

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCE
VETERINARY ACADEMY

Alva Traidaraitė

**INVESTIGATION OF SILAGE NUTRITIONAL VALUE
AND QUALITY ON PHYSIOLOGICAL STATE,
PRODUCTIVITY AND MILK MICROBIOLOGICAL
PARAMETERS IN DAIRY COWS**

Summary of Doctoral Dissertation
Agricultural Sciences, Veterinary Medicine (02 A)

Kaunas, 2012

The work was carried out at the Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences and University of Warmia and Mazury in Olsztyn in 2007–2012.

Supervisor – Prof. Dr. Antanas SEDEREVIČIUS (Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – 02 A).

Council of Veterinary Medicine Science:

Chairman – Prof. Dr. Rasa ŽELVYTĖ (Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – 02 A).

Members:

Prof. Dr. Ingrida MONKEVIČIENĖ (Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – 02 A);

Prof. Habil. Dr. Krystyna Anna SKIBNIEWSKA (University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Biomedical Sciences, Public Health – 09 B);

Prof. Dr. Algirdas ŠALOMSKAS (Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – 02 A);

Doc. Dr. Antanas ŠARKINAS (Food Institute of Kaunas University of Technology, Technological Sciences, Chemical Engineering – 05 T).

Opponents:

Prof. Dr. Bronius BAKUTIS (Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – 02 A);

Prof. Dr. Vytautas SEMAŠKA (Lithuanian University of Educational Sciences, Agricultural Sciences, Zootechny – 03 A).

Public defence of the doctoral dissertation will take place in Veterinary Medicine Science Council at the Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences Dr. S. Jankauskas auditorium 1 p.m. on 25th of September 2012.

Address: Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania.

The abstract of doctoral dissertation has been sent on 24th of August 2012 according to the confirmed address list.

The dissertation is available at the library of the Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences (Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas).

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA

Alva Traidaraitė

**SILOSO MITYBINĖS VERTĖS IR KOKYBĖS TYRIMAI
MELŽIAMŲ KARVIŲ FIZIOLOGINEI BŪSENAI,
PRODUKTYVUMUI IR PIENO
MIKROBIOLOGINIAMS RODIKLIAMS**

Daktaro disertacijos santrauka
Žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina (02 A)

Kaunas, 2012

Disertacija rengta 2007–2012 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijoje ir Olštyno Varmijos – Mazūrijos universitete.

Mokslinis vadovas – prof. dr. Antanas SEDEREVIČIUS (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina – 02 A).

Veterinarinės medicinos mokslo krypties taryba:

Pirmininkas – prof. dr. Rasa ŽELVYTĖ (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina – 02 A).

Nariai:

Prof. dr. Ingrida MONKEVIČIENĖ (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina – 02 A);

Prof. habil. dr. Krystyna Anna SKIBNIEWSKA (Olštyno Varmijos – Mazūrijos universitetas, biomedicinos mokslai, visuomenės sveikata – 09 B);

Prof. dr. Algirdas ŠALOMSKAS (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina – 02 A);

Doc. dr. Antanas ŠARKINAS (Kauno technologijos universiteto Maisto institutas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija – 05 T).

Oponentai:

Prof. dr. Bronius BAKUTIS (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, žemės ūkio mokslai, veterinarinė medicina – 02 A);

Prof. dr. Vytautas SEMAŠKA (Lietuvos edukologijos universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03 A).

Disertacija bus ginama viešajame Veterinarinės medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2012 m. rugsėjo 25 d. 13 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos dr. S. Jankausko auditorijoje.

Adresas: Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiųsta 2012 m. rugpjūčio 24 d. pagal patvirtintą adresų sąrašą.

Su disertacija galima susipažinti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos bibliotekoje (Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas).

SUMMARY

Rapidly expanding world dairy market and increasing concern of consumers about food quality encourage milk producers to implement new forage production and cows' feeding technologies, which increase productivity of cows and improve microbiological and nutritional quality of raw milk. Silage of high and stable quality, used on the dairy farms, implementing modern technologies of forage production is related to the necessity permanently feed grass and preserved grass forage (Ashbell et al. 2002, Weinberg, Ashbell 2003). When raw material is ensilaged into rolls according to new technologies, is improved silage hygiene quality and nutritional value and is created possibility for longer storage period and market development (Lingvall 2002, Muck, O'Kiely 2002). Quality of grass forage when they are grown and stored in Lithuania as well as improving production technologies haven't been studied enough.

In order to decrease risk of undesirable processes and loss of nutritive substances while producing silage of high and stable quality enzyme stimulant and inhibitor supplements are being used (Lingvall, 2002; Weinberg, Ashbell, 2003), which stimulate fermentative processes and aerobic dissociation, improve silage microbiological quality and assimilation in the organism of ruminants, as well as increasing production effectivity and lengthening storage time (Heikkilä, Toivonen, 2001; Guðmundson, 2001b; Lättame, Riho-Jaak, 2001; Nowak et al., 2004a,b). Fermentative supplements should be selected according to the botanical composition of raw material (Hetta et al., 2003; Kostulak-Zielińska et al., 2003), amount of dry matter (Han et al., 2006) and amount of water soluble carbohydrates (Davies et al., 2002; Slottnier, Lingvall, 2002).

Milk – is considered to be a highly complicated biological system, and its components are unstable and depend on a great variety of factors as well as a cow health state (Sloth et al., 2003). Nutrition and health of cows are closely related. Silage of poor quality can be a source of pathogens which cause disturbances of metabolic processes and digestive system (Meyer-Broseta, 2003; Luukkonen et al., 2005, Schaeren et al., 2005) and worsen milk quality. The most harmful for human and animal health pathogens are *Brucella*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* and *Escherichia coli* 0157:H7 (Leclerc et al., 2002). Consequently, it seems reasonable to evaluate health state of the herd as early as possible. One of the ways is various investigations of blood and milk parameters. These parameters reveal energy balance and are important in order to prevent diseases and reproductive disturbances in the herd, as biochemical pa-

rameters of cows blood reflect most precisely nutrition and metabolic disturbances (Antanaitis et al., 2010). Due to the lack of energetic substances, in the blood serum manifests shortage of mineral substances, as it is related to poor feeding (Gustafsson, Carlsson, 1993). The highest part of the disturbances in metabolism are associated with calcium and phosphorus metabolism and concentration of total fat and glucose in blood serum (Y. de Haas et al., 2005).

Taking into consideration enumerated factors, **the aim of our research** was to define nutritive value and quality of silage, produced in rolls, to evaluate botanical composition of raw material, level of wilting and the effect of fermentation stimulating and inhibiting supplements on clinical and physiological state of cows, their productivity, microbiological parameters of milk and digestive processes.

Objectives

- To define the effect of fermentation inhibitors and stimulators and raw material of different wilting on the process of silage in rolls fermentation and nitrogen compounds decomposition as well as on the level of its variety.
- To define silage aerobic stability in rolls and its changes during storage.
- To define silage microbiological composition in rolls and its changes during storage.
- To compare the effectivity of fermentative inhibiting and stimulating supplements and their effect on the process of silage fermentation under laboratory and industrial conditions.
- To define the effect of fermentative inhibiting and stimulating supplements on cows' productivity, milk chemical composition and its microbiological quality when cows are fed investigated silage.
- To define the effect of fermentative inhibiting and stimulating supplements used in production of silage rolls on the clinical and physiological state of cows and digestive processes.

Scientific novelty of the research

Complex investigation and comparison of silage produced in rolls nutritional value and quality was carried out for the first time, taking into consideration botanical composition of raw material, different level of wilting and the effect of fermentation inhibiting and stimulating supplements. What is

more, was studied the effect of silage produced in rolls on clinical and physiological state of cows, their productivity, milk microbiological parameters and digestive processes.

Practical value of the research

Different effectivity of used fermentation stimulator and inhibitor in silage rolls produced under laboratory and industrial conditions was stated, as well as decreased fungal population in silage during a long-term storage, what ensure improved silage hygiene quality and high milk productivity of cows, its microbiological quality without negative effect on clinical and physiological state of cows and digestive processes. It is also the first time by the method of thermovision analyzes was measured by aerobic processes exuded heat in silage rolls.

MATERIAL AND METHODS OF INVESTIGATIONS

Location and time of the experiments, experimental design

The experiments were carried out during 2007–2010 at the Veterinary academy of Lithuanian Health Science university, on A.Ulevicius farm (Marijampoles region), at Olsztyn Warmia – Mazury university, on the experimental farm of Olsztyn Warmia – Mazury university, at the Institute of National food and veterinary risk evaluation. In order to clarify objectives of the research, the experiments was carried out in the following stages (table 1 a, 1 b).

Technology of silage production in rolls. On the A. Ulevicius farm (A and B experiments), on the experimental farm of Olsztyn Warmia – Mazury university (C, D and E experiments) was produced silage in rolls of grass and mixture of grass and legume plants with inhibiting and stimulating supplements according to standard technology. Fermentation stimulator (biological preparation) consisted of – *Lactobacillus casei ssp. rhamnosus* 10^{11} g⁻¹ and *Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermanii* 10^{11} g⁻¹. Fermentation inhibitor (chemical preservative) – consisted of formic acid – 55 percent, ammonium formate – 24 percent, propionic acid – 5 percent, benzoic acid – 1 percent and ethyl benzoate – 1 percent. Fermentation stimulator and inhibitor were used in the form of water suspension, prepared half an hour before application in the ratio 3.5 l/t of ensilaged material. For A and B experiments silage was produced of the mixtures with the same botanical composition which were wilted different time: for the experiment A was produced of grass and alfalfa (G+A) wilted 6 hours silage with fermentation stimulator supplement (S), silage with fermentation inhibitor sup-

plement (I), control silage without supplements (0). For the experiment B was produced of grass and alfalfa (G+A) wilted 24 hours silage (S), (I), (0). For the experiments C, D and E silage was produced of mixtures with different botanical composition wilted for 4 hours: C – grass and alfalfa mixture (G+A) silage (I), (0), D – grass mixture (G) silage (I), (0), E – grass and red clover mixture (G+RC) silage (I), (0) (table 1 a).

Grouping of the experimental cows and feeding. Experiments with cows were carried out on the same farms where was produced enrolled silage. For the experiments were selected in total 316 Holstein Fryzer (HF) breed cows. On A. Ulevicius farm for the experiments A and B were formed three analogous groups of cows according lactation and productivity, which were fed balanced ration with investigated silage: I control group of cows was fed silage (0), II group – silage (S), III group – silage (I). On the experimental farm of Olsztyn Warmia – Mazury university for the experiments C, D and E were formed two analogous groups of cows according to lactation and productivity. The groups of cows were fed balanced ration with investigated silage: I control group of cows was fed silage (0), II group – silage (I) (table 1 b).

The cows of all 5 experiments were kept indoors under the same condition, untied, milking was carried out mechanically into two milk lines twice daily, water was given from automatic drinkers and cows were fed twice daily preserved forage the whole year. Preserved forage was shared-out by a forage trolley with a horizontal dispenser. Concentrated forage was given each cow individually according to cows' recognition system. Feeding experiments of cows were divided into two periods: 15 day preparation period and 30 day experimental period. During the morning feeding ration for all groups of cows consisted of 15 kg/unit/d maize silage, experimental silage ad libidum and concentrated forage (pelleted maize flour) were given each cow individually according to the productivity.

The cows with milk yield higher than 16 kg/d, were additionally given 1 kg of concentrated forage per 2 kg of milk (0 kg; 0–3 kg; 3–6 kg; 6–9 kg; >9 kg). The cows up to 100 days of lactation were given the amount of concentrated forage according to milk yield, since 100 days of lactation they were given fixed amount of concentrated forage as it was defined at the beginning of the experiment. In the afternoon the cows were given only experimental forage ad libidum. Cows' daily ration corresponded to nutritional standards (Tarvydas et al., 1995).

