接種菌株對苜蓿半乾青貯適口性的影響(1)

干紓愍⁽²⁾⁽³⁾ 游翠凰⁽²⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期:107年8月1日;接受日期:107年10月30日

摘 要

本報告以3批偏好試驗探討1.不同菌株接種對苜蓿半乾青貯的青貯品質提昇與適口性的影響以及2.苜蓿半乾青貯相對於進口苜蓿乾草、盤固草半乾青貯及百慕達乾草的適口性差異。試驗之苜蓿收穫自畜試所恆春分所,田間萎凋一日後,進行3種半乾青貯處理:對照組:不接種、Lp組:接種 Lactobacillus plantarum 菌株(恆春分所自行篩選菌株)及KT組:接種商業菌劑(Lactobacillus plantarum 及 Lactobacillus casei,恆春分所技轉),青貯2個月後開封,將這3種苜蓿半乾青貯料分別與盤固草半乾青貯料、進口苜蓿乾草及百慕達乾草進行3批次山羊偏好試驗。偏好性試驗以4頭墾丁山羊母羊於個別飼養欄進行,每一批之適應期5天,試驗期5天。試驗結果顯示,3種苜蓿半乾青貯料的適口性均顯著優於盤固草半乾青貯料及百慕達乾草,與進口苜蓿乾草相較則是相當或略優;三種半乾青貯處理中以Lp處理組略優於KT處理組,接種處理較不接種佳。本試驗結果顯示,接種處理不僅可以促進青貯發酵品質,並且可以增加其適口性,適宜用於國產苜蓿調製的參考。

關鍵詞: 苜蓿、接種、適口性。

緒 言

國內豆科牧草缺乏的議題已討論多年,過去中、北部地區曾有埃及三葉草與中東苜蓿之短時間試驗推廣,唯因多重時空因素,無法持續發展(蕭等,2003),其中栽培利用的方式無法與國內慣行的牧草生產調製體系配合,是影響其發展的因素之一,之後陳等(2011)、朱等(2015)及梁等(2016)提出以間植豆科改善國產芻料品質的作法,則是著眼於現況的突破,嘗試以有機芻料生產、調和耕作土壤環境與增加芻料營養濃度等觀點提出可行性。國產苜蓿的栽培短期內雖然不容易發揮對進口苜蓿的替代效果(苜蓿年進口量超過5萬噸),但推動國產苜蓿之栽培利用仍對國內芻料產業與小規模之草食動物產業發展上具重要意義,一方面苜蓿可以改善國內多年生牧草地的土壤肥力與牧草品質,另一方面可以逐漸充實國內缺乏的豆科牧草質量,長此以往未來將可實質發揮其效力。

由於苜蓿可以同時滿足草食動物對蛋白質與纖維的需求,因此有「芻料之后」的美名,一直是酪農業利用的主要牧草之一,難以取代。國際上,苜蓿乾草或苜蓿塊是主要的商品調製方式,但臺灣的氣候條件經常無法提供具有足夠調製優質乾草的晴天時間,因此以半乾青貯取代乾燥是方法之一,然而苜蓿為豆科牧草,先天上具有較高的植體緩衝能力(buffer capacity),青貯調製成功的門檻也較高,畜試所恆春分所進行了多種調製條件與菌劑篩選研究(游等,2012),已成功篩選出改善苜蓿青貯發酵之菌株,其中部分菌株已技轉並開發為商品,除菌株之外,苜蓿與苜蓿混植材料之青貯影響研究亦已進行(王等,2017;陳等,2017),本研究則進一步以羊隻偏好試驗,了解青貯料調製時接種不同菌株對苜蓿半乾青貯料之適口性影響,以苜蓿半乾青貯相對於進口苜蓿乾草、盤固草半乾青貯及百慕達乾草為對照,提供國內的栽培與調製利用參考。

⁽¹⁾ 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2598 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。

