

ZNAČAJ AEROBNE STABILNOSTI SILIRANE STOČNE HRANE

A. Ivetić, N. Đorđević, D. Radin, P. Stojić, G. Grubić, B. Stojanović*

Izvod: Aerobna stabilnost je termin kojim se definiše dužina vremena za koje silaža ostaje hladna i ne kvari se po izlaganju vazduhu. Zbog toga, brzo otklanjanje vazduha iz silaže tokom siliranja i smanjeno izlaganje vazduhu po otvaranju silosa su dva važna faktora koji određuju dužinu aerobne stabilnosti silirane stočne hrane. U proceni aerobnog kvarenja, merenje proizvodnje CO₂, odvojeno ili u kombinaciji sa drugim parametrima kao što je temperatura silaže, pH vrednost, sadržaj mlečne i sirćetne kiseline i mikrobiološka analiza, mogu se koristiti kao pouzdani laboratorijski metod. Ovaj rad ima za cilj da ukaže na značaj procene vremena trajanja aerobne stabilnosti stočne hrane, zbog promena i gubitaka kvaliteta pri aerobnoj degradaciji.

Ključne reči: silaža, aerobna stabilnost, bakterije mlečne kiseline, kvasci, plesni.

Uticaj mikroorganizama na aerobnu stabilnost silaže

Kvasci i plesni prisutni u silaži su dominantni mikroorganizmi- MO koji utiču na aerobnu stabilnost silaže (Woolford i sar., 1990). Tokom izlaganja silaže vazduhu, kvasci su primarni organizmi koji asimiliraju mlečnu kiselinu u njegovom prisustvu, dovodeći do povećanja pH vrednosti i kvarenja silaže. Kvasci su jednoćelijski MO, eukarioti, klasifikovani u carstvo gljiva *Fungi*. Predstavnici rodova *Candida*, *Pichia* (*Hansenula*), *Issatchenia* i *Saccharomyces* su osnovne vrste kvasaca koje prouzrokuju ovakvo kvarenje silaže (Woolford, 1990; Inglis i sar., 1999). U silaži od cele biljke kukuruza samo dve nedelje po siliranju identifikovane su različite vrste kvasaca kao što su *Candida holmini*, *C. lambica*, *C. melleli*, *Hansenula anomali* i *Saccharomomyces daireusis* (Middlehoven i sar., 1990). Takođe, pri aerobnom kvarenju silaže kukuruza, pronađene su i nove vrste kvasaca kao što su *Kazachstania aerobia* sp.nov, sa bliskim filogenim odnosom sa *K. servaii* i *K. unispora* (Lu i sar., 2004); *Saccharomyces bulderi* sp.nov, blisko povezan sa *S. barnetti* i *S. exiguus* (Middlehoven i sar., 2000). Određene vrste kvasaca koje su prisutne u silaži imaju sposobnost da asimiliraju mlečnu i sirćetnu kiselinu. Stepen ili obim korišćenja mlečne kiseline u metabolizmu kvasca predstavlja značajan negativan uticaj jer je osnovni cilj pri fermentaciji silaže visoka proizvodnja mlečne kiseline.

Plesni se, kao i kvasci, klasifikuju u carstvo *Fungi* ali formiraju višećelijske filamentozne kolonije. Generalno, kvasci i plesni su aerobni organizmi koji zahtevaju kiseonik za svoj razvoj i podnose širi opseg aktivnosti vode - a_w vrednosti (pritisak vodene pare

* Mr spec. Aleksandra Ivetić, prof. dr Nenad Đorđević, prof. dr Dragoslava Radin, prof. dr Goran Grubić, dr Bojan Stojanović, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun; dr Petar Stojić, Institut PKB Agroekonomik, Beograd-Padinska Skela. E-mail prvog autora: sandra@agrif.bg.ac.rs

iznad tečnosti podeljen sa čistom vodom pri istoj temperaturi). Aktivnost vode predstavlja količinu vode dostupnu mikroorganizmima. Plesni podnose prisustvo manje količine vlage (a_w 0,85 ili manje), dok je kvascima potrebna nešto veća aktivnost vode.

Tokom fermentacije, umeren razvoj kvasaca je prisutan sve dok je prisutan kiseonik u silaži, ali pri izuzimanju silaže kvasci ponovo dobijaju kiseonik i tada njihov rast postaje eksponencijalan. Različiti fakultativni anaerobi i acido-tolerantni kvasci su takođe uključeni u proces fermentacije silaže. Kvasci fermentišu šećer do etanola i CO_2 čime smanjuju dostupan šećer za proizvodnju kiselina i povećavaju gubitke u suvoj materiji (SM) tokom siliranja (Lu i sar., 2004). Iako su kvasci i plesni osnovni MO značajni za aerobnu stabilnost silaže i neki drugi MO mogu imati značajnu ulogu u ovom procesu. Smanjenje količine mlečne kiseline i posledično povećanje pH vrednosti dozvoljava oportunističkim bakterijama (npr. *Bacillus*) i gljivama (npr. *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*) rast što dalje prouzrokuje pogoršanje kvaliteta silaže Mc Donald i sar., 1991). Takođe, Spoelestra i sar., (1988) su ukazali na ulogu bakterija sirćetne kiseline, predstavnici roda *Acetobacter* na početku aerobnog kvarenja silaže kukuruza. Ove bakterije imaju sposobnost da oksidišu etanol u sirćetnu kiselinu i dalje degradiraju mlečnu i sirćetnu kiselinu do CO_2 i vode, dovodeći do kvarenja silaže. Značajno je i zapažanje da, iako su klostridije striktno anaerobne bakterije, njihove spore mogu rasti tokom aerobne degradacije u silo masi (Pahlow i sar., 2003, Tabacco i sar., 2009). Koegzistencija aerobnih i anaerobnih MO u silaži, gde klostridije profitiraju od oksidacije prisutnih konzervišućih kiselina stvorenim radom aerobnih MO može biti razlog i objašnjenje za rast klostridija tokom aerobne degradacije (Jonsson, 1989).

