

VLIV SILÁŽNÍCH ADITIV NA DYNAMIKU, KVALITU A AEROBNÍ STABILITU FERMENTAČNÍHO PROCESU KUKUŘIČNÝCH SILÁŽÍ

V. Pyrochta, L. Kalhotka, P. Doležal

Došlo: 1. června 2007

Abstract

PYROCHTA, V., KALHOTKA, L., DOLEŽAL, P.: *The effect silage additives supplementation on dynamic fermentation process, quality and aerobic stability of corn silage*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2008, LVI, No. 1, pp. 157–164

In the experiment, the effect of additives supplementation on the fermentation quality of corn silage was examined, compared with the untreated control (**K**). The additive „**A**“ contained bacterial component of (*Propionibacterium acidipropionici* – MA126/4U $3 \cdot 10^{10}$ and *Lactobacillus plantarum* – MA18/5U). The effective substances of bacterial inoculants „**B**“, selected were bacterial strains of (*Lactobacillus casei ssp. rhamnosus* LC – 705 DSM 7061 $4 \cdot 10^{11}$, *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* JS DSM 6067 $2 \cdot 4 \cdot 10^{11}$). There were used as effective substances of bacterial inoculants „**C**“ lactic bacteria and enzyme (*Lactobacillus plantarum* CCM 3769 $1.67 \cdot 10^{10}$, *Lactococcus lactis* CCM 4754 $1.67 \cdot 10^{10}$, *Enterococcus faecium* CCM 6226 $1.67 \cdot 10^{10}$, *Pediococcus pentosaceus* CCM 3770 $1.67 \cdot 10^{10}$, cellulase, hemicellulase, sodium benzoate). They were applied in the dose of prescript by producer. At conservations with all aditivum were statistically significant ($P < 0.01$) increase of lactic acid formation from 55.31 ± 9.72 g/kg DM of control silage to 59.60 ± 10.84 g/kg DM aditivum „**A**“, 59.36 ± 10.04 g/kg DM aditivum „**B**“ rather to 60.74 ± 9.90 g/kg DM aditivum „**C**“. Aditives „**A**“ and „**B**“ were statistically significant ($P < 0.01$) increase propionic acid and total fermentation acid content in silages occurred. The fermentation characteristics in the microbial aditivum silages by us were more favourable. The date of fermentation was statistically significant ($P < 0.01$) increase the contents of acetic acid from 45.49 ± 2.83 g/kg DM of 4st day to 63.07 ± 4.25 g/kg DM of 32nd day rather to 67.70 ± 2.94 g/kg DM of 64st day. There were statistically significant ($P < 0.01$) increase contents of acetic acid and total acid content. The date of fermentation was statistically significant ($P < 0.01$) degressive of pH.

corn silage, fermentation, inoculant, silage quality, aerobic stability

Většina zemědělských podniků přešla na celoroční krmení konzervovanými objemnými krmivy a jejich kvalita nejvíce rozhoduje o výsledku hospodaření. Neplatí již dřívější doporučení, že silážní kukuřice je nejvhodnější krmnou plodinou pro nížinné oblasti, neboť díky široké nabídce velkého počtu hybridů s nižšími čísly FAO (200–300) se s ohledem i ke strukturálním změnám v chovu skotu stává produkčně nejdůležitější výrobní oblastí pěstování silážní kukuřice vedle řepařské oblasti hlavně oblast bramborářská. Silážní kukuřice se tak stěhuje za svými konzumenty do vyšších poloh, včetně pod-

horských. Z hlediska úspěšné konzervace je třeba věnovat zvýšenou pozornost především dodržování všech technologických zásad správného silážování. Nedojde-li totiž k dokonalému udusání a vytěsnění vzduchu během celého technologického postupu (nestačí dusat pouze vrchní vrstvu, nýbrž průběžně hmotu v profilu), dochází pak k masivnímu rozvoji plísní a kvasinek. Takto znehodnocené krmivo je silně dieteticky závadné a způsobuje ekonomické ztráty chovatelům formou nižší užitkovosti, zhoršení reprodukčních ukazatelů a v neposlední řadě i zvýšeným procentem brakace.

Je všeobecně známou skutečností, že kukuřice se v porovnání s jinými krmnými plodinami vyznačuje až o 50 % nižšími náklady na produkci energetické jednotky (1 MJ NEL), díky vysoké potenciální produkci a možnostem plné mechanizace. I přes všechny tyto výhody a přednosti je možné se občas v řadě podniků setkat s nekvalitními silážemi, které signalizují určité nedostatky nejen v technologii sklizně, při vlastní konzervaci, způsobu skladování, ale i odběru siláží pro krmení.

Vhodná zralost sklizené kukuřice je obecně v „mléčně-voskové zralosti“, kdy je obsah vodorozpustných, lehce fermentovatelných sacharidů nejvyšší. Obsah těchto lehce fermentovatelných sacharidů nám udává její snadnou silážovatelnost (HITZGER, 2003).