材料方法

I. 試驗材料

- (i) 苜蓿半乾青貯:苜蓿來自畜試所恆春分所田區,於下午收穫,田間萎凋 24 小時後,將材料移入蔭棚,均勻分為 3 組,分別接種自篩菌株 (*Lactobacillus plantarum*,Lp,接種量 10^9 cfu/kg forage)、商業菌劑 (*L. plantarum* 及 *L. casei*,KT,恆春分所技轉,接種量 2×10^8 cfu/kg forage) 及水 (對照,control),材料混合均匀後封入真空塑膠袋,每袋 20 公斤,每一處理 6 重複。Lp 與 KT 接種處理中均利用了 *L. plantarum* 菌,但二者來自不同的篩選,Lp 組之菌株為一株,代號為 c51,KT 組則含有二株 *L. plantarum* 菌,實驗菌株代號分別為 st12 及 st15。半乾青貯苜蓿置於室溫下 2 個月後開封,混匀樣品後取樣進行青貯品質分析,其餘材料保存於 4° C下,依序進行下列各項適口性比較試驗。
- (ii) 盤固草半乾青貯:為恆春分所自行生產,將夏季未曬乾的盤固草打包再以膠膜包覆發酵,試驗材料為發酵 2 個月後的半乾青貯。
- (iii) 進口乾草: 苜蓿乾草及百慕達乾草, 二者均為恆春分所外購之進口草料。

II. 適口性試驗

- (i) 試驗動物:自恆春分所墾丁山羊族群中挑選體型接近之母羊 4 頭,起始體重分別為: $40.2 \text{ kg} \times 38.2 \text{ kg} \times 38.2 \text{ kg}$ 及 47.2 kg。羊隻飼養於 $1.5 \times 3 \text{ m}^2$ 的個別飼養欄,每一欄均備有飲水頭與鹽磚,可任羊隻自由取用。
- (ii) 適口性試驗:下述試驗 1、2、3 依序進行,每個個別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下述草料處理。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(以每分鐘內主要採食之處理作為記錄標的,1 分鐘記錄 1 次,此為前期採食次數),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 200 g 精料與百慕達乾草任食,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) 試驗 1: 苜蓿半乾青貯與苜蓿乾草比較: 4種飼糧分別為不添加菌、添加 KT 菌、添加 Lp 菌 3種半乾青貯苜蓿與苜蓿乾草,苜蓿半乾青貯每槽 300 g,乾草 180 g。試驗共進行 10 天,前 5 日為適應期,後 5 日為試驗期。
- (iv) 試驗 2: 苜蓿半乾青貯與盤固草半乾青貯比較: 4種飼糧分別為不添加菌、添加 KT 菌、添加 Lp 菌等 3種苜蓿半乾青貯與盤固草半乾青貯,半乾青貯苜蓿,每個飼槽 300 g,盤固半乾青貯草 320 g,適應期 5 天,試驗期 5 天。
- (v) 試驗 3: 苜蓿半乾青貯與百慕達乾草比較: 4種飼糧分別為不添加菌、添加 KT 菌、添加 Lp 菌等 3種苜蓿半乾青貯與百慕達乾草,半乾青貯苜蓿,每個飼槽 300g,乾草 180g,適應期5天,試驗期5天。

III. 牧草品質分析

- (i) 試驗材料組成分析:前述各試驗材料於試驗前各自取樣,於80℃烘乾後磨粉,粗蛋白質 (crude protein, CP) 含量依照 AOAC (1984) 之方法測定;酸洗纖維 (acid-detergent fiber, ADF)、中洗纖維 (neutral-detergent fiber, NDF) 則依照 van Soest (1967) 之方法測定,每一樣品重複2次。本試驗所有材料之營養組成如表1。
- (ii) 半乾青貯品質分析:pH 酸鹼值為 20 克新鮮青貯料加蒸餾水 180 ml,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 0.05 N tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAH) 滴定至 pH 為 8,70℃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,再以氣相層析儀分析含量。依青貯料中乳酸、丁酸及乙酸當量分別占測定乙酸、丙酸、丁酸與乳酸四者總當量之百分比進行評分,再將 3 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。
- IV. 統計分析: 5 日試驗結果以 SAS 軟體 (2002) 之 GLM procedure 進行變方分析,主效應為草料、羊隻及日期,各主效應均為固定型,以鄧肯氏法 (Duncan's test) 測驗處理間的差異顯著性。

表 1. 本試驗所使用之苜蓿半乾青貯、苜蓿乾草、盤固草半乾青貯與百慕達乾草的營養組成

Table 1. The nutrients composition of alfalfa haylages, alfalfa hay, pangolagrass haylage and bermuda hay used in this study

Materials	Dry matter content	Crude protein	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber		
Haylage	%	% dry base				
Alfalfa, Control*	54.8	22.8	47.1	33.7		
Alfalfa, Lp	55.2	22.5	48.4	36.0		
Alfalfa, KT	55.6	21.5	50.6	39.6		
Pangola	50.8	5.9	68.3	40.1		
Hay						
Alfalfa	87.6	20.3	52.8	44.7		
Pangola	89.9	7.6	73.2	41.3		
Bermuda	85.6	6.9	72.2	36.9		

^{*} Control, no inoculation; Lp, inoculated with a new strain of *L. plantarum*; KT, inoculated with a commercial inoculant (*L. plantarum* and *L. casei*).

