

接種與萎凋對盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的影響⁽¹⁾

王紓愍⁽²⁾⁽³⁾ 游翠鳳⁽²⁾ 劉信宏⁽²⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：105 年 6 月 24 日；接受日期：105 年 12 月 5 日

摘 要

本試驗為建立盤固草 / 苜蓿混植草半乾青貯調製技術，探討接種與萎凋對青貯發酵的影響。混植材料收穫後經 0 至 24 小時共 10 個時間點的萎凋，分別接種（畜試所開發菌劑， 2×10^8 cfu/kg forage）或不接種（對照），進行實驗室規模青貯，青貯後保存於室溫下，53 天及 102 天開封。結果顯示，相對於萎凋及不同開封時間等處理，接種為影響乳酸與總酸量的最重要因子；乳酸量受接種與萎凋影響，乙酸僅受萎凋影響；貯存期間僅影響 pH。接種菌劑者，乾物率由 30% 至 60% 均可獲得良好的發酵等級；在不接種菌劑之下，僅控制萎凋則不能達到良好青貯等級。

關鍵詞：盤固草 / 苜蓿混植草、青貯、接種、萎凋。

緒 言

盤固草自引入臺灣之後，由於對環境適應良好且種植管理容易，一直是國內主要乾草來源。雖然盤固草是熱帶禾本科牧草中品質較佳的物種，但蛋白質含量仍然偏低，近年畜試所恆春分所曾進行多種禾豆草地混植試驗，以改善草地環境並提高禾本科牧草營養（陳等 2010；2011）。禾豆混植草地的營養價值較佳，但臺灣夏季多雨且氣候不穩，即使是單純的禾本科牧草乾燥調製就經常無法順利進行，加上豆科牧草調製乾草的挑戰更大。半乾青貯可以縮短牧草收穫後在田間的作業時間，減少由天候不穩定造成的損失，也適宜保存豆科或禾 / 豆混植之類較難乾燥的高營養牧草，同時良好的發酵不僅能有效保存牧草的營養價值，還可以提高適口性，增進動物採食（Müller and Udén, 2007）。然而青貯是個複雜的發酵過程，發酵品質決定於多項因子的交互作用，牧草狀態、調製條件與菌相的變化是主要的影響因子（Müller, 2009; Muck, 2011; Schenck and Müller, 2014）。由於自然菌相不一定適宜，添加青貯菌劑也是常用的改善方法，可以有效地促進青貯的發酵品質並增進開封後定性（Kung, 2010; Muck, 2013; Arriola *et al.*, 2015）。因此，本試驗利用實驗室規模青貯，探討接種與萎凋對盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的影響，以建立優質調製技術基礎。

材料與方法

I. 材料

試驗材料來自畜產試驗所恆春分所的盤固草 / 苜蓿混植草地，該草地為建立多年的禾豆混植草地，盤固草與苜蓿混植比例約為 3：1。收穫日期為 103 年 11 月 20 日，牧草刈割後細切為 10 – 15 cm 左右，立即青貯或經不同時間萎凋後再進行青貯（處理共計進行 0、2、3、5、7、15、18、20、22 及 24 小時 10 個處理）。

II. 青貯處理及青貯方法

將每一個時間點的材料分為二部分，分別進行對照及接種二種處理。對照：不接種；接種：接種自行開發的青貯菌劑（接種量為 2×10^8 cfu/kg fresh material）。材料處理後以塑膠袋真空密封，每袋 1 kg，進行實驗室規模青貯。青貯後置於室溫下貯存，分別於貯存 53 天及 102 天開封，測定發酵品質變化。每處理 2 重複。

III. 青貯品質測定

乾物率為 70°C 下烘乾 48 小時之乾鮮重比。酸鹼值為 20 g 新鮮青貯料加水 180 mL，打碎過濾後以酸鹼度計

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2541 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。

(Toa pH meter model HM-20S, Japan) 測定之值。乳酸、丁酸及乙酸之測定以氣體層析儀 (Shimadzu GC-2014, Japan) 依 Jones and Kay (1976) 的方法進行。青貯評分 (Flieg's score) 為依青貯料中乳酸、乙酸與丁酸占總酸之當量百分比各自計分後總加，以評估青貯料之發酵品質，評分 40 分以下青貯失敗、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。