Principem silážování je rychle inaktivovat rostlinné enzymatické systémy, dýchání, proteolýzu, zastavit nebo omezit nežádoucí mikrobiální procesy a cíleně usměrnit kvasnou mikroflóru podílející se na fermentaci siláže (BARANČIC, 1992). Výchozím bodem je přeměna rostlinných sacharidů na kyselinu mléčnou činností bakterií mléčného kvašení. Vytvořená kyselina mléčná rychle snižuje hodnotu pH. Tyto anaerobní podmínky působí nepříznivě na nežádoucí mikroorganismy jako jsou houby, kvasinky a bakterie, kterým je sniženou pH-hodnotou a nedostatkem kyslíku bráněno v jejich růstu (MATHIES, 2002).

Mikroorganismy v silážích lze dle WILKINSONA (2005) rozdělit na žádoucí (tvořící kyselinu mléčnou), nežádoucí (např. enterobakterie a klostridie) a další škodlivé mikroorganismy, podílející se na procesech sekundární fermentace krmiva (kvasinky, plísně, listerie).

Bakterie mléčného kvašení (LAB – lactic acid bacteria) patří mezi epifytní mikroflóru, jež je obsažena již na silážované hmotě v množství 10^4 – 10^6 . Obsah LAB na silážované hmotě je však velice nestálý, ovlivněný povětrnostními podmínkami, tudíž jejich zastoupení není ke zdárnému průběhu fermentace dostatečné. Rovněž obsah sušiny a vodorozpustných sacharidů mohou být kritickými body při silážování. Pro úspěšný průběh silážování je rozhodující dostatečné množství mléčných bakterií, jejichž činností vzniká především kyselina mléčná, která má vlastnosti silné organické kyseliny. Vysokým stupněm disociace způsobuje silný vzrůst acidity, čímž znemožňuje rozvoj nežádoucích kvasných procesů. Dále tlumí enzymatickou proteolýzu, znemožňuje rozvoj bakterií vytvářejících kyselinu máselnou při rozkladu bílkovin. Tento stav nastává při hodnotě pH nižší než 4,0. Poklesne-li v siláži pH pod 3,5, přestanou se mléčné bakterie množit a zastavují svůj metabolismus (JAKOBE et al., 1987). DOLEŽAL a DVOŘÁČEK (2000) upozorňují na fakt, že samotná kyselina mléčná nestačí inhibovat kvasinky. Větší efekt dosahuje kyselina octová a to již při koncentraci 0,8–1,2 %.

Pro úspěšný průběh fermentace se používají inokulanty, jež zvyšují obsah LAB v silážované hmotě. Nejvýznamnějšími rody bakterií mléčného kvašení, jež se uplatňují při silážování, jsou *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* a *Leuconostoc* (HITZGER, 2003). Bakterie těchto rodů jsou součástí většiny inokulantů

dostupných na našem trhu. Vedle homofermentativních kmenů bakterií mléčného kvašení se využívají také fakultativně heterofermentativní bakterie mléčného kvašení fermentující hexosy na kyselinu mléčnou (>90 %) nebo na směs kyseliny mléčné, octové, mravenčí a etanolu (SEDLÁČEK, 2007). Inokulanty zvyšují obsah LAB v silážované hmotě o několik řádů, čímž přispívají k lepšímu průběhu fermentace silážované hmoty. Použitím aditiv při silážování dochází k rychlejšímu snížení pH, k potlačení růstu kvasinek a plísní vlivem organických kyselin (propionové) a tím i sekundární fermentace (ILLEK, 2006). Problematikou inokulantů jako konzervačního prostředku se zabývala celá řada autorů (KIRIKOV, 1999; Ó-KIELY, 1998; HONIG, 1999; PAHLOW, HONIG, 1994; PFLAUM, 1999; WILKINSON, 2005 a další).

Při silážování představuje epifytní mikroflóra značné množství zárodků (JAKOBE et al., 1987; PAHLOW, 1991; WILKINSON, 2005). Vzhledem k tomu, že počet mléčných bakterií je u většiny pícnin velmi malý, je třeba využít všech opatření a možností, které podporují jejich rychlý rozvoj a dominanci (JAKOBE et al., 1987; WILKINSON, 2005). DOLEŽAL (2006) uvádí obsahy epifytní mikroflóry na rostlinách kukuřice v době sklizně velmi variabilní co do počtu, tak i do druhového zastoupení. V průměrných letech uvádí obsah LAB 4×10^4 CFU na g silážované hmoty. Celkový počet mikroorganismů bývá v průměru $2,3 \times 10^5$ CFU na g silážované hmoty.

Kvasinky jak pravé (*Sacharomyces*, *Hansenula*), tak nepravé (*Torulopsis*, *Candida*) patří k hlavním původcům následné fermentace siláží po jejich otevření (KALÁČ, 1977). Kvašení je doprovázeno značnou ztrátou hmoty (až 49 %) a silnou tvorbou plynů (JAKOBE et al., 1987). Jsou spolehlivým měřítkem následné (sekundární) fermentace. Mohou-li se kvasinky v siláži ve větší míře rozvíjet, je třeba počítat se značnými ztrátami sacharidů, bílkovin a kyseliny mléčné a se zhoršením výsledku silážování (SCHMIDT, WETTERAU, 1972).

