



Ompressning av inplastat vallfoder – från rundbal till småbal

Rebaling of wrapped forage –
from round bale to small bale



av

Eva Andersson

**Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Sveriges lantbruksuniversitet**

***Department of Animal Nutrition and Management
Swedish University of Agricultural Sciences***

**Examensarbete 377
30 hp A2E-nivå**

***Degree project 377
30 credit A2E-level
Uppsala 2012***



Ompressning av inplastat vallfoder – från rundbal till småbal

Rebaling of wrapped forage –
from round bale to small bale

av

Eva Andersson

Handledare/ Supervisor: Cecilia Müller

Examinator/ Examiner: Rolf Spörndly

Nyckelord/ Key words Hösilage, ensilage, aerob stabilitet, propionsyra,
natriumbenzoat

**Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Sveriges lantbruksuniversitet**

**Examensarbete 377
30 hp A2E-nivå
Kurskod EX0552**

***Department of Animal Nutrition and Management
Swedish University of Agricultural Sciences***

***Degree project 377
30 credit A2E-level
Course code EX0552
Uppsala 2012***

Innehållsförteckning

Sammanfattning	1
Introduktion.....	2
<i>Syfte.....</i>	<i>3</i>
Litteraturstudie	4
<i>Ensileringsprocessen</i>	<i>4</i>
<i>Inläggningsfas.....</i>	<i>4</i>
<i>Aktiv fermentationsfas.....</i>	<i>4</i>
<i>Stabil fas.....</i>	<i>5</i>
<i>Uttagsfas</i>	<i>5</i>
Aerob stabilitet	5
Förtorkning.....	7
Tillsatsmedel	8
<i>Tillsats av mjölksyrabakterier.....</i>	<i>8</i>
<i>Tillsats av syror.....</i>	<i>9</i>
<i>Tillsats av melass</i>	<i>10</i>
Mikroorganismer som kan utgöra hygieniska problem i vallfoder	11
<i>Mögel</i>	<i>11</i>
<i>Jästsvarpar</i>	<i>14</i>
<i>Bakterier</i>	<i>15</i>
Hygienisk kvalitet.....	16
Egen studie	17
Material/metoder.....	18
<i>Pressning av rundbalar.....</i>	<i>18</i>
<i>Tillsats av ensileringsmedel.....</i>	<i>19</i>
<i>Ompressning till småbalar.....</i>	<i>19</i>
<i>Lagring och balöppning.....</i>	<i>19</i>
<i>Temperaturmätning.....</i>	<i>20</i>
<i>Mikrobiologisk analys.....</i>	<i>20</i>
<i>Kemisk analys</i>	<i>20</i>
Statistisk analys.....	21
Resultat.....	21

<i>Kemisk sammansättning för grönmasseprover</i>	<i>21</i>
<i>Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i rundbalshösilage vid ompressning</i>	<i>22</i>
<i>Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i fyrkantbalshösilage vid balöppning.....</i>	<i>23</i>
<i>Kemisk och mikrobiologisk sammansättning för kvarvarande rundbalar.....</i>	<i>24</i>
<i>Synligt mögel.....</i>	<i>26</i>
<i>Temperaturmätningar och aerob stabilitet.....</i>	<i>26</i>
<i>Mått och vikter vid balöppningen.....</i>	<i>29</i>
Diskussion	30
<i>Kemiska och mikrobiella analyser</i>	<i>30</i>
<i>Vid ompressning.....</i>	<i>30</i>
<i>Vid balöppning.....</i>	<i>31</i>
<i>Jämförelser med andra genomförda studier</i>	<i>33</i>
<i>Temperatur och aerob stabilitet</i>	<i>33</i>
<i>Mått och vikter vid balöppningen.....</i>	<i>35</i>
<i>Täthet.....</i>	<i>36</i>
Slutsats.....	36
Abstract	36
Acknowledgements.....	38
Referenser	38

Sammanfattning

Många stall för hästar har bara ett fåtal djur och är ofta inte mekaniserade i samma utsträckning som stall för andra lantbruksdjur. Detta gör att det finns en efterfrågan från hästägare på ensilage eller hösilage i mindre balar, dels för att fodret ska hinna konsumeras av djuren innan det förstörs av den aeroba förskämningen, och dels för att mindre balar är lättare att hantera för hand. Pressningen av småbalar i fält är dock mer väderberoende och mer tidskrävande än att pressa storbalar, varför vissa foderproducenter istället väljer att pressa storbalar vid skörden som efter en tids lagring öppnas och pressas om till mindre balar innan försäljning. Det är dock i dagsläget oklart hur fodrets sammansättning påverkas av ompressningen. Syftet med detta examensarbete var därför att studera vilken effekt ompressning hade på kemisk och mikrobiologisk sammansättning i hösilage, samt att undersöka vilken effekt ett syrabaserat tillsatsmedel hade på konserveringsresultat och aerob lagringsstabilitet.

För att undersöka dessa frågeställningar producerades totalt 13 rundbalar från samma vallskörd från en gräsvall bestående av huvudsakligen timotej och ängsvingel. Grönmassan i sex av rundbalarna behandlades med tillsatsmedlet Addcon Kofa grain pH 5[®] och i sju av rundbalarna tillsattes inget tillsatsmedel (kontroll). Efter cirka sex månaders lagring pressades tre rundbalar med tillsatsmedlet och tre rundbalar utan tillsatsmedel (kontroll) om. De ompressade och inplastade fyrkantbalarna lagrades sedan tillsammans med de kvarvarande rundbalarna i stack utomhus i 10 veckor mellan den 17/1 och den 26-27/3 2012. Därefter öppnades nio fyrkantbalar med tillsatsmedel, nio fyrkantbalar i kontrollbehandlingen samt tre rundbalar ur vardera behandlingen för provtagning och mätning av aerob stabilitet. Den aeroba stabiliteten följdes genom att balarnas kärntemperatur mättes dagligen i 14 dagar. Prover för mikrobiologiska och kemiska analyser togs med ensilageborr vid ompressning samt vid balöppning. Grönmasseprover för analyser togs i fält vid skörd av rundbalarna.

Resultaten visade att både de ompressade småbalarna och rundbalarna höll en godtagbar hygienisk kvalitet med låga till normala halter av mögel, klostridier och enterobakterier. Dock var jästhalterna högre än önskvärt för både småbalar samt de rundbalar som inte pressades om, utan lagrades tillsammans med fyrkantbalarna. Detta har dock med största sannolikhet ingen negativ effekt på djurhälsan vid utfodring, men kan potentiellt förkorta den aeroba stabiliteten hos fodret. Tillsatsmedlet hade en hämmande effekt på mjölksyrabakterier, och gav ett hösilage med lägre pH, lägre halter laktat, ammoniumkväve och etanol. Tillsatsmedlet gav även lägre halter jästsvampar än kontrollbehandlingen.

Den aeroba stabiliteten var godtagbar, det tog 48 timmar för fyrkantbalarna samt 24 timmar för rundbalarna att nå 3 grader över omgivande temperatur när balarnas kärntemperatur jämfördes med omgivande dygnsmedeltemperatur. Ordentlig varmgång skedde endast i endast en småbal i kontrollbehandlingen, varför den aeroba stabiliteten ändå bedöms som relativt god.

Slutsatsen av detta försök var att det är möjligt att producera ett hösilage av fullt godtagbar hygienisk kvalitet genom ompressning från storbal till småbal. Syrabaserade tillsatsmedel verkar ha en hämmande effekt på tillväxt av oönskade mikroorganismer i hösilage, varför det

kan vara motiverat att använda denna tillsats vid ompressning för att motverka den negativa effekten den extra syreexponeringen vid ompressning kan ha på den hygieniska kvaliteten.

Produktionskostnaderna för det ompressade hösilaget är märkbart högre än kostnaderna för hösilage i rundbal som ej pressats om, men detta behöver inte utgöra ett hinder förutsatt att betalningsvilja finns hos konsumenten.

Introduktion

En god hygienisk kvalitet på grovfodret är av stor vikt för hälsa och välmående hos hästar och idisslare. Detta innebär ett foder som är fritt från oönskade mikroorganismer, såväl de som inte är direkt skadliga för djuren, men kan inverka negativt på fodrets lagringsstabilitet, och från mikroorganismer som kan ha skadliga effekter på djur, till exempel mögel och patogena bakterier (Gleerup, 2000).

Generellt skiljer sig besättningsstrukturen mellan hästar och andra lantbruksdjur. Många stall för hästar inhyser bara ett fåtal djur (Enhäll *et al.*, 2012) och är ofta inte heller mekaniserade i samma utsträckning som stallar för andra lantbruksdjur (Holmquist, 2000). Detta kan leda till en del problem vid hantering av grovfoder i storbalar eller plan- eller tornsilo, eftersom dessa utfodringsystem inte är anpassade till små besättningar. Dels kan det vara svårt att hantera dessa fodertyper utan maskiner, vilket som nämnts ovan många mindre häststall saknar. Dessutom kan konsumtionshastigheten bli för låg om besättningsstorleken är liten (Holmquist, 2000). En låg konsumtionshastighet gör att fodret utsätts för en aerob miljö under en tid som i vissa fall är så lång att en förskämningssprocess tar fart. Denna process innebär en tillväxt av oönskade mikroorganismer, till exempel mögel, vilket i värsta fall kan ha en negativ påverkan på djurens hälsa och välbefinnande (Scudamore och Livesey, 1998). Dessa faktorer gör att det finns en efterfrågan på mindre balar, framförallt från hästägare, eftersom dessa balar är lättare att hantera och kan utfodras i sin helhet innan den aeroba förskämningen hunnit förstöra fodret, även om man har ett mindre stall med endast ett fåtal hästar (Holmquist, 2000).

