

Wpływ mieszanin wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej na skład chemiczny i liczebność mikroorganizmów w kiszonkach z kukurydzy

Marek Selwet¹, Mariola Galbas², Filip Porzucek²,
Tomasz Cłapa¹, Leszek Majchrzak³

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,

¹Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań,

²Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań,

³Katedra Agronomii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Wstęp

Preparaty mikrobiologiczne oparte na bazie bakterii homofermentacji mlekowej są powszechnie wykorzystywane do poprawy wydajności fermentacji podczas zakiszania materiału roślinnego (Kung i in., 2003). Niestety, stosowanie tylko tych szczepów bakterii sprawia, że kiszonki poddane ekspozycji tlenowej są mniej stabilne z powodu niższej produkcji kwasów organicznych o właściwościach przeciwgrzybiczych (Muck i Kung, 1997). Zasadne zatem wydaje się wykorzystanie dodatkowo szczepów bakterii heterofermentacji mlekowej, takich jak *Lactobacillus buchneri*, produkujących kwas octowy, wpływający na poprawę stabilności tlenowej kiszonek (Oude Elfering i in., 2001). Przy stosowaniu tego typu szczepów istnieje prawdopodobieństwo wystąpienia pewnych strat suchej masy w kiszonkach przygotowanych z kukurydzy, na poziomie 10 g kg⁻¹ w porównaniu z kiszonkami nie traktowanymi inokulantami (Kleinschmit i Kung, 2006 a). Poprzez tworzenie nowych inokulantów, zawierających mieszaniny zróżnicowanych fizjologicznie szczepów, można próbować zniwelować pewne niepożądane cechy wybranych bakterii. Dla przykładu, Filya (2002) zaaplikował do konserwacji zielonki z kukurydzy o niskiej zawartości suchej masy (210 g kg⁻¹) mieszaninę *L. buchneri* i *L. plantarum*. Autor odno-

tował mniejsze straty suchej masy po zastosowaniu tych szczepów bakterii niż w przypadku stosowania tylko *L. buchneri*.

Problematyka prowadzonych badań miała na celu wykazanie, czy zwiększenie w preparacie bakteryjnym koncentracji bakterii *L. buchneri* wpłynie na ograniczenie liczebności niepożądanych mikroorganizmów, odpowiedzialnych za stabilność tlenową kiszonek oraz skład chemiczny tej paszy. W tym celu kiszonkę z kukurydzy potraktowano dwoma inokulantami bakteryjnymi, złożonymi z mieszaniny trzech szczepów bakterii mlekowych. W każdym z preparatów znajdował się jeden szczep heterofermentacji (w dwóch różnych koncentracjach) i dwa szczepy homofermentacji mlekowej.

Materiał i metody

Materiał roślinny stanowiła kukurydza (*Zea mays* L.) odmiany SAN (FAO 240) o zawartości suchej masy 327 g kg⁻¹, zbierana w dojrzałości kiszonkowej (udział kolb więcej niż 55%). Przed zakiszeniem rośliny pocięto na siewkę o długości 2–3 cm przy pomocy siewkarni zaopatrzonej w zgniatacz. Kiszonki sporządzono w mikrosilosach o pojemności 4 dm³, wykonanych z PCV, z zamknięciem umożliwiającym odprowadzenie produktów gazowych.

Temperatura pomieszczenia podczas zakiszania wynosiła średnio $2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Test stabilności tlenowej wykonano po 150 dniach zakiszania. Próbkę o masie 85 g umieszczono w plastikowych pojemnikach o pojemności 500 cm^3 z otworami o średnicy 4 mm. Zmiany temperatury mierzono co 5 min w odstępach 2 h za pomocą czytnika temperatury Hotmux DDC Corporation (Pennsauken, NJ, USA). Stabilność definiowano czasem potrzebnym do podniesienia temperatury kiszonki o 2°C w stosunku do temperatury otoczenia.

Doświadczenie podzielono na 3 grupy: K – kontrola (bez dodatku preparatu biologicznego); P1 i P2 (preparaty biologiczne). Każdą kombinację wykonano w 10 powtórzeniach.