Plísně patří mezi konkurenty mléčných bakterií, protože odbourávají sacharidy a tím ubírají mléčným bakteriím část potřebné energie. Kromě toho dochází činností plísní k značnému odbourávání bílkovin. K tomu se přidružuje ještě přímé odbourávání kyseliny mléčné a tvorba toxinů (SCHMIDT, WETTERAU, 1972; WILKINSON, 2005). Rozvoj plísní lze inhibovat aplikací účinných aditiv (BOLSEN et al., 1996; MUCK et al., 1991; PAHLOW, HONIG, 1994; WILKINSON, 2005 a další).

Cílem této práce bylo posoudit vliv přísady mikrobiálních inokulantů na ukazatele kvality, dynamiku fermentačního procesu kukuřičné siláže a aerobní stabilitu v porovnání s neošetřenou kontrolní siláží.

MATERIÁL A METODIKA

V modelovém pokusu byl použit kukuřičný hybrid KURATUS (KWS semena, s. r. o.) Bt-kukuřice (GMO). Kukuřičná silážní hmota byla převezena na Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně. Kukuřičný hybrid KURATUS měl při sklizni průměrný

obsah sušiny 304,9 g.kg⁻¹. V modelovém pokusu byly vytvořeny tři pokusné varianty. Neošetřená kontrolní varianta „K“, jako negativní kontrola. Dále varianta „A“, která byla ošetřena aditivem s účinnou složkou (*Propionibacterium acidipropionici* – MA126/4U 3*10¹⁰ a *Lactobacillus plantarum* – MA18/5U). V druhé pokusné variantě „B“ bylo užito biologické aditivum obsahující (*Lactobacillus casei* ssp. *rhannosus* LC – 705 DSM 7061 4*10¹¹, *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* JS DSM 6067 2-4*10¹¹). Ve třetí pokusné variantě „C“ bylo užito biologické aditivum o složení kmenů homofermentativních bakterií: (*Lactobacillus plantarum* CCM 3769 1,67*10¹⁰, *Lactococcus lactis* CCM 4754 1,67*10¹⁰, *Enterococcus faecium* CCM 6226 1,67*10¹⁰, *Pediococcus pentosaceus* CCM 3770 1,67*10¹⁰, celulóza a hemicelulóza 0,078 IV na g silážované hmoty, benzoan sodný 288g/t silážované hmoty). Homogenně ošetřená silážovaná hmota byla zasilážována do 5 l skleněných nádob. Do každé pokusné nádoby bylo udusáno stejné množství kukuřičné hmoty na přepočtenou průměrnou hmotnost 800 kg.m⁻³. Pokusné kvasné nádoby byly anaerobně uzavřeny víkem a uskladněny v místnosti při teplotě 20–25 °C. Rozbory fermentačního procesu byly provedeny vždy 4., 32., a 64. den od zasilážování a analyzovány na posouzení fermentačního procesu. Mikrobiologicky byl sledován počet kvasinek a plísni na chloramfenikl-glukózovém agaru (Biokar Diagnostics, Francie) při teplotě 25 °C a době inkubace 120 hodin. Byl také sledován celkový počet mikroorganismů na PCA – Plate Count Agar (Biokar Diagnostics, Francie) při 30 °C, 72 h a bakterie mléčného kvašení na MRS agar (Biokar Diagnostics, Francie) při 37 °C, 72 h.

Použité analytické metody:

Obsah sušiny byl stanoven vysušením při teplotě 103±2 °C do konstantní hmotnosti. Vzorky byly analyzovány na obsah těkavých mastných kyselin, kyseliny mléčné, amoniaku, hodnoty pH a titrační kyselosti dle Vyhlášky č. 124/2001 Sb., kterou se stanovují požadavky na odběr vzorků a principy me-

tod laboratorního zkoušení krmiv. Obsah alkoholu byl stanoven metodou popsanou HARTMANEM (1974). Výsledky byly statisticky zpracovány metodou dvoufaktorové analýzy variance podle SNEDOCORA a COCHRANA (1967).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jedním z nejdůležitějších předpokladů úspěšné konzervace je rychlé vytvoření dostatečného množství kyseliny mléčné. Průběh fermentačního procesu je ovlivněn nejen obsahem a složením sušiny, ale také přidavkem účinných aditiv.

Výsledky přidání aditiv na kvalitu výsledné siláže ve všech dnech odběru u různých aditiv jsou uvedeny v Tab. I. a II. Obsah sušiny se změnil u kontrolní siláže na 283,4 g.kg⁻¹ a byl statisticky průkazně nejnižší ($P < 0,01$) v porovnání s variantami ošetřenými aditivem. Nejnižším ztrátám sušiny původní hmoty došlo u varianty s přidavkem aditiva „A“ (300,8 g.kg⁻¹sušiny) a s přidavkem aditiva „B“ 301,6 g.kg⁻¹sušiny. Obě pokusné varianty byly statisticky průkazně odlišné ($P < 0,01$) od kontrolní varianty a varianty s aditivem „C“, která byla naopak statisticky průkazně nejvyšší ($P < 0,01$) 306,4 g.kg⁻¹sušiny. S použitím aditiv dochází ke snižování ztrát sušiny, což odpovídá dřívějším pracím (OHLSSON, 1995; WILKINSON, 2005 a další).

