

BIOLOOGILISE KINDLUSTUSLISANDIGA VALMISTATUD ROHUSILO AEROOBSE STABIILSUSE SUURENDAMINE

R.-J. Sarand, T. Kiisk, I. Jaaniste

Kõrge toiteväärtusega ja hästi seeduva rohu säilitamine talveks on meie kliimas enamikul juhtudel võimalik selle sileerimine kindlustuslisandite kasutamise. Osadel juhtudel, kui ilmastikutingimused seda lubavad, on võimalik silo kvaliteedi kindlustamiseks kasutada ka rohu närvutamist. Sisuliselt toimub sileerimisel nii nende lisandite või ka närvutamise abil piimhappekäärimise soodustamine, mis on vajalik konserveerimiseks olulise pH taseme kindlustamiseks. Konserveerunud seisund püsib anaeroobses keskkonnas. Silomahuti avamisel konserveerunud seisund aegapidi kaob. Konserveerunud seisundi kadumise aega loetaksegi silo aeroobseks stabiilsuseks.

Bensoehapet või selle soolaid sisaldavad konservandid kindlustavad erinevalt teistest tuntud lisanditest silo kõrge aeroobse stabiilsuse. See osutub kasulikuks nii närb- ja kuivsilole kui ka muljutud teravilja säilitamisel ning söötmisel. Aeroobne stabiilsus vähendab toitaine kadu pärast mahuti avamist ja ka söötmise käigus, kui on tehniliselt raske säilitada anaeroobsust. Aeroobselt stabiilse sööda puhul on võimalik korraldada veiste iseteeninduslikku söötmist otse silovirnast.

Eesti Maaviljeluse Instituudi (EMVI) mikrobioloogia laboratooriumis loodud bioloogilised sileerimist kindlustavad lisandid, nagu vadaku või hüdrolüüsitava jahu baasil valmistatav silojuuretis, on leidnud üha enam kasutamist vastuvõetavama hinna ja orgaanilisele maaviljelusele kalduva mõtteviisi tõttu. See vastab ka säästva arengu põhimõtetele. Aasta-aastalt suureneb närvutamise kasutamine liblikõielisterikka rohu sileeruvuse parandamiseks ja silomahla eraldumise vältimiseks. Sellele on kaasa aidanud ka koristustehnika areng, eriti pallisilo puhul. Kahjuks on närvutatud materjalist nii bioloogilise lisandiga kui ka ilma selleta valmistatud silo puuduseks vähene aeroobne stabiilsus, mis piirdub vaid mõne päevaga. Põhjuseks on närvutamise käigus rohu saastumine pärmide ja hallitustega.

Klassikalise märgsilole puhul on eesmärgiks saavutada võimalikult kiiresti konserveerunud seisundiks vajalik kriitiline pH, mis kindlustaks pikaajalise säilivuse anaeroobsetes tingimustes. Homofermentatiivne piimhappekäärimine, kus teisi orgaanilisi happeid moodustub minimaalselt, on toitude parema säilivuse seisukohalt optimaalne lahendus. Otse jalalt koristatud pärmide ja hallitustega vähe saastatud haljasmassi sileerimisel ja ka hilisemal söötmisel aeroobne stabiilsus ei ole olnud probleemiks.

Weissbach (1996), võttes kokku senise informatsiooni, leidis, et stabiilsetel silodel esines äädikhapet (ja teisi lenduvaid rasvhappeid) üle 5 g kilogrammi silo kohta. Pärmide arengu pidurdamiseks on oluline just dissotsieerumata äädikhape sisaldus. Äädikhappe moodustumine silos on seotud suurema toitude kaoga kui piimhappe puhul. Seda tekitavad ka silo riknemist põhjustavad entero- ja võihapetbakterid. Õhu vähesel juurdepääsul moodustab osa piimhappebaktereid samuti vähesel määral äädikhapet. Nimetatud võimaluse kasutamine praktikas on küsitav, kuna selline käärimisprotsess võib kergesti väljuda kontrolli alt ning viia suurte toitude kadudeni ja isegi silo riknemiseni (Driehuis *et al.*, 1996).

Honig jt. (1991) said propioonhappebakterite (PHB) lisamisel silo aeroobse stabiilsuse suurenemise. Samalaadseid uurimusi tehti hiljem ka Hollandis, Soomes ja mujal, kus sileeruvuse kindlustamine toimub tavapäraselt rohu närvutamise ja silo aeroobne stabiilsus on sageli probleemiks. Viimastel andmetel on PHB-d kasutatud ka hapupiimatoodete aeroobse stabiilsuse parandamiseks (Rauramaa *et al.*, 1996).

Antud töö eesmärgiks oli tõsta bioloogilise sileerimislisandi efektiivsust silo aeroobse stabiilsuse suurenemisel. Selleks kasutati propioonhappebaktereid.

Materjal ja meetodika

Sileerimiskatsed viidi läbi kahel aastal EMVI silolaboratooriumis. Ülevaate kasutatavast lähtematerjalist annab tabel 1. 1995. a. sileeriti varase punase ristiku ja timuti segu (75% ristikut, 20% kõrrelisi, 5% rohundeid) teist niidet nii otse niidetuna kui närvutatult. 1997. a. valmistati närbsilo varase punase ristiku ja timuti segu (32% ristikut, 56% kõrrelisi, 12% rohundeid) esimesest niitest. Mõlemal aastal niideti haljasmass põllult ristiku õienuppude moodustumise faasis ja massi närvutati 24 tundi. Silolaboratooriumis hekseldati haljasmass ja lisati bioloogilised kindlustuslisandid – PHB kultuur ja piimhappebakterite juuretis *Silomeister* (mõlema puhul bakterite arvukus 10^8 1 ml-s). 1997. a. lisati võrdlevalt põllul vaalule *Silomeister*, mille valmistamisel oli sellesse täiendavalt inokuleeritud PHB kultuur ning kultiveerimine toimus samas mahutis.

Muljutud segavilja sileerimise katses kasutati vahaküpsuse kasvufaasis koristatud segavilja (oder, kaer ja hernes), mis muljuti ESTRE M10 muljurveskiga. Silolaboratooriumis lisati eelnevalt nimetatud bioloogilised kindlustuslisandid.

PHB-de tüved valiti EMVI mikrobioloogia laboratooriumi kollektsioonist EIAM ja mõningatest teistest allikatest isoleeritustest. PHB isoleerimiseks ja säilitamiseks kasutati trüptikaas-pärmiekstrakti-glükoosi söödet (Johnson, Cummins, 1972), mida modifitseeriti anaeroobide kasvatamiseks.

Tabel 1. Lähtematerjali keemiline koostis
Table 1. Chemical composition of herbage

Näitaja Item	1995			1997	
	Ristik + põldtimut Clover + timothy	Närvuta- tud ristik + põld- timut Wilted clover + timothy	Muljutud oder + kaer + hernes Crushed barley + oat + peas	Närvutatud ristik + põldtimut Wilted clover + timothy	Närvutatud ristik + põldtimut (põllul lisatud Silomeister) Wilted clover + timothy (with Siloben)
Kuivainesisaldus % / DM, %	13,42	35,17	63,28	21,73	21,73
Kuivaines, g/kg: / In DM, g kg ⁻¹					
proteiini / crude protein		180	140	171	171
toorkiudu / crude fibre		261	100	229	229
toortuhka / crude ash		85	28	48	48
N-ta ekstr.-aineid / N-free extracts		431	701	520	520
Mikroorganismide, log g ⁻¹ : Microorganisms, log g ⁻¹ :					
aeroobsete bakt. eoseid / spores of aerobic bacteria	2,39	2,78		2,78	3,34
võihappebaktereid / butyric acid bacteria	0,60	2,00		1,39	0,95
pärmseeni / yeasts	2,48	4,71		3,41	2,48
hallitusseeni / moulds	4,53	5,27		4,12	3,90

Aeroobsete mikroobide suhtes antagonistlikud PHB-d leiti eelnevalt laboratoorsete testide abil agarsöötme plaatidel diskide meetodil. Testide tulemustest lähtudes valiti katseks sobiv PHB tüvi.

Nii *Silomeistri* kui PHB kultuuri kulunorm oli 5 l/t. Purgid suleti hermeetiliselt. Katsed teostati väikemahutites neljas korduses.

Väikemahutid kaaluti perioodiliselt sileerimiskadude määramiseks. Sileerimisaeg oli 3 kuud. Mahuti avamisel võeti keskmine proov keemilisteks ja mikrobioloogilisteks analüüsideks. Keemiliste analüüsidega määrati sileerumisaeg ja toitainete sisaldus. Zootehnilise täisanalüüsi andmete alusel arvutati sööda energiasisaldus.

Pärast mahutite avamist jäeti need sööda aeroobse stabiilsuse kindlakstegemiseks 1995. aastal seisma 15 °C juurde, 1996. a. hoiti neid termostaadis 7 päeva 24 °C juures.

Katsetulemused ja arutelu

PHB kultuuri lisamisel valmistatud katsesilode kvaliteedi andmed on esitatud tabelis 2.

1995. a. lähtematerjali ühepäevase närvutamise järel suurenes selles võihappebakterite eoste, aga ka pärm- ja hallitusseente sisaldus. Sellest tulenevalt oli ka närvutatud materjalist valmistatud katsesilode võihappebakterite ja pärmseente arvukus tunduvalt suurem kui märgsilo samade variantide puhul. Vaatamata headele anaeroobsetele tingimustele oli närvutatud materjalist valmistatud lisanditeta silo kuivaine kadu ja võihappesisaldus suurem ning aeroobne stabiilsus väiksem kui vastavas märgsilos. Märgsilo variantide suurem aeroobne stabiilsus seostub eelkõige suurema äädikhappesisaldusega.

Piimhappebakterite lisamisel (*Silomeister*) vähenesid kuivaine kaod ning võihappe ja ammoniaagi sisaldus nii märg- kui närbsilos. Närbsilos oli PHB lisamine suurema efektiivsusega ja suurendas selle aeroobset stabiilsust. Võimalik, et see tulenes madalamast pH-st ja sellest tingitud dissotsieerumata rasvhapete suuremast sisaldusest.

PHB lisamine täiendavalt piimhappebakteritele suurendas katsesilode aeroobset stabiilsust. Seda iseloomustab ka nende silode suurem PHB ja väiksem pärmide sisaldus.

Muljutud vilja puhul ei olnud variantide vahel aeroobse stabiilsuse erinevust, küll aga PHB lisamine vähendas pärm- ja hallitusseente sisaldust. Seda võis soodustada suurem äädikhappesisaldus.

Seega oli esimeses katses PHB täiendav lisamine sileeritavale kuivainerikkale materjalile efektiivne. Seda kontrolliti 1997. a. katses, kus juuretise valmistamisel inokuleeriti PHB. Propioon- ja piimhappebaktereid sisaldava juuretise (*Silomeistriga*) valmistatud silode kvaliteedi andmed on esitatud tabelis 3. Selle kindlustamis- lisandi kasutamise tulemuseks oli silo suurem aeroobne stabiilsus ning väiksem hallitus- ja pärmseente sisaldus. Täiendav PHB lisamine ei suurendanud katsesilo aeroobset stabiilsust.

Tabel 2. Silo kvaliteet PHB kultuuri lisamisel

Table 2. Quality of silage with additive of propionic acid bacteria (PAB) culture

Näitaja / Item	1995								
	Märgsilo / Silage			Närbsilo / Wilted silage			Muljutud vili / Crushed grain		
	Kontroll Control	Silo- meister	+ PHB kultuur + PAB culture	Kontroll Control	Silo- meister	+ PHB kultuur + PAB culture	Kontroll Control	Silo- meister	+ PHB kultuur + PAB culture
Mikroorganismide, log g ⁻¹ / Microorganisms, log g ⁻¹ :									
- PHB / propionic acid bacteria	7,90	7,91	8,02	7,78	8,12	8,28	7,18	7,08	7,33
- võihappebaktereid / butyric acid bacteria	0,60	0,60	0,60	3,00	2,70	3,12	0,60	0,60	0,60
- aeroobsete bakt. eoseid / spores of aerobic bacteria	3,65	3,65	4,09	2,90	2,86	3,01	4,08	3,82	3,93
- pärmseeni / yeasts	3,73	3,87	2,78	6,63	6,59	6,20	4,17	4,65	2,71
- hallitusseeni / moulds	1,48	1,48	2,15	1,48	1,48	1,48	4,23	1,48	1,48
Aeroobne stabiilsus päevades / Aerobic stability, in days	13	13	15	10	12	17	>30	>30	>30
pH	4,3	4,4	4,4	4,7	4,0	4,0	3,8	3,8	3,9
Üldhappesus / Total acidity	224	215	195	164	365	385	344	410	350
Kuivainesisaldus % / DM content, %	15,60	15,55	15,40	35,20	33,47	31,80	63,00	62,80	61,70
Kuivaines, g/kg: / In DM, g kg ⁻¹									
- toorproteiini / crude protein	174	191	189	170	173	174	149	136	149
- toorkiudu / crude fibre	235	256	255	236	205	219	104	112	97
- toortuhka / crude ash	87,5	83,0	84,3	67,2	74,5	77,1	27,9	28,6	27,7
- N-ta ekstraktiivaineid / N-free extracts	471,5	438,2	440,4	496,4	515,2	499,1	688,3	692,4	695,2
- suhkruid / sugars	0	2,6	3,2	27,0	31,4	9,4	26,5	15,1	15,4
- äädikhapet / acetic acid	18,6	23,8	22,1	5,97	5,68	6,92	2,86	3,03	3,57
- propioonhapet / propionic acid	0	0	0	0,57	0	0	0	0	0
- võihapet / butyric acid	2,57	1,29	3,90	1,99	0,30	0	0	0	0
Metaboliseeruvad energiad, MJ/kg k.a. / Metabolizable energy MJ/kg DM	9,19	9,31	9,29	9,35	9,26	9,25	13,27	13,22	13,26
Söötühikuid 1 kg-s k.a. / Food units in 1 kg DM	0,90	0,88	0,87	0,92	0,94	0,92	1,28	1,27	1,28
Ammoniaaki proteiinis, % / Ammonia in protein, %	11,2	10,7	10,8	7,4	5,1	5,6	4,5	5,3	4,9
Gaasiline kuivainekadu, % / Gaseous DM losses, %	0,77	0,70	0,67	1,04	0,69	0,86	0,82	0,67	0,65

Tabel 3. Silo kvaliteet täiustatud bioloogilise sileerimisilisandi kasutamisel
Table 3. Quality of silage, using improved biological silage additive

Näitaja / Item	Närbsilo ristiku ja kõrreliste segust (1997)				
	Kontroll Control	Silo- meister	Silomeister (lisatud põllul) (added in field)	Silomeister (lisatud põllul) + PHB (added in field + PAB)	Piirdife- rents variantide vahel (LSD)
Mikroorganismide, log g ⁻¹ : / Microorganisms, log g ⁻¹ :					
- PHB / propionic acid bacteria	6,58	6,29	7,19	7,15	0,55
- võihappebaktereid / butyric acid bacteria	1,10	0,60	0,83	0,95	0,29
- aeroobsete bakt. eoseid / spores of aerobic bacteria	3,96	3,57	3,27	3,09	0,48
- pärmseeni / yeasts	4,43	4,02	3,46	3,17	0,87
- hallitusseeni / moulds	4,00	2,24	1,12	1,12	1,14
Aeroobne stabiilsus päevades / Aerobic stability	3	>7	6	6	
pH	3,8	3,7	3,8	3,8	0,1
Üldhappesus / Total acidity	171	173	181	165	24
Kuivainesisaldus % / DM content, %	19,4	20,4	17,6	18,5	
Kuivaines, g/kg: / In DM, g kg ⁻¹ :					
- äädikhapet / acetic acid	23	19	27	25	9,0
- propioonhapet / propionic acid	1,4	1,0	1,3	2,6	2,1
- võihapet / butyric acid	0	0	0	0	
- etanooli / ethanol	19	15	16	16	4,1
- suhkruid / sugars	24	15	8	9	4,0
- ammoniaaki / ammonia	2,0	1,5	2,1	2,1	0,3
Gaasiline kuivainekadu % / Gaseous DM losses, %	0,8	0,6	0,6	0,7	0,11

Järeldus

PHB täiendav lisamine närvutatud ristikurikkale rohusegule ja muljutud segaviljale lisaks piimhappebakteri juuretisele või selle kasutamine silojuuretise koosseisus võib suurendada silo aeroobset stabiilsust ning vähendada silo valmistamisel aeroobsusest tingitud riske.

Kirjandus

- Driehuis F., Spoelstra S. F., Cole S. C. J., Morgan R. Improving Aerobic Stability by Inoculation with *Lactobacillus buchneri*. – Proceedings 11th International Silage Conference, Aberystwyth, p. 106...107, 1996.
- Rauramaa A., Tommila A., Nousiainen J., Toivonen V. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* on chemical and microbial composition of prewilted silage. – Proceedings 11th International Silage Conference, Aberystwyth, p. 242...243, 1996.
- Weissbach F. New developments in crop conservation. – Proceedings 11th International Silage Conference, Aberystwyth, p. 11...25, 1996.
- Wyss U., Honig H., Pahlow G. Einfluss von Luftstress und die Wirkung von spezifischen Zusätzen auf die aerobe Stabilität von Grasanwelksilagen. – Das wirtschaftseigene Futter, Band 37, Heft 1+2, S. 129...141, 1991.

Töö valmis ETF grandi nr. 1006 toetusel. Autorid tänavad Paul Lättemäed osutatud abi eest.

Increasing Aerobic Stability of Silages Prepared With Biological Additives

R.-J. Sarand, T. Kiisk, I. Jaaniste

Summary

The aim of this work was to enhance the effectivity of biological silage additive by application of propionic acid bacteria to increase silage aerobic stability. Red-clover and graminaceous plants, and crushed grain with high dry-matter content were ensiled in small-containers.

Addition of lactic acid bacteria inoculant to wilted crops and crushed grain resulted in decrease of silages dry-matter losses, butyric acid and ammonia content. Complementary addition of propionic acid bacteria to lactic acid bacteria inoculant, or their use together with silage additives, increased aerobic stability of silages. Propionic acid bacteria content increased in fodder, while the number of moulds and yeasts decreased.