

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

纖維分解酵素於青貯製作應用方法之改善

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2313-B-002-143-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：國立臺灣大學畜產學系暨研究所

計畫主持人：徐濟泰

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 11 月 2 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  
 期中進度報告

## 纖維分解酵素於青貯製作應用方法之改善

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 92-2313-B-002-143-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

計畫主持人：徐濟泰

共同主持人：陳嘉昇

計畫參與人員：王紓愍、林家民、陳宜鴻、黃培好、任蔚平、孫鵬乘、  
楊子萱

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

執行單位：國立台灣大學畜產學系

中華民國 93 年 10 月 30 日

## 摘要

本試驗採用兩種不同成熟度狼尾草與玉米，分別進行(1)對照組不添加任何物質；(2)添加乳酸菌(*Lactobacillus plantarium*)；(3)同時添加乳酸菌以及纖維素與半纖維素分解酵素；(4)同時添加乳酸菌、纖維素與半纖維素分解酵素以及 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 與 feruloyl esterase 之青貯製作試驗。處理組 2 乳酸菌的添加與對照組相比較，可以確保顯著較低的青貯 pH 值與顯著較高的青貯評分，以及顯著較高的乾物質試管消化率。使用纖維分解酵素的處理組 3 與 4，顯著降低乾物質試管消化率。對兩種成熟度玉米之青貯，處理組 2 乳酸菌或纖維分解酵素的使用與對照組相比較，沒有改善任何青貯的品質。泌乳羊飼養試驗顯示較老熟狼尾草四種處理之青貯，所得乾物質採食量(1837, 1743, 1817, 1834 g/day)、4%乳脂修正乳量(1826, 1804, 1549, 1724 g/day)與中洗纖維表面消化率(77, 79, 76, 77%)並無顯著之差異。較幼嫩狼尾草的青貯亦是有相同結果。較老熟玉米四種處理之青貯泌乳羊飼養試驗，所得乾物質採食量(1142, 1039, 1096, 1103 g/day)、4%乳脂修正乳量(1744, 1501, 1665, 1706 g/day)與中洗纖維表面消化率(56, 56, 51, 41%)並無顯著之差異。較幼嫩玉米的青貯，所得乾物質採食量(1175, 1294, 1187, 1328 g/day)與 4%乳脂修正乳量(1665, 1340, 1811, 1779 g/day)亦無顯著的處理組間之差異。整體而言，乳酸菌的添加可以改善狼尾草青貯的品質，但是無助益於玉米青貯。本試驗所採用纖維分解酵素的添加，並無法進一步改善青貯的纖維消化率。

關鍵語：纖維分解酵素、狼尾草青貯、玉米青貯。

## Abstract

The present study used Napier grass and corn of two maturities to test the silage making by (1)control without additive, (2)added with *Lactobacillus planetarium*, (3)added with *Lactobacillus planetarium* in combination with cellulose and xylanase, (4)same as treatment 3 with addition of  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase and feruloyl esterase. Compared to the control, treatment 2 resulted in significantly lower silage pH and higher silage score along with higher in vitro dry matter digestibility (IVDMD). Usage of fibrolytic enzymes in treatments 3 and 4 resulted in significantly lower IVDMD than treatment 2. For corn silage making, usage of lactic acid bacterial inoculant or fibrolytic enzymes did not resulted in better silage quality than the control. Dairy goat lactation studies showed no difference of DM intake (1837, 1743, 1817, 1834 g/day), 4%FCM (1826, 1804, 1549, 1724 g/day) or apparent NDF digestibility(77, 79, 76, 77%) among treatment groups for matured Napier grass silages. Dairy goats fed less matured Napier grass silages had similar response as those fed matured Napier grass silages. For the matured corn silage, dairy goat lactation study showed no significant difference of DM intake (1142, 1039, 1096, 1103 g/day), 4%FCM (1744, 1501, 1665, 1706 g/day) and apparent NDF digestibility

(56, 56, 51, 41%). For less matured corn silage, lactation study showed no significant difference of DM intake (1175, 1294, 1187, 1328 g/day) and 4%FCM (1665, 1340, 1811, 1779 g/day). In conclusion, lactic acid bacterial inoculant could improve the silage quality of Napier grass, but had no benefit toward corn silage quality. Application of fibrolytic enzymes in addition to lactic acid bacterial inoculant could not further improve fiber digestibility for both Napier grass and corn silages.

Key Words: Fibrolytic enzymes, Napier grass silage, Corn silage.

