含量，鈣含量亦有明顯提升之趨勢，與先前研究發現相互呼應。綜合以上結果，臺灣水鹿產茸期餵飼發酵飼料或額外添加納豆菌及真菌發酵產物均能顯著提高鹿茸中之粗灰分及磷含量，鈣含量亦有增加之趨勢。

表 5. 飼糧中添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿鹿茸成分之影響

Table 5. The effects of fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) on the composition of antler velvet of Formosan sambar deer

Items	Control group	FF group	NF group
Moisture, %	65.84 \pm 3.79	62.17 \pm 2.63	64.89 \pm 2.46
Percentage of dry matter			
Crude protein, %	55.07 \pm 5.92	50.32 \pm 1.04	52.46 \pm 2.09
Crude fat, %	4.25 \pm 2.93	5.14 \pm 2.64	3.05 \pm 0.59
Crude ash, %	34.93 \pm 3.49 ^a	39.36 \pm 1.54 ^b	39.03 \pm 1.56 ^b
Calcium, %	11.97 \pm 1.24	13.26 \pm 0.66	13.28 \pm 0.74
Phosphorus, %	5.98 \pm 0.69 ^a	6.80 \pm 0.23 ^b	6.74 \pm 0.24 ^b

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

IV. 血液免疫性狀

鹿隻在餵飼試驗料前及取茸日進行個別抽血，作為試驗前後之血液樣本，進行血液中免疫球蛋白含量測定。IgG 濃度於試驗前後均低於測量範圍 (< 6 mg/dL)，試驗前之 IgM 濃度低於測量範圍 (< 1 mg/dL)，而試驗結束時各組間無顯著差異。在血液中 IgA 濃度部分，試驗前後各組間亦無顯著差異 (表 6)。一般認為益生菌對於免疫力之調節具有相關性，益生菌能增強體液免疫反應因而促進腸胃的免疫屏障 (Kaila *et al.*, 1992; Isolauri *et al.*, 2001)，*Bifidobacterium breve* 菌能增強小鼠對霍亂毒素刺激之 IgA 免疫反應 (Yasui *et al.*, 1992)，在患有急性輪狀病毒腹瀉之孩童食用 *Lactobacillus rhamnosus GG* 菌後，能增加 IgA 分泌細胞 (Kaila *et al.*, 1992)，顯示在受到外來物刺激時，益生菌能促進宿主之免疫調節能力。在發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物之應用，先前研究亦曾探討在其他物種採食後之免疫性狀。梁 (2015) 利用發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物添加於蛋雞飼糧中，發現其對蛋雞血液中 IgG 及 IgM 濃度均無顯著影響，而黃等 (2014；2016a) 在生長豬及肥育豬之試驗顯示，飼糧添加發酵飼料顯著增加血清中 IgG 及 IgA 含量。發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物於禽類、單胃動物及反芻動物採食後，顯示不同之血液免疫球蛋白濃度表現，可能與物種反應不同有關，其作用機制值得進一步探討。

表 6. 飼糧中添加發酵飼料與納豆菌及真菌發酵產物對臺灣水鹿血液免疫性狀之影響

Table 6. The effects of fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) on blood immunological parameters of Formosan sambar deer

Items	Beginning of trial			End of trial		
	Control	FF	NF	Control	FF	NF
IgG (mg/dL)	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
IgA (mg/dL)	8.3 \pm 0.5	6.8 \pm 1.5	7.3 \pm 1.7	27.0 \pm 1.4	25.8 \pm 2.9	24.8 \pm 2.1
IgM (mg/dL)	< 1	< 1	< 1	1.3 \pm 0.5	1.0 \pm 0.0	1.3 \pm 0.5

結 論

臺灣水鹿於產茸期飼料中添加發酵飼料能顯著提升鹿茸乾物質中粗灰分含量，其中磷含量顯著增加，鈣含量及產茸性能亦有明顯增加之趨勢。以經濟效益換算添加發酵飼料對臺灣水鹿鹿茸重量增加之趨勢數據，顯示餵飼發酵

飼料組平均隻日成本增加約 1.5 元，以餵飼產茸期 70 天計算，成本約增加 105 元，其鹿茸較對照組平均增加約 249 克。以平均市價 1,000 元 / 臺兩 (26.7 元 / 公克) 估算，產茸期餵飼發酵飼料組每頭公鹿獲益約增加 6,648 元。

誌 謝

本試驗承本場畜產經營系宋文霖先生協助現場飼養管理及紀錄，以及潘春花小姐與林秀蘭小姐協助現場飼養工作，特此感謝。

參考文獻

- 中華民國國家標準飼料檢驗法。1986。行政院經濟部標準檢驗局。臺北。
- 梁純宜。2015。飼糧中添加 CU300 或納豆酵母粉對蛋雞生產性能、雞蛋品質及免疫能力之影響。國立嘉義大學動物科學系，碩士論文，嘉義。
- 黃憲榮、王漢昇、李秀蘭、許晉賓、王治華、林正鏞、許岩得、翁博群、陳國隆。2014。飼糧添加二階段混合型發酵飼料原料對生長豬生長性能及免疫性狀之影響。畜產研究 47(4)：239-250。
- 黃憲榮、林信宏、許晉賓、康獻仁、林正鏞。2015。飼糧添加過瘤胃胺基酸及不同粗蛋白質濃度對鹿茸產量及血液生化值之影響。中畜會誌 44(增刊)：265。
- 黃憲榮、翁博群、許晉賓、王漢昇、李秀蘭、許岩得、林正鏞、陳國隆。2016a。飼糧添加二階段混合型益生菌發酵飼料對肥育豬免疫性狀之影響。畜產研究 49(3)：184-193。
- 黃憲榮、林信宏、許晉賓、康獻仁、林正鏞。2016b。飼糧添加聚麩胺酸及不同鈣磷濃度對臺灣水鹿產茸性能及血液生化值之影響。中畜會誌 45(增刊)：254。
- 霍怡華、黃琳蘋、陳菽承、陳國隆。2014。飼糧中添加發酵複合產物對法國裸頸雞生長及屠體性狀之影響。第十一屆優質雞的改良生產暨發展研討會論文集：145-147。海南，中國。
- 賴勁翰。2014。開發生產納豆酵母粉並探討其對雞促進生長之機制。國立嘉義大學動物科學系，碩士論文，嘉義市。
- 簡佑玲。2012。臺灣水鹿鹿茸組織中抗氧化酶含量與鹿茸品質之關係。國立屏東科技大學動物科學與畜產系，碩士論文，屏東縣。
- 劉國輝。2015。科學養殖常識鹿養殖新技術。元華文創股份有限公司，臺北，pp. 9-11。
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC international. 17th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD, USA.
- Deer feeding guide. 2012. Record rack, Cargil Incorporated. USA.
- Food and Agriculture Organization (FAO) / World Health Organization (WHO). 2002. Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food.
- GraphPad Prism 6.01. 2012. GraphPad Software Inc., San Diego, CA. USA.
- Huxley, J. S. 1931. The relative size of antlers of deer. J. Zool. 101: 819-864.
- Isolauri, E., Y. Sütas, P. Kankaanpää, H. Arvilommi and S. Salminen. 2001. Probiotics: effects on immunity. Am. J. Clin. Nutr. 73(2): 444s-450s.
- Kaila, M., E. Isolauri, E. Soppi, E. Virtanen, S. Laine and H. Arvilommi. 1992. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. Pediatr. Res. 32(2): 141-144.
- Kasmani, F. B., M. A. K. Torshizi, A. Allameh and F. Shariatmadari. 2012. A novel aflatoxin-binding *Bacillus* probiotic: Performance, serum biochemistry, and immunological parameters in Japanese quail. Poult. Sci. 91: 1846-1853.
- Lahtinen, S. J. 2012. Probiotic viability - does it matter? Microb. Ecol. Health Dis. 23: 18567.
- Lee, T. T. and B. Yu. 2013. Application of biologics to feedstuff. Afr. J. Biotechnol. 12(6): 526-530.
- Luo, Z., Y. Guo, J. Liu, H. Qiu, M. Zhao, W. Zou and S. Li. 2016. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid: current progress, challenges, and future perspectives. Biotechnol. Biofuels. 9(1): 134.
- Moen, R. and J. Pastor. 1998. Simulating antler growth and energy, nitrogen, calcium and phosphorus metabolism in caribou. Rangifer. 18(5): 85-97.
- Muir, P. D., A. R. Skyes, and G. K. Barrell. 1987. Growth and mineralisation of antlers in red deer (*Cervus elaphus*). NZ. J. Agric. Res. 30: 305-315.

- Patterson, J. A and K. M. Burkholder. 2003. Application of probiotics and prebiotics in poultry production. *Poult Sci.* 82: 627-631.
- Shih, I. L., Y. T. Van and M. H. Shen. 2004. Biomedical applications of chemically and microbiologically synthesized poly (glutamic acid) and poly (lysine). *Mini. Rev. Med. Chem.* 4: 179-188.
- Simon, O., A. Jadamus and W. Vahjen. 2001. Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. *J. Anim. Feed Sci.* 10: 51-67.
- Stanbury, P. F., A. Whitaker and S. J. Hall. 1995. Media for industrial fermentation. In: *Principles of Fermentation Technology*. Oxford 2nd. UK. pp. 93-121.
- Tanimoto, H., T. Fox, J. Eagles, H. Satoh, H. Nozawa, A. Okiyama, Y. Morinaga and S. J. Fairweather-Tait. 2007. Acute effect of poly-gamma-glutamic acid on calcium absorption in post-menopausal women. *J. Am. Coll. Nutr.* 26(6): 645-649.
- Yang, L. C., J. B. Wu, G. H. Ho, S. C. Yang, Y. P. Huang and W. C. Lin. 2008. Effects of poly-gamma-glutamic acid on calcium absorption in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72(12): 3084-3090.
- Yasui, H., N. Nagaoka, A. Mike, K. Hayakawa and M. Ohwaki. 1992. Detection of bifidobacterium strains that induce large quantities of IgA. *Microb. Ecol. Health Dis.* 5(3): 155-162.

The effect of diet supplemented with fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) on antler velvet weight, content and immunity in Formosan sambar deer ⁽¹⁾

I-Heng Chang ⁽²⁾ Shin-Hung Lin ⁽²⁾ and Cheng-Yung Lin ⁽²⁾⁽³⁾

Received: Dec. 5, 2017; Accepted: Feb. 1, 2018

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of fermented feedstuff (FF) and natto and fungal fermentative products (NF) during velvet growing phase on the antler velvet performance and immunity in Formosan sambar deer. Based on the age and previous antler performance, 12 male deer was divided into 3 groups utilizing block randomization, which were control, FF (containing 1% of FF), and NF (containing 1% of FF and 0.15% of NF) group, each group was fed different concentrated feed. The average antler develop period was 70 days, feed and water was provided ad libitum. The results showed that the body weight gain were no significant difference between groups, yet the dry matter intake / body weight was significant decreased ($P < 0.05$) in FF group. The antler velvet weight and growing rate were no significant difference between groups but largely increased in FF group. The crude ash and phosphorous content of antler velvet dry matter were both significantly increased in FF and NF group ($P < 0.05$), and calcium content of antler velvet dry matter was also markedly elevated. The concentrations of immunoglobulins were no significant difference between groups. Taken together, by using 1% of FF during velvet growing phase, the mineral concentration of antler velvet was significantly increased and antler velvet growing potential was markedly elevated in Formosan sambar deer.

Key words: Formosan sambar deer, Fermented feedstuff, Natto and fungal fermentative products, Antler velvet weight and content, Immunity.

(1) Contribution No. 2587 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

飼糧中補充鋅、銅與錳對高溫濕度指數期間 荷蘭泌乳牛行動分數與性能表現之影響⁽¹⁾

張俊達⁽²⁾ 蕭宗法⁽²⁾ 王思涵⁽⁴⁾ 吳鈴彩⁽²⁾⁽⁵⁾ 蔡銘洋⁽²⁾ 李春芳⁽³⁾ 林義福⁽²⁾

收件日期：107 年 1 月 19 日；接受日期：107 年 2 月 14 日

摘 要

本試驗旨在探討於高溫溼度指數 (temperature-humidity index, THI) 下 (大於 72) 飼糧中補充有機鋅、銅與錳對荷蘭泌乳牛之行動分數、乾物質採食量、體重及產乳量之影響。試驗期間為 2017 年 4 月至 7 月份，將 24 頭泌乳中期荷蘭乳牛依體重、乳量、胎次與泌乳天數逢機分成兩組，分別於基礎日糧中補充 0 (對照組) 及每天每頭補充鋅 360 mg、銅 125 mg 及錳 200 mg (試驗組)。試驗期間每月調查包括畜舍環境參數 (包括溫度、濕度) 與計算溫溼度指數、牛隻乾物質採食量、牛隻行動分數 (5 分制)、體重與產乳量，試驗進行 4 個月。試驗結果顯示，試驗期間 (4 至 7 月份) 牛舍平均溫溼度指數分別為 73.9 ± 6.2 、 79.2 ± 3.9 、 82.0 ± 3.9 及 81.5 ± 3.4 單位。飼糧補充有機鋅、銅與錳有降低牛隻餵飼後第 30、60、90 及 120 天之行動分數，且牛隻乾物質採食量也隨著連續補充有機鋅、銅與錳 30、60、90 及 120 天有增加之趨勢。產乳量與體重並未受到飼糧補充有機鋅銅錳產生影響。由上述結果得知，在高溫濕度指數下，於飼糧中補充鋅、銅與錳可能有助改善牛隻乾物質採食量與腳蹄健康之現象。

