

# 接種篩選乳酸菌對水稻全株青貯發酵品質的影響<sup>(1)</sup>

王紓愍<sup>(2)(3)</sup> 游翠凰<sup>(2)</sup> 陳嘉昇<sup>(2)</sup>

收件日期：102 年 9 月 10 日；接受日期：102 年 12 月 16 日

## 摘要

本試驗主要目的為測試畜產試驗所自行篩選之乳酸菌株 (*Lactobacillus* spp.) 對全株水稻的青貯效果，以為應用參考。試驗以糊熟期後期及黃熟期二種成熟度的水稻為材料，全株收穫、細切、進行不同處理後，以實驗規模青貯，測定青貯 2 個月後的青貯發酵品質及營養組成變化，以評估其效果。共進行 9 種處理，包括對照（不接種）、接種商業菌劑 Ecosyl (*Lactobacillus plantarum*)、接種菌株 St3 (*L. alimentarius*)、接種菌株 St12 (*L. plantarum* subsp. *plantarum*)、接種菌株 St15 (*L. plantarum* subsp. *plantarum*)、接種 St3、St12、St15 菌株的等量混合液、添加 1% 蔗糖、添加 1% 蔗糖並接種商業劑 Ecosyl 及添加 1% 蔗糖並接種 St3、St12、St15 菌株的等量混合液。結果顯示，全株水稻的青貯表現因成熟度、菌種添加及糖等處理影響明顯。乾物率、水溶性碳水化合物及澱粉含量等營養組成隨全株水稻的成熟度而異，因此成熟度對發酵產酸影響顯著；乳酸菌添加則可以顯著改善乳酸含量及 pH 值，菌種間的表現有顯著差異，以混合菌株的表現最佳，且篩選菌株的表現優於商業菌株；添加蔗糖也有改善青貯發酵之效，同時添加糖及乳酸菌的效果更佳，且混合菌株的表現同樣優於商業菌株。營養組成主要受成熟度的影響，青貯的影響較小。綜合結果顯示，乳酸菌添加是改善全株水稻青貯的關鍵因子，同時添加水溶性碳水化合物及乳酸菌的效果更顯著，且畜試所篩選之菌株表現優於商業菌株。

關鍵詞：水稻全株青貯、乳酸菌、青貯品質。

## 緒言

水稻是重要的糧食作物，除了穀粒供食用之外，稻桿上也常當做牛、羊的飼料利用，但並非傳統的飼料作物。唯因應特殊的情況，全株水稻的飼料化利用不乏其例，如日本 (Cai *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2003) 即已發展多年。穀類作物全株青貯的作法，在歐美等國行之有年，如玉米、高粱、大麥、小麥及燕麥等均可在環境合適時進行穀物生產，在環境不佳時轉作青貯料利用，全株青割玉米則直接以青貯目的而栽植 (Clayton *et al.*, 2003; de Ruiter, 2004; Filya, 2003; Filya, 2004; Mills and Kung, Jr., 2002; Nadeau, 2007)。

目前我國畜牧業的牧草自給率僅約 50%，必須大量仰賴進口牧草，近年來因為國際原物料與石油價格飛漲，使得飼養成本急速上升，嚴重衝擊草食動物產業，為此，政府已提出多項鼓勵國產飼料生產的措施。除此之外，農副產物或糧食作物的飼料化利用也是可以考慮的選項之一。水稻是臺灣最大宗的糧食作物，少量的飼料化利用一方面可補飼料之不足，另一方面也可增加農民經營之彈性，如對環境友善、更安全健康的有機畜牧正逐步發展中，水旱田輪作是有機飼料生產過程中，控制雜草與病蟲害的重要手段之一，所栽培之水稻除供食用外，亦可青貯後供動物利用。

全株穀物青貯時必須考慮物種特性、青貯時之水分含量、水溶性碳水化合物含量等條件，以確保青貯發酵良好 (Ellinbank and Hill, 2006)。此外，青貯菌種的接種也是常用以提高青貯發酵品質的重要手段。對

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2068 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。

株水稻而言，接種乳酸菌劑確實有助於青貯發酵（王及陳，2008；Maruyama *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2010）。畜試所自98年即開始進行本土青貯菌劑的開發研究，由多種材料來源篩選得多株乳酸菌株，分別測試其環境耐性與對不同飼料材料的青貯反應（王等，2012a；王等，2012b；游等，2012）。本試驗的主要目的即在測試接種篩選得到的本土菌株對全株水稻青貯發酵的改善效果，以提供後續應用。

## 材料與方法

### I. 材料：

利用民國100年恆春地區栽培的一期水稻（高雄145號）為材料，於相鄰田區收穫糊熟後期及黃熟期二種不同成熟度的水稻，留椿10公分，全株刈割，材料收穫後立即送入實驗室進行青貯試驗與取樣分析營養組成。