Skład preparatów biologicznych przedstawia tabela 1. Zastosowana dawka zawiesiny wynosiła 1 ml kg^{-1} zielonej masy (1 ml zawiesiny rozpuszczono w 3 ml wody). Analogicznie do próby kontrolnej dodano 4 ml wody. Roztwór do analiz przygotowano, dodając 90 cm^3 roztworu soli fizjologicznej NaCl do 10 g próbki kiszonki i homogenizowano go przez 10 minut. Liczebność grzybów pleśniowych i drożdży oznaczano metodą płytkową z kolejnych rozcieńczeń roztworu na podłożu OGYE Agar (Oxoid). Płytki inkubowano przez 5 dni w temperaturze 25°C . Bakterie fermentacji mlekowej oznaczano na MRS Agar (Oxoid), czas inkubacji wynosił 24–72 h w temperaturze 37°C w środowisku z CO_2 o stężeniu 5%.

Tabela 1. Szczepy wchodzące w skład preparatów biologicznych P1 i P2
Table 1. The strains included in the biological preparations P1 and P2

Preparat <i>Preparation</i>	Szczepy bakteryjne <i>Bacterial strains</i>	%	Typ fermentacji <i>Type of fermentation</i>	Koncentracja w preparacie jtk g^{-1} <i>Concentration in preparation, cfu g⁻¹</i>	Koncentracja jtk g^{-1} w świeżej masie paszy <i>Application rate in fresh forage, cfu g⁻¹</i>
P1	<i>Lactobacillus buchneri</i> DSM 20057	60	Heterofermentacja <i>Heterofermentative</i>	$1,2 \times 10^{11}$	240 000*
	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20174	20	Homofermentacja <i>Homofermentative</i>		
	<i>Lactobacillus faecium</i> DSM 20477	20	Homofermentacja <i>Homofermentative</i>		
P2	<i>Lactobacillus buchneri</i> DSM 20057	40	Heterofermentacja <i>Heterofermentative</i>	$1,3 \times 10^{11}$	250 000*
	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20174	30	Homofermentacja <i>Homofermentative</i>		
	<i>Lactobacillus faecium</i> DSM 20477	30	Homofermentacja <i>Homofermentative</i>		

*Koncentrację uzyskano rozpuszczając 2 g preparatu w 1000 ml destylowanej wody.

*The concentration of the formulation was obtained by dissolving 2 g in 1000 ml of distilled water.

Analiza chemiczna obejmowała określenie zawartości: suchej masy (DM), cukrów rozpuszczalnych w wodzie (WSC), kwasu mlekowego, octowego, masłowego, etanolu, amoniaku ($\text{NH}_3\text{-N}$), białka, ADF (włókno kwaśno-deter-

gentowe), NDF (włókno neutralno-detergentowe) oraz pH. Skład podstawowy pasz oznaczono zgodnie z AOAC (2003), WSC zgodnie z metodyką podaną przez McDonalda i Hendersona (1964), $\text{NH}_3\text{-N}$ według Conway'a (1962)

oraz ADF i NDF zgodnie z metodyką Van Soesta i in. (1991). Pojemność buforową definiowano jako milirównoważnik zasady, jaka jest wymagana do zmiany pH z 4 do 6 na kg s.m. (Playne i McDonald, 1966). Wartości pH oznaczono, stosując pH Meter Hanna Instruments, w zawieszynie przygotowanej z 20 g kiszonki i 180 cm³ demineralizowanej wody homogenizowanej przez 10 minut.

Stężenie kwasów tłuszczowych i etanolu określano z zastosowaniem chromatografu gazowego, wyposażonego w detektor FID, szklaną kolumnę 80/100 Chromosorb® WAW firmy Supelco o długości 2 m, I.D. 2 mm z wypełnieniem GP 10% SP – 1200/1% H₃PO₄ oraz autosamplerem Varian 8200 CX. Gazem nośnym był wodór (przepływ 30 cm³ min⁻¹), temperatura pieca 120°C, temperatura nastrzyku 250°C, temperatura detektora 300°C. Standard stanowiły wzorce kwasów firmy Fluka.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą pakietu SAS (2002). Istotność różnic między średnimi zweryfikowano testem Duncana.

Wyniki i ich omówienie

Liczebność bakterii fermentacji mlekowej, występujących na materiale roślinnym, jest czynnikiem warunkującym inicjację fermentacji materiału roślinnego. Nie zawsze jest ona na tyle

wysoka, by proces konserwacji przebiegał w sposób prawidłowy, dlatego ważne wydaje się wspomaganie procesu kiszenia wyselekcjonowanymi szczepami tych bakterii w postaci inokulantów. Liczebności wybranych grup mikroorganizmów oraz składników pokarmowych w świeżej masie kukurydzy, przeznaczony do zakiszania przedstawiono w tabeli 2.

