

多年生禾豆混植草青貯發酵探討⁽¹⁾

陳嘉昇⁽²⁾⁽³⁾ 王紓愨⁽²⁾ 游翠凰⁽²⁾

收件日期：105 年 6 月 7 日；接受日期：105 年 11 月 2 日

摘 要

禾豆混植草地可以提升牧草營養價值、平衡土壤養分利用，然而在臺灣的氣候條件下，穩定的禾本科生產已屬不易，調製禾豆混植乾草的難度更高，青貯調製是一個可能的解決方法。本研究以三組試驗探討青貯變動與影響因素：試驗一材料含 2 種禾本科及 2 種豆科，禾本科所佔比例自 30% 至 100%。未經萎凋，青貯 8 週後，pH 介於 4.25 – 4.85，總產酸量 3.0 – 6.4% (dry base)，乳酸與乳 / 乙酸比 (lactic acid/acetic acid ratio) 低，且均有丁酸 (butyric acid) 產生，表示禾豆混植材料未降低含水率下無法獲得良好結果，乳酸菌 (lactic acid bacteria) 接種亦無法產生效益。試驗二以萎凋至乾物率 38% 的盤固草與苜蓿混植為材料，比較菌種與 4、8、12 週的青貯結果，總產酸雖低於試驗一，但各揮發性脂肪酸含量比例佳，乙酸、丁酸降低，乳酸乙酸比提升，除對照組外，青貯評分均達優良等級。各接種劑均有助於乳酸的快速生成，而菌種之間的產酸反應有別。不同時間開封的比較方面，12 週時總酸量約為 4 週時的兩倍；4 週時對照組的 pH 顯著高於其他接種處理，8 週時則與其他處理差距拉近，表示在相對適宜的青貯條件下不接種者雖可獲良好品質評分，但充分產酸需時較長。試驗三測試小型生產規模 (桶式與小香腸) 調製。在不嚴格的無氧狀況下，接種與未接種者之間的差距放大，接種者發酵品質達優良等級；未接種者 pH 降幅小、乳酸乙酸比低，且有高量的丁酸生成，屬於失敗的青貯等級。由本研究結果，含水率是禾豆混植草青貯的關鍵因素，而在未能完全排除空氣的裝填操作之下，接種菌劑可提升及穩定青貯發酵，而接種與較適含水率範圍的配合宜進一步探討。

關鍵詞：禾豆混植，接種劑，青貯。

緒 言

禾豆混植草地可以提升牧草營養價值、平衡土壤養分利用，也可經由豆科的生物固氮作用，提供最便宜的氮素來源，達成牧草地的永續經營 (陳等, 2011; Carlsson and Huss-Danell, 2003; Tilman *et al.*, 2001; Sleugh *et al.*, 2000; Tracy and Sanderson, 2004)。然而牧草混植地在臺灣幾乎無實際施行，過去的研究顯示，或因禾豆科混植產量較單植為低，或是雖有增產但效果有限，由於混植之操作不便，在純以增產角度考量的傳統生產體系中較少受重視 (王等, 1963; 金, 1998)。指草屬與多年生花生或苜蓿混植研究結果顯示，多年生花生雖初期生長速度慢，但建立後持久性良好，與盤固草可以形成穩定的混植比例，在未施肥的三年試驗期間，禾豆混植不僅維持產量，且大幅改善收穫牧草的營養價值，可做為低投入永續草地的良好組合 (陳等, 2010)；而相對於多年生花生，苜蓿與盤固草的混植是一種需要較集約管理的草地，但利用苜蓿做為盤固草地的生物施肥，是一種可以減少肥料投入又可增產且提升牧草品質的方式 (陳等, 2011)。在未有本地豆科芻料供應而進口苜蓿價格高漲之下，禾豆混植草地的生產值得更進一步的重視。

上述混植模式雖有利於產量與品質的提升，但在臺灣的氣候條件之下，穩定的禾本科乾草生產已屬困難，調製禾豆混植乾草遭遇的挑戰更大，在未有較佳的乾燥處理以前，進行半乾青貯調製是一個解決方案，調製良好的青貯，不僅可避免天候不穩定造成的損失、減少田間曝曬導致的品質降低，還可以提高適口性，增進動物採食 (Filya *et al.*, 2007; Müller and Udén, 2007)。發酵特性隨草種組合、青貯條件而變動 (Muck, 2011; Kasmaei *et al.*, 2013)，半乾青貯發酵程度較低，不易獲得穩定良好程度的青貯，加之豆科的加入，增加青貯發酵難度 (王等, 2009; 游等, 2012)。田間實際條件完全控制，需對不同狀況有更多了解以獲得穩定可預測的青貯發酵結果。本研究以三組試驗進行先期

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2513 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。