結果與討論

本試驗接種不同菌劑之苜蓿半乾青貯與盤固草半乾青貯之發酵品質,如表 2 所示,3 個不同菌劑處理之苜蓿半乾青貯的乾物率均在 55% 左右,未接種之對照處理的乙酸含量 0.56%、乳酸含量 0.28%、pH 值 5.42 及評分 53,整 體發酵品質低於接種處理,但仍在可接受品質以上;接種處理中 Lp 接種處理之乳酸含量 2.47%,明顯較 KT 處理組之 0.98%高,其他乙酸、pH 值及評分方面則差異不大,綜合而言,以接種 Lp 處理之發酵品質略優於接種 KT 處理。相較於苜蓿青貯料,本試驗中所採用的盤固草半乾青貯之乾物率為 50% 稍低,pH 值 4.64 也較低,乙酸含量 0.27%、乳酸含量 0.85%,評分為 79,是發酵極佳的盤固草半乾青貯(表 2)。

表 2. 接種不同菌劑之苜蓿半乾青貯與盤固草半乾青貯的發酵品質

Table 2. The fermentation quality of alfalfa haylage inoculated with different inoculants and pangolagrass haylage

Haylage	Dry matter content	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid	рН	Flieg's socre
Alfalfa			%				
Control*	54.8 ^a	0.56^{a}	0.04	0.00	0.28 ^b	5.42 ^a	53 ^b
Lp	55.2ª	0.45 ^a	0.01	0.06	2.47 ^a	4.77 ^{bc}	87ª
KT	55.6 ^a	0.41 ^a	0.00	0.01	0.98^{b}	4.93 ^b	81 ^a
Pangola	50.8 ^b	0.27^{b}	0.00	0.04	0.85 ^b	4.64°	79ª

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

表 3 為接種不同菌劑之苜蓿半乾青貯料與苜蓿乾草偏好試驗結果(試驗 1),前期採食次數在各處理間差異未達顯著水準,但採食量在各時間點下稍有差異,0.5 小時的採食量以對照處理苜蓿半乾青貯料的 68.8 g 最差,次為苜蓿乾草 74.0 g,而 Lp 處理的苜蓿半乾青貯料採食量 101.3 g 最高;然而 1.5 小時之後的採食量變化均為 Lp 處理的苜

^{*} The same as table 1.

蓿半乾青貯料及苜蓿乾草優於對照及 KT 處理的苜蓿半乾青貯料。

試驗 2 為苜蓿半乾青貯料與盤固草半乾青貯料的比較,前期採食次數方面,在各種芻料間沒有差異,採食量方面,0.5 小時採食量以盤固草半乾青貯料的 42.2 g 最低與對照處理的苜蓿半乾青貯料 46.2 g 間差異不顯著,接種 Lp 及 KT 的半乾青貯料分別為 60.2 g 及 62.3 g 明顯較高,而 1 小時至 3 小時的採食量都以盤固草半乾青貯的組別最低,苜蓿半乾青貯明顯較高,但不同接種處理間沒有顯著差異 (表 4) 。

表 3. 不同菌株接種苜蓿半乾青貯與苜蓿乾草的前期採食次數及採食量(試驗1)

Table 3. Bouts and dry matter intake of alfalfa haylage and alfalfa hay in experiment 1

France	Bouts		Dry matter intake (g/goat)					
Forage	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr	
Alfalfa haylage, control*	3.3	1.1	68.8 ^b	96.7°	110.6 ^b	119.8 ^b	135.5 ^b	
Alfalfa haylage, Lp	4.3	1.4	101.3 ^a	122.2 ^{ab}	132.4ª	138.6 ^a	151.5 ^a	
Alfalfa haylage, KT	4.1	1.5	80.1 ^{ab}	104.1 ^{bc}	115.8 ^b	121.6 ^b	138.8 ^b	
Alfalfa hay	3.5	1.1	74.0^{b}	123.9ª	135.8ª	141.2ª	153.5 ^a	