Hodnota pH 3,881 u kontrolní varianty byla statisticky průkazně nejvyšší ($P < 0,01$) v porovnání s přidavkem aditiva „B“ (3,773) a „C“ (3,749) a také statisticky průkazně vyšší ($P < 0,05$) oproti variantě s přidavkem aditiva „A“. Všechna aditiva snížila hodnotu pH siláže a tyto závěry se shodují s jinými autory (BAITNER et al., 1985; KRISTENSEN a OHLSSON, 1995). Přidavek všech aditiv snížil pH hodnotu pod 4, která je považována za hraniční hodnotu úspěšného silážního procesu (WILKINSON, 2005). Nejvyšší titrační kyselost byla zjištěna u aditiva „C“ (1234,2 mg KOH/100 g siláže), která byla statisticky průkazně ($P < 0,05$) odlišná od kontrolní varianty „K“ (1215,6 mg KOH/100 g siláže) a varianty „A“ (1214,3 mg KOH/100 g siláže).

I: Stanovení ukazatelů kvality fermentačního procesu kukuřičných siláží ve všech dnech odběru u různých aditiv 1

Varianta	Sušina g/kg hmoty krmiva		pH		KVV mg KOH		Etanol g/kg sušiny		Amoniak g/kg sušiny	
K	283,42	A	3,881	B,b	1215,6	a	10,89	B	1,03	.
	±14,140		±0,044		±179,18		±1,332		±0,211	
A	300,85	B	3,858	B	1214,3	a	10,47	B,a	1,07	.
	±6,806		±0,038		±197,95		±0,976		±0,200	
B	301,63	B	3,773	A,a	1222,5	.	10,04	a	0,99	.
	8,313		0,098		±196,23		±0,607		±0,256	
C	306,39	C	3,749	A	1234,2	A	9,38	A	0,95	.
	±7,236		±0,081		±196,45		±0,076		±0,009	

Hodnoty označené velkými písmeny A, B, C, jsou odlišné ($P < 0,01$), hodnoty označené malými písmeny a, b, c, jsou odlišné ($P < 0,05$).

II: Stanovení ukazatelů kvality fermentačního procesu kukuřičných siláží (ve všech dnech odběru) u různých aditiv 2

Varianta	KM g/kg sušiny		KO g/kg sušiny		KPr g/kg sušiny		Poměr KM/Σ kyselin		Σ kyselin g/kg sušiny	
K	55,31	A	17,27	C,b	0,00	A	0,764	A	72,58	A
	±9,792		±4,237		±0,000		±0,024		±13,64	
A	59,60	B	15,48	B	11,78	B	0,684	B	86,87	B
	±10,839		±1,884		±2,224		±0,018		±14,40	
B	59,36	B	16,88	b,C	11,72	B	0,673	B	87,96	B
	±10,042		±1,563		±1,650		±0,017		±13,10	
C	60,74	B	11,97	A	0,00	A	0,834	C	72,70	A
	±9,900		±1,376		±0,000		±0,010		±11,20	

KM: kyselina mléčná, KO: kyselina octová, KPr kyselina propionová, KM/Σ kyselin: poměr kyseliny mléčné ke sumě kyselin, Σ kyselin: suma kyselin

Hodnoty označené velkými písmeny A, B, C, jsou odlišné ($P < 0,01$), hodnoty označené malými písmeny a, b, c, jsou odlišné ($P < 0,05$).

Hodnota kyseliny mléčné byla stanovena v kontrolní siláži (55,31 g.kg⁻¹sušiny), jež byla statisticky průkazně nejnižší ($P < 0,01$) v porovnání s ostatními variantami a tvořila 76,2 % ze sumy kyselin. Siláž varianty „A“ dosáhla hodnot 59,60 g.kg⁻¹sušiny, varianta „B“ 59,36 g.kg⁻¹sušiny a aditivum „C“ 60,74 g.kg⁻¹sušiny. Tato množství tvořila v siláži s aditivem „A“ 68,61 % a aditivem „B“ 67,49 % ze sumy kyselin. Nejvyšší hodnoty obsahu kyseliny mléčné byly zaznamenány po přidavku aditiva „C“, jež jsme předpokládali; představovaly 83,54 % ze sumy kyselin. Ve všech variantách se obsah kyseliny mléčné blížil k 70 %, což je považováno za úspěšný průběh fermentace, jak uvádějí (BOLSEN et al., 1996; KRISTENSEN a OHLSSON, 1995; WILKINSON, 2005). Siláž varianty „C“ obsahovala statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejnižší obsah kyseliny octové v porovnání s ostatními variantami, kdy hodnota 11,97 g.kg⁻¹sušiny odpovídala 16,46 % ze sumy kyselin. V porovnání s kontrolní variantou (17,27 g.kg⁻¹sušiny) se statisticky průkazně ($P < 0,01$) lišila také varianta s aditivem „A“ (15,47 g.kg⁻¹sušiny). Varianta „B“ (16,88 g.kg⁻¹sušiny) byla statisticky průkazně nižší ($P < 0,05$) v porovnání s kontrolní variantou. Kyselina propionová byla stanovena u variant „A“ 11,78 g.kg⁻¹sušiny a „B“ 11,72 g.kg⁻¹sušiny. Obsah této kyseliny v těchto silážích jsme předpokládali, neboť inokulanty obsahovaly vybrané kmeny *Propionibacterium acidipropionici* a *Propionibacterium freudenreichii* spp. *Shermanii*. U kontrolní varianty a varianty s přidavkem inokulantu „C“ nebyla kyselina propionová stanovena. Také kyselina máselná nebyla stanovena v žádné z variant. Celkový obsah kvasných kyselin u kontrolní siláže (72,58 g.kg⁻¹sušiny) a varianty s přidavkem aditiva „C“ (72,70 g.kg⁻¹sušiny) byl statisticky průkazně ($P < 0,01$) nižší oproti siláži s aditivem „A“ (86,87 g.kg⁻¹sušiny) a aditivem „B“ (87,96 g.kg⁻¹sušiny). Jak uvádějí (BAITNER et al. 1985; BOLSEN et al., 1996; KRISTENSEN a OHL-