探討，以了解變動程度與影響因素。試驗一含不同草種組合與比例；試驗二比較不同青貯菌種與青貯時間的變化；試驗三測試小型生產規模（桶式與小香腸）調製。本文結果提供為後續試驗的基礎。

材料與方法

本研究包含三組不同的試驗，材料與方法分述如下：

I. 試驗一

- (i) 牧草材料：牧草材料種植於畜產試驗所恆春分所。本試驗共 5 種材料，分別取自盤固草 A254 (*Digitaria decumbens*) 單植區 (P)、盤固草與苜蓿混植區 (P + A)、指草 (*Digitaria X unifolia*) 單植區 (D)、指草與多年生花生 (*Arachis glabrata*) 混植區 (D + G)、指草與苜蓿混植區 (D + A)；田間種植之小區面積為 $6 \times 10 = 60 \text{ m}^2$ ，4 重複。所有材料於 5/5 收穫，距前一次收穫 60 天（即生育日數為 60 天），材料之禾豆比例及成分見表 1。牧草刈割後細切為 10 – 15 公分左右，立即進行青貯。
- (ii) 青貯處理及青貯方法：上述 5 種材料各分為對照及接種處理。對照：不接種；接種：接種自行分離的青貯菌劑 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum*，接種量為 $2 \times 10^6 \text{ cfu/kg fresh material}$)。材料處理後以塑膠袋真空密封，每袋 1 公斤。青貯後置於室溫下貯存，貯存 8 週後開封，測定發酵品質，每處理 2 重複。

II. 試驗二

- (i) 牧草材料：本試驗材料取自畜產試驗所恆春分所盤固草與苜蓿混植區，種植面積 1 公頃。試驗材料於 6/20 以手工坪割，距前一次收穫 45 天。牧草刈割後經田間萎凋 4 小時，細切至 10 – 15 公分左右進行青貯，乾物率提高為 38%，材料之成分見表 3。
- (ii) 青貯處理分為：對照（不接種）及接種商業菌劑 Ecol (Ecosyl; Ecosyl Products Ltd., Stokesley, UK)、自行分離之 Lp (*Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum*)、Lc1 (*L. casei*)、Lc2 (*L. casei*)、Lr (*L. rhamnosus*)，處理後以塑膠袋真空密封，每袋 1 公斤，進行實驗規模青貯。青貯後置於室溫下貯存，貯存 4、8、12 週後開封，測定發酵品質。每處理 2 重複。

III. 試驗三

- (i) 桶式青貯：本試驗將上述試驗一各區材料全數收穫混合調製，於 5/5 收穫，距前一次收穫 60 天。各種牧草比例與成分見表 6。剪草後於田間萎凋 4 小時，經切草機細切至 10 – 15 公分後進行桶式青貯，分為對照（不接種）及接種處理 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum*，接種量 $2 \times 10^6 \text{ cfu/kg fresh material}$)。青貯桶容積 200 L，以油壓機裝填青貯材料 90 公斤，各 2 重複。青貯後 8 週取樣調查。
- (ii) 香腸式青貯：材料來源地點同試驗二。生長 50 天的盤固草與苜蓿混植草以圓盤式割草機刈割後於田間萎凋 4 小時，經收穫撿拾機細切至 10 – 15 公分後進行小香腸機青貯裝填。小香腸青貯袋直徑 100 公分，長 20 公尺，裝填青貯材料 8 公噸，同一香腸袋內分對照與接種（接種量 $2 \times 10^6 \text{ cfu/kg fresh material}$ ）處理兩段裝填，重複 2 次。青貯後 83 天取樣調查。

IV. 植體成分測定

植體以 80°C 烘 48 小時去除水分測定乾物率。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 anthrone 呈色法測定 (Morris, 1948)。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 200 纖維分析儀進行 (Vogel *et al.*, 1999)。

V. 青貯品質測定

乾物率為 80°C 下烘乾 48 小時之乾鮮重比。酸鹼值為 20 克新鮮青貯料加水 180 ml，打碎過濾後以酸鹼度計測定之值。乳酸、丁酸及乙酸之測定以氣體層析儀依 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 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。

結 果

I. 試驗一

本試驗含兩種單植禾本科：盤固草 (P)、指草 (D)，及三種草種與比例不同的混植組合：盤固草與苜蓿混植 (P + A，禾科比例 68.8%)、指草與多年生花生混植 (D + G，禾科比例 77.0%)、指草與苜蓿混植區 (D + A，禾科比例 30.6%)，其青貯前乾物率與營養成分如表 1。本試驗為不同禾豆組合於未經萎凋，直接青貯之結果。

表 1. 試驗一中 5 種材料之禾本科所佔比例、青貯前乾物率與營養成分

Table 1. The percentage of grass, dry matter and nutritional components of the five forage material in experiment 1

Forage	Grass percentage	Dry matter	Water soluble carbohydrate	Crude protein	Acid detergent fiber	Neutral detergent fiber
----- % -----						
P	100.0	30.2	1.4	5.1	42.4	74.5
P + A	68.8	27.3	3.4	8.3	40.5	68.9
D	100.0	28.1	2.5	6.3	40.3	70.1
D + G	77.0	26.2	1.9	6.6	38.9	71.1
D + A	30.6	24.5	4.8	15.1	39.6	57.2
LSD _{5%}	4.9	2.3	1.2	0.8	2.5	3.6

P: pangola grass, monoculture

D: digit grass, monoculture

P + A: pangola grass / alfalfa mixture

D + G: digit grass / *Arachis glabrata* mixture

D + A: digit grass / alfalfa mixture

試驗材料的水溶性碳水化合物含量均偏低，僅 P + A、D + A 超過 3%，蓋材料 WSC 隨季節、成熟度及當日狀況而變動，經常是熱帶牧草青貯發酵的限制因素 (Titterton and Bareeba, 2000；王等, 2007)，本試驗狀況之禾本科 WSC 偏低，苜蓿的加入有提高 WSC 的效果。隨著苜蓿比例的增加，顯著提高 CP、降低 NDF，而 ADF 降低的幅度則較小。未萎凋狀況下，苜蓿乾物率低於禾本科，隨著苜蓿比例的增加，材料乾物率降低。

青貯 8 周後開封分析結果，總產酸量介於乾物的 3.0 – 6.4%，乙酸、丙酸、丁酸與乳酸含量的變動範圍分別為：0.7 – 2.35%、0.13 – 0.27%、0.32 – 1.67% 及 1.47 – 2.29%。本試驗青貯料發酵的乳酸與乳 / 乙酸比較低，而且所有處理均有丁酸產生，依據 Flieg's score 標準，僅達可接受之青貯等級 (表 2)；加入豆科使乙酸、丁酸提高，此外，總酸量亦提高，可能含水率較高所致。接種乳酸菌在本試驗並無提高乳酸生成量或提高乳 / 乙酸比，亦無顯著降低 pH 的效果，原因可能為本批試驗材料 WSC 低而含水率偏高，接種乳酸菌者即使有促進早期乳酸產生的現象，在經 8 週後開封與未接種者已差異不顯著；在高水分的 D + A 下，接種者反而明顯提高乙酸及丁酸含量。

表 2. 試驗一中 5 種牧草材料接種及不接種處理之青貯發酵比較

Table 2. Fermentation characteristics of the five forages with or without inoculation in experiment 1

Forage*	Treatment	Dry matter	pH	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid	Total acids	Lac./Acet. [#]	Score
		%		----- % -----						
P	Control	29.8	4.48	0.70	0.13	0.49	1.69	3.01	2.4	58
	Inoculant	30.1	4.49	0.88	0.13	0.30	1.75	3.06	2.0	61
P + A	Control	27.3	4.68	1.65	0.13	0.42	2.19	4.39	1.3	52
	Inoculant	26.8	4.78	1.40	0.15	0.32	1.47	3.34	1.1	40
D	Control	27.7	4.34	1.28	0.13	0.58	2.13	4.12	1.7	53
	Inoculant	27.5	4.25	1.38	0.15	0.48	2.32	4.33	1.7	56
D + G	Control	26.2	4.51	1.60	0.15	0.80	1.47	4.02	0.9	37
	Inoculant	26.1	4.41	1.49	0.15	0.81	1.74	4.19	1.2	43
D + A	Control	23.2	4.85	2.05	0.17	1.03	2.29	5.54	1.1	42
	Inoculant	22.1	4.79	2.35	0.27	1.67	2.13	6.42	0.9	46
LSD _{5%}		2.1	0.22	0.38	0.03	0.18	0.53			9

* The same as table 1.

[#] Lac./Acet. = Lactic acid / Acetic acid ratio.

本試驗未經萎凋，含水率高於一般的青貯標準，pH 雖降至 5 以下，但乳 / 乙酸比偏低，均有丁酸產生，豆科牧草的加入使乙酸、丁酸提高，表明禾豆混植材料未降低含水率下無法獲得良好結果，乳酸菌接種亦無法產生正面效益。

II. 試驗二

本試驗使用盤固草與苜蓿混植區單一材料進行試驗，分對照及 5 種菌種共 6 個處理，分別於 4、8、12 週開封。材料之生育期 45 天，盤固草佔 55.6%，青貯前材料 CP、ADF、NDF 含量分別為 10.4%、40.6%、58.8%。材料 WSC 為 7.6%，萎凋至乾物率約 38%，較試驗一為較理想的青貯條件。與試驗一同為 8 週時開封之青貯分析結果，總產酸量介於 1.96 – 3.93 DM，乙酸、丁酸與乳酸含量的範圍分別為：0.44 – 0.94%、0.01 – 0.16% 及 1.41 – 2.90%。由於含水率低，總產酸雖低於試驗一，但各脂肪酸含量比例佳，乙酸、丁酸降低，乳酸量相似，乳 / 乙酸比提升，除對照組外青貯評分均達優良等級。

不同週數開封方面，由表 3、4 可看出各發酵產物隨儲存時間的變化，12 週時總酸量約為 4 週時的兩倍，各處理的不同脂肪酸間反應不一。pH 方面，於 4 週時對照組的 pH 為 5.3，顯著高於其他接種處理者；8 週時對照組的 pH 降為 4.49，與其他處理差距拉近，至 12 週雖仍稍高，但已無顯著差異（表 3）。總產酸量的趨勢亦同，對照組在 4 週、8 週時總產酸量顯著較低，至 12 週雖仍較低，但與部分接種處理差異不顯著；對照組的總產酸較低，主要來自初期乳酸的生成量低於其他接種組（表 4）。乳酸乙酸比方面，對照組在 4 週時較低，其後顯著提升，8 週後可達 3 以上，與其他接種組差距變小。所有處理的丁酸在 12 週時均顯著提高，與接種與否無關。接種劑方面，本試驗所用的接種劑均有助於乳酸的快速生成，而菌種之間的產酸反應有別，部分並有時間先後速度上的差異；Lc1、Lr 似有促進乙酸生成而減少丁酸含量的現象，但需進一步確認。

青貯後的營養成分方面，對照組與接種組之間，及接種組之間的比較，CP、ADF、NDF 均無顯著差異，僅對照組的乾物率於 12 週後顯著低於其他，顯示可能有乾物回收率降低的現象。開封週數之間的比較方面，NDF 在 8 週後顯著提高，所有試驗組都有相同的結果（表 5）。

由試驗二結果，雖然菌種之間的產酸反應有別，本試驗所用的接種劑均有促進乳酸的早期生成的效果，有助於獲得穩定優良青貯；在相對較適宜的青貯條件下（如本試驗之高乾物率與 WSC），不接種者仍可獲得良好品質的（半乾）青貯，但充分乳酸生成所需的時間較長。

III. 試驗三

桶式青貯材料來源同試驗一田區，惟將各試區全數刈割後於田間萎凋 4 小時，經充分混合後進行桶式青貯調製。萎凋後材料乾物率 44.5%，各成分草種之比例及營養成分，及混合草樣青貯前之營養成分如表 6。

表 3. 試驗二於 4、8、12 週開封之 pH 總酸乳 / 乙酸比與青貯評分

Table 3. The pH, total acids, ratio of lactate/acetate and Flieg's score after 4, 8 and 12 weeks of ensiling in experiment 2

Treatment	pH			Total acids			Lac/acet			Score		
	4 w ⁺	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.
	-----%-----											
Control*	5.31	4.49	4.30	1.54	1.96	3.62	1.9	3.2	3.1	74	77	72
Eco	4.76	4.31	4.27	2.17	2.60	4.01	2.8	3.5	3.6	83	81	74
Lp	4.65	4.25	4.22	2.10	3.20	4.30	3.4	3.9	3.7	87	82	77
Lc1	4.85	4.21	4.18	2.02	3.93	4.03	1.5	3.1	3.3	79	85	83
Lc2	4.73	4.26	4.23	1.95	3.22	4.20	3.0	4.5	3.7	91	82	78
Lr	4.74	4.34	4.19	2.14	2.93	3.85	2.1	2.9	2.6	82	87	78
LSD _{5%}	0.22	0.25	0.18	0.33	0.45	0.52	0.3	0.3	0.4	7	4	6

* Control, without inoculation; Eco, inoculated with commercial product Ecosyl; Lc1, inoculated with isolated strain *L. casei*; Lc2, inoculated with another isolated strain *L. casei*; Lp, inoculated with isolated strain, *L. plantarum*; Lr, inoculated with isolated strain *L. rhamnosus*.

⁺ 4 w. means 4 weeks, 8 w. means 8 weeks, 12 w. means 12 weeks.

The same as table 2.

表 4. 試驗二於 4、8、12 週開封之乙酸、丙酸、丁酸及乳酸含量

Table 4. Contents of volatile fatty acid after 4, 8 and 12 weeks of ensiling in experiment 2

Treatment	Acetic acid			Propionic acid			Butyric acid			Lactic acid		
	4 w ⁺	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.
-----%-----												
Control*	0.54	0.44	0.82	0	0	0	0.00	0.11	0.29	1.00	1.41	2.51
Eco	0.56	0.55	0.80	0	0	0	0.04	0.11	0.37	1.57	1.94	2.84
Lp	0.47	0.62	0.85	0	0	0	0.04	0.16	0.32	1.59	2.42	3.13
Lc1	0.81	0.94	0.87	0	0	0	0.00	0.09	0.08	1.21	2.90	3.08
Lc2	0.48	0.56	0.81	0	0	0	0.01	0.15	0.32	1.46	2.51	3.07
Lr	0.69	0.75	1.06	0	0	0	0.00	0.01	0.08	1.45	2.17	2.71
LSD _{5%}	0.15	0.21	0.26	0	0	0	0.01	0.04	0.08	0.18	0.22	0.32

*, + The same as table 3.

表 5. 試驗二經 4、8、12 週青貯後之乾物率與營養成分

Table 5. The dry matter and nutritional components after 4, 8 and 12 weeks of ensiling in experiment 2

Treatment	Crude protein			Acid-detergent fiber			Neutral-detergent fiber			Dry matter		
	4 w ⁺	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.	4 w.	8 w.	12 w.
-----%-----												
Control	10.5	10.3	10.7	42.7	43.8	42.5	58.9	63.8	61.2	37.0	37.4	34.8
Eco	11.4	9.9	10.3	42.3	45.3	42.1	57.2	63.9	59.9	35.0	36.3	37.0
Lp	10.8	10.1	10.5	43.5	43.4	42.0	57.8	63.4	60.2	37.6	39.2	37.2
Lc1	12.4	10.2	10.6	42.9	43.2	41.6	54.3	62.2	60.9	37.8	36.3	36.9
Lc2	11.3	10.3	10.4	44.1	42.8	42.3	59.0	62.0	62.1	36.4	38.4	37.7
Lr	10.8	10.5	10.3	43.5	43.1	42.3	58.7	62.5	62.0	37.7	36.6	38.4
LSD _{5%}	0.6	0.3	0.4	2.5	2.2	2.1	3.5	2.6	2.5	2.5	2.9	2.8

*, + The same as table 3.

表 6. 試驗三桶式青貯試驗中各單元草種及混合材料之青貯前乾物率與營養成分

Table 6. The nutritional components of the element forage and their mixture used in barrel type ensiling of experiment 3

Forage	Percentage in mixture	Crude protein	Acid detergent fiber	Neutral detergent fiber	Water soluble carbohydrate
	%	----- % -----			
Pangolagrass	31.3	10.2	44.7	70.6	1.4
<i>Arachis glabrata</i>	1.5	11.4	43.5	56.1	2.0
Alfalfa	24.5	15.9	35.0	54.1	6.8
Digitgrass	42.5	9.2	37.1	69.0	3.4
Mixture		11.5	39.1	65.6	3.7

青貯 8 週後分析結果，對照組乾物率顯著低於接種組。對照組 pH 高達 5.46，接種組降至 4.45；總酸生成量差異不顯著，但對照組之乙酸、丙酸及丁酸均高於接種組，乳酸則低於接種組。接種組乳 / 乙酸比 5.3，青貯評

分達 84 分；對照組乳酸乙酸比僅 1.5，丁酸高於乳酸量，青貯評分僅 32 分 (表 7)。相同混植材料進行桶式青貯，接種與不接種之間，青貯結果差距甚大。

香腸式青貯的材料來源同試驗二牧草區，較試驗二晚 5 天後全區以圓盤式割草機刈割，萎凋 4 小時後進行青貯。青貯 83 天後取樣調查結果，對照組乾物率降至 30.7%，顯示乾物回收率顯著降低；接種組維持在 37.8%，乾物損失率低，亦可推知兩者的青貯發酵特性及結果迥異。對照組 pH 高達 5.3，接種組降至 4.1；對照組乳酸乙酸比僅 0.3，丁酸甚且高於乳酸量；接種組乳酸乙酸比 3.4，無丁酸產生。青貯評分接種組高達 94 分，對照組僅 29 分，青貯結果差距甚大。試驗的接種組與對照組間差距幅度遠大於試驗一及試驗二。

表 7. 試驗三桶式青貯試驗接種及不接種處理之青貯發酵比較

Table 7. Fermentation characteristics of barrel type silage with or without inoculation in experiment 3

Treatment	Dry matter	pH	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid	Total acids	Lac./Acet. [#]	Score
	%		----- % of fresh wt. -----						
Control	41.2	5.46	0.68	0.16	1.27	1.04	3.15	1.5	32
Inoculant	43.2	4.45	0.52	0.00	0.17	2.76	3.45	5.3	84
LSD _{5%}	1.5	0.22	0.06	0.03	0.10	0.24	0.32	0.5	8

[#] The same of table 2.

表 8. 試驗三香腸式青貯試驗接種及不接種處理之青貯發酵比較

Table 8. Fermentation characteristics of sausage type silage with or without inoculation in experiment 3

Treatment	Dry matter	pH	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid	Total acids	Lac./Acet. [#]	Score
	%		----- % of fresh wt. -----						
Control	30.7	5.3	2.78	0.76	1.24	0.93	5.71	0.3	29
Inoculant	37.8	4.1	1.19	0.04	0.00	4.06	5.29	3.4	94
LSD _{5%}	2.1	0.26	0.25	0.13	0.18	0.22	0.35	0.6	8

[#] The same of table 2.