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

表 4. 不同菌株接種苜蓿半乾青貯與盤固草半乾青貯的前期採食次數及採食量(試驗2)

Table 4. Bouts and dry matter intake of alfalfa haylage and pangolagrass haylage in experiment 2

	Bouts		Dry matter intake (g/goat)					
Forage	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr	
Alfalfa haylage, control*	1.0	1.0	46.2 ^{ab}	117.1ª	134.9ª	144.4ª	145.8°	
Alfalfa haylage, Lp	1.5	1.3	60.2^{ab}	111.3 ^a	122.3 ^a	134.6 ^a	140.1 ^a	
Alfalfa haylage, KT	1.4	1.5	62.3 ^a	119.5ª	128.9ª	137.0 ^a	142.5 ^a	
Pangola haylage	1.0	0.8	42.2 ^b	85.4 ^b	95.1 ^b	107.8 ^b	114.9 ^b	

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

試驗3則為苜蓿半乾青貯料與百慕達乾草的比較,表5結果顯示百慕達乾草的適口性顯著低於苜蓿半乾青貯料,在前10分鐘的採食次數調查中發現羊隻只採食苜蓿半乾青貯料,苜蓿半乾青貯各處理間則顯示對照處理的採食次數低於接種處理,對照處理組羊隻在0.5小時採食量69.9g也明顯低於Lp與KT接種的121.7g及111.0g,百慕達乾草則只採食12.1g,1至3小時採食量均以百慕達乾草明顯低於苜蓿半乾青貯料,而3個不同接種處理之苜蓿半乾青貯間則差異不顯著。

陳等 (2018)的研究表示盤固草青貯或半乾青貯的適口性明顯優於乾草,添加 1% 乳酸的乾草可顯著促進羊隻採食,由其觀察,發酵良好的青貯或半乾青貯擁有吸引山羊的氣味,能刺激其喜採食的反應 (hedonic response)。 Müller and Udén (2007) 則發現馬匹對禾本科牧草青貯料的偏好高於半乾青貯,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。禾草如此,本試驗之豆草結果亦然。Huhtanen et al. (2002) 整合 47 組飼養試驗表示,青貯料發酵特性與乳牛的青貯乾物採食間有關連,其中總酸量是採食量的最佳預測因子,次為乳酸。Manyawu et al. (2003) 的試驗同樣表示綿羊對狼尾草青貯之採食與發酵品質間有關連。Gerlach et al. (2014) 推測青貯料的適口性結果變動性大,應與其青貯品質優劣有關。Khalifa et al. (2013)的研究顯示接種處理的玉米青貯料較不接種者的品質佳,同時也對羊隻增重及繁殖性能上有正向表現。

^{*} The same as table 1.

^{*} The same as table 1.

表 5. 不同菌株接種苜蓿半乾青貯與百慕達乾草的前期採食次數及採食量(試驗 3)

Table 5. Bouts and dry matter intake of alfalfa haylage and bermuda hay in experiment 3

	Bouts		Dry matter intake (g/goat)					
Forage	1-5 min	6-10 min	0.5 hr	1 hr	1.5 hr	2 hr	3 hr	
Alfalfa haylage, control*	0.8^{ab}	0.8 ^b	69.9 ^b	135.5 ^a	151.1ª	152.1ª	156.3ª	
Alfalfa haylage, Lp	2.2ª	2.1 ^a	121.7ª	147.1ª	154.5 ^a	154.9ª	156.1ª	
Alfalfa haylage, KT	1.9ª	2.2ª	111.0 ^a	147.8°	155.2ª	155.8 ^a	156.4ª	
Bermuda hay	0.0^{b}	0.0^{b}	12.1°	86.9 ^b	114.8 ^b	128.7 ^b	138.5 ^b	

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

動物適口性的評量是綜合動物的感官與採食意願,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 (Greenhalgh and Reid, 1971; Baumont, 1996),但本研究的主要目的不在探討影響牧草適口性的因子,而是利用適口性來評估苜蓿半乾青貯的調製品質與接受度。由前述三批適口性試驗發現,羊隻對苜蓿半乾青貯的接受度高,且在適應之後採食量不遜於進口苜蓿乾草(表3),同時,羊隻對苜蓿半乾青貯的偏好明顯優於盤固草半乾青貯及進口百慕達乾草。綜合而言,三種苜蓿半乾青貯以 Lp 接種的適口性略優於 KT 接種,接種處理較不接種處理者為佳。本研究結果可以做為國內苜蓿調製的參考,亦可以供做未來發展之基礎。