SON, 1995; WILKINSON, 2005) dochází při použití silážních inokulantů k celkovému navýšení obsahu organických kyselin, což bylo v tomto laboratorním pokuse potvrzeno. Siláž po přidavku aditiva „C“ nebyla statisticky průkazně vyšší oproti kontrole, ale poměr kyseliny mléčné ze sumy kyselin 0,834 % ukazuje na zdárný průběh fermentace a dobrý konzervační účinek tohoto inokulantu.

Ve všech pokusných variantách byl dále stanoven etanol i amoniak. Etanol byl nejvyšší u kontrolní siláže (10,89 g.kg⁻¹sušiny) a zároveň byl statisticky průkazně nejvyšší ($P < 0,01$) v porovnání s variantami „B“ (10,04 g.kg⁻¹sušiny) a „C“ (9,38 g.kg⁻¹sušiny). V siláži varianty „C“ byl obsah etanolu naopak nejnižší a statisticky také průkazně odlišný ($P < 0,05$) v porovnání s variantou „B“ 10,04 g.kg⁻¹sušiny. JURÁČEK (2002) uvádí klesající množství alkoholu při použití mikrobiálních či chemických silážních aditiv. V kukuřičných silážích toto zvýšené množství bývá často spojováno se zbytky neprozkvašených sacharidů. JAKOBE et al. (1987) uvádějí za horní hranici v kukuřičných silážích jako fyziologicky přípustnou hodnotu 20 g.kg⁻¹sušiny. V hodnotách amoniaku nebyly mezi jednotlivými variantami statisticky průkazné rozdíly. Naměřené hodnoty amoniaku byly v rozmezí 0,954 g.kg⁻¹sušiny („C“), 0,993 g.kg⁻¹sušiny („B“), 1,070 g.kg⁻¹sušiny („A“) do 1,033 g.kg⁻¹sušiny („K“) a nebyly statisticky průkazné.

Druhým sledovaným ukazatelem byl vliv doby fermentace na kvalitu fermentačních charakteristik, sledovaných u všech aditiv souhrnně. Ty jsou vyhodnoceny v tabulkách Tab. III. a IV. Sušina siláží se měnila během fermentace z 286,1 g.kg⁻¹sušiny 4. dne odběru na 301,8 g.kg⁻¹sušiny 32. den odběru, až na 306,4 g.kg⁻¹sušiny 64. den odběru. Statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejnižší hodnota sušiny byla ve 4. dnu odběru v porovnání s ostatními variantami. Naopak nejvyšší a také statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,01$) byl 64. den odběru.

III: Stanovení ukazatelů kvality fermentačního procesu kukuřičných siláží (se všemi aditivy) v různých den odběru 1

den	Sušina g/kg hmoty krmiva		pH		KVV mg KOH		Etanol g/kg sušiny		Amoniak g/kg sušiny	
4	286,06	A	3,900	B	959,7	B	10,60	B	1,02	.
	±13,120		±0,037		±37,58		±1,058		±0,283	
32	301,76	B	3,777	A	1335,3	A	9,79	A	1,02	.
	±7,936		±0,066		±14,81		±0,880		±0,070	
64	306,40	C	3,768	A	1370,0	A	10,20	.	1,00	.
	±6,143		±0,083		±14,16		±1,017		±0,177	

Hodnoty označené velkými písmeny A, B, C, jsou odlišné ($P < 0,01$),
hodnoty označené malými písmeny a, b, c, jsou odlišné ($P < 0,05$)

IV: Stanovení ukazatelů kvality fermentačního procesu kukuřičných siláží (se všemi aditivy) v různých den odběru 2

den	KM g/kg sušiny		KO g/kg sušiny		KPr g/kg sušiny		KM/Σ kyselin		Σ kyselin g/kg sušiny	
4	45,49	A	12,76	A	4,55	A	0,077	A	62,79	A
	±2,833		±2,118		±4,652		±0,077		±6,94	
32	63,07	B	16,08	B	6,51	B	0,741	a	85,67	B
	±4,250		±2,992		±6,654		±0,066		±9,20	
64	67,70	C	17,37	C	6,57	B	0,744	a	91,63	B
	±2,294		±2,747		±6,711		±0,064		±8,08	