關鍵詞：荷蘭泌乳牛、行動分數、有機銅、有機錳、有機鋅、溫濕度指數。

緒 言

溫濕度指數為利用氣溫及相對濕度結合之計算值，可用來警示家畜生產業及運輸業者家畜受熱緊迫之狀況 (Harrington and Bowles, 2004)。當氣候在高溫及高濕結合時，限制牛隻散去過多之體熱，此對家畜形成熱緊迫 (Hahn *et al.*, 2001; Mader, 2003)。臺灣每年自 3 至 5 月份為梅雨季節天氣常陰雨連綿，且張等 (2017a; 2017b) 於 2016 年梅雨期間 (4 至 5 月份) 及熱季期間 (6 至 7 月份) 測得畜舍溫溼度指數皆已超過 72 以上。然而在溫溼度指數大於 72 情況下，泌乳牛易產生緊迫，致使採食量與產乳量下降 (Chase, 2006)。然而相較於較涼爽的季節，泌乳牛在熱季或較溫暖的季節期間，其發生跛腳 (lameness) 的比例較高 (Sanders *et al.*, 2009; Madadzadeh *et al.*, 2013)。牛隻跛腳造成酪農經濟損失是僅次於繁殖障礙與乳房炎，且也是許多酪農所要面臨牛隻重要的健康問題 (Bruijn *et al.*, 2010; Huxley *et al.*, 2013)。牛隻跛腳會造成產乳量降低、降低繁殖表現、高淘汰 (culling) 速率及增加獸醫治療成本 (Cha *et al.*, 2010)，對酪農來說可是一項重大經濟損失。

微量元素 Zn、Cu 及 Mn 為泌乳牛維持健康重要元素 (NRC, 2001)，且在蛋白質合成、身體代謝、免疫系統及抗氧化過程扮演者重要角色 (Griffiths *et al.*, 2007; Nazirolu and Yürekli, 2013)。同時這些微量礦物質的供應會影響牛隻的生長表現和健康，包括牛腳蹄的完整性，生育力及泌乳功能 (Miller *et al.*, 1988; NRC, 2001)。

因此，本試驗探討於高溫濕度指數 (大於 72) 下，於飼糧中補充鋅、銅與錳對泌乳牛隻行動分數、乾物質採食量、體重及產乳量之影響。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2588 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(5) 通訊作者，E-mail：wlt@mail.tlri.gov.tw。

材料與方法

I. 試驗動物飼養環境

本試驗期間為 2017 年 4 月 1 日至 2017 年 7 月 30 日，使用荷蘭泌乳牛，飼養在行政院農業委員會畜產試驗所產業組傳統牛舍，使用之動物均通過行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護與使用小組之審核。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 8.6 m²，試驗期間提供降溫設施包括全日開啟的四臺風扇 (36 吋，2 馬力，3 葉片，風量 26,300 m³/hr)，風扇置於採食走道及牛床上方各兩支，而噴水降溫系統則設置在採食區頸部上方，且依據牛隻每日採食行為於每日 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，停 4 分鐘)。

II. 試驗動物及飼養管理

選擇每日產乳量平均為 26.62 ± 5.71 kg 的荷蘭泌乳牛 24 頭，依照乳量、胎次、泌乳天數與體重均分為兩組，於完全混合日糧 (total mixed ration, TMR) 車配製飼糧，配製期間每天每頭分別補充 0 (對照組) 及 360 mg Zn、125 mg Cu 及 200 mg Mn (有機螯合胺基酸物質) (試驗組)。對照組與處理組之乳量、胎次、泌乳天數及體重分別為 26.69 ± 4.70 與 26.54 ± 6.99 kg、 1.83 ± 0.94 與 2.18 ± 1.17 胎、 159 ± 55 與 158 ± 57 天及 621 ± 71.4 與 609 ± 97.6 kg。試驗設計採完全隨機試驗為期約 120 天 (106 年 4 月 1 日至 106 年 7 月 30 日)。泌乳牛飼糧依 NRC (2001) 泌乳牛營養標準配製之完全混合日糧 (total mixed ration, TMR)，組成包括盤固乾草、苜蓿乾草、青貯玉米、大豆殼粒、高粱酒粕、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. 乳牛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 of lactating cows

Ingredient	Percentage, % DM
Corn silage	24.71
Pangolagrass hay	3.44
Alfalfa hay	6.52
Brewer's grain, wet	6.77
Sorghum distillers' grains, wet	4.45
Soybean hull	15.40
Wheat bran	4.40
Corn	19.55
Soybean meal, 44% CP	10.03
Fish meal	1.13
Molasses	0.73
Salt	0.40
Limestone	0.74
Potassium carbonate	0.40
Sodium bicarbonate	0.59
Urea	0.40
Premix ¹	0.19
Total	100
Analyzed value	
DM, %	49.1
CP, %	17.2
NDF, %	41.3
ADF, %	25.6
Ca, %	0.7
P, %	0.4
NEI ² , Mcal/kg	1.57

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 NEI value is in accordance with NRC (2001).

III. 測定項目

- (i) 牛舍環境參數：包括溫度、濕度以及溫溼度指數。牛舍裝置六組溫溼度感應器 (HOBO pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, MA, USA) 進行溫度與濕度測定，於試驗期間連續每隔 0.5 小時測定及記錄溫溼度一次，每週將資料轉錄至電腦中以進行牛舍環境參數的累計與分析，THI 值以 National Oceanic and Atmospheric Administration (1976) 法計算。其公式 $THI = 9/5T + 32 - 0.55 \times (1 - RH) \times (9/5T - 26)$ ，其中 THI 為溫濕度指數；T 為氣溫 (單位 $^{\circ}\text{C}$)；RH 為相對濕度。
- (ii) 牛隻性能表現
 1. 體重變化：試驗開始及試驗後第 30、60、90 及 120 天，分別連續兩日上午 8:30 分過磅。
 2. 採食量：每日記錄兩組採食量，包括 TMR 提供量與剩餘量，於採樣期期間 (為試驗後第 21 至 30 天、第 51 至 60 天、第 81 至 90 天及第 111 至 120 天)，每日採樣 TMR 料與兩組剩料。所有樣品先保存在 -20°C ，再以 55°C 烘乾 48 小時，稱得乾物質後計算兩組牛隻採樣期 10 天的每日每頭乾物質採食量 (dry matter intake, DMI)。另外每日採集 TMR 料依 A.O.A.C. (1990) 法進行 DM 與 CP 的分析，依據 van Soest *et al.* (1991) 方法分析 ADF 及 NDF。
 3. 產乳量：每日擠乳兩次，分別為清晨 5:00 與下午 3:30，由電腦記錄個別牛隻泌乳量。
 4. 牛行動分數：依據 (Sprechter *et al.*, 1997) 採五分制，1 分是正常的腳蹄與步態，站立與行走時背脊保持水平一直線，四腳起落有致；2 分是輕微蹄病，站立時背脊保持水平一直線，但是行走時背脊線呈現彎曲弧線，步伐稍有異常；3 分是中等的蹄病，站立及行走時背脊線呈現彎曲弧線，一條或多條腿行走時步伐變小，正常蹄部的懸蹄高度可能略為低於對側患有牛蹄病者；4 分是典型蹄病，站立 (重心前傾) 及行走時背脊線呈現彎曲弧線，偏愛使用一條或多條腿，正常蹄部的懸蹄高度顯著低於對側患有牛蹄病者；5 分是嚴重蹄病 (跛腳)，站立 (痛腳不敢著地狀) 及行走時 (步伐蹣跚) 背脊線呈現彎曲弧線，拒絕移動且不願將大部分的重量施於該腿。

IV. 統計分析

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，再以 stderr pdiff 法比較各組平均值間差異之顯著性。

結果與討論

圖 1 為試驗期間 4 月份至 7 月份之平均 THI，其分別為：4 月份平均 73.9 ± 6.2 、5 月份 79.2 ± 3.9 、6 月份平均 82.0 ± 3.9 及 7 月份 81.5 ± 3.4 。其結果與張等 (2017a) 及 (2017b) 所測得 4 至 7 月份之溫濕度指數相似。對泌乳牛來說，當 THI 大於 72 時，即表示動物處於熱緊迫狀態，而當 THI 值介於 80 至 89，牛隻處於中度熱緊迫狀態 (West, 1995; Chase, 2006)，其症狀包括增加牛隻流涎量、呼吸速率、飲水量及體溫，同時降低採食量、乳量及繁殖效率等。臺灣每年自 3 至 5 月份為梅雨季節天氣常陰雨連綿，且 7 至 8 月份常有颱風以及雷陣雨 (俗稱西北雨)，使畜舍潮濕再加上此段期間的畜舍溫度平均皆高於 25°C 。因此從本試驗顯示，臺灣南部每年 4 至 7 月份，牛隻可能皆處於輕度緊迫 ($72 \leq THI < 79$) 至中度熱緊迫 ($80 \leq THI < 89$) 的狀態。研究報告也指出，高溫多濕下畜舍即使使用降溫設備，牛隻仍遭受熱緊迫狀態 (Du *et al.*, 2007; Shiao *et al.*, 2011)。因此，此段飼養期間也可能是臺灣南部酪農業者需要面臨如何降低泌乳牛熱緊迫的重要時刻。

飼糧補充有機鋅、銅與錳對泌乳牛於高溫濕度指數下行動分數之結果，如圖 2。結果顯示，飼糧補充鋅、銅及錳對餵飼後 30、60、90 及 120 天之牛行動分數較對照組可分別減少 0.47、0.50、0.60 及 0.60 單位，顯示飼糧補充有機鋅、銅及錳可能有助改善牛隻腳蹄健康。牛隻行動分數 (locomotion score) 是一種分級方式，主要是用來判定牛隻行走時的跛腳嚴重程度。根據正在使用的行動分數評分方法，評估者必須評估多達 7 個特徵。但是大多數行動分數評分方法使用 3 到 5 個性狀，包括不對稱的步態 (asymmetric gait)、不願承擔重量 (reluctance to bear weight)、背部拱起 (arched back)、頭部擺動 (head bobbing) 和前後腳追蹤點 (tracking up) (Schlageter-Tello *et al.*, 2014)。因此行動分數的評分在飼養管理上可被用來作為牛隻腳蹄是否健康重要紀錄之一 (Whay, 2002; Flower and Weary, 2006)。鋅主要參與腳蹄真皮的健康與促進傷口的癒合 (Underwood, 1977)。且鋅在角質化 (keratinisation) 過程中，特別是催化 (catalytic)、結構 (structural) 和調節 (regulatory) 功能中扮演三個關鍵角色 (Cousins, 1996)。銅 (copper) 參與許多酶的活化。角質化角細胞中最重要的是硫醇氧化酶 (thioloxidase)。這種酶負責形成角蛋白絲半胱氨酸殘基之間的雙硫

鍵 (O'Dell, 1990)，為角化細胞基質提供了結構強度和剛性 (rigidity)。銅是細胞色素 C 氧化酶參與細胞有氧呼吸的活化所必需的，如果缺乏，可能限制分化角質形成細胞的能量供應 (Linder, 1996)，並產生角蹄病變。錳 (manganese) 在角質化中起間接作用，主要作為丙酮酸羧化酶 (pyruvate carboxylase) 關鍵酶系統的活化劑 (Tomlinson *et al.*, 2004)，此酵素主要是參與能量的產生。因此，鋅、銅及錳可能在腳蹄健康上面扮演者相互協同的重要角色。

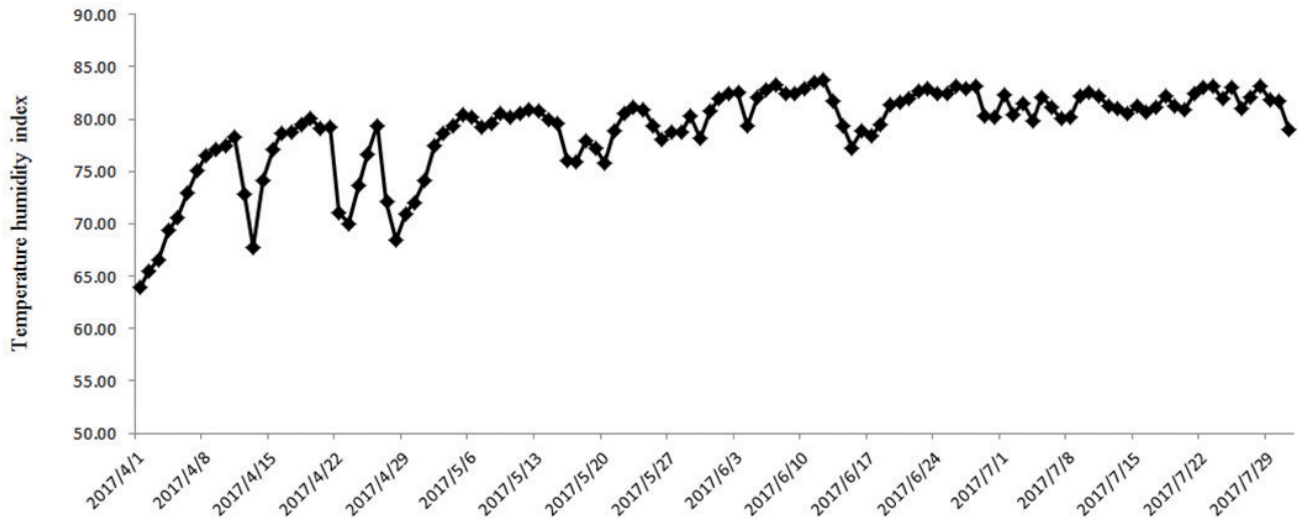


圖 1. 2017 年 4 至 7 月份牛舍室內溫溼度指數圖之變化 (平均值 \pm SD)。

Fig. 1. Daily barn average temperature-humidity index from April to July in 2017 (means \pm SD).