Posledice aerobne nestabilnosti silaže

Efikasno konzervisanje stočne hrane u vidu silaže zavisi od sposobnosti bakterija mlečne kiseline - laktobacila (BMK) da proizvode dovoljno kiselina koje zaustavljaju rast i druge aktivnosti nepoželjnih mikroorganizama pod anaerobnim uslovima (Cai i sar., 1999; Đorđević et al., 1994, 2001, 2004a, 2011b). Step en anaerobnosti sredine u zatvorenom silosu je jedan od najvažnijih faktora koji utiče na efikasnost očuvanja silirane stočne hrane, jer prisustvo vazduha omogućava aktivnost štetnih MO (Woolford, 1990; Đorđević et al., 2010, 2011a,b,c). Na početku fermentacije, rezidualni vazduh koji je ostao zarobljen između delova silirane mase, omogućava nastavljanje respiracionih procesa prisutnih MO. U ovim procesima dolazi do transformacije prisutnog šećera i stvaranja kiseline kao i toplote, što za posledicu ima povećanje temperature (Kunkle i sar., 2006). Ukoliko temperatura dostigne $50^\circ C$ tokom aerobne aktivnosti može nastupiti i Maillard-ova reakcija koja smanjuje svarljivost proteina silažne mase (Muck i sar., 2003). Dalje izlaganje silo mase vazduhu produžava aktivnost neželjenih MO kao što su kvasci i plesni i time se odlaže razvoj onih najpoželjnijih BMK, što dovodi do opadanja kvaliteta silaže.

Vazduh zarobljen tokom siliranja, kao i prodiranje vazduha u silos i izlaganje silaže vazduhu tokom pražnjenja prilikom hranjenja su odgovorni činioci koji dovode do aerobnog kvarenja silaže. Produženo izlaganje, odnosno prodiranje vazduha u silažu tokom skladištenja ili izuzimanja mogu dovesti do aerobnog kvarenja silaže. Tokom pražnjenja (izuzimanja silaže pri hranjenju) kod silo objekata na farmama, vazduh prodire 1-2 m

sa frontalne strane silo-objekta (Wienberg i Ashbell, 1994). Zbog toga je silažna masa praktično izložena vazduhu 3-5 dana pre hranjenja, u zavisnosti od stepena izuzimanja silaže (prosečno 20-40 cm dnevno). Pri hranjenju, vazduh ulazi u silažu i omogućava rast aerobnih MO, kao što su neki kvasci i plesni koji mogu da koriste proizvode fermentacije prisutne u silaži (Danner i sar., 2003).

Ugljeni hidrati i organske kiseline se troše usled aerobne mikrobne aktivnosti dovodeći do gubitka u SM i energiji zajedno sa proizvodnjom toplote (Muck, 1988). Ranjit i Kung (2000) su ukazali na visoke gubitke (6%) SM silaže kukuruza izložene vazduhu za samo 1-2 dana. Gubici kod silirane pšenice se razlikuju u zavisnosti od mesta (Ashbell i Kashanchi, 1987), tako da u sredini gubici SM iznose 2,8-16%, blizu zidova 10,1-22,7%, u sredini prekrivnog sloja 13,9-26,7%, dok su na gornjim uglovima između 20,4-75,8%. Ova mesta u silosu imaju različitu osetljivost silaže na izloženost vazduhu (Ashbell i Weinberg, 1992). Weinberg i sar., (2009) su ukazali da je nivo svarljivosti SM i NDF kod uzoraka silaže uzetih sa gornjih uglova silosa bio znatno niži u poređenju sa uzorcima uzetim sa centra ili blizu zidova.

Posmatrano odvojeno od ekonomskih gubitaka hranljivih sastojaka, kada se pokvarena silaža daje preživarima dolazi do depresije konzumiranja i smanjenje proizvodnje, iako tačan uzrok koji smanjuje performanse i konzumiranje nije u potpunosti još definisan. Proizvodi metabolizma štetnih kvasaca mogu izmeniti fermentaciju u rumenu, direktno konzumiranje pokvarenih nutrienata može smanjiti performanse a neželjeni sekundarni proizvodi metabolizma nekih gljiva kao što su mikotoksini, koji nastaju pri daljem kvarenju silaže, mogu predstavljati značajan problem (Kung, 2005). Pri ishrani muznih krava hravima u kojima je prisutan *Aspergillus flavus*, posle 12-24 sata u mleku su prisutne frakcije aflatoksina M_1 i M_2 , i time postoji realna opasnost po zdravlje ljudi koji koriste takvo mleko u ishrani (Ivetić i Grubić, 2007). Upotreba mineralnih ili organskih adsorbenata može donekle da smanji opasnost od mikotoksina, ali navedena sredstva imaju različit stepen adsorpcije za različite mikotoksine (Đorđević et al., 2004b,c, 2005, 2006).

