

# 盤固草與印度藍莖草植體 酚酸含量及其飼料品質<sup>(1)</sup>

謝文彰<sup>(2)</sup> 蔡文福<sup>(3)</sup>

收文日期：88年4月30日；接受日期：89年3月31日

## 摘要

本試驗的目的在探討盤固草 A254 (*Digitaria decumbens* Stents.) 與印度藍莖草 A70 (*Dichanthium annulatum* (Forsk.) Stapf) 兩種牧草的品質、酚酸種類、含量及對於山羊的飼料轉換率。盤固草比印度藍莖草含較低的中、酸洗纖維 (71.54 vs 78.18 及 43.20 vs 46.51 %) 與較高的粗蛋白質及試管乾物消化率 (12.28 vs 11.35 及 57.84 vs 56.74 %)；同時盤固草莖葉之酚酸含量較印度藍莖草為低 (266.1 及 312.5  $\mu\text{g/g}$ )，其飼料品質較佳。以盤固草乾草飼養山羊，有較佳的日增重與增重效率，分別為 16.5 g 及 24.6；印度藍莖草則僅為 14.0 g 及 26.8。

關鍵詞：盤固草、印度藍莖草、酚酸、飼料轉換率。

## 緒言

熱帶地區生長的牧草，營養品質較低，其原因除牧草之葉莖比例較小而維管束組織所佔比例較大外，亦可能由於纖維的組成不同，其中最為明顯的應是木質素及與其共價鍵結的一些酚酸物質的存在有關，特別是肉桂酸類 (cinnamic acid) 如 *p*-coumaric 與 ferulic acid。

木質素是影響牧草消化率的主要因子 (Lowry *et al.*, 1993)，而木質素是細胞壁的組分之一，佔細胞壁的 5 ~ 10%，通常與一些酚酸物質形成共價鍵結 (Jung, 1989)；因此，牧草品質如果受到細胞壁中組成分的影響，那麼酚酸物質很可能是影響牧草品質的一個重要因素 (Jung, 1985)。許多研究報告指出，酚酸廣泛的存在維管束植物中，特別是肉桂酸類 (cinnamic acid)，如 *p*-coumaric、ferulic 與 sinapic acid 等，這些酚酸物質通常與木質素或半纖維素，形成酯鍵結 (ester linkage)，而成為 *p*-coumaryl、coniferyl 與 sinapyl 之醇類相關化合物，這些物質如果再與糖類結合，就衍生成典型的次階化合物或醯化成 terpenoid (類萜)、flavonoid (類黃素) 與 anthocyanin (花青素) (Cherney *et al.*, 1989; Harthey, 1972; Hartley and Jones, 1978)。

(1)行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1000 號。

(2)行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所。

(3)台灣大學農藝學系。

熱帶禾本科牧草最主要的兩種酚酸物質為 *p*-coumaric 與 ferulic acid (Hartley and Ford, 1989)。Lowry *et al.*(1993) 研究報告指出，熱帶與溫帶禾本科牧草，其最大不同在於前者的莖部植體中，*p*-coumaric acid 的含量大於 ferulic acid 的含量，而有關這些酚酸物質對於牧草品質的研究，最近引起學者極大的興趣。

許多的研究報告指出，中、酸洗纖維 (NDF、ADF)、木質素 (lignin) 與試管乾物質消化率 (IVDMD)，彼此之間有密切的相關；一般牧草的中、酸洗纖維含量高者，其木質素的含量亦高 (Cherney *et al.*, 1991; Keith *et al.*, 1979)；中、酸洗纖維及木質素含量與試管乾物質消化率呈負相關 (Kuc *et al.*, 1968; Cherney *et al.*, 1988; Buxton and Russell, 1988)。上述兩種酚酸物質對於牧草的試管乾物質消化率與纖維素的試管分解率，具有抑制的作用，而且隨著含量的增加，其抑制作用愈大 (Burritt *et al.*, 1984; Cherney *et al.*, 1986)。更有學者認為，牧草中 *p*-coumaric 與 ferulic acid 的比愈大，其試管乾物消化率或細胞壁組成分的分解速率下降愈快 (Akin *et al.*, 1986a, b; Burritt *et al.*, 1984)。牧草中所含的酚酸物質，對於動物瘤胃中細菌及微生物的活性，有很大的抑制作用 (Akin, 1982; Akin and Rigsby, 1985; Akin *et al.*, 1988)，進而影響牧草的適口性、採食量、乾物消化率、動物增重及乳量等 (Frenchick *et al.*, 1976; Keith *et al.*, 1979)。