討 論

禾豆混植草地在溫帶地區普遍可見，但在熱帶地區成功的例子較少，主要原因有：缺乏持久性佳、適應性廣的品系、缺乏管理知識和可信賴的模式、政策面未重視土壤肥力的維持等 (Carlsson and Huss-Danell, 2003; Valentim *et al.*, 2004)。除此外，難以進行乾草調製也是禾豆混植草地在熱帶地區較少施行的原因之一 (Titterton and Bareeba, 2000)。

臺灣的牧草生產以禾本科為主，尤其多年生牧草地如盤固草等的蛋白質偏低，在禾草地導入豆科作物是一個可以提升牧草營養價值及減少氮素施用的方法 (陳等, 2010; 2011)，但禾豆混植草地在臺灣能順利調製乾草的難度更高，調製品質良好且穩定的青貯將有助於禾豆混植草地的推展，但國內混植草地向來缺乏調製方面的研究 (金, 1998)。

影響青貯品質的因素包括材料本身如水溶性碳水化合物含量、酸鹼緩衝能力及水分含量等，前者隨物種、成熟度等植物因素而異，甚至有一天之內的含量變動 (王等, 2004)；而含水率雖是植物因素，但卻是一個更重要且可透過萎凋等方法加以控制者。一項涵蓋多種牧草材料、探討植體成分與發酵產物間的相關的統合分析 (meta-analysis) 指出，多年生牧草的青貯產物中僅乙酸含量與含水率有高度相關，高含水率之下乙酸提高，其他的相關都很弱 (Kasmaei *et al.*, 2013)，表示高含水率幾乎代表高乙酸的生成。

相對於低含水率，不經萎凋的高含水率材料有較充分的發酵，在操作上也較簡便，但青貯時水分含量過高時，

除高乙酸產生外，還會稀釋醱酵產酸使青貯時的 pH 不易降低，且水分含量高，滲透壓低會使丁酸菌容易生長而致青貯料敗壞。在熱帶多年生禾豆混植禾草或豆科中雖有不經萎凋直接調製青貯的報告，但由其資料中可看出在高含水率 (70 – 80%) 之下，明顯有高比例的乙酸生成，甚至有不少的丁酸產生 (Ridwan *et al.*, 2015; Bureenok *et al.*, 2016; Nkosi *et al.*, 2016)。高水分含量的青貯料通常需要較多的醱酵產酸及更低的酸度，以抑制丁酸菌生長，保存青貯料，因此適當萎凋仍是多年生禾草或豆科獲得優良發酵品質的作法 (Owens *et al.*, 1999; Dewhurst *et al.*, 2003; Hashemzadeh *et al.*, 2011; Bijelic *et al.*, 2015)。本研究中試驗一結果，無論是單植或混植、有無添加，青貯結果均相似：乙 / 乳酸比高，及不可避免的丁酸產生。在不經萎凋的狀況下，高含水率的效應掩蓋過物種的差異或菌種添加的反應。

接種乳酸菌可促進青貯乳酸發酵、降低乾物損失 (Handcock and Collins, 2006; Kaldmae, 2009; Muck, 2013; 王等 2014)，然接種效果依情況而異。Muck (1993) 統計了 1985 – 1992 年之間 250 個接種試驗結果，含美國、歐洲的苜蓿、玉米與溫帶牧草，65% 對發酵有改善效果 (降低 pH 與氨氮，提高乳酸乙酸比)，接種效果依草種不同。在本研究試驗一無萎凋狀況之下，有無添加菌種無顯示差異；在經萎凋至 38% 乾物率的試驗二，4 週時對照組的 pH 顯著高於其他接種處理者；8 週時差距縮小，至 12 週雖仍稍高，但已無顯著差異 (表 4)，表示若本試驗僅在 12 週時開封取樣調查，仍有可能會得到有無接種之間差距很小或差距不顯著的結果。此結果亦無不合理，因為接種乳酸菌促進早期乳酸發酵，在環境控制良好、隔絕氧氣進出的條件下，未接種乳酸菌者，乳酸菌在適宜的低氧環境下仍會「慢慢地」增殖形成優勢，產生乳酸，隨著發酵時間的延長縮小與接種者之間的差距。