### II. 菌種分離、篩選與培養：

自青貯料、醃漬食品、酸乳、水果、堆肥及動物糞便中採樣進行乳酸菌分離。取前述材料適量，加入無菌水震盪30分鐘，濾液經系列稀釋後取0.2ml，於含100mg/L cycloheximide之MRS培養基（The Man, Rogosa and Sharpes medium）上以四區劃線法進行菌種分離，置於30°C恆溫箱厭氣培養48小時，挑取單一菌落移至新鮮MRS平板培養基，重覆進行純系分離3次，將純化菌株冷凍保存。篩選時將分離保存之冷凍菌株移至新鮮MRS液態培養基培養24小時，測定pH值，保留產酸達pH4以下菌株進行革蘭氏染色及鏡檢，將得到之革蘭氏陽性菌，繼代培養進行菌株耐性測試。藉由調整培養基狀態篩選環境適應性強的菌株（游等，2012）。

### III. 青貯試驗：

材料收穫後經機械細切為2~5公分左右，分為9組處理，分別為對照：不接種；Eco：接種*Lactobacillus plantarum* (Ecosyl公司提供)；St3：接種篩選菌株St3, *L. alimentarius*；St12：接種篩選菌株St12, *L. plantarum* subsp. *plantarum*；St15：接種篩選菌株St15, *L. plantarum* subsp. *plantarum*；Mix：接種St3、St12及St15三種菌株的等量混合菌液；Suc：添加蔗糖(1% fresh weight)；Suc + Eco：添加蔗糖1%及接種Eco；Suc + Mix：添加蔗糖及接種混合菌液。各菌種於接種前先經活化培養至 $1 \times 10^8$  cfu/mL，接種量為1mL，材料混合均勻後密封於真空塑膠袋內，每袋裝填材料1.5kg，於室溫下保存2個月，每一處理二重複。開封後，測定青貯品質與營養成份。

### IV. 營養成分測定：

青貯前及青貯開封後進行取樣。取樣之植體先以80°C烘48小時，測定乾物量。烘乾磨粉後置4°C冰箱保存以供成分測定。水溶性碳水化合物測定(water soluble carbohydrate, WSC)：植體乾粉經80%酒精萃取三次，合併萃取液並除去酒精後定量，依anthron呈色法測定(Morris, 1948)。澱粉的測定：先以80%的酒精於80°C下萃取除去WSC，棄去萃取液，樣品烘乾後加入過氯酸加熱水解，定量後同樣以anthron呈色法測定含量。粗蛋白質(crude protein, CP)含量以Kjeldahl法測定(AOAC, 1984)；酸洗纖維(acid-detergent fiber, ADF)及中洗纖維(neutral-detergent fiber, NDF)的測定以ANKOM<sup>200</sup>纖維分析儀進行(Komarek *et al.*, 1996; Vogel *et al.*, 1999)，NDF分析採添加 $\alpha$ -amylase方法(van Soest *et al.*, 1991)。

### V. 青貯品質分析：

酸鹼值為以20克新鮮青貯料加蒸餾水180mL，打碎過濾後以酸鹼度計測定之值。乳酸、丁酸、丙酸及乙酸之測定以氣體層析儀依Jones and Kay (1976)的方法進行，將前述青貯萃取液經過陽離子管柱，洗出液以0.05N tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAH)滴定至pH為8，70°C下烘乾，加入定量丙酮溶解並依TBAH滴定量加入適量benzyl bromide與揮發性脂肪酸反應，樣品製備完成，再以氣象層析儀分析含量。依青貯料中乳酸、丁酸及乙酸占測定乙酸、丙酸、丁酸與乳酸四者總量之當量百分比進行評分，再將三項總加所得即為青貯品質評分(Fleig's score)，評分40以下表示青貯失敗、40~60分為可接受、60~80分為好的青貯、80分以上為發酵優良的青貯(許等, 1995)。因本試驗系統密閉，沒有滲漏，因此以青貯後之乾物率除以青貯前之乾物率計算乾物回收率。

## 結果與討論

表 1 為收穫的全株水稻青貯前的化學組成，糊熟晚期及黃熟期之營養組成除粗蛋白質含量無差異外，其餘組成均有明顯差異。乾物率及澱粉含量隨成熟度而增加，中洗纖維、酸洗纖維及水溶性碳水化合物則隨成熟度降低。表中亦顯示中、酸洗纖維未因植株老化而提高，主要是因為穀粒貯藏組織在全株的占比提高之故。

表 1. 水稻全株青貯前之化學組成

Table 1. Chemical composition of rice materials before ensilage

| Maturity    | Dry matter<br>%   | Crude protein    | Neutral detergent fiber | Acid detergent fiber<br>% DM | Water soluble carbohydrate | Starch            |
|-------------|-------------------|------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------|
| Late dough  | 35.2 <sup>b</sup> | 5.6 <sup>a</sup> | 67.3 <sup>a</sup>       | 42.0 <sup>a</sup>            | 5.3 <sup>a</sup>           | 10.8 <sup>b</sup> |
| Yellow-ripe | 45.3 <sup>a</sup> | 5.8 <sup>a</sup> | 57.5 <sup>b</sup>       | 35.2 <sup>b</sup>            | 4.4 <sup>b</sup>           | 24.4 <sup>a</sup> |

<sup>a, b</sup> Means in the same column with different superscripts are different significantly ( $P < 0.05$ ).