本試驗的目的，在探討恆春地區優勢生長的熱帶禾本科牧草盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 (謝及蔡，1998)，兩種牧草的品質、酚酸種類及含量與試管乾物質消化率，再以此兩種牧草飼養羊隻，進一步探討植體中所含的酚酸物質對於羊隻增重的影響，作為畜牧生產的參考。

## 材料與方法

### I. 材料

以本分所收穫之盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 (生長期為 55 天)，切碎成約 3 公分之長度餵飼羊隻，羊隻為努比亞與本地山羊雜交之 F1，平均體重 35 kg。

### II. 試驗方法：

- (i) 方法：試驗羊 6 隻，分成二組，每組 3 隻，試驗採完全隨機設計 (CRD)。於 1993.9.20 開始飼養試驗，一組餵飼盤固草 A254，一組餵飼印度藍莖草 A70，試驗先以供飼之牧草餵飼四週，待羊隻適應後，再開始各項收集與調查分析工作；飼養試驗期為六週。
- (ii) 測定與分析項目：
  - (1) 羊隻每日採食量及日增重。
  - (2) 收集之牧草，經 80°C 烘乾 24 小時，樣品置一段時間俟恢復室溫後，測定其含水量，磨細後分析其灰分、粗蛋白質、中洗及酸洗纖維含量。粗蛋白質分析採用 Kjeldahl 法測定；中、酸洗纖維分析採用 Goering and van Soest 法測定。粗蛋白質及灰分的分析依省畜產試驗所飼料分析技術手冊 (行政院農委會畜產試驗所，1987) 測定。
  - (3) 牧草分析其苯酸與肉桂酸之含量，其萃取與分析的方法與謝及蔡 (1998) 所述方法相同，分析樣品的重複次數二次。
  - (4) 牧草之試管乾物質消化率的分析方法，依 Tilley and Terry 方法 (1963) 測定。

## 結 果

### I. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 的酚酸含量

以盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 做為羊隻飼糧的牧草，其苯酸與肉桂酸的含量列於表 1，兩種牧草的鍵結性酚酸含量大於可溶性者，且均以 *p*-counaric acid 的含量最高，ferulic acid 的含量次之，印度藍莖草 A70 之酚酸含量高於盤固草，前者之可溶性酚酸含量為  $72.41 \mu\text{g/gDM}$ ，鍵結性酚酸含量為  $312.54 \mu\text{g/gDM}$ 。後者之可溶性酚酸含量為  $56.98 \mu\text{g/gDM}$ ，鍵結性酚酸含量為  $266.08 \mu\text{g/gDM}$ 。

表 1. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 牧草植體酚酸的含量

Table 1. The content of phenolic acid in pangolagrass and delhigrass

Phenolic acid	Delhigrass		Pangolagrass	
	A**	A+E	A	A+E
$\mu\text{g/g. DM}$				
PRA*	1.03 ± 0.18	2.81 ± 0.48	0.62 ± 0.10	1.30 ± 0.25
<i>p</i> -HBA	12.90 ± 2.02	25.10 ± 4.60	15.10 ± 1.81	22.60 ± 4.54
VA	7.63 ± 1.02	26.20 ± 6.02	0.79 ± 0.24	1.07 ± 0.15
<i>m</i> -HBA	0.42 ± 0.12	2.00 ± 0.40	0.54 ± 0.14	1.50 ± 0.26
RA	2.92 ± 0.60	4.30 ± 0.64	0.17 ± 0.04	4.41 ± 0.61
<i>p</i> -CA	30.50 ± 3.57	166.30 ± 16.2	21.70 ± 3.80	125.00 ± 11.40
FA	12.00 ± 2.16	77.80 ± 9.02	5.36 ± 0.86	89.00 ± 9.45
<i>o</i> -HBA	5.01 ± 1.04	8.03 ± 1.66	12.70 ± 3.04	21.20 ± 3.02
Total	72.41	312.54	56.98	266.08

\* PRA: protocatechuic acid; *p*-HBA: *p*-hydroxybenzoic acid; VA: vanillic acid; *m*-HBA: *m*-hydroxybenzoic acid; RA: resocyclic acid; *p*-CA: *p*-coumaric acid; FA: ferulic acid; *o*-HBA: *o*-hydroxybenzoic acid.