Att pressa småbalsensilage har dock sina nackdelar jämfört med storbalsensilering. Småbalspressarna har en lägre skördekapacitet än storbalspressarna (Blank *et al.*, 2009). Detta kan göra en maskinkedja med småbalspress mer väderberoende än en maskinkedja med storbalspress, eftersom man behöver längre tid för att skörda en given areal. Detta gör att pressning av småbalar i fält är mer väderberoende, eftersom det tar längre tid att bärga grönmassan från fältet jämfört med produktion av storbalar. Dessutom är själva ihopsamlingen och transporten av småbalar från fält mindre effektiv än i fallet med storbalar (Sundberg, 1999). Vissa foderproducenter väljer därför att skörda vallen i storbalar och därefter pressa om storbalsensilage till småbalar för försäljning framförallt till hästägare.

Studier har visat att rundbalsensilage skiljer sig från ensilage i tornsilo eller plansilo vad gäller pH och mängd mjölksyrabakterier. Eftersom torrsbstans (ts)-halten i balar generellt är högre än i olika typer av silor blir fermentationsprocessen inte lika intensiv, med ett högre slutligt pH-värde som följd (Hendersson *et al.*, 1979). Field och Wilman (1996) visade även

att det vid samma ts-halt sker en mindre intensiv fermentation i ensilage som konserverats i balar jämfört med silor, men drar slutsatsen att detta inte nödvändigtvis har en negativ effekt på fodret, utan att rundbalsensilering delvis ska ses som en annan typ av konservering än ett blötare ensilage i silo. I ensilage är det framförallt den anaeroba miljön i kombination med ensileringens fermentationsprodukter (inklusive det lägre pH-värdet) som hämmar tillväxten av oönskade mikroorganismer (McDonald *et al.*, 1991). Hösilage har högre ts-halt och lägre innehåll av fermentationsprodukter, och det är därför viktigt att bibehålla anaeroba förhållanden för att undvika tillväxt av mögel, speciellt vid högre ts-halter (McNamara *et al.*, 2002). Jäst och mögel är mindre känsliga för en låg vattenaktivitet än till exempel bakterier. Detta gör att jäst kan tillväxa även vid höga ts-halter (Pitt *et al.*, 1991). Även mögel kan tillväxa vid höga ts-halter förutsatt att syre finns tillgängligt, eftersom mögel endast kan tillväxa aerobt (McDonald *et al.*, 1991). Bakterier, och då även mjölksyrabakterier, hämmas däremot betydligt mer av en hög ts-halt, vilket ger jäst- och mögelsvamparna en konkurrensfördel i torra ensilage (McDonald *et al.*, 1991).

Ensilage med högre halter jäst- och mögelsvampar har generellt en kortare aerob stabilitet än ensilage med låga halter av dessa oönskade mikroorganismer (McDonald *et al.*, 1991). I och med att jäst och mögel gynnas av en hög ts-halt skulle detta kunna innebära att ett rundbalsensilage med en hög ts-halt är känsligare för syreexponering, det vill säga har en kortare aerob stabilitet än ett blötare ensilage, vilket påvisades av Woolford (1990). Hendersson *et al.* (1979) fann dock i sin studie inga definitiva statistiska samband mellan ts-halt och aerob stabilitet. Många hästägare efterfrågar ett ensilage med en hög ts-halt, så kallat hösilage (Jaakkola *et al.*, 2010). Ett sådant foder skulle alltså kunna vara ännu känsligare för syreexponering än ett blötare ensilage, och därmed möjligen även vara mer känsligt för ompressning eftersom syreexponering då är en nödvändighet.

Tillsats av mjölksyrabakterier har visat sig ha en mycket begränsad effekt när det gäller att motverka tillväxt av jäst och mögel i ensilage, eftersom mjölksyra har en mycket liten hämmande effekt på svampar (Woolford, 1975). Dock har det visat sig att andra organiska syror, som propionsyra, ättiksyra och myrsyra har en betydligt större hämmande effekt på jäst och mögel (McDonald *et al.*, 1991; Danner *et al.*, 2003), varför tillsats av syrabaserade tillsatsmedel kan vara att föredra, för att undvika tillväxt av dessa oönskade mikroorganismer under lagring och efter öppning av balen eller silon. Andra studier har visat att tillsats av propionat kan öka den aeroba stabiliteten även i ensilage med hög ts-halt (Jaakkola *et al.*, 2010). Tillsats av ett syrabaserat tillsatsmedel skulle alltså potentiellt kunna hämma tillväxten av jäst och mögel, och därmed förlänga den aeroba stabiliteten (Danner *et al.*, 2003).

Syfte

Målet med detta examensarbete var att undersöka hur mikrobiologisk och kemisk sammansättning i hösilage påverkades av ompressning från stor rundbal till små fyrkantsbalar, samt vilken inverkan ett syrabaserat tillsatsmedel hade vid denna ompressning. Syftet var även att undersöka om den aeroba lagringsstabiliteten hos de ompressade balarna blev kortare jämfört med storbalarna.

Litteraturstudie

Ensileringsprocessen

Inläggningsfas

Inläggningsfasen pågår omedelbart efter pressning och inplastning av grönmassan och denna fas i ensileringsprocessen kan fortsätta upp till flera dagar om ensilaget är otillräckligt packat (Kung, 2001). Så länge syre finns tillgängligt fortgår växtcellernas andning och aeroba mikroorganismer kan tillväxa, till exempel olika arter av jäst, mögel och aeroba bakterier. Båda dessa processer förbrukar det syre som finns inuti balen, men en bal som inte är tillräckligt sammanpressad innehåller mer syre, varför dessa aeroba processer kan fortgå en längre tid än i ett mer hårdpressat ensilage. När syrekoncentrationen sjunker minskar växternas cellandning och avtar så småningom helt (Henderson, 1993; Weinberg och Muck, 1996). Syret i silon eller balen förbrukas snabbt; endast 0,5 % av syret återstår 30 minuter efter att silon förseglats (Woolford, 1990).

Aktiv fermentationsfas

Under den aktiva fermentationsfasen har syrekoncentrationen blivit så låg inuti balen att aeroba mikroorganismer hämmas, och istället börjar fakultativt och obligat anaeroba mikroorganismer tillväxa. Under gynnsamma ensileringsförhållanden domineras den anaeroba mikrobfloran av mjölksyrabakterier. Dessa bildar laktat, vilket sänker pH-värdet och på så sätt hämmar andra anaeroba mikroorganismer, som klostridier och enterobakterier samt inaktiverar växtenzymerna (Weinberg och Muck, 1996). Denna pH-sänkning gynnar mjölksyrabakterierna i och med att de har ett lägre pH-optimum än klostridier och enterobakterier och därför klarar att tillväxa vid ett lägre pH-värde än dessa bakteriesläkten (McDonald *et al.*, 1991). Till slut avstannar pH-sänkningen i ensilaget. Detta sker i ett blötare ensilage framförallt genom att pH-värdet blir så lågt att det hämmar även mjölksyrabakteriernas tillväxt (Kung, 2001). I ett torrare ensilage är det framförallt tillgången på vatten samt i vissa fall lösliga kolhydrater (water soluble carbohydrates, WSC) i grönmassan som avgör hur mycket mjölksyrabakterierna kan tillväxa. Då är det istället när mjölksyrabakterierna konsumerat det tillgängliga sockret respektive när vattentillgången inte räcker till för fler mikroorganismer som mjölksyrabakterierna hämmas och fermentationen avstannar (McDonald *et al.*, 1991). Jaakkola *et al.* (2010) såg i sin studie att WSC-innehållet påverkades mycket lite av ensileringsprocessen i ensilage med hög ts-halt. Detta tyder på att vattenaktiviteten vid riktigt höga ts-halter (64-65%) är så låg att mikroorganismerna hämmas till den grad att ingen uttalad fermentation alls äger rum (Jaakkola *et al.*, 2010).

Om ensileringsförhållandena inte är optimala kan istället oönskade mikroorganismer få övertaget, vilket leder till ett felfermenterat foder. Detta kan bero på att pH-sänkningen inte blir tillräckligt stor eller går för långsamt, till exempel om fodret har en hög buffertkapacitet eller om grönmassan har för låg halt av mjölksyrabakterier. Då kan istället enterobakterier och klostridier tillväxa (McDonald *et al.*, 1991).

Stabil fas

Under den stabila fasen sker, under förutsättning att plasten eller silon behålls lufttät så att inte ensilaget kommer i kontakt med syre, inte speciellt mycket alls med fodret. pH-värdet hålls relativt stabilt och inte heller mycket händer med mängden mjölksyrabakterier, enterobakterier, klostridier, jäst eller mögel (Weinberg och Muck, 1996; Kung, 2001). Dock kan en ändring av artsammansättning ske; för mjölksyrabakterierna sker en övergång från homofermentativa arter, som till exempel *Lactobacillus plantarum* och *L. curvatus* till heterofermentativa arter, som till exempel *L. buchneri* och *L. brevis*. Vad gäller jästsvampar ändras artsammansättningen från aeroba arter som till exempel *Cryptococcus spp.* till anaeroba arter som till exempel *Candida spp.* och *Sacharomyces cerevisiae* (McDonald *et al.*, 1991).

Uttagsfas

Denna fas pågår mellan att balen eller silon öppnas till dess att fodret konsumerats av djuret. När ensilaget åter utsätts för syre börjar aeroba mikroorganismer tillväxa (Woolford, 1990; Weinberg och Muck, 1996). I normalfallet består denna förskämningsflora till en början framförallt av olika jästarter. Vissa av dessa arter har förmågan att använda laktat som ett näringssubstrat, till exempel *Candida spp.*, vilket gör att pH-värdet ökar. Detta banar i sin tur vägen för andra aeroba mikroorganismer, till exempel olika mögelarter, som ytterligare förändrar fodrets hygieniska kvalitet. Den aeroba nedbrytningen av fodret leder dessutom till en ökad värmeproduktion som orsakar varmgång i fodret, vilket dels kan gynna tillväxten av *Bacillus spp.* och även i svåra fall ge upphov till Maillardreaktioner (McDonald *et al.*, 1991). Denna typ av reaktioner sker mellan aminosyror och reducerande socker och minskar djurets förmåga till att ta upp fodrets aminosyror (Cheeke och Dierenfeld, 2010). Fodervärdet sänks under denna förskämningsprocess även genom att mikroorganismerna använder WSC som energisubstrat (McDonald *et al.*, 1991). Hur snabbt denna förskämningsprocess går, det vill säga hur länge en ensilagebal kan vara öppen innan fodret är otjänligt, påverkas av en rad faktorer, och benämns aerob stabilitet (Danner *et al.*, 2003).