Table 1 a. Stages of the experiment
1 a lentelė. *Bandymų etapai*

I stage – I etapas			
Objective <i>Tikslas</i>	Experi- ments <i>Bandymai</i>	Type of produced silage <i>Gaminamo siloso rūšis</i>	Silage investigation <i>Siloso tyrimai</i>
To define the effect of different botanical composition raw material, wilting time and fermentation stimulator and inhibitor on the silage chemical, fermentative and microbiological parameters. <i>Nustatyti skirtingos botaninės sudėties žaliavos, vytinimo laiko ir fermentacijos stimulatoriaus ir inhibitoriaus įtaką siloso cheminiams, fermentaciniams ir mikrobiologiniams rodikliams.</i>	A	(G+A) wilted 6 h <i>(Ž+L) vytinta 6 val.</i> 0 – control – <i>kontrolinis</i> S – stimulator – <i>stimulatorius</i> I – inhibitor – <i>inhibitorius</i>	1. Investigation of ensilaged material chemical composition. 2. Investigation of silage chemical composition. 3. Silage microbiological investigation.
	B	(G+A) wilted 24 h <i>(Ž+L) vytinta 24 val.</i> 0 – control – <i>kontrolinis</i> S – stimulator – <i>stimulatorius</i> I – inhibitor – <i>inhibitorius</i>	4. Dynamics of silage fermentation under laboratory conditions. 5. Evaluation of silage stability.
	C	(G+A) wilted 4 h <i>(Ž+L) vytinta 4 val.</i> 0 – control – <i>kontrolinis</i> I – inhibitor – <i>inhibitorius</i>	6. Changes of silage composition during storage. 1. <i>Silosuojamos žaliavos cheminės sudėties tyrimai.</i>
	D	(G) wilted 4 h <i>(Ž) vytinta 4 val.</i> 0 – control – <i>kontrolinis</i> I – inhibitor – <i>inhibitorius</i>	2. <i>Siloso cheminės sudėties tyrimai.</i> 3. <i>Siloso mikrobiologiniai tyrimai.</i>
	E	(G+RC) wilted 4 h <i>(Ž+RD) vytinta 4 val.</i> 0 – control – <i>kontrolinis</i> I – inhibitor – <i>inhibitorius</i>	4. <i>Siloso fermentacijos dinamika laboratorinėmis sąlygomis.</i> 5. <i>Siloso stabilumo įvertinimas.</i> 6. <i>Siloso sudėties pokyčiai laikymo metu.</i>

G – silage of grass mixture; G+A – silage of grass and alfalfa mixture; G+RC – silage of grass and red clover mixture; 0 – silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement.

Ž+ L – žolių ir liucernos mišinio silosas; Ž – žolių mišinio silosas; Ž + RD – žolių ir raudonųjų dobilų mišinio silosas; 0 – kontrolinis silosas be priedų; S – silosas su fermentacijos stimulatoriaus priedu; I – silosas su fermentacijos inhibitoriaus priedu.

Table 1 b. Stages of the experiment
1 b lentelė. *Bandymų etapai*

II stage – II etapas				
Objective <i>Tikslas</i>	Experi- ments <i>Bandymai</i>	Feeding silage		Investigation of experi- mental cows <i>Bandomų karvių tyrimai</i>
		No. of cows <i>Karvių sk.</i>	Gr. of cows <i>Karvių gr.</i>	
To define the effect of the investigated silage on cows' productivity, milk chemical composition and microbiological quality, cows' clinical and physiological state and digestive processes. <i>Nustatyti tiriamojo siloso poveikį karvių produktyvumui, pieno cheminei sudėčiai ir mikrobiologinei kokybei, karvių klinicinei ir fiziologinei būsenai bei virškinimo procesams.</i>	A	65	I – control – <i>kontrolė (0)</i> II – experimental – <i>tiriamoji (S)</i> III – experimental – <i>tiriamoji (I)</i>	1. Investigation of forage consumption in cows. 2. Investigation of cows' productivity. 3. Investigation of cows' milk composition.
	B	55	I – control – <i>kontrolė (0)</i> II – experimental – <i>tiriamoji (S)</i> III – experimental – <i>tiriamoji (I)</i>	4. Investigation of milk microbiological composition. 5. Clinical investigation of cows.
	C	43	I – control – <i>kontrolinė (0)</i> II – experimental – <i>tiriamoji (I)</i>	6. Biochemical investigation of cows' blood. 7. Investigation of silage organic matter digestibility.
	D	75	I – control – <i>kontrolinė (0)</i> II – experimental – <i>tiriamoji (I)</i>	1. <i>Karvių pašarų suvartojimo tyrimai.</i> 2. <i>Karvių produktyvumo tyrimai.</i> 3. <i>Karvių pieno sudėties tyrimai.</i>
	E	78	I – control – <i>kontrolinė (0)</i> II – experimental – <i>tiriamoji (I)</i>	4. <i>Pieno mikrobiologinės kokybės tyrimai.</i> 5. <i>Karvių klinikiniai tyrimai.</i> 6. <i>Karvių kraujo biocheminiai tyrimai.</i> 7. <i>Tiriamojo siloso organinės medžiagos virškinamumo tyrimai.</i>

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

I – kontrolinė karvių gr. šerta silosu be priedų (0); II – tiriamoji karvių gr. šerta silosu su fermentacijos stimulatoriaus priedu (S); III – tiriamoji karvių gr. šerta silosu su fermentacijos inhibitoriaus priedu (I).

Methods of investigation

Methods of silage and ensilaged material investigation. Silage density in rolls was defined according to the average weight of the roll, amount of dry matter in silage and roll volume. An average weight of the roll was defined according to the values obtained during the nutritional experiment. Volume of the roll was calculated according to the cone model: 1.20 m height and 1.2 m diameter (Nowak 1999). The main chemical composition of raw material and silage nutritive substances was measured by a standard AOAC (1990) method. Organic matter was defined according to McDonald and Henderson (1962) method. The amount of water soluble carbohydrates was defined according to Dreywood (1946) method, described by Rutkowska et al. (1981). The amount of dry matter in silage was defined according to Haigh (1995a) equation. Fractions of fiber (NDF, ADF and ADL) were evaluated according to Goering and Van Soest (1970) method, with an apparatus „ANKOM 220“ (for grass and silage investigation) and „Foss Tecator Fibertec 2010“ apparatus (for concentrated mixtures investigation). Silage pH was measured by an electrometric method with a pH-meter „HI 8314“. The amount of fatty acids (acetic, butyric, propionic) in their water extract was defined by a gas chromatograph Hewlett Packard 6890 (with a flame ionization detector FID). The amount of lactic acid was defined by Leppera distillation method described by Skulmowski (1974). Dissociation of nitrogen fractions in the silage was carried out according to Brzóska et al. (1999b) diagram. The amount of protein nitrogen was defined by Bernstein method, the amount of ammonia nitrogen – by Conway method described by Skulmowski (1974), the amount of ethanol was measured by Weissbacha–Laubeg (1964) method. The level of proteolysis was defined according to the amount of protein nitrogen in total nitrogen ratio to the amount of protein nitrogen in the total amount of protein (100%) according to (Messman et al., 1994). The amount of biogenic amines was measured by a high pressure liquid chromatograph (HPLC) apparatus „Shimadzu“ with UV–VIS detector (wave length 546 nm) according to Joosten et al., Olieman (1986).

Microbiological composition of silage, ensilaged material and milk was defined according to standards: total count of yeast and microscopic fungi (LST ISO 21527-1:2008), total count of anaerobic bacteria *Clostridium spp.* from saccharolytic and proteolytic groups (LST EN ISO 7937:2004), total count of staphylococcus (LST EN ISO 6888-1+A1:2005), total count of *Coli Coliforms* group bacteria (LST ISO 4831:2006), total count of mesophilic aerobic bacteria (LST EN ISO 4833:2003), total count of *Escherichia coli* bacteria (LST ISO 16649-2:2002/P:2009) and total count of *Listeria monocytogenes* (LST EN ISO 6888-1+A1:2005), total count of milk fermentation bacteria (PN–A–82055–17:1997).

Silage resistance to aerobic dissociation was defined according to Ashbell et al. (2002) method.

Temperature of silage rolls was measured by the cameras of thermovision registration, this temperature is presented by Thermovision computer system with thermal scanner AGEMA (model LWB 880), thermograms were created and evaluated statistically by ThermoScope 2 program.

The amount of consumed forage was defined according to (Andersen et al. 2003) method.

Milk yield of cows was measured daily at milking place during morning and evening feeding. Changes of productivity level in cows with increased amount of concentrated forage in ration (>9; 6,1–9; 3,1–6; 0–3; 0 kg), was defined according to Minakowski et al. (2003).

Total amount of milk fat, protein, urea and somatic cell count were defined by a Milko–Scan 605“ (A/SN. FossElectric, Hillerod, Denmark).

Clinical investigation of cows was carried out according to Gabrijolavicius (1991) method.

In the blood serum of cows were measured by a blood analyzer HITACHI-705 (Boehringer Mannheim, Japan) total amount of protein, glucose, calcium and phosphorus.

Silage organic matter digestibility was defined by the I stage *in vitro* method (Monkeviciene, 1999).

Statistical data analysis was carried out by a statistic package Statistica 6. Chemical, microbiological data and data of aerobic incubation were evaluated by the method of variation analysis of two factors. Differences of average means and interaction value were defined according to Duncan test. The results of the experiments with cows were evaluated by the method of variation analysis, taking into consideration the effect of preservation method on cows productivity and forage consumption. Dependence among silage chemical parameters used in industrial experiments and experimental silage dry matter consumption and milk productivity (daily) were defined by the method of linear, square and multifactorial regression. Analysis of multifactorial regression was carried out by the method of variables elimination. The average means of the cows' feeding results were used for the analysis (Huhtanen et al., 2003).

The results are considered to be reliable when $P < 0.05$, the results are unreliable when $P > 0.05$.

THE RESULTS OF INVESTIGATION AND DISCUSSION

The results of silage chemical, fermentative and microbiological investigation

It was defined during the experiment B on A. Ulevicius farm that lengthened wilting time of silage raw material effected silage density, increased the amount of dry matter and decreased the amount of crude protein if to compare to the experiment A ($P<0.01$). The amount of acid detergent fiber (ADF) tended to be higher with longer wilting time, depended on botanical composition of raw material and fermentation inhibitor which suppressed increase of ADF ($P<0.01$). Longer wilting time and fermentative supplements had the effect on lower amount of water soluble carbohydrates (WSC) in all kinds of silage. Interaction of factors among wilting time, fermentation supplements and amount of WSC ($P<0.01$) (table 2 a).

Table 2 a. Silage chemical composition in the experiments A, B (n=36)

Parameters	Experiments A, B								
	Mix-ture	C (h)	Supplement – D				Reliability		
			0	S	I	SEM	C	D	C D
Silage density, kg DM/m ³	G+A	6	128.5	123.4	122.2				
	G+A	24	148.8	152.5	156.0				
Dry matter, g/kg	G+A	6	249.9	260.8	256.8	5.54	**		
	G+A	24	374.9	393.1	389.7	6.33			
Organic matter, g/kg DM	G+A	6	899.6	899.7	900.7	2.96			
	G+A	24	904.8	893.4	901.8	5.96			
Total protein, g/kg DM	G+A	6	191.5	193.4	196.7	4.04	**		
	G+A	24	178.9	177.1	192.0	3.65			
WSC, g/kg DM	G+A	6	82.7	47.7	86.9	6.90	**	**	**
	G+A	24	30.3	18.9	66.2	8.92			
NDF, g/kg DM	G+A	6	480.2	466.7	455.9	10.84			
	G+A	24	501.2	477.0	459.7	8.74			
ADF, g/kg DM	G+A	6	356.2	346.0	336.1	13.00	**	**	
	G+A	24	367.5	378.3	341.4	8.84			
ADL, g/kg DM	G+A	6	58.1	42.1	48.0	5.50			
	G+A	24	43.9	53.9	42.3	3.22			

0 – control silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; C – wilting time; D – fermentation supplement; C D – factors interaction; SEM – standard error deviation; ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.01$.

Han et al. (2006) have also stated that increased amount of dry matter (DM) in the ensilaged raw material is one of the main factors, limiting fermentation processes and decreasing amount of WSC during the process of silage fermentation. On the training farm of Olsztyn Warmia – Mazury university in the experiments C, D and E it was defined that different botanical composition and fermentation inhibitor had no effect on the silage density, dry matter, crude protein and the amount of structural saccharides neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent lignin (ADL) fractions in the silage. However, fermentation inhibitor increased amount of organic matter in G+A and G+RC silage ($P<0.01$). Botanical composition and fermentation inhibitor effected increased WSC amount in G+A and G+RC silage ($P<0.01$) (table 2 b). The results of our investigations differ from the results, obtained by Broderick et al. (2000), Siuta et.al. (2003), who defined that legume plants have lower amount of WSC if to compare to the amount of WSC found in grass.