## 前言

商業纖維分解酵素於反芻動物營養應用，大致可分為飼糧添加與青貯製作兩種。青貯製作添加纖維分解酵素的應用，過去著重於提高可溶性碳水化合物含量以改善乳酸產生的效果。爾後更進一步，期望纖維分解酵素能於青貯製作過程先行適度分解芻料纖維，使反芻動物能有更好的飼糧纖維消化率，以促成更好增重或產乳表現。

### 一、使用商業纖維分解酵素於青貯製作之效果

由 Harrison *et al.* (1994)所彙整過去文獻資料顯示，有部分試驗確實呈現出提高泌乳牛產乳(平均增加 2.8%)或者閹公牛增重(平均增加 0.16 kg/day)的效果。但是，並非每一次試驗都有正面的改善效果。其他未被 Harrison *et al.* (1994)彙整的研究報告，以及後續近年來的研究報告亦有類似的情形。例如 Weinberg *et al.* (1993)，使用混合纖維分解酵素於豆子青貯(pea silage)與裸麥草青貯(ryegrass silage)，顯著降低兩種青貯中洗纖維(豆子青貯 32.2 vs. 36.5%; 裸麥草青貯 31.2 vs. 38.3%)與酸洗纖維(豆子青貯 29.6 vs. 32.7%; 裸麥草青貯 20.5 vs. 25.7%)含量，但是兩種青貯的瘤胃乾物質消化率均無改變。Sheperd and Kung, Jr. (1996)使用源自 *Trichoderma reesei* 的纖維分解酵素，添加於不同成熟度的玉米製作青貯，其青貯中洗纖維與酸洗纖維含量，隨纖維分解酵素添加劑量提高呈線性的減少，但是中洗纖維的試管消化率卻沒有一致性的變化。Zhu *et al.* (1999)使用 *Acremonium* 與 *Trichoderma* 纖維素分解酵素，以 1:2 比例混合 (最終酵素活性為 avicelase 638 $\mu$ mol sugar released/g/min; CMCase 9260 $\mu$ mol sugar released/g/min; xylanase 2630 $\mu$ mol sugar released/g/min) 製作義大利裸麥草青貯與苜蓿青貯，只有顯著降低義大利裸麥草青貯中洗纖維含量，義大利裸麥草青貯酸洗纖維含量則無顯著變化，而苜蓿青貯的中洗纖維與酸洗纖維含量均無顯著變化。但是纖維分解酵素的添加，均有顯著降低兩種青貯的 pH。兩種青貯的瘤胃乾物質消化率，則沒有受纖維分解酵素添加所影響。Nadeau *et al.* (2000)使用 *Trichoderma longibrachiatum* 纖維素分解酵素，製作果園草(orchardgrass)與苜蓿兩種青貯。纖維素分解酵素顯著降低兩種青貯的中洗纖維與酸洗纖維含量，但是不影響兩種青貯的試管乾物質消化率。Rodrigues *et al.* (2001) 使用 *Trichoderma viridae* 纖維素分解酵素，製作多年生裸麥草青貯。纖維素分解酵素顯著降低多年生裸麥草青貯的中洗纖維與酸

洗纖維含量，但是不影響其乾物質的試管消化率。以上大多數報告顯示，纖維素分解酵素可以改善青貯品質，但是不一定顯著降低青貯的中洗纖維與酸洗纖維含量，而且不影響青貯的消化率。

另外有少數文獻報告顯示，纖維素分解酵素有影響青貯的消化率的情形。Zhu *et al.* (2000)再使用以 1:2 比例混合的 *Acremonium* 與 *Trichoderma* 纖維素分解酵素，製作羅德草(Rhodegrass)與幾內亞草(Guineagrass)青貯，纖維素分解酵素處理顯著降低兩種青貯的中洗纖維與酸洗纖維含量，並且顯著降低兩種青貯的 pH。纖維素分解酵素處理顯著降低幾內亞草青貯 72 小時中洗纖維試管消化率，但對幾內亞草青貯 48 小時中洗纖維試管消化率只有降低的趨勢。而羅德草青貯 48 與 72 小時中洗纖維試管消化率，均只有降低之趨勢。Matsuoka *et al.* (1997)使用 *Lactobacillus casei* 與 *Trichoderma* 纖維素分解酵素，製作初有花序生長階段的果園草(orchardgrass)與梯牧草(timothy)之青貯，顯著提高兩種青貯的纖維素與半纖維素試管消化率。但是，同樣的處理只有提高開花初期苜蓿青貯的半纖維素試管消化率之趨勢。同樣是苜蓿青貯的纖維素分解酵素處理試驗，Nonn *et al.* (1995)發現當苜蓿草在比較幼嫩時期收割，纖維素分解酵素處理顯著提高青貯的有機物質消化率，但是苜蓿草在開花初期收割，纖維素分解酵素處理則不能顯著提高青貯的有機物質消化率。

## 二、影響纖維分解酵素作用之因素

前述青貯製作使用商業纖維分解酵素的文獻，顯示商業纖維分解酵素的使用不一定每次都能增加青貯製作過程中洗纖維與酸洗纖維含量的減少。同一種商業纖維分解酵素，也不一定對每一種芻料都會有改善消化率的效果。同一種芻料在不同試驗，對纖維分解酵素也有不同的反應。顯然有一些因素，造成商業纖維分解酵素在使用時會有不一致的結果發生。