IV. 統計分析

10 個萎凋處理區別為 4 個萎凋等級：0 – 2 小時、3 – 7 小時、15 – 20 小時及 22 – 24 小時，其相應之平均乾物率分別為 35%、52%、61% 及 64%；接種處理為不接種及接種 2 個等級；開封時間為 53 天及 102 天 2 個等級，以 SAS 統計軟體進行 GLM 分析 (SAS, 2002)。另以萎凋 5 – 7 小時 (第一天) 與萎凋 15 小時 (第二天，隔夜) 兩批乾物率相近的材料進行統計分析，以了解延遲青貯對青貯發酵的影響。

結果與討論

I. 發酵影響因子

由變方分析結果，接種為 pH 值、乳酸、總酸及青貯評分的最主要影響因子；萎凋除對丁酸無顯著影響外，是乙酸含量的主要影響因子，同時也是其他各項的次要影響因子；貯存時間僅對 pH 有顯著效應 (表 1)，此外，接種與萎凋的交互效應在 pH 值、乳酸、總酸及評分上都顯著。表 2 為各種主效應的比較，乳酸含量受接種與萎凋影響，乙酸僅受萎凋影響。接種處理較對照明顯提高青貯料乳酸含量 (1.6% vs. 0.24%)、總酸含量 (2.25% vs. 0.79%) 及青貯評分 (77.9 vs. 43.7)；隨萎凋時間增長，pH 值遞增，各種發酵產酸遞減，青貯評分亦遞減。貯存時間雖然只影響 pH 值的表現，但 102 天開封的青貯表現有較 53 天開封者佳的趨勢，顯示盤固草 / 苜蓿混植草的青貯反應較慢，應與材料特性有關。

II. 接種的效益

本試驗結果顯示，在不接種的情況下，各種條件的盤固草 / 苜蓿混植草青貯料之發酵產酸量低，且發酵品質都不佳 (表 3 及圖 1)。盤固草由於本身水溶性碳水化合物含量不高，加上苜蓿的植體緩衝能力較高。因此，混植材料青貯之 pH 值更加不容易迅速下降，然而接種乳酸菌可以明顯促進材料的發酵反應，提高乳酸含量。在含水率較高的條件下 (乾物率 50% 以下)，接種者 pH 可降至 5 以下，青貯評分可達 80 分以上，即使在含水率較高的情形下，接種仍有效提升青貯發酵品質，維持在可接受的評分範圍；而未接種者 pH 介於 5.4 – 5.6 之間，青貯評分介於 40 – 50 分之間 (表 3)。

青貯材料表面充斥著許多種不同的微生物，包括乳酸菌在內，但乳酸菌一般不是優勢菌種 (Muck, 2013)，Čabarkapa *et al.* (2010) 的研究顯示，接種商業菌劑可以提高乳酸菌對其他微生物的競爭力，顯著降低苜蓿青貯時的好氧菌 (包括桿菌、酵母菌及黴菌等) 及厭氣的丁酸菌 (clostridia) 數量。目前青貯劑的發展非常成熟，多數的情況下接種都有助於青貯品質提升，特別是對豆科及青割玉米之外的禾本科牧草 (Filya *et al.*, 2007; Hashemzadeh-Cigari1 *et al.*, 2011; Muck, 2013)。本研究採用的菌劑為自行開發 (游等, 2012)，其對盤固草 / 苜蓿混植草之青貯表現與商業菌株對苜蓿與禾本科牧草的青貯效果相近 (Whiter and Kung Jr., 2001; Filya *et al.*, 2007; Jalc *et al.*, 2009)，顯示本菌劑的應用效果佳。

表 1. 盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的變方分析

Table 1. Analysis of variance for the fermentation quality of pangolagrass/ alfalfa mixture haylage

Source of variance	df	Mean square					
		pH	Acetic acid	Propionic acid	Lactic acid	Butyric acid	Total acid
Inoculant (I)	1	1.86**	0.19	0.000	18.60**	0.004	21.21**
Storage (S)	1	0.37**	0.11	0.000	0.79	0.001	1.35
Wilt (W)	3	0.36**	1.85**	0.001**	6.71**	0.003	15.67**
I × S	1	0.01	0.02	0.000	0.27	0.000	0.42
S × W	3	0.01	0.01	0.000	0.13	0.001	0.06
I × W	3	0.17**	0.03	0.000	2.61**	0.002	3.09*

* Significant at 5% level.