KM: kyselina mléčná, KO: kyselina octová, KPr kyselina propionová, KM/Σ kyselin: poměr kyseliny mléčné ke sumě kyselin, Σ kyselin: suma kyselin

Hodnoty označené velkými písmeny A, B, C, jsou odlišné ($P < 0,01$),
hodnoty označené malými písmeny a, b, c, jsou odlišné ($P < 0,05$)

Hodnota pH měla klesající tendenci, kdy 4. den po zasilážování dosáhla již hodnoty 3,9. Tato hodnota byla statisticky průkazně vyšší ($P < 0,01$) než u hodnot naměřených 32. den (pH 3,78) a 64. den (3,77). Jak je patrné z dynamiky poklesu, již 4. den po zasilážování dochází k rychlému okyselení, jež koresponduje s obsahy kvasných kyselin v siláži. S tímto konstatováním se také shodují (KRISTENSEN a OHLSSON, 1995; WILKINSON, 2005), kteří uvádějí klesající hodnotu pH a tvorbu kvasných kyselin z více než 50 % již první týden po zasilážování. Hodnota KVV měla rostoucí tendenci, kdy 4. den po zasilážování byla statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší (959,7 mg KOH) v porovnání s ostatními variantami. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny v silážích 64. den (1369,9 mg KOH), kdy bylo statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší v porovnání s variantou odebranou 4. den (959,7 mg KOH) a 32. den (1335,3 mg KOH).

Fermentační průběh je velice rychlý a již 4. den dochází k silné tvorbě kyseliny mléčné. Hodnota 45,49 g.kg⁻¹sušiny odpovídá 72,44 % ze sumy kyselin a je statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší v porovnání s 32. a 64. dnem. Hodnota kyseliny mléčné 32. den se zvýšila na 63,07 g.kg⁻¹sušiny a odpovídala 73,63 % ze sumy kyselin. Nejvyšších hodnot bylo naměřeno 64. den (67,70 g.kg⁻¹sušiny), jež bylo statis-

ticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší v porovnání s ostatními měřeními a odpovídala 73,88 % ze sumy kyselin. Ve všech měřeních byly hodnoty kyseliny mléčné k sumě kyselin v rozmezí 72,44 % do 73,88 %. Tento poměr ukazuje na zdárný průběh fermentace bez vedlejších nežádoucích fermentačních procesů. Kyseliny octová a propionová byly v silážích také stanoveny, jelikož inokulanty obsahovaly jednak heterofermentativní bakterie mléčného kvašení, které produkují vedle kyseliny mléčné také kyselinu octovou a etanol, ale také bakterie propionového kvašení, které fermentují sacharidy na významné množství kyseliny propionové a také octovou, isovalerovou, mravenčí, jantarovou a nebo mléčnou (GÖRNER a VALÍK 2004). Kyselina octová byla zjištěna již 4. den v množství 12,76 g.kg⁻¹sušiny. Tato hodnota byla statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší v porovnání s ostatními hodnotami. Nejvyšší statisticky průkazná ($P < 0,01$) hodnota byla naměřena v 64. dnu od zasilážování (17,37 g.kg⁻¹sušiny) v porovnání s hodnotami ve 4. dnu (12,76 g.kg⁻¹sušiny) a 32. dnu (16,08 g.kg⁻¹sušiny). Také kyselina propionová byla stanovena ve všech odběrových datech. Ve 4. dnu byla naměřena hodnota 4,55 g.kg⁻¹sušiny, jež byla statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší v porovnání s 32. dnem (6,51 g.kg⁻¹sušiny) a 64. dnem (6,57 g.kg⁻¹sušiny). Suma kyselin v silážích byla nejvyšší 64. den (91,63 g.kg⁻¹sušiny) a byla

statisticky průkazně ($P < 0,01$) odlišná od 32. dne (85,67 g.kg⁻¹sušiny) a ve 4. dnu (62,79 g.kg⁻¹sušiny), byl obsah statisticky průkazně ($P < 0,01$) nejvyšší. Hodnota 62,79 g.kg⁻¹sušiny odpovídá 68,52 % celkově vytvořených kyselin již 4. den, jež souhlasí s tvrzením (KRISTENSEN a OHLSSON, 1995; WILKINSON, 2005), kteří uvádějí tvorbu kvasných kyselin z více než 50 % již první týden po zasilážování. Nejvyšší hodnota etanolu byla 32. den (9,79 g.kg⁻¹sušiny) a byla statisticky průkazně ($P < 0,01$) nižší v porovnání s odběrem ve 4. dnu (10,60 g.kg⁻¹sušiny). Ve 64. dnu nebyla hodnota etanolu (10,20 g.kg⁻¹sušiny) statisticky průkazná s jinými odběrovými dny. Amoniak byl stanoven ve všech odběrových dnech a rozdíly nebyly však statisticky významné. Hodnoty byly v rozmezí 0,996 g.kg⁻¹sušiny 64. den do 1,019 g.kg⁻¹sušiny 4. den.