Faktori koji utiču na aerobnu stabilnost

U procesu fermentacije, visoka koncentracija mlečne kiseline je izrazito poželjna jer brzo snižava pH vrednost silaže ali ima slabe fungicidne osobine. Sa druge strane, sirćetna i propionska kiselina imaju dobre antifungalne osobine i njihova koncentracija može biti povećana dodavanjem kiselina ili korišćenjem specifičnih mikrobioloških inokulanata kao što je *Lactobacillus buchneri* (Đorđević et al., 2012a,b). Buterna kiselina, završni proizvod fermentacije klostridija, predstavlja jednu od najjačih antifungalnih kiselina ali nije poželjna u fermentaciji silo-mase zbog drugih štetnih efekata kao što su veliki gubitak SM i degradacija proteina (Kung, 2005). Pored toga, dužina fermentacije može takođe uticati na aerobnu stabilnost silaže tokom izlaganja vazduhu. Gonzales i Rodrigues (2003) su ukazali na visoku nestabilnost kod silaže u okruglim balama izloženoj vazduhu tokom dugog perioda fermentacije, kada su vremenski razmak od 100 dana poredili sa 53danom otvaranja silosa.

Abiotski faktori kao što su način skladištenja, temperatura, uticaj spoljne sredine, pražnjenje i kvalitet materijala za pokrivanje utiču na fermentaciju, aerobnu stabilnost a

zatim i na kvalitet silaže. Gonzales i Rodrigues (2003) su ukazali da su bale uskladištene pod hladom imale manji stepen aerobne degradacije od onih izloženih direktnom solarom zračenju, što se dovodi u vezu sa većim uticajem spoljne temperature i direktne sunčeve svetlosti na MO koji su značajni za aerobno kvarenje (kvasci i plesni). Takođe, Henderson i sar. (1979) su ukazali na značaj visoke temperature u povećanju aktivnosti kvasaca i plesni. Ashbell i sar. (2002) su saopštili da su efekti temperature skladištenja na aerobnu stabilnost silaže značajni. Ashbell i Weinberg (1992) su došli do zaključka da što su tanji plastični pokrivači kroz koje vazduh može prodrati u silažu to su manji gubici u gornjim slojevima silaže. Kim i Andegosan (2006), ukazuju na štetne efekte visoke temperature i kišnih padavina pri siliranju na proces fermentacije i kvalitet silaže. Stoga, toplo vreme stimuliše mikrobijalni rast, tako da je očuvanje aerobne stabilnosti silaže veći problem tokom letnjih meseci.

Procena trajanja aerobne stabilnosti silaže

Tačna procena aerobne stabilnosti je preduslov pre preuzimanja bilo kakve odluke u upravljanju problemima povezanim sa aerobnom degradacijom silaže. Određeni pokazatelji aerobne degradacije silaže mogu biti vidljivi tokom posete farmama. Na primer, boja silaže, miris (buđav miris ili ne), vidljiv porast plesni (moguće i kvasci), osećaj visoke temperature, vlažna silaža kao rezultat aerobne nestabilnosti su neki od parametara koji se mogu lako uočiti na farmama. Woolford i sar., (1977) su razvili laboratorijski sistem merne skale koja uspostavlja odnose između gubitaka SM, porasta temperature i proizvodnje CO₂. Henderson i sar., (1979) predlažu praćenje promena u pH vrednosti i temperaturi kao indikatore za aerobnu degradaciju silaže. Pahlow (1981) je uveo novu tehniku za procenu aerobne stabilnosti silaže sa determinacijom potrebnog biohemijskog kiseonika (BOD) za razvoj određenih MO u silaži. Isti autor je pratio broj populacija kvasaca i bakterija, koje mogu inicirati aerobno kvarenje silaže. Brookes (1990) je opisao metod za određivanje aerobne stabilnosti silaže, korišćenjem infracrvenog gas indikatora metabolički proizvedenog CO₂ u vlažnoj struji vazduha tokom 5-7 dana i broja kvasaca.

Ashbell i Weinberg (1991), koriste jednostavan sistem konstruisan od polietilen tereftalat boca u analizi aerobne stabilnosti silaže i aerobne aktivnosti kvasaca i gljiva. Polietilen tereftalat je stabilan, otporan na koroziju, koristi se u industriju gaziranih pića (sokovi, mineralne vode i dr.) i ima stopu transmisije CO₂ od 15-25ml/mil/100 inči²/24h pri 1 atmosferi na 25°C (Savremena enciklopedija plastike, 1981). Kod ovako praktičnog laboratorijskog testa aerobna aktivnost koja se odvija u uzorkovanoj silaži dovodi do proizvodnje CO₂. Kako je CO₂ gas 1,5 puta gušći od vazduha i zbog toga pada na dno boce, a zatim biva absorbovan u bazi KOH. Zatim se rastvor titruje sa 1N HCl koja potiskuje CO₂. Količina prisutnog CO₂ (g/kg SM) se zatim obračunava po jednostavnoj formuli.

Predloženi sistem sa ovakvim bocama je jeftin, lak za upotrebu i standardizaciju i uzorci mogu se u uzimati u različitim intervalima. Merenje proizvodnje CO₂, odvojeno ili u kombinaciji sa drugim parametrima kao što je temperatura silaže, pH vrednost, sadržaj mlečne i sircetne kiseline i mikrobiološka analiza, mogu se koristiti kao pouzdan laboratorijski metod za određivanje aerobne stabilnosti silaže (Weinberg i sar., 2002, 2003).