Zawartość suchej masy w całych roślinach wynosiła 327 g kg⁻¹, a koncentracja pozostałych parametrów kształtowała się na poziomie normalnym, zgodnym z badaniami prowadzonymi przez Reich i Kung (2010). Autorzy ci zakiszali kukurydzę o zawartości suchej masy 318 g kg⁻¹, WSC – 90 g kg⁻¹ s.m., NH₃-N – 0,5 g kg⁻¹ s.m., ADF – 210 g kg⁻¹ s.m., NDF – 389 g kg⁻¹ s.m. Liczebność bakterii mlekowych oznaczyli na poziomie log jtk 6,51 log jtk g⁻¹ s.m., drożdży – log jtk 5,66 log jtk g⁻¹ s.m., pleśni – log jtk 5,01 log jtk g⁻¹ s.m. Wyniki te są zbieżne z wynikami badań własnych, a jak twierdzą Doroszewski i in. (2013), zazwyczaj na roślinach oznacza się drożdże na poziomie log jtk 3–5 g⁻¹ s.m., a pleśni log jtk 3–4 g⁻¹ s.m.

Pojemność buforowa zakiszanej zielonki kształtowała się na poziomie 215 mEq kg⁻¹ s.m. Zbliżoną pojemnością buforową (217 mEq kg⁻¹ s.m.) charakteryzowała się zielonka z kukurydzy, zakiszana przez Jatkauskas i Vrotniakiene (2013). Według tych autorów, jest to typowa pojemność buforowa dla kukurydzy.

Tabela 2. Populacja mikroorganizmów i skład chemiczny świeżej masy kukurydzy (n=30)
Table 2. The population of microorganisms and chemical composition of the fresh weight of maize (n=30)

Parametr – Parameter		sd
Bakterie fermentacji mlekowej (log jtk g ⁻¹ s.m.) – <i>Lactic acid bacteria</i> (log cfu g ⁻¹ FM)	6,63	± 0,07
Drożdże (log jtk g ⁻¹ s.m.) – <i>Yeast</i> (log cfu g ⁻¹ FM)	5,21	± 0,13
Pleśnie (log jtk g ⁻¹ s.m.) – <i>Mould</i> (log cfu g ⁻¹ FM)	5,11	± 0,05
Sucha masa (g kg ⁻¹) – <i>Dry matter</i> (g kg ⁻¹)	327	± 2,11
WSC (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>WSC</i> (g kg ⁻¹ DM)	92	± 4,21
Białko ogólne (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Crude protein</i> (g kg ⁻¹ DM)	77	± 1,11
Amoniak (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>NH₃-N</i> (g kg ⁻¹ DM)	0,4	± 0,01
ADF (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>ADF</i> (g kg ⁻¹ DM)	217	± 9,12
Pojemność buforowa (mEq kg ⁻¹ s.m.) – <i>Buffer capacity</i> mEq kg ⁻¹ DM	215	± 4,2
NDF (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>NDF</i> (g kg ⁻¹ DM)	375	± 2,11

WSC – cukry rozpuszczalne w wodzie, ADF – włókno kwaśno-detergentowe, NDF – włókno neutralno-detergentowe.
WSC – *water soluble carbohydrate*, ADF – *acid detergent fiber*, NDF – *neutral detergent fiber*.

Na liczebność bakterii, drożdży i pleśni mogą mieć wpływ położenie geograficzne oraz klimat (Lin i in., 1995). Tabela 3 przedstawia wyniki analiz mikrobiologicznych i chemicznych, przeprowadzonych po 150 dniach zakiszenia masy roślinnej. W kiszonkach z kukurydzy odnotowano wzrost liczebności bakterii mlekowych w porównaniu z materiałem wyjściowym o 7,5%. Obniżeniu uległa liczebność drożdży i pleśni, odpowiednio o 21,3 i 73,4%. Jatkauskas i in. (2013) w kiszonkach z kukurydzy, przygotowanych z zielonki o zawartości suchej masy 328 g kg⁻¹, również odnotowali obniżenie liczebności drożdży o 20,9% oraz pleśni o 10,9% w porównaniu z materiałem wyjściowym. W kiszonkach z obiektu kontrolnego nie odno-

towano zmniejszenia zawartości suchej masy. Podobne wyniki uzyskali Reis i in. (2005), którzy oznaczyli suchą masę na poziomie 318 g kg⁻¹ i była ona identyczna z zawartością w zielonce przed zakiszeniem. W wyniku procesów fermentacyjnych obniżeniu o 51% uległa koncentracja WSC w porównaniu z zielonką.