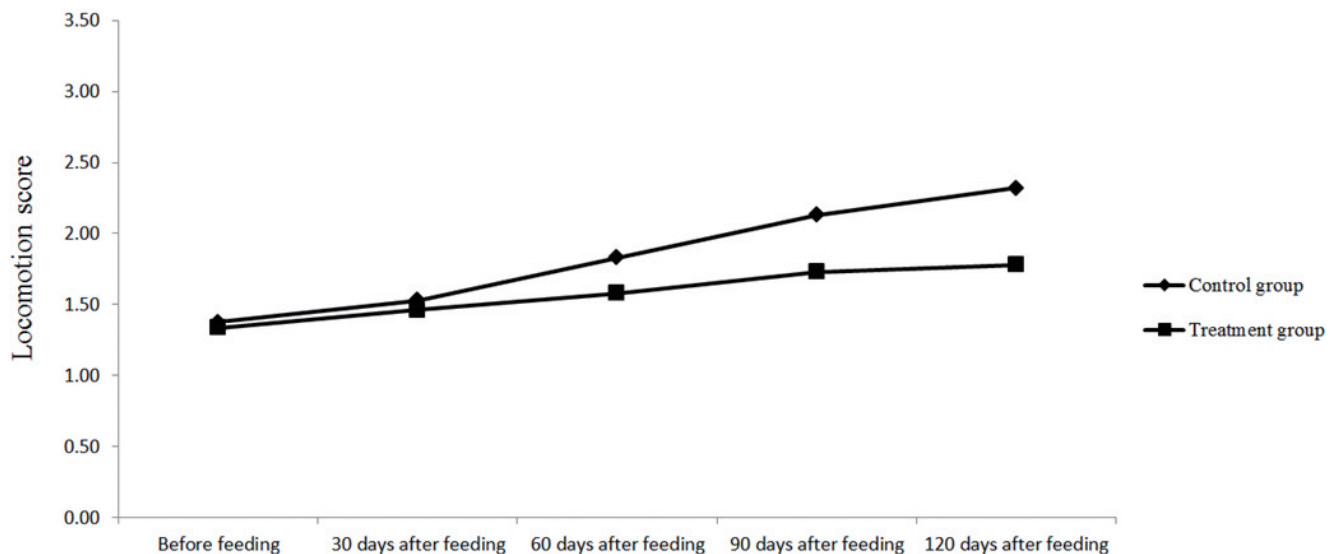


圖 2. 飼糧中補充鋅銅錳對高溫溼度指數下 (> 72) 荷蘭泌乳牛行動分數之影響 (平均值 \pm SD)。

Fig. 2. Effect of Zn, Cu, and Mn supplementation on locomotion score of Holstein dairy cows under THI above 72 (means \pm SD).

乾物質採食量部份 (圖 3)，顯示不論是對照組或試驗組均隨著飼養天數增加，即溫濕度指數增加 (圖 1)，其牛隻乾物質採食量有下降之趨勢。但於每一階段試驗組 (補充鋅、銅及錳) 的乾物質採食量則有較對照組為高的趨勢。此部分可能是因為飼糧中補充鋅銅錳有助於泌乳牛隻行動分數，即改善腳蹄健康，進而提高牛隻乾物質採食量。但是對牛隻產乳量 (圖 4) 及體重 (圖 5) 無明顯差異。Ballantine *et al.* (2002) 於經產泌乳牛飼糧中每天每頭補充有機型式 (鋅銅錳以胺基酸螯合，而鈣以葡萄糖酸鹽螯合) 或無機型式 (以硫酸鹽螯合) 的鋅 360 mg、125 mg 銅、錳 200 mg 及鈣 12 mg，發現補充有機型式的鋅、銅、錳與鈣，有提升產乳量及改善腳蹄硬度，且以有機形式補充較以無機形式補充有增加乾物質採食量的趨勢。其螯合型式相同的產品應用在分娩前 3 週開始補充至分娩後 35 週

(Siciliano-Jones *et al.*, 2008)，發現也並未對產乳量產生影響，但是補充有機鋅、銅與錳也具有改善牛隻腳蹄的完整性 (claw integrity)。Bach *et al.* (2015) 比較有機型式與無機型式的鋅、銅、錳與鈷對泌乳牛隻行動分數與乳產量之影響，結果指出添加以有機型式的鋅、銅、錳與鈷有較少的牛隻跛腳 (lameness) 比例，進而改善牛隻腳蹄健康，但是試驗處理對產乳量無明顯影響。不過該試驗結果發現試驗處理與泌乳期期間有顯著的交感效應，即添加有機型式的鋅、銅與錳於泌乳期第一個月有高的產乳量。因此，該作者也指出增加泌乳早期牛隻的比例，並部分使用有機型式的鋅、銅與錳進行取代對乳產量的潛在反應將更加明顯。不過有許多研究顯示，當飼糧補充有機礦物質能改善產犢後 240 天的乳產量 (Ballantine *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2007)。Zhao *et al.* (2015) 於泌乳早期之健康牛群 (行動分數為 1 及 2 分) 或跛腳 (lameness, 行動分數為 3、4 及 5 分) 的泌乳牛群飼糧中補充 180 天的有機或無機型式的鋅 (50 mg/kg 乾物質)、銅 (12 mg/kg 乾物質) 及的錳 (20 mg/kg 乾物質)，發現乾物質採食量未受到有無跛腳或補充型式產生影響，但是補充有機鋅、銅與錳有提高產乳量之趨勢，且跛腳牛隻的腳蹄硬度 (hoof hardness) 也隨飼糧中補充有機鋅、銅與錳使試驗第 90 及 180 天有明顯的增加，該作者也指出飼糧中補充有機鋅、銅與錳可有助改善泌乳牛群的腳蹄健康。

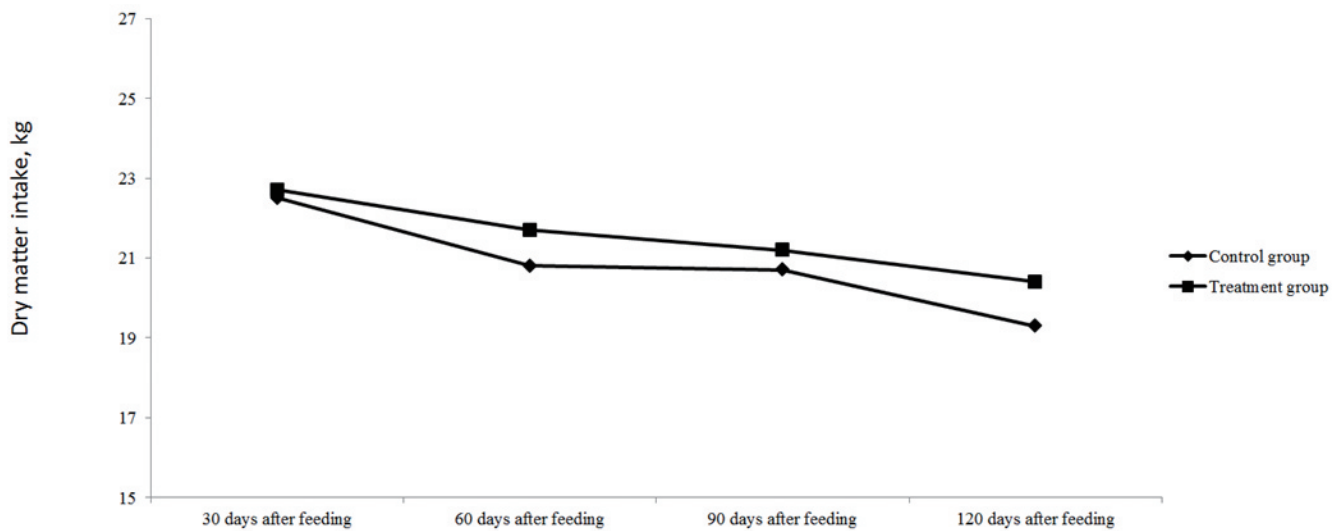


圖 3. 飼糧中補充鋅銅錳對高溫溼度指數下 (> 72) 荷蘭泌乳牛乾物質採食量之影響 (平均值 \pm SD)。

Fig. 3. Effect of Zn, Cu, and Mn supplementation on dry matter intake of Holstein dairy cows under THI above 72 (means \pm SD).

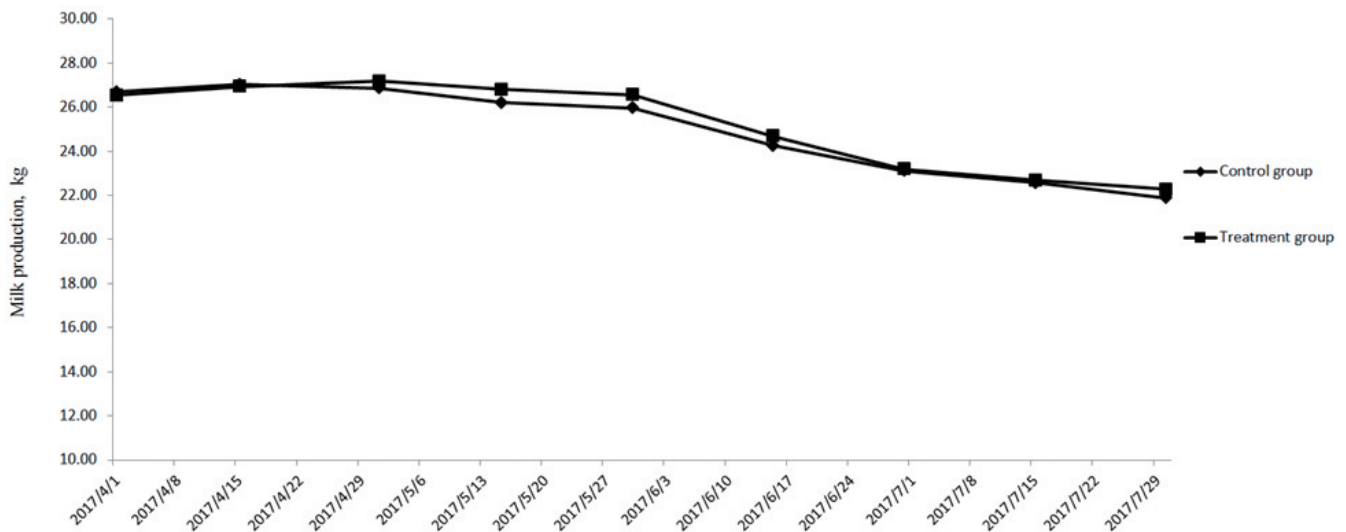


圖 4. 飼糧中補充鋅銅錳對高溫溼度指數下 (> 72) 荷蘭泌乳牛乳產量之影響 (平均值 \pm SD)。

Fig. 4. Effect of Zn, Cu, and Mn supplementation on milk production of Holstein dairy cows under THI above 72 (means \pm SD).

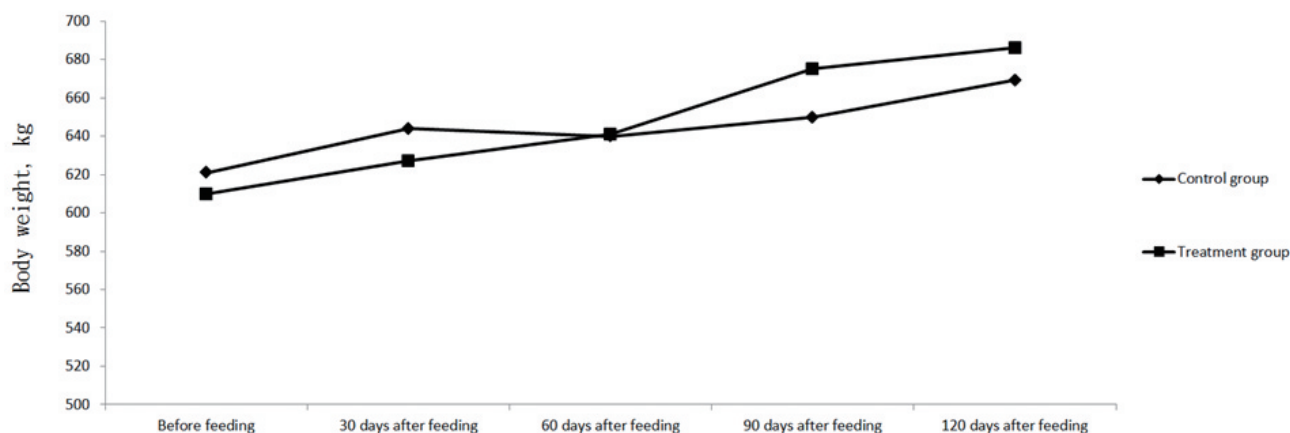


圖 5. 飼糧中補充鋅銅錳對高溫溼度指數下 (> 72) 荷蘭泌乳牛體重之影響 (平均值 \pm SD)。

Fig. 5. Effect of Zn, Cu, and Mn supplementation on body weight of Holstein dairy cows under THI above 72 (means \pm SD).

結 論

高溫多濕指數環境下 (大於 72)，飼糧補充有機鋅、銅及錳可能有助提高牛隻乾物質採食量的現象，同時也降低牛隻行動分數，即改善牛隻腳蹄健康。本試驗之結果可提供酪農於高溫濕度指數期間 (大於 72)，牛隻飼養管理之改善與牛隻營養補充之參考依據。

誌 謝

本試驗承行政院農業委員會經費補助 106 農科 -2.1.1- 畜 -L2(1)，試驗期間承畜產試驗所產業組同仁的現場飼養管理及營養組的飼料化驗分析，謹致謝忱。

參考文獻

- 張俊達、蕭宗法、楊德威、歐修汶、林義福、李春芳、蔡銘洋、王思涵。2017a。飼糧中添加維生素 C 與鐵對梅雨期間荷蘭泌乳牛泌乳與血液性狀之影響。臺灣農學會報 18(1)：30-42。
- 張俊達、蕭宗法、楊德威、歐修汶、林義福、李春芳、蔡銘洋、王思涵。2017b。飼糧中添加維生素 C 與鐵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 18(2)：97-111。
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists International). 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. USA.
- Bach, A., A. Pinto and M. Blanch. 2015. Association between chelated trace mineral supplementation and milk yield, reproductive performance, and lameness in dairy cattle. Livest. Sci. 182: 69-75.
- Ballantine, H. T., M. T. Socha, D. J. Tomlinson, A. B. Johnson, A. S. Fielding, J. K. Shearer and S. R. Van Amstel. 2002. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. Prof. Anim. Sci. 18: 211-218.
- Brujinis, M. R., H. Hogeveen and E. N. Stassen. 2010. Assessing economic consequences of foot disorders in dairy cattle using a dynamic stochastic simulation model. J. Dairy Sci. 93: 2419-2432.
- Cha, E., J. A. Hert, D. Bar and Y. T. Gröhn. 2010. The cost of different types of lameness in dairy cows calculated by dynamic programming. Prev. Vet. Med. 97: 1-8.
- Chase, L. E. 2006. Climate change impacts on dairy science. In: Climate Change and Agriculture: Promoting Practical and Profitable Responses, Baltimore, MD, USA. pp. 17-23.
- Cousins, R. J. 1996. Zinc. In: Ziegler, E. E., Filer Jr., L. J. (Eds.), Present Knowledge in Nutrition Seventh ed., Washington, DC. USA. pp. 293-306.
- Du, H. F., A. L. Dou, and W. Yang. 2007. Physiological variation of heat-stressed dairy cow and alleviating measures. Chin. J. Hus. 43: 59-62.