Efekti aditiva na aerobnu stabilnost

Minimiziranje izlaganju vazduha silaže je glavni eksponencijalni faktor za dobar kvalitet silaže. Stoga, svaka menadžment praksa koja pomaže da se isključi kiseonik iz silaže je važan faktor radi izbegavanja i inhibicije rasta i razvoja kvasaca i plesni. Određene vrste kvasaca proizvode toksičan protein koji ubija osetljive sojeve istih ili drugih vrsta kvasaca, što može biti važan i koristan pristup za inhibiciju razvoja mnogih kvasaca koji koriste mlečnu kiselinu i na taj način sačuvati silažu od aerobnog kvarenja. Na primer, saopšteno je da rast *S. cerevisiae* (FO 0304) može biti inhibiran sa “protein-ubicom” koji proizvodi *Kluykeromyces lactis* (IFO 1267) (Kitomoto i sar., 1993).

Činioci kao što su žetva biljaka pri optimalnom sadržaju vlage, korektna dužina isečene mase, brzo punjenje, kompaktnost u sabijanju i zatvaranju, adekvatna stopa izuzimanja silaže iz silosa svaki dan, mogu imati pozitivne efekte u smanjivanju izloženosti vazduhu silaže što konačno pomaže očuvanju kvaliteta silaže (Kung, 2005). Kvalitet materijala za zatvaranje takođe utiče na aerobnu stabilnost silaže. Borreani i sar., (2007) su ukazali da je korišćenje novo razvijenih (OBfilms) tankih prevlaka smanjilo gubitke SM i poboljšalo aerobnu stabilnost silaže kukuruza u poređenju sa konvencionalnim polietilenskim prekrivačima. Dodatno, mnogi aditivi u silaži mogu da se koriste da poboljšaju aerobnu stabilnost silaže.

Vrste i broj MO koji dominiraju u procesu fermentacije su važan faktor u pravljenju silaže. Silaža može biti inokulisana sa specifičnim mikrobiološkim aditivima, koji najčešće i najviše u svom sastavu imaju BMK, da bi se povećala brzina i efikasnost fermentacije ubrzanjem stvaranja kiseline i smanjenjem pH vrednosti pri ranijim fazama siliranja što ultimativno poboljšava konzervaciju kabaste hrane (Contreareas-Govea i sar., 2009). Postoje dva tipa mlečne fermentacije: homofermentativni i heterofermentativni tip. Homofermentativne BMK su poželjnije jer fermentacijom jednog mola heksoza (glukoze ili fruktoze) daju dva mola mlečne kiseline, dok pri fermentaciji pentozna nastaje jedan mol mlečne kiseline, i jedan mol sićetne kiseline. Heterofermentativne BMK su manje efikasne u pogledu konverzije ugljenih hidrata, te fermentacijom 1 mola glukoze nastaju pored mlečne kiseline, sirćetna kiselina ili etil-alkohol i ugljen-dioksid.

Kada se heterofermentativne BMK koriste u silaži u vidu inokulanata one mogu poboljšati aerobnu stabilnost silaže proizvodnjom sirćetne kiseline koja sprečava razvoj kvasaca i plesni. Ranjit i Kung (2000), su pokazali da je kod kukuruzne silaže inokulisane sa 1×10^6 CFU (colony forming unitis)/gr *Lactobacillus buchneri* došlo do mešane fermentacije, gde su pored mlečne nastale i druge kiseline, što je značajno poboljšalo aerobnu stabilnost. Driehnis i sar. (2001), je saopštio da inokulacija sa *L. buchneri* sa ili bez učešća homofermentativnih BMK povećava aerobnu stabilnost provenule silaže trava. Takođe, *L. buchneri* proizvodi 1.2-propandiol tokom aerobne degradacije mlečne u sirćetnu kiselinu, (Ouda Elferink i sar., 2001) koji inhibira rast i razvoj gljiva. Kombinacija *L. buchneri* i *L. plantarum* je poboljšala aerobnu stabilnost silaže kukuruza (Weinberg i sar., 2002; Filya, 2003). Hu i sar. (2009) su ukazali da kukuruzna silaža tretirana sa *L. buchneri* 40788 ima veću koncentraciju sirćetne kiseline, manje brojnu populaciju kvasaca i poboljšanu aerobnu stabilnost u poređenju sa ne tretiranom silažom, bez obzira na sadržaj SM silaže.

Sa druge strane, u homofermentativnoj fermentaciji stvara se samo mlečna kiselina, koja omogućava razvoj aerobnih kvasca i plesni. Na primer, visoki nivo rastvorljivih

ugljenih hidrata i mlečne kiseline i nizak nivo slobodnih masnih kiselina u silaži inokulisanoj sa homofermentativnim BMK pri siliranju, dovode do veće osetljivosti na izlaganje vazduhu (Weinberg i sar., 1993). Filya (2003) je ustanovio da su silaže pšenice, šećerne trske i kukuruza aerobno nestabilne kada su inokulisane samo sa *L. plantarum*. Može se zaključiti da iako homofermentativni inokulanti poboljšavaju karakteristike fermentacije silaže brzim snižavanjem pH vrednosti, oni mogu doprineti većem aerobnom kvarenju silaže žitarica. Nasuprot tome, korišćenje heterofermentativnih inokulanata ne samo da poboljšava osobine fermentacije već takođe pokazuje povoljne efekte na aerobnu stabilnost silaže.

Nekoliko studija je posvećeno proučavanjima uticaja bakterija propionske kiseline (*Propionibacterium*) na aerobnu stabilnost silaže. Weinberg i sar. (1995) su izneli da *Propionibacterium schermanii* može opstati i poboljšati aerobnu stabilnost silaža koje su sklone aerobnom pogoršanju. U brzo fermentišućim silažama, brzo snižavanje pH vrednosti ispod 4,5 može obezbediti nepoželjenu sredinu za bakterije koje proizvode propionsku kiselinu (Pahlow i Honig, 1994). Filya i sar. (2004) su, u laboratorijskim uslovima, ukazali na uticaj *Propionibacterium acidipropionici* u zaštiti pšenične, kukuruzne silaže i silaže od šećerne trske izloženoj vazduhu.