Nie odnotowano zmian zawartości białka, NDF i ADF. W wyniku zakiszenia wzrósł poziom amoniaku o 50%. Kleinschmit i Kung (2006 b) zauważyli, że w kiszonkach z kukurydzy i z traw nie wzrasta poziom koncentracji amoniaku. Natomiast Reich i Kung (2010) odnotowali wzrost poziomu amoniaku w kiszonce z kukurydzy o 50%, co potwierdza wyniki badań własnych.

Tabela 3. Skład chemiczny i mikrobiologiczny kiszonek z kukurydzy po 150 dniach zakiszenia (n=30)
Table 3. Chemical composition and microbial parameters of corn silage after 150 days ensiling (n=30)

Parameter – Parameter	C	P1	P2	sd
Bakterie fermentacji mlekowej (log jtk g ⁻¹ ś.m.) <i>Lactic acid bacteria (log cfu g⁻¹ FM)</i>	7,17 a	8,91 b	8,84 b	± 0,218
Drożdże (log jtk g ⁻¹ ś.m.) – <i>Yeast (log cfu g⁻¹ FM)</i>	4,01 a	0,57 b	0,60 b	± 0,412
Pleśnie (log jtk g ⁻¹ ś.m.) – <i>Mould (log cfu g⁻¹ FM)</i>	1,36 a	0,49 b	0,51 b	± 0,510
Sucha masa (g kg ⁻¹) – <i>Dry matter (g kg⁻¹)</i>	326 a	310 b	309 b	± 2,3
WSC (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>WSC (g kg⁻¹ DM)</i>	45 a	37 b	30 c	± 1,2
Białko ogólne (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Crude protein (g kg⁻¹ DM)</i>	76,2	75,3	75,5	± 1,1
Amoniak (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>NH₃-N (g kg⁻¹ DM)</i>	0,8	1,2	1,2	± 0,02
ADF (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>ADF (g kg⁻¹ DM)</i>	219 a	191 b	193 b	± 3,7
NDF (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>NDF (g kg⁻¹ DM)</i>	362	359	357	± 7,1

a, b, c – wartości w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie P<0,01, C – kontrola.
a, b, c – means in rows designated with the same letters do not differ significantly at the level of P<0,01, C – control.

Analiza chemiczna i mikrobiologiczna kiszonek, traktowanych inokulantami P1 i P2, wykazała wpływ tych preparatów na wybrane parametry pasz. Dodatek preparatów P1 i P2 spowodował istotny (P<0,01) wzrost liczebności bakterii mlekowych w porównaniu do kontroli. Reich i Kung (2010) traktowali kukurydzę mieszaniną *L. buchneri* i *L. plantarum* o koncentracji 1–4 x 10⁵ i odnotowali istotny wzrost ogólnej liczebności bakterii mlekowych z log jtk 5,68 g⁻¹ ś.m. w kontroli do log jtk 8,02 g⁻¹ ś.m. po 215 dniach zakiszenia. W badaniach własnych po 150 dniach zakiszenia zastosowane preparaty istotnie (P<0,01) obniżyły liczebność drożdży

i pleśni w porównaniu z kontrolą. Nie wykazano istotnych różnic w działaniu obu preparatów. Jatkauskas i Vrotniakiene (2013), stosując inokulację kukurydzy mieszaniną szczepów *L. plantarum* (20%), *L. buchneri* (50%) i *Enterococcus faecium* (30%), również odnotowali obniżenie liczebności drożdży z log jtk 1,94 g⁻¹ ś.m. w kontroli do log jtk 1,18 g⁻¹ ś.m. oraz pleśni z log jtk 2,01 g⁻¹ ś.m. w kontroli do log jtk 1,12 g⁻¹ ś.m. kiszonki, lecz nie były to różnice istotne statystycznie.