Aerob stabilitet

Aerob stabilitet är ett mått på hur länge ensilage kan utsättas för syre innan förskämningsprocessen startar. Ofta mäts detta som den tid en bal eller silo kan vara öppen innan temperaturen i ensilaget börjar öka jämfört med den omgivande temperaturen (Danner *et al.*, 2003). European Food Safety Authority (EFSA) (2011) valde i studier att anse att ett ensilage inte längre är stabilt när fodrets temperatur översteg omgivningens temperatur med mer än 3°C.

För att testa effekten av tillsats av *L. buchneri* till ensilage genomförde EFSA (2011) studier med laboratoriesilor där olika grödor ensilerades, och där man tillsatte en lösning med $1,0 \times 10^8$ cfu av *L. buchneri* per kg foder, och som kontroll tillsatte samma mängd vatten. Man fann att ensilaget som inokulerats med *L. buchneri* skiljde sig från kontrollensilaget för de flesta variabler, bland annat var den aeroba stabiliteten längre. Därför drog man slutsatsen att *L. buchneri* kan ha en positiv effekt på aerob stabilitet i ensilage (EFSA, 2011), antagligen på grund av den ökade acetatkoncentrationen, som verkar hämmande på jäst och mögel (Danner *et al.*, 2003).

Danner *et al.* (2003) testade dels vilken effekt inokulering med olika arter av mjölksyrabakterier hade på aerob stabilitet, dels hur den aeroba stabiliteten påverkades av tillsats av olika ämnen till ensilage. De ämnen som testades var buffrad acetat, ren acetat, butyrat, 1,2-propandiol, 1-propanol, mannitol och fruktos. Resultaten visade att heterofermentativa mjölksyrabakterier förlängde den aeroba stabiliteten medan tillsats av homofermentativa mjölksyrabakterier istället producerade ensilage med kortare aerob stabilitet, jämfört med kontrollensilage. Både acetat och butyrat visade sig markant förlänga den aeroba stabiliteten. Dock drog författarna slutsatsen att butyrat i ensilage är en produkt av klostridiefiermentation, och därför inte är önskvärd i ensilage. 1,2-propandiol och 1-propanol hade en liten positiv effekt när det gällde att förlänga den aeroba stabiliteten, men endast då de tillsattes i koncentrationer som var högre än vad som normalt påträffas i ensilage (Danner *et al.*, 2003). Danner *et al.* (2003) satte gränsen för när fodret inte längre var stabilt vid 2°C över omgivande temperatur.

Anledningen till att fodrets temperatur ökar är den värme som bildas som en biprodukt av aeroba mikroorganismers metabolism. Den aeroba metabolismen där WSC eller organiska syror bryts ned till koldioxid och vatten genererar mer energi i form av ATP än anaerob metabolism (fermentation) och denna energi avgas som värme (McDonald *et al.*, 1991). I den tidiga aeroba förskämningen är det främst jästsvampar som ger upphov till varmgång av fodret. Vissa jästarter, till exempel inom släktet *Candida spp.* kan använda laktat som ett energisubstrat. Detta innebär att när dessa arter tillväxer minskar laktatkoncentrationen, och därmed höjs pH-värdet. Detta banar i sin tur vägen för andra aeroba organismer, som inte är lika syratoleranta som jästsvampar, till exempel mögel och vid högre temperaturer även *Bacillus spp.* under aeroba förhållanden. Dessa mikroorganismer bidrar till ytterligare temperaturökning av fodret, nedbrytning av WSC, cellulosa, hemicellulosa och proteiner, vilket sänker fodrets näringsvärde (McDonald *et al.*, 1991).

Wyss *et al.* (1991) undersökte vilken effekt tillfällig aerob stress efter ensilering hade på den hygieniska kvaliteten hos förtorkat gräsenilage. Man fann att kortvarig (1 dygn) syreexponering efter ensilering hade mycket liten effekt på mikrobiell tillväxt eller aerob stabilitet, men att ts-förlusterna ökade vid längre syreexponering i samband med uttag av fodret ur silon. Man fann även att tillsats av natriumsorbit samt inokulering med laktat- och propionatbildande bakterier gav ett ensilage med längre aerob stabilitet (Wyss *et al.*, 1991). Författarna drog slutsatsen att den längre aeroba stabiliteten berodde på den snabbare pH-minskningen samt det propionat som bildades i det inokulerade ensilaget (Wyss *et al.*, 1991).

Umana *et al.* (1991) har visat att ett välensilerat foder där mjölksyrafermentation dominerat, med högt laktatinnehåll, högt WSC-innehåll, lågt pH-värde och lågt innehåll av ammoniumkväve faktiskt till och med kan ha en kortare aerob stabilitet än mindre välensilerade foder (Umana *et al.*, 1991). I studien av Umana *et al.* (1991) jämförde man direktskördat och förtorkat ensilage med eller utan tillsats av melass, mjölksyrabakterier, eller både melass och mjölksyrabakterier. Vid mätningarna av aerob stabilitet blandade man de olika ensilagen med mald majs, sojamjöl och drank för att efterlikna ett fullfoder och proverna inkuberades i polystyrenbehållare vid 37°C varvid temperaturen avlästes vid upprepade tillfällen under 72 timmar. Man fann att ensilage med tecken på en mjölksyradominerad fermentation hade en kortare aerob stabilitet än ensilage med tecken på klostridietillväxt (Umana *et al.*, 1991). En orsak till detta är att laktat har en begränsad hämmande effekt på jästsvampar och mögel, och att framförallt jäst klarar att tillväxa även vid låga pH-värden (Woolford, 1975; McDonald *et al.*, 1991). I det direktskördade, mindre välensilerade fodret fanns dessutom förhöjda halter av butyrat, vilket har en starkt hämmande effekt på jäst och mögel (Umana *et al.*, 1991).

Studier har visat att andra syror, som acetat och butyrat har betydligt starkare hämmande effekt på jäst och mögel än laktat, och därför även förlänger den aeroba stabiliteten (McDonald *et al.*, 1991; Danner *et al.*, 2003). Klostridier bildar butyrat under sin tillväxt, och klostridiejästa ensilage har ofta en mycket lång aerob stabilitet. Dock är klostridietillväxt oönskad i ensilage dels på grund av de toxiner som vissa arter bildar, samt på grund av de problem som klostridiesporer kan ställa till med vid till exempel osttillverkning (Danner *et al.*, 2003).

Effektiviteten av tillsats av mjölksyrabakterier som ensileringsmedel beror på ts-halten i fodret. Om ts-halten är för hög kommer mjölksyrabakterier inte att kunna tillväxa effektivt. I riktigt torra ensilage kommer den låga vattenaktiviteten hämma mjölksyrabakterierna, vilket leder till att fermentationen kommer gå långsamt och endast små mängder metaboliter (acetat och laktat i fallet med *L. buchneri*) kommer att bildas (McDonald *et al.*, 1991). Vid riktigt höga ts-halter finns tendenser mot en minskad effekt av tillsatta bakteriekulturer (Eriksson, 2005).

Förtorkning

Förtorkning av grönmassan sker av flera skäl. Blött foder innebär att man får transportera stora mängder vatten från fältet, vilket ökar transportkostnaderna för fodret (McDonald *et al.*, 1991). Det har dessutom visat sig att en ts-halt över 35 % har en starkt hämmande effekt på klostridier, och klostridiefermentation av torrare ensilage är mycket ovanligt (McDonald *et al.*, 1991).

Förtorkning ökar även koncentrationen av WSC i fodret, vilket har en positiv effekt på tillväxten av mjölksyrabakterier, speciellt i grödor som har ett lågt WSC-innehåll, till exempel baljväxter och tropiska gräs (McDonald *et al.*, 1991). Ännu en orsak till att förtorka grönmassan innan ensilering är att minska risken för pressvattenavgång. Pressvatten är

näringsrikt och kan orsaka övergödning om det tillåts förorena vattendrag och liknande (Tunney *et al.*, 1997), och måste därför tas omhand, vilket kan vara problematiskt, och dessutom förloras vattenlösliga näringsämnen via pressvattnet, vilket sänker fodervärdet (Henderson *et al.*, 1979; McDonald *et al.*, 1991). I balensilage kan det vara svårare att samla upp pressvattnet än i olika typer av silos. Detta tillsammans med ett högre BOD (Biological Oxygen Depletion)-värde för pressvatten från rundbalar än från torn- eller plansilos gör att pressvatten från rundbalar kan ha en negativ effekt på till exempel vattenlevande organismer i närmiljön (Dürr, 2004).

Umana *et al.* (1991) kunde visa att förtorkning hade en positiv effekt på ensileringsprocessen av *Cynodon dactylon*, ett tropiskt gräs. Direktskördat ensilage med en ts-halt på cirka 32 % jämfördes med ett förtorkat ensilage med en ts-halt på cirka 44 %. Grönmassan ensilerades i laboratoriesilos under 114 dagar, och under flera tillfällen under ensileringsprocessen togs foderprover för att mäta pH-värde, laktat-, acetat- och ammoniumkvävekoncentration, aerob stabilitet samt *in vitro*-smältbarhet. Man fann att det blötare ensilaget hade en snabbare pH-sänkning och laktatproduktion, men att det förtorkade ensilaget hade ett lägre slutligt pH-värde och en högre slutlig laktatkoncentration än det direktskördade ensilaget. Det förtorkade ensilaget hade även lägre innehåll av ammonium-kväve och acetat, och författarna drog slutsatsen att förtorkning producerade ett mer välfermenterat ensilage (Umana *et al.*, 1991). Dock hade det förtorkade ensilaget i studien av Umana *et al.* (1991) även ett högre innehåll av jäst- och mögelsvampar än det direktskördade ensilaget, och en kortare aerob stabilitet än de direktskördade ensilagen. Att förtorkning kan öka halten jäst och mögel i ensilage är något som även bekräftas av McDonald *et al.* (1991). Även Jonsson *et al.* (1990) fann att mängden jästsvampar ökade med stigande ts-halt.