### (一)不同微生物纖維分解酵素的纖維分解能力差異

Beauchemin *et al.* (2003)也指出他們嘗試比較 26 種商業纖維分解酵素分別對苜蓿乾草與玉米青貯的乾物質試管消化率，結果顯示改善苜蓿乾草乾物質試管消化率最強的十種商業纖維分解酵素，與改善玉米青貯乾物質試管消化率最強的十種商業纖維分解酵素之間只有三種商業纖維分解酵素同時出現再兩組的前十名排行內，但是此三種商業纖維分解酵素排名的前後順序與改善程度卻又有所差異。顯然不同來源的商業纖維分解酵素對同一種牧草的分解效果不同，而且不同種類牧草，也會需要不同的纖維分解酵素組合，才能確保有充分的分解作用產生。

### (二)不同芻料的細胞壁組成差異

不同生長階段的芻料，會有不同的細胞壁構造。另外，禾本科植物的半纖維素與木質素之間有脂鍵與乙醚鍵等鍵結，不同於豆科植物(Bidlack *et al.*, 1992)。半纖維素與木質素之間的化學鍵結，也是限制細胞壁分解程度的重要因素(Jung *et al.*, 1996)。Jung *et al.*(2000)分析試驗結果即發現，半纖維素的支鏈 arabinose 消化率與木質素的 ferulate ether 含量有負相關之關係。Grabber *et al.* (1997)也發現含有 feruloyl esterase 活性的商業纖維分解酵素混合物，比不含此種活性的商業

纖維分解酵素混合物，對半纖維素的分解能力高出一倍。Bhat and Hazlewood (2001)指出，要先由  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase、acetyl esterase、phenyl esterase、 $\alpha$ -D-glucosidase 去除支鏈之後，才能使半纖維素(arabinoxylans)充分被分解。Beauchemin *et al.* (2003)綜合整理酵素處理苜蓿乾草與玉米青貯的文獻資料，指出酵素產品的 xylanase 活性與苜蓿乾草試管消化率呈現正相關之關係，但是 xylanase 活性與玉米青貯試管消化率卻是負相關，顯然酵素產品中的 xylanase 無法有效作用於玉米青貯，或者是 xylanase 之外的其他纖維分解酵素才是影響玉米青貯試管消化率的主要決定因子。

台灣常用的青貯的芻料來源為玉米與狼尾草，兩者都是禾本科的植物，其半纖維素都含有與木質素之間的 feruloyl ester 化學鍵結，所採用的商業纖維分解酵素應該要要求含有 feruloyl esterase 活性的酵素製劑。但是，有些商業纖維分解酵素不含 feruloyl esterase 的活性，*Trichoderma reesei* (新命名為 *T. longibrachiatum*)，就不具有 feruloyl esterase 的活性(Tenkanen, 1998)。但是 *Aspergillus niger* (Bonnin *et al.*, 2001; de Vries and Visser, 1999)以及 *A. oryzae* (Tenkanen, 1998)，則均含有 feruloyl esterase 的活性。另外，嗜熱厭氧菌 *Clostridium stercorarium* (Donaghy *et al.*, 2000)與真菌 *Pycnoporus cinnabarinus* (Bonnin *et al.*, 2001)，都含有 feruloyl esterase 的活性。因此，考量到不同種類的牧草與不同成長階段牧草的細胞壁構造差異，商業纖維分解酵素是否含有所需的特定支鏈分解酵素，都是事先必要的考量與選擇重點。

### (三)纖維分解酵素之間的協同作用

以小麥麵粉中不溶於水的聚五碳糖為測試對象，de Vries *et al.* (2000)研究顯示 *Aspergillus* 的 xylanase A、xylanase D 以及支鏈分解酵素搭配 xylanase 所能夠釋放的 xylose 比例分別為 4.4、12.6 與 98.7%，顯示有支鏈分解酵素協助，xylanase 活性表現可以提升為 22 倍( $98.7\%/4.4\%=22.4$ )或將近 8 倍( $98.7\%/12.6\%=7.8$ )。協同作用也可以產生於瘤胃纖維分解酵素與外源纖維分解酵素之間，Morgavi *et al.* (2000)的試驗即顯現 *Trichoderma longibrachiatum* 的纖維分解酵素與瘤胃纖維分解酵素共同作用，可提高玉米青貯的消化率達 40%。Lee *et al.* (2000)以韓國本土黑山羊瘤胃分離出來的真菌 *Orpinomyces* strain KNGF-2 當為飼糧添加製劑，也可以提高綿羊的瘤胃中洗纖維與酸洗纖維消化率。Wallace *et al.* (2001)比較由 *Trichoderma longibrachiatum* 製成的纖維分解酵素商品與 *Trichoderma reesei* 製品，在採用同一 azo-CMCase 活性劑量條件下，進行發酵氣體產生速率之比較，結果後者有顯著較高的氣體產生速率，顯然是纖維素分解酵素以外的其他酵素發生了不同的作用而導致此一差異。