\*\*: A: unhydrolyzed by 1N NaOH; A+E: hydrolyzed by 1N NaOH.

### II. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 的營養品質

牧草的營養成分由表 2 得知，盤固草 A254 之粗蛋白質含量的數值高於印度藍莖 A70 草，但兩者並無顯著差異 ( $p > 0.05$ )。而中、酸洗纖維與灰分含量，盤固草均顯著低於印度藍莖草 ( $P < 0.05$ )，顯示盤固草 A254 的品質優於印度藍莖草 A70。

兩種牧草的試管乾物質消化率 (IVDMD) 亦以盤固草 A254 較印度藍莖草 A70 者為高，前者之 IVDMD 為 57.84%，後者為 56.74%：牧草不同部位與整株牧草的 IVDMD 以葉部最高，整株者次之，莖部最低，其不同部位間有明顯的差異 ( $P < 0.05$ )，兩種牧草均有相同的趨勢（表 3）。

### III. 牧草植體酚酸、中洗及酸洗纖維含量與試管乾物消化率之間的相關性

表 2. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 植體主要營養成分

Table 2. The main nutrients content in pangolagrass A254 and delhigrass A70 ( DM basis )

Grass species	CP	NDF	ADF
Pangolagrass	12.28±1.20 <sup>a</sup>	71.54±2.36 <sup>b*</sup>	43.20±1.54 <sup>b</sup>
Delhigrass	11.35±1.51 <sup>a</sup>	78.18±3.10 <sup>a</sup>	46.51±1.27 <sup>a</sup>

\*<sup>a,b</sup> means in the same column with different superscripts differ significantly ( P<0.05 ).

CP: crude protein ; NDF: neutral detergent fiber.

ADF: acid detergent fiber.

表 3. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 不同部位之試管乾物質消化率

Table 3. The in vitro dry matter digestibility (IVDMD) of pangolagrass A254 and delhigrass A70 of different plant tissues (DM basis)

grass species	Plant tissue	IVDMD	%
Pangolagrass	Stem	48.48 ± 2.64 <sup>c*</sup>	
	Leaf	62.56 ± 1.96 <sup>a</sup>	
	Whole plant	57.84 ± 1.75 <sup>b</sup>	
Delhigrass	Stem	50.05 ± 2.04 <sup>c</sup>	
	Leaf	60.86 ± 2.50 <sup>a</sup>	
	Whole plant	56.74 ± 1.17 <sup>b</sup>	

\*<sup>a,b</sup> means in the same column with different superscripts differ significantly ( P<0.05 ).

表 4. 盤固草與印度藍莖草植體酚酸、中洗、酸洗纖維含量與試管乾物質消化率之間的相關性

Table 4. The correlation( r<sup>2</sup> ) of phenolic acids, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber ( ADF ) and in vitro dry matter digestibility( IVDMD ) in pangolagrass and delhigrass

	Phenolic acid		<i>p</i> -Coumaric acid		IVDMD	
	Pan	Del	Pan	Del	Pan	Del
NDF	0.94**	0.84**	0.94**	0.90**	-0.72*	-0.64*
ADF	0.94**	0.90**	0.94**	0.92**	-0.96**	-0.88**
IVDMD	-0.88**	-0.81**	-0.86**	-0.81**		

Pan: pangolagrass; Del: delhigrass.

\*\* Significant at 1% level; \* Significant at 5% level.

由表 4 可以看出，盤固草與印度藍莖草植體中酚酸含量與中洗、酸洗纖維含量之間呈極顯著 ( $P < 0.01$ ) 的正相關，其  $r^2$  值達 0.84 以上；而在所有的酚酸種類中 *p*-coumaric acid 含量與中洗、酸洗纖維含量的相關性亦呈極顯著的正相關，亦即中洗、酸洗纖維含量愈高，酚酸與 *p*-coumaric acid 含量亦相對提高。另比較上述牧草植體中各項成分含量與試管乾物消化率之間的相關性，則呈顯著的負相關，其  $r^2$  值達 -0.64 以上，顯示酚酸與中洗、酸洗纖維含量愈高，試管乾物消化率愈低（表 4）。比較中洗、酸洗纖維含量與試管乾物消化率之間的相關大小，酸洗纖維與試管乾物消化率有較大的負相關，其  $r^2$  值達 -0.88 以上。

#### IV. 盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 飼飼山羊的日增重與飼料轉換率

表 5 顯示，以盤固草 A254 及印度藍莖草 A70 飼養山羊，其每日的乾物採食量、日增重與飼料轉換率，均有明顯的差異 ( $P < 0.05$ )；採食盤固草 A254 為 406 g，印度藍莖草 A70 為

表 5. 羊隻對盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 的採食量日增重與飼料轉換率

Table 5. Effects of pangolagrass A254 and delhigrass A70 on feed intake weight gain and feed conversion efficiency of goat

Grass species	Initial weight	Last weight	DM intake	Daily BW gain	Feed conversion efficiency
	kg	kg	g/day	g	kg intake / g gain
Pangolagrass	35.2	36.4	406 ± 12 <sup>a</sup>	16.5 ± 0.9 <sup>a</sup>	24.6 ± 0.8 <sup>b</sup>
Delhigrass	34.8	35.8	375 ± 14 <sup>b</sup>	14.0 ± 1.2 <sup>b</sup>	26.8 ± 1.0 <sup>a</sup>

BW gain : body weight gain.

\*a, b means in the same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

375g；每日增重以餵飼盤固草 A254 者較重，為 16.5 g；印度藍莖草 A70 者為 14.0 g；飼料轉換率亦以採食盤固草 A254 者較佳為 24.6，即每採食 24.6 kg 的牧草可以生產 1 kg 的增重，而採食印度藍莖草 A70 者的飼料轉換率為 26.8。

#### 討 論

盤固草 A254 與印度藍莖草 A70 均屬熱帶性的禾本科牧草，而由本試驗的分析結果顯示，兩種牧草均含有八種不同的酚酸物質，並可分成苯酸與肉桂酸兩類，其中以 *p*-coumaric acid 的含量最多，ferulic acid 次之，這兩種酚酸均屬肉桂酸 (cinnamic acid) 類；兩種牧草的總酚酸含量（包括可溶性與鍵結性的酚酸），均以印度藍莖草 A70 較多。此與 Hartley and Ford (1989) 所提出的報告相同，即熱帶禾科牧草植體中最主要的兩種酚酸物質為 *p*-coumaric 與 ferulic acid。Lowry *et al.* (1993) 更進一步指出，熱帶與溫帶禾科牧草，其最大的不同處在於前者的莖部中，*p*-coumaric acid 的含量大於 ferulic acid 的含量。

由本試驗的結果得知，盤固草的中、酸洗纖維含量較印度藍莖草為低，試管的乾物消化率 (IVDMD) 較高，而且餵飼盤固草的羊隻增重較快，增重效率較佳，顯示盤固草的品質較優，另

在羊隻的糞便中所分析出的粗蛋白質與中、酸洗纖維含量，以餵飼盤固草者較高，計算兩種牧草上述成份的表面消化率亦以盤固草較高；綜合上述的結果顯示：另由牧草酚酸與中、酸洗纖維含量的結果，可以了解牧草的酚酸含量愈高，中、酸洗纖維含量亦愈高，顯示兩者之間呈現正相關，同時可歸納出，*p*-coumaric 及 ferulic acid 與中、酸洗纖維含量，兩者亦成正相關。比較兩種牧草 IVMDM 與酚酸含量可以獲知，兩者之間成負相關。綜合牧草的酚酸、中洗及酸洗纖維含量與試管乾物消化率，顯示酚酸與中、酸洗纖維成正相關，而與試管乾物消化率呈負相關。另對於羊隻的日增重與增重效率而言，由於盤固草的中、酸洗纖維與酚酸含量較低，試管乾物消化率與中洗、酸洗纖維的表面消化率較高，而表現出較高的羊隻日增重與增重效率。

許多研究報告曾提出三者之間的關係，如牧草的中、酸洗纖維含量與試管乾物消化率，彼此之間有密切的關係 (Keieh *et al.* 1979)，而 Akin *et al.* (1986) 與 Cherney *et al.* (1988, 1991) 進一步指出，中酸洗纖維含量與試管乾物消化率成負相關；而中、酸洗纖維與 *p*-coumaric 及 ferulic acid 成正相關 (Cherney *et al.* 1988, 1991; Buxton and Russel, 1988; Hartley and Edwins, 1978) 這兩種酚酸物質對牧草的試管乾物消化率具有抑制的作用 (Jung, 1985; Jung *et al.*, 1994; Cherney *et al.*, 1991); Keith *et al.* (1979), Akin *et al.* (1986) 與 Burritt *et al.* (1984) 報告中指出，牧草中 *p*-coumaric 與 ferulic acid 含量的比值愈大，其試管乾物消化率愈低；由於牧草所含的酚酸物質，對於動物瘤胃中的細菌及微生物的活性，具有抑制作用 (Akin, 1982; Jung, 1985; McDermid *et al.*, 1990) 進而影響牧草的採食量、乾物消化率與動物增重 (Cherney *et al.*, 1990b)。

## 參考文獻

- 行政院農委會畜產試驗所。1987。飼料化驗分析技術手冊。p. 25。pp. 26-32。
- 謝文彰、蔡文福。1998。不同季節及生育日數對盤固草及印度藍莖草植體酚酸含量之影響。畜產研究 31(2):153-163。
- Akin, D. E., L. L. Rigsby, M. K. Theodorou, and R. D. Hartley. 1988. Population changes of fibrolytic rumen bacteria in the presence of phenolic acids and plant extracts. Animal Feed Sci. and Technology 19 : 261-275.
- Akin, D. E., W. W. Hanna and L. L. Rigsby. 1986a. Normal-12 and Brown Midrib-12 Sorghum. I . Variation in tissue Digestibility. Agron. J. 78 : 827-832.
- Akin, D. E., W. W. Hanna, M. E. Snook, S. S. Himmelsbach, F. E. Barton and W. R. Windham. 1986b. Normal-12 and Brown Midrib-12 sorghum. II . Chemical variation and digestibility. Agron. J. 78 : 832-837.
- Akin, D. E. and L. L. Rigsby. 1985. Influence of phenolic acids on rumen fungi. Agron. J. 77 : 180-182.
- Akin, D. E. 1982. Forage cell wall degradation and *p*-coumaric, ferulic and sinapic acids. Agron. J. 74 : 424-428.
- Burritt, E. A., A. S. Bittner, J. C. Street, and M. J. Anderson. 1984. Correlations of phenolic acids and xylose content of cell wall with in vitro dry matter digestibility of three maturing grasses. J. Dairy Sci. 67 : 1209-1213.
- Buxton, D. R. and J. R. Russell. 1988. Lignin constituents and cell-wall digestibility of grass and legume stems. Crop Sci. 28 : 553-558.