Tillsatsmedel

Tillsats av mjölksyrabakterier

Förutsatt att mängden WSC i grönmassan är tillräckligt hög kan tillsats av mjölksyrabakterier ha en positiv effekt på ensileringsprocessen, om mängden epifytiska mjölksyrabakterier är otillräcklig för att säkerställa en effektiv fermentation där mjölksyrabakterierna dominerar (McDonald *et al.*, 1991).

Mjölksyrabakterier räknas till fermentationsstimulerande tillsatsmedel (McDonald *et al.*, 1991). Inokulering med mjölksyrabakterier har visat sig producera ensilage med lägre pH-värde, lägre halt ammoniumkväve och högre halt laktat jämfört med obehandlat ensilage (McDonald *et al.*, 1991; Umana *et al.*, 1991; Danner *et al.*, 2002). Om de tillsatta mjölksyrabakterierna är homofermentativa minskar dessutom halten acetat och etanol, medan dessa ämnen istället kan bildas i större omfattning vid tillsats av heterofermentativa mjölksyrabakterier. Detta beror på att heterofermentativa mjölksyrabakterier förutom laktat även producerar etanol och acetat under sin metabolism (McDonald *et al.*, 1991).

Tillsats av homofermentativa mjölksyrabakterier kan alltså ge ett välfermenterat ensilage av god hygienisk kvalitet. Det har visat sig att en hög halt av laktat och ett påföljande lågt pH-värde har en hämmande effekt på oönskade bakterier, främst enterobakterier och klostridier (McDonald *et al.*, 1991). Därför passar tillsats av mjölksyrabakterier bättre i blötare ensilage där önskad bakterietillväxt är ett större problem än i torrare hösilage där det istället är svamptillväxt som är huvudproblemet (McDonald *et al.*, 1991). Tillsats av syror är dock det bästa alternativet vad gäller riktigt blöta ensilage, med en ts-halt under 35 %, för att undvika klostridietillväxt, eftersom klostridierna gynnas av låga ts-halter och då kan konkurrera ut mjölksyrabakterierna (McDonald *et al.*, 1991).

Heterofermentativa mjölksyrabakterier, till exempel *L.buchneri*, bildar både laktat och acetat under fermentationsprocessen. Flera studier har visat att inokulering med *L. buchneri* kan ha en positiv effekt på den aeroba stabiliteten jämfört med obehandlat ensilage eller ensilage behandlat enbart med homofermentativa mjölksyrabakterier (Kleinschmit *et al.*, 2005; Li och Nishino, 2011a; Li och Nishino, 2011b). Detta beror troligen på den hämmande effekt acetat har visat sig ha på jäst och mögel (Danner *et al.*, 2003) då det ofta är jäst som startar den aeroba förskämningssprocessen (McDonald *et al.*, 1991). Samtidigt har studier genomförda av EFSA (2011) inte kunnat påvisa några negativa effekter på djur vid utfodring av foder inokulerat med *L. buchneri* och EFSA drog därför slutsatsen att *L. buchneri* är en säker tillsats vid ensilering. Dock har det även visat sig att koldioxid förloras när heterofermentativa mjölksyrabakterier ombildar laktat till acetat, vilket i vissa studier har visat sig leda till ökade ts-förluster (Driehuis *et al.*, 1999), medan andra studier inte kunnat påvisa ökade ts-förluster (Taylor *et al.*, 2002).

Tillsats av syror

Tillsats av organiska syror tjänar främst till att hämma all mikrobiell tillväxt. Detta ger ett ensilage med lågt pH, låg ammoniumkvävehalt och ett högt innehåll av WSC, men också ett lägre innehåll av mjölksyra eftersom även mjölksyrabakterierna hämmas av det låga pH-värdet (McDonald *et al.*, 1991). Det har visat sig att organiska syror, speciellt myrsyra, har en hämmande effekt även på jäst och mögel (McDonald *et al.*, 1991), varför denna tillsats kan vara lämplig för att öka den aeroba stabiliteten. Även acetat (Danner *et al.*, 2003) och propionat (Jaakkola *et al.*, 2010) har visat sig kunna hämma jäst och mögel, men inte i lika hög grad som myrsyra (McDonald *et al.*, 1991). Dock har myrsyra även visat sig kunna gynna tillväxten av mögel i storbalsensilage (Jonsson *et al.*, 1990), samt kunna öka aflatoxinproduktion i spannmål. Därför är inte myrsyra tillåtet som tillsats till fuktig spannmål i Sverige (McDonald *et al.*, 1991).

Jaakkola *et al.* (2010) gjorde ett försök där man testade att tillsätta olika arter av mjölksyrabakterier och olika syror eller konserveringsmedel i olika kombinationer till ensilage. Man hade 5 behandlingar: a) Kontroll, utan tillsats, b) propionat + ammoniumpropionat, c) *Lactobacillus plantarum* + *L. buchneri*, d) *L. rhamnosus* samt e) *L. plantarum* + Natriumbenzoat. Dessa behandlingar tillsattes till gräsensilage i rundbalar vid olika ts-halter, 44 %, 56% samt 64 %. Man fann att tillsats av *L. buchneri* och

Natriumbenzoat tillsammans med *L. plantarum* förlängde den aeroba stabiliteten vid ts-halter upp till 60 %. Propionat visade sig förlänga den aeroba stabiliteten vid alla ts-halter, vilket även *L. plantarum* + Natriumbenzoat och *L. plantarum* + *L. buchneri* gjorde, om än inte lika effektivt. Enbart tillsats av *L. rhamnosus* var den behandling som gav den kortaste aeroba stabiliteten. Dessutom fann författarna att propionat gav ett ensilage med en lång aerob stabilitet i samtliga balar, medan inokulanterna gav mer variabelt resultat mellan balar (Jaakkola *et al.*, 2010).

Tillsats av melass

Tillsats av melass och andra källor av WSC har en fermentationsstimulerande effekt och kan vara berättigat om WSC-innehållet i grönmassan är det som begränsar fermentationen, som till exempel i fallet med tropiska gräs eller baljväxter, som generellt har ett lågt WSC-innehåll jämfört med tempererade gräs (McDonald *et al.*, 1991). I och med att tillsatsen av melass ger en mer intensiv fermentation ger detta ett ensilage med lägre pH, lägre halt ammoniumkväve samt högre ts-halt och mjölksyrakhalt. Den huvudsakliga nackdelen med melass är dock att det måste tillsättas i relativt stor mängd för att ha full effekt (McDonald, *et al.*, 1991).

Umana *et al.* (1991) testade i sitt försök även tillsats av melass och mjölksyrabakterier till *Cynodon dactylon*-ensilage. Man fann att tillsats av melass hade en positiv effekt på framförallt det direktskördade ensilaget, och gav en mer uttalad mjölksyrafermentation med lägre pH-värde, högre halt laktat samt lägre butyrat- och ammoniumkvävehalter än kontrollensilaget. Dessutom gav tillsats av både melass och mjölksyrabakterier en additiv effekt på det förtorkade ensilaget; man fann en större positiv effekt på ensileringen med bland annat högre laktathalt, lägre acetathalt samt lägre pH vid tillsats av både melass och mjölksyrabakterier än effekten av de båda enskilda behandlingarna var för sig. Denna additiva effekt kunde dock inte observeras i det direktskördade ensilaget (Umana *et al.*, 1991). Dock gav tillsats av melass till det förtorkade ensilaget en lägre smältbarhet och högre halter av jäst- och mögelsvampar än tillsats av mjölksyrabakterier (Umana *et al.*, 1991). I samma studie kom man dock också fram till att de ensilage som hade haft en mer uttalad mjölksyrafermentation med bland annat högre laktatkoncentration, lägre acetathalt och lägre pH, hade en kortare aerob stabilitet än kontrollensilagen (Umana *et al.*, 1991).

I en studie av Huisden *et al.* (2008) jämfördes effekten av tillsats av melass och två olika kommersiella mjölksyrabaserade ensileringsmedel med både heterofermentativa och homofermentativa mjölksyrabakterier till majsensilage. Man fann att tillsats av melass gav ett högre innehåll av WSC och gav en högre etanol- och laktatkoncentration än de andra behandlingarna eller kontrollensilaget, men att en tillsats av melass varken påverkade mängden mögel eller jäst jämfört med kontrollensilaget, och melass hade inte heller någon effekt på den aeroba stabiliteten. Däremot minskade båda de kommersiella inokulanterna mängden jäst och mögel samt förlängde den aeroba stabiliteten i fodret (Huisden *et al.*, 2008).

Mikroorganismer som kan utgöra hygieniska problem i vallfoder

Mögel

De allra flesta mögelsvampar är aeroba, även om det finns arter som även kan tillväxa vid anaeroba förhållanden (Scudamore och Livesey, 1998). Mögelsvampar kräver generellt ett aningen högre pH-värde än jästsvampar för att tillväxa, vilket gör att de ofta kommer in senare i den aeroba förskämningssprocessen av ensilage när jästsvampar och andra mikroorganismer redan startat förskämningen och därmed skapat en passande levnadsmiljö för mögelsvamparna (McDonald *et al.*, 1991). Mögelsvampar är oönskade i foder dels eftersom de bryter ned WSC, cellulosa och andra cellväggskomponenter, vilket sänker fodrets näringsvärde, men även eftersom ett flertal mögelarter har visat sig kunna bilda mykotoxiner (McDonald *et al.*, 1991). Dessa ämnen kan ha negativa effekter på de djur som utfodras med kontaminerat foder, med bland annat sänkt fertilitet och produktivitet som följd (Scudamore och Livesey, 1998). I vissa fall, som till exempel vid aflatoxinkontaminerat foder, kan mykotoxinerna även överföras till mjölk och eventuellt också till andra produkter från djuren, och på så sätt utgöra en potentiell hälsorisk för människor som konsumerar livsmedel från djur som utfodrats med mögelkontaminerat foder (Scudamore och Livesey, 1998).