### (四)纖維分解酵素最適作用 pH 值與溫度

由 Hino *et al.* (2000)肉牛飼養試驗顯示，採用最適作用 pH4~5 的纖維素分解酵素，對給飼高芻料飼糧肉牛的中洗纖維消化率之改善程度，遠不如給飼高精料飼糧肉牛。Knowlton *et al.* (2002)比較添加纖維分解酵素於飼糧中對泌乳初期與後期乳牛的影響，發現餵食添加酵素飼糧的泌乳初期乳牛有較高的採食量、體增

重及乳產量，這是由於其試驗中所採用的酵素最適作用 pH 值為 4.5，而泌乳初期乳牛的飼糧含精料比例較高，容易讓乳牛瘤胃液 pH 偏酸，正好較適合所採用的酵素發揮作用。大部份的商用纖維分解酵素的最適作用條件是 60°C 與 pH 4~5 之間，但是瘤胃內的溫度是 39°C，pH 值在 6.0~6.7 之間，因此可以推測這些酵素的活性在瘤胃環境中的表現會有相當多的折損(Beauchemin *et al.*, 2003)。但是，一般青貯製作過程均會強調要儘快降低至 pH4 以下，因此有些不適作用於瘤胃正常 pH 範圍的纖維分解酵素，可能反而適合應用於青貯的製作。Howard *et al.* (2003)整理比較不同微生物來源的纖維素分解酶最適作用 pH 值，低的有低到 pH 3.3 的 *Sclerotium rolfsii* 纖維素分解酶，高的有高到 pH 9 的 *Bacillus sp.* 纖維素分解酶。類似的，半纖維素分解酶最適作用 pH 值，有低到 pH 3.5 的 *Aspergillus niger*，與高到 pH 8 的 *Clostridium stercorarium*。致於最適作用溫度，Howard *et al.* (2003)的資料顯示，有低到 30°C 的 *Achlya bisexualis* 纖維素分解酶，與高到 75°C 的 *Clostridium thermocellum* 纖維素分解酶。半纖維素分解酶最適作用溫度，則是有低到 30°C 的 *Schizophyllum commune*，與高到 93°C 的 *Thermoanaerobacter ethanolicus*。

雖然過去文獻顯示商業纖維分解酵素應用於青貯製作的效果成敗參半，但是這並不代表我們就無法有效掌控其有效應用的範圍或要領。只要能夠清楚掌握不同為生物的纖維分解酵素活性組成及其強弱，並且確實了解所需處裡的牧草細胞壁組成特性，挑選或搭配所需要的理想纖維主鏈與支鏈分解酵素組合，同時要挑選最適作用 pH 是與青貯製作過程所需經歷的 pH4~5 範圍相符的商業纖維分解酵素，以及適合於青貯發酵過程所會經歷的溫度上升狀況，就更容易達成改善青貯製作過程乳酸產生的效果與提高青貯牧草纖維利用效率的雙重目標。

#### 材料與方法

採用完全逢機區集設計(randomized complete block design)，取得不同成熟度的玉米與狼尾草各兩種，分別進行(1)對照組，不做任何添加；(2)只添加乳酸菌 (*Lactobacillus planetarium* Strain MTD/1; Ecosyl Products Ltd., UK)；(3)添加具備較強纖維素與半纖維素分解酵素活性之商業纖維分解酵素產品與乳酸菌；(4)與處理組 3 相同處理，並且添加具備較強  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 與 feruloyl esterase 的活性之商業纖維分解酵素產品之青貯製作試驗。纖維素與半纖維素分解酵素添加劑量(cellulase 3500 CMC unit/kg; xylanase 16000 xylanase unit/kg)參考 Matsuoka *et al.* (1997)與 Zhu *et al.* (2000)，每公斤芻料分別添加 1.2 g 纖維素分解酵素纖維素(Cellulas 13P, Biocaltlysts Ltd., UK)與 1.0 g 半纖維素分解酵素 (Ronozyme WX(CT), Novozymes A/S, Denmark)。  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 與 feruloyl esterase 的添加劑量(4000 arabinofuranosidase unit/kg; 600 feruloyl esterase unit/kg)則參考 Bhat and Hazlewood (2001)與 Grabber *et al.* (1997)，每公斤芻料分別添加 2.4 g 的  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase(Ronozyme VP(CT), Novozymes A/S, Denmark)與 1.2 g 的 feruloyl esterase(Depol 740L, Biocaltlysts Ltd., UK)。青貯製作

參考 Chiou *et al.* (2001)，但改採用 100 公斤塑膠桶製作青貯。青貯的 pH、揮發性脂肪酸、粗蛋白質、氨態氮、中洗纖維、酸洗纖維、酸洗木質素等分析將參考 Nadeau *et al.* (2000)與 Zhu *et al.* (2000)所採用方法。試管乾物質與纖維消化率測定，參考 Zhu *et al.* (2000)所採用方法。