Table 2 b. Silage chemical composition in the experiments C, D, E (n=36)

Parameters	Experiments C, D, E							
	Supplement – D	Mixture – M				Reliability		
		G + A	G	G + RC	SEM	D	M	D M
Silage density, kg DM/m ³	0	177.1	156.3	167.7				
	I	170.3	154.6	170.5				
Dry matter, g/kg	0	392.2	382.1	385.0	7.51			
	I	407.4	394.9	385.4	10.67			
Organic matter, g/kg DM	0	886.2	899.7	899.3	7.01	**		
	I	903.8	896.9	909.2	0.54			
Total protein, g/kg DM	0	137.5	167.9	153.4	10.62			
	I	138.8	166.9	151.2	7.68			
WSC, g/kg DM	0	68.0	33.6	54.6	8.60	*	**	**
	I	88.1	25.4	97.0	18.97			
NDF, g/kg DM	0	581.6	574.6	574.7	14.89			*
	I	580.8	585.6	546.7	15.12			
ADF, g/kg DM	0	318.6	286.8	308.2	10.55		**	
	I	317.9	266.5	297.0	7.78			
ADL, g/kg DM	0	33.8	33.2	32.0	2.66			
	I	32.9	35.0	30.3	2.98			

0 – control silage without supplements; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; G – grass mixture; G + RC – mixture of grass and red clover; D – fermentation supplement; M – ensilaged mixture; D M – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

During the experiments A and B was not defined the effect of different wilting time and fermentation supplements on ensilaged mixture pH, total amount of acids and intensity of lactic acid fermentation. Decreased amount of propionic acid was effected by longer wilting time and fermentation supplements ($P<0.01$), the amount of butyric acid and ethanol – by fermentation supplements ($P<0.01$). Longer wilting time positively effected silage microbiological quality: decreased yeast, microscopic fungi and *Clostridium spp.* count ($P<0.01$). Fermentation inhibitor limited yeast ($P<0.05$) and *Clostridium spp.* count ($P<0.01$) (table 3 a).

Table 3 a. Silage fermentative and microbiological composition in the experiments A, B (n=36)

Parameters	Experiments A, B									
	Mix-ture	C (h)	Supplement – D				Reliability			
			0	S	I	SEM	C	D	C D	
pH	G+A	6	4.62	4.50	4.83	0.11				
	G+A	24	4.79	4.55	4.86	0.11				
Lactic acid, g/kg DM	G+A	6	125.5	118.5	104.1	7.42				
	G+A	24	98.7	111.6	99.8	6.46	*			
Acetic acid, g/kg DM	G+A	6	37.3	27.8	26.1	6.34				
	G+A	24	11.2	28.2	13.2	3.89				
Propionic acid, g/kg DM	G+A	6	0.18	0.24	0.37	0.03	**	**	*	
	G+A	24	0.03	0.11	0.27	0.05				
Butyric acid, g/kg DM	G+A	6	0.36	0.66	0.06	0.18		**		
	G+A	24	0.08	0.20	0.04	0.16				
Total acids, g/kg DM	G+A	6	162.8	147.1	130.6	10.68				
	G+A	24	110.7	139.9	113.4	6.92				
Lactic acid/total acids, %	G+A	6	77.8	81.4	80.2	2.99				
	G+A	24	89.9	78.9	88.3	2.98				
Ethanol, g/kg DM	G+A	6	12.46	7.80	6.30	0.22		**		
	G+A	24	12.56	6.42	6.42	0.27				
Yeasts, log cfu/g	G+A	6	7.72	6.82	3.02	0.53	**	*	*	
	G+A	24	3.19	3.82	2.00	0.31				
Moulds, log cfu/g	G+A	6	5.27	6.54	3.21	0.71	**			
	G+A	24	2.44	3.36	2.82	0.63				
<i>Clostridium spp.</i> , log cfu/g	G+A	6	3.54	4.03	2.71	0.30	**	**	*	
	G+A	24	2.53	1.52	1.48	0.23				

0 – control silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; C – wilting time; D – fermentation supplement; C D – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

In the experiments C, D and E was stated very different effect of botanical composition and fermentation inhibitor on the intensity of fermentation process on the ensilaged mixtures. On the silage botanical composition greatly depended the amount of lactic acid, propionic acid, total acid, ethanol and yeast count ($P<0.01$), count of microscopic fungi and *Clostridium spp.* ($P<0.05$). Fermentation inhibitor limited the amount of butyric acid ($P<0.05$), ethanol, count of yeast and *Clostridium spp.* ($P<0.01$), the amount of propionic acid increased ($P<0.05$) if to compare to the control silage (table 3 b).

Table 3 b. Silage fermentative and microbiological composition in the experiments C, D, E (n=36)

Parameters	Supplement – D	Experiments C, D, E							
		Mixture – M				Reliability			
		G + A	G	G + RC	SEM	D	M	D M	
pH	0	5.42	4.35	4.94	0.21				
	I	5.45	4.65	4.90	0.20				
Lactic acid, g/kg DM	0	54.89	96.73	68.50	8.95		**	*	
	I	48.15	70.49	81.71	7.55				
Acetic acid, g/kg DM	0	12.47	18.31	20.04	3.11				
	I	10.42	16.82	15.21	2.51				
Propionic acid, g/kg DM	0	0.15	0.03	0.11	0.02	*	**	**	
	I	0.30	0.18	0.25	0.04				
Butyric acid, g/kg DM	0	3.01	0.44	6.41	2.20	*			
	I	0.16	0.17	0.10	0.09				
Total acids, g/kg DM	0	70.52	115.5	97.48	11.38	*	**		
	I	59.03	87.44	97.28	8.49				
Lactic acid/total acids, %	0	77.45	83.58	71.17	4.51				*
	I	82.07	75.56	84.65	3.26				
Ethanol, g/kg DM	0	23.1	15.5	26.2	0.27	**	**		
	I	11.5	14.1	15.1	0.15				
Yeasts, log cfu/g	0	4.51	6.37	6.94	0.52	**	**	*	
	I	3.97	6.85	4.79	0.56				
Moulds, log cfu/g	0	2.00	2.43	4.37	0.64		*		
	I	2.00	2.78	3.57	0.48				
<i>Clostridium spp.</i> , log cfu/g	0	3.37	2.94	2.82	0.31	**	*		
	I	2.73	2.34	1.86	0.21				

0 – control silage without supplements; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; G – grass mixture; G + RC – mixture of grass and red clover; D – fermentation supplement; M – ensilaged mixture; D M – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

Considerable effect of fermentation inhibitor on the fermentative processes of the ensilaged material was not stated. In our opinion, it may be related to the amount of formic acid.

In the experiment B it was found, that longer wilting time decreased the amount of total nitrogen (N-total) ($P<0.01$) and ammonia nitrogen (N-NH₃) ($P<0.05$) if to compare to the experiment A. Fermentation supplements increased the amount of protein nitrogen (N-protein) compounds, decreased non protein nitrogen (N-non protein) compounds and ammonia nitrogen amount ($P<0.01$). Protein dissociation was by 9.3 percent stronger in silage B (0), if to compare to silage A (0) ($P<0.05$). Fermentation supplements suppressed protein dissociation ($P<0.05$) (table 4 a).

Table 4 a. Amount of nitrogen compounds in the experiments A, B (n=36)

Parameters	Experiments A, B									
	Mixture	C (h)	Supplement – D				Reliability			
			0	S	I	SEM	C	D	C D	
N-total, g/kg DM	G+A	6	30.6	30.9	31.5	0.65	**			
	G+A	24	28.6	28.3	30.7	0.63				
N-protein, g/kg DM	G+A	6	15.1	15.10	16.6	0.66		**		
	G+A	24	12.6	13.9	16.9	0.86				
N-non protein, g/kg DM	G+A	6	15.5	15.8	14.9	0.72		*		
	G+A	24	16.0	14.4	13.8	0.68				
N-NH ₃ , g/kg DM	G+A	6	1.65	2.77	1.97/1.52	0.53	*	**		
	G+A	24	1.01	0.64	1.46/0.95	0.13				
N-protein/N-total, g/kg N	G+A	6	493.4	489.0	527.0	1.49		**		
	G+A	24	441.0	491.0	551.0	2.31				
N-non protein /N-total, g/kg N	G+A	6	506.6	511.0	473.0	1.98		**		
	G+A	24	559.0	509.0	449.0	2.12				
N-NH ₃ /N-total, g/kg N	G+A	6	53.9	89.6	62.6/48.2	16.73	*			
	G+A	24	35.3	22.6	47.5/30.9	3.89				
Degree of proteolysis, %	G+A	6	66.8	66.3	71.4	0.69	*	*		
	G+A	24	57.5	64.0	71.9	0.94				

0 – control silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; C – wilting time; D – fermentation supplement; C D – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

It was defined during our experiments that fermentation inhibitor had stronger effect on protein dissociation than longer wilting time. Activity of fermentation stimulator was defined in raw material with higher amount of dry matter. In the experiments C, D and E was defined the effect of botani-

cal composition on the amount of protein nitrogen in silage: the highest amount was found in G silage (0) and G+RC silage (0) ($P<0.01$). In G silage (0) protein dissociation was by 13.3 percent weaker if to compare to G+A silage (0), and by 15.8 percent weaker if to compare to G+RC silage (0) ($P<0.01$). Fermentation inhibitor effected process of deamination and decreased the amount of ammonia nitrogen ($P<0.05$) (table 4 b).

Table 4 b. Amount of nitrogen compounds in the experiments C, D, E (n=36)

Parameters	Supplement – D	Experiments C, D, E					Reliability		
		Mixture – M				SEM	D	M	D M
		G + A	G	G + RC					
N-total, g/kg DM	0	21.99	26.87	24.54	1.69				
	I	22.20	26.70	24.06	1.23				
N-protein, g/kg DM	0	11.15	15.21	12.68	0.73			**	
	I	12.16	14.38	13.23	0.75				
N-non protein, g/kg DM	0	10.84	11.66	11.86	0.43				
	I	10.04	12.32	10.83	0.29				
N-NH ₃ , g/kg DM	0	1.33	1.24	1.81	0.32		*		
	I	0.73	1.14	1.39/0.95	0.11				
N-protein/N-total, g/kg N	0	507.0	566.1	516.7	6.74		*		
	I	547.7	538.6	551.3	2.06				
N-non protein /N-total, g/kg N	0	493.0	433.9	483.3	8.13		*		
	I	452.3	461.4	448.7	4.77				
N-NH ₃ /N-total, g/kg N	0	60.48	46.14	73.75	10.56				*
	I	32.88	42.70	57.77/39.5	2.96				
Degree of proteolysis, %	0	62.0	75.3	59.5	0.75		**		
	I	67.0	71.5	63.6	0.38				

0 – control silage without supplements; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; G – grass mixture; G + RC – mixture of grass and red clover; D – fermentation supplement; M – ensilaged mixture; D M – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

It was defined during our experiments, that different botanical composition of the ensilaged material effected fluctuations in the amount of protein nitrogen, however, fermentation inhibitor had no considerable effect on protein dissociation.

It was defined in the experiment B that longer wilting time effected de-

creased amount of biogenic amines tyramine (TA), putrescine (PUT) and cadaverine (CAD) in their total amount: histamine (HA) and tyramine, putrescine and cadaverine if to compare to the experiment A ($P<0.01$). Fermentation inhibitor limited the process of all investigated biogenic amines and decreased their amount in silage A (I), (S) and silage B (I), (S), independently on wilting level if to compare to the control silage (0) ($P<0.01$). Fermentation stimulator limited the process of investigated amines histamine, putrescine and cadaverine if to compare to the control silage (0) and decreased their amount in silage, independently on mixture wilting level, except from amine tyramine ($P<0.01$) (table 5 a).

