

乾物率及不同接種處理對燕麥與燕麥 / 苜蓿 混植長期青貯品質的影響⁽¹⁾

王紓愍⁽²⁾⁽³⁾ 游翠凰⁽²⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：109 年 4 月 24 日；接受日期：109 年 7 月 1 日

摘 要

本研究目的為探討不同接種條件對低、高乾物率的燕麥 (29.8%、50.7%) 與燕麥 / 苜蓿混植 (33.8%、62.6%) 青貯 18 個月的影響。接種處理包括下列 7 種：對照 (不接種)、處理 A (接種 *Lactobacillus acetotolerans* SOR-4, 4×10^6 cfu/kg)、處理 B (接種 *Lactobacillus buchneri* TNC-5, 2×10^8 cfu/kg)、處理 C (接種 *Lactobacillus plantarum* L10531, 2×10^6 cfu/kg)、處理 D (接種商業菌劑, *L. plantarum*, *Lactobacillus casei*, 2×10^8 cfu/kg)、處理 E (接種商業菌劑 + *L. acetotolerans* SOR-4)、處理 F (接種商業菌劑 + *L. buchneri* TNC-5)。材料密封於真空袋, 每處理 4 重複, 貯放於室內。由變方分析結果, 材料、乾物率及接種為青貯發酵重要影響因子, 且因子間有交感效應。4 批材料的整體表現 (pH 值、發酵品質、青貯評分) 以乾物率 33.8% 的燕麥 / 苜蓿表現最佳、依次為乾物率 50.7% 的燕麥及 62.6% 的燕麥 / 苜蓿, 乾物率 29.8% 的燕麥平均表現則為最差。大部分狀況下, 接種表現均優於對照。接種處理中以接種 *L. acetotolerans* SOR-4、商業菌劑與同時接種二者的平均表現較佳, 而接種 *L. buchneri* TNC-5 的表現較差, 顯示對燕麥及燕麥 / 苜蓿的長期保存效果而言, 以同質乳酸發酵菌較佳, 另 *L. acetotolerans* SOR-4 具開發為青貯菌劑的應用潛力。

關鍵詞：燕麥、苜蓿、青貯、接種。

緒 言

苜蓿與燕麥為國內進口乾草的重要品項, 也是行政院農業委員會畜產試驗所 (簡稱畜試所) 為提高熱帶牧草蛋白質含量與冬季牧草不足而持續研究的主題之一 (蕭等, 2003; 陳等, 2011; 朱等, 2018)。雖然燕麥已在中部地區進行較大規模的試作並估算生產效益 (梁等, 2018), 畜試所恆春分所多年的研究也顯示苜蓿可以在南臺灣生長良好 (王等, 2010; 王等, 2018), 然而國產燕麥、苜蓿在現場實際應用上仍然不多, 主要是國內耕地比較效益與調製不易等問題, 限制了農民投入的意願。

苜蓿與燕麥可以調製為乾草及青貯草, 但在臺灣的不穩定氣候下以青貯調製較宜。青貯發酵與乾燥是保存牧草營養的二大方法, 一般而言, 乾草調製的乾物損失主要發生在收穫刈割至乾燥期間, 特別是因為淋雨造成的直接養分流失與延長乾燥時間後的品質損失, 影響尤其顯著。以苜蓿而言, 葉片在乾燥過程的掉落及長時間田間曝曬都顯著降低營養價值 (Rotz and Muck, 1994), 而燕麥則較易因莖秆乾燥不足而在倉儲時發霉。相對而言, 青貯是藉微生物發酵產酸, 降低材料的 pH 值以抑制不良微生物的活動, 而達到保存的目的, 其調製過程的田間損失較低, 可以避免牧草為了等待合適收穫乾燥時期而過度生長 (老化), 減少田間作業時間以及降低氣候不穩定之風險 (Rotz and Muck, 1994; Ohmomo *et al.*, 2002)。