由四種處理組分別所得的不同成熟度的玉米與狼尾草青貯，分別採用 4x4 拉丁方(Latin square)試驗設計，以剛過了泌乳高峰期的 Alpine 泌乳羊進行飼養試驗。試驗飼糧以玉米或狼尾草青貯為主要芻料，飼糧養分組成依據 NRC(1981)對泌乳羊隻的推薦量配製(表 1)。拉丁方的每個試驗期包含 17 天適應期與 4 天採樣期。採樣期每日回收剩餘飼糧測定自由採食量，並且進行全糞收集，以測定泌乳羊對飼糧乾物質、有機物、中洗纖維與酸洗纖維消化率。同時，採樣期每日收集秤重早晚各一次的乳量，並將依據實際乳量比例混合的每日乳樣分析其基本乳組成。試驗結果以 SAS (1988)一般線性模式分析，在有 F-test 顯著性(P<0.05)前提下，採用 least square means 比較不同處理組的養分消化與產乳量之差異。

### 結果與討論

兩種成熟度狼尾草，分別進行(1)對照組不添加任何物質；(2)添加乳酸菌 (*Lactobacillus plantarium*)；(3)同時添加乳酸菌以及纖維素與半纖維素分解酵素；(4)同時添加乳酸菌、纖維素與半纖維素分解酵素以及  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 與 feruloyl esterase 之青貯製作試驗結果顯示，處理組 2 乳酸菌的添加與對照組相比較，可以確保顯著較低的青貯 pH 值與顯著較高的青貯評分，以及顯著較高的乾物質試管消化率(表 2)。有使用纖維分解酵素的處理組 3 與 4 所得的青貯，與處理組 2 乳酸菌單獨添加相比較，有降低中洗纖維含量與提高乳酸含量之趨勢，並且顯著降低乾物質試管消化率(表 2)。本試驗纖維分解酵素的使用似乎有在青貯製作過程，將纖維性碳水化合物釋放出來供乳酸菌利用生成乳酸。但是纖維分解酵素的使用並沒有改善中洗纖維試管消化率之跡象，甚至顯著降低乾物質試管消化率，顯然本試驗所使用的纖維分解酵素只是去分解了較容易分解的部分纖維構造，甚至把受纖維保護的部分植物細胞內容物暴露出來先在青貯製作過程被利用掉，導致剩下消化率較差的總固形物。

兩種成熟度玉米，分別進行(1)對照組不添加任何物質；(2)添加乳酸菌 (*Lactobacillus plantarium*)；(3)同時添加乳酸菌以及纖維素與半纖維素分解酵素；(4)同時添加乳酸菌、纖維素與半纖維素分解酵素以及  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 與 feruloyl esterase 之青貯製作試驗結果顯示，處理組 2 乳酸菌的添加與對照組相比較，沒有任何青貯品質的改善(表 3)。顯然結穗玉米植株本身，已經具備良好的青貯製作條件，無需其他額外的協助。類似於狼尾草之青貯製作，本試驗纖維分解酵素的使用，並不能改善玉米青貯的中洗纖維試管消化率或乾物質試管消化率。

兩種成熟度狼尾草經由四種處理之青貯進行泌乳羊飼養試驗，顯示較老熟狼尾草四種處理之青貯，所得乾物質採食量(1837, 1743, 1817, 1834 g/day)、4%乳脂

修正乳量(1826, 1804, 1549, 1724 g/day)與中洗纖維表面消化率(77, 79, 76, 77%)並無顯著之差異。較幼嫩狼尾草的青貯亦是有相同結果(表 4)。兩種成熟度狼尾草青貯相互比對,較幼嫩狼尾草的青貯看起來可以維持較高乾物質採食量,因此其產乳量亦是較高。但是兩種成熟度狼尾草青貯的泌乳羊試驗是採用不同兩組羊,因此無法將其數據直接進行統計比較。雖然先前表 2 資料顯示,兩種成熟度狼尾草青貯的品質分析有顯現處理組 2、3 與 4 有比對照組顯著較高的青貯評分,但是在泌乳羊試驗時候無法促成較高的乾物質採食量,因此在泌乳羊的活體乾物質消化率與中洗纖維消化率均無顯著差異的情況之下,產乳表現亦就無法產生差異。

兩種成熟度玉米經由四種處理之青貯進行泌乳羊飼養試驗,顯示較老熟玉米四種處理之青貯,所得乾物質採食量(1142, 1039, 1096, 1103 g/day)、4%乳脂修正乳量(1744, 1501, 1665, 1706 g/day)與中洗纖維表面消化率(56, 56, 51, 41%)並無顯著之差異。較幼嫩玉米的青貯,所得乾物質採食量(1175, 1294, 1187, 1328 g/day)與 4%乳脂修正乳量(1665, 1340, 1811, 1779 g/day)亦無顯著的處理組間之差異。然而,第三處理組青貯之中洗纖維表面消化率顯著低於第二處理組,但與對照組或第四處理組並無顯著之差異(57, 59, 44, 51%)。先前表 3 資料顯示,玉米青貯品質不因為乳酸菌或纖維分解酵素的添加而改善,因此泌乳羊試驗無法呈現差異性是可以預期的。