- Griffiths, L. M., S. H. Loeffler, M. T. Socha, D. J. Tomlinson and A. B. Johnson. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137: 69-83.
- Hahn, G. L., T. Mader, D. Spiers, J. Gaughan, J. Nienaber, R. Eigenberg, T. Brown-Brandl, Q. Hu, D. Griffin, L. Hungerford, A. Parkhurst, M. Leonard, W. Adams and L. Adams. 2001. Heat wave impacts on feedlot cattle: Considerations for improved environmental management. in *Proc. 6th International Livestock Environment Symposium.*, American Society of Agricultural and Engineering, St. Joseph, MI, USA. pp. 129-130.
- Harrington, J. A. and E. Bowles. Jr. 2004. A climatology of hourly THI values for livestock producers. 14th Conference on Applied Climatology. Poster Session 1-12, The 84th AMS Annual Meeting. Seattle, WA. USA.
- Huxley, J. N. 2013. Impact of lameness and claw lesions in cows on health and production. *Livest. Sci.* 156: 64-70.
- Linder, M. C. 1996. In: Copper, E. E., Ziegler, Filer Jr., L. J. (Eds.), *Present Knowledge in Nutrition Seventhed.*, ILSI Press, Washington, DC. USA. pp. 307-319.
- Madadzadeh, T., M. Nouri and I. Nowrouzian. 2013. Breed and season effects on the claw lesions of dairy cows in Ardebil, Iran. *Anim. Vet. Sci.* 1: 46-50.
- Mader, T. L. 2003. Environmental stress in confined beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81: E110-E119.
- Miller, J. K., N. Ramserm and F. C. Madsen. 1988. The trace elements. *The Ruminant Animal*. D. C. Church, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. USA. pp. 342-400.
- 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.
- Nazirolu, M. and V. A. Yürekli. 2013. Effects of antiepileptic drugs on antioxidant and oxidant molecular pathways: Focus on trace elements. *Cell Mol. Neurobiol.* 33: 589-599.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th eded. Washington, D. C. National Academy Press.
- O'Dell, B. L. 1990. Copper. In: Brown, M. L. (Ed.), *Present Knowledge in Nutrition sixthed.*, ILSI Press, Washington, DC. USA. pp. 261-267.
- Sanders, A. H., J. K. Shearer, and A. De Vries. 2009. Seasonal incidence of lameness and risk factors associated with thin soles, white line disease, ulcers, and sole punctures in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92: 3165-3174.
- SAS. 2002. *SAS User's guide: basics*, 2002 edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Schlageter-Tello, A., E. A. M. Bokkers, P. W. G. G. Koerkamp, T. Van Hertem, S. Viazzi, C. E. B. Romanini, I. Halachmi, C. Bahr, D. Berckmans and K. Lokhorst. 2014. Manual and automatic locomotion scoring systems in dairy cows: A review. *Prev. Vet. Med.*, 116: 12-25.
- Shiao, T. F., J. C. Chen, D. W. Yang, S. N. Lee, C. F. Lee and 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.
- Siciliano-Jones, J. L., M. T. Socha, D. J. Tomlinson and J. M. DeFrain. 2008. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity, and fertility of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91: 1985-1995.
- Sprecher, D. J., D. E. Hostetler and J. B. Kaneene. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 47: 1178-1187.
- Tomlinson, D. J., C. H. Mülling and T. M. Fakler. 2004. Invited review: Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87: 797-809.
- Underwood, E. J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Fourth ed. Academic Press, NY. USA.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- West, J. W. 1995. Managing and feeding lactating dairy cows in hot weather. Bulletin 956/1995. The University of Georgia and Ft. Valley State College, the U.S.D.A. and Counties of the State Cooperating, USA.
- Whay, H. 2014. Locomotion scoring and lameness detection in dairy cattle. In *Pract.* 24: 444-449.
- Zhao, X. J., Z. P. Li, J. H. Wang, X. M. Xing, Z. Y. Wang, L. Wang and Z. H. Wang. 2015. Effects of chelated Zn/Cu/Mn on redox status, immune responses and hoof health in lactating Holstein cows. *J. Vet. Sci.* 16(4): 439-446.

Effect of Zn and Cu and Mn supplementation on locomotion score and performance of Holstein cows under high temperature-humidity index ⁽¹⁾

Chun-Ta Chang ⁽²⁾ Tzong-Faa Shiao ⁽²⁾ Szu-Han Wang ⁽⁴⁾ Ling-Tsai Wu ⁽²⁾⁽⁵⁾
Ming-Yang Tsai ⁽²⁾ Churng-Faung Lee ⁽³⁾ and Yih-Fwu Lin ⁽²⁾

Received: Jan. 19, 2018; Accepted: Feb. 14, 2018

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of dietary supplementation of organic form of Zn, Cu and Mn on locomotion score, dry matter intake, milk yield, and body weight of Holstein lactating cows under high Temperature-Humidity Index (THI) above 72. From April to July, a total of 24 Holstein lactating cows were randomly divided into two groups according to their body weight, milk yield, parity and days in milk. Cows received diets with adding 0 (control) and 360 mg zinc, 125 mg copper, and 200 mg manganese (head/day) respectively. The barn environmental parameters (including temperature, humidity and calculated THI), feed intake of cattle dry matter, locomotion score (5 points), body weight and milk yield were collected monthly for 4 months. The results showed that the THI in barn from April to July were 73.9 ± 6.2 , 79.2 ± 3.9 , 82.0 ± 3.9 and 81.5 ± 3.4 , respectively. Diet with organic zinc, copper and manganese supplementation decreased locomotion score while dry matter intake was increased with the continuous supplementation of organic zinc, copper and manganese for 30 and 60, 90 and 120 days. Milk yield and body weight were not affected by adding organic zinc, copper and manganese. In conclusion, Diets with organic zinc, copper and manganese supplementation might improve dry matter intake and hoof health of Holstein dairy cows under high THI.

Key words: Holstein lactating cows, Locomotion score, Organic copper, Organic manganese, Organic Zinc, Temperature-humidity index.

(1) Contribution No. 2588 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

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

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

盤固草生物炭的特性研究與對牧草生長的影响⁽¹⁾

王紓愍⁽²⁾⁽³⁾ 劉信宏⁽²⁾ 游翠凰⁽²⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：107 年 3 月 26 日；接受日期：107 年 5 月 4 日

摘 要

本研究的目的是為了解畜試所生產的盤固草生物炭（簡稱草炭）特性，以及對不同牧草生產及土壤上的影響，做為後續研究的參考。草炭是以不適用的廢乾草，經炭窯炭化而成（溫度介於 450 – 550℃ 間，時間約 5 – 7 小時），炭製成率約 20%。草炭的平均 pH 值為 9.6、電導度 (EC) 為 5.0 ms/cm、碳含量為 64.2%、氮含量為 1.7%、磷含量為 2.0%、鉀含量為 3.8%、灰分為 12.9%，碘值與亞甲藍值分別為 469.8 mg/g 及 15.0 mg/g。將製成之盤固草炭分別施用於青割玉米、苜蓿及盤固草三種牧草的草地，結果顯示，牧草炭對當期作青割玉米 (1 kg/m²) 及苜蓿累積產量 (2 kg/m²) 都有促進生長的效果，但對盤固草則無反應；同時，不論牧草種類，施用草炭均顯著增加土壤有機質含量，顯示盤固草炭具有增加牧草地的碳蓄積效果。本研究結果可以做為農業廢棄物資源化利用與循環農業之參考。

關鍵詞：生物炭、牧草、土壤改良、碳固定。

緒 言

由聯合國氣候變遷小組 (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC) 2013 年的報告，地表持續升溫，陸域與海域的平均溫度在 1880 – 2012 年間，合計已升溫 0.85℃。2011 年二氧化碳、甲烷、氧化亞氮的濃度超出工業時代前分別為 40%、150%、20%，造成包括海平面上升、極端氣候頻度增加等現象，對自然與社會各個層面影響深遠。面對氣候變遷的事實，各領域專家均各自提出不同的因應方法，碳封存或碳固定 (carbon sequestration) 即其一。以農業的角度，利用植林、輪作、不整地栽培、有機耕作等方法均可捕捉 CO₂ 並貯存於植體或土壤中 (林及柳, 2009; McConkey, *et al.*, 2003; Pimentel *et al.*, 2005; Komatsuzaki and Syuaib, 2010)。但同時農業操作也可能造成溫效氣體的釋放 (Follett, 2001; Franzluebbers, 2005)，因此農業的減碳措施常受各種內外條件的影響，不一定能發揮預期的效果。近年歐美新興的研究議題是利用生物炭 (biochar) 改善耕地，欲藉此措施同時達到土壤改良及碳蓄積 (carbon sink) 的效用 (Sohi *et al.*, 2010; Fischer and Glaser 2012)。

熱裂解 (pyrolysis) 是人類很早就開始發展的炭化技術，近年因石油短缺與溫效氣體減量等議題而重受注意，是第二代生質能源發展的方向之一 (Jahirul *et al.*, 2012)。熱裂解技術是指在缺氧的環境中，加熱生質物質 (biomass) 以生產裂解油及生質焦炭。加熱速率、溫度和生質物在裂解反應器的滯留時間是決定熱裂解反應的三個重要參數。除熱裂解反應外，氣化與悶燒下也都會有焦炭產生。生物炭與煤炭、焦炭、木炭等物質的本質類似，均為生質物質經自然或人為熱裂解反應的固體產物。生物炭是較晚近出現的名稱，主要是指那些應用於農業或土壤改良等方面的熱裂解固體產物，此類物質一般具有多孔隙、比表面積大以及不易分解的特性 (Sohi *et al.*, 2010)，因此適於進行土壤改良及增加土壤碳匯。多數的研究顯示生物炭具備良好的土壤改良效果並有助於農業生產 (Sohi *et al.*, 2010; Jeffery *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2012; Rogovska *et al.*, 2014; Subedi *et al.*, 2016)，但因各種生物炭的特性以及試驗條件不一，詳細的機制與效益評估仍需更多的研究。

盤固乾草是重要的國產芻料，然而因為調製過程的天候因素或倉儲問題，每年都有部分草包無法利用，因此，畜試所自行開發牧草炭窯生產盤固草炭（以下簡稱草炭），以提高廢棄草包之附加價值。本研究目的即為了解畜試所自產草炭的特性及其對青割玉米、苜蓿及盤固草等國產牧草生產及土壤之影響，以進一步進行後續利用並評估碳蓄積情形與可能效益。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2589 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

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

材料與方法

- I. 草炭的生產：材料為畜試所恆春分所廢棄的盤固乾草，利用自行設計之炭化窯進行生產，炭化溫度約為 500℃。
- II. 草炭特性分析：包括 pH 值、電導度 (EC)、組成含量 (碳、氮、磷、鉀、鈣、鎂、銅、鋅及灰份)、比表面積 (BET) 及吸附性 (0.1 N 碘溶液及 100 ppm 亞甲藍吸附性)。pH 及 EC 為草炭 / 蒸餾水 (1/1) 萃取後之測值。碳以總碳分析儀測定。氮、磷、鉀、鈣、鎂、銅、鋅等元素分析是利用濃硫酸及雙氧水，於 400℃ 高溫分解至澄清，稀釋定量後保存於冰箱中，再分別經凱式氮測定儀測定總氮，磷以鉬藍法呈色後以分光光度計測定，鉀、鈣、鎂、銅、鋅則以原子光譜儀測定。灰分為 600℃ 下 6 小時的殘存重量比。比表面積委託臺大化工系粉粒體實驗室測定 (Micromeritics ASAP 2010)。吸附性測定分別進行 0.1 N 碘液及 100 ppm 亞甲藍經 16 小時的吸附量。
- III. 草炭對牧草生長的影響：
 - (i) 青割玉米：以恆春分所青割玉米品系試驗的三個區集設置為本試驗的三個處理：對照 (CK，不施用草炭)、低草炭 (T1, 1 kg/m²) 及高草炭 (T2, 2 kg/m²)，並以 4 個青割玉米品系為重複，於整地時將草炭均勻混入土中。除此之外，所有栽培管理均依原本品系試驗方式進行，種植前以臺肥二號 (N : P₂O₅ : K₂O = 11 : 9 : 18, 400 kg/ha) 為基肥，中耕培土再追施 200 kg/ha。試驗由 103 年 2 月 17 日種植 (春作)，5 月 30 日收穫調查，收穫之後重新整地再於相同田間進行相同的試驗，調查連作的效果，種植至調查期間為 6 月 24 日至 9 月 11 日 (夏作)。土壤於草炭施用前後分別取樣，測定土壤狀況。
 - (ii) 苜蓿：試驗於畜試所恆春分所苜蓿新植田區進行，處理包括對照 (CK，不施用)、低草炭 (T1, 1 kg/m²) 及高草炭 (T2, 2 kg/m²) 三種，三重複，小區排列採拉丁方設計，每一小區為 4 m²，每一小區周圍有 1 m 寬的緩衝區。田區整地後，將各區處理均勻施入土中，播種後依分所慣行方式進行苜蓿的田間管理 (不施肥，僅於必要時進行噴灌)，待植株生長至約 50 公分高度開始刈割調查苜蓿生長量，調查方式為坪割 1 平方米之地上部，調查之後將整個試區全區刈割，使苜蓿重新生長。苜蓿重生期間依舊不施肥，只視田間含水情形適度噴灌。自 102 年 9 月 26 日播種後至 104 年 10 月 23 日止共進行 12 次調查。土壤於草炭施用前後分別取樣，測定土壤狀況。
 - (iii) 盤固草：試驗於長年生長的盤固草地上進行，處理包括對照 (CK，不施用草炭及肥料)、化學肥料 (F，臺肥 1 號，N : P₂O₅ : K₂O = 20 : 5 : 10, 100 kg/ha)、草炭 (B, 2 kg/m²)、草炭加肥料 (BF, 2 kg/m² 草炭加 100 kg/ha 化肥)，4 重複，試區設置採 RCBD 設計，小區面積 4 m²，每試區與相鄰試區周圍相隔 1 m 之緩衝帶。處理方式為草地刈割後，將處理平均撒施試區表面，調查方式如苜蓿草地。試驗於 103 年 6 月 10 日進行處理，至 105 年 7 月 15 日止共進行 6 次調查，每次刈割收穫後 F 及 BF 處理均施用臺肥 1 號 100 kg/ha。土壤於草炭施用前後分別取樣，測定土壤狀況。
- IV. 土壤取樣及分析：土壤取樣：每試區於中心及對角 4 點各取一個 15 cm 土樣，去除碎石、殘株等雜物後混合風乾，風乾土以 2 mm 過篩後進行各項分析。分析項目含 pH、EC、有效性磷、鉀、鈣、鎂、總氮、總碳及有機質含量。
- V. 統計分析：試驗結果以 SAS 軟體 (SAS, 2002, ver.9) 之 GLM Procedure 進行變方分析，各組效應均為固定型，以鄧肯氏法 (Duncan's test) 測驗處理間的差異顯著性。