** Significant at 1% level.

Score = Flieg's score.

表 2. 接種、萎凋及保存日數三主效因子對盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的影響

Table 2. The effects of inoculation, wilt and storage period on fermentation of pangolagrass/alfalfa mixture haylage

Treatment	pH	Acetic acid	Propionic acid	Lactic acid	Butyric acid	Total acid	Score
----- % dw -----							
Inoculant							
Yes	5.13 ^b	0.63	0.008	1.60 ^a	0.01	2.25	77.9 ^a
No	5.56 ^a	0.51	0.008	0.24 ^b	0.03	0.79	43.7 ^b
Storage							
53 day	5.45 ^a	0.52	0.012	0.77	0.03	1.33	59.7
102 day	5.25 ^b	0.62	0.005	1.06	0.02	1.70	61.9
Wilt							
0-2 hr	5.08 ^c	1.31 ^a	0.028 ^a	2.16 ^a	0.05 ^a	3.55 ^a	67.8 ^a
3-7 hr	5.28 ^b	0.43 ^b	0.003 ^b	1.09 ^b	0.02 ^{ab}	1.54 ^b	65.0 ^{ab}
15-20 hr	5.47 ^a	0.40 ^b	0.003 ^b	0.38 ^c	0.02 ^{ab}	0.80 ^{bc}	57.8 ^{bc}
22-24 hr	5.55 ^a	0.30 ^b	0.006 ^b	0.22 ^c	0.01 ^b	0.53 ^c	52.0 ^c

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

Score: the same as in Table 1.

表 3. 接種及萎凋處理對盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的比較

Table 3. The effect of inoculation and wilt interaction on fermentation of pangolagrass/alfalfa mixture haylage

Treatment	pH	Acetic acid	Propionic acid	Lactic acid	Butyric acid	Total acid	Score
----- % dw -----							
Inoculant Wilt (hr)							
No 0-2	5.43	1.24	0.023	0.88	0.080	2.21	49.7
No 3-7	5.59	0.30	0.005	0.10	0.015	0.43	42.5
No 15-20	5.60	0.39	0.001	0.06	0.028	0.48	41.2
No 22-24	5.61	0.29	0.010	0.62	0.010	0.37	43.2
Yes 0-2	4.75	1.39	0.033	3.45	0.020	4.89	85.8
Yes 3-7	4.97	0.55	0.001	2.08	0.013	2.65	87.5
Yes 15-20	5.32	0.41	0.003	0.70	0.008	1.12	74.3
Yes 22-24	5.49	0.32	0.003	0.37	0.005	0.70	60.8

Score: the same as in Table 1.

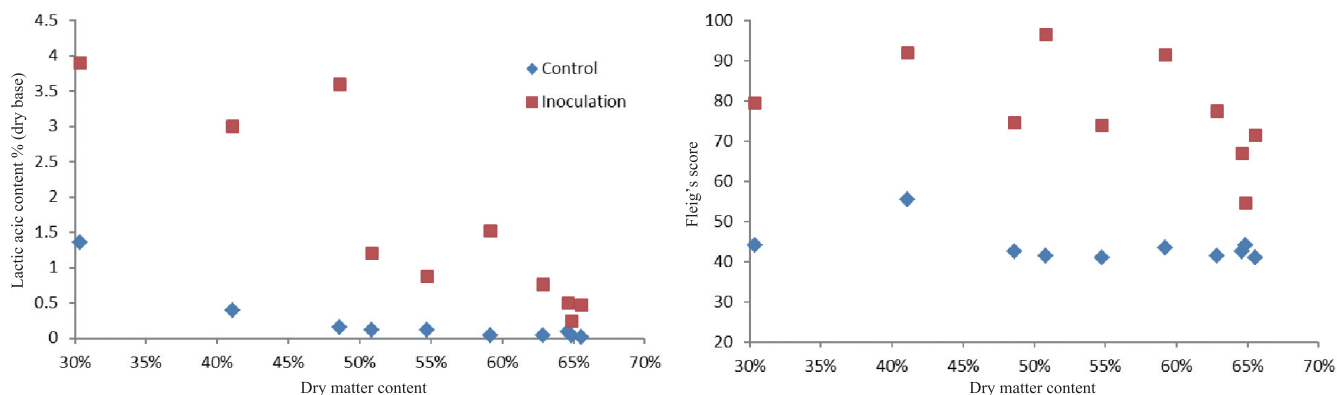


圖 1. 接種及萎凋對盤固草 / 苜蓿混植草青貯之乳酸含量與發酵評分的影响。

Fig. 1. The Effects of inoculation and wilt on lactic acid and Fleig's score of pangolagrass/ alfalfa mixture haylage.