Olika arter av mögelsvampar kan delas in i fältflora och lagringsflora, beroende på när de infekterar fodret. Fältfloran infekterar grödan innan skörd, framförallt under väderförhållanden som stressar grödan som torra eller kyla. Vanliga mögelsvampar som räknas till fältfloran tillhör släktena *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* samt olika endofytsvampar, till exempel *Acremonium lolii* som infekterar rajgräs (Scudamore och Livesey, 1998).

Om lagringsförhållandena inte är gynnsamma, till exempel om en lufttät lagring av ensilage eller en torr lagring av hö inte kan uppnås, kan en förändring i mögelflora från fältflora till lagringsflora ske. Lagringsfloran infekterar och tillväxer alltså i grödan under lagring, och arter som räknas till lagringsflora innefattar främst släktena *Penicillium* och *Aspergillus* (Scudamore och Livesey, 1998).

I tabell 1 listas några mögelarter som förekommer i gräs och ensilage och vilka mykotoxiner de producerar, och i tabell 2 redovisas några vanliga mykotoxin, samt vilka effekter de har vid utfodring. Nedan följer även en kortfattad genomgång av några vanliga mögelsläkten.

Tabell 1. Några mögelarter som kan återfinnas i ensilage och de mykotoxiner de bildar. Efter Scudamore och Livesey, 1998(egen översättning)

Art	Mykotoxin
<i>Acremonium lolii</i>	Lolitrein B, Paxillin
<i>Alternaria spp.</i>	Tenuazonosyra, alternariol, alternariol metyleter, altenuene, iso-altenuene, altertoxin I och II
<i>Aspergillus clavatus</i>	A. <i>clavatus</i> -toxin
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aflatoxin
<i>Aspergillus versicolor</i>	Sterigmatocystin
<i>Byssochlamis nivea</i>	Byssochlaminsyra, patulin
<i>Claviceps spp.</i>	Ergotamin, ergostin, ergocystin, ergocryptin, ergocornin, ergopeptid pyrrolizidin, derivat av lyserginsyra
<i>Fusarium spp.</i>	Deoxynivalenol, nivalenol, HT-2 toxin, moniliformin, T-2 toxin, andra trichotecenföreningar, Zearalenone, fumonisiner (i majsensilage)
<i>Paecilomyces varotia</i>	Patulin
<i>Penicillium aurantiogriseumgruppen</i>	Verrucosidin, viomellein, vioxanthin, xanthomegnin
<i>Penicillium roqueforti</i>	Festuclavin, fumiclavin C
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxin, citrinin
<i>Penicillium viridicatum</i>	Viomellein, vioxanthin, xanthomegnin
<i>Pithomyces chartarum</i>	Sporodesmin
<i>Stachybotris atra</i>	Satratoxiner
<i>Wallemia sebi</i>	Wallemiol A

Tabell 2. Vanligt förekommande mykotoxiner och vilken effekt de har på djur vid utfodring med mykotoxinkontaminerat foder. Efter Scudamore och Livesey, 1998(egen översättning)

Mykotoxin	Effekt
Aflatoxin B1	Carcinogen, hepatotoxisk, DNA-skador
<i>Aspergillus fumigatus</i> -toxiner	Tremorgen, blödningar, diarré, flera andra
Sterigmatocystin	Carcinogen, leverskador
Ochratoxin A	Carcinogen, nephrotoxisk, teratogen, immunhämmande
Citrinin	Nephrotoxisk
Xanthomegnin och Viomellein	Fotosensibilisering, lever- och njurskador
Zearalenone	Östrogena effekter
Patulin	Carcinogen ? lungödem, blödningar
Ergotidalkaloider	Kallbrand, nedsatt fertilitet
Trichotecener	Blödningar, diarré, dermatit, fodervägran
Satratoxiner	Nekros, näsflöde, rhinit
Penitrein A	Tremorgen
PR-toxin	Lever- och njurskador. Mutagen?
Gliotoxin	Hematuri, immunhämmande
Tenuazonosyra	Blödningar, konvulsioner, anorexia
Alternariol, alternariol monometyleter	Cytotoxiskt, fetotoxiskt
Sporidesmin	Fotosensibilisering, leversjukdom
Lolitrein	Ataxi

Penicillium spp.

Släktet *Penicillium* innehåller ett flertal arter som kan återfinnas i ensilage, bland annat *Penicillium roqueforti*. Många arter ur släktet *Penicillium* bildar mykotoxiner (tabell 1), vilka kan ha negativa effekter på djur som utfodras med foder kontaminerat med dessa toxiner (tabell 2). Några exempel på toxiner som bildas av *Penicillium spp.* är ochratoxin, xanthomegnin och viomellein (Scudamore och Livesey, 1998) samt roquefortin C, som är ett paralytiskt neurotoxin (Wagener *et al.* 1980).

Aspergillus spp.

Aspergillus spp. är ett släkte som innehåller ett flertal arter som kan återfinnas i ensilage och som kan producera mykotoxiner. Bland de mest potenta mykotoxinerna finns aflatoxin som bildas av arterna *A. fumigatus* och *A. flavus* (tabell 1). Detta toxin är starkt hepatotoxiskt och carcinogent (tabell 2). Vissa arter av släktet *Aspergillus*, till exempel *A. fumigatus*, är både proteolytiska och har ett högt temperaturoptimum (växer mellan 10°C och 55°C för *A. fumigatus* (McDonald *et al.*, 1991). Dessa båda faktorer gör att bland annat dessa arter kan tillväxa i vävnader hos olika djurarter och därmed agera patogener och infektera människor och djur (Scudamore och Livesey, 1998; Tell, 2005). Aspergillos innebär en infektion av *Aspergillus spp.* i vävnader hos djur eller människor. Detta sjukdomstillstånd innebär att plack innehållande svamphyfer bildas med inflammation och nekros av vävnaden som följd. Det är främst lungor och andra delar av andningsapparaten samt näshåla och bihålor som påverkas. Hos häst är det vanligaste infektionsstället luftsäckarna (Lepage *et al.*, 2004; Tell, 2005). *Aspergillus spp.* har även visat sig kunna infektera moderkakan och orsaka spontanaborter hos nötkreatur. *Aspergillus fumigatus* är den art som oftast orsakar aspergillos, men även andra *Aspergillus spp.* har visat sig kunna infektera olika djurarter (Tell, 2005).

Fusarium spp.

Släktet *Fusarium* innehåller arter som producerar mykotoxiner, till exempel trichotecener (tabell 1), som orsakar vävnadsirritation i mag-tarmkanalen, blödningar och minskat foderintag (tabell 2) (Scudamore och Livesey, 1998). *Fusarium spp.* bildar även zearalenon som har östrogena effekter. En annan grupp av ämnen som bildas av *Fusarium spp.* är fumonisiner, varav fumonisin B₁(FB₁) anses orsaka Equine Leukoencephalomalacia, en sjukdom som ger allvarliga neurologiska symptom (Caloni och Cortinovis, 2010).

Mucor spp.

Mucor spp. är inte ovanliga mögelsvampar i ensilage. *Mucor spp.* anses allmänt ha en låg toxicitet, och detta släkte är mindre studerat än till exempel *Aspergillus* och *Penicillium*. Dock

har *Mucor spp.* visat sig kunna producera ett flertal olika mykotoxiner, till exempel ergotalkaloider, aflatoxin och fumigaclovin B, och vissa arter ur detta släkte har även visat sig kunna agera patogener och orsaka Mucomykos hos djur och människor (Hollman *et al.*, 2008). Denna sjukdom drabbar främst individer med nedsatt immunförsvar. Mucomykos visar sig framförallt genom att blodkärl blir infekterade, vilket bland annat resulterar i blodproppar (Hollman *et al.*, 2008). I en studie av Hollman *et al.* (2008) isolerades olika arter i släktena *Mucor* och *Rhizopus* från majs- och gräsensilage med synlig mögelväxt. Man fann arterna *Absidia corymbifera*, *Mucor circinelloides* samt *Rhizopus stolonifer* och genomförde test på de två sistnämnda arterna för att kartlägga produktionen av mykotoxin. *Mucor circinelloides* testades även för toxicitet enligt en MTT-assay. Detta är en fotometrisk metod att mäta enzymaktiviteten i mitokondrierna genom att mäta omvandlingen av det gula saltet 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT) till den lila, olösliga nedbrytningsprodukten fomazan som bildas i mitokondrierna i metaboliskt aktiva celler. Mängden fomazan som bildades mättes med spektrofotometri och cytotoxiciteten definierades som den lägsta koncentration mykotoxin som krävdes för att reducera mitokondriernas nedbrytning av MTT (Hollman *et al.*, 2008). Man fann att *M. circinelloides* hade en låg cytotoxicitet samt att *M. circinelloides* producerade 3-nitropropionat. Detta mykotoxin har visat sig vara både kardiotoxiskt och neurotoxiskt hos möss (Gabrielson *et al.*, 2001) även om det är ovanligt att detta mykotoxin återfinns i livsmedel eller foder (Hollman *et al.*, 2008).

Jästsvampar

I växande och nyslagen grönmassa finns framförallt aeroba jästarter, till exempel *Cryptococcus spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Sporobolomyces spp.* samt *Torulopsis spp.* (McDonald *et al.*, 1991). Dessa bidrar, tillsammans med växternas egna enzymer, till respirationen i den aeroba fasen av ensileringsprocessen och kan orsaka varmgång om de får alltför goda tillväxtbetingelser, till exempel höga WSC-halter och utdragen inläggning i silon. Förtorkning har också visat sig kunna öka mängden jäst. Detta tros dels vara på grund av gynnsamma tillväxtförhållanden i den torrare grönmassan och dels genom en större risk för jordinblandning i förtorkat foder (McDonald *et al.*, 1991).