V silážích byla dále provedena analýza a byl mikrobiologicky sledován počet kvasinek, plísní, celkový počet mikroorganismů a celkové množství bakterií mléčného kvašení. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách V–VIII. V původní hmotě byl zjištěn obsah kvasinek a plísní $100,6 \times 10^4$ CFU na g, celkový počet mikroorganismů byl $16,1 \times 10^6$ CFU v g a bakterií mléčného kvašení pouze $0,093 \times 10^6$ CFU v 1 g. DOLEŽAL (2006) uvádí obsahy epifytní mikroflóry na rostlinách kukuřice v době sklizně v průměrných letech $LAB 4 \times 10^4$ CFU na g silážované hmoty a celkový počet mikroorganismů $2,3 \times 10^5$ CFU na g silážované hmoty. Průměrné obsahy kvasinek jsou znázorněny v tabulce V. Nejvyšší množství bylo ve 4. dnu, avšak mezi jednotlivými variantami byly značné rozdíly. V kontrolní variantě byl nejvyšší obsah (155×10^4 CFU v 1 g siláže) oproti variantě „A“, kde bylo množství pouze 20×10^4 CFU v 1 g siláže. V tabulce VI. Jsou znázorněny obsahy sporotvorných plísní. Ve všech variantách mají klesající tendenci s postupem času. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána 4. den u kontrolní varianty (2×10^4 CFU v 1 g siláže). Celkový počet mikroorganismů je sledován v tabulce VII. Ve všech pokusných variantách bylo 4. den zaznamenáno množství vyšší než 400×10^6 CFU v 1 g siláže, což lze považovat za dostačující pro úspěšný průběh fermentace. Bakterie mléčného kvašení jsou sledovány v tabulce VIII. Kontrolní varianta má ve všech odběrových dnech

nejnižší zastoupení oproti ostatním. Nejvyšších hodnot vždy bylo zaznamenáno u siláží s aditivem „C“.

V: Stanovení mikrobiální kontaminace – Kvasinky CFU $\times 10^4$

Varianta	4	32	64
K	155	1,203	0,315
A	20	2,96	2,03
B	86,5	2,18	20,45
C	74	1,005	0,045

VI: Stanovení mikrobiální kontaminace – Plísně CFU $\times 10^4$

Varianta	4	32	64
K	2	0,045	0,017
A	0	0,07	0,04
B	1	0,56	0,035
C	1,5	0,055	0,015

VII: Stanovení mikrobiální kontaminace – Celkový počet mikroorganismů CFU $\times 10^6$

Varianta	4	32	64
K	442,5	35	1,65
A	448	360	1,25
B	486	35	3,15
C	401,5	35	0,9

VIII: Stanovení mikrobiální kontaminace – Bakterie mléčného kvašení CFU $\times 10^6$

Varianta	4	32	64
K	137	26	0,005
A	227,5	86	0,015
B	197	64	1,135
C	238,5	93	12,6

SOUHRN

V pokusu se silážní kukuřicí hybridu KURATUS (KWS semena, s.r.o.) Bt-kukuřice (GMO) byl sledován konzervační efekt biologických aditiv na kvalitu fermentačního procesu modelových siláží a aerobní stabilitu v porovnání s neošetřenou kontrolní siláží. Dále byla sledována dynamika fermentačního procesu ve 4., 32. a 64. dnu fermentace. Aditiva byla homogenně aplikována v dávce dle výrobce. Při konzervaci aditivem „A“ došlo ke statisticky významnému ($P < 0,01$) zvýšení tvorby kyseliny mléčné (z 55,31 g.kg⁻¹sušiny u kontroly na 59,60 g.kg⁻¹sušiny) a kyseliny propionové (11,78 g.kg⁻¹sušiny). Použitá aditiva v podmínkách tohoto pokusu dostatečně inhibovala nežádoucí mikroflóru, neboť došlo k výraznému potlačení kvasinek a plísní. V inokulovaných silážích došlo k pozitivnímu ovlivnění fermentace, které se projevilo statisticky významným ($P < 0,01$) zvýšením obsahu kyseliny mléčné a současně výraznou acidifikací. Obsah amoniaku v modelových silážích nebyl konzervačním zásahem nikterak významně ovlivněn.