青貯方法一類是將牧草刈割細切後裝填至青貯槽、青貯袋 (香腸袋) 或青貯桶等容器內, 利用裝填擠壓動作將空氣排出, 之後再將容器密封就能保存牧草營養, 如玉米青貯料。另外則是採用膠膜捆包的方式, 在草捆外以 PE 膠膜捆包 4 – 6 層也可以達到青貯保存的目的。通常, 牧草表面菌相控制在適當的含水率與無氧環境下, 能自然誘發乳酸菌成為優勢菌種 (Ni *et al.*, 2017), 但對部分水溶性碳水化合物含量較低及酸鹼緩衝能力強之材料, 則接種乳

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2643 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

(3) 通訊作者, E-mail: smwang@mail.tlri.gov.tw。

酸菌可以顯著改善青貯發酵，減少乾物損失，甚至增進適口性 (游等, 2012; 王等, 2017; 王等, 2018; Ohmomo *et al.*, 2002)。青貯是各種微生物與欲保存之牧草材料間交互作用後的結果，控制良好時能達到良好的營養保存，但含水率與菌相無法配合時則可能產生極大的乾物損失。不同牧草種類、收穫成熟度及萎凋狀況會產生特定的含水率與菌相，必須依可以採行的青貯調製方式，決定收穫含水率以獲得較佳的保存效果 (Rotz and Muck, 1994; Borreani, *et al.*, 2017)，通常槽式青貯的乾物率在 30% 上下，而膠膜捆包則需較高的乾物率。另青貯時間也會對青貯反應有明顯的影響，王等 (2008; 2012; 2014) 進行全株水稻、高水分玉米粒及青割玉米的青貯研究發現，青貯時間拉長容易發生乳 / 乙酸比降低，及丁酸上升等反應，但較少針對長期青貯條件進行的研究。

本研究討論乾物率及接種對燕麥與燕麥 / 苜蓿混植長期青貯的影響，企圖以多種條件及 18 個月的長期青貯，探討不同接種菌株的表現潛力及其可能應用，以提供調製參考。

材料及方法

I. 材料

材料收穫自畜試所恆春分所田間，105 年 3 月 1 日分別收穫燕麥及燕麥 / 苜蓿混植，每種材料攤開在蔭棚下萎凋，於萎凋 4 小時及 24 小時後進行青貯。

II. 青貯處理

青貯時材料均勻分為 7 堆，分別進行下列處理：接種水 (對照, CK)、接種處理 A (自篩菌株 *L. acetotolerans* SOR-4, 4×10^6 cfu/kg)、接種處理 B (自篩菌株 *L. buchneri* TNC-5, 2×10^8 cfu/kg)、接種處理 C (自篩菌株 *L. plantarum* L10531, 2×10^6 cfu/kg)、接種處理 D (商業菌劑，畜試所恆春分所技轉菌株，*L. plantarum*, *L. casei*, 2×10^8 cfu/kg)、接種處理 E (商業菌劑 + *L. acetotolerans* SOR-4)、接種處理 F (商業菌劑 + *L. buchneri* TNC-5)。接種處理之菌株均為畜試所恆春分所自行培養，因此每種處理的接種菌數不完全一致。處理後將材料混合均勻，置於真空塑膠袋中，每袋 1 kg，添加 1 mL 水或菌株處理，密封。每處理 4 重複。貯存 18 個月後開封，測定青貯發酵品質。

III. 分析方法

- (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°C 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 (1991) 方法以濾袋法測定 (Ankom 200)，每一樣品重複 2 次。本試驗所有材料之營養組成如表 1。

表 1. 燕麥及燕麥 / 苜蓿萎凋不同時間後的乾物率及化學組成

Table 1. Dry matter content and chemical compositions of oat and oat/alfalfa after wilting for different hours

Forage	Wilting	Dry matter	Crude protein	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
	Hr.	%	----- % dry base -----		
Oat	4	29.8	15.45	60.73	35.81
	24	50.7	16.74	59.02	36.91
Oat/alfalfa	4	33.8	18.48	53.49	28.95
	24	62.6	16.50	55.68	33.26