Jästsvampar är själva relativt toleranta mot ett lågt pH-värde och de flesta arter kan tillväxa mellan pH 3 och 8, vissa arter kan tillväxa även vid pH 2 (McDonald *et al.*, 1991). Jäst kan generellt växa vid högre ts-halter än bakterier, men behöver till skillnad från mögel en fuktig yta för att kunna tillväxa. Olika jästarter använder olika substrat, de anaeroba behöver WSC som näringskälla medan de aeroba arterna kan använda laktat och andra organiska syror som substrat för sin tillväxt. När laktat används som energisubstrat ökar pH-värdet och detta kan i sin tur bana vägen för tillväxt av andra oönskade mikroorganismer. Det är framförallt laktatassimilerande jästarter, till exempel *Saccharomyces cerevisiae* samt *Candida spp.* som tros initiera aerob förskämning (Woolford 1990; McDonald *et al.*, 1991).

Under anaeroba förhållanden fermenteras socker och i vissa fall mjölksyra till ättiksyra, etanol och koldioxid (McDonald *et al.*, 1991). Jästsvampar producerar inga kända toxiner som kan

inverka skadligt på djur som konsumerar ensilage, så jäst anses inte vara skadligt i sig, men kan påverka den aeroba stabiliteten negativt (Müller *et al.*, 2011).

Bakterier

Klostridier

Klostridier är gram-positiva, sporformande, stavformiga bakterier. De är obligat anaeroba bakterier som generellt gynnas av en misslyckad ensilering; låg ts-halt, högt pH, hög buffertkapacitet i grönmassan, lågt WSC-innehåll, hög temperatur samt utdragen inläggning i silon. Klostridier delas in i två grupper; sackarolytiska eller proteolytiska klostridier beroende på vilka substrat de huvudsakligen använder. Vissa arter, till exempel *C. perfringens* har förmågan att använda både socker och aminosyror som substrat. De sackarolytiska klostridierna fermenterar framförallt socker och organiska syror. Till denna grupp hör bland annat *C. butyricum* och *C. tyrobutyricum*. Slutprodukterna av denna fermentation är bland annat butyrat, acetat och i vissa fall etanol (McDonald *et al.*, 1991). De proteolytiska klostridierna bryter ned aminosyror under bildning av bland annat ammoniak, fettsyror och aminer (McDonald, *et al.*, 1991). Aminerna som bildas, i synnerhet histamin, har visat sig kunna ha toxiska effekter på djur som utfodras med klostridiejäst grovfoder (McDonald *et al.*, 1991).

Klostridier är oönskade mikroorganismer i ensilage dels på grund av att de kan minska fodrets näringsvärde genom att bryta ned proteiner, dels sänka fodrets smaklighet genom att bilda butyrat, ammoniumkväve och aminer, som alla visat sig minska foderintaget hos idisslare (McDonald *et al.*, 1991). Dessutom bildar vissa arter, till exempel *C. botulinum*, toxiner som kan vara mycket skadliga för de djur som utsätts för dem. Just *C. botulinum*-toxinet är ett av det mest potenta toxin man känner till, och det orsakar förlamning och dödsfall hos djur som ätit kontaminerat foder (McDonald *et al.*, 1991).

Bacillus spp.

Bakterier ur släktet *Bacillus* är sporbildande, stavformiga bakterier, men till skillnad från klostridierna är *Bacillus spp.* aeroba, vilket gör att de kan finnas som sporer i ensilage, men normalt inte tillväxer förrän fodret utsätts för syre. Dessa bakterier har visat sig spela en roll vad gäller aerob förskämning av ensilage vid temperaturer över 40°C. Förskämningens flora skiftar från jäst till *Bacillus spp.* vid så höga temperaturer i ensilage. Dock verkar det som att *Bacillus spp.* inte kan inleda den aeroba förskämningens processen, utan först behövs tillväxt av jäst med påföljande höjning i pH-värdet för att *Bacillus spp.* skall kunna tillväxa (McDonald *et al.*, 1991).

Enterobakterier

Enterobakterier är ett stort släkte och innehåller såväl icke-patogena som patogena arter som kan orsaka sjukdom hos människor och djur, till exempel *Escherichia coli*. Enterobakterier är stavformiga, gramnegativa, fakultativt anaeroba och icke sporbildande bakterier som fermenterar kolhydrater, och kan även bryta ned protein. Under den tidiga aktiva fermentationsfasen ökar antalet enterobakterier för att senare åter minska i antal när pH-värdet sjunker. Dock kan de ha en fortsatt hög förekomst om fermentationen och pH-sänkningen är långsam, vid tillsats av myrsyra eller i vissa fall under aerob förskämning (McDonald *et al.*, 1991).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes är en fakultativt anaerob bakterie, som kan tillväxa vid väldigt låg syrekonzentration. Detta innebär att denna bakterie kan utgöra ett problem när förseglingen av ensilaget varit otät så att små mängder syrerik luft läckt in, och just balensilage har visat sig vara extra utsatt då det kan vara svårt att få plasten helt tät (McDonald *et al.*, 1991). Bakterien återfinns till exempel i förmultnande växtmaterial, vatten, gödsel, jord och ensilage. Det finns många fall med får och nötkreatur där listerios kunnat kopplas till utfodring med ensilage av undermålig hygienisk kvalitet, och även vid utfodring med till synes välfermenterade ensilage. *Listeria monocytogenes* orsakar symptom som spontanabort och encephalit hos djur som konsumerat kontaminerat foder, och får har visat sig vara känsligare än nötkreatur (McDonald *et al.*, 1991). Sjukdomen förekommer även hos häst med likartade symptom som hos nötkreatur och får, även om den är ovanlig hos detta djurslag (Rütten *et al.*, 2006).

Hygienisk kvalitet

I tabell 3 redovisas rikt- och gränsvärden för olika variabler för hygienisk kvalitet i ensilage. För att fodret skall bedömas ha en god hygienisk kvalitet bör det självfallet inte heller ha synlig växt av jäst eller mögel (Spörndly, 2003).

Tabell 3. Normalvärden och riktvärden för olika variabler för hygienisk kvalitet i ensilage. Efter Spörndly (2003)

Analys		
pH	$< (0,0257 \times ts \%) + 3,71$	För ts-halter mellan 15 % och 50 %
Mögel	10^5 cfu/g	Max
Jäst	10^5 cfu/g	Max
Mjölksyra	Direktskordat med myrsyra: 6-10% av ts	Normalvärde
	Direktskordat utan myrsyra: 8-12% av ts	Normalvärde
	Förtorkat (>30% ts): 3-7% av ts	Normalvärde
Ammoniumkväve	<8% av total-N	Bra
	8-12% av total-N	Mindre bra
	>12% av total-N	Dåligt
Smörsyra	<0,10 % av prov	Bra
	0,10-0,30% av prov	Mindre bra
	>0,30 % av prov	Dåligt
Ättiksyra	1-3% i allt ensilage	Normalvärde
Mjölksyrabildande bakterier	$>10^4$ cfu/g	Önskvärt
Gramnegativa bakterier	10^3 - 10^4 cfu/g	Max
	10^9 cfu/g	Mycket dåligt
Aeroba bakterier	10^3 cfu/g	Max
Koliforma bakterier	10^2 cfu/g	Max
Anaeroba sporbildande bakterier	10^3 cfu/g	Max
<i>Clostridium spp.</i>	10^3 cfu/g	Max
<i>Bacillus spp.</i>	10^3 cfu/g	Max

Egen studie

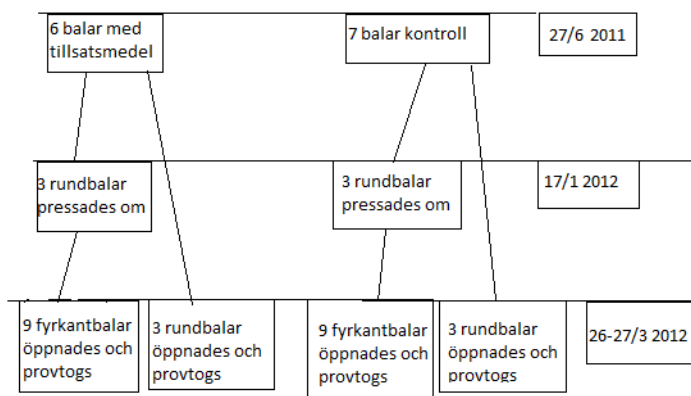
Med tanke på de hygieniska problem som kan uppstå vid syrexponering av inplastat vallfoder genomfördes en studie för att undersöka hur den mikrobiologiska och kemiska sammansättningen i hösilage (ts-halt cirka 60 %) påverkades av ompressning från rundbalar till små fyrkantsbalar, samt hur ett syrabaserat tillsatsmedel inverkade vid denna ompressning. Även den areoba stabiliteten mättes för att undersöka hur ompressning och användning av tillsatsmedel, eller en kombination av de båda, påverkade densamma. En tidigare pilotstudie visade att ompressning kan leda till en ökad jästtillväxt (Müller, 2002). Denna ökade jästtillväxt beror troligen på den extra syrexponering som det redan ensilerade fodret ofrånkomligen utsätts för vid ompressningen. Högre antal jästsvampar kan leda till förkortad aerob stabilitet (McDonald *et al.*, 1991), vilket gör att ensilagebalar med högre jästinnehåll kan förväntas ha kortare hållbarhet efter öppning än balar med lägre antal jästkolonier.

Syrabaserade tillsatsmedel har visat sig effektivt kunna hämma tillväxten av jäst och mögel även i ensilage med höga ts-halter (Jaakkola *et al.*, 2010). Denna minskade tillväxt av önskade mikroorganismer kan verka positivt på den aeroba stabiliteten (Jaakkola *et al.*,

2010), varvid tillsats av syror skulle kunna vara av intresse för att motverka den ökade jästtillväxten som observerats vid ompressning (Müller, 2002).

Målet med detta examensarbete var därför att undersöka hur mikrobiologisk och kemisk sammansättning i hösilage påverkades av ompressning från stor rundbal till små fyrkantbalar, samt vilken inverkan tillsats av syror hade vid denna ompressning. Syftet var även att undersöka om den aeroba lagringsstabiliteten i de ompressade balarna blev kortare jämfört med den aeroba stabiliteten i likadana storbalar som inte pressats om vid balöppning.