值得注意的是，本研究中這種會隨時間縮短 pH 或乳酸生成差距的狀況，是發生在抽真空後又在嚴格隔絕空氣的實驗室青貯袋下的結果，在實際的青貯作業時，在不同的條件下 (如材料適合發酵程度、空氣進出等)，有無接種的結果可能大異其趣，試驗三的結果充分說明了有否嚴格控制空氣狀況的差異。桶式青貯及小香腸青貯都是國內為小型草食動物產業自行發展出的青貯方式 (黃, 1997; 彭等, 2002)，是實際青貯作業中容量較小者。在試驗三，緊密度稍低 (450 – 510 kg/m³) 且未能完全排除空氣的青貯條件之下，早期未能形成乳酸菌優勢、未能快速降低 pH 的差距反而因青貯時間的延長被放大，兩者對照組均有高量的丁酸生成，在未接種者且未能完全排除空氣之下，有氧反應繼續進行，乾物質分解，提高水分，又提高了丁酸生成，走向較劣的發酵途徑；而接種乳酸菌者雖在相同的青貯桶與香腸袋條件之下，因接種造成早期的乳酸菌優勢，減少乙酸、丁酸生成，走向較佳的發酵途徑，保留高度的高物回收率、適當的乳 / 乙酸比，因而獲得優良等級的青貯評分。

結論與建議

1. 在嚴格控制空氣的實驗室規模青貯下，含水率是禾豆混植草青貯發酵關鍵因素，在含水率太高的情況下，乳酸菌接種無法提高乳 / 乙酸比及抑制丁酸產生。
2. 在降低含水率下，接種促進早期乳酸發酵，在 4 週開封時 pH 低於對照組。4 週至 12 週間，對照與接種組之乳 / 乙酸均顯著變化。
3. 在未能完全排除空氣的桶式與小香腸青貯狀況下，接種與未接種者之間的差距放大。接種者發酵品質達優良等級；未接種者 pH 降幅小、乳 / 乙酸比低，且有高量的丁酸生成，屬於失敗的青貯等級。
4. 控制水分與接種是做好禾豆混植草青貯的重要因素，然接種與較適含水率容許範圍的配合宜進一步探討，以提升及穩定青貯品質。

參考文獻

- 王啟柱、許金生、蔡瑞瓊。1963。禾本科與豆科牧草混植試驗。科學農業 11：287-279。
- 王紓愍、陳嘉昇、陳文、顏素芬。2004。狼尾草水溶性碳水化合物含量變化與影響因子研究。畜產研究 37(2)：153-161。
- 王紓愍、陳嘉昇、游翠鳳、劉信宏。2009。太陽麻 (*Crotalaria Juncea* L.) 之青貯調製研究。畜產研究 42(4)：309-318。
- 王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2014。接種篩選乳酸菌對水稻全株青貯發酵品質的影響。畜產研究 47(1)：17-24。
- 金文蔚。1998。本省牧草混植研究。芻料作物研究研討會論文集。畜產試驗所專輯第 53 號。

- 陳嘉昇、王紓愨、游翠鳳、劉信宏。2010。低投入的有機芻料生產研究—指草屬 (*Digitaria* spp.) 與花生屬 (*Arachis* spp.) 混植。畜產研究 43(2)：167-179。
- 陳嘉昇、王紓愨、游翠鳳、劉信宏。2011。低肥料投入的有機芻料生產研究—指草屬 (*Digitaria* spp.) 牧草與苜蓿 (*Medicago sativa*) 混植。畜產研究 44(1)：37-50。
- 游翠鳳、王紓愨、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(3)：209-216。
- 彭炳茂、陳嘉昇、張敏郎。2004。桶式青貯調製作業之改良。畜產專訊 50：6-7。
- 黃清旺。1997。芻料收穫與調製。養牛自動化手冊。pp. 5-7。
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14th ed. Washington D. C. pp. 125-142.
- Bijelić, Z., Z. Tomić, D. Ružić-Muslić, V. Krnjaja, V. Mandić, M. Petričević and V. Caro-Petrović. 2015. Silage fermentation characteristics of grass-legume mixtures harvested at two different maturity stages. Biotech. Anim. Husbandry 31: 303-311.
- Bureenok, S., K. Sisaath, C. Yuangklang, K. Vasupen and J. T. Schonewille. 2016. Ensiling characteristics of silages of Stylo legume (*Stylosanthes guianensis*), Guinea grass (*Panicum maximum*) and their mixture, treated with fermented juice of lactic bacteria, and feed intake and digestibility in goats of rations based on these silages. Small Rumin. Res. : 84-89.
- Carlsson, G. and K. Huss-Danell. 2003. Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. Plant and Soil 253: 353-372.
- Dewhurst, R. J., W. J. Fisher, J. K. S. Tweed and R. J. Wilkins. 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. J. Dairy Sci. 86: 2598-2611.
- 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.
- Hancock, D. W. and M. Collins. 2006. Forage preservation method influences alfalfa nutritive value and feeding characteristics. Crop Sci. 46: 688-694.
- 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. S. Afr. J. Anim. Sci. 41: 377-388.
- 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.
- Kaldmäe, H., O. Kärt, A. Olt, A. Selge and I. Keres. 2009. Inoculant effects on red clover silage: fermentation products and nutritive value. Agronomy Research 7: 793-800.
- Kasmaei, K. M., B. O. Rustas, R. Spörmly and P. Udén. 2013. Prediction models of silage fermentation products on crop composition under strict anaerobic conditions: A meta-analysis. J. Dairy Sci. 96: 6644-6649.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. Science 107: 254-255.
- 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. 1993. The role of silage additives in making high quality silage. In: Silage production from seed to Animal, NRAES-67, pp. 106-116. Northeast Regional Agric. Engineering Service, Ithaca, NY, USA.
- Muck, R. E. 1996. Inoculation of silage and its effect on silage quality. In: Proceedings of the dairy forage research center conference with dairy and forage industries, pp. 43-51. Madison, WI, US Dairy Forage Research Centre.
- 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.
- Nkosi, B. D., R. Meeske, T. Lang, M. D. Motiang, S. Modib, N. R. Mkhize and I. B. Groenewald. 2016. Effects of ensiling forage soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) with or without bacterial inoculants on the fermentation characteristics, aerobic stability and nutrient digestion of the silage by Damara rams. Small Rumin. Res. 134: 90-96.
- Owens, V. N., K. A. Albrecht, R. E. Muck and S. H. Duke. 1999. Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. Crop Sci. 39: 1873-1880.
- Ridwan, R., I. Rusmana, Y. Widyastuti, K. G. Wiryawan, B. Prasetya, M. Sakamoto and M. Ohkuma. 2015. Fermentation characteristics and microbial diversity of tropical grass-legumes silages. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 28: 511-518.