- (ii) 半乾青貯品質分析：pH 值為 20 g 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相層析儀依 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°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，再以氣相層析儀 (Shimadzu, GC-2014) 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 (Flieg'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。
- (iii) 統計：試驗結果以 SAS 軟體 (2002) 之 GLM procedure 進行變方分析，主效應為材料、含水率 (萎凋處理)

及接種，各主效應均為固定型，以鄧肯氏法 (Duncan's test) 測驗接種處理間的差異顯著性。

結 果

I. 材料特性與青貯品質變方分析

本試驗材料青貯前的營養組成見表 1，萎凋 4 小時燕麥及燕麥 / 苜蓿的乾物率在 30% 上下，萎凋 24 小時二者的乾物率分別為 50.7% 及 62.6%，造成二種材料乾物率差異應與苜蓿萎凋時失水率較高有關。燕麥 / 苜蓿混植的粗蛋白質含量僅略高於燕麥，中、酸洗纖維含量則略低於燕麥，因收穫材料中燕麥的占比較高 (約占 2/3)。由變方分析表 (表 2) 乾物率高低及接種兩因子對 pH 值有顯著影響，材料因子不顯著，但材料與乾物率、材料與接種及乾物率及接種有顯著交感效應；青貯品質評分則是接種影響顯著，以及材料及乾物率、材料與接種及乾物率及接種間交感效應顯著；乙酸含量則除材料及乾物率交感不顯著外，其餘各因子均影響顯著；乳酸含量則材料因子不顯著外其餘各因子都影響顯著。分析顯示，材料、乾物率及接種是影響青貯的重要因子，且因子間有交互作用。

表 2. 乾物率及接種對燕麥、燕麥 / 苜蓿青貯品質影響之變方分析表

Table 2. Analysis of variance for the silage quality of oat and oat/alfalfa silages affected by different dry matter contents and inoculation treatments

Source of variance	df	Mean square					
		pH	Flieg's score	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid
Dry matter (DM)	1	4.39**	21.0	259.5**	0.50	3.26*	161.7**
Inoculants (I)	6	0.51**	1,941.9**	5.2**	0.14	0.80	22.6**
Materials (M)	1	0.44	8.4	18.2**	0.68**	3.82*	0.1
M × DM	1	0.92**	8,142.9**	0.7	0.72*	3.12*	47.4**
M × I	6	0.23**	545.7**	3.4**	0.13	0.82	8.2**
DM × I	6	0.78**	1,570.1**	4.4**	0.09	0.62	14.3**
M × DM × I	6	0.12	158.0	4.4**	0.10	0.70	3.2**
Error	67	0.05	80.9	0.22	0.08	0.31	0.5

* P < 0.05.

** P < 0.01.

II. 接種處理在不同乾物率與材料下的表現

表 3 為低乾物率燕麥在不同接種條件下的青貯發酵表現。不接種者在青貯 18 個月後發酵產酸以乙酸為主，另接種 *L. buchneri* TNC-5 (處理 B)、*L. plantarum* L10531 (處理 C) 及商業菌 + *L. buchneri* TNC-5 (處理 F) 等處理發酵產酸也以乙酸為主，且有大於 0.5% 以上的高量丁酸產生，表現不佳。各處理中表現最佳者為接種 *L. acetotolerans* SOR-4 (處理 A)，其 pH 值 3.86、青貯評分 95，乳酸含量為 8.66%，顯著 (P < 0.05) 優於其他各種處理，其次為接種商業菌 + *L. acetotolerans* SOR-4 (處理 E) 與接種商業菌 (處理 D) 兩處理，其 pH 分別為 4.43 及 4.77，乳酸含量分別為 4.93% 及 3.20%，乙酸含量分別為 4.03% 及 5.32%，發酵評分分別在好及可接受等級。

表 4 為高乾物率燕麥的青貯表現。對照處理表現最差，發酵產酸以乙酸為主，但青貯評分 47 仍在可接受的等級，接種處理中以接種 *L. buchneri* TNC-5 的評分 55 最低，乙酸含量與乳酸含量相近，其他接種處理的發酵產酸都以乳酸為主，青貯發酵品質在好至優等級。各處理中接種商業菌及 *L. acetotolerans* SOR-4 二組的乳酸含量分為 2.97% 及 2.84%，顯著 (P < 0.05) 高於對照組及接種 *L. buchneri* TNC-5 組之 0.84% 及 1.10%。