Pored primene mikrobioloških inokulanata, rađena su istraživanja sa neproteinskim azotom (NPN), melasom, neorganskim i organskim kiselinama, enzimima, u cilju proučavanja njihovih efekata na aerobnu stabilnost silaže. U NPN aditivima, anhidrovani NH_3 , urea, mešavina vode i melase, melase i NH_3 , ili uree i minerala, dodavani su na početku siliranja da bi povećali sadržaj SP (urea ili amonijak) i poboljšali aerobnu stabilnost silaže (Kung i sar., 2003). Tretman sa amonijačnim azotom je poboljšao aerobnu stabilnost silaže cele biljke kukuruza (82 časova) sa nižim brojem kvasaca i plesni u poređenju sa netretiranom silažom (38,5 časova) (Kung i sar., 2000). Ashbell i Weinberg (1993) su postigli produženje aerobne stabilnosti silaže pšenice i silaže od šećerne trske tretirane sa amonijakom, ali u istoj studiji kukuruzna silaža tretirana amonijakom je pokazala povećano aerobno kvarenje. Naravno, posebnu pažnju treba posvetiti prilikom dodavanja amonijaka jer je gas opasan po zdravlje.

Neorganske kiseline kao što su hlorovodonična, sumporna i fosforna se uglavnom dodaju vlažnim usevima. Pored njihove uloge kao agenasa za zakišeljavanje, one pokazuju posebne antimikrobne osobine (Drysdale i sar., 1987). Ponekad samo smanjenje pH vrednosti nije dovoljno da se zaustavi razvoj i razmnožavanje svih neželjenih MO. Chamberlain i Quing (1987) su objavili da kada se sumporna kiselina dodaje silaži i spusti pH vrednost na 3,5, aktivnost koliformnih bakterija nije potpuno eliminisana a moguć je i rast nekih plesni.

Iako je stepen kiselosti organskih kiselina manji u poređenju sa neorganskim kiselinama (imaju veću pH vrednost), organske kiseline se ponašaju dvojako i kao zakišeljivači i kao antimikrobni agensi i time obezbeđuju dobru sredinu za kontrolisanje fermentacije tokom čitavog procesa siliranja. Dodatkom mravlje kiseline postignuta je bolja aerobna stabilnost silaže (Crawshaw i sar., 1981; Keady i Murphy, 1996). Međutim, Pitt i sar. (1991), su ukazali na kraće trajanje aerobne stabilnosti (5,75 dana) posle izlaganja vazduhu silaže sa mravljom kiselinom u poređenju sa ne tretiranom silažom (8dana). Naime, prema Crawshaw i sar. (1981) mravlja kiselina je bila efikasna u smanjenju aerobnog

kvarenja ukoliko su bakterije (ali ne kvasci i plesni) uzrok aerobne degradacije silaže. Isparljive masne kiseline (sirćetna, propionska, buterna kiselina) su antimikotici (Moon, 1983), dok je propionska kiselina bila izučavana u inhibiciji rasta kvasaca i plesni, i može predstavljati faktor produženja aerobne stabilnosti. Selwet (2008) navodi da je rast gljiva najefikasnije inhibiran u kukuruznoj silaži sa mešavinom mravlje, propionske kiseline i amonijačnim solima što je poboljšalo aerobnu stabilnost. Sa druge strane, tretman silaže sa formaldehinom bio je osetljiv na aerobnu degradaciju u poređenju sa netretiranom silažom zbog uticaja na fermentacije. Na primer, Barry i sar. (1980) su ustanovili da je silaža tretirana sa formaldehinom pri različitim stopama od 5,4 do 9 l/t ograničila fermentaciju i sve tretirane silaže su imale površinsko kvarenje u silosu. Pored pomenutih aditiva, proučavani su i efekti različitih enzima na aerobnu stabilnost silaže. Weinberg i sar. (1995) su uočili visok intenzitet aerobne degradacije u silaži graška i pšenice, kada je primenjena veća koncentracija hidrolizujućih enzima koji deluju na ćelijski zid, što je dovelo do povećanja rastvorljivih ugljenih hidrata.

Zaključak

Iz navedenog se može zaključiti da su vizuelna procena, proizvodnja CO₂, temperatura, pH vrednost i drugi hemijski i mikrobiološki parametri, glavni indikatori u proučavanju aerobne stabilnosti silaže i obima aerobne degradacije. Faza aerobnog kvarenja silaže počinje odmah pri izlaganju silaže vazduhu (otvaranje silosa) i tokom ishrane životinja ova faza je neizbežna. Hranljiva vrednost silaže se menja po otvaranju silosa i onda kada je primenjena pravilna tehnika siliranja. Aerobno kvarenje silaže sastoji se iz dve etape. Prva predstavlja početak pogoršanja usled degradacije zaštitnih organskih kiseline. Povećanjem pH vrednosti počinje druga etapa kvarenja u kojoj se povećava temperatura i dolazi do bržeg razvoja MO. Aerobno kvarenje je prisutno u svim silažama koje su otvorene i izložene vazduhu. Vazduh (kiseonik) predstavlja glavni uzročnik kvarenja silaže, zato što omogućava odvijanje neželjenih hemijskih i mikrobioloških aktivnosti, koje dovede do opadanja kvaliteta. Za procenu dužine aerobne stabilnosti silirane stočne hrane, danas postoje brze i praktične metode, na osnovu kojih se planira stopa izuzimanja silaže prilikom hranjenja. Takođe, jedno od široko prihvaćenih rešenja je korišćenje mikrobioloških aditiva prilikom siliranja u cilju očuvanja kvaliteta silaže i povećanja aerobne stabilnosti.

Zahvalnost

Posebnu i veliku zahvalnost autori rada upućuju profesoru dr Z. W. Weinbergu, Volcani center, Israel, za stručne savete i sugestije.

Literatura

1. Ashbell, G., and Y. Kashanchi (1987): In-silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. *J. Sci. Food Agric.* 40:95-103.
2. Ashbell, G., and Z. W. Weinberg (1993): The effect of applying ammonia to corn, wheat and sorghum upon ensiling. *Can. Agric. Eng.* 35:113-117.
3. Ashbell, G., Z. G. Weinberg, A. Azrieli, A. Hen, and B. Horev (1991): A simple system to study the aerobic determination of silages. *Can. Agric. Eng.* 33:391-393.
4. Ashbell, G., Z. G. Weinberg, Y. Hen, and I. Filya (2002): The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28:261-263.
5. Ashbell, G., and Z. G. Weinberg (1992): Top silage losses in horizontal silos. *Can. Agric. Eng.* 34:171-175.
6. Barry, T. N., M. E. Di Mednna, P. R. Webb, and J. N. Parle (1980): Some observation on aerobic deterioration in untreated silages and in silages made with formaldehyde-containing additives. *J. Sci. Food Agric.* 31:133-146.
7. Borreani, G., E. Tabacco, and L. Cavallarin (2007): A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm scale corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:4701-4706.
8. Broderick, G. A., D. B. Ricker, and N. Vollebregt (1991): Microbial inoculant or propionic acid treatment for preservation of alfalfa silage fed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74(Suppl. 1):174.
9. Brookes, R. (1990): Method of assessing the aerobic stability of silage. 9th Silage Conference, Newcastle upon Tyne, September 1990, pp. 56-57.
10. Cai, Y., Y. Benno, M. Ogawa, and S. Kumai (1999): Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. *J. Dairy Sci.* 82:520-526.
11. Chamberlain, D. G., and J. Quig (1987): The effect of the rate of addition of formic acid and sulphuric acid on the ensilage of perennial ryegrass in laboratory silos. *J. Sci. Food Agric.* 38:217-228.
12. Contreas-Govea, F., and R. Muck R. (2009): Microbial inoculants for silage. 2006. Focus on Forage. 8 (4):1-4. College of Agricultural life sciences, Univ. of Wisconsin, USA. Web source: http://www.uwex.edu/CES/crops/uwforage/Microbial_Inoculants-FOF.pdf (assessed on 8th August, 2009).
13. Crawshaw, R., D. M. Thorne, and R. H. Llewelyn (1981): The effect of formic and propionic acids on the aerobic deterioration of grass silage in laboratory units. *J. Sci. Food Agric.* 31: 685-694.
14. Danner, H., M. Holzer, E. Mayrhuber, and R. Braun (2003): Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:562-567.
15. Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink, and P. G. Van Wikselaar (2001): Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Sci.* 56:330-343.
16. Drysdale, A. D. (1987): Acids and salts as products to improve silage preservation. Pages 37-46 in *Developments in Silage*. J. M. Wilkinson, and B. A. Stark, ed. Chalcombe Publications, Marlow, UK

17. *Dorđević, N., Koljajić, V., Šestić, S. (1994):* Mogućnost i perspektive korišćenja mlečnih inokulanata pri siliranju hrane. XI inovacije u stočarstvu. Biotehnologija u stočarstvu. Broj 1-2, str. 152-159.
18. *Dorđević, N., Grubić, G., Pavličević, A., Koljajić, V. (2001):* Uticaj bakterijsko-enzimskog inokulanta na hemijski sastav i kvalitet silaža lucerke i krompira. Arhiv za poljoprivredne nauke, 62, 216-217: 85-92.
19. *Dorđević, N., Grubić, G., Dinić, B., Negovanović, D. (2004a):* Uticaj inokulacije na hemijski sastav i kvalitet silaža od soje i kukuruza. Biotehnologija u stočarstvu. 20, 1-2: 141 – 146.
20. *Dorđević, N., Adamović, M., Grubić, G., Bočarov-Stančić, A. (2004b):* Uticaj organozeolita i uree na hemijski sastav i kvalitet silaže cele biljke kukuruza. Biotehnologija u stočarstvu. 20, 5-6: 187-194.
21. *Dorđević, N., Grubić, G., Adamović, M., Koljajić, V. (2004c):* The influence of min-a-zel plus and maize meal addition on quality of lucerne silage. Journal of Agricultural sciences. 49, 2: 187-192.
22. *Dorđević, N., Grubić, G., Adamović, M. (2005):* The influence of zeolite addition on quality of fresh lucerne silage. Acta agriculturae Serbica , 10, 19: 25-31.
23. *Dorđević, N., Grubić, G., Dinić, B., Lević, J., Stojanović, B., Božičković, A. (2010):* Animal feed quality – past and present. XII international Symposium on Forage Crops of Republika of Serbia - Forage Crops Basis of the Sustainable Animal Husbandry Development. Biotechnology in Animal Husbandry, 26, book 1, 249-260.
24. *Dorđević, N., Grubić, G., Stojanović, B., Božičković, A., Ivetić, A. (2011a):* Savremene tehnologije siliranja kukuruza i lucerke. XXV savetovanje agronoma, veterinara i tehnologa, 23-24.02.2011, Institut PKB Agroekonomik, Beograd. Zbornik naučnih radova, 17, 3-4: 27-35.
25. *Dorđević, N., Grubić, G., Dinić, B., Stojanović, B., Božičković, A. (2011b):* Forage quality as a part of a modern concept of ruminant nutrition. International Scientific Symposium of Agriculture „Agrosym Jahorina 2011“, Jahorina, 10-12. November. Proceedings, 218-225.
26. *Dorđević, N., Grubić, G., Dinić, B., Stojanović, B., Božičković, A. (2011c):* The Influence of compression level and inoculation on biochemical changes in lucerne silages. Journal of Agricultural Sciences, 56, 1: 15-23.
27. *Dorđević, N., Grubić, G., Adamović, M., Nježić, D., Nježić, A., Stojanović, B. (2006):* The influence of addition of zenural 70, urea and min-a-zel plus on chemical composition and quality of whole maize plant silage. Journal of Agricultural Sciences. 51, 1: 71-78.
28. *Dorđević, N., Dubljević, R., Damjanović, M., Mitrović, D., Milenković, N. (2012a):* The contemporary methods in the production of maize silage. The First International Symposium on Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Serbia, 08-10. November, 2012. Proceedings, pp. 480-487.
29. *Djordjevic, N., Grubic, G., Dinic, B., Stojanovic, B., Bozickovic, A., Ivetic, A., Milenkovic, N. (2012b):* Modern procedures to increase and preserve the nutritional value of the corn silage. Third International Scientific Symposium „Agrosym 2012“, Bosnia nad Hercegovina, November 15 - 17, 2012. Book of proceedings, pp. 460-465.

30. Filya, I. (2003): The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal digestibility of wheat, sorghum and maize silages. *J. Appl. Microbiol.* 95:1080-1086.
31. Filya, I. (2004): Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage at four stages of maturity. *Ani. Feed Sci. Tech.* 116:141-150.
32. Filya, I., E. Sucu, and A. Karabulut (2004): The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. *J. Appl. Microbiol.* 97:818-826.
33. Gonzalez, G., and A. A. Rodriguez (2003): Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability, and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. *J. Dairy Sci.* 86:926-933.
34. Henderson, A.R., J.M. Ewart, and G.M. Robertson (1979): Studies on the aerobic stability of commercial silages. *J. Sci. Food and Agric.* 30:223-230.
35. Hu, W., R.J. Schmidt, E.E. McDonell, C.M. Klingerman, and L. Kung Jr. (2009): The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *J. Dairy Sci.* 92:3907-3914.
36. Inglis, G.D., L.J. Yanke, L.M. Kawchuk, and T.A. McAllister (1999): The influence of bacterial inoculants on the microbial ecology of aerobic spoilage of barley silage. *Can. J. Microbiol.* 45:77-87.
37. Ivetić, A., Grubić, G. (2007): Aflatoksin. VI Stručna konferencija Saveza zdravstvenih radnika Vojvodine, Tara, 19-22.04.2007.
38. Jonsson, A. (1989): The role of yeasts and clostridia in silage deterioration. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Report 42. Uppsala, Sweden.
39. Keady, T. W. J., and J. J. Murphy (1996): Effect of inoculant treatment on ryegrass silage fermentation, digestibility and intake, and on animal performance. *Ir. J. Agric. Food Res.* 35:141-150.
40. Kim, S. C., and A. T. Adesogan (2006): Influence of ensiling temperature, stimulated rainfall and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 89:3122-3132.
41. Kitamoto, H. K., S. Ohmomo and T. Nakahara (1993): Selection of killer yeasts (*Kluyveromyces lactis*) to prevent aerobic deterioration in silage making. *J. Dairy Sci.* 76: 803-811.
42. Kung, L., Jr. (2005): Aerobic stability of silages. Proc. of the conference on silage for dairy farms. Harrisburg, PA.
43. Kung, L., Jr., J. R. Robinson, N. K. Ranjit, J. H. Chen, C. M. Golt and J. D. Pesek. (2000): Microbial populations, fermentation end-products and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *J. Dairy Sci.* 83:1479-1486.
44. Kung, L., Jr., M. R. Stokes, and C. J. Lin. *Silage additives* (2003): Pages 305-360 in *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, J. H. Harrison, ed. Am. Soc. Agron., Madison WI, USA.
45. Kunkle, W. E., C. G. Chambliss, A. T. Adesogan, and M. B. Adjel (2006): Silage harvesting, storing and feeding. University of Florida (UF)/ The institutes of Food and Agric. Sci. (IFAS). SS-AGR-177.

46. Lu, H.-Z., Y. Cai, Z.-W. Wu, J.-H. Jia, and F.-Y. Bai (2004): *Kazachstania aerobia* sp.nov., an ascomycetous yeast species from aerobically deteriorating corn silage. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:2431-2435.
47. McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron (1991): *The biochemistry of silage*. Second Edition. Chalcombe Publications, Bucks, England.
48. Middelhoven, W. J., C. P. Kurtzman, and A. V. Martini (2000): *Saccharomyces bulderi* sp. nov., a yeast that ferments gluconolactone. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 77:223-228.
49. Muck, R. E. (1988): Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Sci.* 71:2992-3002.
50. Muck, R. E., and B. J. Holmes (2000): Factors affecting bunker silo densities. *Appl. Eng. Agric.* 16:613-619.
51. Muck, R.E., Moser, L.E., Pitt, R.E. (2003): Chapter 6: Postharvest factors affecting ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E. and Harrison, J.H. (Eds.) *Silage Science and Technology*. Agronomy Monograph 42. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, USA, pp. 251-304.
52. Oude Elferink, S. J. W. H., J. Krooneman, J. C. Gottschal, S. F. Spoelstra, F. Faber and F. Driehuis (2001): Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:125-132.
53. Pahlow, G. (1981): Estimation of the aerobic stability of silages by measuring the biological oxygen demand (B. O. D.). 6th Silage Conference, Edinburgh, September 1981, pp. 65-66.
54. Pahlow, G., and H. Honig (1994): The role of microbial additives in the aerobic stability of silage. Pages in Workshop proceedings of the 15th general meeting of the European Grassland Federation Wageningen, The Netherlands, June 1994.
55. Pahlow, G., and R. E. Muck (2009): Managing for improved aerobic stability. XVth international silage conference proceedings. July 27-29, Madison, Wisconsin, USA.
56. Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra (2003): Microbiology of ensiling. Pages 31-94 in *Silage Science and technology*, First Edition. D. R. Buxton, R. E. Muck RE, and J. H. Harrison, ed. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA.
57. Pitt, R. E., R. E. Muck, and N. B. Pickering (1991): A model of aerobic fungal growth in silage. II. Aerobic stability. *Grass Forage Sci.* 46:301-312.
58. Ranjit, N. K., and L. Kung, Jr. (2000): The effect of *Lactobacillus buchneri*, *L.plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83:526-535.
59. Selwet, M. (2008): Effect of organic acids on numbers of yeasts and mould fungi and aerobic stability in the silage of corn. *Pol. J. Vet. Sci.* 11:119-123.
60. Spoelstra, S. F., Courtin, M. G. and van Beers, J. A. C. (1988): Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. *J. Agric. Sci., Camb.* 111:127-132.
61. Tabacco, E., S. Piano, L. Cavallarini, T. F. Bernardis and G. Borreani (2009): Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *J. Appl. Microbiol.* ISSN 1364-5072.

62. Weinberg, Z. G., and G. Ashbell (1994): Changes in gas composition in corn silages in bunker silos during storage and feedout. *Can. Agric. Eng.* 36:155-158.
63. Weinberg, Z. G., and R. E. Muck (1996): New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiol Rev.* 19:53-68.
64. Weinberg, Z. G., G. Ashbell, Y. Hen, A. Azrieli, G. Szakacs, and I. Filya (2002): Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Indus. Microbiol. Biotechnol.* 28:7-11.
65. Weinberg, Z. G., G. Ashbell, Y. Hen, and A. Azrieli (1993): The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 75:512-518.
66. Weinberg, Z. G., G. Ashbell, Y. Hen, and A. Azrieli (1995): The effect of a propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling on the aerobic stability of wheat and sorghum silages. *J. Industrial Microbiol.* 15:493-497.
67. Weinberg, Z. G., G. Szakacs, G. Ashbell, and Y. Hen (1999): The effect of *Lactobacillus buchneri* and *L. plantarum*, applied at ensiling, on the ensiling fermentation and aerobic stability of wheat and sorghum silages. *J. Industrial Microbiol. Biotechnol.* 23:218-222.
68. Weinberg, Z. G., Y. Chen, and R. Solomont (2009): The quality of commercial wheat silages in Israel. *J. Dairy Sci.* 92:638-644.
69. Weinberg, Z. W., and G. Ashbell (2003): Engineering aspects of ensiling. *Biochem. Engin. J.* 13:181-188.
70. Weinberg, Z.G., G. Ashbell, and Y. Chen (2002): Aerobic stability of various silages. Abstracts of presentations held at the 14th Annual Meeting of the Israeli Ruminant Sciences, February 18-20, Ashkelon, Israel. Pp. 91-92.
71. Wofford, M. K. (1990): The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68:101-116.
72. Woolford, M. K., H. Honig and J. S. Fenlon (1977): Untersuchungen ueber aerobe Umsetzungen in Silage mit Hilfe einer Labortechnik. *Das wirtschaftseigene Futter* 23:10-22.
73. *Modern Plastic Encyclopedia* (1981). Vol. 58. Mc Hill Inc., New York, NY.

UDC:636.085.52

Review paper

IMPORTANCE OF AEROBIC STABILITY IN SILAGES

*A. Ivetić, N. Đorđević, D. Radin, P. Stojić, G. Grubić, B. Stojanović**

Summary

Aerobic stability is a term that indicates the length of the time that silage remains cool and does not spoil after it is exposed to air. Therefore, rapid removal of air from forage mass and prevention of air infiltration into the silage during storage and feed out are the important factors that determine the duration of the silage aerobic stability. The measurement of CO₂ production, separately or in combination with other measurements such as temperature, pH, lactic acid and volatile fatty acids and microbial examination, can serve as a reliable laboratory method to determine the duration of silages aerobic stability in silages. This paper work has aim to point on the importance of determination the duration of aerobic stability of silages, because quality changes and losses in the case of aerobic degradation.

Key words: silage, aerobic stability, lactic acid bacteria, yeasts, molds.

Acknowledgement

The authors are grateful to prof.dr. Z. W. Weinberg, Volcani center,Israel, for all support in preparing this review paper.

* Alekandra Ivetić M.Sc. spec., Nenad Đorđević, Ph.D. professor, Dragoslava Radin, Ph.D. professor, Goran Grubić, Ph.D. professor, Bojan Stojanović, Ph.D. docent, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun, Republic of Serbia; Petar Stojić, Ph.D., Institute PKB Agroekonomik, Belgrade-Padinska Skela, Republic of Serbia.

E-mail: sandra@agrif.bg.ac.rs