本試驗水稻青貯料之發酵表現因成熟度、接種及添加蔗糖等處理而異。各種試驗處理的乙酸、丙酸、丁酸與乳酸含量的變動範圍分別為：5.8 ~ 17.6 g/kg DM、0 ~ 1.2 g/kg DM、3.3 ~ 9.6 g/kg DM 及 5.9 ~ 23.2 g/kg DM。相較於多數狼尾草與青割玉米青貯料的發酵狀況（王等，2000；王等，2002；王等，2007），水稻青貯料發酵的乳酸與發酵總產酸量較低，而且所有處理均有丁酸產生。

為了解不同因子對全株水稻青貯的影響，本研究將試驗結果分別進行二組變方分析。以成熟度及接種處理為變因進行的變方分析顯示，接種處理對 pH 值、發酵產酸及乳酸 / 乙酸比值 (L/A) 等發酵品質方面影響極顯著，對營養組成影響不顯著；成熟度則顯著影響營養組成，青貯品質方面僅影響顯著發酵產酸，但對 pH 值及 L/A 的影響不顯著（表 2）。由於接種處理中混合菌株與商業菌株部分包括單獨接種與蔗糖添加及菌種接種，另以成熟度、蔗糖添加及乳酸菌接種等因素進行變方分析，結果顯示成熟度對營養組成及發酵產酸性狀都有極顯著影響，接種處理則只對發酵性狀有極顯著影響，蔗糖添加對發酵性狀及粗蛋白質上有極顯著差異。除主效應外，在丙酸、丁酸及 L/A 上還有顯著的因子間交互作用（表 3）。

表 2. 成熟度與接種處理對水稻全株青貯發酵及營養組成的變方分析表

Table 2. The ANOVA results of maturity and inoculation treatments on fermentation and chemical composition of whole crop rice silage

| Source                 | DF | Mean square <sup>+</sup> |                     |                    |                    |                     |                    |                     |                    |                       |                     |
|------------------------|----|--------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|
|                        |    | pH                       | A                   | P                  | B                  | L                   | L/A                | Score               | CP                 | NDF                   | ADF                 |
| Maturity               | 1  | 0.001                    | 180.8 <sup>**</sup> | 2.60 <sup>**</sup> | 16.5 <sup>**</sup> | 108.5 <sup>**</sup> | 0.53               | 66.7                | 5.06 <sup>**</sup> | 1,135.2 <sup>**</sup> | 700.9 <sup>**</sup> |
| Inoculation            | 5  | 0.137 <sup>**</sup>      | 17.3 <sup>**</sup>  | 0.26 <sup>**</sup> | 5.8 <sup>**</sup>  | 80.0 <sup>**</sup>  | 1.29 <sup>**</sup> | 686.0 <sup>**</sup> | 0.09               | 37.7                  | 9.6                 |
| Maturity × Inoculation | 5  | 0.006                    | 4.0                 | 0.16 <sup>*</sup>  | 1.1                | 9.1                 | 0.19               | 49.4                | 0.14               | 27.8                  | 7.1                 |
| Error                  | 12 | 0.004                    | 1.7                 | 0.05               | 0.4                | 5.2                 | 0.06               | 11.8                | 0.05               | 10.1                  | 5.7                 |

<sup>+</sup> pH: pH value; A: acetic acid; P: propionic acid; B: butyric acid; L: lactic acid; L/A: ratio of lactic acid/acetic acid; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber.

\*,\*\* significant at 5% and 1% levels, respectively.

表 4 為不同收穫成熟度及乳酸菌接種對全株水稻青貯的發酵影響。成熟度方面：糊熟期的材料因含水率較高，發酵產酸量高於黃熟期，但其乙酸與丁酸含量都較高、L/A 較低，發酵品質相對較差。Islam *et al.* (2004) 及 Maruyama *et al.* (2005) 均表示全株水稻的青貯品質隨成熟度提高，彼等認為較低的含水率，有利於改善全株水稻的發酵品質，本試驗結果與之一致。接種處理方面：乳酸菌接種可以顯著改善全株水稻青