表 5 為低乾物率燕麥 / 苜蓿之青貯表現，除接種 *L. buchneri* TNC-5 與接種商業菌 + *L. buchneri* TNC-5 二處理的表現為可接受等級外，其他所有處理的青貯發酵品質都在好至優的等級，其中對照、接種 *L. acetotolerans* SOR-4、接種商業菌 + *L. acetotolerans* SOR-4 三組的 pH 值分別為 4.40、4.08 及 4.26；乳酸含量分別為 5.10%、5.94% 及 5.94%；青貯評分分別為 82.7、87.3 及 82.3，表現極佳。

表 6 為高乾物率燕麥 / 苜蓿之青貯表現，以青貯評分而言，所有處理青貯評分介於 41.5 – 67.0 都在可接受

至好的等級，但由產酸量來看，則發現整體發酵量不高，乙酸含量介於 0.28 – 0.57% 間，乳酸含量介於 0.05 – 0.64% 間，明顯低於前述三組實驗，顯示微生物的活動受限，應與含水率偏低與植體酸鹼緩衝能力較高有關。

表 3. 接種對於低乾物率燕麥之青貯品質影響

Table 3. Effect of inoculants on silage quality of oat with low dry matter content

Treatment*	Dry matter	pH	Flieg's score	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid
	%			% DM			
Control	23.9 ^b	4.59 ^{de}	48.0 ^{cd}	8.28 ^a	0.03	0.05 ^b	0.21 ^c
A	26.8 ^a	3.86 ^c	94.8 ^a	1.50 ^d	0.03	0.10 ^b	8.66 ^a
B	23.8 ^b	5.40 ^a	24.3 ^e	4.60 ^{bc}	0.80	2.26 ^a	0.34 ^{de}
C	25.4 ^{ab}	5.07 ^{abc}	35.5 ^{de}	5.44 ^b	0.68	0.66 ^{ab}	0.54 ^{de}
D	25.5 ^{ab}	4.77 ^{bcd}	53.0 ^{bc}	5.32 ^b	0.02	0.05 ^b	3.20 ^c
E	26.2 ^{ab}	4.43 ^d	66.3 ^b	4.03 ^c	0.04	0.06 ^b	4.93 ^b
F	24.5 ^{ab}	5.13 ^{ab}	30.3 ^e	4.84 ^{bc}	0.58	1.58 ^{ab}	1.56 ^d

*Control: no inoculation, A: inoculated with *L. acetotolerans* SOR-4, B: inoculated with *L. buchneri* TNC-5, C: inoculated with *L. plantarum* L10531, D: inoculated with commercial inoculant, E: inoculated with commercial inoculant and *L. acetotolerans* SOR-4, F: inoculated with commercial inoculant and *L. buchneri* TNC-5.

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

表 4. 接種對於高乾物率燕麥之青貯品質影響

Table 4. Effect of inoculants on silage quality of oat with high dry matter content

Treatment*	Dry matter	pH	Flieg's score	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid
	%			% DM			
Control	48.4 ^{bc}	5.65 ^a	47.3 ^d	1.23 ^{ab}	0.016 ^c	0.054	0.84 ^b
A	48.6 ^{bc}	4.77 ^b	72.3 ^{abc}	1.16 ^{abc}	0.023 ^{bc}	0.078	2.84 ^a
B	50.2 ^b	4.76 ^b	55.3 ^{cd}	1.28 ^{ab}	0.028 ^b	0.020	1.10 ^b
C	53.4 ^a	5.08 ^b	84.0 ^{ab}	0.56 ^c	0.029 ^b	0.019	1.57 ^{ab}
D	48.2 ^{bc}	4.51 ^b	92.5 ^a	0.84 ^{bc}	0.026 ^b	0.017	2.97 ^a
E	50.0 ^{bc}	5.04 ^b	81.3 ^{ab}	0.78 ^{bc}	0.032 ^b	0.015	1.78 ^{ab}
F	47.3 ^c	4.90 ^b	65.3 ^{bcd}	1.50 ^a	0.045 ^a	0.061	2.07 ^{ab}

*The same as Table 3.