整體而言,乳酸菌的添加可以改善狼尾草青貯的品質,但是無助益於玉米青貯。本試驗所採用纖維分解酵素的添加,並無法進一步改善青貯的纖維消化率。泌乳羊的採食量沒有因為青貯品質的變動有所改變,再加上泌乳羊的活體乾物質消化率與中洗纖維消化率均無顯著差異的情況之下,其產乳表現亦無顯著差異。

表 1. 狼尾草青貯與玉米青貯泌乳羊試驗之飼糧配方

	老熟 狼尾草青貯	幼嫩 狼尾草青貯	老熟 玉米青貯	幼嫩 玉米青貯
	%DM			
狼尾草青貯	35.00	35.00		
玉米青貯			30.39	30.39
全脂黃豆	21.63	21.63	21.71	21.71
玉米粉	41.04	41.04	44.87	44.87
CaHPO <sub>4</sub>			0.87	0.87
CaCO <sub>3</sub>	1.46	1.46	1.23	1.23
NaCl	0.29	0.29	0.30	0.30
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	0.29	0.29
微量礦鹽*	0.16	0.16	0.17	0.17
維生素預混物 <sup>§</sup>	0.16	0.16	0.17	0.17

\*狼尾草青貯試驗微量礦鹽組成：44% MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O；1.47% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O；53.8% ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O；0.09% CoCO<sub>3</sub>；0.01% Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>；0.53% KI；0.15% Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O。  
玉米青貯試驗微量礦鹽組成：38% MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O；3.39% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O；57.8% ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O；0.09% CoCO<sub>3</sub>；0.02% Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>；0.5% KI；0.14% Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O。

<sup>§</sup>維生素預混物組成：20% 維生素 A(500 IU/mg)；3% 維生素 D(500 IU/mg)；77% 維生素 E(0.5 IU/mg)。

表 2. 不同成熟度狼尾草添加乳酸菌與纖維分解酵素製作青貯之品質比較

	對照組	乳酸菌	乳酸菌+ 纖維素、半纖維素分解酵素	乳酸菌+ 纖維素、半纖維素分解酵素+ 支鏈分解酵素	MSE
老熟狼尾草青貯					
pH	4.6 <sup>a</sup>	3.9 <sup>b</sup>	3.8 <sup>b</sup>	3.8 <sup>b</sup>	0.1
青貯評分	34 <sup>a</sup>	92 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	2
乙酸(%)	0.59	0.45	0.50	0.73	0.11
丙酸(%)	0.07	0	0	0	0.03
丁酸(%)	1.54 <sup>a</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.13 <sup>b</sup>	0.12
乳酸(%)	1.32 <sup>a</sup>	4.42 <sup>b</sup>	5.69 <sup>b</sup>	5.68 <sup>b</sup>	0.62
中洗纖維(%)	75 <sup>a</sup>	72 <sup>ab</sup>	69 <sup>b</sup>	65 <sup>c</sup>	1
中洗纖維試管消化率(%)	32	37	38	39	4
乾物質試管消化率(%)	46 <sup>a</sup>	52 <sup>b</sup>	46 <sup>a</sup>	40 <sup>c</sup>	0.4
幼嫩狼尾草青貯					
pH	4.7 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>	3.7 <sup>c</sup>	3.7 <sup>c</sup>	0.1
青貯評分	49 <sup>a</sup>	91 <sup>b</sup>	89 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	2
乙酸(%)	1.04 <sup>a</sup>	0.87 <sup>ab</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.71 <sup>ab</sup>	0.09
丙酸(%)	0.09	0.03	0	0.01	0.03
丁酸(%)	0.58 <sup>a</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.18 <sup>c</sup>	0.22 <sup>c</sup>	0.03
乳酸(%)	1.61 <sup>a</sup>	3.55 <sup>b</sup>	6.74 <sup>c</sup>	5.97 <sup>c</sup>	0.46
中洗纖維(%)	75 <sup>a</sup>	72 <sup>ab</sup>	68 <sup>ab</sup>	65 <sup>b</sup>	2
中洗纖維試管消化率(%)	37	50	43	45	5
乾物質試管消化率(%)	47 <sup>a</sup>	62 <sup>b</sup>	43 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	4