Table 5 a. **Amount of biogenic amines in the experiments A, B** (n=36)

Parameters	Experiments A, B								
	Mixture	C (h)	Supplement – D				Reliability		
			0	S	I	SEM	C	D	C D
Histamine, mg/kg DM	G+A	6	223.8	156.2	78.5	35.1		**	
	G+A	24	173.2	143.8	76.0	36.9			
Tyramine, mg/kg DM	G+A	6	938.5	1079.9	610.4	144.7	**	*	
	G+A	24	395.1	607.8	103.2	164.2			
Putrescine, mg/kg DM	G+A	6	877.2	342.6	166.7	149.1	**	**	**
	G+A	24	231.7	218.4	29.1	52.5			
Cadaverine, mg/kg DM	G+A	6	589.4	277.3	268.3	90.1	**	**	
	G+A	24	124.7	119.8	54.6	23.3			
HA+TA, mg/kg DM	G+A	6	1162.2	1236.1	688.9	165.1	**	**	
	G+A	24	568.2	751.6	179.3	164.5			
PUT+CAD, mg/kg DM	G+A	6	1466.6	619.9	435.0	233.0	**	**	
	G+A	24	356.4	338.2	83.7	64.1			
HA+TA/PUT+CAD	G+A	6	0.776	2.675	2.233	0.51			
	G+A	24	1.619	2.599	2.421	0.67			

0 – control silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; C – wilting time; D – fermentation supplement; C D – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

It was also defined in our experiments that increased amount of DM in the ensilaged material decreased the amount of biogenic amines, and it corresponds the results obtained by Krizek (1993) and Van Os (1996). It was defined in the experiments C, D and E that different botanical composition had greater effect on the amount of biogenic amines histamine and putrescine in G silage (0) and G+RC silage (0) than used fermentation inhibitor

($P<0.01$) (table 5 b). In our opinion, the amount of particular biogenic amines in silage depends on the epiphytic microflora of plant species in the ensilaged raw material.

Table 5 b. **Amount of biogenic amines in the experiments C, D, E** (n=36)

Parameters	Supplement – D	Experiments C, D, E					Reliability		
		Mixture – M				SEM	D	M	D M
		G + A	G	G + RC					
Histamine, mg/kg DM	0	55.0	190.36	162.20	29.48			**	
	I	52.55	99.03	97.96	18.40				
Tyramine, mg/kg DM	0	442.22	1074.11	449.90	166.58				
	I	391.10	1015.51	162.48	149.31				
Putrescine, mg/kg DM	0	250.27	1090.73	644.78	150.10			**	
	I	370.85	1405.68	360.76	91.72				
Cadaverine, mg/kg DM	0	499.02	504.81	522.20	134.61				
	I	400.25	503.59	255.61	120.09				
HA+TA, mg/kg DM	0	497.22	1264.47	612.11	180.87				
	I	443.65	1114.54	260.45	78.96				
PUT+CAD, mg/kg DM	0	749.29	1595.54	1166.98	176.18			*	
	I	771.1	1909.27	616.38	155.04				
HA+TA/PUT+CAD	0	0.663	0.792	0.524	0.23				
	I	0.575	0.583	0.442	0.21				

0 – control silage without supplements; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; G – grass mixture; G + RC – mixture of grass and red clover; D – fermentation supplement; M – ensilaged mixture; D M – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively $P<0.05$, $P<0.01$.

It was defined in the experiments A and B that longer wilting time effected pH value ($P<0.05$) during aerobic incubation. Fermentation supplements and longer wilting time of raw material increased the amount of carbon dioxide (CO_2) during aerobic incubation, especially in silage B (S) ($P<0.01$), if to compare to silage B (0). Longer wilting time of raw material effected decreased loss of WSC ($P<0.01$), if to compare to the silage with higher humidity. Fermentation supplements effected loss of WSC amount: in silage B (I) they were higher ($P<0.01$) if to compare to silage B (S). Fermentation supplements increased count of microscopic fungi in silage B (S) if to compare to silage B (0) ($P<0.05$) (table 6 a).

Table 6 a. Silage chemical, fermentative and microbiological parameters after 6 days of aerobic incubation at the temperature of 20 °C in the experiments A, B (n=6)

Parameters	Mix- ture	Experiments A, B							
		C (h)	Supplement – D				Reliability		
			0	S	I	SEM	C	D	C D
pH	G+A	6	6.80	5.65	6.50	0.38	*		**
	G+A	24	5.18	6.81	5.44	0.48			
Increase	G+A	6	2.18	0.97	1.68	0.42			**
	G+A	24	0.39	2.18	0.60	0.83			
DM – decrease, g/kg	G+A	6	24.1	16.1	13.4	7.24			
	G+A	24	19.9	35.1	13.1	7.17			
CO ₂ formed during incubation	G+A	6	23.46	9.27	10.12	4.39	**	**	
	G+A	24	9.20	56.63	12.41	13.38			
WSC – decrease, g/kg DM	G+A	6	52.1	24.6	39.2	17.55	**	**	
	G+A	24	5.5	4.9	31.3	7.61			
Acetic acid – increase, g/kg DM	G+A	6	6.9	-7.64	-8.78	5.45		**	
	G+A	24	7.7	-2.62	1.54	2.98			
Lactic acid – decrease, g/kg DM	G+A	6	83.39	50.90	53.01	12.29			*
	G+A	24	31.8	55.22	19.64	15.62			
N-NH ₃ /N-total – increase, g/kg	G+A	6	27.97	25.70	21.22	9.46			
	G+A	24	21.76	7.53	11.51	6.64			
Yeasts, log cfu/g	G+A	6	6.04	6.54	7.76	0.98			*
	G+A	24	7.31	7.58	3.03	1.53			
Increase	G+A	6	-47.8	12940	54960				
	G+A	24	13189	12940	1.7				
Moulds, log cfu/g	G+A	6	4.63	6.12	2.03	1.19		*	
	G+A	24	4.22	7.68	5.06	1.54			
Increase	G+A	6	-4.4	-1.2	-15				
	G+A	24	60	20900	174				

0 – control silage without supplements; S – silage with fermentation stimulator supplement; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; C – wilting time; D – fermentation supplement; C D – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively P<0.05, P<0.01.

It was also defined in the experiments C, D and E that different botanical composition and fermentation inhibitor decreased the value of pH (P<0.01). Different botanical composition effected carbon dioxide, acetic acid, lactic acid, ammonia nitrogen, yeast and microscopic fungi count (P<0.01) of the incubated silage (table 6 b).

Table 6 b. Silage chemical, fermentative and microbiological parameters after 6 days of aerobic incubation at the temperature of 20 °C in the experiments C, D, E (n=6)

Parameters	Supple- ment – D	Experiments C, D, E						
		Mixture – M				Reliability		
		G + A	G	G + RC	SEM	D	M	D M
pH	0	6.51	5.60	6.87	0.45	**	**	
	I	6.14	4.96	5.32	0.34			
Increase	0	1.29	1.23	2.00	0.40			
	I	0.57	0.47	0.54	0.15			
DM – decrease, g/kg	0	32.2	39.6	54.2	1.51			
	I	27.4	28.1	25.6	7.69			
CO ₂ formed during incubation	0	20.53	31.56	29.90	4.48		**	
	I	13.57	19.43	18.77	1.49			
WSC – decrease, g/kg DM	0	38.63	11.5	27.5	6.06	**	*	
	I	5.4	8.3	28.1	10.90			
Acetic acid – increase, g/kg DM	0	-0.51	5.71	16.92	3.86	*	**	
	I	-1.62	2.18	6.90	3.85			
Lactic acid – decrease, g/kg DM	0	12.31	59.24	40.56	13.36		**	
	I	-5.58	9.28	25.29	10.53			
N-NH ₃ /N-total – increase, g/kg	0	16.60	7.83	21.7	7.09		**	
	I	20.85	3.33	39.7	9.90			
Yeasts, log cfu/g	0	7.63	5.87	7.00	1.12		**	
	I	6.21	6.11	4.39	1.68			
Increase	0	1300	-2.37	1.14				
	I	174	-6.12	-2.59				
Moulds, log cfu/g	0	2.82	4.45	3.03				
	I	2.00	4.46	2.40				
Increase	0	6.6	104	-22	0.61		**	
	I	6.6	48	-14.8	0.67			

0 – control silage without supplements; I – silage with fermentation inhibitor supplement; G + A – mixture of grass and alfalfa; G – grass mixture; G + RC – mixture of grass and red clover; D – fermentation supplement; M – ensilaged mixture; D M – factors interaction; SEM – standard error deviation; *, ** – level of differences and interaction reliability, respectively P<0.05, P<0.01.

Rather intensive aerobic dissociation found during our experiments in all types of investigated silage might have been caused by comparatively long (7 month) storage of rolls and confirmed the results obtained by Ostrowski (1995).

In the experiment B having carried out investigations in order to compare the effect of fermentation supplements on the fermentation level under laboratory and industrial conditions, it was defined that silage of the same raw material produced under laboratory condition had higher amount of lactic and acetic acid, lower pH and amount of WSC if to compare to the silage produced in rolls. Application of fermentation stimulator for the preservation of rolls under industrial conditions tended to be less effective than under laboratory conditions. The results only confirm Slottnier (2002) statement, that when raw material in silage rolls is unchopped, different conditions for forage fermentation are created if to compare to the chopped raw material, used under laboratory conditions.

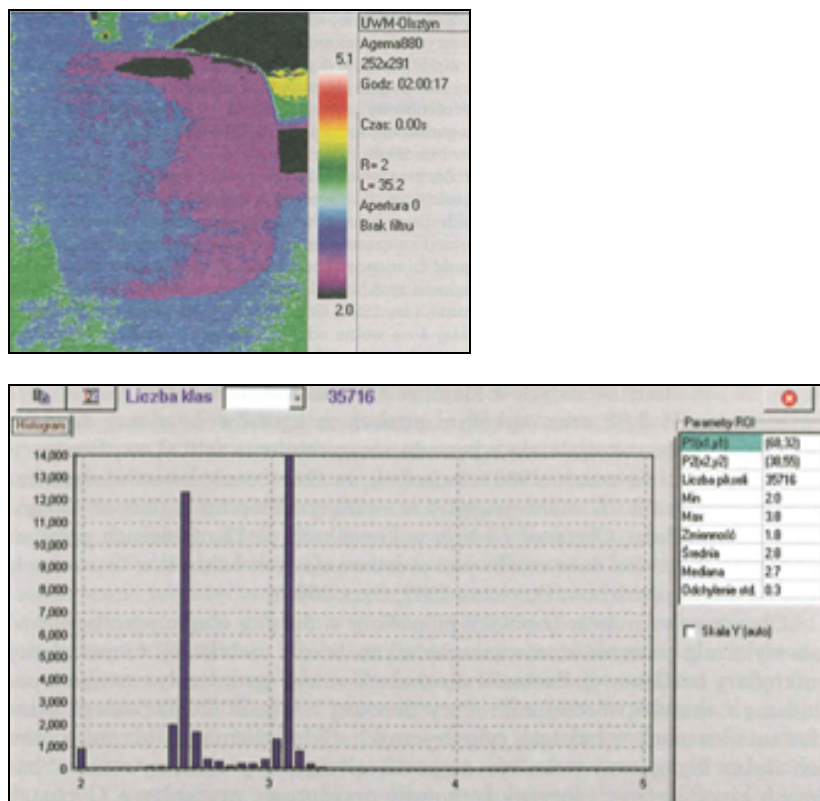


Fig. 1. Silage (0) roll thermogram and histogram (outer view – December)

In the experiment B having completed thermovision investigation, was defined, that in all investigated silage rolls the highest temperature was in the center of the rolls if to compare to peripheral layers. The strongest correlation was found among thermovision histograms, carried out in December (after 7 month) and in June (after 13 month) in the silage without fermentation supplements ($P < 0.05$) (fig. 1–4). Correlation was not found among used fermentation supplements and heat production during storage of silage rolls. It can be concluded that due to the insufficient density in the central part of silage roll, when higher amount of silage liquid was produced, organic matter oxidation process is more intensive, consequently, the highest temperature was measured in this part of the silage roll and the results corresponded to the ones reported by Suokann et al. (2001), Keller et al. (1996).