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

表 5. 接種對於低乾物率燕麥 / 苜蓿之青貯品質影響

Table 5. Effect of inoculants on silage quality of oat/alfalfa with low dry matter content

Treatment*	Dry matter	pH	Flieg's score	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid
	%			% DM			
Control	33.0 ^a	4.40 ^{bc}	82.7 ^a	2.11 ^c	0.014 ^a	0.055	5.10 ^{ab}
A	31.4 ^{bc}	4.08 ^d	87.3 ^a	2.29 ^c	0.010 ^{ab}	0.006	5.94 ^a
B	30.5 ^c	4.63 ^a	51.3 ^c	4.84 ^a	0.015 ^a	0.013	1.84 ^d
C	31.4 ^{bc}	4.33 ^{bc}	69.0 ^b	3.84 ^b	0.011 ^{ab}	0.011	4.41 ^{ab}
D	32.8 ^a	4.53 ^{ab}	62.3 ^{bc}	3.93 ^b	0.000 ^b	0.012	3.98 ^{bc}
E	32.1 ^{ab}	4.26 ^{cd}	82.3 ^a	2.55 ^c	0.013 ^a	0.037	5.94 ^a
F	30.9 ^{bc}	4.62 ^a	53.5 ^c	5.06 ^a	0.004 ^{ab}	0.012	2.98 ^{cd}

*The same as Table 3.

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

表 6. 接種對於高乾物率燕麥 / 苜蓿之青貯品質影響

Table 6. Effect of inoculants on silage quality of oat/alfalfa with high dry matter content

Treatment*	Dry matter	pH	Flieg's score	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Lactic acid
	%			----- % DM -----			
Control	60.7 ^c	5.25 ^a	41.5 ^d	0.32 ^b	0.039 ^{ab}	0.009	0.05 ^c
A	63.3 ^a	5.17 ^{ab}	43.8 ^{cd}	0.28 ^b	0.035 ^b	0.006	0.07 ^c
B	61.8 ^{bc}	4.78 ^d	53.0 ^{abcd}	0.57 ^a	0.040 ^{ab}	0.005	0.40 ^{ab}
C	62.2 ^{ab}	5.08 ^{ab}	51.8 ^{bcd}	0.32 ^b	0.037 ^{ab}	0.008	0.22 ^{bc}
D	62.3 ^{ab}	5.06 ^{ab}	67.0 ^a	0.32 ^b	0.037 ^{ab}	0.006	0.41 ^{ab}
E	62.1 ^{ab}	5.00 ^{bc}	61.8 ^{ab}	0.39 ^b	0.045 ^a	0.009	0.45 ^{ab}
F	61.0 ^{bc}	4.83 ^{cd}	57.5 ^{ab}	0.55 ^a	0.046 ^a	0.012	0.64 ^a

* The same as Table 3.