I figur 1 presenteras antalet balar i de olika försöksleden.



Figur 1. Antalet balar i de olika försöksleden samt i de olika behandlingarna. Illustration: Eva Andersson.

Material/metoder

Pressning av rundbalar

Vallen odlades i Skuttunge, Uppsala och bestod av 75 % timotej (*Phleum pratense*), 24 % ängsvingel (*Festuca pratensis*) och 1% kvickrot (*Agropyron repens*) och maskros (*Taraxacum vulgare*). Skörden påbörjades den 27 juni 2011. Slåttern skedde med en slåtterkross (Kverneland Taarup 4028, Kverneland, Nyköping, Sverige) på förmiddagen och grönmassan fick förtorka i två meter breda strängar. Grönmassan pressades och plastades in samma kväll med en rundbalspress (Kverneland Taurup Bale in One, Kverneland, Nyköping, Sverige) vid en torrsubstanshalt på ca 50-55 %. Inplastning skedde med tio lager plast (Triowrap, Trioplast, Smålandsstenar, Sverige). Totalt producerades 13 rundbalar, sex rundbalar med tillsatsmedlet Addcon Kofa Grain pH5[®] och sju rundbalar utan något tillsatsmedel (kontroll). Grönmasseprover togs slumpmässigt från fältet innan pressning och inplastning, och dessa prover frystes in fram till analys. Balarna transporterades från fält till lagringsplatsen inom 24 timmar efter inplastning. Efter ca 6 månaders lagring transporterades balarna till Kungsängens forskningscentrum, Uppsala, för fortsatt lagring och ompressning.

Tillsats av ensileringsmedel

Ensileringsmedlet som användes var Addcon Kofa Grain pH5[®], ett tillsatsmedel innehållande en kombination av propionat och natriumbenzoat. Detta tillsattes vid pressningen av de balar där tillsatsmedel skulle användas, med hjälp av en syrafast pump inställd och kalibrerad till ett flöde på 800 ml/minut. Vägning av behållaren med tillsatsmedlet visade en åtgång om cirka 12 liter för de sex balar som pressades med tillsatsmedel. Detta gav en dosering på cirka två liter tillsatsmedel per bal. Balarna i denna behandling vägde i medeltal 472 kg per bal, vilket gav en dosering på cirka 4 ml per kg foder.

Ompressning till småbalar

Ompressningen genomfördes på Kungsängens försöksgård, Uppsala, den 17 januari 2012. Vädret var mulet men det var uppehåll och temperaturen cirka 0°C. Tre rundbalar som pressats med tillsats av ensileringsmedel och tre balar utan tillsats av ensileringsmedel (kontroll) valdes slumpmässigt ut för ompressning. Rundbalarna vägdes och ett prov för mikrobiologisk analys samt ett prov för kemisk analys togs i direkt anslutning till balöppningen från varje rundbal som skulle pressas om. Varje prov bestod av sex borrhärdar som togs slumpmässigt från olika ställen på balen med hjälp av en bormaskin med en för ändmålet speciellt anpassad borr (Medeltida Smide, Almunge, Sverige). Borret sprayades med etanol och brändes av mellan varje bal. Rundbalarna öppnades och ensilaget matades in manuellt i en stationärt uppställd glidkolvspress (Welger AP 730, Wolfenbüttel, Tyskland). Pressen var utrustad med knytare från en storbalspress vilket gjorde det möjligt att använda starkare snören (200 m polypropensnören, Agripac, Tollered, Sverige). Varje fyrkantbal vägdes och plastades sedan in med tio lager plast med en fyrkantbalsinplastare avsedd för balar av mindre format (Tellefsdal mini-wrap 404, Tellefsdal, Norge).

Lagring och balöppning

Fyrkantbalarna lagrades utomhus i stack under 10 veckor. Tre fyrkantbalar från varje rundbal som pressats om, totalt nio fyrkantbalar med tillsatsmedel och nio fyrkantbalar i kontrollbehandlingen, valdes slumpmässigt ut för öppning. Därefter mättes tätheten genom att ett lätt undertryck bildades i balarna med hjälp av en handdriven vakuumpump och en ventil som insattes i balarna och bara var gasgenomsläpplig i en riktning. Trycket mättes med en manometer (Dwyer Magnehelic Differential Pressure Gauge, Dwyer Instruments Inc., Michigan City, IN, USA) som anslöts till ventilen i balen genom en kanyl och en gummislang (Microlance 3; Becton Dickinson, Madrid, Spanien), och tätheten angavs som tiden det tog för undertrycket att minska från -20 mm vp till -15 mm vp. Ju längre tid detta tog, desto tätare var plasten. Detta gjordes i både småbalar och de tre kvarvarande rundbalarna för varje behandlingsled. Plasten togs av, och balarna vägdes och mättes. En okulär inspektion gjordes för att upptäcka synlig mögel- eller jästtillväxt på balarnas yta. Provtagning för kemisk och mikrobiologisk analys skedde på samma sätt som vid ompressningen som beskrivs ovan, och

alla prover för kemisk analys frystes in medan alla prover för mikrobiologisk analys ansattes direkt efter provtagning. Därefter vägdes plasten separat. Balarna placerades på en plan yta utan kontakt med varandra.

Temperaturmätning

Baltemperaturen mättes med en termogivare placerad i balarnas mitt. Detta gjordes för alla balar dagligen mellan klockan 11 och 14 under perioden 26 mars 2012 till 10 april 2012. Data för omgivningstemperatur hämtades från SMHIs mätstation i Uppsala via institutionen för mark och miljö, enheten för Fältforskning, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Mikrobiologisk analys

Prov för mikrobiologisk analys bereddes genom tillsats av 450 ml steril (autoklaverad vid 121°C i 15 minuter) Ringerlösning med ¼ styrka (Merck KGa A, Darmstadt, Tyskland) till 50 gram prov. Proverna kördes sedan två gånger 60 sekunder vid normal hastighet i en Stomacher (Seward 3500, Seward Ltd, Worthing, Storbritannien). Proverna spädades i steg om tio med Ringerlösning, och tre spädningar av varje prov spreds på agarplattor. För mögel, jäst och klostrider användes tre agarplattor per spädning och prov, och för enterobakterier och mjölktsyrebakterier användes två agarplattor per spädning och prov. Mögel- och jästsvampar odlades på maltextraktagar (MEA)-plattor (Merck, KgaA, Darmstadt, Tyskland). MEA-plattorna inkuberades aerobt vid 30°C. Avläsning av antalet jästsvampar (CFU/g) skedde efter 72 timmar, och efter 144 timmar avlästes antalet mögelsvampar på samma plattor (Seale *et al.* 1986). Klostridiesporer inkuberades på Reinforced Clostridial Agar plates (Merck KgaA, Darmstadt, Tyskland) med tillsats av neutralrött och cycloserin. Dessa plattor inkuberades anaerobt vid 37°C i 7 dygn (Carlile, 1984; Seale *et al.*, 1986). Mjölktsyrebakterier odlades på Rogosa-agarplattor (Merck KgaA, Darmstadt, Tyskland) och inkuberades anaerobt vid 30°C i 72 timmar (Carlile, 1984). Enterobakterier odlades på violet red bile dextrose-agarplattor (Merck, KgaA, Darmstadt, Tyskland) i 48 timmar vid 37°C (Seale *et al.*, 1986).

Kemisk analys

Ts-bestämning skedde i två steg. Först förtorkades proverna i 60°C i 18 timmar. Därefter fick proverna stabiliseras i rumstemperatur i fem timmar varefter proverna maldes och passerade genom ett 1mm såll. Sedan sluttorkades proverna vid 105°C i 20 timmar. Därefter föraskades proverna i 3 timmar vid 550°C.

NDF (Neutral Detergent Fibre) bestämdes på torkade och malda prov enligt metoden från Van Soest *et al.* (1991) modifierad enligt Chai och Udén (1998). Råprotein bestämdes enligt Kjeldahlmetoden med koppar som katalysator.

VFA, laktat, etanol, 2,3-butandiol och ammoniumkväve bestämdes på pressade prover spädda 1:1 med metoden HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) enligt Andersson och Hedlund (1983). Även pH bestämdes på den utspädda ensilagesaften med en pH-meter utrustad med en glaselektrod (pH-meter 654, Methrom, Courtaboeuf, Frankrike).

VOS (Våmvätskelöslig organisk substans) bestämdes med en 96 timmars *in vitro*-metod med färsk våmvätska från mjölkkor enligt Lindgren (1983).

Koncentrationen av vattenlösliga kolhydrater (WSC) bestämdes med en metod enligt Larsson och Bengtsson (1983).

Statistisk analys

Variansanalys gjordes med SAS GLM (general linear models) procedur med programvaran SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Modellen som användes var:

$$Y_{ijk} = \mu + (\text{baltyp})_i + (\text{tillsatsbehandling})_j + (\text{baltyp} \times \text{tillsatsbehandling})_{ij} + \text{error}_{ijk}.$$

$$Y_{ij} = \mu + (\text{tillsatsmedel})_i + \text{error}_{ij}$$

där baltyp var rundbal vid ompressning, rundbal som öppnades samtidigt som småbalarna, eller småbal. Tillsatsbehandling var tillsatsmedel (Addcon Kofa Grain pH5[®]) eller kontroll. Skillnader där $P < 0,05$ ansågs vara statistiskt signifikanta.

Resultat

Kemisk sammansättning för grönmasseprover

Resultaten av de kemiska analyserna av grönmasseproverna visas i tabell 4.

Tabell 4. Kemisk sammansättning (i g/kg ts om ej annat anges) i grönmasseprover (n=3) tagna före pressning av rundbalar

Variabel	Grönmassa	SE
Ts-halt (g/kg foder)	596,3	1,72
Aska	58,0	0,31
Råprotein	78,7	0,15
Neutral Detergent Fiber	585,0	1,36
Lättlösliga kolhydrater (WSC)	168,3	0,69

Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i rundbalshösilage vid ompressning

Resultaten av de kemiska och mikrobiologiska analyserna av rundbalarna som pressades om redovisas i tabell 5.