Dodatki P1 i P2 istotnie (P<0,01) obniżyły koncentrację ADF, lecz nie miały wpływu na poziom NDF. Ponownie nie wykazano istot-

nych różnic w działaniu zastosowanych inokulantów. Reich i Kung (2010) w kiszonkach z kukurydzy, zakiszanej bez dodatków bakteryjnych, oznaczyli włókno na poziomie: ADF – 212 g kg⁻¹ s.m. oraz NDF – 361 g kg⁻¹ s.m., były to więc wyniki zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych. Autorzy nie potwierdzają jednak istotnego wpływu stosowania różnych mieszanin bakterii fermentacji mlekowej na obniżenie koncentracji ADF i NDF.

Filya i in. (2007) twierdzą, że główny

mechanizm działania inokulantów bakteryjnych opiera się na zwiększonej produkcji kwasu mlekowego, a co jest z tym związane – obniżeniu pH i ograniczeniu zawartości suchej masy. W badaniach własnych nie zaobserwowano strat suchej masy w kiszonkach kontrolnych względem zielonki. Po zastosowaniu preparatów P1 i P2 istotnie (P<0,01) obniżyła się koncentracja suchej masy. Ponownie nie odnotowano istotnych różnic w działaniu zastosowanych dodatków.

Tabela 4. Wartości pH i produkty końcowe fermentacji oraz stabilność tlenowa kiszonek po 150 dniach fermentacji (n=30)

Table 4. The pH, fermentation end products and aerobic stability from corn silages after 150 days of ensiling (n=30)

Parametr – Parameter	C	P1	P2	sd
pH	3,71	3,62	3,69	± 0,01
Kwas mlekowy (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Lactic acid</i> (g kg ⁻¹ DM)	59 a	60 a	67 b	± 1,2
Kwas octowy (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Acetic acid</i> (g kg ⁻¹ DM)	16 a	46 b	36 c	± 0,6
Kwas masłowy (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Butyric acid</i> (g kg ⁻¹ DM)	nd	nd	nd	–
Etanol (g kg ⁻¹ s.m.) – <i>Ethanol</i> (g kg ⁻¹ DM)	4,3 a	1,8 b	1,4 b	± 0,11
Stabilność tlenowa (h) – <i>Aerobic stability</i> (h)	211 a	497 b	492 b	± 21,2

nd – nie wykryto

nd – not detected

Analiza produktów końcowych fermentacji (tab. 4) nie wykazała istotnych (P<0,01) różnic w wartościach pH otrzymanych kiszonek. Kiszonki z dodatkiem inokulantów wykazywały istotnie wyższą (P<0,01) koncentrację kwasu mlekowego. Zastosowanie preparatu P2 spowodowało wzrost poziomu kwasu mlekowego o 12%, a preparatu P1 – o 1,7%.

Istotnie (P<0,01) wzrosła zawartość kwasu octowego w porównaniu do kontroli – o 62,2% po zastosowaniu preparatu P1 oraz o 55,6% w przypadku inokulanta P2. Reis i in. (2005) oraz Jatkauskas i Vrotniakienė (2013) w swoich badaniach nad dodatkiem mieszanin bakterii kwasu mlekowego odnotowali wpływ tych preparatów na redukcję poziomu kwasu mlekowego oraz podniesienie koncentracji kwasu octowego w kiszonkach z kukurydzy. Reich i Kung (2010) stwierdzili wzrost poziomu kwasu octowego w kiszonkach z kukurydzy z dodatkiem bakterii kwasu mlekowego z 14 do 36–44 g kg⁻¹ s.m., co potwierdza wyniki badań wła-

nych. Istotnie (P<0,01) niższe zawartości etanolu w kiszonkach z dodatkiem inokulantów wskazują na obniżoną działalność drożdży pod wpływem kwasu octowego (Schmidt i in., 2009). Koncentracja etanolu po zastosowaniu dodatków P1 i P2 uległa obniżeniu, konsekwentnie o 58,14 i 67,44% w porównaniu do kontroli. Nie wykazano istotnych różnic w działaniu preparatów P1 i P2.

Wyniki badań wskazują istotny (P<0,01) wpływ mieszanin różnych szczepów bakterii mlekowych na poprawę stabilności tlenowej kiszonek. Czas zagrzewania kiszonek potraktowanych inokulantami P1 i P2 wzrósł o 57,55 i 57,11%. Ponownie nie wykazano istotnych różnic w działaniu obydwu dodatków bakteryjnych.

Szczególną rolę w poprawie stabilności tlenowej odgrywają szczepy *L. buchneri*, wpływające na: ograniczenie rozwoju drożdży, straty cukrów i kwasów organicznych, a także ograniczenie wzrostu temperatury kiszonek (Pahlow i in., 2003). Kleinschmit i Kung (2006 a) wska-

zują, że poprawa stabilności tlenowej kiszonek jest tym większa, im wyższa jest koncentracja kwasów propionowego i octowego z powodu inokulacji masy roślinnej *L. buchneri*. W badaniach własnych nie wykazano zależności pomiędzy zwiększoną koncentracją kwasu octowego w kombinacji z dodatkiem P1 a wydłużeniem czasu zagrzewania się kiszonek.

Podsumowanie i wnioski

W podsumowaniu należy zaznaczyć, że coraz to nowe i efektywne szczepy bakterii mlekowych mogą wpływać na poprawę jakości użytkiwanych kiszonek, szczególnie ograniczając liczebność drożdży i pleśni, a także zmniejszając straty spowodowane zagrzewaniem się kiszonek. Uzyskane wyniki wskazują na ograniczenie liczebności drożdży i pleśni po zastosowaniu

dwóch inokulantów bakteryjnych w stosunku do kiszonek kontrolnych.

Zwiększenie koncentracji *L. buchneri* w preparacie P1 nie miało istotnego wpływu na efektywność działania tego inokulanta w porównaniu z P2 o niższej koncentracji *L. buchneri*. Zastosowane szczepy istotnie wpływały na podwyższenie zawartości kwasu octowego. Mieszanina, zawierająca w swoim składzie 60% *L. buchneri*, stymulowała powstawanie tego kwasu na najwyższym poziomie. Dodatki bakteryjne istotnie poprawiały stabilność tlenową kiszonek. Nie wykazano istotnych różnic w czasie zagrzewania się kiszonek potraktowanych inokulantami.

Z uwagi na duże rozbieżności wyników wielu autorów należy zastanowić się nad dalszym udoskonalaniem preparatów bakteryjnych, stosowanych w konserwacji materiału roślinnego.

Literatura

- AOAC (2003). International Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Conway E.J. (1962). Ammonia. General method. In: Microdiffusion analysis and volumetric error. 5th ed. Crosby Lockwood, London, pp. 98–100.
- Doroszewski P., Grabowicz M., Szterk P., Grajewski J., Twarużek M. (2013). Wpływ fermentacji na status mikrobiologiczny i mikotoksykologiczny kiszonki z lucerny. *Med. Wet.*, 69: 622–625.
- Filya I. (2002). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *J. Dairy Sci.*, 86: 3575–3581.
- Filya I., Muck R.E., Contreras-Govea F.E. (2007). Inoculant effects on alfalfa silage: fermentation products and nutritive value. *J Dairy Sci.*, 90: 5108–5114.
- Jatkauskas J., Vrotniakiene V. (2013). Evaluation of fermentation parameters, microbiological composition and aerobic stability of grass and whole crop maize silages treated with microbial inoculants. *Zemdirbyste-Agriculture*, 100 (2): 143–150.
- Jatkauskas J., Vrotniakiene V., Ohlsson C., Lund B. (2013). The effect of three inoculants on aerobic stability in grass, clover-grass, Lucerne and maize silages. *Agric. Food Sci.*, 22: 137–144.
- Kleinschmit D.H., Kung L. Jr. (2006 a). A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *J. Dairy Sci.*, 89: 4005–4013.
- Kleinschmit D.H., Kung L. Jr. (2006 b). The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage. *J. Dairy Sci.*, 89: 3999–4004.
- Kung L. Jr., Taylor C.C., Lynch M.P., Neylon J.M. (2003). The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86: 336–343.
- Lin C., Bolsen K.K., Brent B.E., Hart R.A., Dickerson J.T., Feyerherm A.M., Aimutis W.R. (1995). Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. *J. Dairy Sci.*, 75: 2484–2493.
- McDonald P., Henderson A.R. (1964). Determination of water-soluble carbohydrates in grass. *J Sci. Food Agric.*, 15: 395–398.

Muck R.E., Kung L. Jr. (1997). Effects of silage additives ensiling. In: Silage: Field to feedbunk. NRAES-99. NRAES, Ithaca, NY, USA, pp. 187–199.

Oude Elfering S.J.W.H., Krooneman J., Gottschal J.C., Spoelstra S.F., Faber F., Driehuis F. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Appl. Environ. Microbiol., 67: 125–132.

Pahlow G., Muck R., Driehuis F., Oude Elfering S., Spoelstra S. (2003). Microbiology of ensiling. In: D.R. Buxton, R.E. Muck, J.H. Harrison (eds), Silage science and technology, Agronomy, 42. Madison, Wisconsin, USA, pp. 31–93.

Playne M.K., McDonald P. (1966). The buffering constituents of herbage and of silage. J. Sci. Food Agric., 17: 264–268.

Reich L.J., Kung L. (2010). Effect of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid

bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Anim. Feed Sci. Technol., 159: 105–109.

Reis R., Almeida E., Siqueira G., Bernardes E.R., Januszkiewicz E. (2005). Microbial changes and aerobic stability in high moisture maize silages inoculated with *Lactobacillus buchneri*. Proc. 14th Int. Silage Conf. Belfast, Northern Ireland, p. 223.

SAS (2002). User's Guide: Statistics. Version 9th (ed). SAS Inst. Inc. Cary.

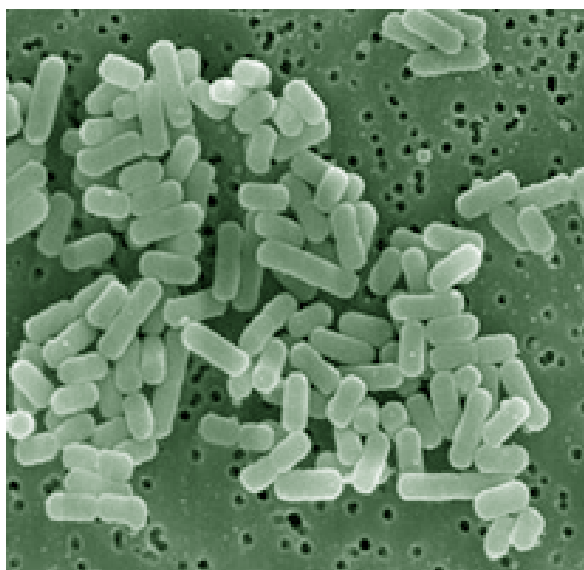
Schmidt R., Hu W., Mills J., Kung L. (2009). The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Sci., 92: 5005–5010.

Soest P.J Van, Robertson J.B., Lewis B.A. (1991). Methods of dietary fiber, natural detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74: 3583–3593.

EFFECT OF MIXTURES OF SELECTED STRAINS OF LACTIC FERMENTATION BACTERIA ON CHEMICAL COMPOSITION AND NUMBER OF MICROORGANISMS IN MAIZE SILAGES

Summary

The aim of this study was to investigate the influence of two different mixtures of *Lactobacillus buchneri* DSM 20057, *Lactobacillus plantarum* DSM 20174 and *Lactobacillus faecium* DSM 20477 on the process of fermentation, aerobic stability and chemical composition of maize silages. The concentration of bacteria in mixture P1 was 1.2×10^{11} and in mixture P2 it was 1.3×10^{11} . The object of the research was biomass containing the SAN (FAO 240), a maize (*Zea mays* L.) cultivar with the total dry mass of 327 g kg^{-1} . Before the biomass was ensiled it had been cut into small pieces of 2 or 3 cm. After that silage was prepared in PVC micro-silos of the total volume of 4 dm^3 . The seal enabled exchange of gas products. The ensiling capacity reached 215 mEq kg^{-1} DM. The comparison of ensiled and non-ensiled biomass revealed that the amount of lactic acid bacteria was about 7.5% higher in the ensiled biomass. The observations showed that the proportion of yeasts and moulds was



21.3% and 73.4%, respectively. During the fermentation processes the concentration of WSC decreased by about 51% in comparison with the non-ensiled biomass. As a result there were no changes in the proteins, NDF or ADF concentration, but the ammonia concentration increased about 50%. The addition of mixtures P1 and P2 caused a significant increase ($P < 0.01$) in lactic acid bacteria and a significant decrease ($P < 0.01$) in the total count of yeasts and moulds. The findings of this study shows that both mixtures, P1 and P2, with different strains of lactic acid bacteria have significant ($P < 0.01$) influence on improving the aerobic stability of silages.

Lactobacillus buchneri (fot. internet)