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

討 論

青貯調製的原則解釋起來很簡單，然而實際上發生的青貯過程卻非常複雜，且受到多項因子的影響，如材料收穫條件、含水率、水溶性碳水化合物含量、植體酸鹼緩衝能力及表面菌相等，且因子間並非獨立，一項的改變會讓其他的條件也跟著改變，因此其表現的結果會非常多變。由表 3 至表 6 顯示，低、高乾物率燕麥與低、高乾物率燕麥 / 苜蓿 4 組試驗的結果非常不同，以對照組而言，表現最佳者為低乾物率燕麥 / 苜蓿 (33.8%)、次為高乾物率燕麥 (50.7%)、低乾物率燕麥 (29.8%)，最差為高乾物率燕麥 / 苜蓿 (62.6%)，其乳酸含量分別為 5.1% (表 5)、0.84% (表 4)、0.21% (表 3) 及 0.05% (表 6)。乾物率 30% 左右的燕麥是一般認為適當的青貯條件，朱等 (2018) 的研究即顯示在相似條件下青貯 2 個月的燕麥青貯料乳酸含量介於 3% – 5% 間，而本實驗的含量僅 0.21% (表 3)，相差極大，由於同處理之乙酸含量為 8.28% (表 3)，推測可能與長時間青貯 (18 個月) 下發生異質乳酸發酵有關 (Rotz and Muck, 1994; Borreani *et al.*, 2017)；而低乾物率的燕麥 / 苜蓿 (33%) 在長時間青貯下仍維持在優良狀態的原因不明，是否與材料中含有有豆科致緩衝能力較高、發酵較慢、或者具有特殊菌相等有關，須進一步實驗檢測。Ni *et al.* (2017) 以變性梯度凝膠電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 及次世代定序 (next-generation sequencing, NGS) 兩種方法，檢測義大利黑麥草、青割玉米及苜蓿青貯前後的菌相變化，發現青貯前、後與牧草間有明顯差異，且無法以牧草青貯前的菌相預測其青貯料的菌相；經 2 個月青貯，各種青貯料的菌相均以乳酸菌為主，但不同牧草的主要菌種類別不同，義大利黑麥草以球菌之明串珠菌及小球菌屬 (*Leuconostoc* spp. and *Pediococcus* spp.) 為主，青割玉米以乳酸桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 為主，而苜蓿則以腸球菌屬 (*Enterococcus* spp.) 為主。另 Rotz and Muck (1994) 及 Ohmomo *et al.* (2002) 均表示自然發酵下，青貯前期發酵以球菌為主而後期則以乳酸桿菌為主，因球菌耐酸性較差。另 Zhou *et al.* (2016) 對青貯玉米表面菌相的研究發現，不同貯存溫度下的優勢乳酸菌種不一；Borreani *et al.* (2017) 表示不同含水率下表面菌相的優勢族群不同。

本試驗計有 6 種接種處理：3 組接種單一菌株分別為：處理 A (*L. acetotolerans* SOR-4)、處理 B (*L. buchneri* TNC-5) 及處理 C (*L. plantarum* L10531)，接種 2 種菌株者為處理 D (商業菌劑，*L. plantarum*、*L. casei*)，及接種 3 種菌株的處理 E (*L. plantarum*、*L. casei*、*L. acetotolerans* SOR-4) 及處理 F (*L. plantarum*、*L. casei*、*L. buchneri* TNC-5)。各處理在不同乾物率及材料下的表現不一致，整體而言，以處理 A、D、E 的表現較佳，而處理 B、C 及 F 的發酵結果較不理想。接種表現似與接種菌株本身表現能力的關係較高，而與菌種類別多寡關係較小。本試驗中所採用的菌株均為畜試所恆春分所自行篩選保存。其中 *L. plantarum*、*L. casei* 及 *L. buchneri* 是一般青貯菌劑常用的菌種 (Ohmomo *et al.*, 2002; Holzer *et al.*, 2003; Nishino and Touno, 2005)，*L. plantarum* 為同質乳酸發酵菌，添加目的在增加乳酸菌對好氧菌的養分競爭，促進乳酸發酵減少養分消耗；*L. buchneri* 為異質乳酸發酵菌，添加的目的在提高青貯料的乙酸含量，增加開封後穩定性，而 *L. acetotolerans* 則未見之用於已開發的青貯菌劑中。由本試驗結果，接種中加入 *L. buchneri*、TNC-5 的反應較不理想，不僅乳 / 乙酸比低，同時有增加丁酸含量的趨勢 (表 3)，推測可能在長期貯存下，接種異質發酵菌的乳酸產生量較低，無法抑制丁酸菌的活動。另處理 C (*L. plantarum* L10531) 與商業菌劑相較表現較差，可能與接種量較低及該菌株的個體特性有關，另商業菌劑中尚可能包含 *L. casei* 與 *L. plantarum* 的協作效果。*L. acetotolerans* 是一種耐乙酸、耐酒精能力極強的同質乳酸菌，常被視為啤酒或米酒的污染菌，一