III. 萎凋與延遲青貯的影響

萎凋是對於牧草青貯常用的調製程序，以降低含水率，使牧草可以較快到達足以保存營養的酸度，並且減少因發酵滲出液而產生的養分損失，此外，在合宜的含水率下青貯的乳酸 / 乙酸比值一般較佳 (Kung Jr., 2010;

Muck, 2011; Muck, 2013)。適當的含水率及水溶性碳水化合物含量是影響發酵表現的重要因子，但是其變動因材料特性而異，如物種，生長季節與成熟度等，因此，不同的調製狀況需要的萎凋時間不一 (Michan and Piltz, 2006)。萎凋時間對本試驗材料之含水率變動如圖 2。本試驗結果與 Whiter and Kung Jr. (2001) 及 Colombari *et al.* (2001) 的研究結果相似，均顯示青貯的發酵程度隨乾物率增高而降低。Whiter and Kung Jr. (2001) 表示在高乾物率的條件下，乳酸菌的增殖量較低可能與其較低的水活性有關。

青貯是利用厭氣乳酸發酵達到保存植體營養的效果，因此有氧時期應該愈短愈好，雖然在實務操作上並不容易達成，但仍應在調製之初即考慮所有的田間操作並儘量縮短時間。表 4 為不同萎凋時間對相近乾物率材料的發酵影響，結果顯示在延遲青貯的情形下，青貯料的乙酸含量顯著增加，有品質劣化的傾向，可能與延遲期間的菌相變化有關，唯確切原因尚須進一步探究。

表 4. 延遲青貯對相近乾物率盤固草 / 苜蓿混植草發酵反應的影響

Table 4. The effect of delay on silage quality of pangola/alfalfa mixture with similar dry matter content

	No.	Dry matter %	pH	Acetic acid % dw	Propionic acid % dw	Lactic acid % dw	Butyric acid % dw	Total acid % dw	Score
Day 1	8	53.9	5.35	0.40 ^b	0.005	0.71	0.01	1.13	63.0
Day 2	4	54.7	5.41	0.60 ^a	0.000	0.50	0.03	1.13	57.3

Score: the same as in Table 1.

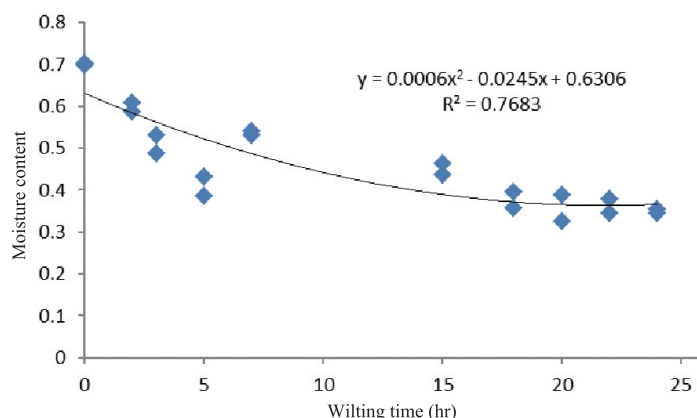


圖 2. 萎凋時間與含水率變化。

Fig. 2. Changes of moisture content due to wilting.

結論與建議

本研究顯示，盤固草 / 苜蓿混植草在不接種的條件下，單純萎凋處理無法得到好的青貯品質，接種處理可提升其發酵品質。接種處理後，乾物率由 30% 至 60% 均可獲得良好的發酵等級，但乾物率超過 50% 時，pH 不易降至 5 之下。

參考文獻

- 陳嘉昇、王紓愍、游翠鳳、劉信宏。2010。低投入的有機肥料生產研究—指草屬 (*Digitaria spp.*) 與花生屬 (*Arachis spp.*) 混植。畜產研究 43：167-179。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠鳳、劉信宏。2011。低肥料投入的有機肥料生產研究—指草屬牧草 (*Digitaria spp.*) 與苜蓿 (*Medicago sativa*) 混植。畜產研究 44：37-50。
- 游翠鳳、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。
- Arriola, K. G., O. C. M. Queiroz, J. J. Romero, D. Casper, E. Muniz, J. Hamie and A. T. Adesogan. 2015. Effect of microbial

- inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage. *J. Dairy Sci.* 98: 478-485.
- Čabarkapa, I. S., D. V. Palić, D. B. Milić, M. V. Plavšić, D. V. Plavšić, Đ. M. Vukmirović and R. R. Čolović. 2010. The influence of Bonsilage Plus and Bonsilage Forte on microflora reduction during ensiling of alfalfa. *Food Feed Res.* 2: 59-64.
- Colombari, G., G. Borreani and G. M. Crovetto. 2001. Effect of ensiling alfalfa at low and high dry matter on production of milk used to make grana cheese. *J. Dairy Sci.* 84: 2494-2502.
- Filya, I., R. E. Muck and F. E. Contreras-Govea. 2007. Inoculant effects on alfalfa silage: fermentation products and nutritive value. *J. Dairy Sci.* 90: 5108-5114.
- Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G. R. Ghorbani and A. Taghizadeh. 2011. The effects of wilting, molasses and inoculants on the fermentation quality and nutritive value of lucerne silage. *South Afr. J. Anim. Sci.* 41: 377-388.
- Jalc, D., A. Laukova, M. Simonva, Z. Varadyova and P. Homolka. 2009. The use of bacterial inoculants for grass silage: their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silages. *Czech J. Anim. Sci.* 54: 84-91.
- 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.
- Kung, Jr. L. 2010. Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment. In: *Proceedings, 2010 California Alfalfa & Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference*, Visalia, CA, USA.
- Michan, F. J. and J. W. Piltz. 2006. Mowing and wilting pasture and crops. In: *Successful silage*. Eds. Kaiser, A., J. Piltz, H. Burns, N. Griffiths. NSW, Australia, pp. 143-169.
- Muck, R. E. 2011. The art and science of making silage. In: *Proceedings, 2011 Western Alfalfa & Forage Conference*, Las Vegas, NV, USA.
- Muck, R. E. 2013. Recent advances in silage microbiology. *Agr. Food Sci.* 22: 3-15.
- Müller, C. E. and P. Udén. 2007. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 132: 66-78.
- Müller, C. E. 2009. Long-stemmed vs. cut haylage in bales -- Effects on fermentation, aerobic storage stability, equine eating behaviour and characteristics of equine faeces. *Anim. Feed Sci. Tech.* 152: 307-321.
- SAS. 2002. *SAS User Guide. Statistical Analysis*. Institute, Inc., Cary. NC. USA.
- Schenck, J. and C. E. Müller. 2014. Microbial composition before and after conservation of grass-dominated haylage harvested early, middle and late in the season. *J. Equine Vet. Sci.* 34: 593-601.
- Whiter, A. G. and L. Kung, Jr. 2001. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* mtd1 on the fermentation of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 84: 2195-2202.

The effects of wilting and inoculant on fermentation of pangola/alfalfa mixture ⁽¹⁾

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

Received: Jun. 24, 2016; Accepted: Dec. 05, 2016

Abstract

The objective of this study was to establish an ensiling process for pangola/alfalfa mixtures. The effects of wilting and inoculant on fermentation of pangola/alfalfa mixture were investigated in this study. Pangola/alfalfa mixtures were harvested and wilted on the field for 0 to 24 hours (included ten different wilting periods) before ensiling. Each time, the forage was divided into two treatments: control (no inoculant) and inoculation (inoculated with blend of three strains of lactic acid bacteria) and ensiled with laboratory scale. The fermentation qualities were assayed after storage of 53 days and 102 days. The results showed that, relative to wilting and ensiling period, inoculant was the most important factor to effect on lactic acid content and total acids content. Lactic acid content was affected by inoculant and wilting, but acetic acid content was affected by wilting only. The pH value was the only item affected by ensiling period. All silages with inoculant had good to acceptable fermentation score at the dry matter range from 30% to 60%. However, only wilting without inoculant could not get acceptable quality.

Key words: Pangola grass/alfalfa mixture, Ensiling, Inoculant, Wilting.

(1) Contribution No. 2541 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.