結果與討論

I. 草炭生產及特性分析

本研究之炭化方式為慢速熱裂解，炭窯及製程是依草炭生產目的自行設計，可以穩定的將盤固草廢草轉變為草炭，炭窯溫度介於 450 — 550℃ 間，炭化時間約 5 — 7 小時，炭製成率約 20% (in wt%)。草炭的組成分析如表 1，其平均 pH 值為 9.6、EC 為 5.0 ms/cm、碳含量為 64.2%、氮含量為 1.7%、磷含量為 2.0%、鉀含量為 3.8%、灰份為 12.9%，其中以 EC、鎂、磷、碳及鉀等項目的變異性較大，變異係數分別為 38.9%、24.5%、20.4%、20.0% 及 19.7%。碘值及亞甲藍吸附如圖 1，平均的碘值與亞甲藍值分別為 469.8 mg/g 及 15.0 mg/g。比表面積 (BET) 測定結果分別為 35.0 ± 1.4 m²/g 及 222.7 ± 5.3 m²/g。

II. 草炭對青割玉米、苜蓿及盤固草生產的影響

草炭對青割玉米的試驗結果如表 2，春作的結果顯示施用草炭的乾物產量顯著優於對照，低草炭處理的產量

表 3. 生物炭對春作青割玉米試驗前後的土壤分析

Table 3. Soil analysis for forage corn before and after applying biochar in spring cropping

Item	Treatment	Control		Biochar, 1 kg/m ²		Biochar, 2 kg/m ²	
		Before	After	Before	After	Before	After
pH		7.4	7.6	7.5	7.5	7.4	7.5
EC, $\mu\text{S}/\text{cm}\mu$		546.0	504.0	542.5	479.0	620.0	531.5
Exchangeable phosphorous, ppm		104.5	105.9	93.7	112.0	90.8	110.5
Exchangeable potassium, ppm		438.0	556.3	470.0	582.5	447.0	642.5
Exchangeable calcium, ppm		2,564.0	2,746.3	3,383.0	2,793.8	2,285.0	2,670.0
Exchangeable magnesium, ppm		223.8	226.3	295.0	236.3	275.0	235.0
Total nitrogen, ppm		4,341.7 ^a	2,268.0 ^b	3,711.8 ^a	2,515.3 ^b	4,156.2 ^a	2,460.5 ^b
Total carbon, %		2.6 ^b	2.4 ^b	2.7 ^{ab}	2.7 ^{ab}	2.5 ^b	2.9 ^a
Organic matter, %		4.4 ^b	4.1 ^b	4.6 ^{ab}	4.7 ^{ab}	4.3 ^b	5.0 ^a

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

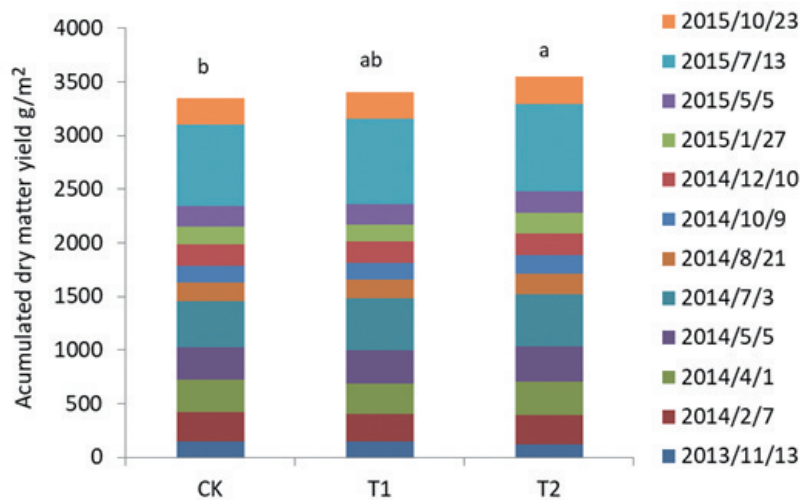


圖 2. 草炭對苜蓿乾物產量的影響。

CK：對照，不施草炭；T1：1 kg/m² 草炭；T2：2 kg/m² 草炭。

Fig. 2. The effects of pangolagrass biochar on dry matter yields of alfalfa.

CK: control, no biochar; T1: biochar, 1 kg/m²; T2: biochar, 2 kg/m².

表 4. 生物炭對苜蓿試驗前後的土壤分析

Table 4. Soil analysis for alfalfa before and after applying biochar in the field

Item	Treatment	Control		Biochar, 1 kg/m ²		Biochar, 2 kg/m ²	
		Before	After	Before	After	Before	After
pH		7.2 ^{ab}	7.1 ^{bc}	7.4 ^a	7.3 ^{ab}	7.3 ^{ab}	6.9 ^c
EC, $\mu\text{S}/\text{cm}\mu$		366.5 ^b	579.7 ^a	348.0 ^b	568.8 ^a	339.5 ^b	573.3 ^a
Exchangeable phosphorous, ppm		34.7	29.6	26.2	32.4	32.2	32.3
Exchangeable potassium, ppm		222.5 ^b	457.3 ^a	221.2 ^b	482.0 ^a	221.7 ^b	482.7 ^a
Exchangeable calcium, ppm		2,727.1	2,730.7	2,724.6	2,881.3	2,862.5	2,599.3
Exchangeable magnesium, ppm		233.8	221.3	217.1	228.0	244.6	229.3
Total nitrogen, ppm		3,538.5 ^a	2,559.1 ^b	3,529.2 ^a	2,595.3 ^b	3,473.8 ^a	2,807.0 ^b
Total carbon, %		2.3 ^b	2.2 ^b	2.2 ^b	3.9 ^a	2.2 ^b	4.2 ^a
Organic matter, %		4.0 ^b	3.9 ^b	3.8 ^b	6.7 ^a	3.9 ^b	7.3 ^a

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

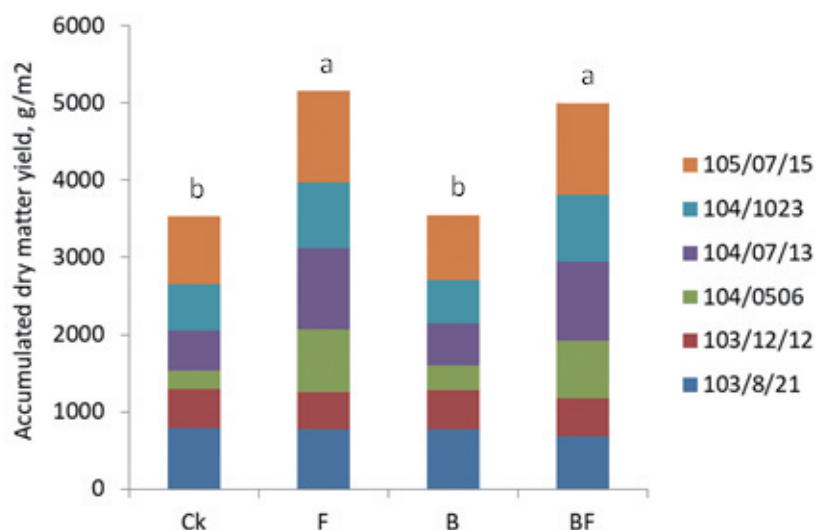


圖 3. 草炭對盤固草乾物產量的影響。

CK：對照，不施草炭及化學肥料；F：化學肥料；B：2 kg/m² 草炭；BF：化學肥料及 2 kg/m² 草炭。

Fig. 3. The effects of pangolagrass biochar on dry matter yields of pangolagrass.

CK: control, no biochar and no chemical fertilizer; F: chemical fertilizer; B: biochar, 2 kg/m²; BF: 2 kg/m² biochar and chemical fertilizer.

表 5. 生物炭對盤固草試驗前後的土壤分析

Table 5. Soil analysis for pangolagrass before and after applying biochar in the field

Item	Control		Fertilizer		Biochar		Biochar & Fertilizer	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
pH	7.2 ^a	6.8 ^{ab}	6.8 ^{ab}	6.6 ^b	6.9 ^{ab}	6.7 ^{ab}	6.8 ^{ab}	6.5 ^b
EC, $\mu\text{S}/\text{cm}\mu$	370.8 ^{ab}	520.8 ^a	319.9 ^b	461.1 ^{ab}	360.3 ^{ab}	504.5 ^a	202.2 ^b	430.6 ^{ab}
Exchangeable phosphorous, ppm	23.0	23.0	27.8	24.3	28.5	30.2	26.8	28.9
Exchangeable potassium, ppm	216.0 ^a	126.8 ^b	224.3 ^a	119.8 ^b	222.3 ^a	126.8 ^b	239.8 ^a	119.8 ^b
Exchangeable calcium, ppm	2,797.4 ^{ab}	3,070.5 ^a	2,777.9 ^{ab}	2,776.0 ^{ab}	2,627.4 ^{ab}	2,805.3 ^{ab}	2,438.6 ^b	2,645.0 ^{ab}
Exchangeable magnesium, ppm	168.1	176.3	204.2	186.3	175.8	183.8	190.8	198.8
Total nitrogen, ppm	1,466.8	1,456.0	1,514.6	1,375.9	1,489.8	1,506.8	1,383.4	1,407.0
Total carbon, %	1.7 ^b	2.0 ^{ab}	1.8 ^b	2.0 ^{ab}	1.8 ^b	2.3 ^a	1.7 ^b	2.3 ^a
Organic matter, %	3.0 ^b	3.5 ^{ab}	3.0 ^b	3.4 ^{ab}	3.1 ^b	3.9 ^a	2.9 ^b	4.0 ^a

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

III. 討論

生物炭的特性取決於材料特性及炭化條件，特別是最高炭化溫度 (highest treatment temperature, HTT) 與炭化時間，不同的條件將造就非常不同的結果 (Krull *et al.*, 2009)。圖 4 為本研究之盤固草炭對應美國加州大學戴維斯分校生物炭資料庫的比對情形 (University of California, Davis, Biochar database, <http://biochar.ucdavis.edu/graph-data/>)，顯示畜試所自行生產的盤固草炭組成與該資料庫多數之草類生物炭相似。Purakayastha *et al.* (2015) 的研究顯示，在相同炭化條件 (400°C 炭窯) 下生產的玉米、珍珠粟、小麥及水稻稈稈生物炭的元素組成雖相似，但在土壤礦化速度、土壤微生物活性及影響土壤養分利用等多種特性上仍具明顯的物種間差異，顯示不同物種的炭化產物仍具各自特殊的鍵結特性。除物種外，一般而言，生物炭的土壤穩定性與炭化溫度有關，炭化溫度愈高，直鍵碳及氧、氫的比例愈低，愈不容易分解，而低溫炭在土壤中的穩定性相對較低 (Peng *et al.*, 2011; Bruun *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2015; Purakayastha *et al.*, 2016)。依資料庫及多數文獻所述，本研究之對象—盤固草炭應屬低溫生物炭，是適用於土壤改良的生物炭。

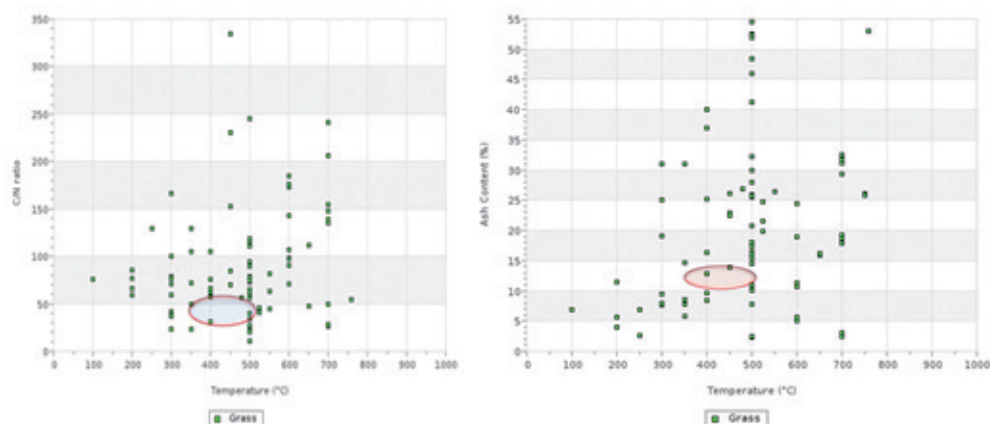


圖 4. 本試驗生產的牧草炭相較於美國生物炭資料庫中草炭的情形。左圖為熱裂解溫度與 C/N 比分布，右圖為熱裂解溫度與灰分含量分布。紅圈為盤固草炭的變動範圍。

Fig. 4. Comparison of pangolagrass biochar with biochar data base from UC Davis, USA. Left is pyrolysis temperature vs. C/N ratio, right is pyrolysis temperature vs. ash content. Red circles were the variation range of pangolagrass biochar.

