

LITHUANIAN VETERINARY ACADEMY



Jonas Laugalis

INVESTIGATION OF RUMEN ANAEROBIC MICROFLORA AND FERMENTATION PROCESSES IN COWS

Summary of doctoral dissertation
Biomedical sciences, veterinary medicine (12B)

Kaunas, 2005

This dissertation was completed at the Lithuanian Veterinary Academy, Department of Anatomy and Physiology, in the Research Center of Digestive Physiology and Pathology, from 2001 – 2005.

Research supervisor –

Prof. at Incumbent Dr. Antanas Sederevičius (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B).

Research adviser –

Dr. Ingrida Monkevičienė (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B).

Chairman of the Veterinary Medicine Council –

Assoc. Prof. Dr. Judita Žymantienė (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B).

Members:

Prof. at Incumbent Dr. Bronius Bakutis (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B);

Assoc. Prof. Dr. Jurgis Kulpys (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, zootechny – 13B);

Prof. at Incumbent Dr. Jūratė Šiugždaitė (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B);

Prof. Habil. Dr. Vytautas Tarvydas (LVA Institute of Animal Sciences, biomedical sciences, zootechny – 13B).

Opponents:

Prof. Habil. Dr. Justinas Antanas Dobilas (LVA Veterinary Institute, biomedical sciences, veterinary medicine – 12B);

Assoc. Prof. Dr. Zita Bartkevičiūtė (Lithuanian Veterinary Academy, biomedical sciences, zootechny – 13B).

This doctoral dissertation will be defended on 18 November 2005 at 1 p.m. at the Lithuanian Veterinary Academy, the I auditorium.

Address: Tilžės 18, 47181 Kaunas, Lithuania

The summary of the doctoral dissertation was sent on 18th October 2005 according to the confirmed address list. This dissertation is available at the libraries of the Lithuanian Veterinary Academy and LVA Veterinary Institute.

LIETUVOS VETERINARIJOS AKADEMIJA

Jonas Laugalis

KARVIŲ DIDŽIOJO PRIEŠKRANDŽIO ANAEROBINĖS MIKROFLOROS IR FERMENTACINIŲ PROCESŲ TYRIMAI

Daktaro disertacijos santrauka
Biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina (12B)

Kaunas, 2005

Disertacija rengta 2001 – 2005 metais Lietuvos veterinarijos akademijos Anatomijos ir fiziologijos katedroje, Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame centre.

Mokslinis vadovas –

e. prof. p. dr. Antanas Sederevičius (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B).

Konsultantė –

dr. Ingrida Monkevičienė (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B).

Disertacija ginama Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarinės medicinos krypties taryboje:

Pirmininkė –

doc. dr. Judita Žymantienė (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B).

Nariai:

e. prof. p. dr. Bronius Bakutis (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B);

doc. dr. Jurgis Kulpys (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, zootechnika – 13B);

e. prof. p. dr. Jūratė Šiugždaitė (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B);

prof. habil. dr. Vytautas Tarvydas (LVA Gyvulininkystės institutas, biomedicinos mokslai, zootechnika – 13B).

Oponentai:

prof. habil. dr. Justinas Antanas Dobilas (Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina – 12B);

doc. dr. Zita Bartkevičiūtė (Lietuvos veterinarijos akademija, biomedicinos mokslai, zootechnika – 13B).

Disertacija bus ginama viešame Veterinarinės medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2005 m. lapkričio 18 d. 13 val. Lietuvos veterinarijos akademijos I auditorijoje.

Adresas: Tilžės g. 18, 47181 Kaunas

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2005 m. spalio 18 d. pagal patvirtintą adresų sąrašą. Disertaciją galima peržiūrėti Lietuvos veterinarijos akademijos ir LVA Veterinarijos instituto bibliotekose.

ABBREVIATIONS

a. –	acid
Another sp. –	Another species
<i>Butyrivibrio f.</i> –	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
CBC –	cellulolytic bacterial count
DM –	dry matter
fig. –	figure
gr. –	group
LFBC –	lactate fermenting bacterial count
LVA –	Lithuanian Veterinary Academy
OM –	organic matter
<i>Prevotella r.</i> –	<i>Prevotella ruminicola</i>
TBC –	total bacterial count
VFA –	volatile fatty acids

INTRODUCTION

For the maintainance of physiological processes and production synthesis animals are not able to use effectively all the nutritional substances of the forage. These processes greatly depend on ratio of forage nutritional substances, their digestibility, physiological state of the animal and especially important role plays the activity of microflora and microfauna in the rumen (Gordon, Phillips, 1993; Kadarik, 1996; Ozutsumi et al., 2005; Santra, Karim, 2002). Microorganisms found in the rumen fluid are able to digest about 40–80 % of proteins, 60–70 % of celluloses, 80–90 % of starch and other soluble carbohydrates (Südekum, 1999; Weimer, 1998; Лапшин и др., 2003). On the other hand, microflora of the rumen during metabolic processes produce a number of vitally important substances (Jukna ir kt., 2004). In case if this activity is disturbed, the forage digestibility weakens as well (Kadarik, 1996).

An organism of the ruminants is considered to be a quite complicated symbiotic association between the animal and the microorganisms (Gobius et al., 2002; Russell, Rychlik, 2001; Лаптев, 1995; Weimer et al., 1999). There is a great variety of factors effecting the activity of rumen microflora. An animal supplies the microbial ecosystem with the substrate, controls temperature, pH, removes produced soluble products acting as inhibitors and indigestible residual parts of the forage (Mackie et al., 2000). Particular features of the substrate are of great importance on the condition of the existence of the microbiological composition in the rumen and the ecosystem itself, also, it is a catabolytic mechanism of regulation (Dehority et al., 1997).

The investigation of the direct correlation among forage and quantitative and qualitative composition of microorganisms is a quite complicated task, however, in the organism of a healthy animal forage undoubtedly plays very important and even essential role on the microbiological composition. Microorganisms cause the effectivity of forage components decomposition (Pakšytė, Matusevičius, 2003). A great variety of microbial species ensure the most effective decomposition of forage components (Krause, 2002). The interaction of forage and microbiological ecosystem is very complicated and particular forage structural components as well as their ratio, intervals between feeding, time after feeding and a lot of other factors greatly effects not only particular bacterial species, but the relationships among separate groups (Laugalis ir kt., 2004; Петров и др., 1998).

When animals are fed forage of poor quality and the ratio of nutritional substances in it is irrelevant, the metabolism of the organism is disturbed, functional capacity of the digestive system weakens, changes of the microbial count and species composition in the rumen (Lindgren, 1996). When dairy cows are given such forage for a longer time insufficient amount of nutritional substances in the rumen cause weakening of fermentative processes in the rumen (Baran, 1997; Lindgren, 1996; Sederevičius, Želvytė, 1996). These factors lead to poor quality of production and higher cost (Jatkauskas, Vrotniakienė, 2002).

In order to increase milk production it seems necessary to ensure maximally effective activity of fermentative processes in the rumen of cows (Baran, 1997; Weimer et al., 1999). This factor is expected to lead to the effectivity of better forage assimilation and higher productivity. As was stated by I. Monkevičiene (1996) that the effectivity of fermentative processes in the rumen and richness of microbial population as well as their variety improve forage organic matter digestibility.

All the factors mentioned above prove the necessity to study rumen microbial composition in dairy cows, when they are fed rations typical for our country, to study more modern feeding technologies especially taking into consideration technologies commonly used in the EU. It would ensure favorable conditions of microbial composition regulation in the rumen and optimal digestibility in order to reach higher milk production.

The aim of the research

To define the dependence of anaerobic microflora and fermentative processes in the rumen fluid of dairy cows on the rations of different composition and nutritional value as well as on feeding technologies.

The tasks of the research

1. To study composition of the anaerobic microflora in the rumen fluid of cows, fermentative parameters and organic matter digestibility, when cows are fed rations of different composition and nutritional value and to complete comparative evaluation of these parameters:

- a) during the indoor period when cows are fed balanced rations of different type and composition;
- b) during the indoor period when cows are fed rations of different energetic and nutritional value;
- c) during the indoor period and period on pasture when cows are fed balanced rations.

2. To analyse the composition of anaerobic microflora in the rumen fluid, fermentative parameters and organic matter digestibility and to complete comparative evaluation when cows are fed balanced ration of all forages mixture during the indoor period.

Novelty of the research

1. During the experiments was defined composition of the anaerobic microflora in the rumen fluid of dairy cows and carried out its comparative evaluation when cows were fed the rations of different composition and nutritional value and different feeding technologies were applied.

2. The effect of biochemical parameters in the rumen fluid of dairy cows on their bacterial count and composition was also studied.

3. During the experiments great attention was paid to the dependence of various forages organic matter digestibility *in vitro* on the amount and composition of the anaerobic microflora in the rumen fluid of dairy cows.

4. The comparative evaluation of different forages digestibility *in vitro* was carried out in variable microbiological and biochemical conditions of the rumen fluid.

Practical importance

1. At the Research Center of Digestive Physiology and Pathology, Department of Anatomy and Physiology of LVA was implemented method for the cultivation of rumen obligative anaerobes cultivation.

2. Biochemical and microbiological parameters of the rumen fluid of dairy cows, composition of anaerobic microflora, its effect on the activity of fermentative processes when dairy cows are fed rations of different composition and nutritional value, applying different feeding technologies were studied.

METHODS OF THE EXPERIMENTS

The research was carried out according to the scheme given in figure 1 during four experimental stages (table 1).

An experimental part of the research has been completed during 2001–2005 year at the Research Center of Digestive Physiology and Pathology of LVA, the Center of LVA Practical Training and Experiments and the Institute of Animal Husbandry. The experiments were carried out with Lithuanian Black&White (B&W) cows during the indoor and on pasture period. 5 groups of experimental cows were formed. During the experimental time the cows were fed rations of different composition, energetic and nutritional value, different feeding technologies were applied. The groups of experimental cows were formed by the principle of analogous, taking into consideration the age, health state, time of calving and productivity. Each group contained 6 cows. The age of cows was 3–7 years, their weight 500–550 kg, they were clinically healthy and of average condition.

IA, IB, II and IV groups of cows were tied, daily given constitutional ration for 2 hours, fed individually, were given water from automatic drinking stations, milked twice daily (at 4 a.m. and 4 p.m.). The cows of the III group were kept on cultural pastures. They were taken indoor twice daily for milking and giving composite forage. The experiments were carried out in four stages, which are presented in table 1.

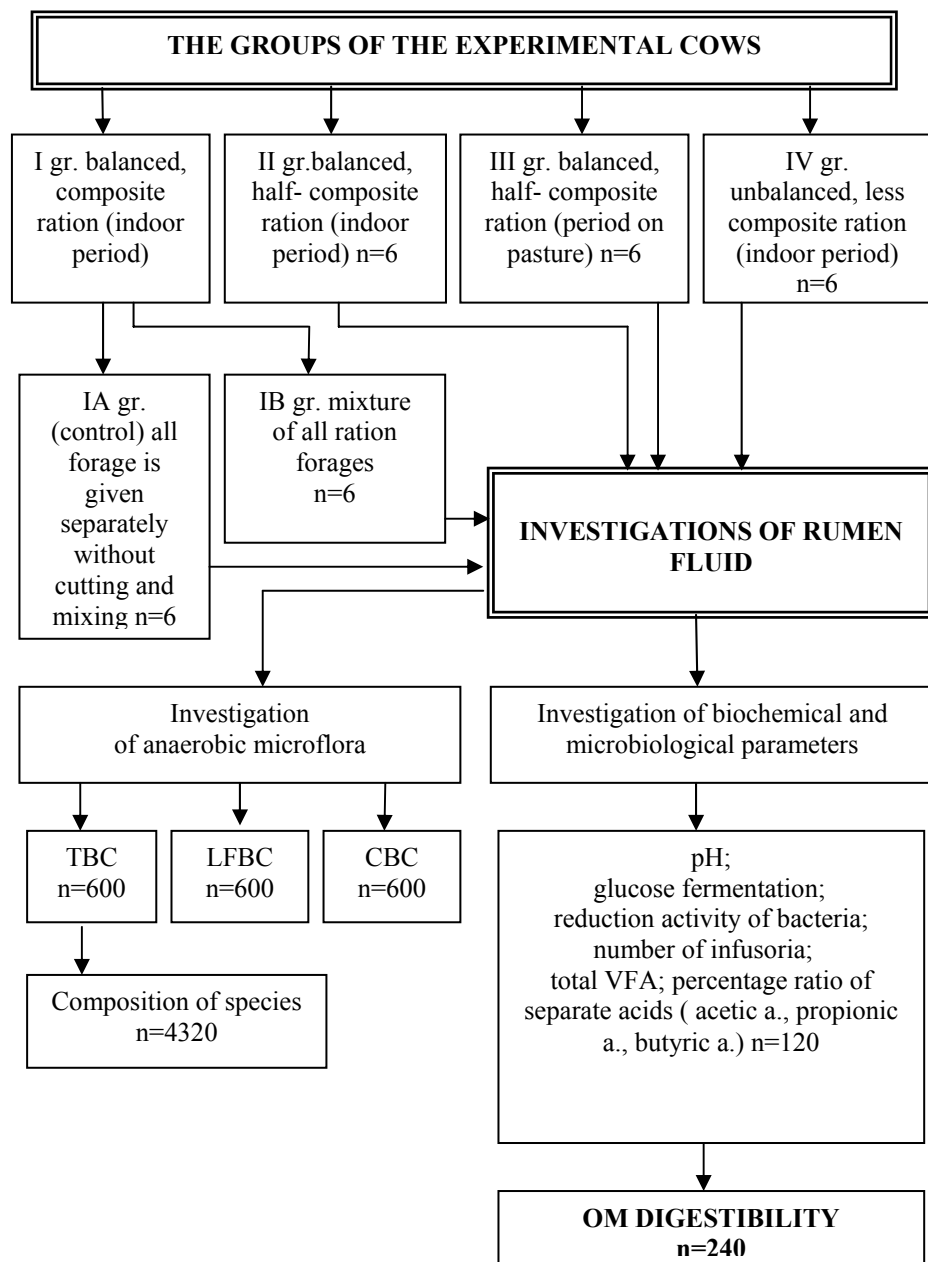


Fig. 1. An experimental design

Feeding of the experimental cows. The ration for the IA, IB, II and III groups of cows was formed according to the norms, generally accepted in our Republic (Tarvydas et. al., 1995) and presented in table 2. The cows were fed at 5 a.m. and 5 p.m.

The cows of the control IA group were fed balanced according to the crude protein and metabolizable energy ration, the forage was not mixed and cut. All the forage was given separately. The cows of IB group were given the same ration, which was mixed and cut by the van-mixer OptiMix™ (No. of the equipment – 902452–80 12 m³ SC (2), 2002). The composite forage was mixed with mineral vitamin supplements and given individually. The daily ration of forage mixture was given twice daily. In the ration for the IA and IB prevailed haylage of permanent grass and composite forage, which respectively made 30.12 % and 35.28 % of the ration DM.

The cows of the II group were fed mayze silage and composite forage as well as mineral – vitamin supplements. In this ration mayze silage made 75 %, and composite forage – 24.57 % of ration DM.

The cows of the III group were on cultural pastures (table 2). Their ration mainly contained of 64.95 % DM, consisted of grass from the grasslands and pastures and 27.77 % – composite forage.

The cows of the IV-th group were fed unbalanced according to crude protein and matabolizable energy ration (table 2) in which prevailed barley straw and silage of permanent grass (respectively it made 41.3 % and 37.92 % of ration DM). Molasses and composite forage were given individually to the each cow. Composite forage and mineral - vitamin supplements were given individually for the cows of the III and IV groups as well.

Methods of forage mixture preparation of all rations. The cows of the IB group were fed with a van - mixer OptiMix™ (No – 902452–80 12 m³ SC (2), 2002) cut mixture of all ration constituents. By this equipment forage parts are cut to 2–3 cm size and mixed into smooth mass. Sampling, mixing and cutting for one feeding takes about 30–40 min.

A van – mixer, the volume of which is 8 m³ was loaded in the following order: 1) saladine; 2) hay; 3) straw; 4) slices of sugar beets; 5) mayze silage; 6) haylage of permanent grass. The portion of the total ration mixture for the IB group of cows was given twice daily driving a van – mixer by feeding path.

Table 1. **Stage of the experiment**
1 lentelė. **Bandymų etapai**

No. of the stage Etapo nr.	The aim Tikslas	Group of cows Karvių grupė	Feeding Šėrimas	Parameters studied Ištirti rodikliai
I.	To compare the effect of two balanced rations (with different ration composition and type) on quantitative and qualitative composition on the rumen microflora and biochemical and fermentation indicators and OM digestibility during the indoor period Palyginti dviejų subalansuotų (skiriasi racionų sudėtis ir tipas) racionų įtaką melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio mikrofloros kiekybinei ir kokybinei sudėčiai, biocheminiams ir fermentaciniams rodikliams bei OM virškinamumui tvartiniu laikotarpiu	IA control gr. IA kontrolinė gr. II experimental gr. II bandomoji gr	Balanced ration of the indoor period (composite) Tvirtinio laikotarpio subalansuotas racionas (koncentratinis) Balanced ration of the indoor period (half composite) Tvirtinio laikotarpio subalansuotas racionas (pusiau koncentratinis)	TBC, LFBC, CBC, Bacterial species composition, pH, Glucose fermentation reaction, reduction activity of bacteria, number of Infusoria, total amount of VFA, percentage ratio of different acids (acetic a., propionic a., butyric a.), OM digestibility.
II.	To compare the effect of the balanced and unbalanced ration during the indoor period on quantitative and qualitative composition on the rumen microflora and biochemical and fermentation indicators and OM digestibility in dairy cows Palyginti tvartinio laikotarpio subalansuoto ir nesubalansuoto raciono įtaką melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio mikrofloros kiekybinei ir kokybinei sudėčiai, biocheminiams ir fermentaciniams rodikliams bei OM virškinamumui	IA control gr. IA kontrolinė gr. IV experimental gr. IV bandomoji gr	Balanced ration of the indoor period (composite) Tvirtinio laikotarpio subalansuotas racionas (koncentratinis) Unbalanced ration of the indoor period (Less composite) Tvirtinio laikotarpio nesubalansuotas racionas (mažai koncentratinis)	BBS, LFBS, CBS, bakterijų rūšinė sudėtis, pH, gliukozės rūgimo reakcija, redukcinis bakterijų aktyvumas, infuzorių skaičius, bendras LRR kiekis, atskirų rūgščių procentinis santykis (acto r.,

III.	To compare the effect of the balanced ration during the indoor period and balanced ration on pasture on quantitative and qualitative composition on the rumen microflora and biochemical and fermentation indicators and OM digestibility during the indoor period Palyginti subalansuoto raciono tvartiniu laikotarpiu ir subalansuoto ganyklinio raciono įtaką melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio mikrofloros kiekybinei ir kokybinei sudėčiai, biocheminiams ir fermentaciniams rodikliams bei OM virškinamumui	IA control gr. IA kontrolinė gr. III experimental gr. III bandomoji gr	Balanced ration of the indoor period (composite) Tvirtinio laikotarpio subalansuotas racionas (koncentratinis) Balanced ration of the period on pasture (half composite) Ganyklinio laikotarpio subalansuotas racionas (pusiau koncentratinis)	propiono r., sviesto r.), OM virškinamumas
IV.	To study the effect of different feeding technologies on the quantitative and qualitative composition of cows rumen, biochemical and fermentation processes and OM digestibility during the indoor period Ištirti skirtingų šėrimo technologijų įtaką melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio mikrofloros kiekybinei ir kokybinei sudėčiai, biocheminiams ir fermentaciniams rodikliams bei OM virškinamumui tvartiniu laikotarpiu	IA control gr. IA kontrolinė gr. IB experimental gr. IB bandomoji gr.	Balanced ration of the indoor period (composite) Tvirtinio laikotarpio subalansuotas racionas (koncentratinis) Total ration mixture (balanced, composite ration) Visų raciono pašarų mišinys (subalansuotas racionas, koncentratinis)	

Table 2. **Rations of the experimental cows**
2 lentelė. **Bandomųjų karvių racionai**

Forage Pašarai	IA, IB groups/ grupės (kg)	II group/ grupė (kg)	III group/ grupė (kg)	IV group/ grupė (kg)
Grass from cultural pastures and grasslands Kultūrinių pievų ir ganyklų žolė	–	–	<i>ad libitum</i> (average/ vid. 60kg)	–
Haylage of permanent grass Daugiamečių žolių šienainis	12	–	–	–
Silage of permanent grass Daugiamečių žolių silosas	–	–	–	17
Mayze silage Kukurūzų silosas	12	50	–	–
Hay Šienas	2	–	–	–
Barley straw Miežinių šiaudai	1	–	–	5.2
Saladine Saladinas	4	–	10	–
Slices of sugar beets Cukrinių runkelių griežiniai	6	–	–	–
Composite forage Kombinuotieji pašarai	8	5	6.3	2.5
Mineral vitamin. supplements Mineral. vitamin. priedai	0.15	0.15	0.1	–
Molasses Melasa	–	–	–	0.14
Licking salt Laižomoji druska	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>
Ration contains: Racione yra:				
Dry matter, kg Sausųjų medžiagų, kg	19.4	17.4	19.4	10.4
Crude protein, g Žaliųjų proteinų, g	2785	2332	2785	570
Metabolizable energy, MJ Apykaitos energijos, MJ	202	171	202	82.6
Sugar, g Cukraus, g	1940	1566	1940	341
Fiber, kg Ląstelienos, kg	3.88	3.65	3.88	2.95
Ca, g	124	104	124	54
P, g	91	78	91	21
Carotene, mg Karotino, mg	854	661	854	300

Methods of cows' clinical investigation. During the investigation of cows' health state were observed the following parameters: counted pulse, frequency of breathing, rumen contractions, was measured body temperature, observed appetite, rumination, diuresis and defecation.

Methods of the rumen investigation. Rumen fluid was taken by a throat – oesophagus stomach tube GDZ – 1 (Sederevičius, 2000) from the caudoventral part of the rumen. Sampling was carried out 3 hours after morning feeding. Total bacterial count (TBC), lactate fermenting bacterial count (LFBC) and cellulolytic bacterial count (CBC) were investigated in the rumen fluid, the preliminary identification of these microbial forms was completed according to the method offered by N. O. van Gylswyk (1990) for obligative anaerobes cultivation. The rumen pH was measured by an electronic method using a pH-meter „CP-315“ (Sederevičius et al., 2001). The number of infusoria was calculated in 1 ml of rumen fluid using a Fuks-Rozental chamber (Sederevičius et al., 2001). The number of infusoria and mobility were studied according to the method of J. A. Schultz (1971). Bacterial reduction activity was evaluated by G. Dirksen (1969) method, and reaction of glucose fermentation was studied by Einhorn sacharometer according to the method, described by J. Bakūnas (2004). Total amount of VFA was defined by the distillation of the rumen fluid in Markgam equipment as was suggested by B. B. Цюпко М. and B. Бепыс (1968), and the percentage ratio of different acids was studied by a gas chromatograph „Chrom-31“. On the basis of these data rumen fermentation activity was evaluated.

Method of anaerobic microflora investigation. The following parameters were studied in the rumen fluid of cows: total bacterial count, lactate fermenting bacterial count, cellulose fermenting bacterial count and preliminary composition of species according to the method, created by N. O. van Gylswyk (1990) for the cultivation of obligate anaerobes.

The essence of this method – cultivation of anaerobes in special tubes (Hungate Type Anaerobic Culture Tube), tightly closed by special stoppers impermeable to oxygen (O₂). Anaerobic condition in the tubes is ensured filling them especially clean gas – carbon dioxide (CO₂) or nitrogen (N₂). Oxygen from this gas is removed passing required gas (CO₂ or N₂) hydrogen (H₂) produced by a special hydrogen generator through a special heating furnace (350°C), in which special equipment filled with copper filing fitted. The removal of oxygen occurs while contacting with reduced copper. All dilutions and injections of fluid are made by special sterile syringes.

In order to study total bacterial count rumen fluid medium was supplemented by 0.5 g of glucose, starch and xylan, for cellulolytic bacteria instead of carbohydrates cellulose was added to the basic medium, and for lactate fermenting bacteria – NaD and NaL lactate. 10 g of freshly collected, unfiltered rumen fluid is diluted by anaerobic dilutant produced of distilled water, mineral solution No.1 (K₂HPO₄, H₂O), mineral solution No. 2 (K₂HPO₄, NaCl, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄·7H₂O, H₂O) and indigocarmine. The mixture is homogenized for 30 s, passing CO₂ gas, and from

the required dilution appropriate medium is inoculated. Rumen fluid is injected into special tubes for the cultivation of anaerobes. The tubes are incubated at 39°C temperature. Total bacterial count is defined after three days of cultivation, lactate fermenting bacteria – after four days and cellulolytic bacteria – after seven days. From each tube for total bacterial count were randomly taken no less than 30 colonies and microscope preparations were prepared. These preparations were used for the preliminary identification of bacteria morphologically and according to Gram reaction.

Methods and techniques of forage chemical composition investigation. During this part of the experiment were taken ordinary samples of grass forage and average samples for the laboratory analysis and zootechnic analysis were formed (Juškienė, 2003). During the evaluation of forage chemical composition were studied the following parameters: dry matter, crude protein, crude fiber, crude fat and crude ash.

Method of forage organic matter digestibility evaluation. Forage OM digestibility was defined by the I-stage *in vitro* method (Monkevičienė, 1999). During the experiments OM digestibility was studied when cows were fed rations of different composition and nutritional value. Different feeding technologies were applied. In order to study OM digestibility forage samples were incubated with the rumen fluid from each group of experimental cows and the activity of fermentation processes was analyzed.

Statistical analysis. The data of the experiments were statistically evaluated by the method of statistical analysis statistic packet „R 1.7.1.“ (<http://www.r-projekt.org>) and *WinExel* program. Arithmetic means of the parameters ($\bar{x}$), average square deviations (σ), coefficients of variation (C_v), errors of the arithmetic means (m_x) were calculated. The reliability of arithmetic means (P) was defined according to Student (Juozaitienė, Kerzienė, 2001). The coefficients of the rumen fermentative, biochemical and microbiological parameters correlation (r) and determination (r^2) as well as their reliability were also calculated. Dispersive analysis (ANOVA) has demonstrated the effect of cows' individual features and feeding technologies as well as the effect of different rations on the composition of anaerobic microflora. In order to define these parameters were formed statistical models and calculated the effect of feeding technologies and ration (%) on the parameters investigated and their statistical reliability was evaluated. The results are considered to be statistically reliable when $P < 0.001$, $P < 0.005$, $P < 0.01$, $P < 0.025$, $P < 0.05$; the results are unreliable, when $P > 0.05$, $P > 0.1$, $P > 0.2$, $P > 0.4$, $P > 0.5$.

RESULTS OF THE INVESTIGATIONS

The results of experimental cows clinical investigation. The investigation of 30 experimental cows according to a common plan of clinical investigation demonstrated that the cows of all groups were clinically healthy. At the beginning of the experiments and during the experiments the body temperature of the cows

changed from +38.4 to +38.9°C, pulse frequency was 68.4–73.5 k/min, frequency of breathing – 18.6–19.8 k/min, rumen contractions made 8–11 k/5min, diuresis (10–12 k/daily) and defecation (12–18 k/daily) wasn't irregular.

The results of the IA group (control) biochemical, fermentative and microbiological parameters in the rumen investigation. The results of the rumen fluid microbiological and biochemical parameters and OM digestibility of the control (IA) group of cows fed balanced ration are presented in tables 3–5 and pictures 2–5. pH in the control group of cows fed balanced ration (composite type) during the indoor period changed from 6.37 to 7.0, bacterial reduction activity – 131.5–169.5 s, glucose fermentation reaction was 0.75–1.38 cm³/h. The number of infusoria in the rumen fluid of these cows was 5.14–5.29 log/ml of the rumen fluid, total amount of VFA– 69.5–112 mmol/l. An average percentage ratio of VFA was: acetic acid– 67.32 mol%, propionic acid – 17.37 mol% and butyric acid – 11.08 mol%. In this group of cows was defined statistically reliable ($P < 0.01$), negative, strong correlation among the ratio of acetic and propionic and acetic and butyric acids. During the investigation of the microbiological parameters in the control group of cows total bacterial count was 10.85–10.98 log/ml, lactate fermenting bacterial count – 7.34–7.44 log/ml, cellulolytic bacterial count – 6.99–7.02 log/ml. Positive, statistically reliable ($P < 0.01$) but rather weak relation was defined between total bacterial count and cellulolytic bacterial count. The relation between pH and lactate fermenting bacteria was negative, statistically reliable ($P < 0.05$).

In the rumen fluid of the control group of cows species of *Prevotella ruminicola* bacteria made about 32.64 %, *Butyrivibrio fibrisolvens* – 38.31 %, other species – 29.05 % of total bacterial count (fig. 5.). In this case was defined negative, statistically reliable ($P < 0.01$), correlation between *Prevotella ruminicola* and *Butyrivibrio fibrisolvens* and between *Prevotella ruminicola* and other bacterial species. Coefficient of determination and microbiological parameters were statistically unreliable ($P > 0.05$). Organic matter digestibility in the control group of cows was: hay – 66.30–67.63 %, silage – 70.70–72.43 %, grass– 79.31–81.25 %. The ruminal pH, microbiological and biochemical parameters of these cows corresponded to the physiological norm (Тараканов, 2002).

The results of the experimental cows' biochemical, fermentative and microbiological parameters in the rumen. The results of the rumen microbiological and biochemical parameters and OM digestibility of all experimental cows are presented in tables 3–5 and figures 2–5 .

The results of rumen pH investigation in the experimental cows. It was defined that in the rumen fluid of the cows of the II experimental group, fed maize silage and composite forage during the indoor period rumen pH was by 0.46 lower ($P < 0.001$), if to compare to the control (IA) group. In the IV group of cows fed unbalanced ration during the indoor period, rumen pH in the group of cows fed unbalanced ration during the indoor period rumen pH was by 0.41 higher ($P < 0.005$), if to compare to the control group, given balanced ration. In the experimental cows of the IB and III group rumen pH differed inconsiderably

($P>0.1$) from the control group (table 3).

The results of bacterial reduction activity in the rumen fluid of cows. We succeeded to define that bacterial reduction activity in the rumen fluid of the IB group cows, given balanced mixture of all ration forages was 29.46 s ($P<0.05$), and in the III group of cows fed on cultural pastures and grasslands – by 63.36 s higher ($P<0.001$) if to compare to the control (IA) group. On the other hand, bacterial reduction activity in the rumen fluid of the IV group of cows fed unbalanced ration during the indoor period tended to be lower than 148 s ($P<0.001$) if to compare to the control group of cows, fed balanced ration (table 3). In the II group of cows this rumen parameter differed only by 19.89 s ($P>0.05$) from the control group.

Table 3. **Biochemical parameters in the rumen of the experimental cows and number of infusoria**

3 lentelė. **Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio biocheminiai rodikliai ir infuzorių skaičius**

Group Grupė	Parameters Rodikliai			
	pH	Reduction activity of bacteria, s Bakterijų redukcinis aktyvumas, s	Glucose fermentation, cm ³ /h Gliukozės rūgimas, cm ³ /h	Number of protozoa, log/ml Infuzorių skaičius, log/ml
IA(control/ kontrolinė)	6.66±0.07	133.75±10.72	1.08±0.08	5.17±0.02
IB	6.72±0.06	104.29±9.82	1.37±0.09	5.07±0.04
II	6.20±0.02	113.86±13.27	1.58±0.20	5.11±0.02
III	6.78±0.05	70.39±11.55	1.67±0.14	5.41±0.05
IV	7.07±0.10	281.75±31	0.51±0.06	5.29±0.02

The results of the glucose fermentation investigation in the rumen fluid of the experimental cows. Studies of the effect of different feeding technologies with variable nutritional value on the glucose fermentation evidently demonstrated that more active fermentation was observed in the IB, II and III groups of cows in comparison with the control (IA) group (table 3). The most efficient glucose fermentation reaction was found in the rumen fluid of the III group of experimental cows, when they were on pasture. The amount of produced gas was by 0.59 cm³/h higher ($P<0.001$) than in the control group of cows fed balanced ration during the indoor period. During glucose fermentation reaction in the II group of cows, fed maize silage and composite ration gas production made 0.5 cm³/h ($P<0.05$), and in the IB group, given mixture of all ration forages – by 0.29 cm³/h higher ($P<0.01$), if to compare to the control group. When the experimental cows of the IV group were

fed unbalanced ration during the indoor period gas production decreased by 0.57 cm³/h ($P<0.001$) than when cows were fed balanced ration at the same period of time (IA gr.), (table 3). It can be also stated that correlation between bacterial reduction activity and glucose fermentation was negative, averagely strong ($P<0.05$), and in the III group – negative and strong ($P<0.01$).

The results of infusorial count investigation in the rumen fluid of experimental cows. The number of infusoria in the III experimental group cows on pasture was 0.24 log/ml ($P<0.001$), while in the IV group – by 0.12 log/ml higher ($P<0.001$) if to compare to the control (IA) group of cows. In the II group of cows fed maize silage and composite forage and in the IB group, given balanced mixture of all ration forages number of infusoria in the rumen fluid was respectively by 0.06 log/ml ($P<0.05$) and 0.1 log/ml ($P<0.05$) lower than in the control group of cows. It was defined during this stage of the experiments that the highest count of infusoria in the rumen fluid of cows was observed when they were on pasture or were fed unbalanced ration during the indoor period (table 3). Positive correlation between rumen pH and the number of infusoria was stated as strong in the control group ($P<0.01$), the IB ($P<0.05$) group and the II ($P<0.01$) group of cows.

The results of the amount of total VFA in the rumen fluid of experimental cows. These results and the results of their percentage ratio are presented in table 4.

The production of VFA fermentation in the IB rumen fluid of cows exceeded this parameter in the control group of the (IA) group of cows fed the same but uncut and unmixed rations by 19.04 mmol/l ($P<0.005$). Total amount of VFA in the II group of cows was by 18.99 mmol/l higher ($P<0.001$) than in the control group, and in case of cows fed on pastures and cultural grasslands (III gr.) the amount of VFA exceeded the results of the control group only by 7.72 mmol/l ($P>0.2$). The production of VFA in the rumen fluid of the IV group of cows was by 15 mmol/l lower ($P<0.05$), in comparison with the control group. Negative, averagely strong correlation between pH and total amount of VFA ($P<0.05$) was defined in the control and IB groups. Also negative, but quite strong correlation ($P<0.01$) was observed in the IV group, given unbalanced ration. Besides, negative correlation of average strength ($P<0.05$) was defined between reduction activity of bacteria and total amount of VFA in the control and the IV groups of cows. The highest production of VFA can be stated in the rumen fluid of the IB experimental group of cows, fed balanced mixture of all ration forages, the lowest – in the IV group of cows fed unbalanced ration (table 4).

Percentage ratio of separate VFA in the rumen fluid of the experimental cows. Studies of the effect of different feeding technologies and rations of various composition and nutritional value on the percentage ratio of separate VFA in the rumen of cows led to the conclusion that when cows of the IB group were fed balanced mixture of all ration forages, acetic acid concentration was by 2.61 mol% lower ($P<0.001$), propionic acid – by 2.03 mol% higher ($P<0.005$) if to compare to the control (IA) group of cows, given the same ration formed of uncut and unmixed forages (table 4). In the IB group of cows was observed positive correlation of

average strength ($P<0.05$) between the number of infusoria and the amount of acetic acid in the rumen fluid. In case of feeding the II group of cows maize silage and composite ration the amount of acetic acid decreased by 6.75 mol% ($P<0.001$), and the amount of butyric acid increased by 2.91 mol% ($P<0.001$) in comparison with the control group.

Table 4. Total amount of VFA and percentage ratio in the rumen

4 lentelė. Bendras LLR kiekis ir jų procentinis santykis didžiojo prieskrandžio turinyje

Parameters Rodikliai	The groups of the experimental cows Bandomųjų karvių grupės				
	IA (control/ kontrolinė)	IB	II	III	IV
Total VFA (mmol/l) Bendras LLR kiekis (mmol/l)	85.67±4.39	104.71±3.96	104.66±2.01	93.39±2.20	70.67±5.55
VFA (mol%) LLR procentinis santykis (mol%):					
acetic acid acto rūgštis	67.32±0.40	64.71±0.45	60.57±0.44	65.20±1.38	72.55±1.68
propionic acid propiono rūgštis	17.37±0.28	19.40±0.52	18.09±0.26	17.30±0.46	16.15±1.18
butyric acid sviesto rūgštis	11.08±0.29	11.54±0.17	13.99±0.31	12.78±0.77	7.91±0.60

Comparison of the percentage ratio of volatile fatty acids in the control and the III group of cows in their rumen fluid demonstrated that the amount of butyric acid during the period on pasture was by 1.7 mol% higher ($P<0.05$). Differences between percentage ratio of acetic and propionic acid was inconsiderable ($P>0.1$), (table 4). When cows of the IV group were fed unbalanced ration during the indoor period, the amount of acetic acid in the rumen fluid increased by 5.23 mol% ($P<0.01$), butyric acid decreased by 3.17 mol% ($P<0.001$) if to compare to the control group. Negative, statistically reliable correlation between acetic and propionic acid was stated in the control, IB, III, IV experimental groups of cows and in all groups of cows between acetic and butyric acids in the rumen fluid. The

correlation between acetic and propionic acids is considered to be of average strength in the IB group of cows, given balanced ration of all forages mixture ($P<0.05$), while in the control, III and IV groups – this correlation tends to be strong ($P<0.01$). Correlation between acetic and butyric acids in the IB group of cows is of average strength ($P<0.05$), while it is quite strong ($P<0.01$) – in the control, II, III and IV groups.

The results of grass forage organic matter digestibility.

The results of hay OM digestibility investigation. These results are graphically presented in figure 2.

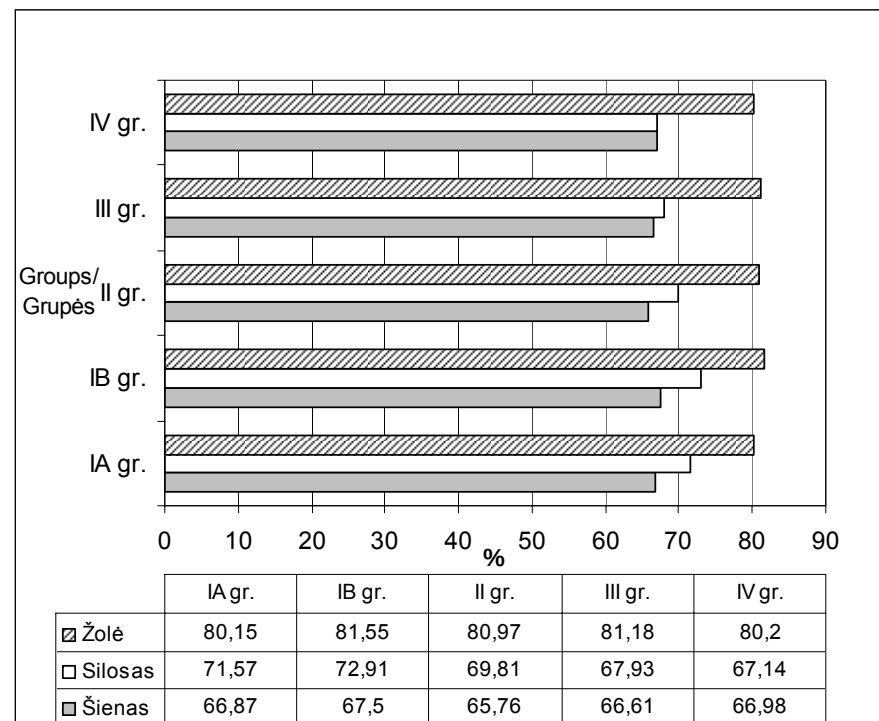


Fig 2. The effect of different rations and feeding technologies on grass forage OM digestibility

2 pav. Skirtingų racionų ir šėrimo technologijų įtaka žolinių pašarų OM virškinamumui

Analysis of hay organic matter digestibility from cultural grasslands and pastures by the *in vitro* method led to the conclusion that in all cases when cows were fed mixture of all forages ration it was the highest (fig. 2), if to compare to the

control (IA) group of cows fed uncut and unmixed rations. The increase made 1.61 % ($P<0.001$).

Investigation of the effect of different ration composition on OM digestibility demonstrated that when the cows of the II group were fed maize silage and composite forage hay OM digestibility was by 1.11 % lower ($P<0.005$) in comparison with the control group.

The differences among hay OM digestibility in the control, III and IV groups of the cows were statistically unreliable ($P>0.5$). What concerns coefficients of correlation between rumen fluid pH and hay OM digestibility, it can be stated that this correlation was quite strong ($P<0.01$), positive correlation between the IB and III groups, and in the II group – only of average strength ($P<0.05$). Positive correlation was defined between the number of infusoria and hay OM digestibility in the II group of cows, rather strong ($P<0.05$) – between total amount of VFA and hay OM digestibility – in the IV group of cows.

The results of silage OM digestibility. When silage of cultural grasslands and pastures was incubated with the rumen fluid of the experimental cows, it was defined that rations of different composition and nutritional value change forage OM digestibility, but the effect of feeding technologies is inconsiderable (fig. 2).

Silage OM digestibility in the II group of cows fed maize silage and composite forage was lower by 1.76 % ($P<0.001$), and in the III group of cows fed on pasture – by 3.64 % ($P<0.001$), if to compare to the control group (IA). In the IV group of cows, fed unbalanced ration during the indoor period silage OM digestibility was by 4.4 % ($P<0.001$) lower than in the control group. Silage OM digestibility in the control and IIB groups of cows differed inconsiderably ($P>0.4$), (fig. 2).

The results of grass OM digestibility. As it becomes evident from the first figure, grass organic matter digestibility *in vitro* was the highest, i.e. by 1.4 % higher ($P<0.01$) while incubating it with the rumen fluid of cows from the IB given balanced ration of the mixture of all forages than in case when the rumen fluid of the control group of cows (IA) was used for the incubation. When cows of the III group were fed on cultural grasslands and pastures, grass OM digestibility was by 1.03 % ($P<0.025$) higher if to compare to the control group of cows. Grass OM digestibility in the II and IV groups of experimental cows differed inconsiderably from the control group and the data were statistically unreliable ($P>0.1$).

The results of quantitative investigation of anaerobic microflora in the rumen of experimental cows.

The results of total bacterial count investigation. These results are presented in table 5. They evidently demonstrate that in the IB group of cows fed balanced ration of all ration forages mixture total bacterial count was by 0.31 log/ml higher ($P<0.001$), if to compare to the control (IA) group of cows fed the same, but uncut and unmixed ration. The differences of total bacterial count are graphically presented in figure 3. It was defined that mixture of all ration forages (IB gr.) had the effect of 70.7 % ($P<0.001$) on the total bacterial count in the rumen fluid of cows.

Table 5. **Microbiological parameters in the rumen of experimental cows**
5 lentelė. **Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio mikrobiologiniai rodikliai**

Group Grupė	Microbiological parameters Mikrobiologiniai rodikliai					
	Bacterial group composition (log/ml) Bakterijų grupinė sudėtis (log/ml)			Composition of bacterial species (%) Bakterijų rūšinė sudėtis (%)		
	TBC BBS	LFBC LFBS	CBC CBS	<i>P.</i> <i>ruminicola</i>	<i>B.</i> <i>fibrisolvens</i>	Another sp. Kitos rūšys
IA	10.92±0.01	7.39±0.02	7.02±0.01	32.64±1.91	38.31±1.59	29.05±1.60
IB	11.23±0.01	7.28±0.02	7.08±0.02	40.97±1.83	34.26±1.20	24.77±1.35
II	11.46±0.01	8.57±0.01	6.61±0.01	35.65±1.75	30.33±0.87	34.03±1.41
III	10.98±0.06	7.45±0.03	6.23±0.02	50.77±0.89	23.77±1.18	25.62±1.12
IV	10.11±0.04	7.15±0.02	7.18±0.02	24.32±1.24	45.84±1.10	29.87±1.29

In the II group of cows, fed maize silage and composite forage, total bacterial count increased by 0.54 log/ml ($P<0.001$) and this increase was caused by the ration 86.7 % ($P<0.001$), if to compare to the IV control group of cows given unbalanced ration. Total bacterial count in this group was by 0.81 log/ml lower ($P<0.001$), (table 5). In the III group of cows this count exceeded this parameter only by 0.06 log/ml of the control group of cows ($P>0.4$).

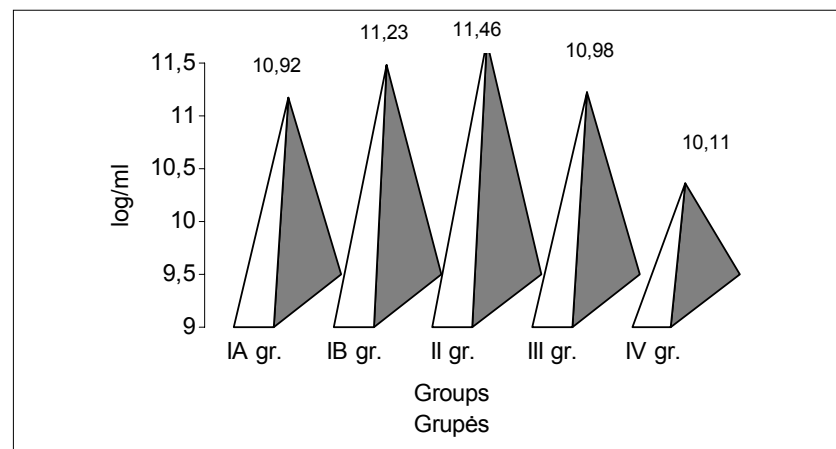


Fig 3. **The effect of different rations and feeding technologies on the total bacterial count in the rumen of cows**

3 pav. Skirtingų racionų ir šėrimo technologijų įtaka bendram bakterijų skaičiui karvių didžiojo prieskrandžio turinyje

The results of lactate fermenting bacteria investigation. These results are presented in table 5 and graphically described in figure 4. It was defined that in the IB group of experimental cows fed balanced ration of all forages mixture lactate fermenting bacterial count was by 0.11 log/ml lower ($P<0.001$) than in the control (IA) group of cows given uncut and unmixed the same ration. Lactate fermenting bacterial count in the IV group of cows fed unbalanced ration of the indoor period decreased by 0.24 log/ml ($P<0.001$), in the II group of cows, given maize silage and composite forage this count increased by 1.18 log/ml ($P<0.001$), if to compare to the control group (table 5). Evaluation of the results revealed according to the dispersive analysis, the ration formed of maize silage and composite forage had about 94.0 % ($P<0.001$) effect on the lactate fermenting bacterial count. In the III experimental group of cows fed on cultural grasslands and pastures, lactate fermenting bacterial count differed only by 0.06 log/ml ($P>0.2$) from the results of the control group. In the IV group of cows was observed negative and strong ($P<0.05$) and in the control group of cows negative correlation of average strength ($P<0.05$) between pH and lactate fermenting bacteria.

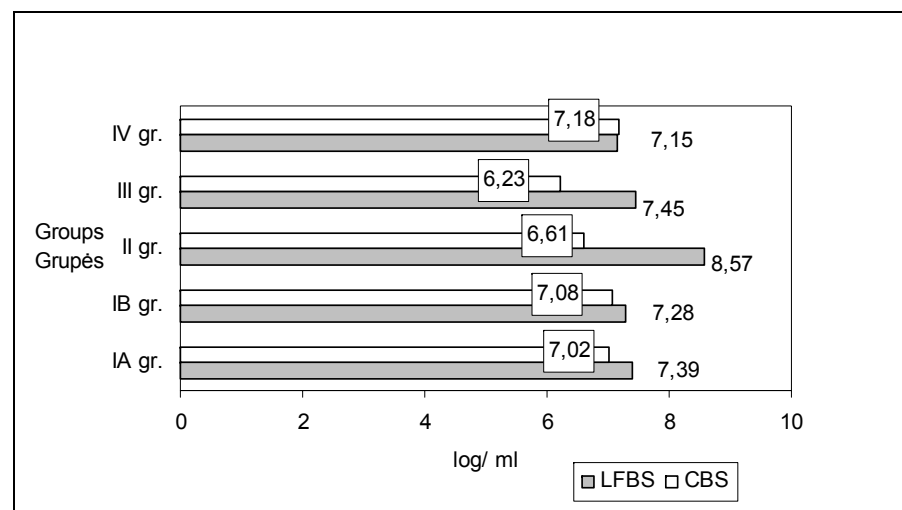


Fig 4. The effect of different rations and feeding technologies on the LFBC and CBC in the rumen of cows

4 pav. Skirtingų racionų ir šėrimo technologijų įtaka LFBS ir CBS bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje

The results of cellulolytic bacterial count. The results of cellulolytic bacterial count are presented in table 5 and graphically described in figure 4. It was defined during the experiments that in the IB experimental group of cows fed balanced ration of all forages mixture cellulolytic bacterial count increased by 0.06 log/ml

($P<0.005$), in comparison with the control (IA) group of cows. In the IV group of cows given unbalanced ration this count increased even by 0.16 log/ml ($P<0.001$). Evaluation according to the results of dispersive analysis revealed that CBC by 74 % ($P<0.001$) was negatively effected by unbalanced ration if to compare to the control group of cows. In the II group of cows fed maize silage and composite ration cellulolytic bacterial count decreased by 0.41 log/ml ($P<0.001$), 74.0 % ($P<0.001$) was effected by forage composition. The lowest cellulolytic bacterial count was defined in the rumen fluid of the III group of cows (fig. 4.). The rumen bacterial count in this case decreased by 0.79 log/ml ($P<0.001$), the effect of feeding made 87.5 % ($P<0.001$) of the effect if to compare to the control group of cows given balanced ration of the indoor period (table 5). The results of the experiments evidently demonstrate that that cellulolytic bacterial count in the rumen fluid of the experimental cows depended as on feeding technologies so on ration composition and nutritional value of it (fig. 4.). For the IB group of cows was defined positive, strong ($P<0.01$) and for the III group – positive averagely strong ($P<0.05$) correlation between rumen pH and cellulolytic bacterial count. The results of statistical analysis revealed negative strong correlation in the III group of cows ($P<0.01$) between cellulolytic and lactate fermenting bacterial count.

It was also defined that in the II group of cows correlation between total bacterial count and lactate fermenting bacterial count was negative, averagely strong ($P<0.01$) while in the III group of cows this correlation tended to be positive, but rather weak ($P<0.05$), and in the IV group – positive and strong ($P<0.01$) correlation among parameters mentioned. The definition of the correlation among total bacterial and cellulolytic bacterial count demonstrated positive, but rather weak correlation ($P<0.05$) in the control and the IB groups of cows and positive correlation of average strength ($P<0.01$) – in the IV group of cows while it tended to be negative and averagely strong ($P<0.01$) – in the III group of cows. The calculation of the coefficients of the determination among bacterial groups in the rumen, reliable determination was defined only between total bacterial count and lactate fermenting bacterial count in the IV group of cows when the determination is tended to be positive, but weak ($P<0.01$) and cellulolytic and lactate fermenting bacterial count in the III group of cows, when this parameter is positive and averagely strong ($P<0.01$).

The results of anaerobic microflora species composition investigation in the rumen fluid of the experimental cows. The results of anaerobic microflora species composition in the rumen fluid of the experimental cows are presented in table 5 and graphically described in figure 5. On the basis of these results was defined that in the rumen fluid of cows in the IB group of the experimental cows fed mixture of all ration forages, the percentage number of the bacterial species *Prevotella ruminicola* was by 8.33 % ($P<0.005$) higher, and in the III group of cows fed pasture ration this count increased even by 18.13 % ($P<0.001$), in comparison with the control (IA) group of cows. In the IV group of the experimental cows it tended to be by 8.32 % ($P<0.001$) lower than in the control group of cows, given balanced

ration during the indoor period (table 5).

It is necessary to state that the number of *Butyrivibrio fibrisolvens* species bacteria in the rumen fluid of the IB group of the experimental cows was by 4.05 % ($P<0.05$), the II group – by 7.98 % ($P<0.001$), the III group – by 14.54 % ($P<0.001$) lower if to compare to the control group. However, percentage ratio of *Butyrivibrio fibrisolvens* in the IV group of cows, fed unbalanced ration during the indoor period increased by 7.53 % ($P<0.001$) if to compare to the control group of cows.

It was defined during the experiments that in the IB group of cows fed balanced ration of all forages mixture, the percentage ratio of the bacteria belonging to other groups was by 4.28 % ($P<0.05$) lower, in the II group of cows this parameter in the rumen fluid II increased by 4.98 % ($P<0.025$), if to compare to the control group of cows. In the III and IV groups of cows the bacterial count belonging to other groups differed inconsiderably from the analogous results in the control group of cows ($P>0.1$).

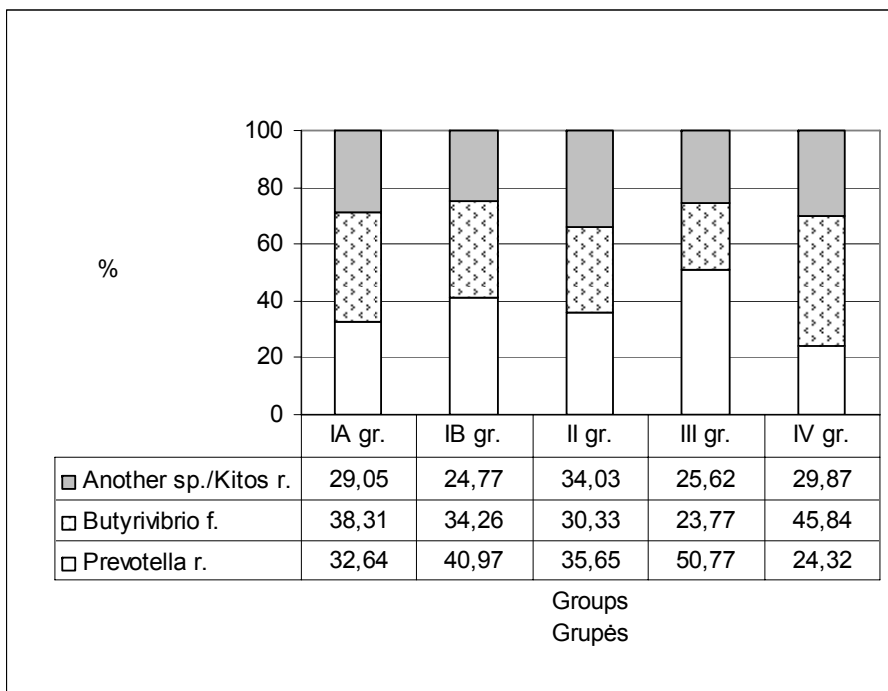


Fig 5. The effect of different rations and feeding technologies on the composition of species in the rumen fluid of the experimental cows

5 pav. Skirtingų racionų ir šėrimo technologijų įtaka bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros rūšinei sudėčiai

The results of the statistical analysis demonstrated that among separate bacterial species in the rumen fluid exist quite close relationship. In all groups of cows was defined negative correlation between the species of *Prevotella ruminicola* and *Butyrivibrio fibrisolvens*: in the IA, IB, and II groups – it was negative and strong ($P<0.01$), in the III and IV groups – negative, averagely strong, but the data were statistically unreliable. Among the species of *Prevotella ruminicola* and bacteria ascribed to other groups the correlation was negative as well: in the IA, IB, II groups – negative and strong ($P<0.01$), in the IV group – negative, averagely strong ($P<0.05$), in the III group – negative, averagely strong ($P>0.05$). Correlation among *Butyrivibrio fibrisolvens* species and other bacterial species was statistically reliable ($P<0.01$), negative and strong only in the III group of cows. Strong, positive correlation ($P<0.05$) was defined between the species of *Butyrivibrio fibrisolvens* bacteria and the rumen pH in the IV group of cows. During the investigation of bacterial species distribution in the rumen fluid of cows were defined two prevailing species: *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola*. To other groups of bacteria were ascribed all unidentified species.

CONCLUSIONS

1. Forage rations of different composition and nutritional value as well as different feeding technologies had an effect on the composition of anaerobic microflora and fermentative processes in the rumen fluid of dairy cows.

2. During the indoor period when cows were fed balanced half-composite ration TBC and LFBC in the rumen fluid tended to decrease while CBC and the number of infusoria decreased if to compare to the control group of cows. The results of dispersive analysis evidently demonstrated that this type of ration effected TBC, LFBC and CBC. Concerning composition of species – increased the number of unidentified bacteria, but number of *Butyrivibrio fibrisolvens* tended to be lower in comparison with the control group of cows.

2.1. The results of fermentative processes in the rumen of this group of cows led to the conclusion that pH was lower, glucose fermentation – more active, increased total amount of VFA, decreased hay and silage OM digestibility if to compare to the control group of cows.

3. During the indoor period when cows were fed unbalanced ration of less composite type, TBC and LFBC in the rumen decreased, while CBC and the number of infusoria were higher. Composition of species tended to differ as well – the number of *Butyrivibrio fibrisolvens* was higher and *Prevotella ruminicola* – lower, if to compare to the control group of cows. The results of dispersive analysis only proved that the decisive effect on TBC and CBC had ration composition and nutritional value.

3.1. Evaluation of the fermentative processes in the rumen led to the conclusion that in this group of cows pH was higher, reduction activity of bacteria – lower, the amount of gas produced during glucose fermentation decreased, the same happened

with the amount of total VFA. The percentage ratio of VFA demonstrated higher proportion of acetic acid and silage OM digestibility tended to be lower if to compare to the control group of cows. Negative correlation was observed among rumen pH, total amount of VFA and LFBC.

4. When cows were fed balanced ration of half-composite type on pasture cellulolytic bacterial count in the rumen decreased, but number of *Prevotella ruminicola* and infusoria increased if to compare to the control group of cows. The results of dispersive analysis proved that the decrease of CBC depended on ration composition. Negative correlation was observed between CBC and LFBC and between TBC and CBC.

4.1. Evaluation of the indicators of fermentative processes in the rumen defined that reduction activity of bacteria was more active, the amount of gas produced during glucose fermentation – higher, grass OM digestibility – better in comparison with the control group of cows.

5. During the indoor period when cows were fed balanced ration (composite type) of all forages mixture TBC and CBC in the rumen fluid of cows decreased while LFBC tended to be lower if to compare to the control group of cows. The results of dispersive analysis evidently demonstrate that the increase of TBC depended on feeding technologies. Besides, positive correlation was observed between TBC and CBC. Studies of species composition revealed that the prevailing species in the rumen of this group of cows was *Prevotella ruminicola* if to compare to the control group, given the same, but uncut and unmixed ration.

5.1. Analysis of the rumen indicators in this group of cows demonstrated that reduction activity of bacteria improved, glucose fermentation tended to be better, production of total amount of VFA and propionic acid was higher and OM digestibility of grass and hay was better if to compare to the control group of cows.

PROPOSAL

It is recommended to carry out the investigations of anaerobic microflora in cattle rumen fluid at the Research Center of Digestive Physiology and Pathology of LVA. These investigations create a possibility to study rumen anaerobic microflora more exactly and qualitatively in relation with fermentative processes when different rations and feeding technologies are used.

THE LIST OF REPORTS

1. Laugalis J., Želvytė R., Ramanauskienė J., Monkevičienė I., Sederevičius A., Makauskas S., Kantautaitė J. Melžiamų karvių, šeriamų skirtingomis technologijomis, didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros tyrimai. Veterinarija ir zootechnika. 2004. T. 25 (47). P. 16–20.

2. Laugalis J., Monkevičienė I., Želvytė R., Sederevičius A., Ramanauskienė J., Makauskas S., Kantautaitė J. Melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio turinio

rodiklių priklausomybė nuo šėrimo technologijų. Veterinarija ir zootechnika. 2004. T. 25 (47). P. 12–15.

3. Laugalis J., Monkevičienė I., Želvytė R., Sederevičius A., Oberauskas V. The investigation of anaerobic mikroflora species composition in the rumen cattle. Proceedings of international scientific conference. „Animals. Health. Food quality“. Jelgava, 2004. P. 161–167.

The reports about microorganisms of cattle digestive system published with the participation of the author

4. Želvytė R., Laugalis J., Sederevičius A., Monkevičienė I., Ramanauskienė J. Karvių didžiojo prieskrandžio turinio D– ir L– pieno rūgšties izomerų įtaka jų koncentracijai piene ir šlapime. Veterinarija ir zootechnika. 2003. T. 21 (43). P. 42–45.

5. Jukna Č., Jukna V., Šimkus A., Laugalis J. Probiotiko YEASTURE įtaka veršelių augimui, pašaro virškinamumui ir sveikatingumui. Veterinarija ir zootechnika. 2003. T. 22 (44). P. 40–43.

6. Želvytė R., Monkevičienė I., Sederevičius A., Laugalis J., Ramanauskienė J., Oberauskas V., Urbaitytė R. The effect of probiotic preparation Yeasture on the count of rumen bacteria, fermentative processes and forage organic matter digestibility in cattle rumen. Zbornik z vedeckeho seminara s medzinarodnou učasťou „V. Celoslovensky seminar z fyziologie živočichov“. Nitra, 2003. P. 307–310.

7. Kantautaitė J., Sutkevičienė R., Oberauskas V., Želvytė R., Monkevičienė I., Laugalis J., Sederevičius A. Kai kurių veiksnių įtaka liofilizuotų *Lactobacillus plantarum* ir *Lactobacillus fermentum* gyvybingumui. Veterinarija ir zootechnika. 2004. T. 28 (50). P. 92–96.

8. Kantautaitė J., Sederevičius A., Oberauskas V., Monkevičienė I., Sutkevičienė R., Laugalis J., Želvytė R. Probiotinių pienarūgščių bakterijų liofilizuojamų ir saugomų įvairiose apsauginėse terpėse gyvybingumas. Veterinarija ir zootechnika. 2004. T. 28 (50). P. 87–91.

9. Monkevičienė I., Želvytė R., Šimkus A., Laugalis J., Sederevičius A. The influence of probiotic preparation YESTURE on the rumen fluid fermentative activity of cows kept indoors and on pasture. Proceedings of international scientific conference. „Animals. Health. Food quality“. Jelgava, 2004. P. 206–211.

10. Oberauskas V., Kantautaitė J., Sutkevičienė R., Sederevičius A., Monkevičienė I., Želvytė R., Ramanauskienė J., Laugalis J., Kabašinskienė A. The investigations of the properties of probiotic *Lactobacillus plantarum* U-14 and *Lactobacillus fermentum* U-5 strains and their evaluation during the lyophilization. Medycyna Weterynaryjna. Lublin, 2004. Vol. 60 (12). P. 1278–1282.

REZIUMĖ

Gyvybinių procesų palaikymui ir produkcijos sintetinimui gyvuliai gali panaudoti ne visas pašaruose esančias medžiagas. Šie procesai priklauso ir nuo pašaruose esančių maisto medžiagų santykio, jų virškinamumo, gyvulio fiziologinės būklės, o galvijų organizme ypatinga reikšmė tenka mikrofloros ir mikrofaunos aktyvumui didžiajame prieskrandyje (Gordon, Phillips, 1993; Kadarik, 1996; Ozutsumi et al., 2005; Santra, Karim, 2002). Didžiojo prieskrandžio mikroorganizmai suvirškina 40–80 % proteinų, 60–70 % celiuliozės, 80–90 % krakmolo ir kitų tirpių angliavandenių (Sudekum, 1999; Weimer, 1998; Лапшин и др., 2003). Galvijų didžiojo prieskrandžio mikroflora savo gyvybinių procesų dėka gamina daug gyvybiškai reikalingų medžiagų (Jukna ir kt., 2004). Sutrikus šių mikroorganizmų veiklai, susilpnėja pašarų virškinamumas (Kadarik, 1996).

Tirti tiesioginę koreliaciją tarp pašaro ir mikroorganizmų kiekybinės bei kokybinės sudėties galvijų didžiajame prieskrandyje yra gana sudėtinga, tačiau sveiko gyvulio organizme pašaras neabejotinai daro didelę ir, matyt, lemiamą įtaką mikrobiologinei sudėčiai. Nuo pastarosios priklauso įvairių pašaro komponentų skaidymo efektyvumas (Pakštytė, Matusevičius, 2003). Didelė mikroorganizmų rūšių įvairovė užtikrina maksimalų pašaro komponentų skaidymą (Krause, 2002). Pašarų ir mikrobiologinės ekosistemos tarpusavio sąveika yra labai sudėtinga ir atskiri pašaro struktūriniai komponentai bei jų tarpusavio santykis, šėrimo intervalai, laikas, praėjęs po šėrimo, bei daugybė kitų faktorių daro didelę įtaką tiek atskiroms bakterijų rūšims, tiek ir tų grupių tarpusavio santykiui (Laugalis ir kt., 2004; Петров и др., 1998).

Siekiant padidinti pieno produkciją, būtina užtikrinti maksimalų karvių didžiojo prieskrandžio turinio fermentacinių procesų aktyvumą (Baran, 1997; Weimer et al., 1999). Dėl to gerėja pašarų panaudojimo efektyvumas ir karvių produktyvumas. Monkevičienė (1996) nustatė, kad fermentacinių procesų aktyvumas didžiajame prieskrandyje ir mikroorganizmų populiacijos gausumas bei įvairovė įtakoja pašarų organinės medžiagos virškinamumą.

Labai svarbu ištirti melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio mikrofloros sudėtį, šeriant jas tipiškais mūsų šaliai racionalais, ieškoti pažangesnių šėrimo technologijų, pritaikyti Europos Sąjungoje naudojamas moderniausias šėrimo technologijas. Tai leistų ieškoti būdų mikroorganizmų sudėties reguliavimui didžiajame prieskrandyje bei optimaliam pašarų virškinamumo užtikrinimui, kad pasiektume kuo aukštesnę pieno produkciją. Mums prieinamoje literatūroje nepavyko aptikti mokslinių šaltinių apie galvijų didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros rūšinės sudėties tyrimus Lietuvoje.

Darbo tikslas – nustatyti melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio anaerobinės mikrofloros ir fermentacinių procesų priklausomybę nuo skirtingos racionų sudėties ir maistingumo bei skirtingų šėrimo technologijų.

Darbo uždaviniai:

1. Ištirti didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinę mikroflorą, fermentacinius rodiklius bei organinės medžiagos virškinamumą, melžiamas karves šeriant skirtingos sudėties ir maistingumo racionalais, ir atlikti palyginamąjį įvertinimą:

a) tvartiniu laikotarpiu karves šeriant skirtingo tipo ir sudėties subalansuotais racionalais;

b) tvartiniu laikotarpiu karves šeriant skirtingos energinės ir maistinės vertės racionalais;

c) tvartiniu ir ganykliniu laikotarpiu karves šeriant subalansuotais racionalais.

2. Ištirti didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinę mikroflorą, fermentacinius rodiklius bei organinės medžiagos virškinamumą ir atlikti palyginamąjį įvertinimą, tvartiniu laikotarpiu karves šeriant subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu.

Eksperimentinė darbo dalis atlikta 2001–2005 metais LVA Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame centre, LVA Praktinio mokymo ir bandymų centre bei LVA Gyvulininkystės institute.

Bandymai atlikti su Lietuvos Juodmargių (LJ) veislės karvėmis tvartiniu ir ganykliniu laikotarpiais. Tuo tikslu sudarytos 5 bandomųjų karvių grupės. Bandymų metu karvės buvo šeriamos skirtingos sudėties, energinės ir maistinės vertės racionalais bei taikant skirtingas šėrimo technologijas. Bandomųjų karvių grupės buvo suformuotos analogų principu, atsižvelgiant į amžių, sveikatos būklę, veršiamosios laiką, produktyvumą. Kiekvienoje grupėje buvo po 6 karves. Jos buvo 3–7 metų amžiaus, svėrė 500–550 kg, buvo kliniškai sveikos, vidutinio ėmimo. IA, IB, II ir IV grupių karvės buvo laikomos pririštos, kasdien leidžiant 2 valandas mociono, šeriamos individualiai, girdomos iš automatinų girdyklų, melžiamos du kartus per parą (4 ir 16 valandą). III grupės karvės buvo ganomos kultūrinėse pievose ir ganyklose. Į tvartą pargenamos 2 kartus per parą melžimui bei kombinuotųjų pašarų sušėrimui. Bandymai buvo atlikti 4 etapais, kurie pateikti 1 lentelėje.

IA, IB, II ir III grupės karvių racionas buvo sudarytas pagal Respublikoje priimtas normas (Tarvydas ir kt., 1995) ir pateiktas 2 lentelėje. Karvės buvo šeriamos 5 ir 17 valandą.

Kontrolinės IA grupės karvės buvo šeriamos subalansuotu pagal žaliųjų proteinų ir apykaitos energijos poreikius racionu, pašarų nemaišant ir nesmulkinant. Visi pašarai buvo sušeriami atskirai. IB grupės karvės gavo tą patį racioną, tik pašarai buvo sumaišomi ir susmulkinami vagonu-maišytuvu OptiMix™ (gaminio numeris – 902452–80 12 m³ SC (2), 2002). Kombinuotieji pašarai sumaišomi su mineraliniais – vitamininiais priedais ir išdalinami individualiai kiekvienai karvei. Visų raciono pašarų mišinio paros davinyš buvo sušeriamas per 2 kartus. IA ir IB grupės karvių racione vyravo daugiamečių žolių šienainis ir kombinuotieji pašarai, kurie atitinkamai sudarė 30,12 % bei 35,28 % raciono SM.

II grupės karvės buvo šeriamos kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais bei mineraliniais – vitamininiais priedais. Šiame racione kukurūzų silosas sudarė 75 %, kombinuotieji pašarai – 24,57 % raciono sausosios medžiagos (SM).

III grupės karvės buvo ganomos kultūrinėse pievose ir ganyklose (2 lentelė). Racione didžiąją dalį, tai yra 64,95 % SM, sudarė kultūrinių pievų ir ganyklų žolė, 27,77 % – kombinuotieji pašarai.

IV grupės karvės buvo šeriamos nesubalansuotu pagal žaliųjų proteinų ir apykaitos energijos poreikius racionu (2 lentelė), kuriame vyravo miežiniai šiaudai ir daugiamečių žolių silosas (atitinkamai sudarė 41,3 % ir 37,92 % raciono SM). Melasa ir kombinuotieji pašarai buvo išdalinami individualiai kiekvienai karvei. III ir IV grupės karvėms kombinuotieji pašarai ir mineraliniai – vitamininiai priedai sušeriami taip pat individualiai.

IB grupės karvės buvo šeriamos vagonu-maišytuvu OptiMix™ (gaminio numeris – 902452–80 12 m³ SC (2), 2002) susmulkintu visų raciono pašarų mišiniu. Šiuo vagonu-maišytuvu pašarai susmulkinami iki 2–3 cm dydžio dalelių ir sumaišomi į vienalytę masę. Pašarų paėmimas, maišymas ir smulkinimas vieno šėrimo metu trunka 30–40 min.

Į vagoną-maišytuvą, kuris yra 8 m³ talpos, pašarai kraunami tokia eilės tvarka: 1) saladinai; 2) šienas; 3) šiaudai; 4) cukrinių runkelių griežiniai; 5) kukurūzų silosas; 6) daugiamečių žolių šienainis. Viso raciono pašarų mišinio davinys IB grupės karvėms buvo sušeriamas per du kartus, vagonui – maišytuvui važiuojant šėrimo taku.

Tiriant bandomųjų karvių sveikatos būklę, buvo stebima bendra gyvulio būklė, skaičiuojamas pulsas, kvėpavimo dažnumas, didžiojo prieskrandžio susitraukimai, matuojama kūno temperatūra, stebimas gyvulio apetitas, atrajojimas, diurezė ir defekacija.

Didžiojo prieskrandžio turinys ryklės – stemplės zonu GDZ – 1 (Sederevičius, 2000) buvo imamas iš karvių didžiojo prieskrandžio kaudoventralinės dalies. Turinio mėginiai buvo imami praėjus 3 valandoms po rytinio šėrimo. Karvių didžiojo prieskrandžio turinyje buvo tiriamas bendras bakterijų skaičius (BBS), laktatus fermentuojančių (LFBS) bei celiuliolitinių bakterijų skaičius (CBS) ir nustatoma preliminarai rūšinė sudėtis, taikant N. O. van Gylswyk (1990) pasiūlytą metodą obligatiniams anaerobams kultivuoti. Turinio pH buvo nustatytas elektrometrinio metodu, naudojant pH-metrą „CP-315“ (Sederevičius ir kt., 2001). Infuzorių skaičių nustatėme 1 ml didžiojo prieskrandžio turinio, skaičiuojant Fuks-Rozentalio kameroje (Sederevičius ir kt., 2001). Infuzorių kiekį ir judrumą tyrėme pagal J. A. Schultz (1971) metodiką. Redukcinę bakterijų aktyvumą įvertinome G. Dirksen (1969) metodu, o gliukozės rūgimo reakciją atlikome Einhornio sacharometru pagal J. Bakūno (2004) aprašytą metodiką. Bendrą lakiųjų riebalų rūgščių (LRR) kiekį nustatėme distiliuojant didžiojo prieskrandžio turinį Markgamo aparatu pagal B. B. Цюпко ir M. B. Бепыс (1968) aprašytą metodiką, o atskirų rūgščių procentinį santykį nustatėme dujiniu chromatografu „Chrom-31“. Remdamiesi šių rodiklių parodymais, įvertinome didžiojo prieskrandžio turinio fermentacinę aktyvumą.

Karvių didžiojo prieskrandžio turinyje buvo tiriamas bendras bakterijų skaičius, laktatus fermentuojančių bei celiuliolitinių bakterijų skaičius ir preliminarai rūšinė

sudėtis, taikant N. O. van Gylswyk (1990) pasiūlytą metodą obligatiniams anaerobams kultivuoti.

Šio metodo esmė – mikroorganizmų auginimas specialiuose mėgintuvėliuose (Hungate Type Anaerobic Culture Tube), sandariai uždaruose deguoniui (O₂) nepralaidžiais kamščiais. Anaerobinės sąlygos mėgintuvėliuose užtikrinamos užpildant juos ypač gerai išvalytomis dujomis – anglies dioksidu (CO₂) arba azotu (N₂). Deguonis iš šių dujų pašalinamas leidžiant reikiamų dujų (CO₂ arba N₂) ir vandenilio (H₂) generatoriaus gaminamo H₂ mišinį per specialią kaitinimo krosnį (350°C), į kurią įmontuotas specialus vario drožlėmis užpildytas įrenginys. O₂ iš dujų pašalinamas joms einant pro redukuotą varį. Visi praskiedimai ir užsėjimai atliekami specialiais steriliais švirkštais.

Bendram bakterijų skaičiui nustatyti į didžiojo prieskrandžio turinio terpę dėta po 0.5 g gliukozės, krakmolo ir ksilano, celiuliolitinėms bakterijoms nustatyti į bazinę terpę vietoj angliavandenių dėta celiuliozė, o laktatus fermentuojančioms bakterijoms nustatyti – NaD ir NaL laktato. 10 g šviežio, nefiltruoto turinio praskiedžiama anaerobiniu skiedikliu, kurį sudaro distiliuotas vanduo, mineralinis tirpalas Nr.1 (K₂HPO₄, H₂O), mineralinis tirpalas Nr. 2 (K₂HPO₄, NaCl, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄·7H₂O, H₂O) ir indigokarminas. Gautas mišinys homogenizuojamas 30 s, leidžiant CO₂ dujas, ir iš reikiamo praskiedimo užsėjama atitinkama terpė. Prieskrandžio turinys užsėjamas į specialius mėgintuvėlius anaerobinių mikroorganizmų kultivavimui. Mėgintuvėliai inkubuojami 39°C temperatūroje. Po trijų parų nustatomas bendras bakterijų skaičius, po keturių – laktatus fermentuojančių bakterijų, po septynių – celiuliolitinių bakterijų skaičius. Iš kiekvieno mėgintuvėlio, kuriame tirtas BBS, buvo paimta ne mažiau kaip 30 kolonijų mėginių ir paruošti mikroskopiniai preparatai. Šiuose preparatuose morfologiškai ir pagal Gramo reakciją buvo atliktas pirminis bakterijų identifikavimas.

Pašarų tyrimams buvo paimti bendri žolinių pašarų pavyzdžiai ir iš jų sudaryti vidutiniai pavyzdžiai laboratoriniams tyrimams bei atlikta zootechninė pašarų analizė (Juškienė, 2003). Įvertinus pašarų cheminę sudėtį, buvo nustatyta: sausoji medžiaga, žali proteinai, žalia ląsteliena, žali riebalai, žali pelenai.

Pašarų organinės medžiagos (OM) virškinamumas buvo nustatytas I–stadijos *in vitro* metodu (Monkevičienė, 1999). Bandymų metu tyrėme OM virškinamumą, karves šeriant skirtingos sudėties ir maistinės vertės racionalais bei taikant skirtingas šėrimo technologijas. Tiriant OM virškinamumą, pašarai buvo inkubuojami su kiekvienos bandomosios grupės karvių didžiojo prieskrandžio turiniu, siekiant įvertinti jo fermentacinių procesų aktyvumą.

Tyrimų duomenys apdoroti statistinės analizės metodu statistiniu paketu „R 1.7.1.“ (<http://www.r-projekt.org>) ir WinExel programa.

Bandomųjų karvių klinikinio tyrimo rezultatai. Ištyrus 30 bandomųjų karvių pagal bendrą klinikinio tyrimo planą, nustatyta, kad visų grupių karvės buvo kliniškai sveikos. Bandymų pradžioje ir bandymų metu visų grupių karvių kūno

temperatūra kito nuo +38,4 iki +38,9°C, pulso dažnumas buvo 68,4–73,5 k/min, kvėpavimo dažnumas – 18,6–19,8 k/min, prieskrandžiai susitraukė 8–11 k/5min, diurezė (10–12 k/parą) ir defekacija (12–18 k/parą) nebuvo sutrikusi.

IA grupės (kontrolinių) karvių didžiojo prieskrandžio turinio biocheminių, fermentacinių ir mikrobiologinių rodiklių tyrimo rezultatai. Kontrolinės (IA) grupės karvių, šeriamų subalansuotu racionu, didžiojo prieskrandžio turinio mikrobiologinių ir biocheminių rodiklių bei OM virškinamumo tyrimo rezultatai pateikti 3–5 lentelėse ir 2–5 paveiksluose. Kontrolinės grupės karvių, tvartiniu laikotarpiu šeriamų subalansuotu racionu (koncentratinio tipo), pH kito nuo 6,37 iki 7,0, bakterijų redukcinis aktyvumas – 131,5–169,5 s, gliukozės rūgimo reakcija buvo 0,75–1,38 cm³/h. Šių karvių didžiajame prieskrandžio infuzorių skaičius siekė 5,14–5,29 log/ml turinio, bendras LRR kiekis – 69,5–112 mmol/l. Vidutinis LRR procentinis santykis buvo: acto rūgšties – 67,32 mol%, propiono rūgšties – 17,37 mol% ir sviesto rūgšties – 11,08 mol%. Šios grupės karvių didžiojo prieskrandžio turinyje nustatytas statistiškai patikimas ($P<0,01$), neigiamas, stiprus koreliacinis ryšys tarp acto ir propiono bei tarp acto ir sviesto rūgščių santykio. Tiriant mikrobiologinius kontrolinių karvių didžiojo prieskrandžio turinio rodiklius, nustatytas bendras bakterijų skaičius buvo 10,85–10,98 log/ml, laktatus fermentuojančių bakterijų skaičius – 7,34–7,44 log/ml, celiuliolitinių bakterijų skaičius – 6,99–7,02 log/ml. Tarp šios grupės karvių bendro bakterijų ir celiuliolitinių bakterijų skaičiaus nustatytas teigiamas, statistiškai patikimas ($P<0,01$), silpnas koreliacinis ryšys. Tarp pH ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus buvo neigiamas, statistiškai patikimas ($P<0,05$), vidutinio stiprumo koreliacinis ryšys.

Kontrolinės grupės karvių didžiojo prieskrandžio turinyje *Prevotella ruminicola* rūšies bakterijos sudarė vidutiniškai 32,64 %, *Butyrivibrio fibrisolvens* – 38,31 %, kitos rūšys – 29,05 % bendro bakterijų skaičiaus (5 pav.). Šiuo atveju nustatytas neigiamas, statistiškai patikimas ($P<0,01$), stiprus koreliacinis ryšys tarp *Prevotella ruminicola* ir *Butyrivibrio fibrisolvens* bei tarp *Prevotella ruminicola* ir kitų rūšių bakterijų. Determinacijos koeficientai tarp mikrobiologinių rodiklių buvo statistiškai nepatikimi ($P>0,05$). Kontrolinės grupės karvių žolinių pašarų organinės medžiagos virškinamumas buvo: šieno – 66,30–67,63 %, siloso – 70,70–72,43 %, žolės – 79,31–81,25 %. Šių karvių didžiojo prieskrandžio pH, mikrobiologiniai ir biocheminiai rodikliai atitiko fiziologinę normą (Тараканов, 2002).

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio biocheminių, fermentacinių ir mikrobiologinių rodiklių tyrimo rezultatai. Visų bandomųjų karvių grupių didžiojo prieskrandžio turinio mikrobiologinių ir biocheminių rodiklių bei OM virškinamumo tyrimo rezultatai pateikti 3–5 lentelėse ir 2–5 paveiksluose.

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio pH tyrimo rezultatai. Nustatyta, kad II grupės karvių tvartiniu laikotarpiu šeriamų kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais, didžiojo prieskrandžio turinio pH buvo 0,46 žemesnis ($P<0,001$), lyginant su kontroline (IA) grupe. IV grupės karvių, šeriamų nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, turinio pH buvo 0,41 didesnis

($P<0,005$), palyginus su kontroline karvių grupe, gaunančia subalansuotą racioną. IB ir III grupės bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio pH nežymiai skyrėsi ($P>0,1$) nuo kontrolinės grupės (3 lentelė).

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio bakterijų redukcinio aktyvumo tyrimo rezultatai. Nustatyta, kad didžiojo prieskrandžio turinio bakterijų redukcinis aktyvumas IB grupės karvių, gaunančių subalansuotą visų raciono pašarų mišinį, buvo 29,46 s ($P<0,05$), o III grupės karvių, ganomų kultūrinėse pievose ir ganyklose, – 63,36 s didesnis ($P<0,001$), lyginant su kontroline (IA) grupe. Tuo tarpu IV grupės karvių, šeriamų nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, didžiojo prieskrandžio turinio bakterijų redukcinis aktyvumas buvo mažesnis net 148 s ($P<0,001$) nei kontrolinės grupės karvių, šeriamų subalansuotu racionu (3 lentelė). II grupės karvių turinio šis rodiklis tik 19,89 s ($P>0,05$) skyrėsi nuo kontrolinės grupės.

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio gliukozės rūgimo reakcijos tyrimo rezultatai. Tiriant skirtingų šėrimo technologijų ir įvairios sudėties bei maistinės vertės racionų įtaką gliukozės rūgimo reakcijai nustatyta, kad aktyvesnis rūgimas buvo IB, II ir III grupės karvių, lyginant su kontroline (IA) grupe (3 lentelė). Aktyviausia gliukozės rūgimo reakcija nustatyta III grupės bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje, jas ganant kultūrinėse pievose bei ganyklose. Dujų išsiskyre 0,59 cm³/h daugiau ($P<0,001$) negu kontrolinės grupės karvių, šeriamų subalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu. II grupės karvių, šeriamų kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais, gliukozės rūgimo metu dujų susidarė 0,5 cm³/h ($P<0,05$), o IB grupės, gavusios visų raciono pašarų mišinį – 0,29 cm³/h daugiau ($P<0,01$), palyginus su kontroline karvių grupe. Tuo tarpu IV grupės bandomąsias karves šeriant nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu dujų išsiskyre net 0,57 cm³/h mažiau ($P<0,001$) nei karves šeriant subalansuotu racionu tuo pačiu metu (IA gr.), (3 lentelė). Nustatyta, kad koreliacijos ryšys tarp bakterijų redukcinio aktyvumo ir gliukozės rūgimo reakcijos kontrolinės grupės karvių yra neigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,05$), o III grupės – neigiamas, stiprus ($P<0,01$).

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio infuzorių skaičiaus tyrimo rezultatai. III grupės bandomųjų karvių, gaunančių ganyklinį racioną, didžiojo prieskrandžio turinyje infuzorių buvo 0,24 log/ml ($p<0,001$), o IV grupės – 0,12 log/ml daugiau ($P<0,001$), lyginant su kontroline (IA) karvių grupe. II grupės karvių, šeriamų kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais, ir IB grupės, gaunančios subalansuotą visų raciono pašarų mišinį, infuzorių skaičius didžiojo prieskrandžio turinyje buvo atitinkamai 0,06 log/ml ($P<0,05$) bei 0,1 log/ml ($P<0,05$) mažesnis už kontrolinės grupės karvių. Šio tyrimo metu nustatyta, kad didžiausias infuzorių skaičius didžiojo prieskrandžio turinyje buvo karves ganant kultūrinėse pievose ir ganyklose bei šeriant nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu (3 lentelė). Teigiamą koreliaciją tarp didžiojo prieskrandžio turinio pH ir infuzorių skaičiaus nustatyta kontrolinės (stipri ($P<0,01$)), IB (stipri ($P<0,05$)) ir II (stipri ($P<0,01$)) grupės karvėms.

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio bendro laisvųjų riebalų rūgščių kiekio tyrimo rezultatai. Bendro LRR kiekio ir jų procentinio santykio tyrimo rezultatai pateikti 4 lentelėje.

IB grupės karvių turinyje fermentacijos metu LRR pagaminta 19,04 mmol/l daugiau ($P<0,005$) negu kontrolinės grupės (IA) karvių, šeriamų tais pačiais tik nesmulkintais ir nesumaišytais pašarais. II grupės karvių bendras LRR kiekis buvo 18,99 mmol/l didesnis ($P<0,001$) už kontrolinės grupės, o karves ganant kultūrinėse pievose ir ganyklose (III gr.), šių rūgščių kiekis viršijo kontrolinės grupės rezultatus tik 7,72 mmol/l ($P>0,2$). Tuo tarpu IV grupės karvių didžiąjame prieskrandyje LRR susidarė 15 mmol/l mažiau ($P<0,05$), lyginant su kontroline karvių grupe. Tarp didžiojo prieskrandžio turinio pH ir bendro LRR kiekio nustatyta neigiama, vidutinio stiprumo ($P<0,05$) koreliacija kontrolinėje ir IB grupėje. Neigiama, stipri koreliacija ($P<0,01$) nustatyta IV grupėje, kuri gavo nesubalansuotą racioną. Be to, neigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,05$) koreliacinis ryšys nustatytas tarp bakterijų redukcinio aktyvumo ir bendro LRR kiekio kontrolinėje ir IV karvių grupėse. Nustatyta, kad LRR daugiausiai susidarė IB grupės bandomųjų karvių, šeriamų subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu, o mažiausiai IV grupės karvių, gavusių nesubalansuotą racioną, didžiojo prieskrandžio turinyje (4 lentelė).

Atskirų laisvųjų riebalų rūgščių procentinis santykis bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje. Tiriant skirtingų šėrimo technologijų ir įvairios sudėties bei maistinės vertės racionų įtaką atskirų laisvųjų riebalų rūgščių procentiniam santykiui didžiojo prieskrandžio turinyje, nustatyta, kad IB grupės karves šeriant subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu, acto rūgšties susidarė 2,61 mol% mažiau ($P<0,001$), o propiono rūgšties – 2,03 mol% daugiau ($P<0,005$), palyginus su kontroline (IA) karvių grupe, gaunančia tą patį racioną, tik iš nesmulkintų ir nesumaišytų pašarų (4 lentelė). IB grupės karvėms nustatytas teigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,05$) koreliacijos ryšys tarp infuzorių skaičiaus ir acto rūgšties kiekio didžiojo prieskrandžio turinyje. II grupės karves šeriant kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais acto rūgšties kiekis sumažėjo 6,75 mol% ($P<0,001$), o sviesto rūgšties padaugėjo 2,91 mol% ($P<0,001$), lyginant su kontroline grupe.

Lyginat kontrolinės ir III grupės karvių laisvųjų riebalų rūgščių procentinį santykį prieskrandžio turinyje, ganykliniu laikotarpiu sviesto rūgšties nustatyta 1,7 mol% daugiau ($P<0,05$). Acto ir propiono rūgščių procentinio santykio skirtumai tarp šių grupių karvių buvo nežymūs ($P>0,1$). IV grupės karves šeriant nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, acto rūgšties kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje padidėjo 5,23 mol% ($P<0,01$), o sviesto rūgšties sumažėjo 3,17 mol% ($P<0,001$), lyginant su kontroline grupe. Kontrolinės, IB, III, IV bandomųjų karvių grupėse nustatytas neigiamas, statistškai patikimas koreliacinis ryšys tarp acto ir propiono bei visose grupėse – tarp acto ir sviesto rūgščių santykio didžiojo prieskrandžio turinyje. IB grupės karvių, gavusių subalansuotą visų raciono pašarų mišinį, koreliacija tarp acto ir propionio rūgščių yra vidutinio stiprumo ($P<0,05$), o kontrolinės, III ir IV grupės – stipri ($P<0,01$). Koreliacija tarp acto bei sviesto rūgščių IB karvių grupėje yra vidutinio stiprumo ($P<0,05$), o stipri

($P<0,01$) – kontrolinėje, II, III ir IV grupėse.

Žolinių pašarų OM virškinamumo tyrimo rezultatai

Šieno OM virškinamumo tyrimo rezultatai. Bandomųjų karvių žolinių pašarų OM virškinamumo tyrimo rezultatai grafiškai pavaizduoti 2 paveiksle.

Ištyrę kultūrinių pievų ir ganyklų šieno organinės medžiagos virškinamumą *in vitro* metodu nustatėme, kad karves šeriant visų raciono pašaru mišiniu jis buvo didžiausias (2 pav.), o lyginant su kontrolinės (IA) grupės karvėmis, šertomis nesmulkintais, nesumaišytais pašarais, padidėjo 1,61 % ($P<0,001$).

Nagrinėjant skirtingos sudėties racionų įtaką šieno OM virškinamumui nustatyta, kad II grupės karves šeriant kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais, šieno OM virškinamumas buvo 1,11 % mažesnis ($P<0,005$), lyginant su kontroline grupe.

Kontrolinės, III ir IV grupės karvių šieno OM virškinamumo skirtumai buvo statistiškai nepatikimi ($P>0,5$). Vertinant koreliacijos koeficientus, tarp turinio pH ir šieno OM virškinamumo buvo stiprus ($P<0,01$), teigiamas koreliacinis ryšys IB ir III grupėje, o II grupėje – tik vidutinio stiprumo ($P<0,05$). Taip pat teigiama koreliacija nustatyta tarp infuzorių skaičiaus ir šieno OM virškinamumo II karvių grupėje bei teigiama, stipri ($P<0,05$) – tarp bendro LRR kiekio ir šieno OM virškinamumo IV karvių grupėje.

Siloso OM virškinamumo tyrimo rezultatai. Kultūrinių pievų ir ganyklų žolių silosą inkubuojant su bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turiniu nustatyta, kad skirtingos sudėties ir maistinės vertės racionai pakeičia jo organinės medžiagos virškinamumą, o šėrimo technologija tam didesnės įtakos neturi (2 pav.).

II grupės karvių, šeriamų kukurūzų silosu ir kombinuotais pašarais, siloso OM virškinamumas buvo mažesnis 1,76 % ($P<0,001$), o III grupės karvių, gavusių ganyklinį racioną, – 3,64 % ($P<0,001$), lyginant su kontroline grupe (IA). Taip pat IV grupės karvių, šeriamų nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, siloso OM virškinamumas buvo 4,4 % ($P<0,001$) mažesnis negu kontrolinės grupės. Kontrolinės ir IIB grupės karvių siloso OM virškinamumas skyrėsi nežymiai ($P>0,4$).

Žolės OM virškinamumo tyrimo rezultatai. Kaip matyti antrame paveiksle, žolės organinės medžiagos virškinamumas *in vitro* buvo didžiausias, t.y. 1,4 % didesnis ($P<0,01$) ją inkubuojant su IB grupės karvių, gaunančių subalansuotą visų raciono pašarų mišinį, didžiojo prieskrandžio turiniu, nei tuomet, kai inkubacijai buvo naudojamas kontrolinės (IA) grupės karvių turinys. III grupės karves ganant kultūrinėse pievose ir ganyklose, žolės OM virškinamumas buvo 1,03 % ($P<0,025$) didesnis, lyginant su kontroline karvių grupe. II ir IV grupės bandomųjų karvių žolės OM virškinamumas nedaug skyrėsi nuo kontrolinės grupės ir duomenys buvo statistiškai nepatikimi ($P>0,1$), (2 pav.).

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros kiekybinės sudėties tyrimo rezultatai

Bendro bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai. Bendro bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje parodo, kad IB grupės karvių, šeriamų subalansuotu

visų raciono pašarų mišiniu, bendras bakterijų skaičius buvo 0,31 log/ml didesnis ($P<0,001$), palyginus su kontrolinės (IA) grupės karvėmis, šeriamomis tais pačiais, nesmulkintais ir nesumaišytais pašarais. Bendro bakterijų skaičiaus skirtumai tarp atskirų karvių grupių grafiškai pavaizduoti 3 paveiksle. Nustatyta, jog visų raciono pašarų mišinys (IB gr.) turėjo 70,7 % įtakos ($P<0,001$) bendram bakterijų skaičiui didžiojo prieskrandžio turinyje.

II grupės karves, šeriant kukurūzų silosu ir kombinuotaisiais pašarais, bendras bakterijų skaičius padidėjo 0,54 log/ml ($P<0,001$) ir tai 86,7 % įtakoją racionas ($P<0,001$), lyginant su kontroline grupe. IV grupės karvių, gaunančių nesubalansuotą racioną, didžiojo prieskrandžio turinio bendras bakterijų skaičius buvo 0,81 log/ml mažesnis ($P<0,001$), (5 lentelė). Tai 84,7 % ($P<0,001$) taip pat įtakoją racionas. III grupės bandomųjų karvių šis skaičius tik 0,06 log/ml viršijo kontrolinės grupės rezultatus ($P>0,4$).

Laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai. Laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje ir grafiškai pavaizduoti 4 paveiksle. Nustatyta, kad IB grupės bandomąsias karves šeriant subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu, laktatus fermentuojančių bakterijų skaičius didžiojo prieskrandžio turinyje buvo 0,11 log/ml mažesnis ($P<0,001$), negu kontrolinės (IA) grupės karvių, kurios gavo nesmulkintus ir nesumaišytus tuos pačius pašarus. IV grupės karvių, šeriamų nesubalansuotu racionu tvartiniu periodu, laktatus fermentuojančių bakterijų skaičius sumažėjo net 0,24 log/ml ($P<0,001$), II grupės karvių, gaunančių kukurūzų silosą ir kombinuotus pašarus, šis skaičius padidėjo 1,18 log/ml ($P<0,001$), lyginant su kontroline karvių grupe (5 lentelė). Vertinant pagal dispersinės analizės rezultatus, racionas, sudarytas iš kukurūzų siloso ir kombinuotųjų pašarų, turėjo 94,0 % ($P<0,001$) įtakos laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiui. III grupės bandomųjų karvių, ganomų kultūrinėse pievose ir ganyklose, laktatus fermentuojančių bakterijų skaičius skyrėsi tik 0,06 log/ml ($P>0,2$) nuo kontrolinės grupės rezultatų. IV grupės karvėms buvo neigiama, stipri ($P<0,05$) bei kontrolinės grupės – neigiama, vidutinio stiprumo koreliacija ($P<0,05$) tarp pH ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus.

Celiuliolitinių bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai. Celiuliolitinių bakterijų skaičiaus tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje ir grafiškai pavaizduoti 4 paveiksle. Nustatyta, kad IB grupės bandomųjų karvių, šeriamų subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu, didžiojo prieskrandžio celiuliotinių bakterijų skaičius padidėjo 0,06 log/ml ($P<0,005$), lyginant su kontrolinės (IA) grupės tyrimo rezultatais. IV grupės karvių, gavusių nesubalansuotą racioną, šis skaičius padidėjo net 0,16 log/ml turinio ($P<0,001$). Vertinant pagal dispersinę analizę, CBS 74 % ($P<0,001$) įtakos turėjo nesubalansuotas racionas, lyginant su kontroline karvių grupe. II grupės karvių, šeriamų kukurūzų silosu ir kombinuotaisiais pašarais, šių bakterijų skaičius sumažėjo 0,41 log/ml ($P<0,001$), tai 74,0 % ($P<0,001$) įtakoją pašarai. Mažiausias celiuliolitinių bakterijų skaičius nustatytas III grupės karvių, gaunančių ganyklinį racioną, didžiojo prieskrandžio turinyje (4 pav.). Šių bakterijų sumažėjo net 0,79

log/ml turinio ($P<0,001$) (5 lentelė), tam šerimas turėjo 87,5 % ($P<0,001$) įtakos, palyginus su kontrolinės grupės karvių, gaunančių subalansuotą racioną tvartiniu laikotarpiu. Atlikus tyrimus nustatyta, kad celiuliolitinių bakterijų skaičius bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje priklausė ir nuo šerimo technologijos, ir nuo raciono sudėties bei maistinės vertės (4 pav.). IB grupės karvėms nustatytas teigiamas, stiprus ($P<0,01$) bei III grupės – teigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,05$) koreliacinis ryšys tarp turinio pH ir celiuliolitinių bakterijų skaičiaus. Atlikus statistinę analizę, III grupės karvėms nustatytas neigiamas, stiprus ($P<0,01$) koreliacinis ryšys tarp celiuliolitinių ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus.

Taip pat nustatyta, kad II grupės karvių tarp bendro bakterijų ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus yra neigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,01$) koreliacinis ryšys, kai tuo tarpu III grupės karvių buvo teigiama, silpna ($P<0,05$), o IV grupės – teigiama, stipri ($P<0,01$) koreliacija tarp minėtų rodiklių. Nustatant koreliaciją tarp bendro bakterijų bei celiuliolitinių bakterijų skaičiaus, gautas teigiamas, silpnas ($P<0,05$) koreliacinis ryšys kontrolinėje, IB karvių grupėje ir teigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,01$) – IV grupėje bei neigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,01$) – III grupėje. Apskaičiavus determinacijos koeficientus tarp didžiojo prieskrandžio bakterijų grupių, patikima determinacija nustatyta tik tarp bendro bakterijų ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus IV karvių grupėje, kai determinacinis ryšys yra teigiamas, silpnas ($P<0,01$) bei tarp celiuliolitinių bakterijų ir laktatus fermentuojančių bakterijų skaičiaus III karvių grupėje, kai ryšys teigiamas, vidutinio stiprumo ($P<0,01$).

Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros rūšinės sudėties tyrimo rezultatai. Bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinio anaerobinės mikrofloros rūšinės sudėties tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje bei grafiškai pavaizduoti 5 paveiksle. Remiantis gautais rezultatais nustatyta, kad IB grupės bandomųjų karvių, šeriamų visų raciono pašarų mišiniu, didžiojo prieskrandžio *Prevotella ruminicola* bakterijų procentinis skaičius buvo 8,33 % ($P<0,005$) didesnis, o III grupės karves šeriant ganykliniu racionu, šis skaičius padidėjo net 18,13 % ($P<0,001$), lyginant su kontroline (IA) karvių grupe. IV grupės bandomųjų karvių, šeriamų nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, *Prevotella ruminicola* bakterijų skaičius 8,32 % ($P<0,001$) mažesnis, negu kontrolinės grupės karvių, gaunančių subalansuotą racioną tvartiniu laikotarpiu (5 lentelė).

Butyrivibrio fibrisolvens rūšies bakterijų IB grupės bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje buvo nustatyta 4,05 % ($P<0,05$), II grupės – 7,98 % ($P<0,001$), III grupės – 14,54 % ($P<0,001$) mažiau, palyginus su kontroline karvių grupe. Tačiau IV grupės karves šeriant nesubalansuotu racionu tvartiniu laikotarpiu, *Butyrivibrio fibrisolvens* procentinis skaičius padidėjo 7,53 % ($P<0,001$), lyginant su kontrolinės grupės karvėmis.

Tyrimų metu nustatyta, kad IB grupės karvių, šeriamų subalansuotu visų raciono pašarų mišiniu, didžiajame prieskrandyje kitoms rūšims priskiriamų

bakterijų procentinis skaičius buvo 4,28 % ($P < 0,05$) mažesnis, II grupės karvių šis rodiklis didžiojo prieskrandžio turinyje padidėjo 4,98 % ($P < 0,025$), lyginant su kontrolinės grupės karvių didžiojo prieskrandžio turiniu. III ir IV grupės karvių kitoms rūšims priskiriamų bakterijų skaičius nežymiai skyrėsi nuo kontrolinės grupės karvių analogiškų tyrimo rezultatų ($P > 0,1$).

Atlikus statistinę analizę nustatyta, kad tarp atskirų bakterijų rūšių karvių didžiajame prieskrandyje yra glaudus ryšys. Visų grupių karvėms nustatytas neigiamas koreliacinis ryšys tarp *Prevotella ruminicola* ir *Butyrivibrio fibrisolvens* rūšių bakterijų: IA, IB, II grupėms – neigiamas, stiprus ($P < 0,01$), III ir IV grupės – neigiamas, vidutinio stiprumo, tačiau duomenys statistiškai nepatikimi. Tarp *Prevotella ruminicola* ir kitoms rūšims priskiriamų bakterijų nustatytas taip pat neigiamas koreliacinis ryšys: IA, IB, II grupėms – neigiamas, stiprus ($P < 0,01$), IV grupei – neigiamas, vidutinio stiprumo ($P < 0,05$), III grupei – neigiamas, vidutinio stiprumo ($P > 0,05$). Koreliacinis ryšys tarp *Butyrivibrio fibrisolvens* ir kitoms rūšims priskiriamų bakterijų buvo statistiškai patikimas ($P < 0,01$), neigiamas, stiprus tik III karvių grupėje. Stiprus, teigiamas ($P < 0,05$) koreliacinis ryšys nustatytas tarp *Butyrivibrio fibrisolvens* bakterijų ir IV grupės karvių didžiojo prieskrandžio turinio pH. Nustatant rūšinių bakterijų pasiskirstymą karvių prieskrandžiuose, išskirtos dvi vyraujančios rūšys: *Butyrivibrio fibrisolvens* ir *Prevotella ruminicola*. Kitoms rūšims priskirtos visos neidentifikuotos bakterijos (5 pav.).

Remiantis atliktais tyrimais, teikiame šias išvadas ir pasiūlymą:

1. Skirtingos sudėties ir maistingumo racionai bei skirtingos šėrimo technologijos turėjo įtakos melžiamų karvių didžiojo prieskrandžio anaerobinės mikrofloros sudėčiai ir fermentaciniams procesams.

2. Tvartiniu laikotarpiu karves šeriant subalansuotu, pusiau koncentratinio tipo racionu jų didžiojo prieskrandžio BBS ir LFBS padidėjo, o CBS ir infuzorijų skaičius sumažėjo, lyginant su kontroline karvių grupe. Dispersinė analizė parodė, kad šis racionas turėjo įtakos BBS, LFBS ir CBS kiekiams. Rūšinėje sudėtyje – padaugėjo neidentifikuotų rūšių ir sumažėjo *Butyrivibrio fibrisolvens* bakterijų, lyginant su kontroline karvių grupe.

2.1. Vertinant didžiojo prieskrandžio fermentacinius rodiklius, šiai karvių grupei buvo mažesnis turinio pH, gliukozės rūgimo reakcija vyko aktyviau, padidėjo bendras LRR kiekis, sumažėjo šieno ir siloso OM virškinamumas, lyginant su kontroline karvių grupe.

3. Tvartiniu laikotarpiu karves šeriant nesubalansuotu, mažai koncentratinio tipo racionu, didžiojo prieskrandžio turinyje sumažėjo BBS ir LFBS, padidėjo celiuliolitinių bakterijų ir infuzorijų skaičius bei pakito bakterijų rūšinė sudėtis – padaugėjo *Butyrivibrio fibrisolvens* ir sumažėjo *Prevotella ruminicola* rūšių bakterijų, lyginant su kontroline karvių grupe. Dispersinės analizės rezultatai parodė, kad bendram ir celiuliolitinių bakterijų skaičiui lemiamą įtaką turėjo raciono sudėtis ir maistingumas.

3.1. Vertinant didžiojo prieskrandžio fermentacinius rodiklius, šiai karvių

grupei nustatytas didesnis pH, mažesnis bakterijų redukcinis aktyvumas, gliukozės rūgimo reakcijos metu susidarė mažiau dujų ir sumažėjo bendras LRR kiekis, rūgščių procentiniame santykiyje padaugėjo acto rūgšties, pablogėjo siloso OM virškinamumas, lyginant su kontroline karvių grupe. Tarp didžiojo prieskrandžio turinio pH ir bendro LRR kiekio bei LFBS nustatyta neigiama koreliacija.

4. Karves šeriant subalansuotu, pusiau koncentratinio tipo ganykliniu racionu didžiojo prieskrandžio turinyje sumažėjo celiuliolitinių bakterijų skaičius, padaugėjo *Prevotella ruminicola* bakterijų ir infuzorijų, lyginant su kontroline karvių grupe. Dispersinė analizė parodė, kad celiuliolitinių bakterijų skaičiaus sumažėjimą nulėmė raciono komponentų sudėtis. Nustatyta neigiama koreliacija tarp CBS ir LFBS bei tarp BBS ir CBS.

4.1. Vertinant didžiojo prieskrandžio fermentacinius rodiklius nustatyta, kad pagreitėjo bakterijų redukcinis aktyvumas, gliukozės rūgimo reakcijos metu padidėjo išsiskiriančių dujų kiekis ir žolės OM virškinamumas, lyginant su kontroline karvių grupe.

5. Tvartiniu laikotarpiu karves šeriant subalansuotu visų raciono (koncentratinio tipo) pašarų mišiniu didžiojo prieskrandžio turinyje padidėjo BBS ir CBS bei sumažėjo LFBS, lyginant su kontroline karvių grupe. Dispersinės analizės rezultatai rodo, kad bendro bakterijų skaičiaus padidėjimą nulėmė šėrimo būdas. Be to, nustatytas teigiamas koreliacinis ryšys tarp BBS ir CBS. Ištyrus anaerobinių mikroorganizmų rūšinę sudėtį, nustatyta, jog šių karvių didžiojo prieskrandžio turinyje vyravo *Prevotella ruminicola* bakterijos, lyginant su kontroline karvių grupe, kuri gavo tuos pačius, tik nesusmulkintus ir nesumaišytus pašarus.

5.1. Vertinant šios grupės karvių didžiojo prieskrandžio fermentacinius rodiklius nustatyta, kad pagreitėjo bakterijų redukcinis aktyvumas, suaktyvėjo gliukozės rūgimas, susidarė didesnis bendras LRR ir propiono rūgšties kiekis bei pagerėjo šieno ir žolės OM virškinamumas, lyginant su kontroline karvių grupe.

6. Rekomenduojame LVA Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame centre atlikti galvijų didžiojo prieskrandžio anaerobinės mikrofloros tyrimus. Šie tyrimai leidžia tiksliau ir kokybiškiau ištirti anaerobinę mikroflorą sąryšyje su fermentaciniais procesais, naudojant skirtingus racionus bei šėrimo technologijas.

Žinios apie autorių

Jonas Laugalis gimė 1974 m. birželio 23 dieną Pašilės kaime, Kelmės rajone. 1981–1989 m. mokėsi Kelmės rajono Pašilės devynmetėje mokykloje, 1989–1992 m. – Kelmės rajone Karklėnų vidurinėje mokykloje. 1992 m. įstojo mokyti į Lietuvos veterinarijos akademiją, kurią baigė 1997 m., įgydamas veterinarijos gydytojo specialybę. Nuo 1997 m. spalio 1 dienos pradėjo dirbti Lietuvos veterinarijos akademijos Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame centre asistentu. 2001 metais įstojo į doktorantūrą Lietuvos veterinarijos akademijos, Anatomijos ir fiziologijos katedroje. Doktorantūros studijų metais paskelbė 10

mokslinių straipsnių ir 1 populiarų straipsnį. Dalyvavo 4 tarptautinėse mokslinėse konferencijose (tai patvirtina išduoti dalyvio pažymėjimai).

Maketavo: R. Trainienė

Už teksto turinį ir redagavimą atsakingas autorius

Spausdino LVA spaudos ir leidybos skyrius

Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas

Tiražas 50. 2,63 sp.l. Užs. Nr. 40d. 2005