貯，Eco 處理的 pH 值由對照的 4.7 分別降至 4.6 ( 糊熟 ) 及 4.5 ( 黃熟 )，乳酸則分別由 7.5 g/kg DM 提高至 12.0 g/kg DM ( 糊熟 ) 以及由 5.9 g/kg DM 提高至 11.7 g/kg DM ( 黃熟 )，顯著提高青貯品質；接種篩選菌株 St3、St12、St15 及混合菌株的表現類似於商業菌劑，但改善的效果更顯著，糊熟期的全株水稻經 St3、St12、St15 及 Mix 的處理 pH 值分別為 4.5、4.3、4.2 及 4.3，乳酸為 19.8 g/kg DM、18.7 g/kg DM、21.7 g/kg DM 及 20.7 g/kg DM；黃熟期全株水稻的表現趨勢與糊熟相似。此外，乳酸菌接種雖然顯著改善全株水稻的青貯表現，但其整體評分仍然偏低 ( 表 4 )。Ennahar *et al.* (2002) 的研究顯示水稻表面具有多種乳酸菌，包括 *L. plantarum* (24%)、*Lactococcus lactis* (22%)、*Leuconostoc pseudomesenteroides* (20%)、*Pediococcus acidilactici* (11%)、*L. brevis* (11%)、*Enterococcus faecalis* (7%)、*Weissella kimchii* (3%) 及 *P. pentosaceus* (2%) 等，而本試驗及許多的研究 (Cai *et al.*, 2001; Maruyama *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2010) 都指出乳酸菌接種是提昇全株水稻青貯品質的重要影響因子，顯示水稻的天然菌相尚不足以促成優勢的乳酸發酵反應。

表 3. 添加 1% 蔗糖、成熟度與接種處理對水稻全株青貯發酵及營養組成的變方分析表

Table 3. The ANOVA results of sucrose addition, maturity and inoculation treatments on fermentation and chemical composition of whole crop rice silage

| Source                           | DF | Mean square <sup>+</sup> |         |        |        |         |         |         |        |           |         |
|----------------------------------|----|--------------------------|---------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|-----------|---------|
|                                  |    | pH                       | A       | P      | B      | L       | L/A     | Score   | CP     | NDF       | ADF     |
| Maturity                         | 1  | 0.001                    | 225.3** | 0.67** | 23.9** | 12.44** | 2.548** | 118.2** | 6.60** | 1,148.0** | 178.5** |
| Inoculation                      | 2  | 0.403**                  | 29.1**  | 0.28** | 7.8**  | 75.93** | 5.234** | 706.2** | 0.01   | 36.0*     | 3.2     |
| Sucrose                          | 1  | 0.350**                  | 50.3**  | 1.03** | 29.3** | 22.26** | 2.996** | 446.7** | 0.53** | 13.0      | 1.3     |
| Maturity × Inoculation           | 2  | 0.006                    | 0.4     | 0.17** | 4.2**  | 1.67    | 0.350** | 10.0    | 0.35** | 23.6      | 0.1     |
| Maturity × Sucrose               | 1  | 0.005                    | 2.0     | 0.67** | 0.1    | 0.01    | 0.299** | 0.7     | 0.20*  | 46.1*     | 11.9**  |
| Inoculation × Sucrose            | 2  | 0.004                    | 6.5*    | 0.28** | 2.4**  | 1.13    | 0.150** | 3.6     | 0.19** | 30.5*     | 0.9     |
| Maturity × Inoculation × Sucrose | 2  | 0.001                    | 4.0     | 0.17** | 1.9**  | 2.72    | 0.258** | 27.6**  | 0.55** | 26.9*     | 1.6     |
| Error                            | 12 | 0.003                    | 1.1     | 0.01   | 0.1    | 3.74    | 0.006   | 2.8     | 0.02   | 6.8       | 3.1     |

<sup>+, \*, \*\*</sup> The same as table 2.

表 5 為全株水稻青貯在添加蔗糖、不同收穫成熟度及接種乳酸菌等處理下的發酵與營養組成變化。成熟度與接種處理的影響基本上與表 4 一致。加糖處理的 pH 值、乙酸、丙酸及丁酸含量均較相應的未加糖處理者低，而乳酸含量及 L/A 提高，顯著提高全株水稻的青貯品質。糊熟後期加糖處理將 L/A 由不加糖的 0.4 增加至 0.6，而黃熟期加糖的 L/A 則由不加糖的 0.5 增加至 1.1，顯示加糖處理對黃熟期 L/A 的增加效果較糊熟期明顯。同時添加糖及乳酸菌的處理較只添加糖的處理具更低的 pH 值與乙酸，以及較高乳酸及與 L/A，糊熟的全株水稻經 Suc + Eco 及 Suc + Mix 的處理，pH 值由單純 Suc 處理的 4.4 分別降低至 4.2 及 4.0；黃熟期則是由 Suc 處理的 4.5 分別降低至 4.2 (Suc + Eco) 及 4.0 (Suc + Mix)，其他在乙酸、乳酸、L/A 與評分方面也都有相同的趨勢，顯示接種並加糖處理的青貯品質優於只加糖的處理，且混合菌株的處理效果明顯較商業菌株佳。