Peng *et al.* (2011) 的研究顯示稻草生物炭對盆栽玉米的生長有促進效果，而 Borchard *et al.* (2014) 以三種不同條件的生物炭進行多種添加比例的試驗，則發現生物炭添加不具有促進玉米生長的效果。Butnan *et al.* (2015) 以高溫、低溫二種桉樹生物炭、二種土壤及四個施用量進行連續二次短時間的玉米生長試驗，發現生物炭類型、施用量、土壤性質、及期作時間均具顯著影響力，低溫生物炭的效果較高溫炭佳。應用生物炭於作物生長試驗的研究結果非常分歧，各別試驗所進行的條件不一，應是結果分歧的主因之一。Jeffery *et al.* (2011) 以 23 篇已出版研究報告及未發表論文等共計 177 種處理，進行生物炭施用效果的整合分析 (meta-analysis)，發現生物炭對作物生長具有顯著的正向效果 (增加 10%)。本研究中青割玉米與苜蓿的試驗結果同樣顯示施用草炭對這二種牧草的生長具正向效果，至於影響機制則尚待更進一步的研究。

參考文獻

- 林國慶、柳婉郁。2009。日本因應溫室氣體減量之森林資源經營管理政策分析。臺灣林業 43：42-48。
- Borchard, N., J. Siemens, B. Ladd, A. Möller and W. Amelung. 2014. Application of biochars to sandy and silty soil failed to increase maize yield under common agricultural practice. *Soil Till. Res.* 144: 184-194.
- Bruun, E. W., P. Ambus, H. Egsgaard and H. Hauggaard-Nielsen. 2012. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics. *Soil Bio. Biochem.* 46: 73-79.
- Butnan, S., J. L. Deenik, B. Toomsan, M. J. Antal and P. Vityakon. 2015. Biochar characteristics and application rates affecting corn growth and properties of soils contrasting in texture and mineralogy. *Geoderma* 237-238: 105-116.
- Fang, Y., B. Singh and B. P. Singh. 2015. Effect of temperature on biochar priming effects and its stability in soils. *Soil Bio. Biochem.* 80: 136-145.
- Fischer D. and B. Glaser. 2012. Synergisms between compost and biochar for sustainable soil amelioration. In: *Management of organic waste*. ed. Dr. Sunil Kumar, pp. 167-198.
- Follett, R. T. 2001. Soil management concepts and carbon sequestration in cropland soils. *Soil Till. Res.* 61: 77-92.
- Franzluebbers, A. J. 2005. Soil organic carbon sequestration and agricultural greenhouse gas emissions in the southeastern USA. *Soil Till. Res.* 83: 120-147.
- IPCC. 2013. Working Group I Contribution to the IPCC Fifth Assessment Report Climate Change 2013: The Physical Science Basis Summary for Policymakers. http://www.climatechange2013.org/images/uploads/WGIAR5-SPM_Approved27Sep2013.pdf
- Jahirul, M. I., M. G. Rasul, A. A. Chowdhury and N. Ashwath. 2012. Biofuels production through biomass pyrolysis —A technological review. *Energies* 2012: 4952-5001.
- Jeffery, S., F. G. A. Verheijen, M. van der Velde and A. C. Bastos. 2011. A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agri. Ecosys. Environ.* 144: 175-187.

- Jones, D. L., J. Rousk, G. Edwards-Jones, T. H. DeLuca and D. V. Murphy. 2012. Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in a three year field trial. *Soil Bio. Biochem.* 45: 113-124.
- Komatsuzaki, M. and M. F. Syuaib. 2010. Comparison of the farming system and carbon sequestration between conventional and organic rice production in west Java, Indonesia. *Sustainability* 2: 833-843.
- Krull, E. S., J. A. Baldock, J. O. Skjemstad and R. J. Smernik. 2009. Characteristics of biochar: organo-chemical properties. In: *Biochar for environment management*. eds. Lehmann, J. and Joseph, S. Earthscan, London and Washington, D. C. pp. 53-63.
- McConkey, B. G., B. C. Liang, C. A. Campbell, D. Curtin, A. Moulin, S. A. Brandt and G. P. Lafond. 2003. Crop rotation and tillage impact on carbon sequestration in Canadian prairie soils. *Soil Till. Res.* 74: 81-90.
- Peng, X., L. L. Ye, C. H. Wang, H. Zhou and B. Sun. 2011. Temperature and duration-dependent rice straw-derived biochar: Characteristics and its effects on soil properties of an Ultisol in southern China. *Soil Till. Res.* 112: 159-166.
- Pimentel, D., P. Hepperly, J. Hanson, D. Douds and R. Seidel. 2005. Environmental, energetic, and economic comparisons of organic and conventional farming systems. *BioScience* 55: 573-582.
- Purakayastha, T. J., S. Kumari and H. Pathak. 2015. Characterisation, stability, and microbial effects of four biochars produced from crop residues. *Geoderma* 239-240: 293-303.
- Purakayastha, T. J., K. C. Das, J. Gaskin, K. Harris, J. L. Smith and S. Kumari. 2016. Effect of pyrolysis temperatures on stability and priming effects of C3 and C4 biochars applied to two different soils. *Soil Till. Res.* 155: 107-115.
- Rogovska, N., D. A. Laird, S. J. Rathke and D. L. Karlen. 2014. Biochar impact on Midwestern Mollisols and maize nutrient availability. *Geoderma* 230-231: 340-347.
- SAS. 2002. SAS version 9.00. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- Sohi, S. P., E. Krull, E. Lopez-Capel and R. Bol. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Adv. Agron.* 105: 48-82.
- Subedi, R., N. Taupe, I. Ikoyi, C. Bertora, L. Zavattaro, A. Schmalenberger, J. J. Leahy and C. Grignani. 2016. Chemically and biologically-mediated fertilizing value of manure-derived biochar. *Sci. Total Environ.* 550: 924-933.

The characteristics of pangolagrass biochar and its effect on forage production ⁽¹⁾

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

Received: Mar. 26, 2018; Accepted: May 4, 2018

Abstract

The purpose of this study was to investigate the characteristics of pangolagrass biochar produced by Hengchun Branch, Livestock Research Institute, and to find its effects on different kinds of forage production and soil properties. The biochar was made from spoiled pangolagrass hay. The kiln temperature was about 450-500°C and lasted for 5-7 hours. The biochar production rate was about 20%. The average value of pH was 9.6, electric conductivity (EC) 5.0 ms/cm, carbon content 64.2%, nitrogen content 1.7%, phosphorous content 2.0%, potassium content 3.8% and ash content 12.9%, respectively. The average iodine value and methylene blue value were 469.8 mg/g and 15.0 mg/g, respectively. Three kinds of forage production systems were tested in this study. Application of biochar could increase the dry matter yields of current cropped forage corn and increase the accumulated yield of alfalfa, but it had no effect on that of pangolagrass. By the way, the soil organic matters and carbon contents increased after applying biochar in all three forage production systems, which indicated carbon sink increased by these operations. The results of this study showed that spoiled hay was a good candidate material for biochar, and the biochar could be used to improve forage production, which might be a good model for recycling agricultural by-products.

Key words: Biochar, Forage, Soil amendment, Carbon sequestration.

(1) Contribution No. 2589 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

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

臺灣冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地 之經濟效益評估⁽¹⁾

梁世祥⁽²⁾⁽⁵⁾ 葉益男⁽³⁾ 王思涵⁽²⁾ 蕭振文⁽²⁾ 徐濟泰⁽⁴⁾ 吳榮杰⁽³⁾

收件日期：107 年 2 月 5 日；接受日期：107 年 5 月 17 日

摘 要

本研究之目的在探討冬季裡作種植芻料用燕麥之經濟效益，藉以活化休耕地。試驗調查分別於 2010 年 12 月在苗栗縣後龍鎮，以及 2015 年 11 月於彰化縣福興鄉二地的水旱田，於二期水稻收穫後休耕期間，進行冬季裡作芻料用燕麥生產，調查燕麥生產性狀、成本及收益，以評估其經濟效益。結果顯示，福興鄉與後龍鎮燕麥之株高分別為 123.8 ± 6.1 和 73.0 ± 3.3 公分，鮮草產量每公頃分別為 51.0 ± 6.1 和 33.0 ± 3.4 公噸。福興鄉試區燕麥之生產、收穫成本與銷售收入，分別為每公頃 32,300 元、26,000 元和 67,500 元，後龍鎮試區則分別為每公頃 18,125 元、10,500 元和 39,600 元。後龍鎮試區淨收益每公頃為 10,975 元，福興鄉則為 9,200 元。本研究顯示活化休耕地，冬季裡作栽培芻料用燕麥，具有潛力，有助於提高國產冬季牧草自給率，惟需考量氣候與栽培制度可能影響作物生產，同時受到隔年一期作水稻插秧適期之時間壓力，增加燕麥收穫調製的風險。

關鍵詞：活化休耕地、燕麥、冬季裡作。

緒 言

臺灣綜合糧食自給率約 32%，糧食需求仰賴進口，行政院農業委員會為因應不同情勢變動與即將面對的挑戰，期能降低大宗物產因進口價格上升而造成國內原物料成本上揚之情況，同時避免農地連續休耕造成資源浪費，自 1997 年擬訂「水旱田利用調整計畫」，調整休耕、翻耕或輪作等獎勵補助措施。自 2012 年起推動活化休耕地，於 2013 年起實施「調整耕作制度活化農地計畫」，改變過去以水稻為主的土地耕作利用，維護農業生產環境，鼓勵種植進口替代作物、外銷潛力、有機栽培及地區特產等四項主軸進行推廣，像是牧草、玉米、黃豆、小麥和萵苣等（詹及游，2013），以省工且低成本投入之栽培模式，使休耕地面積在 2014 年減少了 10 萬公頃，增加國內農業產值 184 億元，糧食自給率提高至 34.1%（行政院農業委員會統計室，2016），因此探討如何活化休耕地並妥善管理，是當前重要的課題。

國產芻料自給率不足 60%，每年進口芻料乾草超過總需求量的 40%（盧，2013），2015 年進口乾草約 22 萬 8 千多公噸，估計約新臺幣 20 億 5 千萬元。2015 年 3 月燕麥乾草每公斤 12.5 – 13.5 元，若使用燕麥乾草飼養泌乳牛，草料成本較高，影響酪農產業發展（呂，2012）。國內草食動物之生產投入成本中，以飼料成本為最大支出項目，約占總生產投入成本之 40 – 75%，其中芻料成本約占 35 – 50%（呂，2013）。若能活化休耕地種植芻料，或是提高耕地的複作次數，於冬季裡作栽培燕麥，可增加春季優質牧草供應（Ketterings *et al.*, 2015），改善國產芻料的產銷平衡，提高國產芻料自給率，同時降低酪農生產成本，創造具體可行的多方利基（蕭與梁，2014）。

臺灣燕麥栽培始於 1936 年，由日本引進之早生日向燕麥，首先在畜產試驗所恆春分所試種。1940 年又在嘉義試種成功，但無大面積之栽培（蕭與梁，2013）。1974 年政府發展酪農事業設立專業區，燕麥遂成為冬季主要青刈芻料作物，栽培品種一般以普通燕麥（*Avena sativa* L.）為主，紅燕麥（*Avena byzantine* L.）次之（Peterson, 1980），如燕

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2590 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(3) 國立臺灣大學農業經濟學系。

(4) 國立臺灣大學動物科學技術學系。

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

麥臺大選一號為普通燕麥(劉, 1980; 劉與曾, 1984), 臺灣牧草用燕麥大多為紅燕麥品種(黃, 1977)。80年代之後, 燕麥的育種研究與栽培生產較不受重視, 國內也多年沒有大面積冬季裡作栽培燕麥供芻料應用, 然而隨著國際大宗物資價格上漲, 2010年苗栗縣農會經營團隊勇於大膽嘗試種植冬季裡作燕麥(梁, 2011b), 於後龍鎮地區種植的燕麥為澳洲天鵝(Swan)品種, 即為紅燕麥與普通燕麥之雜交種, 另一品種卡諾塔(Kanota)為紅燕麥(梁, 2011a)。帶動後來中南部地區於冬季裡作栽培燕麥的風潮, 如2013年至2014年雲林縣水林鄉及臺南市歸仁區的規模化種植(葉, 2014; 蕭, 2015), 2014年起福興鄉農會於彰化縣福興鄉栽培燕麥, 2015年由恆春分所執行優質乾草產業化關鍵技術, 開發小穀類芻料作物引種評估與利基型草種栽植計畫, 除自國外引入燕麥種原進行選育, 也進行包括燕麥等不同地區利基型草種的栽培研究。

臺灣因應加入世界貿易組織的休耕補助政策, 在國際情勢改變、進口原物料成本大幅提高的情況下, 為滿足酪農業所需, 減少對國外芻料進口的依賴, 提高土地利用效率, 有助於國內農牧產業健全發展永續經營, 同時創造地主與酪農之利基。本研究在探討活化休耕地冬季裡作栽培芻料用燕麥的經濟效益, 調查栽培燕麥的單位面積鮮草產量、生產投入成本、收穫投入成本、產出銷售收入與淨收益, 期能做為日後冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地之參考。