般被認為不易培養 (Entan *et al.*, 1986; Piao *et al.*, 2019)，然而在多篇青貯相關研究中發現 *L. acetotolerans* 在青貯料的表面菌相中出現頻繁 (Li and Nishino, 2011; Muck, 2013; Han *et al.*, 2014; Ni *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019)，但研究者們尚未能提出其重要性或意義。Han *et al.* (2014) 及 Han *et al.* (2018) 表示 *L. acetotolerans* 出現於所有青貯完全混合日糧 (TMR) 及窖式玉米青貯採樣之中，同時餵飼的乳牛糞便中也有 *L. acetotolerans* 出現，顯示其可能具耐消化能力。

藉助進步的新儀器與分析方法，已能逐步釐清青貯發酵的參與微生物、發酵產物與材料及青貯條件差異下的各種反應變動 (Muck, 2013; Zhou, *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2019)，這些研究結果可以讓研究人員更加清楚青貯過程，雖然已知材料狀態、調製方法、菌種添加等與青貯反應彼此之間都有緊密的關聯，但仍不易準確預測結果，試驗結果為所有效應的綜合反應。

結 論

對燕麥及燕麥 / 苜蓿的長期保存效果而言，較佳的乾物率區間應介於 34 — 51% 間，接種同質乳酸發酵菌可以維持較佳的發酵狀態，另 *L. acetotolerans* SOR-4 具開發為青貯菌劑的應用潛力。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇、謝文彰、游翠鳳、劉信宏。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、陳嘉昇、游翠鳳、劉信宏。2010。豆科牧草與綠肥作物之氮產量與季節性變動畜產研究 43：339-350。
- 王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2012。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。2014。堆積、裝填密度與貯存時間對玉米青貯料發酵品質及開封後穩定性的影響。畜產研究 47：187-194。
- 王紓愍、游翠鳳、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。
- 王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2018。接種菌株對苜蓿半乾青貯適口性的影響。畜產研究 51：286-292。
- 朱明宏、王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2018。黑燕麥在不同收穫期之芻料產量、品質及青貯調製研究。畜產研究 51：16-23。
- 陳嘉昇、王紓愍、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*) 牧草與苜蓿 (*Medicago sativa*) 混植。畜產研究 44：37-50。
- 梁世祥、葉益男、王思涵、蕭振文、徐濟泰、吳榮杰。2018。臺灣冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地之經濟效益評估。畜產研究 51：217-223。
- 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。
- 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. 14th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem., Washington DC.
- Borreani, B., G., E. Tabacco, R. J. Schmidt, B. J. Holmes and R. E. Muck. 2017. Silage review: factors affecting dry matter and quality losses in silages. J. Dairy Sci. 101: 3952-3979.
- Entan, E., H. Masai and K. Suzuki. 1986. *Lactobacillus acetotolerans*, a new species from fermented vinegar broth. Int. J. Syst. Bacteriol. 36: 544-549.
- Han, H., Y. Ogata, Y. Yamamoto, S. Nagao and N. Nishino. 2014. Identification of lactic acid bacteria in the rumen and feces of dairy cows fed total mixed ration silage to assess the survival of silage bacteria in the gut. J. Dairy Sci. 97: 5754-5762.
- Han, H., C. Wang, Y. Li, Q. Xu, G. Li, T. T. Minh and N. Nishino. 2018. Identification of lactic acid bacteria in the feces of dairy cows fed whole crop maize silage to assess the survival of silage bacteria in the gut. Anim. Sci. J. 89: 97-104.
- Holzer, M., E. Mayrhuber, H. Danner and R. Braun. 2003. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. Trends in Biotech. 21: 282-287.