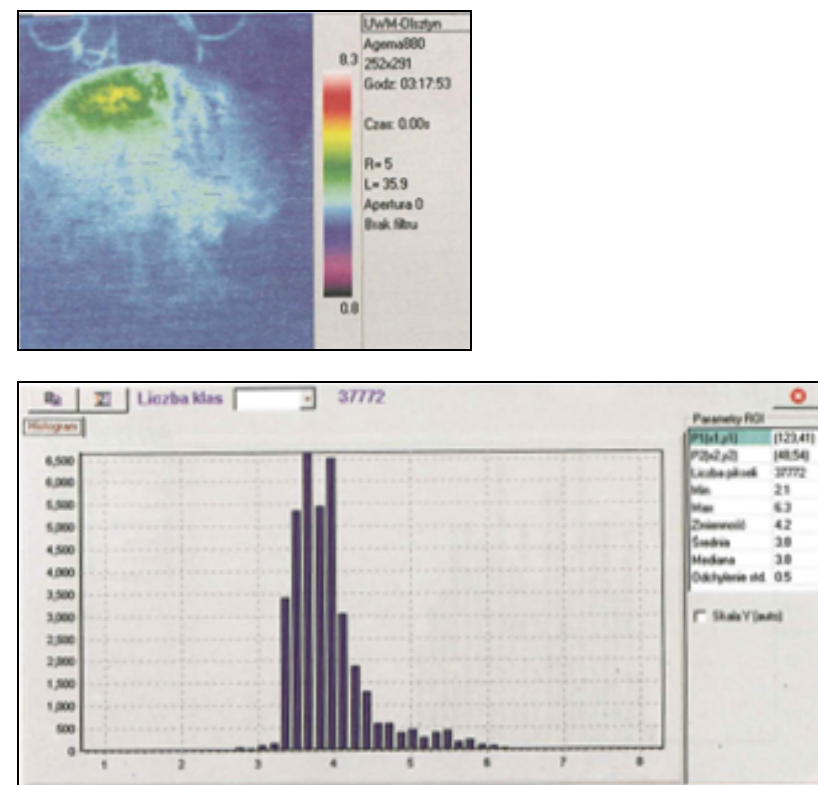


Fig. 2. Silage (0) roll thermogram and histogram (axial section – December)

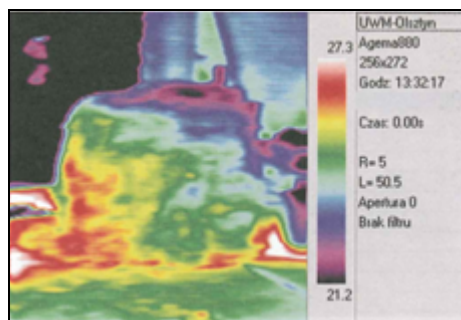


Fig. 3. Silage (0) roll thermogram and histogram (outer view – June)

It was defined in the experiment B that longer storage of silage rolls increased yeast count in the silage rolls after 13 month of storage if to compare to 7 month ($P<0.05$). Fermentation stimulator and inhibitor limited propagation of *Clostridium spp.* from saccharolytic group ($P<0.05$) and proteolytic group ($P<0.01$). Fermentation stimulator also limited spread of microscopic fungi population ($P<0.05$).

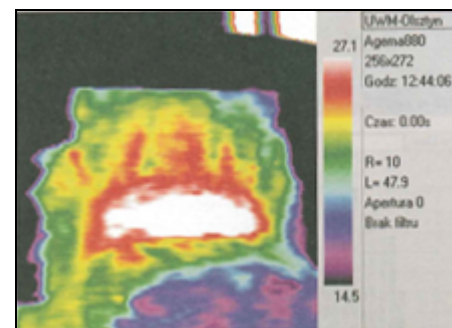


Fig. 4. Silage (0) roll thermogram and histogram (axial section – June)

Results of experimental cows investigation

It was defined in the experiments A, D and E that consumption of investigated silage was lower than in the experiments B and C. In the experiment A on A. Ulevicius farm was defined that the cows consumed of investigated silage (S) by 1.67 kg/d less, silage (I) – by 0.27 kg/d less if to compare to the control group. In the experiment B consumption of the investigated silage (S) was by 1.08 kg/d higher and silage (I) – by 0.48 kg/d lower if to compare to the control group. On the experimental farm in Olsztyn Warmia – Mazury university in the experiments C, D and E was found that consumption of investigated silage (I) was higher if to compare to the control group. In the experiment C consumption of the investigated silage (I) was by 3 percent higher, E – by 2 percent and D – by 1 percent higher if to compare to the control group (fig. 5). In the experiment A silage (S),(I) lower consumption might have been caused by higher amount of concentrates given to cows (2.5 kg per cow daily) due to high productivity.

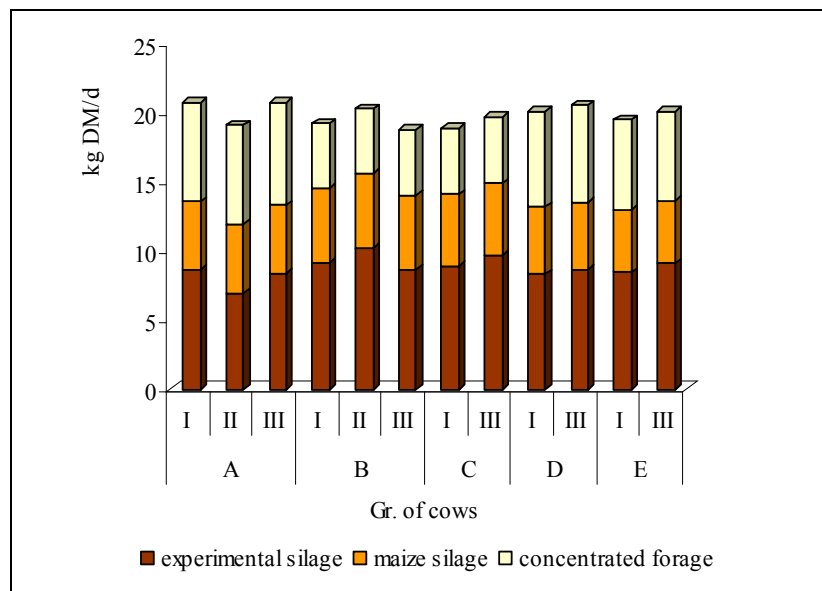


Fig. 5. An average forage amount consumed by cows in the experiments A, B, C, D and E (kg DM/d)

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

It was found in the experiments A, D and E that average milk yield tended to be higher if to compare to the experiments B and C. In all the experiments when cows were fed investigated silage (S),(I) milk amount increased ($P>0.05$) if to compare to the groups of cows fed control silage (0). In the experiment A average milk yield in all groups of cows were higher (fluctuated from 31.82 kg/d to 32.57 kg/d) if to compare to the experiments B, C, D, E. In the experiment C the average milk yield in all groups of cows was lower (fluctuated from 21.85 kg/d to 23.54 kg/d) if to compare to the experiments A, B, D, E (fig. 6). The results of our investigations were similar to the results obtained by Keady et al. (2002), Onetti et al. (2004), Groff and Wu (2005), Dillon et al. (2002), Yrjänä et al (2003), Kuoppola et al. (2004).

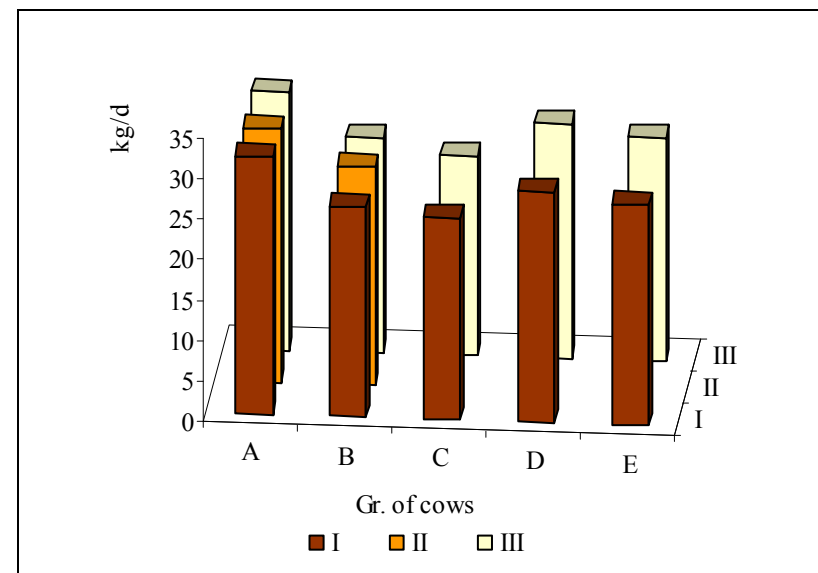


Fig. 6. Average milk yield in the experiments A, B, C, D and E (kg/d)

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

In the experiments A, B, C, D and E milk composition investigation revealed that the average milk fat in the experiments B, C and E in all groups of the experimental cows was higher if to compare to the experimental groups of cows in the experiments A and D. Fermentation supplements had no effect on the amount of fat. The amount of milk protein in all the experiments was very similar and increased in the groups of cows fed investigated silage (S),(I) ($P>0.05$) if to compare to the control groups of cows. Fermentation supplements had no effect on the somatic cell count and tended to be very similar in all groups of cows (table 7).

Table 7. The results of milk composition in the experiments A, B, C, D and E (n=36)

Experiments	Group of cows	Parameters			
		Fat, g/kg	Protein, g/kg	Somatic cell count, Ln	Urea, mg/l
A	I – control (0)	39.91*	32.92	11.93	243.20**
	II – experimental (S)	38.62	33.23*	11.79	245.21**
	III – experimental (I)	38.20*	32.45*	11.84	207.24**
	SEM	0.43	0.35	0.12	5.37
B	I – control (0)	44.26	34.26*	12.06	265.00**
	II – experimental (S)	43.80	34.56	11.78	237.32**
	III – experimental (I)	44.14	34.83*	11.77	287.78**
	SEM	0.76	0.69	0.13	5.93
C	I – control (0)	45.12*	33.28**	11.61	208.89**
	III – experimental (I)	44.32*	34.45**	11.65	183.74**
	SEM	0.65	0.55	0.16	15.30
D	I – control (0)	39.78	33.87	12.13	188.45**
	III – experimental (I)	39.30	33.92	12.20	267.71**
	SEM	0.66	0.43	0.15	5.43
E	I – control (0)	41.46	33.52	12.15	255.95
	III – experimental (I)	42.15	33.42	11.86	236.47
	SEM	0.72	0.52	0.15	7.45

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I); SEM – standard mean error; *, ** – level of differences reliability, respectively $P < 0.05$, $P < 0.01$.

In the experiments A, B, C, D and E microbiological studies of raw milk (milk was sampled directly from a refrigerator) revealed that in all experimental groups of cows fed ration with silage (I) count of *Clostridium spp.* bacteria in milk samples tended to be lower ($P < 0.01$) if to compare to the groups of cows fed control silage (0). In the experiments A and B when cows were fed silage (S) *Clostridium spp.* count only in the experiment A was twice as lower, if to compare to milk samples from group of cows fed control silage (0), however, the differences were not statistically reliable ($P > 0.05$) (fig. 7).

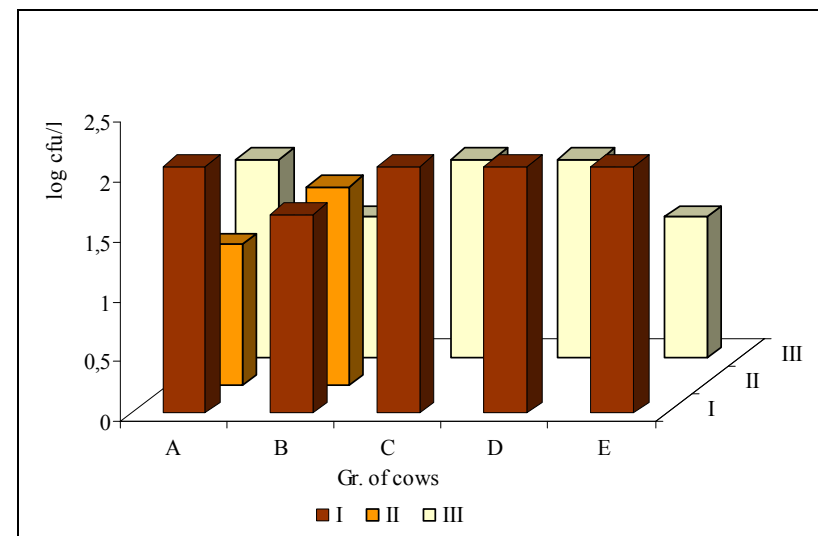


Fig. 7. *Clostridium spp.* count in milk of the experiments A, B, C, D and E (log cfu/l)

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

In the experiments B and D microbiological during investigation of raw milk (milk samples were taken from the cows individually) was defined, that in all the experimental groups of cows fed silage (I), count of *Clostridium spp.* in milk samples of saccharolytic group was lower ($P < 0.01$) if to compare to the groups of cows fed control silage (0). *Clostridium spp.* from proteolytic group tended to be lower as well if to compare to the groups of cows fed control silage (0), however, the difference found was statistically reliable ($P < 0.01$) only in the experiment B. In the experiments B and D when cows were fed silage (S),(I) count of staphylococcus in milk samples was lower if to compare to the group of cows fed control silage (0), however, the differences were statistically unreliable ($P > 0.05$). During our investigations in the cows fed silage with fermentation supplements, in the milk of all experiments count of *Clostridium spp.* from saccharolytic and proteolytic groups bacteria was lower if to compare to the milk samples from the control group of cows, but it was higher than defined by Colombari et al. (1999). Count of staphylococcus corresponded to the values obtained by Scharen et al. (2005) on the farms of Switzerland.

Clinical investigation in the experiments A, B, C, D and E revealed that all cows were clinically healthy. Their body temperature, pulse and breathing frequency fluctuated in the range of physiological norm. Rumen contractions, diuresis and defecation were not disturbed.

It seems worth pointing out that in the experiments A, B, C, D and E blood biochemical parameters in all the experimental cows remained in the range of physiological norm (Sederevicius, 2004; Carlson, 1990). Differences of blood biochemical parameters when cows were fed experimental silage with fermentation stimulator and inhibitor were statistically unreliable ($P>0.05$) (table 8).

Table 8. Cows' blood biochemical parameters in the experiments A, B, C, D and E (n=108)

Experiments	Group of cows	Total protein count, g/L	Phosphorus, mmol/L	Calcium, mmol/L	Glucose, mmol/L
A	I – control (0)	73.45 ± 1.84	1.73 ± 0.13	2.67 ± 0.04	2.54 ± 0.05
	II – experimental (S)	74.29 ± 1.83	1.69 ± 0.13	2.59 ± 0.03	2.52 ± 0.07
	III – experimental (I)	74.01 ± 1.26	1.70 ± 0.11	2.62 ± 0.06	2.60 ± 0.08
B	I – control (0)	73.95 ± 1.14	1.84 ± 0.02	2.53 ± 0.05	2.54 ± 0.06
	II – experimental (S)	73.29 ± 1.22	1.88 ± 0.04	2.61 ± 0.07	2.52 ± 0.09
	III – experimental (I)	74.11 ± 1.21	1.82 ± 0.09	2.55 ± 0.04	2.62 ± 0.04
C	I – control (0)	72.09 ± 1.22	1.74 ± 0.12	2.61 ± 0.08	2.70 ± 0.10
	III – experimental (I)	72.11 ± 1.99	1.96 ± 0.09	2.65 ± 0.07	2.68 ± 0.08
D	I – control (0)	74.29 ± 1.93	1.92 ± 0.02	2.69 ± 0.02	2.62 ± 0.04
	III – experimental (I)	73.01 ± 1.16	1.98 ± 0.04	2.72 ± 0.5	2.65 ± 0.03
E	I – control (0)	73.25 ± 1.87	1.79 ± 0.05	2.77 ± 0.06	2.54 ± 0.12
	III – experimental (I)	72.95 ± 1.34	1.82 ± 0.03	2.83 ± 0.08	2.74 ± 0.09

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

In the experiments A, B, C, D and E studied parameters of silage organic matter digestibility in the groups of cows fed silage with fermentation stimulator and inhibitor incubating samples with the rumen fluid of the experimental cows differed inconsiderably if to compare to the parameters of the control group of cows, however, the differences were statistically unreliable ($P>0.05$) (table 9).

Table 9. Silage organic matter digestibility *in vitro* in the experiments A, B, C, D and E (n=108)

Experiments	Group of cows	Organic matter digestibility %
A	I – control (0)	70.70 ± 1.58
	II – experimental (S)	71.44 ± 1.18
	III – experimental (I)	71.21 ± 1.76
B	I – control (0)	68.38 ± 0.31
	II – experimental (S)	69.82 ± 0.18
	III – experimental (I)	69.52 ± 0.56
C	I – control (0)	71.66 ± 2.13
	III – experimental (I)	71.97 ± 1.04
D	I – control (0)	68.38 ± 0.31
	III – experimental (I)	68.56 ± 1.05
E	I – control (0)	73.97 ± 0.77
	III – experimental (I)	74.15 ± 0.48

I – control group of cows fed silage without supplements (0); II – experimental group of cows fed silage with fermentation stimulator supplement (S); III – experimental group of cows fed silage with fermentation inhibitor supplement (I).

Different wilting time and fermentation stimulator and inhibitor mainly effected hygiene and microbiological quality of milk when silage was produced in rolls.

CONCLUSIONS

1. Botanical composition of the ensilaged material, different wilting time, fermentation stimulator and inhibitor effected silage fermentation processes in dependence of factors interaction.
2. During aerobic incubation all types of experimental silage in rolls were distinguished by low aerobic stability due to intensive aerobic dissociation.
3. The effect of fermentation stimulator and inhibitor supplements remained unchanged on organic matter aerobic dissociation intensity and heat production in silage rolls in summer and winter.
4. Longer wilting time of raw material ($P<0.01$) and fermentation inhibitor ($P<0.05$) limited yeast, microscopic fungi and *Clostridium spp.* propagation in the experimental silage.
5. During storage of silage rolls fermentation stimulator and inhibitor more effectively limited propagation of anaerobic microflora population ($P<0.05$) (*Clostridium spp.* count of saccharolytic and proteolytic bacterial groups and microscopic fungi) decreased if to compare to the population of pathogenic aerobic microflora.
6. Application of fermentation stimulator and inhibitor supplements in preservation of silage rolls under industrial condition was less effective if to compare to laboratory condition.
7. When for feeding of dairy cows was used silage with fermentation stimulator and inhibitor increased cows' productivity and amount of protein ($P<0.05$). Fermentation supplements had no effect on milk fat and somatic cell count.
8. When cows were fed experimental silage with fermentation stimulator and inhibitor, decreased milk contamination with staphylococcus and *Clostridium spp.* from proteolytic and saccharolytic groups ($P<0.01$) if to compare to the control group of cows fed silage without supplements.
9. The experimental silage with fermentation stimulator and inhibitor supplements used in cows' feeding had no effect on clinical parameters of cows and biochemical parameters of blood ($P>0.05$) if to compare to the control group of cows fed silage without supplements.
10. Organic matter digestibility parameters studied *in vitro* in the experimental groups of cows fed silage with fermentation stimulator and inhibitor differed inconsiderably ($P>0.05$) if to compare to the parameters from control group of cows.

PROPOSAL

When silage is ensilaged in rolls in Lithuanian conditions, it seems purposeful to use fermentation chemical supplement. It limits propagation of yeast, microscopic fungi and *Clostridium spp.* from saccharolytic and proteolytic groups of bacteria, improves silage hygiene quality and has no negative effect on clinical and physiological state of dairy cows and digestion processes if to compare to fermentation stimulator. It is advisable to make silage rolls thermovision analysis for evaluation of silage density and presses used for production of silage.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Purwin C., Pysera B., Tokarczyk M., Sederevičius A., Savickis S., Traidaraitė A. Production results of dairy cows fed grass and alfalfa silage with a different degree of wilting // Veterinarija ir zootechnika. ISSN 1392-2130. Kaunas, 2009. T. 46(68), p. 60–66.
2. Purwin C., Pysera B., Sederevičius A., Makauskas S., Traidaraitė A., Lipiński K. Effect of silage made from different plant raw materials with the addition of a fermentation inhibitor on the production results of dairy cows // Veterinarija ir zootechnika. ISSN 1392-2130. Kaunas, 2010. T. 51(73), p. 44–51.
3. Pysera B., Purwin C., Lipiński K., Antoszkiewicz Z., Antanas Sederevičius A., Traidaraitė A., Wyzlic I. Performance and composition of fatty acids in milk of cows fed diets with high moisture corn or corn cob mix // Veterinarija ir zootechnika. ISSN 1392-2130. Kaunas, 2012. T. 58(80), p. 70–76.

SANTRAUKA

Mūsų **darbo tikslas** buvo nustatyti siloso, gaminamo ritiniuose, mitybinę vertę ir kokybę, atsižvelgiant į žaliavos botaninę sudėtį, vytinimo laipsnį ir siloso fermentaciją inhibituojančių bei stimuliuojančių priedų poveikį karvių klinikinei ir fiziologinei būsenai, produktyvumui ir pieno mikrobiologiniams rodikliams bei virškinimo procesams. Taip pat pirmą kartą termovizinės analizės metodu išmatuota siloso ritiniuose aerobinių procesų metu išsiskyrusi šiluma.

Darbo uždaviniai

- Nustatyti žaliavos skirtingo vytinimo, botaninės sudėties ir fermentacijos inhibitoriaus bei stimulatoriaus įtaką siloso ritiniuose fermentacijos ir azoto junginių skilimo eigai ir jos įvairumo laipsniui.
- Nustatyti siloso aerobinį stabilumą ritiniuose ir jo pokyčius sandėliavimo metu.
- Nustatyti siloso ritiniuose mikrobiologinę sudėtį ir jos pokyčius sandėliavimo metu.
- Palyginti fermentacijos inhibitoriaus ir stimulatoriaus priedų poveikio veiksmingumą ir jų įtaką siloso fermentacijos procesui laboratorinėmis ir gamybinėmis sąlygomis.
- Nustatyti siloso ritinių gamyboje naudojamų fermentacijos inhibitoriaus ir stimulatoriaus priedų įtaką karvių produktyvumui, pieno cheminei sudėčiai ir pieno mikrobiologinei kokybei šeriant tiriamuoju silosu.
- Nustatyti siloso ritinių gamyboje naudojamų fermentacijos inhibitoriaus ir stimulatoriaus priedų poveikį karvių klinikinei ir fiziologinei būsenai bei virškinimo procesams.

Mokslinis darbo naujumas

Pirmą kartą kompleksiskai ištirta ir palyginta siloso, gaminamo ritiniuose, mitybinė vertė ir kokybė, atsižvelgiant į žaliavos skirtingą botaninę sudėtį, skirtingą vytinimo laipsnį ir siloso fermentacijai inhibituojančių bei stimuliuojančių priedų poveikį. Ištirta ritiniuose paruošto siloso įtaka karvių klinikinei ir fiziologinei būsenoms, produktyvumui bei pieno mikrobiologiniams rodikliams ir virškinimo procesams.

Praktinė darbo reikšmė

Nustatytas skirtingas panaudoto fermentacijos stimulatoriaus ir inhibitoriaus veiksmingumas laboratorinėmis ir gamybinėmis sąlygomis pagamin-

tuose siloso ritiniuose bei grybelinės mikrofloros populiacijos sumažėjimas silose jo ilgalaikio sandėliavimo metu, užtikrinant siloso higieninės kokybės pagerėjimą bei aukštą karvių pieno produktyvumą, jo mikrobiologinę kokybę, nedarant neigiamos įtakos karvių klinikinei ir fiziologinei būsenai bei virškinimo procesams.

TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODAI

Tyrimų vieta, laikas ir bandymų schema

Tyrimai buvo atlikti 2007–2010 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijoje, A. Ulevičiaus ūkyje (Marijampolės rajone), Olštyno Varmijos – Mazūrijos universitete, Olštyno Varmijos – Mazūrijos universiteto bandomajame ūkyje, Nacionaliniame maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institute. Sprendžiant disertacijoje iškeltus uždavinius, bandymai buvo vykdomi etapais (1 a, b lentelė).

Siloso gamybos technologija ritiniuose. A. Ulevičiaus ūkyje (A ir B bandymams), Olštyno Varmijos – Mazūrijos universiteto bandomajame ūkyje (C, D ir E bandymams) buvo gaminamas žolės bei žolės ir ankštinių augalų mišinio silosas ritiniuose su fermentacijos stimulatoriaus ir inhibitoriaus priedais pagal standartizuotą technologiją. Fermentacijos stimulatorių (biologinis preparatas) sudarė – *Lactobacillus casei ssp. rhamnosus* 10^{11} g⁻¹ ir *Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermanii* 10^{11} g⁻¹. Fermentacijos inhibitorių (cheminis konservantas) – skruzdžių rūgštis – 55 proc., amonio formiatas – 24 proc., propiono rūgštis – 5 proc., benzoinė rūgštis – 1 proc. ir etilo benzoatas – 1 proc. (1 a lentelė).

Bandomų karvių grupių sudarymas ir šėrimas. Bandymai su karvėmis buvo atlikti tuose pačiuose ūkiuose kuriuose buvo pagamintas silosas ritiniuose. Bandymams buvo atrinkta iš viso 316 Holšteino fryzų (HF) veislės karvių (1 b lentelė).

Bandymai buvo vykdomi nustatant 1 a, 1 b lentelėse paminėtus rodiklius pagal atitinkamas metodikas.

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APIBENDRINIMAS

Siloso cheminių, fermentacinių ir mikrobiologinių tyrimų rezultatai

A. Ulevičiaus ūkyje bandymo B metu nustatyta, kad siloso žaliavos vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos siloso tankio ir sausųjų medžiagų kiekio didėjimui bei žaliųjų baltymų kiekio mažėjimui, lyginant su bandymu A ($p < 0,01$). Rūgščių tirpale išplautos ląstelienos (ADF) kiekio didėjimui turėjo įtakos ilginamas žaliavos vytinimo laikas, žaliavos botaninė sudėtis ir fermentacijos inhibitorius, kuris slopino ADF kiekio didėjimą ($p < 0,01$). Vyti-

nimo laiko ilginimas ir fermentacijos priedai turėjo įtakos vandenyje tirpių angliavandenių (VTA) kiekio mažėjimui visose tiriamojo siloso rūšyse. Tarp vytinimo laiko, fermentacijos priedų ir VTA kiekio nustatyta veiksnių sąveika ($p < 0,01$). Mokslininkai Han ir kt. (2006) taip pat teigia, kad sausųjų medžiagų padidėjimas silosuojamoje žaliavoje yra vienas iš pagrindinių veiksnių ribojančių fermentacijos procesus ir mažinantis VTA kiekį silosavimo metu. Olštyno Varmijos – Mazūrijos universiteto bandomajame ūkyje bandymų C, D ir E metu nustatyta, kad skirtinga botaninė sudėtis ir fermentacijos inhibitoriaus priedas neturėjo įtakos siloso tankio, sausųjų medžiagų (SM), žaliųjų baltymų ir neutraliame tirpale išplautos ląstelienos (NDF) bei rūgščių išplauto lignino (ADL) kiekiui silose. Fermentacijos inhibitorius turėjo įtakos organinių medžiagų kiekio didėjimui Ž+L ir Ž+RD silose ($p < 0,01$). Botaninė sudėtis ir fermentacijos inhibitorius turėjo įtakos VTA kiekio didėjimui Ž+L ir Ž+RD silose ($p < 0,01$). Mūsų tyrimų rezultatai nesutampa su mokslininkų Broderick ir kt. (2000), Siuta ir kt. (2003) rezultatais, kurie nustatė, kad ankštiniai augalai pasižymi mažesniu VTA kiekiu, lyginant su žolėje esančiu VTA kiekiu.

Bandymais A ir B nenustatyta skirtingo vytinimo laiko ir fermentacijos priedų įtaka silosuojamo mišinio pH, rūgščių sumos ir pieno rūgšties fermentacijos proceso intensyvumui. Propiono rūgšties kiekio mažėjimui turėjo įtakos vytinimo laiko ilginimas ir fermentacijos priedai ($p < 0,01$), sviesto rūgšties ir etanolio kiekiui – fermentacijos priedai ($p < 0,01$). Ilgėjantis vytinimo laikas turėjo teigiamos įtakos siloso mikrobiologinei kokybei: sumažėjo mielių, mikroskopinių grybų ir *Clostridium spp.*, kiekis ($p < 0,01$). Fermentacijos inhibitorius riboja mielių ($p < 0,05$) ir *Clostridium spp.* kiekį ($p < 0,01$). Atliekant bandymus C, D ir E nustatyta labai skirtinga botaninės sudėties ir fermentacijos inhibitoriaus įtaka silosuojamų mišinių fermentacijos proceso intensyvumui. Nuo siloso botaninės sudėties priklausė pieno rūgšties, propiono rūgšties, rūgščių sumos, etanolio ir mielių kiekis ($p < 0,01$), mikroskopinių grybų ir *Clostridium spp.* kiekis ($p < 0,05$). Fermentacijos inhibitorius riboja sviesto rūgšties ($p < 0,05$), etanolio, mielių ir *Clostridium spp.* kiekį ($p < 0,01$), o propiono rūgšties kiekis padidėjo ($p < 0,05$), lyginant su kontroliniu silosu. Mūsų tyrimų metu nenustatyta fermentacijos inhibitoriaus didesnė įtaka silosuojamos žaliavos fermentaciniam procesams. Manome, kad tai susiję su fermentacijos inhibitoriaus sudėtyje esančiu skruzdžių rūgšties kiekiu.

Bandymu B buvo siekiama palyginti fermentacijos priedų poveikį siloso fermentacijos eigai laboratorinėmis ir gamybinėmis sąlygomis. Atlikus tyrimus nustatyta, kad laboratorinėse silosinėse pagamintas tos pačios žaliavos silosas pasižymi didesniu pieno ir acto rūgščių kiekiu, žemesniu pH ir VTA kiekiu, lyginant su silosu pagamintu ritiniuose. Fermentacijos stimulatoriaus naudojimas ritinių konservavimui gamybinėmis sąlygomis buvo mažiau efektyvus nei laboratorinėse silosinėse. Rezultatai sutampa su Slottner (2002) teiginiu, kad siloso ryšuliuose esant nesmulkintai žaliai susidaro skirtingos sąlygos siloso fermentaciniam procesams, lyginant su laboratorinių silosinių sąlygomis, kuomet silosuojama žaliava yra susmulkinta.

Atlikus bandymą B nustatyta, kad siloso žaliavos vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos bendrojo azoto ($p < 0,01$) ir amoniakinio azoto ($p < 0,05$) kiekio mažėjimui, lyginant su bandymu A. Fermentacijos priedai turėjo įtakos baltyminio azoto junginių kiekio didėjimui, nebaltyminio azoto junginių ir amoniakinio azoto kiekio mažėjimui ($p < 0,01$). Baltymai buvo skaidomi 9,3 proc. stipriau silose B (0), lyginant su silosu A (0) ($p < 0,05$). Fermentacijos priedai baltymų skilimą slopino ($p < 0,05$). Atlikę tyrimus nustatėme, kad fermentacijos inhibitorius turėjo didesnės įtakos baltymų skilimui nei žaliavos vytinimo laiko ilginimas. Fermentacijos stimulatoriaus aktyvumas nustatytas žaliavoje su didesniu sausųjų medžiagų kiekiu. Bandymais C, D ir E nustatyta botaninės sudėties įtaka baltyminio azoto kiekiui silose: didžiausias nustatytas Ž silose (0) ir Ž+RD silose (0) ($p < 0,01$). Ž silose (0) baltymai buvo skaidomi 13,3 proc. silpniau, lyginant su Ž+L silosu (0), ir 15,8 proc. silpniau, lyginant su Ž+RD silosu (0) ($p < 0,01$). Fermentacijos inhibitorius turėjo įtakos deaminavimo procesui ir amoniakinio azoto kiekio mažėjimui ($p < 0,05$). Mūsų tyrimų metu nustatyta, kad silosuojamos žaliavos skirtinga botaninė sudėtis turėjo įtakos baltyminio azoto kiekių svyravimams, tuo metu fermentacijos inhibitorius neturėjo didelės įtakos baltymų skilimui.

Bandymo B metu nustatyta, kad vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos biogeninių aminų tiramino, putrescino ir kadaverino kiekių mažėjimui bei aminų kiekių mažėjimui bendrame jų kiekyje: histamino ir tiramino, putrescino ir kadaverino, lyginant su bandymu A ($p < 0,01$). Fermentacijos inhibitorius riboja visų tiriamųjų biogeninių aminų procesą ir turėjo įtakos jų mažesniai kiekiui silose A (I), (S) ir silose B (I), (S), nepriklausomai nuo mišinio vytinimo laipsnio, lyginant su kontroliniais silosais (0) ($p < 0,01$). Fermentacijos stimulatorius riboja tiriamųjų aminų histamino, putrescino ir kadaverino procesą, lyginant su kontroliniu silosu (0) ir turėjo įtakos jų mažėjančiam kiekiui silose, nepriklausomai nuo mišinio vytinimo laipsnio, išskyrus aminą tiraminą ($p < 0,01$). Mūsų tyrimų metu nustatyta, kad sausosios medžiagos didėjimas silosuojamoje žaliavoje turėjo didelę įtaką mažėjančiam biogeninių aminų kiekiui ir sutapo su mokslininkų Križek (1993) ir Van Os (1996) atliktais tyrimais. Bandymais C, D ir E nustatyta, kas skirtinga botaninė sudėtis turėjo didesnę įtaką biogeninių aminų histamino ir putrescino kiekiui Ž silose (0) ir Ž+RD silose (0) nei panaudotas fermentacijos inhibitorius ($p < 0,01$). Manome, kad atskirų biogeninių aminų kiekis silose priklauso nuo silosuojamos žaliavos augalų rūšies epifitinės mikrofloros.

Atliekant bandymus A ir B nustatyta, kad vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos siloso pH vertės mažėjimui ($p < 0,05$) aerobinės inkubacijos metu. Fermentacijos priedai ir žaliavos vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos anglies dioksido (CO_2) kiekio aerobinės inkubacijos metu padidėjimui, ypatinai silose B (S) ($p < 0,01$), lyginant su silosu B (0). Žaliavos vytinimo laiko ilginimas turėjo įtakos mažesniems VTA kiekio nuostoliams ($p < 0,01$), lyginant su didesnio drėgnio silosu inkubuojamame silose. Fermentacijos priedai turėjo įtakos VTA kiekio nuostoliams: silose B (I) nustatyti didesni ($p < 0,01$), lyginant su silosu B (S). Fermentacijos priedai turėjo įtakos mikroskopinių grybų kiekio padidėjimui silose B (S), lyginant su silosu B (0) ($p < 0,05$). Bandymais C, D ir E nustatyta, kad skirtinga botaninė sudėtis ir fermentacijos inhibitorius turėjo įtakos inkubuojamo siloso pH vertės mažėjimui ($p < 0,01$). Skirtinga botaninė sudėtis turėjo įtakos inkubuojamo siloso anglies dioksido, acto rūgšties, pieno rūgšties, amoniakinio azoto, mielių ir mikroskopinių grybų kiekiams ($p < 0,01$). Mūsų tyrimų metu nustatytas visų rūšių tiriamojo siloso ritiniuose intensyvus aerobinis skaidymas inkubavimo metu galėjo būti dėl pakankamai ilgo (7 mėn.) ritinių sandėliavimo laikotarpio ir sutapo su Ostrowski (1995) tyrimų rezultatais.

Bandymu B, atlikus termovizinio vaizdo tyrimą, nustatyta, kad visų tiriamojo siloso ritinių aukščiausia temperatūra buvo ritinių centre, lyginant su periferiniais sluoksniais. Stipriausias koreliacinis ryšys tarp termovizinių vaizdų histogramų, atliktų gruodžio (po 7 laikymo mėn.) ir birželio (po 13 laikymo mėn.) mėnesiais nustatytas silose be fermentacijos priedų ($p < 0,05$). Nenustatyta koreliacinio ryšio tarp panaudotų fermentacijos priedų ir šilumos susidarymo siloso ritinių laikymo metu. Manome, kad dėl nepakankamo tankio siloso ritinio centrinėje dalyje, susidarius didesniai siloso sulčių kiekiui, vyksta intensyvesni organinių medžiagų oksidacijos procesai, dėl to aukščiausia temperatūra nustatyta šioje siloso ritinio dalyje ir rezultatai sutapo su mokslininkų Suokannas ir kt. (2001), Keller ir kt. (1996) rezultatais.

Bandymu B nustatyta, kad ilgėjantis siloso ritinių laikymas turėjo įtakos mielių kiekio padidėjimui siloso ritiniuose po 13 mėn. laikymo, lyginant su 7 mėn. ($p < 0,05$). Fermentacijos stimulatorius ir inhibitorius ribojo *Clostridium spp.* dauginimąsi iš sacharolitinės gr. ($p < 0,05$) ir proteolitinės gr. ($p < 0,01$). Fermentacijos stimulatorius stabdė mikroskopinių grybų populiacijos plitimą ($p < 0,05$).

Bandomų karvių tyrimo rezultatai

Bandymais A, D ir E nustatyta, kad karvės tiriamojo siloso suvartojo mažiau, lyginant su bandymais B ir C. A. Ulevičiaus ūkyje bandymu A nustatyta, kad karvės tiriamojo siloso (S) suvartojo mažiau 1,67 kg/d, siloso (I) – 0,27 kg/, lyginant su kontroline grupe. Atliekant bandymą B tiriamojo

siloso (S) buvo suvartota 1,08 kg/d daugiau, o siloso (I) 0,48 kg/d mažiau, lyginant su kontroline grupe. Olštyno Varmijos – Mazūrijos universiteto bandomajame ūkyje bandymais C, D ir E nustatyta, kad tiriamojo siloso (I) buvo suvartota daugiau, lyginant su kontroline grupe. Per bandymą C tiriamojo siloso (I) suvartota 3 proc. daugiau, E – 2 proc. ir D – 1 proc., lyginant su kontroline grupe. Atliekant bandymą A siloso (S),(I) mažesniai kiekio suvartojimui galėjo turėti įtakos didesnis karvėms duodamų koncentruotų pašarų kiekis (2,5 kg karvei per dieną) dėl didelio jų produktyvumo.

Bandymais A, D ir E nustatyta, kad vidutiniai karvių pieno primilžiai buvo didesni, lyginant su bandymais B ir C. Per visus bandymus karvių grupėse, šertose tiriamuoju silosu (S),(I), pieno kiekiai padidėjo ($p > 0,05$), lyginant su karvių grupėmis šertomis kontroliniu silosu (0), tačiau skirtumai statistiškai patikimi nebuvo ($p > 0,05$). Per bandymą A vidutiniai karvių pieno primilžiai visose karvių grupėse buvo didesni (svyravo nuo 31,82 kg/d iki 32,57 kg/d), lyginant su bandymais B, C, D, E. Atliekant bandymą C vidutiniai karvių pieno primilžiai visose karvių grupėse buvo mažesni (svyravo nuo 21,85 kg/d iki 23,54 kg/d) ($p < 0,05$), lyginant su bandymais A, B, D, E. Mūsų bandymų rezultatai sutapo su mokslininkų Keady ir kt. (2002), Onetti ir kt. (2004), Groff ir Wu (2005), Dillon ir kt. (2002), Yrjänen ir kt. (2003), Kuoppola ir kt. (2004) tyrimų rezultatais.

Bandymais A, B, C, D ir E atlikus karvių pieno sudėties tyrimus nustatyta, kad vidutinis pieno riebumas per bandymus B, C ir E visų tiriamųjų karvių grupėse buvo didesnis, lyginant su bandymų A ir D tiriamųjų karvių grupėmis. Fermentacijos priedai riebalų kiekiui įtakos neturėjo. Pieno baltymų kiekis per visus bandymus buvo labai panašus ir didėjo karvių grupėse šertose tiriamuoju silosu (S), (I), lyginant su karvių kontrolinėmis grupėmis, tačiau skirtumai statistiškai patikimi tik per bandymus A, B ir C ($p < 0,05$). Somatinių ląstelių skaičiui fermentacijos priedai įtakos neturėjo ir visų tiriamųjų karvių grupėse buvo labai panašus.

Per bandymus A, B, C, D ir E atlikus žaliavinio pieno mikrobiologinius tyrimus (pieno bendrą mėginį imant tiesiai iš šaldytuvo talpos) nustatyta, kad visų tiriamųjų karvių grupių, šertų racionu su silosu (I), pieno mėginiuose *Clostridium spp.* bakterijų kiekis buvo mažesnis ($p < 0,01$), lyginant su karvių grupėmis, šertomis kontroliniu silosu (0). Atliekant bandymus A ir B karvių grupių, šertų silosu (S), *Clostridium spp.* kiekis tik bandyme A nustatytas du kartus mažesnis, lyginant su pieno mėginiais karvių grupių šertų kontroliniu silosu (0), tačiau skirtumai nebuvo statistiškai patikimi ($p > 0,05$).

Bandymais B ir D atlikus žaliavinio pieno mikrobiologinius tyrimus (pieno mėginius imant iš karvių individualiai) nustatyta, kad visų tiriamųjų karvių grupių, šertų silosu (I), pieno mėginiuose *Clostridium spp.* iš sacharolitinės gr. bakterijų kiekis buvo mažesnis ($p < 0,01$), lyginant su karvių gru-

pių, šertų kontroliniu silosu (0). *Clostridium spp.* iš proteolitinės gr. bakterijų kiekis taip pat buvo mažesnis, lyginant su karvių grupių, šertų kontroliniu silosu (0), tačiau nustatytas skirtumas statistiškai patikimas ($p < 0,01$) tik bandyme B. Per bandymus B ir D karvių grupių, šertų silosu (S), (I), pieno mėginiuose nustatytas mažesnis kiekis stafilokokų, lyginant su karvių grupėmis, šertomis kontroliniu silosu (0), tačiau skirtumai nebuvo statistiškai patikimi ($p > 0,05$). Mūsų tyrimų metu karvių grupių, šertų silosu su fermentacijos priedais, per visus bandymus piene nustatytas *Clostridium spp.* iš sacharolitinės gr. ir proteolitinės gr. bakterijų kiekiai mažesni, lyginant su kontrolinės karvių gr. pieno mėginiais, tačiau buvo didesnis nei nustatė mokslininkai Colombari ir kt. (1999). Stafilokokų skaičius atitiko mokslininkų Scharen ir kt. (2005) Šveicarijos ūkiuose nustatytas vertes.

Bandymais A, B, C, D ir E atliekant bendrą klinikinį tyrimą nustatyta, kad tiriamosios karvės buvo kliniškai sveikos. Kūno temperatūra, pulso ir kvėpavimo dažnumas atitiko fiziologines normas. Prieskrandžių susitraukimas, diurezė ir defekacija nebuvo sutrikusi.

Per bandymus A, B, C, D ir E kraujo biocheminiai rodikliai visų tiriamųjų karvių grupių atitiko fiziologines normas (Sederevičius, 2004; Carlson, 1990). Tyrimais nustatyti tirtų kraujo biocheminių rodiklių skirtumai, pienuose karves šeriant tiriamuoju silosu su fermentacijos stimuliatoriumi ir inhibitoriumi, nebuvo statistiškai patikimi ($p > 0,05$).

Atliekant bandymus A, B, C, D ir E tiriamųjų karvių grupių, šertų silosu su fermentacijos stimuliatoriaus ir inhibitoriaus priedais inkubuojant juos *in vitro* su tiriamųjų karvių didžiojo prieskrandžio turiniu, tirti siloso organinės medžiagos virškinamumo rodikliai skyrėsi nežymiai, lyginant su kontrolinių karvių grupių rodikliais, tačiau skirtumai nebuvo statistiškai patikimi ($p > 0,05$).

Skirtingas vytinimo laipsnis ir fermentacijos stimuliatorius bei inhibitorius didesnės įtakos turėjo siloso pagaminto ritiniuose higieninei ir pieno mikrobiologinei kokybei.

IŠVADOS

1. Silosuojamos žaliavos botaninė sudėtis, skirtingas vytinimo laikas, fermentacijos stimuliatorius ir inhibitorius įtakojo siloso fermentacinius procesus ritiniuose priklausomai nuo tarpusavio veiksnių sąveikos.
2. Aerobinio inkubavimo metu visų rūšių tiriamasis silosas ritiniuose dėl intensyvaus aerobinio skaidymo pasižymėjo žemu aerobiniu stabilumu.
3. Fermentacijos stimuliatoriaus ir inhibitoriaus priedų įtaka organinių medžiagų aerobinio skilimo intensyvumui ir šilumos susidarymui siloso

ritiniuose vasaros ir žiemos metu nekito.

4. Silosuojamos žaliavos vytinimo laiko ilginimas ($p < 0,01$) ir fermentacijos inhibitorius ($p < 0,05$) ribojo mielių, mikroskopinių grybų ir *Clostridium spp.* dauginimąsi tiriamajame silose.

5. Siloso ritinių sandėliavimo metu fermentacijos inhibitorius ir stimuliatorius efektyviau ribojo anaerobinės mikrofloros populiacijos ($p < 0,05$) dauginimąsi (sumažino *Clostridium spp.* iš sacharolitinės ir proteolitinės grupių bakterijų ir mikroskopinių grybų), lyginant su patogeninės aerobinės mikrofloros populiacija.

6. Fermentacijos stimuliatoriaus ir inhibitoriaus priedų naudojimas siloso ritinių konservavime gamybinėmis sąlygomis buvo mažiau efektyvus, lyginant su laboratorinėmis sąlygomis.

7. Pieninių karvių šėrime naudoto siloso su fermentacijos stimuliatoriumi ir inhibitoriumi karvių grupėse padidėjo produktyvumas ir baltymų kiekis ($p < 0,05$). Pieno riebalų ir somatinių ląstelių skaičiui fermentacijos priedai įtakos neturėjo.

8. Karvių šertų tiriamuoju silosu su fermentacijos stimuliatoriumi ir inhibitoriumi sumažėjo pieno užterštumas stafilokokais bei *Clostridium spp.* iš proteolitinės ir sacharolitinės grupių ($p < 0,01$), lyginant su kontrolinės grupės karvėmis šertomis silosu be priedų.

9. Pieninių karvių šėrime naudotas tiriamasis silosas su fermentacijos stimuliatoriaus ir inhibitoriaus priedais karvių klinikiškai ir kraujo biocheminiams rodikliams įtakos neturėjo ($p > 0,05$), lyginant su kontrolinių grupių karvėmis šertomis silosu be priedų.

10. Tiriamųjų karvių grupių šertų silosu su fermentacijos stimuliatoriaus ir inhibitoriaus priedais *in vitro* tirti siloso organinės medžiagos virškinamumo rodikliai skyrėsi nežymiai ($p > 0,05$), lyginant su kontrolinių karvių grupių rodikliais.

PASIŪLYMAS

Silosuojant pašarus į ritinius Lietuvos sąlygomis, tikslinga naudoti cheminį fermentacijos inhibitoriaus priedą. Jis apriboja mielių, mikroskopinių grybų ir *Clostridium spp.* iš sacharolitinės gr. ir proteolitinės gr. bakterijų dauginimąsi silose, pagerina siloso higieninę kokybę ir pieno mikrobiologinę kokybę ir neturi neigiamos įtakos pieninių karvių klinicinei, fiziologinei būsenoms ir virškinimo procesams, lyginant su fermentacijos stimuliatoriumi. Tikslinga atlikti siloso ritinių termovizinę analizę siloso tankio ir silosavimui naudotų presų įvertinimui.

GYVENIMO APRAŠYMAS (CURRICULUM VITAE)

Alva Traidaraitė gimė 1976 metais kovo 9 d., Prienų raj. Balbieriškyje. 1994 metais baigė Prienų raj. Balbieriškio vidurinę mokyklą. 1999 metais Lietuvos veterinarijos akademijos Gyvulininkystės technologijos fakultete baigė bakalauro studijas. Nuo 1999 iki 2002 metų Gyvulininkystės technologijos fakulteto Specialiosios zootechnikos katedroje savo žinias gilino magistrantūros studijose. 2002 metais pagal magistrantūros studijų programą paruošė ir apgynė baigiamąjį darbą „Gyvulių atskirų kaulų koreliacija su skeleto mase“. 2007 metais priimta į Lietuvos veterinarijos akademijos Anatomijos ir fiziologijos katedrą veterinarinės medicinos krypties (Biomedicinos mokslai) doktorantūros studijas. Doktorantūros studijų metais paskelbė 3 mokslinius straipsnius ISSN žurnaluose su citavimo indeksu. Nuo 1999 metų dirba Valstybės įmonėje „Pieno tyrimai“.

Maketavo R. Trainienė
Už teksto turinį ir redagavimą atsakingas autorius
Spausdino LSMU Leidybos namai
Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas
Tiražas 35. 2,75 sp. l. Užs. Nr. 19 d. 2012