<sup>a,b,c</sup> 平均數值沒有相同上標者差異顯著(P<0.05)。

表 3. 不同成熟度玉米添加乳酸菌與纖維分解酵素製作青貯之品質比較

	對照組	乳酸菌	乳酸菌+ 纖維素、半纖維素分解酵素	乳酸菌+ 纖維素、半纖維素分解酵素+ 支鏈分解酵素	MSE
老熟玉米青貯					
pH	3.8	3.8	3.7	3.7	0.04
青貯評分	91	90	95	90	4
乙酸(%)	2.13	1.80	2.02	1.78	0.28
丙酸(%)	0.02	0.45	0	0	0.23
丁酸(%)	0.06	0.20	0.06	0.16	0.10
乳酸(%)	7.56	7.57	9.53	8.49	0.91
中洗纖維(%)	56	55	49	53	2
中洗纖維試管消化率(%)	63 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>	57 <sup>ab</sup>	2
乾物質試管消化率(%)	74 <sup>a</sup>	68 <sup>b</sup>	70 <sup>c</sup>	66 <sup>d</sup>	0.3
幼嫩玉米青貯					
pH	3.8	3.8	3.7	3.7	0.05
青貯評分	90	94	88	87	2
乙酸(%)	2.46	2.07	1.90	2.23	0.18
丙酸(%)	0	0.01	0	0	0.003
丁酸(%)	0.04	0.04	0.18	0.23	0.07
乳酸(%)	7.81	8.36	8.09	8.55	0.47
中洗纖維(%)	62	64	58	57	2
中洗纖維試管消化率(%)	68 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	59 <sup>b</sup>	1
乾物質試管消化率(%)	75 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	68 <sup>b</sup>	1

a,b,c,d 平均數值沒有相同上標者差異顯著(P<0.05)。

表 4. 不同成熟度狼尾草添加乳酸菌與纖維分解酵素製作青貯之泌乳羊試驗比較

	對照組	乳酸菌	乳 酸 菌 + 纖 維 素、半 纖 維 素 分 解 酵 素	乳 酸 菌 + 纖 維 素、半 纖 維 素 分 解 酵 素 + 支 鏈 分 解 酵 素	MSE
老熟狼尾草青貯					
乳量(g/day)	1653	1694	1495	1712	74
乳脂率(%)	4.7	4.6	4.2	4.1	0.2
生 菌 數 (10 <sup>3</sup> /ml)	22.75	12.17	1.49	3.85	9.80
4%FCM (g/day)	1826	1804	1549	1724	91
乾物採食 (g/day)	1837	1743	1817	1834	29
乾物消化 率(%)	77	79	77	78	1
中洗纖維 消化率(%)	77	79	76	77	2
幼嫩狼尾草青貯					
乳量(g/day)	1813	1872	1955	1984	107
乳脂率(%)	4.4	4.3	4.1	4.2	0.2
生 菌 數 (10 <sup>3</sup> /ml)	28.7	5.7	26.3	7.5	12.0
4%FCM (g/day)	1918	2004	1987	2053	121
乾物採食 (g/day)	2075	2097	2013	1999	107
乾物消化 率(%)	81	80	82	81	1
中洗纖維 消化率(%)	82	79	81	78	2

表 5. 不同成熟度玉米添加乳酸菌與纖維分解酵素製作青貯之泌乳羊試驗比較

	對照組	乳酸菌	乳 酸 菌 + 纖 維 素、半 纖 維 素 分 解 酵 素	乳 酸 菌 + 纖 維 素、半 纖 維 素 分 解 酵 素 + 支 鏈 分 解 酵 素	MSE
老熟玉米青貯					
乳量(g/day)	1731	1616	1647	1710	100
乳脂率(%)	4.0 <sup>a</sup>	3.5 <sup>b</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	0.1
生 菌 數 (10 <sup>3</sup> /ml)	0.78	0.92	0.65	0.35	0.17
4%FCM (g/day)	1744	1501	1665	1706	91
乾物採食 (g/day)	1142	1039	1096	1103	67
乾物消化 率(%)	80	80	80	79	2
中洗纖維 消化率(%)	56	56	51	41	8
幼嫩玉米青貯					
乳量(g/day)	1656	1395	1803	1758	182
乳脂率(%)	4.0	3.7	4.1	4.1	0.1
生 菌 數 (10 <sup>3</sup> /ml)	0.40	0.26	0.70	0.30	0.13
4%FCM (g/day)	1665	1340	1811	1779	190
乾物採食 (g/day)	1175	1294	1187	1328	68
乾物消化 率(%)	79	79	75	77	1
中洗纖維 消化率(%)	57 <sup>ab</sup>	59 <sup>a</sup>	44 <sup>b</sup>	51 <sup>ab</sup>	4