水溶性碳水化合物含量、含水率及微生物相是影響青貯等發酵反應的重要因子，以全株水稻而言，自然收穫的材料直接青貯通常無法獲得滿意的結果 ( 王及陳，2008；Maruyama *et al.*, 2005 )，一個可能的原因為水稻的水溶性碳化合物含量不足，難以提供乳酸菌發酵至足以抑制其他微生物活動的程度；另水稻表面的自然菌相不佳，Weber *et al.* (2001) 發現 *Clostridia* 屬是水田厭氧環境下的優勢菌種，在促進稻桿分解上扮演了重要角色。因此在自然情況下水稻植株可能有丁酸菌或丁酸菌孢子附著，一旦乳酸發酵不足，就可能會有大量丁酸產生。本試驗結果明確顯示，在沒有乳酸菌接種的情況下，全株水稻的青貯發酵不佳，糊熟期的水溶性碳水化合物含量雖較黃熟期高，其乳酸含量也略高，但二者的 pH 值仍偏高，顯示水溶性糖

不足，添加 1% 蔗糖可以顯著提高乳酸含量且降低丁酸，但表現仍較略遜於同時加糖與接種的處理，特別是在原本條件較差的黃熟期材料反應尤其明顯，而且自行篩選菌株的表現較商業菌種佳。由本試驗結果，乳酸菌添加是改善全株水稻青貯的關鍵因子，同時添加水溶性碳水化合物及乳酸菌的效果更顯著，且畜試所篩選之菌株表現優於商業菌株。

表 4. 不同成熟度與接種處理對水稻全株青貯發酵之影響

Table 4. Effect of maturity and inoculation treatments on fermentation of whole-crop rice silage

| Maturity          | Inoculation <sup>+</sup> | pH               | Acetic acid       | Propionic acid     | Butyric acid      | Lactic acid        | L/A*              | Score              |
|-------------------|--------------------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| -----g/kg DM----- |                          |                  |                   |                    |                   |                    |                   |                    |
| Late dough        | Control                  | 4.7 <sup>a</sup> | 17.6 <sup>a</sup> | 0.24 <sup>c</sup>  | 9.5 <sup>a</sup>  | 7.5 <sup>e</sup>   | 0.4 <sup>c</sup>  | 17.0 <sup>c</sup>  |
|                   | Eco                      | 4.6 <sup>b</sup> | 16.7 <sup>a</sup> | 0.00 <sup>d</sup>  | 9.6 <sup>a</sup>  | 12.0 <sup>d</sup>  | 0.7 <sup>c</sup>  | 29.0 <sup>b</sup>  |
|                   | St3                      | 4.4 <sup>c</sup> | 11.7 <sup>b</sup> | 0.00 <sup>d</sup>  | 7.1 <sup>bc</sup> | 19.8 <sup>ab</sup> | 1.7 <sup>b</sup>  | 50.5 <sup>a</sup>  |
|                   | St12                     | 4.3 <sup>c</sup> | 13.1 <sup>b</sup> | 0.00 <sup>d</sup>  | 6.4 <sup>c</sup>  | 18.7 <sup>b</sup>  | 1.4 <sup>b</sup>  | 49.5 <sup>a</sup>  |
|                   | St15                     | 4.2 <sup>d</sup> | 11.6 <sup>b</sup> | 0.00 <sup>d</sup>  | 7.2 <sup>bc</sup> | 21.7 <sup>a</sup>  | 1.9 <sup>ab</sup> | 53.0 <sup>a</sup>  |
|                   | Mix                      | 4.3 <sup>c</sup> | 12.9 <sup>b</sup> | 0.00 <sup>d</sup>  | 6.5 <sup>c</sup>  | 20.7 <sup>a</sup>  | 1.6 <sup>b</sup>  | 50.0 <sup>a</sup>  |
| Yellow-ripe       | Control                  | 4.7 <sup>a</sup> | 12.3 <sup>b</sup> | 1.21 <sup>a</sup>  | 8.2 <sup>b</sup>  | 5.9 <sup>e</sup>   | 0.5 <sup>c</sup>  | 21.5 <sup>d</sup>  |
|                   | Eco                      | 4.5 <sup>b</sup> | 8.0 <sup>c</sup>  | 1.04 <sup>ab</sup> | 5.9 <sup>cd</sup> | 11.7 <sup>d</sup>  | 1.5 <sup>b</sup>  | 44.0 <sup>c</sup>  |
|                   | St3                      | 4.4 <sup>c</sup> | 8.1 <sup>c</sup>  | 0.94 <sup>ab</sup> | 6.3 <sup>c</sup>  | 13.6 <sup>cd</sup> | 1.7 <sup>b</sup>  | 47.5 <sup>bc</sup> |
|                   | St12                     | 4.2 <sup>d</sup> | 7.1 <sup>c</sup>  | 0.59 <sup>b</sup>  | 5.0 <sup>d</sup>  | 15.6 <sup>c</sup>  | 2.2 <sup>a</sup>  | 56.0 <sup>a</sup>  |
|                   | St15                     | 4.3 <sup>c</sup> | 8.5 <sup>c</sup>  | 0.43 <sup>bc</sup> | 5.8 <sup>cd</sup> | 14.1 <sup>cd</sup> | 1.7 <sup>b</sup>  | 49.0 <sup>b</sup>  |
|                   | Mix                      | 4.2 <sup>d</sup> | 6.6 <sup>c</sup>  | 0.00 <sup>d</sup>  | 5.2 <sup>d</sup>  | 14.1 <sup>cd</sup> | 2.1 <sup>a</sup>  | 51.0 <sup>b</sup>  |