- 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.
- Li, Y. and N. Nishino. 2011. Monitoring the bacterial community of maize silage stored in a bunker silo inoculated with *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Appl. Microb.* 110: 1561-1570.
- Muck, R. E. 2013. Recent advances in silage microbiology. *Agri. Food Sci.* 22: 3-15.
- Ni, K., T. T. Minh, T. T. M. Tu, T. Tsuruta, H. Pang and N. Nishino. 2017. Comparative microbiota assessment of wilted Italian ryegrass, whole crop corn, and wilted alfalfa silage using denaturing gradient gel electrophoresis and next-generation sequence. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101: 1385-1394.
- Nishino, N. and Touno, E. 2005. Ensiling characteristics and aerobic stability of direct-cut and wilted grass silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *J. Sci. Food Agric.* 85: 1882-1888.
- Ohmomo, S., O. Tanaka, H. K. Kitamoto and Y. Cai. 2002. Silage and microbial performance, old story but new problems. *JARQ* 36: 59-71.
- Piao, M., Y. Wang, F. Wang, T. Zhen and Y. Deng. 2019. Induction of viable but putatively non-culturable *Lactobacillus acetolerans* by thermosonication and its characteristics. *LWT-Food Sci. Tech.* 109: 313-318.
- 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.
- SAS. 2002. SAS version 9.00. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Xu, D., W. Ding, W. Ke, F. Li, P. Zhang and Xusheng Guo. 2019. Modulation of metabolome and bacteria community in whole crop corn silage by inoculating homo-fermentative *Lactobacillus plantarum* and hetero-fermentative *Lactobacillus buchneri*. *Front. Microbiol.* 9: 1-14.
- Zhou, Y., P. Drouin and C. Lafreniere. 2016. Effect of temperature (5-25°C) on epiphytic lactic acid bacteria populations and fermentation of whole-plant corn silage. *J. Appl. Microbiol.* 121: 657-671.

Effect of dry matter content and inoculants on oat and oat/alfalfa mixture after long-term ensiling ⁽¹⁾

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

Received: Apr. 24, 2020; Accepted: Jul. 1, 2020

Abstract

The purpose of this study aims to investigate the effect of different inoculants on four-set materials ensiling, including oat with dry matter content 29.8% and 50.7%, and oat/alfalfa mixture with dry matter content 33.8% and 62.6%, respectively, for a period of 18 months. The inoculation includes the following 7 treatments: control (no inoculant), Treatment A (inoculated with *Lactobacillus acetotolerans* SOR-4, 4×10^6 cfu/kg), Treatment B (inoculated with *Lactobacillus buchneri* TNC-5, 2×10^8 cfu/kg), Treatment C (inoculated with *Lactobacillus plantarum* L10531, 2×10^6 cfu/kg), Treatment D (inoculated with commercial inoculant, *L. plantarum* and *Lactobacillus casei*, 2×10^8 cfu/kg), Treatment E (inoculated with commercial inoculant and *L. acetotolerans* SOR-4) and Treatment F (inoculated with commercial inoculant and *L. buchneri* TNC-5). The material was treated and sealed in a vacuum bag separately, with four replications per treatment. From the results of variance analysis, material, it showed that dry matter content and inoculation were important factors that affected silage fermentation. In addition, there were interaction effects among these factors. The overall performance (including pH, fermentation quality and Flieg's score) of oat/alfalfa with dry matter content 33.8% was the best among these four-set materials, followed by those of oat with dry matter content 50.7% and oat/alfalfa with dry matter content 62.6%. The overall performance of oat with dry matter content 29.8% showed the worst performance. In most conditions, the fermentation quality of inoculations was better than that of control. However, the treatments inoculated with *L. acetotolerans* SOR-4, commercial inoculant, and commercial inoculant with *L. acetotolerans* SOR-4 had better silage quality. On the contrary, the effect inoculated with *L. buchneri* TNC-5 was poor. The results of this study showed that oats and oats/alfalfa inoculated with homo-fermentative inoculant performed better during the long-period preservation. Further, *L. acetotolerans* SOR-4 had the potential for developing as the silage additive.

Key words: Oat, Alfalfa, Ensiling, Inoculation.

(1) Contribution No. 2643 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: ctchang@mail.tlri.gov.tw.