<sup>a,b</sup> 平均數值沒有相同上標者差異顯著(P<0.05)。

## 參考文獻

- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, and W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E37-47.
- Bhat, M. K. and G. P. Hazlewood. 2001. Enzymology and other characteristic of cellulases and xylanases. In: M. R. Bedford and G. G. Partridge (Ed.) *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. Pp.11-60.
- Bidlack, J., M. Malone, and R. Benson. 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell wall in plants. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 72:51-56.
- Bonnin, E., M. Brunel, Y. Gouy, L. Lesage-Meessen, M. Asther, and J. F. Thibault. 2001. *Aspergillus niger* I-1472 and *Pycnoporus cinnabarinus* MUCL39533, selected for the biotransformation of ferulic acid to vanillin, are also able to produce cell wall polysaccharide-degrading enzymes and feruloyl esterases. *Enzyme and Microbial Technol.* 28:70-80.
- Chiou, P. W. S., H. C. Ku, C. R. Chen, and B. Yu. 2001. Effects of *Aspergillus oryzae* inclusion on corn silage fermentation. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 14:1568-1579.
- Donaghy, J. A., K. Bronnenmeier, P. F. Soto-Kelly, and A. M. McKay. 2000. Purification and characterization of an extracellular feruloyl esterase from the thermophilic anaerobe *Clostridium stercorarium*. *J. Appl. Microbiol.* 88:458-466.
- Grabber, J. H., R. D. Hatfield, and J. Ralph. 1997. Effect of diferulate cross-linking on the hydrolysis of xylans and nonlignified walls by a fungal enzyme mixture containing feruloyl esterase and potent xylanase activities. *US Dairy Forage Research Center Research Summaries* pp.47-48.
- Harrison, J. H., R. Blauwiekel, and M. R. Stokes. 1994. Fermentation and utilization of grass silage. *J. Dairy Sci.* 77:3209-3235.
- Hino, T., T. Miwa, N. Asanuma, K. Shiraishi, H. Kitamura, and H. Mizoguchi. 2000. Effect of addition of cellulase preparations on fiber digestion in beef cattle. *Anim. Sci. J.* 71:J46-J50.
- Howard, R. L., E. Abotsi, E. L. Jansen van Rensburg and S. Howard. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African J. of Biotechnology* 2:602-619.
- Jung, H., D. R. Buxton, R. D. Hatfield, D. R. Mertens, J. Ralph, and P. J. Weimer. 1996. Identification of cell wall traits that can be manipulated to improve forage digestibility. *US Dairy Forage Center Informational Conference with Dairy and Forage Industries*. Pp.9-14.
- Jung, H.-J. G., M. A. Jorgensen, J. G. Linn, and F. M. Engels. 2000. Impact of accessibility and chemical composition on cell wall polysaccharide degradability of maize and Lucerne stems. *J. Sci. Food Agric.* 80:419-427.

- Knowlton, K. F., J. M. McKinney, and C. Cobb. 2002. Effect of a direct-fed fibrolytic enzyme formulation on nutrient intake, partitioning, and excretion in early and late lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:3328-3335.
- Lee, S. S., J. K. Ha, and K.-J. Cheng. 2000. Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88:201-217.
- Matsuoka, S., L. N. Branda, and H. Fujita. 1997. Breakdown of structural carbohydrates during the ensiling process of grasses treated with *Lactobacillus* inoculant and cellulase preparation and the subsequent effects on their in vitro digestibilities. *Anim. Sci. Technol.* 68:661-667.
- Morgavi, D. P., K. A. Beauchemin, V. L. Nsereko, L. M. Rode, A. D. Iwaasa, W. Z. Yang, T. A. McAllister, and Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.* 83:1310-1321.
- Nadeau, E. M. G., D. R. Buxton, J. R. Russell, M. J. Allison, and J. W. Young. 2000. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. *J. Dairy Sci.* 83:1487-1502.
- National Research Council. 1981. Nutrient Requirement of Goats. Natl. Academy Press, Washington, DC.
- Nonn, H., T. Keller, and H. Jeroch. 1995. Effect of biological additives on digestibility of lucerne silages produced in bales. *Wirtschaftseigene Futter.* 41:293-305.
- Rodrigues, M. A. M., J. W. Cone, C. A. Sequeira, and A. Mascarenhas-Ferreira. 2001. Effect of the addition of cell wall degrading enzymes on fermentation kinetics of perennial ryegrass silage. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* 136:443-449.
- SAS. 1988. SAS Language Guide for Personal Computers (Release 6.12). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Sheperd, A. C. and L. Kung, Jr. 1996. Effects of an enzyme additive on composition of corn silage ensiled at various stages of maturity. *J. Dairy Sci.* 79:1767-1773.
- Tenkanen, M. 1998. Action of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus oryzae* esterases in the deacetylation of hemicelluloses. *Biotech. Appl. Biochem.* 27:19-24.
- de Vries, R. P. and J. Visser. 1999. Regulation of the feruloyl esterase (*faeA*) gene from *Aspergillus niger*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:5500-5503.
- de Vries, R. P., H. C. M. Kester, C. H. Poulsen, J. A. E. Benen, and J. Visser. 2000. Synergy between enzymes from *Aspergillus* involved in the degradation of plant cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Res.* 327:401-410.
- Wallace, R. J., S. J. Wallace, N. McKain, V. L. Nsereko, and G. F. Hartnell. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 79:1905-1916.
- Weinberg, Z. G., G. ashbell, A. Azrieli, and I. Brukental. 1993. Ensiling peas, ryegrass and wheat with additives of lactic acid bacteria (LAB) and cell wall degrading

- enzymes. *Grass and Forage Sci.* 48:70-78.
- Zhu, Y., N. Nishino, Y. Kishida, and S. Uchida. 1999. Ensiling characteristics and ruminal degradation of Italian ryegrass and Lucerne silages treated with cell wall-degrading enzymes. *J. Sci. Food and Agric.* 79:1987-1992.
- Zhu, Y., N. Nishino, and S. Uchida. 2000. Fermentation of Rodegrass and Guineagrass silage with or without wilting and added cell wall degrading enzymes. *Grassland Sci.* 46:22-27.