<sup>+</sup> Control, without inoculation, Eco, inoculated with commercial product Ecosyl; St3, inoculated with isolated strain St3; St12, inoculated with isolated strain St12; St15, inoculated with isolated strain St15; Mix, inoculated with mixture of isolated strains St3, St12 and St15.

\*L/A: ratio of lactic acid/acetic acid.

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

表 5. 添加 1% 蔗糖、成熟度與接種處理對水稻全株青貯發酵之影響

Table 5. Effect of sucrose addition, maturity and inoculation treatments on fermentation of whole-crop rice silage

| Sucrose           | Maturity   | Inoculation <sup>+</sup> | pH                | Acetic acid        | Propionic acid    | Butyric acid      | Lactic acid       | L/A*              | Score              |
|-------------------|------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| -----g/kg DM----- |            |                          |                   |                    |                   |                   |                   |                   |                    |
| Control           | Late dough | Control                  | 4.6 <sup>ab</sup> | 17.6 <sup>a</sup>  | 0.24 <sup>a</sup> | 9.5 <sup>a</sup>  | 7.5 <sup>d</sup>  | 0.4 <sup>e</sup>  | 17.0 <sup>f</sup>  |
|                   |            | Eco.                     | 4.6 <sup>ab</sup> | 16.7 <sup>ab</sup> | 0.00 <sup>c</sup> | 9.6 <sup>a</sup>  | 12.0 <sup>c</sup> | 0.7 <sup>de</sup> | 29.0 <sup>e</sup>  |
|                   |            | Mix.                     | 4.3 <sup>c</sup>  | 12.9 <sup>c</sup>  | 0.00 <sup>c</sup> | 6.5 <sup>c</sup>  | 20.7 <sup>a</sup> | 1.6 <sup>cd</sup> | 50.0 <sup>c</sup>  |
| Yellow-ripe       |            | Control                  | 4.7 <sup>a</sup>  | 12.3 <sup>c</sup>  | 1.21 <sup>b</sup> | 8.2 <sup>b</sup>  | 5.9 <sup>d</sup>  | 0.5 <sup>e</sup>  | 21.5 <sup>f</sup>  |
|                   |            | Eco.                     | 4.5 <sup>b</sup>  | 8.0 <sup>de</sup>  | 1.04 <sup>b</sup> | 5.9 <sup>cd</sup> | 11.7 <sup>c</sup> | 1.5 <sup>cd</sup> | 44.0 <sup>d</sup>  |
|                   |            | Mix.                     | 4.2 <sup>c</sup>  | 6.8 <sup>e</sup>   | 0.00 <sup>c</sup> | 5.2 <sup>d</sup>  | 14.1 <sup>c</sup> | 2.1 <sup>b</sup>  | 51.0 <sup>c</sup>  |
| Addition          | Late dough | Control                  | 4.4 <sup>bc</sup> | 14.2 <sup>bc</sup> | 0.00 <sup>c</sup> | 5.6 <sup>d</sup>  | 9.0 <sup>d</sup>  | 0.6 <sup>de</sup> | 31.5 <sup>e</sup>  |
|                   |            | Eco.                     | 4.2 <sup>c</sup>  | 10.4 <sup>cd</sup> | 0.00 <sup>c</sup> | 6.5 <sup>c</sup>  | 19.1 <sup>b</sup> | 1.7 <sup>bc</sup> | 50.5 <sup>c</sup>  |
|                   |            | Mix.                     | 4.0 <sup>d</sup>  | 12.2 <sup>e</sup>  | 0.00 <sup>c</sup> | 6.5 <sup>c</sup>  | 23.1 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>bc</sup> | 55.6 <sup>bc</sup> |
| Yellow-ripe       |            | Control                  | 4.5 <sup>b</sup>  | 8.2 <sup>de</sup>  | 0.00 <sup>c</sup> | 6.0 <sup>cd</sup> | 8.5 <sup>d</sup>  | 1.1 <sup>d</sup>  | 33.5 <sup>e</sup>  |
|                   |            | Eco.                     | 4.2 <sup>c</sup>  | 6.1 <sup>e</sup>   | 0.00 <sup>c</sup> | 3.7 <sup>e</sup>  | 14.0 <sup>c</sup> | 2.2 <sup>b</sup>  | 56.5 <sup>b</sup>  |
|                   |            | Mix.                     | 4.0 <sup>d</sup>  | 5.8 <sup>e</sup>   | 0.00 <sup>c</sup> | 3.2 <sup>e</sup>  | 20.5 <sup>a</sup> | 3.5 <sup>a</sup>  | 71.5 <sup>a</sup>  |