- Sleugh, B., K. J. Moore, J. R. George and E. C. Brummer. 2000. Binary legume - grass mixtures improve forage yield, quality and seasonal distribution. *Agron. J.* 92: 24-29.
- Tilman, D., P. B. Reich, J. Knops, D. Wedin, T. Mielke and C. Lehman. 2001. Diversity and productivity in long-term grassland experiment. *Science* 26: 843-845.
- Titterton, M. and F. B. Bareeba. 2000. Grass and legume silages in the tropics. FAO Electronic Conference on Tropical Silage. 1 Sep. - 15 Dec. <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/home.htm>.
- Tracy, B. F. and M. A. Sanderson. 2004. Productivity and stability relationships in mowed pasture communities of varying species composition. *Crop Sci.* 44: 2180-2186.
- Valentim, J. F. and C. M. S. Andrade. 2004. Perspectives of grass-legume pastures for sustainable animal production in the tropics. 41st Annual Meeting of the Brazilian Society of Animal Science. Camop Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil.
- Vogel, K., J. F. Pedersen, S. D. Masterson and J. J. Toy. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.* 39: 276-279.

Silage fermentation characteristic of perennial grass-legume mixture ⁽¹⁾

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

Received: Jun. 7, 2016; Accepted: Nov. 2, 2016

Abstract

Grass-legume mixture has the function of elevating nutritional value of forage and balancing soil nutrient. Owing to the humid climate of Taiwan, hay drying of grass is not easy, hay making of grass-legume is even more difficulty. Ensiling will be a feasible alternative for mixture production. Three experiments were conducted in this research to investigate the fermentation characteristics of grass-legume mixture and their affecting factors. Two grasses and two legumes were included in experiment I and their grass percentage ranged from 30% to 100%. After 8 weeks ensiling of the un-wilted forages, the pH were 4.25-4.85, total acids were 3.0-6.4% (dry base) and all were low in lactic acid and low lactic acid/acetic acid ratio and high butyric acid yielding. It indicated that good fermentation can't be attained under high moisture condition even inoculation were applied. In experiment II, silages were made of pangola-alfalfa mixture wilted to 38% DM (dry matter) with or without inoculation and were assayed at 4, 8 and 12 weeks. Silages of experiment II showed lower total acids, lower acetic acid and butyric acid but higher lactic acid/acetic acid ratio as compared to those in experiment I. All treatments in experiment II got excellent score except that without inoculation. All inoculants used in this experiment were helpful to lactic acid synthesis, but had different effects on fermentation product. Silages without inoculation were higher in pH than others at 4 weeks storage, while the differences between them were closer after 8 weeks. It indicated that though good fermentation could be achieved without inoculation under proper condition, but longer time was required for fermentation. In experiment III, grass-legume mixtures were filled into barrel and sausage bag with or without inoculation. The results showed that divergence effects of inoculation or not were magnified under the conditions that air can't be exclusively repelled. Silage with inoculation were excellent in grade, while that of without inoculation were failed in both types of ensiling. It is concluded that moisture is the key factor to grass-legume ensiling. In practical operation, which rigorous anaerobic condition is hard to reach, inoculation can promote and stabilize fermentation quality. The endurable ranges of moisture that act in concert with inoculation for good fermentation need further study.

Key words: Grass-legume mixture, Inoculant, Silage.

(1) Contribution No. 2513 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: chencsg@mail.tlri.gov.tw.