材料與方法

本研究調查之田間資料包括兩個部分, 分別以苗栗縣農會在2010年, 於後龍鎮地區的水旱田為試區, 與彰化縣福興鄉農會在2015年, 於福興鄉地區的水旱田為試區, 在二期水稻收穫後, 進行冬季裡作栽培澳洲天鵝品種燕麥, 栽培期間調查株高與單位面積鮮草產量, 同時調查生產成本、收穫成本、銷售收入, 進行冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地之經濟效益分析。

I. 栽培管理

- (i) 苗栗縣後龍鎮於2010年12月10日, 二期水稻收穫前10天, 採不整地裡作栽培方式, 將澳洲天鵝品種燕麥種子以機械動力撒播, 播種量每公頃65公斤, 栽培面積為8公頃。於水稻收穫時, 將稻稈切成小段並立刻灌水, 使田間保持濕潤, 肥料於水稻收穫後至灌水前之間施用, 總施肥量硝酸態N肥150 kg/ha、 P_2O_5 150 kg/ha、 K_2O 150 kg/ha。
- (ii) 彰化縣福興鄉於2015年11月11日, 於二期水稻收穫後將試驗田區翻耕, 以曳引附掛式撒播機將澳洲天鵝品種燕麥種子撒播至試驗田區, 播種量每公頃50公斤, 栽培面積為15公頃的, 播種後立刻灌溉, 使田間維持濕潤, 播種後1個月施肥, 總施肥量硝酸態N肥200 kg/ha、 P_2O_5 50 kg/ha、 K_2O 100 kg/ha, 生育期間, 部分試區施用殺蟲劑防除夜蛾科害蟲, 噴施闊葉性除草劑防除。

II. 調查項目

- (i) 株高: 種植後105天調查兩試驗地區燕麥的株高, 從植株莖基部至葉(穗)頂之長度, 取樣以公分為單位, 每次調查取樣四重覆。
- (ii) 單位面積鮮草產量: 種植後105天調查兩試驗地區燕麥的單位面積鮮草產量, 取樣以平方公尺為單位, 每次調查取樣四重覆, 將樣品置於烘箱以60°C、72小時進行烘乾, 計算得乾物率, 換算單位面積乾草產量。

III. 經濟效益

調查兩試驗地區燕麥的生產成本, 包括土地租用補貼、種子費用、肥料費用和其他費用(包括防除雜草和蟲害的農藥成本與人工噴施費用)、收穫成本, 包括機械操作(整地、割草)、打包操作(翻草、打包和膠膜)和運輸費用及銷售收入(以單位面積鮮草產量×乾物率得單位面積乾草產量×每公斤售價), 比對兩農會提供資料, 探討冬季裡作栽培燕麥活化休耕地的經濟效益。

結 果

I. 後龍鎮試區調查結果

試驗調查期間自2010年10月至2011年4月, 試驗地點位於苗栗縣後龍鎮的水旱田, 總計栽培8公頃的澳洲天鵝品種燕麥, 試驗期間主要氣象因子月均溫與月降雨量變動如圖1, 氣象資料蒐集自苗栗縣區農業改良場的農業氣象站。月均溫介於12.7—23.9°C之間, 適合溫帶耐寒性的禾本科燕麥生長, 然栽培期間此地區雨水明

顯不足，經適當澆灌以維持燕麥生長。於播種後 105 天，量測的株高為 73.0 ± 3.3 公分，鮮草產量推估為每公頃 33.0 ± 3.4 公噸，乾物率為 20%，乾草產量推估為每公頃 6.6 公噸 (表 1)。本地區之栽培是採不整地播種，栽培管理較為粗放，每公頃生產成本包含土地租用補貼 5,000 元、種子費用 8,125 元及肥料費用 5,000 元，小計生產成本每公頃為 18,125 元。每公頃收穫成本包括機械操作 4,300 元、打包操作 3,200 元及運輸費用 3,000 元，小計收穫成本每公頃為 10,500 元。銷售收入以單位面積乾草產量乘以每公斤售價，比對苗栗縣農會提供資料，每公頃總計收入 39,600 元，每公頃淨收益為 10,975 元 (銷售收入－生產成本－收穫成本) (表 2)。

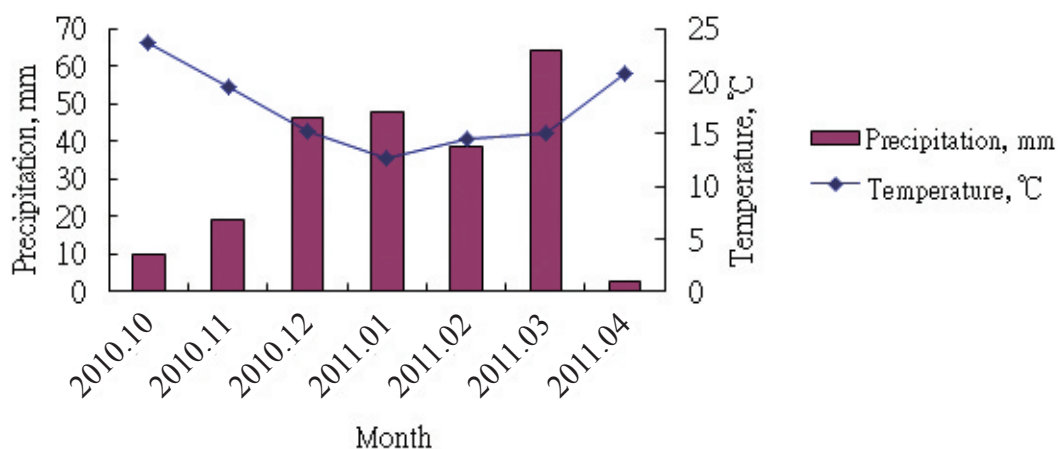


圖 1. 苗栗縣後龍鎮 2010 年至 2011 年試驗期間在之每月平均溫度和降雨量。

Fig. 1. The average monthly temperature and rainfall at Hou-Long township, Miao-Li County during October 2010 to April 2011.

表 1. 不同地區燕麥的株高、鮮草與乾草產量比較

Table 1. Comparison of plant height, fresh forage yield and dry matter yield of Swan oats planted at different locations

Crop season	Location of planting	105 days after planting		
		Plant height (cm)	Fresh forage yield (mt/ha)	Dry forage yield (mt/ha)
2010-2011	Hou-Long	73.0 ± 3.3	33.0 ± 3.4	6.6
2015-2016	Fu-Xing	123.8 ± 6.1	51.0 ± 6.1	7.5

表 2. 後龍鎮試區燕麥之生產、收穫、銷售收入與淨收益分析

Table 2. Analysis of production cost, harvest cost, sale income and net income for the Swan oats planted at Hou-Long township location

Cost and income	NT\$/ha
Production cost	
Land rent	5,000
Seed	8,125
Fertilizer	5,000
Subtotal	18,125
Harvest cost	
Mechanical operation	4,300
Baling operation	3,200
Transportation	3,000
Subtotal	10,500
Sale income	39,600
Net income	10,975

II. 福興鄉試區調查結果

試驗調查期間自 2015 年 11 月 11 日至 2016 年 2 月 26 日，試驗地點位於彰化縣福興鄉的水旱田，總計栽培 15 公頃的澳洲天鵝品種燕麥，試驗期間主要氣象因子月均溫與月降雨量變動如圖 2，氣象資料蒐集自彰化縣福興鄉的農業氣象站，月均溫介於 15.9 – 27.3℃ 之間，適合溫帶耐寒性的禾本科燕麥生長，然培期間此地區雨水明顯不足，經適當放水澆灌，得以維持燕麥生長。於播種後的第 105 天，量測的株高為 123.8 ± 6.1 公分，鮮草產量推估為每公頃 51.0 ± 6.1 公噸，乾物率為 14.7%，乾草產量推估為每公頃 7.5 公噸（表 1）。本地區之栽培採整地後播種，每公頃生產成本包含土地租用補貼 15,000 元、種子費用 5,000 元、肥料費用 5,000 元及其它費用（藥劑和人工）7,300 元，小計生產成本為每公頃 32,300 元。每公頃收穫成本包括機械操作 6,000 元、打包操作 8,000 元及運輸費用 12,000 元，小計收穫成本為每公頃 26,000 元。銷售收入以單位面積乾草產量乘以每公斤售價，比對福興鄉農會提供資料，每公頃總計收入 67,500 元，淨收益每公頃為 9,200 元（銷售收入－生產成本－收穫成本）（表 3）。

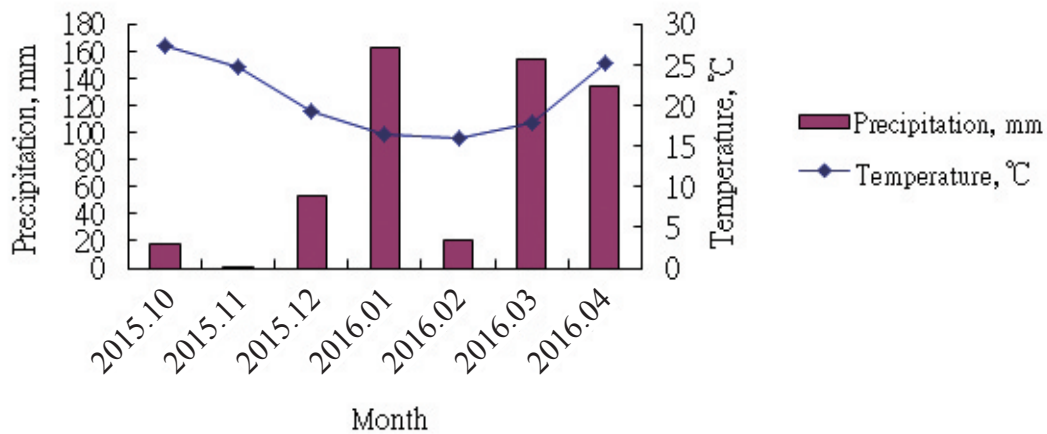


圖 2. 彰化縣福興鄉 2015 年至 2016 年試驗期間在之每月平均溫度和降雨量。

Fig. 2. The average monthly temperature and rainfall in Fu-Xing village, Chang-Hua County during October 2015 to April 2016.

表 3. 福興鄉試區燕麥之生產、收穫、銷售收入與淨收益分析

Table 3. Analysis of production cost, harvest cost, sale income and net incomes for the Swan oats planted at Fu-Xing village location

Cost and income	NT\$/ha
Production cost	
Land rent	15,000
Seed	5,000
Fertilizer	5,000
Other*	7,300
Subtotal	32,300
Harvest cost	
Mechanical operation	6,000
Baling operation	8,000
Transportation	12,000
Subtotal	26,000
Sale income	67,500
Net income	9,200

* Other costs including costs for pesticide and labor.

III. 燕麥株高和單位面積鮮草產量比較

兩地區生產性狀與產量調查結果如表 1，株高方面，福興鄉的燕麥，在播種後 105 天株高達 123.0 ± 6.1 公分，後龍鎮的燕麥，在播種後 105 天株高僅為 73.0 ± 3.3 公分。在產量方面，福興鄉的鮮草或乾草產量，推估分別為每公頃 51.0 ± 6.1 公噸或 7.5 公噸，後龍鎮的鮮草或乾草產量，推估分別為每公頃 33.0 ± 3.4 公噸或 6.6 公噸。顯示植株高度與生長發育情況，受栽培氣候、田間管理及土壤物化性質等諸多條件影響，進而影響產量。

IV. 冬季裡作栽培燕麥的經濟效益

依據燕麥栽種生產成本、收穫成本與銷售收入，進行經濟效益比較。後龍鎮的生產成本，因為對地主的補貼相對較少，每公頃 5,000 元，土地租金也反映當地發展程度，種子費用因播種量較慣行用量增加 30%，加上當時種子空運進口費用較高，故每公斤種子費用為 125 元，計每公頃 8,125 元，每公頃施用 40 公斤包裝肥料 10 包，計每公頃 5,000 元，小計生產成本每公頃 18,125 元 (表 2)，佔總生產成本的 63.3%。福興鄉的生產成本，因對地主土地的租賃補償費用較高，每公頃 15,000 元，燕麥種子因量大採海運進口，每公斤種子費用 100 元，總計 5,000 元。由於福興鄉地理位置屬中部，月均溫較後龍鎮高出約 2 度，試區周遭鄰近其他休耕地種植綠肥作物，衍生包括夜蛾科害蟲防治費用與田間雜草防除農藥費用與噴施費用等其它費用，每公頃多出 7,300 元，每公頃施用 40 公斤包裝肥料 10 包，計每公頃 5,000 元，小計生產成本每公頃 32,300 元 (表 3)，佔總生產成本的 55.4%。就栽培燕麥生產成本而言，福興鄉較後龍鎮試區多出 78%。

後龍鎮因栽培試區距離當地酪農戶較近，每公頃收穫成本 10,500 元 (表 2)，佔總生產成本的 36.7%，包括機械操作費用 4,300 元，打包操作費用 3,200 元，運輸費用 3,000 元，以運送至當地酪農戶為主，燕麥於田間直接送達酪農處。福興鄉每公頃收穫成本為 26,000 元 (表 3)，佔總生產成本的 44.6%，包括機械操作費用 6,000 元，打包操作費用 8,000 元，運輸費用 12,000 元。就栽培燕麥收穫成本而言，福興鄉在機械操作、打包操作和運輸等費用，較後龍鎮分別多出 39%、150% 和 300%，小計約多出 147% 的收穫成本。

後龍鎮的銷售收入每公頃為 39,600 元，淨收益為每公頃 10,975 元 (表 2)，福興鄉的銷售收入每公頃為 67,500 元，淨收益為每公頃 9,200 元 (表 3)，後龍鎮與福興鄉總投入成本分別占銷售收入的 72.3% 與 86.4%，淨收益分別占銷售收入的 27.7% 與 14.6%。

討 論

從 2011 年起，產業開始有冬季裡作栽培芻料用燕麥的規畫，肇因於 2010 年苗栗縣農會在後龍鎮試區的裡作栽培試驗 (梁, 2011a)，當時因國內多年無大面積冬季裡作燕麥之經驗，一方面要說服農民協助配合，一方面要尋求主管機關協助，可謂克服重重困難，終獲得苗栗縣政府的認同與支持，同時農糧主政機關同意於 2011 年度增列芻料用燕麥作物受契作獎勵補助，有助於芻料用燕麥的栽種推廣 (呂, 2012)。當年苗栗縣農會同仁於 10 月下旬，先在苑里栽培多個品種預試，從發芽與生長情況，選定天鵝等品種進行大面積試種，由於時間較急，所以燕麥種子空運進口，故種子費用略高於後來海運進口的價格，當時為求栽培成績與產量上的保險穩定，播種量較慣行用量增加 30%，期能確保產量不致受天候影響與田間粗放管理造成與文獻差距太大，產量調查結果顯示後龍鎮試區的產量仍較福興鄉試區的產量少，未來若能針對燕麥種植適期進行栽培試驗，將有助於提高產量 (葉, 1972; 李, 1988)。後龍鎮農民可能也因栽培燕麥經驗不足，都抱持學習經驗的心態一起參與試驗計畫，所以相對的土地租用補貼較福興鄉試區少，燕麥的收穫與銷售，是委託在地酪農協助收穫與銷售儲運，所以收穫成本及銷售收入都相對較低。同時由於隔年一期作水稻趕著插秧，部分試驗田區的燕麥尚來不及採收，就被翻犁做為綠肥 (梁, 2011b)，導致部分試區的成本與產量難以完整呈現，每公頃的銷售收入為 39,600 元，平均乾草價格每公斤約 6 元，故淨收益僅為 10,975 元，佔銷售收入的 27.7%。

從福興鄉試區的調查結果顯示，燕麥株高能達到 123.8 ± 6.1 公分，產業已掌握冬季裡作栽培燕麥的田間管理操作，推估乾草產量每公頃達 7.5 公噸，在近年的產量調查資料中還是不錯的 (蕭與梁, 2015)。福興鄉試區栽培燕麥的生產成本中，土地租用補貼較後龍鎮試區高出 3 倍，可能原因是當地土地利用發展較為成熟集約，其它費用適時反映當地人工成本、害蟲與雜草防治農藥成本，顯示在耕地集約操作時，額外的生產成本即會呈現。福興鄉試區的燕麥收穫與銷售，是由福興鄉農會推廣股打理，在燕麥收割適期，遇到連續半個月的陰天，田間割好翻曬的燕麥一直曬不乾，增加多次翻曬油耗，將燕麥從田間載運至倉庫，進行人工打包與使用新的包材，運輸因從田間載運倉庫，再從倉庫載運酪農戶處，為求產品品質佳賣相好，花費許多成本進行收穫調製與運銷，導致收穫成本佔總生產成本的 44.6%。在福興鄉試區的銷售收入，可能由於鄰近酪農區，售價上較具有優勢，每公頃的銷售收入為 67,500 元，

平均乾草價格每公斤約 9 元。同樣由於農民趕著一期作水稻插秧，對燕麥搶收作業造成不小損失與風險，福興鄉試區淨收益為 9,200 元，佔銷售收入的 14.6%，對比水稻田區輪作青割玉米及綠肥大豆之淨收入分別為 13,375 元與 -7,733 元 (廖與張，2009)，顯示冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地具有正面的經濟效益。

2013 年雲林及臺南地區栽培澳洲強生 (Johnson) 品種燕麥的結果顯示，在 2013 年 11 月 10 日播種，播種後 101 天，即 2014 年 2 月 20 日，燕麥株高為 145 公分，每公頃單位面積乾草產量為 8.4 公噸 (蕭，2015)，本研究調查推估後龍鎮燕麥乾草產量為 6.6 公噸，福興鄉燕麥乾草產量為 7.5 公噸，顯示栽培燕麥最好於當地二期水稻收穫前後開始，最晚不要超過 11 月底，有足夠的生長時間搭配適宜的氣候條件與良好的田間操作管理，能得較高的芻料燕麥產量。

不同地區的休耕水旱田冬季裡作栽培芻料用燕麥調查顯示，冬季裡作燕麥受到播種適期、氣候條件、隔年一期作水稻插秧作業及收穫時節天候等難以掌握因素之影響，造成實際收益充滿風險，特別是每年農曆春節前後，臺灣北部地區春雨綿綿，多陰少晴的氣候條件，額外增加收穫投入成本，又難以順利製成芻料用產品，故應考量冬季裡作栽培燕麥在收穫時，以半乾青貯的方式調製較能克服天候不良的影響，降低乾草收穫風險，雖然增加收穫投入成本，但提高了芻料產品的收穫可行性，確保冬季裡作栽培燕麥活化休耕地的經濟效益與淨收益。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會科技發展細部計畫 (102 農科 -2.1.4- 畜 -L2 和 103 農科 -2.1.3- 畜 -L1)、農產業專區示範推動計畫、苗栗縣政府與彰化縣政府經費支持，試驗期間感謝行政院農業委員會黃文意技正、新竹分所張前分所長菊犁、賈前分所長玉祥、畜產科技系李前主任素珍及畜產試驗所飼料作物組蕭前研究員素碧對試驗的建議，苗栗縣農會郭前理事長明憲與福興鄉農會林理事長坤宏、推廣股林股長宏偉及農會燕麥栽培團隊的認真與努力，新竹分所同仁陳貴烘、江泉水、邱家和協助試驗，始克完成，特此致謝。

參考文獻

- 行政院農業委員會統計室。2016。糧食供需年報。行政院農業委員會。臺北市。<http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 李應煌。1988。燕麥不同青刈期產量及營養成分變化。嘉義農專學報 17：115-124。
- 呂禮佳。2012。推動國產芻料作物契作之成果。農政與農情 238：56-58。
- 呂禮佳。2013。推動種植本土芻料以替代進口乾草之成效。農政與農情 257：44-47。
- 梁世祥。2011a。苗栗縣地區水田冬季裡作甜燕麥記實。酪農天地雜誌 94：34。
- 梁世祥。2011b。苗栗縣地區稻田冬季裡作甜燕麥初步成果報導。酪農天地雜誌 95：36。
- 葉苗田。1972。紅燕麥 (*Avena byzantine*) 播種期對產草量及採種量之影響量及採種量之影響。畜產研究 5：50-57。
- 葉益男。2014。臺灣活化休耕地種植紅燕麥之可行性分析。碩士論文。國立臺灣大學。臺北市。
- 黃嘉。1977。燕麥種類及其在臺灣之利用。科學農業 25：114-115。
- 詹雅勛、游添榮。2013。活化休耕地政策說明。臺南區農業專訊 83：1-3。
- 廖勁穎、張繼中。2009。水稻田區輪作青割玉米及綠肥大豆效益探討。臺東區農業改良場年報 98：90-91。
- 劉銘峰。1980。崙背酪農區冬季裡作青刈燕麥省工栽培法試驗報告。雜糧與畜產 89：22-27。
- 劉明宗、曾美倉。1984。燕麥臺大選一號周年栽培試驗。畜產研究 17：11-23。
- 蕭素碧、梁世祥。2013。芻料用燕麥介紹。畜產專訊 85：16-17。
- 蕭素碧、梁世祥。2014。芻料用燕麥生產與利用。畜產專訊 87：1-3。
- 蕭素碧。2015。臺灣燕麥草生產及展望。廠農通訊 86：26-28。
- 盧啟信。2013。國內酪農業降低生產投入成本的新契機－活化休耕地轉作牧草及青割玉米。臺南區農業專訊 83：13-16。
- Ketterings Q. J., S. Ort, S. N. Swink, G. Godwin, T. Kilcer, J. Miller and W. Verteten. 2015. Winter cereals as double crops in corn rotations on New York dairy farms. J. Agri. Sci. 7: 18-25.
- Peterson J. R. 1980. Australia oat varieties. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 46: 197-199.

Economic benefit evaluation of activating fallow farmland to plant oats as winter season crop in Taiwan ⁽¹⁾

Shih-Hsiang Liang ^{(2) (5)} Yi-Nan Yeh ⁽³⁾ Szu-Han Wang ⁽²⁾ Jen-Wen Shiau ⁽²⁾
Jih-Tay Hsu ⁽⁴⁾ and Rhung-Jieh Woo ⁽³⁾

Received: Feb. 5, 2017; Accepted: May 17, 2017

The purpose of this study was to investigate the economic benefits of planting forage oats to activate the fallow farmland in winter. The experimental period was from 2010 to 2016. The experiments were conducted at Hou-Long in Miao-Li County and at Fu-Xing in Chang-Hua County, respectively. During the fallow period after harvesting the second rice crop, the oats were planted for forage purpose in winter. The results showed that the plant heights of the oats were 123.8 ± 6.1 and 73.0 ± 3.3 cm at Fu-Xing and Hou-Long, respectively, and the yields of fresh oats were 51.0 ± 6.1 and 33.0 ± 3.4 mt/ha at Fu-Xing and Hou-Long, respectively. The input of costs for oats planting production and harvesting and the output of income for oats production at Fu-Xing were 32,300, 26,000 and 67,500 NT\$/ha, respectively, while those at Hou-Long were 18,125, 10,500 and 39,600 NT\$/ha, respectively. The net income was 10,975 NT\$/ha at Hou-long, while that was 9,200 NT\$/ha at Fu-Xing. This study showed that it was economically beneficial for activating fallow farmland for planting oats in winter. It might be helpful to improve domestic requirement of forage and increase self-sufficiency rate during spring period. Planting the oats as forage use in winter the climate factors might affect oat production. Also the oat production might cause time pressure for harvesting oats because of the 1st rice crop season coming soon in the fallow farmland.

Key words: Fallow farmland activation, Forage oat, Winter planting.

(1) Contribution No. 2590 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

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

(3) Department of Agriculture Economics, National Taiwan University, Taipei 10672, Taiwan, R. O. C.

(4) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, Taipei 10672, Taiwan, R. O. C.

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

行政院農業委員會畜產試驗所「畜產研究」稿約

(民國 94 年 3 月修訂)

- I. 本刊為純學術性刊物，發表有關畜牧原始性研究報告及調查報告之用，但亦歡迎綜合性專題論著。
- II. 本刊每年出版 4 次，在 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、結果、討論(結果與討論亦可合為一節寫)、與參考文獻。如以中文撰寫者，須另附英文摘要(Abtract)，英文撰寫者，須另附中文摘要。(中英文摘要均包括關鍵詞)。關鍵詞 3 至 8 字，另外每篇請加 Running title (請勿超過 20 字)。
- IV. 文稿之書寫：
 - (i) 中英文稿請用 A4 紙電腦橫打，並加標點。不論中英文稿務求清楚整潔，審查通過後，另通知繳交電子檔。
 - (ii) 題目宜簡短，英文題目僅句首大寫，通訊作者須附電子郵件信箱。
 - (iii) 文字敘述之編號 :I、(i)、1、(1)、A、(a)。圖表以圖 1，表 1 等順序表示。中文稿圖表標題請附英文，圖表內文字請僅用英文，並請打字以完稿方式提出。文字敘述用英文者，圖表中文字僅用英文。
 - (iv) 數字與單字：
 1. 文字敘述中之數字，除單位數外，均請用阿拉伯數字表示。
 2. 單位用公制。習見之符號，如 kg、mg、m、mL、ppm、pH 等不必用中文。專門名詞無適當譯名者，從原文。
 - (v) 統計表差異顯著性如英文 a, b, c.... 上標表示時，表下方說明請參考下列表示方式。abc Means with the different superscript differ significantly ($P < 0.05$).
 - (vi) 照片限於原始攝影者。照片圖畫如有模糊不清，得請投稿人重新製備，如投稿人不能重新製備，則恕不接受投稿。
 - (vii) 參考文獻：
 1. 正文須書出參考文獻之作者姓氏與年份：
 - (1) 西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. 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、頁數等依次寫明。例如：
 - (1) 期刊類
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(2)：141-148。
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(2)：133-140。
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
李登元。1979。乳牛學。台灣商務印書館，台北，pp. 300-322。
Tai, C. 1985. Duck breeding and artificial insemination in Taiwan. In: Duck Production Science and Practice. eds. Farrell, D. J. and Stapleton, P. University of New England, pp. 193-203.
Wang, Y. C. 1985. Regrowth ability of napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumacher) in the dry, cold season in Taiwan, Proceeding of the XV international grassland congress in Kyoto, Japan, 1985. pp. 1239-1241.

American Oil Chemists Society. 1980. Official and Tentative Methods of the American Oil chemists Society. 3rd. ed. American Oil Chemists Society, Champaign, IL. USA.

3. 中日文者以姓氏筆劃多少為序，西文以著者之拼音先後排列。並按中文、日文、西文之次序排列。
 4. 西文雜誌名稱請用縮寫。縮寫之方法以美國出版之 **Biological Abstract** 為準。
 5. 參考文獻皆不編號。
- V. 稿件文字必須盡量修潤簡潔，否則本刊編輯委員會有權修改與退稿。如有疑問時，得商請投稿人修正之。
- VI. 本刊亦接受速報 (包括預報、追試、短報)。其寫法亦遵照本稿約之規定，稿長包括圖、表、相片等不得超過 4 印刷面。
- VII. 稿件經本刊委員會轉請專家審查，編輯委員會根據專家審查意見通知投稿人，是否接受刊載，或需修改後始可刊載。
- VIII. 稿件接受刊載後，該稿件之全部或部份，不得再投稿其他刊物發表，即以不同文字投稿其他刊物 (如在本刊用中文，在其他刊物用英文) 亦所不許。
- IX. 來稿請寄一式兩份，逕寄 71246 臺南市新化區牧場 112 號行政院農業委員會畜產試驗所技術服務組收，聯絡電話：06-5911211 轉 256。
- X. 自九十三年度開始實施之計畫、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。