參考文獻

- 王紓愍、游翠凰、劉信宏、陳嘉昇。2017。接種與萎凋對盤固草 / 苜蓿混植草青貯發酵的影響。畜產研究 50:134-139。
- 朱明宏、王紓愍、陳嘉昇。2015。青割玉米與大豆間植營養成分近紅外光分析檢量線之探討。畜產研究 48:297-303。
- 陳嘉昇、王舒愍、游翠凰、劉信宏。2011。低肥料投入的有機芻料生產研究-指草屬(Digitaria)牧草與苜蓿(Medicago sativa) 混植。 畜產研究 44:37-50。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰。2018。牧草適口性探討:I. 山羊對添加糖、有機酸、水溶性碳水化合物變動與青貯發酵之反應。畜產研究 51:(已接受)。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠凰。2017。多年生禾豆混植草青貯發酵探討。畜產研究 50:52-61。
- 梁世祥、朱明宏、蕭振文。2016。臺灣北部地區盤固草地冬季混植禾豆類牧草增產之分析。畜產研究 49:285-289。
- 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。
- 蕭素碧、林正斌、許進德。2003。臺灣引進豆科牧草產量與品質之評估。畜產研究 36:45-52。
- A. O. A. C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14ed. Washington DC. USA. pp. 125-142.
- Baumont, R. 1996. Palatability and feeding behaviour in ruminants. A review. Ann. Zootech. 45: 385-400.
- Gerlach, K., F. Roß, K. Weiß, 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.
- 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.
- Khalifa, E. I., M. E. Ahmed, Y. H. Hafez, O. A. El-Zolaky, K. M. Bahera and A. A. Abido. 2013. Age at puberty and fertility of Rahmani sheep fed on biological inoculated corn silage. Ann. Agri. Sci. 58:163-172.
- Huhtanen, P., H. Khalili, J. I. Nousiainen, M. Rinne, S. Jaakkola, T. Heikkila", J. Nousiainen. 2002. Prediction of the relative

^{*} The same as table 1.

- intake potential of grass silage by dairy cows. Livestock Prod. Sci. 73:111-130.
- 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.
- Manyawu, G. J., S. Sibanda1, I. C. Chakoma, C. Mutisi1 and P. Ndiweni. 2003. The intake and palatability of four different types of napier grass (*Pennisetum purpureum*) silage fed to sheep. Aust. J. Anim. Sci. 16: 823-829.
- Müller, C. and P. Udén. 2007. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. Anim. Feed Sci. Tech. 132: 66-78.
- SAS. 2002. SAS version 9.00. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- van Soest, P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. J. Anim. Sci. 26: 119-128.

The effect of inoculation of alfalfa haylage on its palatability (1)

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

Received: Aug. 1, 2018; Accepted: Oct. 30, 2018

Abstract

The purpose of this study was to investigate: 1. the effect of inoculation on the palatability of alfalfa haylage, 2. the comparison of palatability among alfalfa haylage, pangolagrass haylage, imported alfalfa hay and imported Bermuda hay. The alfalfa haylage in this study were harvested from Hengchun Branch station, LRI. The harvested materials were wilted one day on field and separated into three equal parts for three inoculation treatments, i.e. control, no inoculation; Lp, inoculated with a new strain of *Lactobacillus plantarum*; KT, inoculated with a commercial inoculant (*L. plantarum* and *L. casei*). The alfalfa haylage were stored for two months under room temperature before trial. The preference tests on four kinds of forages were conducted by four female Kenting goats in individual pens. Each preference test compare three different alfalfa haylage with imported alfalfa hay, pangolagrass haylage and Bermuda hay, respectively. The test period for each trial was 5 days. The results showed that three kinds of alfalfa haylage had better palatability than pangolagrass haylage and Bermuda hay. The palatability of alfalfa haylage was better than imported alfalfa hay. The best palatability of alfalfa haylage was Lp inoculation and the worst was haylage without inoculation. The results showed that inoculation could improve the fermentation quality and palatability of alfalfa haylage for goats.

Key words: Alfalfa, Inoculation, Palatability.

 $^{(1)\} Contribution\ No.\ 2598\ from\ Livestock\ Research\ Institute,\ Council\ of\ Agriculture,\ Executive\ Yuan.$

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

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