<sup>+</sup>, \* The same as table 4.

a, b, c, d, e, f Means in the same column with different superscripts are different significantly ( $P < 0.05$ ).

青貯菌劑可以協助不容易青貯的材料更好保存，但任何生物學的辦法都不能違背自然的規範及限制。以乳酸菌而言，增加數量是可以提高乳酸發酵的比例，但前提是需要有能工作的環境，意即需有適當的水活性及發酵材料，因此材料本身的化學組成一定會影響青貯發酵；另外加入的菌種在生長的同時必然與材料表面的菌相進行競合，而微生物間的消長最後會反映在發酵品質上。本實驗證實本土乳酸菌確實有助全株水稻的發酵品質，並且其與水稻表面菌相的交互作用較商業菌劑 Ecosyl 更正向，是發展全株水稻青貯的關鍵角色。

## 參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇。2008。成熟度、接種處理與青貯保存時間對全株水稻青貯品質的影響。畜產研究 41：153-162。
- 王紓愍、游翠凰、陳嘉昇。2012a。不同材料高水分玉米的青貯發酵。畜產研究 45：355-368。
- 王紓愍、陳嘉昇、游翠凰、劉信宏。2012b。成熟度接種及材料加工對高水分玉米青貯發酵的影響。畜產研究 45：197-208。
- 王紓愍、陳嘉昇、成游貴。2000。狼尾草品系水溶性碳水化合物含量與青貯品質之關係。畜產研究 33：352-361。
- 王紓愍、陳嘉昇、成游貴。2002。水溶性碳水化合物含量的變化對狼尾草青貯品質的影響。畜產研究 35：143-150。
- 王紓愍、陳嘉昇、游翠凰、劉信宏。2007。種植期、收穫期及品種對青貯玉米發酵品質的影響。畜產研究 40：37-47。
- 許福星、盧啓信、成游貴、卜瑞雄、鄭俊哲。1995。飼料作物青貯調製。臺灣省畜產試驗所專輯第 41 號。
- 游翠凰、王紓愍、劉信宏、陳嘉昇。2012。青貯菌劑的篩選及對苜蓿半乾青貯品質的影響。畜產研究 45：209-216。
- Adesogan, A. T., M. B. Salawu, A. B. Ross, D. R. Davies and A. E. Brooks. 2003. Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains. J. Dairy Sci. 86: 1789-1796.
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14<sup>th</sup> ed. Washington DC. pp.125-142.
- Cai, Y., Y. Fujita, M. Murai, M. Ogawa and N. Yoshida. 2001. Selection of lactic acid bacteria and silage preparation of forage paddy rice. 11th International Symposium on Forage Conservation. pp114-115.
- Cai, Y., Y. Fujita, M. Murai, M. Ogawa and N. Yoshida. 2003. Application of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* Chikuso-1) for silage preparation. Grassland Sci. 49 : 477-485.
- Clayton, G., K. Turkington, J. O'Donovan, N. Harker, B. Blackshaw and N. Lupwayi. 2003. Does crop health management improve cereal silage production in Alberta. Adv. Dairy Tech. 15: 241-249.
- de Ruiter, J. 2004. Performance indicators for harvest timing of whole crop cereals for silage. 4th International crop science congress, Brisbane, Australia.
- Ellinbank, F. M. and J. Hill. 2006. Forage cereals : harvest and storage : when to cut for whole-crop cereal silage. Agriculture Notes. ISSN 1329-8062.
- Ennahar, S., Y. Cai and Y. Fujita. 2003. Phylogenetic diversity of lactic acid bacteria associated with paddy rice silage as determined by 16 S ribosomal DNA analysis. App. and Environ. Microbio. 69: 444-451.
- Filya, I. 2003. Nutritive value of whole crop wheat silage harvested at three stages of maturity. Anim. Feed Sci. Tech. 103: 85-95.
- Filya, I. 2004. Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. Anim. Feed Sci. Tech. 116: 141-150.
- Jones, D. W. and J. J. Kay. 1976. Determination of volatile fatty acid C1-C6 and lactic acid in silage juice. J. Sci. Food Agric. 27: 1005-1014.

- Komarek, A. R., H. Manson and N. Thiex. 1996. Crude fiber determination using the ANKOM system. Publ. 102. ANKOM technol. Corp., Fairport, NY.
- Maruyama, S., I. Yokoyama, H. Asai, S. Sakaguchi, T. Ohtani, H. Yokota and K. Kita. 2005. Influence of ripening stages on the quality of whole crop silage and grain silage of fodder rice. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2005. 18: 340-344
- Mills, J. A. and L. Kung, Jr. 2002. The effect of delayed ensiling and application of propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. J. Dairy Sci. 85: 1969-1975.
- Momoze, Y., H. Takuo, T. Manabu and N. Nobuo. 2005. Effects of chopping length on the loading density and fermentation quality of whole crop rice silage. Japanese J. Grassland Sci. 51: 190-194.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. Science 107: 254-255.
- Nadeau, E. 2006. Effects of plant species, stage of maturity and additive on the feeding value of whole-crop cereal silage. J. Sci. Food and Agri. 87: 789-801.
- Nishino, N., H. Hattori and Y. Kishida. 2007. Alcoholic fermentation and its prevention by *Lactobacillus buchneri* in whole crop rice silage. Letters Appl. Microbiol. 44: 538-543.
- Rotz, C. A. and R. E. Muck. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In: Forage quality, evaluation and utilization. eds. Fahey, Jr. G. C., M. Collins, D. R. Mertens and L. E. Moser. American Society of Agronomy, Inc. Madison, pp.828-868.
- Takahashi, T., M. Manami, Z. Yanli, M. Takashi, I. Yasuhiro, K. Shuhei and I. Hisao. 2007. Effect of feeding of whole crop rice silage on milk production, rumen fermentation, blood metabolites and feeding behavior of lactating cows. Nihon Chikusan Gakkaiho 78: 45-55.
- 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.
- Vogel, K., J. F. Pedersen, S. D. Masterson and J. J. Toy. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVMD forage analysis. Crop Sci. 39: 276-279.
- Weber, S., S. Stubner and R. Conrad. 2001. Bacterial populations colonizing and degrading rice straw in anoxic paddy soil. Appl. Environ. Microbiol. 67: 1318-1327.
- Zhang, Y. G., H. S. Xin and J. L. Hua. 2012. Effects of treating whole-plant or chopped rice straw silage with different levels of lactic acid bacteria on silage fermentation and nutritive value for lactating holsteins. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23: 1601-1607.

# The effect of selected inoculants on fermentation quality of whole crop rice silage<sup>(1)</sup>

Shu-Min Wang <sup>(2)(3)</sup> Tsui-Huang Yu <sup>(2)</sup> and Chia-Sheng Chen <sup>(2)</sup>

Received: Jun. 30, 2013; Accepted: Dec. 16, 2013

## Abstract

The purpose of this research is to evaluate the effects of inoculants selected from local resource on fermentation quality of whole crop rice silage. The materials used in this study were whole plants of rice harvested at two maturity stage, late dough and yellow. After cut and different inoculants treatments, the materials were ensiled for two months at room temperature to evaluate the inoculant effect. Treatments included inoculation with commercial inoculant Ecosyl (Eco, *Lactobacillus plantarum*), inoculation with selected strain St3 (St3, *L. alimentarius*), inoculation with selected strain St12 (St12, *L. plantarum* subsp. *plantarum*), inoculation with selected strain St15 (St15, *L. plantarum* subsp. *plantarum*), inoculation with mixture of strains St3, St12 and St15 (Mix), addition of 1% sucrose (Sug), addition of 1% sucrose and inoculation with Ecosyl (Sug + Eco), addition of 1% sucrose and mixture of selected stains (Sug + Mix), and no inoculation (control). The fermentation qualities were affected by maturity, inoculation and addition of sucrose. The total volatile fatty acid contents of whole crop rice silage at late dough stage were higher than those at yellow stage. However, the fermentation quality improved with the increase in maturity. The lactic acid contents increased with inoculation, and there were significant difference among different inoculation treatments. The best inoculation treatment was Mix (mixture of selected strains) which had higher lactic acid contents and lactic acid/acetic acid ratio (L/A). Addition sucrose improved fermentation of whole crop rice silage also. The treatment of addition of sucrose and inoculation had better results than those of addition of sucrose only. The results showed that inoculation with lactic acid bacteria effectively improve the fermentation of whole crop rice silage, and the local strains were more effective than commercial one.

Key words: Whole crop rice silage, Lactic acid bacteria, Silage quality.

---

(1) Contribution No. 2068 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Hengchun Branch, COA-LRI, Pingtung 946, Taiwan, R. O. C.

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