- Cherney, D. J. R., J. A. Patterson, J. H. Cherney and J. D. Axtell. 1991. Fibre and soluble Phenolic monomer composition of morphological components of sorghum stover. *J. Sci. Food Agri.* 54 : 645-649.
- Cherney, J. H., D. J. R. Cherney, D. E. Akin and J. D. Axtell. 1991. Potential of brown-midrib, low-lignin mutants for improving forage quality. *Adv. Agron.* 46, 157-198.
- Cherney, J. H., K. S. Anliker, K. A. Albrecht and K. V. Wood. 1989. Soluble phenolic monomers in forage crops. *J. Agri. food Chem.* 37 : 345-350.
- Cherney, J. H., J. D. Axtell, M. M. Hassen and K. S. Anliker. 1988. Forage quality characterization of a chemically induced brown midrib mutant in pearl millet. *Crop Sci.* 28 : 783-787.
- Cherney, J. H., K. J. Moore, J. J. Volence and J. D. Axtell. 1986. Rate and extent of digestion of cell components of brown-midrib sorghum species. *Crop Sci.* 26 : 1055-1059.
- Frenchick, G. E., D. G. Johnson, J. M. Murphy and D. E. Otterby. 1976. Brown midrib corn silage in dairy cattle rations. *J. Dairy Sci.* 59 : 2126-2129.
- Goering, H. J. and P. J. van Soest. 1970. Forage Fiber Analysis. USDA ARS. Agric. Handbook. No. 379.
- Hartley, R. D., and C. W. Ford. 1989. Phenolic constituents of plant cell walls and wall biodegradability. In 'Plant Cell Wall Polymers'. (Eds N. G. Lewis and M. G. Paice.) pp. 137-145 (American Chemical Society: Washington, D. C.)
- Hartley, R. D. and E. C. Jones. 1978. Phenolic components and digestibility of the cell walls of the Brown-midrlb mutant, bm3, of Zea mays. *J. Sci. Food Agri.* 29 : 777-782.
- Hartley, R. D., and E. C. Jones. 1977. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume species. *Phytochem.* 16 : 1531-1534.
- Hartley, R. D. 1972. *P*-coumaric and ferulic acid components of cell walls of ryegrass and their relationships with lignin and digestibility. *J. Sci. Food Agric.* 23 : 1347-1354.
- Jung, H. G. 1985. Inhibition of structural carbohydrate fermentation by forage phenolics. *J. Sci. Food Agri.* 36 : 74-80.
- Jung, H. G. 1989. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.* 81 : 33-38.
- Keith, E. A., V. F. Colenbrander, V. L. Lechtenberg and L. F. Bauman. 1979. Nutritional value of brown midrib corn silage for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62 : 788-792.
- Kuc, J., O. E. Nelson and P. Flanagan. 1968. Degradation of abnormal lignins in the brown midrib mutant of maize. *Phytochem.* 7 : 1435-1436.
- Lowry, J. B., E. A. Sumpter, C. S. McSweeney, A. C. Schlink and B. Bowden. 1993. Phenolic acids in the fibre of some tropical grasses, effect on feed quality, and their metabolism by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 44 : 1123-1133.
- McDermid, K. P., C. R. McKenzie, and C. W. Forsberg, 1990. Esterase activities of *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes* S85. *Appl. Enviro. Microbiol.* 56 : 127-132.
- Tilley, J. M. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grassland Sci.* 18 : 104-111.

# Phenolic Acids of Pangolagrass and Delhigrass and its Quality<sup>(1)</sup>

Wein-Chang Hsieh<sup>(2)</sup> and Wen-Fu Tsai<sup>(3)</sup>

Received Apr. 30, 1999; Accepted Mar. 31, 2000

## Abstract

The objectives of this study were to determine the quality, content of phenolic acids and to measure their feed efficiency of pangolagrass A254 (*Digitatia decumbens* Stents.) and delhigrass A70 (*Dichanthium annulatum* (Forsk.) Stapf) hay when fed to goat. Pangolagrass had the lower NDF and ADF content (71.54 vs 78.18 and 43.20 vs 46.51 %) but numerically higher crude protein and *in vitro* dry matter digestibility than delhigrass (12.28 vs 11.35 and 57.84 vs 56.74 %). The total phenolic acid content of pangolagrass was also lower than delhigrass (266.1 and 312.5  $\mu\text{g/g}$ ). With the better forage quality, pangolagrass A254 had the higher daily body weight gain and feed efficiency than delhigrass A70. The daily weight gain of goats fed pangolagrass and delhigrass were 16.5 and 14.0 g, respectively. The feed conversion efficiency of pangolagrass and delhigrass were 24.6 and 26.8, respectively.

Key words: Pangolagrass, Delhigrass, Phenolic acid, Feed conversion efficiency.

(1) Contribution No. 1000 from Taiwan Livestock Research Institute, Council of Agriculture.

(2) Heng chun Branch Institute, COA-TLRI, Ping-Tung, Taiwan, R.O.C.

(3) Agronomy Department, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.