kukuřičná siláž, kvalita fermentace, aditivum, kyselina mléčná

SUMMARY

In the experiment with silage maize half-breed KURATUS (KWS seeds, s. r. o.), Bt-maize (GMO) was monitored preservative effect of biological additives on quality of fermentative process of model silages and aerobic stability in comparison with untreated checking silage. Additives were homogenous applied batched according to producer. Results were statistically analyzed using the method of single-factor analysis of variance (SNEDOCOR and COCHRAN, 1967). The average DM content in the harvested crop (hybrid *Romario*) was 304.9 g.kg⁻¹. The application of microbial additives decreased pH from 3.88 (Control variant) to 3.86 (Variant A), 3.77 (Variant B) and 3.75 (Variant C). Statistically significant ($P < 0,01$) increasing production of lactic acid (from 55.31 g.kg⁻¹ dry matter in check on 59.60 g.kg⁻¹ dry matter) and propionic acid (11.78 g.kg⁻¹ dry matter) was achieved during preservation with additive „A“. In conditions of this experiment applied additives sufficiently inhibited the undesirable microflora because significant suppression of yeasts and fungi was reached. There were positive effect on fermentation, which was statistically significant ($P < 0,01$) increasing content of lactic acid and simultaneously by significant acidification. Then were pursued dynamics of fermentative process in 4., 32. and 64. day of fermentation. Time period of fermentation statistically significant ($P < 0.01$) affected decrease pH 3.90 on 4th day to 3.78 on 32nd day and 3.77 on 64st day. Time period of fermentation statistically significant ($P < 0.01$) increased the content of lactic acid and quantity of all acids in time. Content of ammonia in model silages wasn't significantly affected by the preservative intervention.

LITERATURA

- BARANČIČ, F. in KOPŘIVA et al., 1992: Konzervace, skladování a úpravy krmiv. Skripta VŠZ Brno, 105 s.
- BAITNER, F., SCHMIDT, J., SZIGETI, J., 1985: Die Silierung von Silomais mit harnstoffhaltigen Zusatzmitteln. Das wirtschaftseigene Futter, Band 31: 3, s. 234–242
- BOLSEN, K. K. et al., 1996: Effect of a propionic acid bacterial inoculant of fermentation and aerobic stability of whole plant corn silage. J. Anim. Sci. 74, 1: 274.
- DOLEŽAL, P., DVOŘÁČEK, J., 2000: Aerobní stabilita siláží z krmivářského pohledu. Krmivářství č. 1, s. 26–28.
- DOLEŽAL, P., 2006: Konzervace, skladování a úpravy objemných krmiv. Skripta MZLU Brno, 247 s. ISBN 80-7157-993-9
- GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004: Aplikovaná mikrobiologie poživatin. MALÉ CENTRUM, Bratislava, ISBN: 80-967064-9-7, 528 s.
- HARTMAN, M., 1974: Stanovení neutrálních těkavých látek v silážích a senážích plynovou chromatografií. Živočišná výroba, č. 4, s. 209–216.
- HITZGER, J., SKŘIVÁNEK, M., et al., 2003: Kvalitní konzervovaná krmiva: Základ efektivní produkce mléka a masa. Brno, PV agenci, s. 80–81.
- HONIG, H. et al., 1999: Aerobic stability- effects and possibilities for its prevention. In: The XIIth International Silage Conference, Uppsala, s. 288–289.
- ILLEK, J., 2006: Heath risks posed by feeding low quality silage, 12th International symposium forage conservation, 3–5 April, Brno, s. 129–130, ISBN 80-7305-555-4
- JAKOBE, P. et al., 1987: Konzervace krmiv. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 264 s.
- JURÁČEK, M., 2002: Kvalita biologicky ošetřených kombinovaných kukurično–čirokových siláží. Dni výživy zvířat, Nitra, 19–20. september, s. 126–129.
- KALACH, P., PIVNIČKOVÁ, L., 1987: Posouzení výskytu nižších alkoholů v silážích a senážích. Živočišná výroba, 32, (LX), 7, s. 641–645
- KIRIKOV, A., 1999: Intake and digestibility of fresh and ensiled maize harvested at different contents of dry matter. Fourrages, No. 158, 187–193.
- KRISTENSEN, V. F., OHLSSON, C., 1995: Urea as additive for whole-crop wheat silage. Beretning fra Faellesudvalget for Statens Planteavl og Husdyrbrugsforsog, s. 17
- MATHIES, E., 2002: Das Siliermanagement bestimmt den Erfolg. Erfolg im Stall č. 2, s. 2–3.
- Ó-KIELY, P., 1998: A note on the conservatin characteristics of physiologically immature forage maize ensiled with different additives. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 37: 2, 237–242
- PAHLOW, G., 1991: Role of microflora in forage conservation. In: Forage conservation, Inst. Grassl. Forage Res.-Braunschweig, 15 s.
- PAHLOW, G.; HONIG, H., 1994: The role of microbial additives in the aerobic stability of silage. In: Proc. 15th Gen. Meet. of Europ. Grassl. Fed. Wageningen, s. 149–152.
- PFLAUM, J. et al., 1999: The use of a chemical and biological additive to improve stability. In: The 9th International Symposium Forage conservation. Nitra, s. 118–119.
- SEDLÁČEK, I., 2007: Taxonomie prokaryot. Masarykova univerzita, Brno, 270 s. ISBN 80-210-4207-9
- SNEDOCOR, G. W., COCHRAN, W. G., 1967: Statistical Methods, 6th ed., Iowa. Iowa State University Press, 579 pp.
- SCHMIDT, W.; WETTERAU, H. et al., 1972: Výroba siláže. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 516 s.
- WILKINSON, J. M., 2005: Silage, First published in Great Britain by Chalcombe Publications, United Kingdom, 254 pp. ISBN 0 948617 50 0

Adresa

Ing. Václav Pyrochta, Prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc, Ústav výživy zvířat a pícninářství, Ing. Libor Kalhotka, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika