

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

菜鴨因年齡及選拔造成蛋殼品質下降之機制(3/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2313-B-002-371-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學畜產學系暨研究所

計畫主持人：沈添富

計畫參與人員：姜延年、黃振芳

報告類型：完整報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 11 月 3 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 成果報告

菜鴨因年齡及選拔造成蛋殼品質下降之機制

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC89 - 2313 - B - 002 - 177 - 、 NSC90 - 2313 - B - 002 -
302 - 、 NSC91 - 2313 - B - 002 - 371 -

執行期間：89 年 08 月 01 日至 92 年 07 月 31 日

計畫主持人：沈添富

共同主持人：姜延年

計畫參與人員：黃振芳

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

■出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：國立台灣大學畜產學系

中 華 民 國九十二年十月二十七日

行政院國家科學委員會專題研究計畫執行進度報告

菜鴨因年齡及選拔造成蛋殼品質下降之機制

The study on the mechanism of deterioration of eggshell quality due to age and selection in Tsaiya ducks

計畫編號：NSC 89-2313-B-002-177-、NSC90 - 2313 - B - 002 - 302 - 、NSC91 - 2313 - B - 002 - 371 -

執行期限：89 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

主持人：沈添富 國立台灣大學畜產學系

共同主持人：姜延年 國立台灣大學畜產學系

計畫參與人員：黃振芳 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所

一、中英文摘要

本試驗之目的在探討菜鴨因選拔及週齡所造成蛋殼品質下降之機制。鴨隻選留是以行政院農委會畜試所宜蘭分所之 L105 品系菜鴨，以其 40 週齡蛋殼強度為指標，以人工授精方式進行高蛋殼強度(HES)及低蛋殼強度(LES)品系第一代及第二代之繁殖。試驗一為當第一代鴨隻達 27、49 及 71 週齡時，測定蛋重、蛋殼強度、蛋殼厚度及分析蛋殼中鈣、鎂及有機基質之含量，並比較不同蛋殼強度及不同週齡間蛋殼中成分之差異；此外，將雞蛋殼蛋白質抗體與鴨蛋殼蛋白質進行交互反應偵測，以了解鴨蛋殼蛋白質之特性。試驗二犧牲第二代 28、49 及 71 週齡之 HES 及 LES 鴨隻，比較此兩族群鴨隻之血液及子宮液中成分之差異，並將雞蛋殼蛋白質抗體與鴨子宮液蛋白質進行交互反應偵測，以了解鴨子宮液蛋白質之特性。試驗三為刮取 HES 及 LES 菜鴨殼腺黏膜細胞，並萃取總 RNA，以差異顯現反轉錄-聚合 鏈鎖反應，進行其基因表現差異之研究。

經蛋殼強度雙向選拔後，無論第一代或第二代，HES 族群之蛋殼強度顯著較 LES 者為高。第一代菜鴨之蛋殼鈣含量在兩族群間並無明顯差異。蛋殼鎂含量則以 LES 較高，且此趨勢持續至 71 週齡。蛋殼中有機基質含量兩族群間無顯著差異，但有機基質含量似隨週齡增加而有增加的趨勢。兩族群蛋殼中蛋白

質經 SDS-PAGE 電泳後發現，71 週齡之 LES 有兩蛋白質之表現量似較 HES 者為高，其分子量分別約 80 及 180 kDa；然而在 27 及 49 週齡，兩族群間之蛋殼蛋白質並無差異存在。當探討週齡間之蛋殼蛋白質表現差異發現，180 kDa 蛋白質在 71 週齡 LES 蛋殼中表現較明顯，但在 27 及 49 週齡則表現甚微。菜鴨蛋殼蛋白質可與雞蛋殼蛋白質抗體 anti-ovocleidin-17 及 anti-ovocleidin-116 產生交互反應；與 anti-ovocleidin-17 有交互反應之蛋白質有兩種，分別為 15 及 18 kDa，其中 15 kDa 蛋白質 N-端定序之結果得到八個胺基酸殘基 - NKYPKGWL。

第二代 HES 菜鴨血液 pH 有較 LES 者高之趨勢，但血漿總鈣濃度以 LES 菜鴨較高，此血液 pH 及血漿總鈣濃度之趨勢在三種週齡皆相同。血漿總鎂濃度則 HES 及 LES 鴨隻間無差異。子宮液 pH 及總鎂濃度在 HES 及 LES 鴨隻間無差異，但 HES 菜鴨子宮液總鈣濃度在某些時間點顯著較 LES 者為高。HES 鴨隻之子宮液體積在三種週齡皆有較 LES 者為高的趨勢，但個體間之變異極大。菜鴨子宮液蛋白質與雞蛋殼蛋白質抗體 anti-ovocleidin-17 及 anti-ovocleidin-116 亦可產生交互反應；子宮液蛋白質之 SDS-PAGE 結果顯示：菜鴨在產蛋後不同時間點，其子宮液之蛋白質種類有所不同，但 HES 及 LES 子宮液蛋白質表現量之差異不顯著。差異顯現反轉錄-

聚合 鏈鎖反應分析結果顯示，HES 及 LES 菜鴨殼腺黏膜細胞之基因表現有差異，部分具蛋殼強度專一性的序列已完成選殖及定序。

本試驗已完成不同蛋殼強度及不同週齡菜鴨之蛋殼、血液、子宮液成分差異之探討，並探討不同蛋殼強度菜鴨之殼腺黏膜細胞基因表現，研究成果將提供改善蛋殼品質之參考。

關鍵詞：菜鴨、蛋殼強度、鈣、鎂、蛋白質、基因表現

Abstract

The objectives of this study were to investigate the mechanism of deterioration of eggshell quality associated with age and selection. The 1st generation (F1) and 2nd generation (F2) of Tsaiya ducks laying high eggshell strength (HES) and low eggshell strength (LES) were produced through selection. Trial 1: When F1 ducks reached 27, 49, and 71 weeks of age, egg weight, eggshell strength, and eggshell thickness were collected. Eggs collected were used to analyze the composition of eggshell, including contents of calcium, magnesium, and organic matrix. Proteins in the eggshell were also analyzed and compared by electrophoresis. Trial 2: The blood and uterine fluid of F2 ducks at 28, 49, and 71 weeks of age were collected to compare pH, Ca and Mg concentrations in the blood and uterine fluid between HES and LES ducks. In addition, volume of uterine fluid and proteins in the uterine fluid were also studied.

The results showed that eggshell strength of eggs from HES and LES were significantly different for both generations. The eggshell calcium content was similar

between HES and LES populations. The significantly higher eggshell Mg content in the LES duck eggshell was observed throughout this study. Organic matrix contents in the eggshell of HES and LES were similar, but they tended to increase with age. The molecular weights of eggshell proteins were between 6.5 and 200 KDa as determined by electrophoresis. Two proteins of them, 80 and 180 KDa, appeared to be associated with eggshell quality. The eggshell of 71-week-old ducks seemed to have more 180 kDa protein than that of 27-week-old ducks. Two proteins in the duck eggshell were able to show cross-reaction with hen's anti-ovocleidin-17 and anti-ovocleidin-116, respectively. Eight amino acid residues of NKYPKGWL were obtained through N-terminal sequencing of the 15 kDa protein in the duck eggshell.

The HES ducks had a trend of higher blood pH than the LES ones. However, the LES ducks had higher levels total blood calcium levels. The tendencies for blood pH and total calcium were similar in the three ages. Total blood magnesium levels were similar between HES and LES ducks. In respect of uterine fluid, pH and total magnesium levels were similar between HES and LES ducks. However, total calcium concentrations were higher in the HES ducks at some time points than in the LES ones. A trend of higher uterine fluid volume was observed in the HES ducks in three ages. Two proteins in the duck's uterine fluid were able to show cross-reaction with hen's

anti-ovocleidin-17 and anti-ovocleidin-116, which means non-specific binding existing. SDS-PAGE of proteins in uterine fluid showed protein profiles were different among different time points. No significant differences were observed in proteins of uterine fluid between HES and LES ducks based on the SDS-PAGE results. Some eggshell strength-specific bands were observed through differential display reverse transcription-polymerase chain reaction. Two of them had been cloned and sequenced.

This study has demonstrated the difference of contents in the eggshell, blood, and uterine fluid of HES and LES ducks. Furthermore, gene expression of shell gland mucosa of HES and LES ducks has also been studied. These data would be helpful to provide some information in solving the problems of eggshell quality deterioration.

Keywords: Tsaiya duck, Eggshell strength, Calcium, Magnesium, Protein, Gene expression

二、緣由與目的

萊鴨為我國優良的蛋鴨品種，產蛋率高，蛋殼強度佳，其鴨蛋為加工蛋(皮蛋、鹹蛋)之主要來源。蛋殼品質是影響加工蛋品質及製成率的主要因素，因此業者在浸漬前，須篩選以去除蛋殼品質不良者。產蛋後期及一些因子會造成蛋殼品質低落，增加運輸過程之破損率，影響生產成本至鉅。因此有必要對影響鴨蛋殼品質之機制，作深入的探討；包括蛋殼及子宮液組成分之分析、殼腺分泌之有機基質在蛋殼品質上所扮演的角色，以及殼腺基因表現與蛋殼品質之關係。

三、材料與方法

鴨隻選留是以行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所之 L105 品系萊鴨，以其 40 週齡蛋殼強度為指標，選留蛋殼強度前五名及後五名之家族(依雄親平均)，每家族選留公鴨 1~2 隻，母鴨 6~8 隻，以人工授精方式進行 HES 及 LES 品系第一代之繁殖，避免全同胞兄妹近親交配，繁殖分兩批次，批次間隔 3 個月。第二代之選留及繁殖方法與第一代相同。

試驗一：HES 及 LES 第一代鴨隻，於 27、49 及 71 週齡時，連續收集五天蛋，測定蛋重、蛋殼重、蛋殼厚度及分析蛋殼中鈣、鎂及有機基質之含量，並進行蛋殼蛋白質之電泳及其特性探討。

蛋殼鈣、鎂含量測定：蛋殼經冷凍乾磨機磨成粉後，鈣及鎂量測定參照陳(2000)之方法，取 0.2 g 蛋殼粉經灰化、HCl 煮沸及稀釋，以原子吸光譜儀測定。

蛋殼中之有機基質之萃取：以 50% 醋酸溶解 5 天，經透析(cutoff 3.5 KDa)兩天，進行冷凍乾燥後秤重(陳，2000)。

蛋殼蛋白質之電泳：以前述方法所得之有機基質，取 1 mg，加入 50 μ L SDS sample buffer 及 50 μ L 4M urea，於 95 加熱 5 min 後，以 4~20% gradient gel 進行電泳，分析其蛋白質。

蛋殼蛋白質之西方轉漬：將電泳膠片上之蛋白質轉漬至 polyvinylidene difluoride (PVDF)膜上後，與第一抗體(法國農業研究院 Dr. Y. Nys 贈送之蛋雞 anti-ovocleidin-17 或 anti-ovocleidin-116)溶液反應 1 hr 後，以 PBS-Tween 清洗，再以第二抗體(horseradish peroxidase-linked anti-rabbit Ig)溶液反應 1 hr，以 Enhanced Chemiluminescence (ECL) 方法進行轉漬結果之偵測。

蛋殼蛋白質之 N-端定序：將電泳膠片上之蛋白質轉漬至 PVDF 膜上後，以 Coomassie Blue 染色，將二條主要的蛋白質條紋(分子量分別為 15 及 18 kDa)切下，送交中央研究院生化所進行 N-端定

序。

試驗二：第二代鴨隻達 28、49 及 71 週齡時，選取五天中至少產三顆蛋之鴨隻，分別於產蛋後 7、12、17 及 22 小時隨機取樣 HES 及 LES 各 10~20 隻，確認該鴨隻生殖道中有蛋形成後，經由翅靜脈採血後犧牲，收集其子宮液，並測定血液及子宮液性狀。

血液及子宮液性狀之測定：將採樣之血液及子宮液置於碎冰上，儘快以血液氣體分析儀(Blood Gas System, Ciba Corning, U. S. A.)測定 pH、 pCO_2 、游離性鈣濃度；並以原子吸收光譜儀(Hitachi Z6100, Japan)測定血漿及子宮液中總鈣及總鎂含量。

子宮液蛋白質之分析：將產蛋後不同時間(7、12、17 及 22 小時)之子宮液於碎冰中解凍，測定子宮液中蛋白質濃度後，將子宮液離心去鹽，以 12.5%聚丙醯凝膠進行電泳分析，並與蛋殼蛋白質進行比較。

子宮液蛋白質之西方轉漬：將電泳膠片上之蛋白質轉漬 PVDF 膜上後，與第一抗體 (anti-ovocleidin 17 或 anti-ovocleidin 116)溶液反應 1 hr 後以 PBS-Tween 清洗，再以第二抗體 (horseradish peroxidase-linked anti-rabbit Ig)溶液反應 1 hr，以 ECL 方法進行轉漬結果之偵測。

試驗三：當第二代鴨隻達 28 及 71 週齡，於產蛋後 7 及 12 小時，分別犧牲 HES 及 LES 鴨隻兩隻，刮取殼腺黏膜細胞，以 RNA-Bee™(Tel-Test, Inc., U. S. A.)萃取總 RNA，經反轉錄成 cDNA，以錨定引子 FH-T₁₁A 及隨機引子 H-AP1 進行差異顯現反轉錄-聚合鏈鎖反應(DDRT-PCR)分析，以聚丙烯凝膠電泳區分具特異性表現之 cDNA 片段後，分別予以選殖及定序，再將序列送至 NCBI BLAST 網站進行比對。

四、結果與討論

菜鴨經雙向選拔後之第一代 HES 之蛋殼強度顯著高於 LES 者(圖 1)，第二代之結果與第一代相似(資料未列)，此選拔效果與李(1999)之結果一致。第一代菜鴨於 27、49 及 71 週齡時，HES 及 LES 蛋

殼中鈣含量差異不顯著(圖 2)。第一代各週齡 LES 菜鴨蛋殼中鎂含量較 HES 者為高(圖 3)，且於 27 及 71 週齡時呈極顯著差異($P < 0.01$)。陳(2000)指出無論雞或鴨蛋殼，其鎂含量皆與蛋殼厚度呈顯著負相關，且鎂在雞與鴨蛋殼中之堆積模式迥異(陳與沈，2000)。蛋殼中有機基質含量在 HES 及 LES 兩族群間並無顯著差異(圖 4)，其含量在 2%左右，此與陳(2000)之結果接近，該論文並發現鴨蛋殼中之有機基質含量較雞者為高。

菜鴨蛋殼中蛋白質之分布介於 6.5~200 kDa(圖 5)，表現量最多之蛋白質的分子量約為 15 及 18 kDa，表現量中等的蛋白質有 28、35、38、45、66 及 114kDa 等，表現量屬微弱的蛋白質位於 23、31、80、180 及 200 kDa 附近(以上分子量均為觀測估計值)(圖 5 及 6)。本試驗發現菜鴨蛋殼蛋白質之分子量分布與北京鴨者類似(Panheleux *et al.*, 1999)。Panheleux *et al.* (1999)以西方轉漬法對北京鴨蛋殼蛋白質進行檢測，在 15、17 及 45 kDa 之蛋白質，分別與 lysozyme (14.4 kDa)、ovocleidin 17 (17 kDa)及 ovalbumin (45 kDa)有抗體反應，但對 ovotransferrin (78 kDa)及 osteopontin (58 kDa)則無抗體反應。本試驗比較 HES 及 LES 蛋殼中蛋白質發現，在 27 及 49 週齡此兩族群之蛋殼蛋白質表現量並無差異(資料未顯示)，但在 71 週齡時，有兩種蛋白質在 LES 蛋殼中之表現量似較 HES 者為高，其分子量約為 80 及 180 kDa(圖 5 箭頭標示處)。當比較 27 及 71 週齡蛋殼中蛋白質，針對該兩週齡的 LES 蛋殼蛋白質進行分析，發現 71 週齡之 180 kDa 蛋白質表現量較 27 週齡者為高(圖 6 箭頭標示處)，此差異並未在該兩週齡之 HES 族群間之比較時發現(資料未顯示)。Panheleux *et al.* (2000)以 ELISA 比較 30 及 58 週齡雞蛋殼中蛋白質表現量，發現 58 週齡蛋殼中 ovotransferrin、ovalbumin 及 ovocleidin-17 之表現量分別為 30 週齡蛋殼者之 1.98、1.86 及 1.58 倍。Hincke *et al.* (1999)研究發現 Ovocleidin-116 mRNA 在蛋殼品質差

的蛋雞，其表現量較蛋殼品質佳者之 1.8 倍。因此至目前為止，尚無發現任何蛋白質之表現量與蛋殼品質呈正相關。

菜鴨蛋殼蛋白質經轉漬至 PVDF 後，以 anti-ovocleidin-17 進行偵測是否菜鴨蛋殼蛋白質與蛋雞之蛋殼蛋白質 ovocleidin-17 有交互反應，結果發現兩條有交互反應之蛋白質條紋(資料未顯示)，且此兩蛋白質為菜鴨蛋殼中之主要蛋白質(圖 5)，遂將此兩蛋白質進行 N-端定序，其中 15 kDa 蛋白質定序結果得到八個胺基酸殘基-NKYPKGWL，其中除第三個胺基酸殘基外，其餘七個胺基酸殘基與鵝蛋殼蛋白質 ansocalcin 之 N 端序列完全相同(Lakshminarayanan *et al.*, 2003)，表示鴨蛋殼與鵝蛋殼蛋白質中至少有一種蛋白質具極高的同源性；Lakshminarayanan *et al.* (2003) 發現 ansocalcin 與 ovocleidin-17 之胺基酸序列有 36% 是相同的，由此推論菜鴨蛋殼 15 kDa 蛋白質之胺基酸序列可能與蛋雞 ovocleidin-17 者有極高的同源性。另一蛋白質 (18 kDa) 未能順利完成定序，可能是純度不夠所致。以 anti-ovocleidin-116 進行菜鴨蛋殼蛋白質與蛋雞之蛋殼蛋白質 ovocleidin-116 之交互反應探討，結果發現兩條有交互反應之蛋白質條紋(資料未顯示)，其分別接近 66 及 116 kDa，但 116 kDa 蛋白質之訊號極微弱，而在 66 kDa 之訊號可能為非專一性結合所致。

第二代 HES 菜鴨之血液 pH 值有較高之趨勢($P>0.05$)(圖 7)，且無論 28、49 或 71 週齡皆呈現相同趨勢。在 pCO_2 方面，則呈現與 pH 呈相反的趨勢(資料未顯示)，即 HES 血液之 pCO_2 有較 LES 者為低的趨勢，此應與 HES 菜鴨血液有較多的 CO_2 進入殼腺以形成 HCO_3^- 有關。血漿總鈣濃度以 LES 菜鴨較高(圖 8)，此現象在不同週齡間並無不同，此應與蛋殼形成時 HES 菜鴨有較大量的鈣自血液進入殼腺有關；血液游離性鈣亦有類似趨勢，但趨勢較不明顯，此與血液中游離性鈣必須保持某一程度之恆定，以顧及其它之生理功能有關。血漿總鎂濃度在鴨隻 28 週齡

時以 LES 族群有較高的趨勢(圖 9)，但並未達顯著水準，且在其它週齡此趨勢並不明顯。

在 HES 及 LES 菜鴨子宮液之 pH 及總鎂濃度間並無顯著差異(圖 10 及 12)，此可能與子宮液之體積變異大有密切關係；以 28 週齡產蛋後 12 小時之子宮液為例，HES 及 LES 之子宮液體積分別為 1.30 ± 1.23 ml 及 0.96 ± 0.58 ml，其範圍分別為 0~3.7 及 0.2~1.7 ml。雖然子宮液體積之變異大，且 HES 菜鴨子宮液有較 LES 者為高的趨勢(圖 13)，但在部分時間點仍可顯示出 HES 子宮液總鈣濃度顯著高於 LES 者(圖 11)。三種週齡的結果發現，HES 之子宮液總鈣濃度在產蛋後 12 小時即達高原值(plateau)，但 LES 之子宮液鈣濃度卻在 17 小時才達到最高值(圖 11)。28 週齡菜鴨子宮液總鎂濃度在產蛋後 7 小時最高，隨後急劇下降(圖 12)，此現象在 49 週齡亦有同樣的趨勢；但在 71 週齡時，子宮液總鎂濃度呈現平順斜率下降(資料未顯示)，此是否與此時之品質低落有所關聯，尚待進一步探討。陳(2000)亦指出鴨子宮液總鎂濃度僅呈一次高峰，但雞子宮液總鎂濃度呈兩次高峰，在產蛋後 15~22 小時，雞之子宮液濃度為鴨者的 5~17 倍。

菜鴨於產蛋後不同階段，其子宮液蛋白質有不同之表現型態。在產蛋後 7、12、17 及 22 小時皆有表現的蛋白質有 6、14、35、45、55、65 及 116 kDa 等，且子宮液蛋白質種類較蛋殼者為多(圖 14)，表示部分蛋白質並未沉積於蛋殼中。以蛋雞 anti-ovocleidin-17 及 anti-ovocleidin-116 與鴨子宮液蛋白質進行交互反應之偵測，發現子宮液蛋白質與前述兩抗體之交互反應情形，與蛋殼蛋白質之交互反應一致(資料未顯示)。

以錨定引子 FH-T₁₁A 及隨機引子 H-AP1 進行差異顯現反轉錄-聚合鏈鎖反應(DDRT-PCR)分析，得到八條具特异性基因(圖 15)，將圖 15 之條紋 3 及 6 切下進行選殖及定序，其序列分別含 233 及 134 鹼基(圖 16 及 17)，將此兩序列送至資

料庫進行比對，發現基因庫中並未有高相似性之基因，比對結果僅發現此兩序列之部分片段與水稻、小鼠或人類之染色體基因序列有極低的相似性。呂(2002)發現 HES 鴨隻殼腺黏膜細胞之 lysyl oxidase 及 calbindin 基因分別在產蛋後 6 及 18 時，其表現量較 LES 鴨隻者為高。

五、結果自評

本試驗之研究內容除進行原提計畫內容外，亦將法國農業研究院贈送之雞蛋殼蛋白質 OC-17 及 OC-116 抗體，以西方轉漬法與鴨蛋殼及子宮液蛋白質進行交互反應之偵測，發現鴨蛋殼及子宮液蛋白質可與此兩抗體產生交互反應，後續試驗更發現一約 15 kDa 之鴨蛋殼蛋白質與鵝蛋殼蛋白質 ansocalcin 之相似度極高，此部分無論是學術或實際應用上皆具價值。更重要的是此計畫的執行，已開啟與法國國家農業研究院之合作關係。本計畫之另一重要成果為確認蛋殼品質與蛋殼鈣、鎂及有機基質、血液及子宮液 pH、鈣、鎂之關係，且此選拔菜鴨族群可作為後續研究蛋殼品質之重要鴨群。殼腺黏膜細胞基因表現之探討已初步完成與蛋殼品質相關之部分基因序列，配合後續之相關技術之應用(如定量 PCR)，應可更確認已定序基因序列與蛋殼品質之關係。

綜合言之，本試驗除將 HES 及 LES 菜鴨之蛋殼、血液及子宮液之生理生化性狀進行探討，亦將蛋殼及子宮液之蛋白質作一完整研究，進而探討殼腺黏膜細胞基因表現與蛋殼品質之關係。預期本試驗結果可發表至少三篇 SCI 研究報告，並可完成一本博士論文。

六、參考文獻

- [1] 呂建和。2002。褐色菜鴨殼腺黏膜細胞中與蛋殼形成相關基因之表現與選殖。碩士論文，私立東海大學，台中。
- [2] 李舜榮、沈添富、姜延年。1999。蛋殼強度雙向選拔一代菜鴨血液性狀

之比較。中畜會誌 28(1):19~32。

- [3] 陳婉琳。2000。產蛋菜鴨和來航雞之蛋殼鎂沉積模式與殼腺生理特性的比較。博士論文，國立台灣大學，台北。
- [4] Hincke, M. T., J. Gautron, C. P. W. Tsang, M. D. Mckee, and Y. Nys. 1999. Molecular cloning and ultrastructural localization of the core protein of an eggshell matrix, proteoglycan, ovocleidin-116. J. Biol. Chem. 274(46): 32915~32923.
- [5] Lakshminarayanan, R., S. Valiyaveetil, V. S. Rao, and R. M. Kini. 2003. Purification, characterization, and *in vitro* mineralization studies of a novel goose eggshell matrix protein, ansocalcin. J. Biol. Chem. 278 (5): 2928~2936.
- [6] Panheleux, M., M. Bain, M. S. Fernandez, I. Morales, J. Gautron, J. L. Arias, S. E. Solomon, M. Hincke, and Y. Nys. 1999. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study. Br. Poult. Sci. 40: 240-252.
- [7] Panheleux, M., Y. Nys, J. Williams, J. Gautron, T. Boldicke, and M. Hincke. 2000. Extraction and quantification by ELISA of eggshell organic matrix proteins (ovocleidin-17, ovalbumin, ovotransferrin) in shell from young and old hens. Poultry Sci. 79: 580-588.

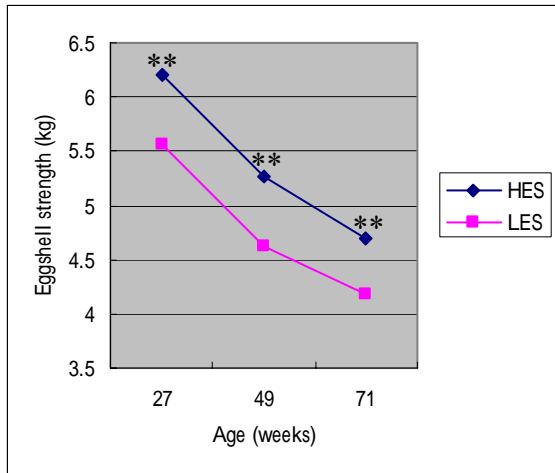


圖 1 經一代蛋殼強度雙向選拔菜鴨之蛋殼強度

Fig. 1 Eggshell strength in ducks after one generation of selection for eggshell strength. ** P<0.01.

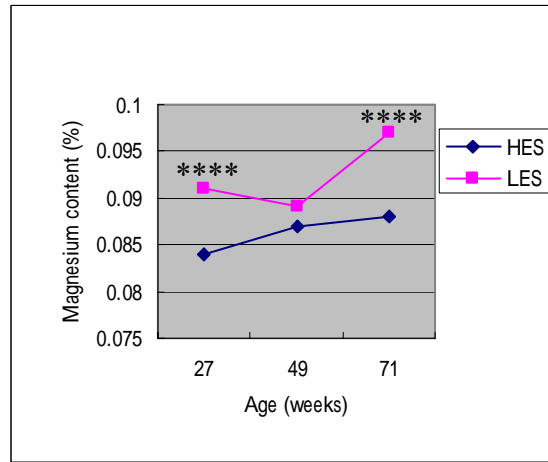


圖 3 經一代蛋殼強度雙向選拔菜鴨之蛋殼鎂含量

Fig. 3 Magnesium content in the duck eggshell after one generation of selection for eggshell strength. ** P<0.01.

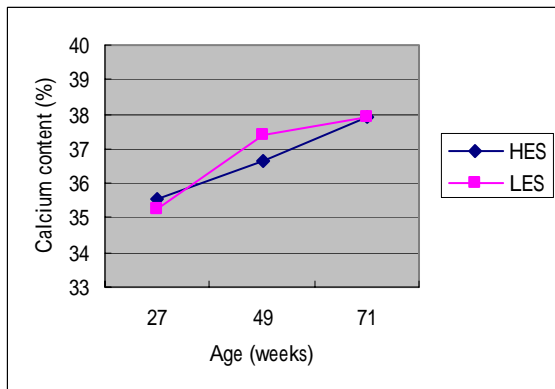


圖 2 經一代蛋殼強度雙向選拔菜鴨之蛋殼鈣含量

Fig.2 Calcium content in the duck eggshell after one generation of selection for eggshell strength.

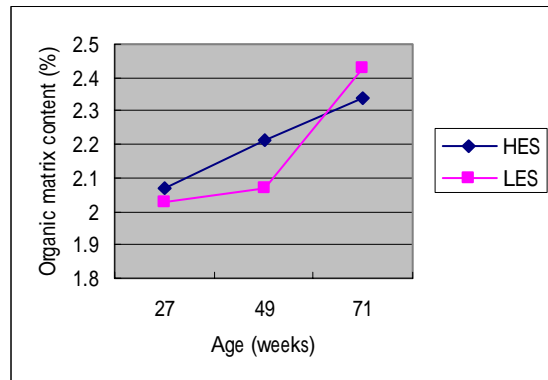


圖 4 經一代蛋殼強度雙向選拔菜鴨之蛋殼有機基質含量

Fig.4 Organic matrix content in the duck eggshell after one generation of selection for eggshell strength.

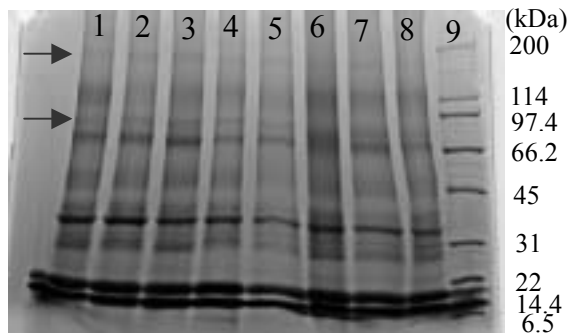


圖 5. 不同蛋殼強度 71 週齡菜鴨蛋殼蛋白質之比較

Fig. 5 Comparison of proteins in the duck eggshell at 71 weeks of age with different eggshell strength.

Proteins in Lanes 1~4 and 5~8 were from low eggshell strength (LES) and high eggshell strength (HES), respectively. The average eggshell strength for Lanes 1~4 and 5~8 were 2.85 and 6.58 kg, respectively. One hundred μ g of organic matrix was applied in each well. Lane 9 is the molecular weight marker.

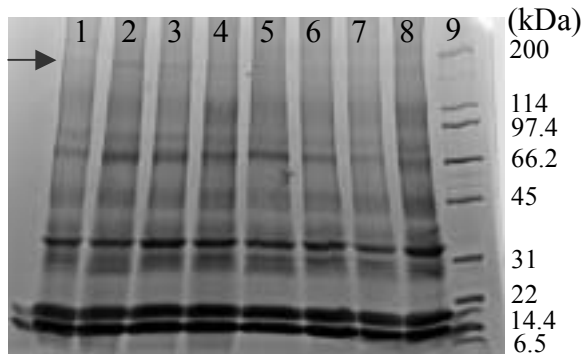


圖 6. 菜鴨 27 及 71 週齡之弱蛋殼強度的蛋殼中蛋白質比較

Fig. 6 Comparison of proteins in the duck eggshell of low-eggshell-strength Tsaiya population at 27 and 71 weeks of age.

Proteins in Lanes 1~4 and 5~8 were from low eggshell strength population at 71 and 27 weeks of age, respectively. The average eggshell strength for Lanes 1~4 and 5~8 were 2.85 and 4.58 kg, respectively. One hundred μ g of organic matrix was applied in each well. Lane 9 is the molecular weight marker.

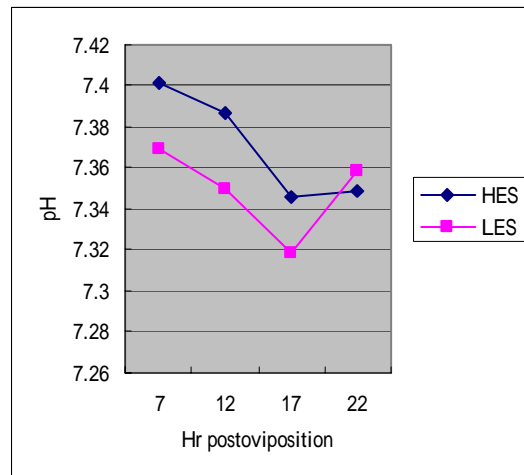


圖 7. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨血液 pH 值

Fig. 7 Blood pH value of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength.

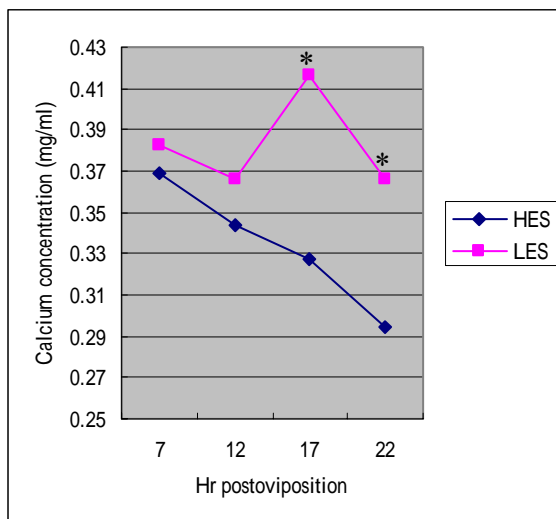


圖 8. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨血漿總鈣濃度

Fig. 8 Total plasma calcium concentration of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength. * $P < 0.05$.

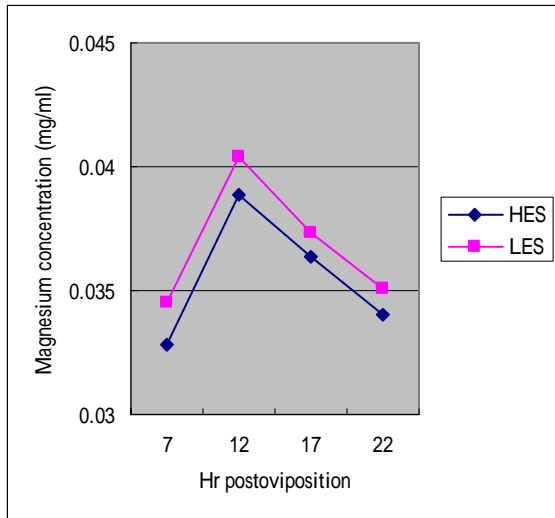


圖 9. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨血漿總鎂濃度

Fig. 9 Total Plasma magnesium concentration of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength.

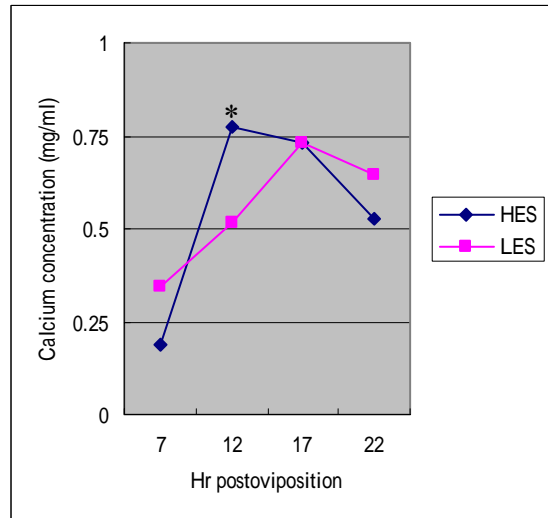


圖 11. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨子宮液總鈣濃度

Fig. 11 Total calcium concentration in the uterine fluid of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength. * $P < 0.05$.

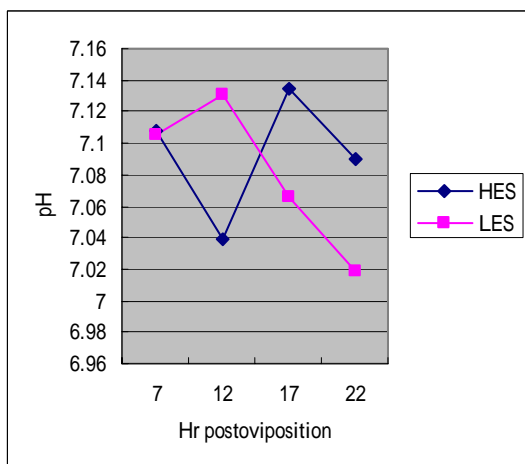


圖 10. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨子宮液 pH 值

Fig. 10 pH of uterine fluid of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength.

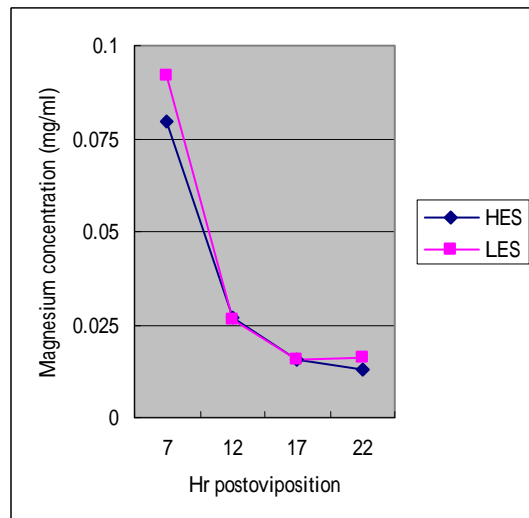


圖 12. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨子宮液總鎂濃度

Fig. 12 Total magnesium concentration in the uterine fluid of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength.

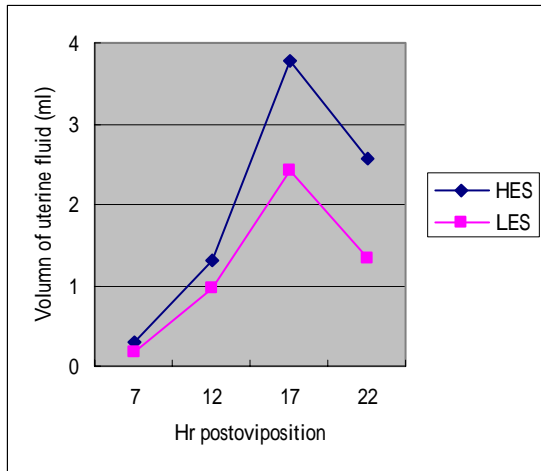


圖 13. 經兩代蛋殼強度選拔之 28 週齡菜鴨子宮液體積

Fig. 13 Volume of the uterine fluid of 28-week-old ducks after two generations of selection for eggshell strength.

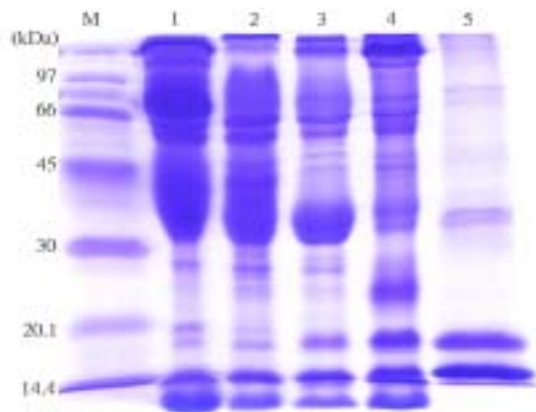


圖 14 菜鴨產蛋後不同時間之子宮液蛋白質電泳

Fig. 14 Electrophoretic profile of proteins in the uterine fluid in Tsaiya ducks at different postoviposition stages.

Lane 1~4 refers to proteins in the uterine fluid in Tsaiya ducks at 7, 12, 17, and 22 hours postoviposition, respectively. Lane 5 represents proteins in the eggshell of ducks. Twenty μ g of protein was applied in each of Lane 1~4, and 50 μ g of organic matrix was applied in Lane 5.

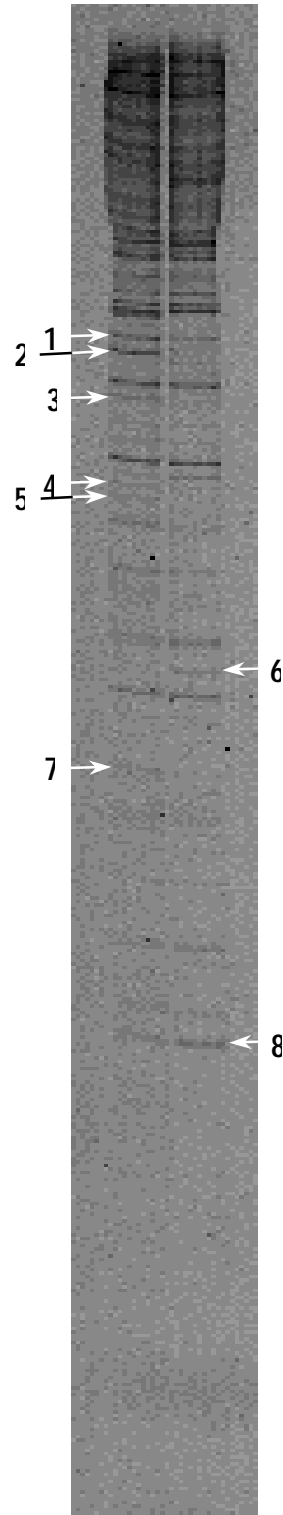


圖 15. 強、弱蛋殼強度菜鴨殼腺黏膜細胞 mRNA 進行差異顯現反轉錄-聚合 鏈鎖反應之電泳結果

Fig. 15 Electrophoretic profile of differential display reverse transcription-polymerase chain reaction for shell gland mucosa mRNA of HES and LES ducks. Anchor primer FH-T₁₁A and arbitrary primer H-AP1 were employed. The left and right lane refers to HES and LES shell gland derived from 28-week-old ducks and ducks were sacrificed 7 hr postoviposition.

TAGTCTCTCTGTGTACTTAATATTTTCAGGTGTAGTTTATAATTGCTGGTCATTGTT
TCGGTCATTGATAATGATCAGCATTGTGATTGTGTCTGACGTGCTTTGCAACTC
TCCTTAATTTACATGCTGTCTTGTAGCTCTACATGCAAGAAAGAAGAGGAAAG
ATGGCAGAGGCCCAAGAGAATCAATTGACTTTAGTAGCTGCTTCTCCTTTGT
GCCTGCTTCATGT

圖 16. 圖 15 條紋 3 之鹼基序列

Fig.16 The sequence of the band 3 in Fig. 15.

TTATAAAGTGCCCAAATAATTTTGTAATATATACCTCCCATAGAACTACATAACAA
TTTGGAGCATCTTGTAAGTATAGATATAAACTGTACATTTTCTTGATAAACTAA
TGTTGTAAATTAATTTTATTCT

圖 17. 圖 15 條紋 6 之鹼基序列

Fig.16 The sequence of the band 6 in Fig. 15.