Tabell 5. Kemisk (g/kg ts om ej annat anges) och mikrobiologisk (CFU/g) sammansättning i rundbalshösilage provtaget vid ompressning, med och utan tillsatsmedel.

Variabel	Rundbalar kontroll, före ompressning (n=3)	Rundbalar tillsatsmedel, före ompressning (n=3)	SE	P
Ts (g/kg foder)	536,0	576,3	0,91	0,0100
Aska	62,7	62,3	0,16	NS
Råprotein	87,3	91,3	0,27	NS
Neutral detergent fiber	608,3	590,7	0,57	NS
Lättlösliga kolhydrater (WSC)	110,0	129,7	0,55	0,0223
Vomvätskelöslig organisk substans	731,7	738,3	0,57	NS
Energi häst (MJ omsättbar energi/kg ts)	9,17	9,30	0,108	NS
Ammoniaktal	2,47	2,00	0,217	NS
pH	5,74	5,48	0,019	<0,0001
Laktat	3,01	1,87	0,029	0,0272
Acetat	1,27	1,00	0,016	0,0193
Propionat	0,53	1,87	0,009	<0,0001
Etanol	17,60	6,23	0,179	0,0021
Mjölksyrabakterier	5,88	5,20	0,298	0,0236
Mögel	-2,68	-0,14	2,029	NS
Enterobakterier	1,52	-2,46	2,261	NS
Jäst	3,34	2,40	0,407	NS
Klostridier	-2,02	-4,78	1,868	NS

Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i fyrkantbalshösilage vid balöppning

Resultaten från de kemiska och mikrobiologiska analyserna av de ompressade fyrkantbalarna visas i tabell 6.

Tabell 6. Kemisk (g/kg ts om ej annat anges) och mikrobiologisk (CFU/g) sammansättning i de ompressade fyrkantbalarna provtagna vid balöppning, med och utan tillsatsmedel

Variabel	Fyrkantbalar kontroll (n=9)	Fyrkantbalar tillsatsmedel (n=9)	SE	P
Ts	554,0	586,8	0,52	0,0002
Aska	62,8	59,9	0,09	0,0400
Råprotein	86,7	88,1	0,16	NS
NDF	612,1	600,6	0,33	0,0195
WSC	114,3	124,7	0,32	0,0301
VOS	714,7	725,7	0,33	0,0275
Energi häst (MJ/kg ts)	8,90	9,11	0,06	0,0262
Ammoniak-tal	3,28	2,69	0,126	0,0037
pH	5,69	5,50	0,011	<0,0001
Laktat	3,01	2,44	0,017	0,0240
Acetat	1,26	1,19	0,010	NS
Propionat	0,50	1,26	0,005	<0,0001
Etanol	14,87	7,46	0,104	<0,0001
Mjölksyrabakterier (log cfu/g)	5,75	4,91	0,172	0,0021
Mögel	-1,74	-1,75	1,172	NS
Enterobakterier	1,39	-0,59	1,306	NS
Jäst	5,64	5,00	0,235	NS
Klostridier	-0,85	-3,38	1,079	NS

Kemisk och mikrobiologisk sammansättning för kvarvarande rundbalar

Tabell 7. Kemisk (g/kg ts om ej annat anges) och mikrobiologisk (CFU/g) sammansättning för rundbalarna som pressades om (ompressning) och rundbalarna som öppnades samtidigt som fyrkantbalarna (öppning) samt fyrkantbalarna.

Variabel	Rundbalar vid öppning kontroll (n=3)	Rundbalar vid öppning tillsatsmedel (n=3)	Rundbalar vid ompressning kontroll (n=3)	Rundbalar vid ompressning tillsatsmedel (n=3)	Fyrkant-balar kontroll (n=9)	Fyrkant-balar tillsats (n=9)
Ts (g/kg foder)	558,0 ^{bc}	573,7 ^{abd}	536,0 ^c	576,3 ^{ab}	554,0 ^{cd}	586,8 ^a
SE	0,85	0,85	0,85	0,85	0,52	0,52
Aska	62,7 ^b	60,3 ^{ab}	62,7 ^{ab}	62,3 ^{ab}	62,8 ^b	59,9 ^a
SE	0,11	0,11	0,11	0,11	0,09	0,09
Råprotein	90,7	84,3	87,3	91,3	86,7	88,1
SE	0,21	0,21	0,21	0,21	0,16	0,16
NDF	600,3 ^{ab}	589,0 ^b	608,3 ^{ac}	590,7 ^b	612,1 ^a	600,6 ^{bc}
SE	0,57	0,57	0,57	0,57	0,33	0,33
WSC	105,7 ^b	134,0 ^a	110,0 ^b	129,7 ^a	114,3 ^b	124,7 ^a
SE	0,49	0,49	0,49	0,49	0,32	0,32
VOS	716,7 ^{ab}	713,0 ^{ac}	731,7 ^b	738,3 ^b	714,7 ^a	725,7 ^{bc}
SE	0,57	0,57	0,57	0,57	0,33	0,33
Energi häst (MJ/kg ts)	8,90 ^{bc}	8,90 ^{bc}	9,17 ^{ac}	9,30 ^a	8,90 ^{bc}	9,11 ^{ac}
SE	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
A-tal	2,57 ^{ab}	2,60 ^{ab}	2,47 ^{ab}	2,00 ^b	3,28 ^c	2,69 ^a
SE	0,186	0,186	0,186	0,186	0,126	0,126
pH	5,68 ^b	5,50 ^a	5,74 ^c	5,48 ^a	5,69 ^b	5,50 ^a
SE	0,024	0,024	0,024	0,024	0,011	0,011

Laktat	3,37 ^c	2,07 ^a	3,01 ^{bc}	1,87 ^a	3,01 ^c	2,44 ^{ab}
SE	0,029	0,029	0,029	0,029	0,017	0,017
Acetat	1,63 ^b	1,23 ^{ab}	1,27 ^{ab}	1,00 ^a	1,26 ^{ab}	1,19 ^a
SE	0,006	0,006	0,006	0,006	0,010	0,010
Propionat	0,50 ^d	1,50 ^c	0,53 ^d	1,87 ^b	0,50 ^d	1,26 ^a
SE	0,009	0,009	0,009	0,009	0,005	0,005
Etanol	17,17 ^b	9,33 ^a	17,60 ^b	6,23 ^a	14,87 ^b	7,46 ^a
SE	0,179	0,179	0,179	0,179	0,104	0,104
Mjölksyrabakterier	5,15 ^{ab}	5,32 ^{ab}	5,88 ^a	5,20 ^{ab}	5,75 ^a	4,91 ^b
SE	0,298	0,298	0,298	0,298	0,172	0,172
Mögel	-2,63	-4,78	-2,68	-0,14	-1,74	-1,75
SE	2,029	2,029	2,029	2,029	1,172	1,172
Enterobakterier	4,19 ^a	1,00 ^{ab}	1,52 ^{ab}	-2,46 ^b	1,39 ^{ab}	-0,59 ^{ab}
SE	2,261	2,261	2,261	2,261	1,306	1,306
Jäst	5,14 ^a	5,51 ^a	3,34 ^b	2,40 ^b	5,64 ^a	5,00 ^a
SE	0,407	0,407	0,407	0,407	0,235	0,235
Klostridier	-4,78	-2,58	-2,02	-4,78	-0,85	-3,38
SE	1,868	1,868	1,868	1,868	1,079	1,079

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma rad anger skillnad vid P<0,05

Synligt mögel

Alla balar kontrollerades för synlig mögeltillväxt vid ompressning, vid balöppning samt efter 14 dagars syreexponering på den sista dagen för temperaturmätning. Vid ompressningen var det endast en bal som hade synlig mögeltillväxt, en i kontrollbehandlingen. Detta mögel plockades bort innan balen pressades om.

Vid balöppningen 26:e och 27:e mars 2012 fanns synligt mögel på en fyrkantsbal i tillsatsbehandlingen och en fyrkantsbal i kontrollbehandlingen. Utbredningen var begränsad och mögelväxten upptog cirka 5 % av balytan för balen i tillsatsbehandlingen samt cirka 15 % balytan för balen ur kontrollbehandlingen. På en rundbal i kontrollbehandlingen fanns ett synligt hål i plasten på toppen av balen, men ingen synlig mögeltillväxt varken på den rundbalen eller på någon av de andra rundbalarna vid öppningstillfället.

Efter 14 dygns syreexponering fanns synlig mögelväxt på två fyrkantsbalar i tillsatsbehandlingen och fyra fyrkantsbalar i kontrollbehandlingen, samt på en rundbal i kontrollbehandlingen. Mögeltillväxten var begränsad och av liten omfattning (uppskattningsvis mindre än cirka 5-10 % av balytan) för alla småbalar utom en bal i kontrollbehandlingen, där i princip hela botten var angripen av synlig mögelväxt. Även för rundbalen med synlig mögeltillväxt var utbredningen begränsad och utgjorde cirka 10 % av mantelytan.

Två småbalar utan synlig mögeltillväxt, en från vardera tillsats- och kontrollbehandlingarna, hade en ”jordig” doft, vilket kan tyda på en tillväxt av aktinomyceter, men det fanns ingen synlig mögelväxt på dem.

Temperaturmätningar och aerob stabilitet

Medelvärden för skillnaden mellan baltemperatur och utomhustemperatur (dygnsmedeltemperatur) för de olika behandlingskombinationerna visas i tabell 8, och medeltemperaturen för de olika behandlingskombinationerna visas i tabell 9.

Utomhustemperaturen dagtid under mätperioden redovisas i tabell 10.

Tabell 8. Medelvärden för skillnaden mellan balarnas kärntemperatur och den omgivande dygnsmedeltemperaturen för de olika behandlingskombinationerna (°C)

Dag	Rundbal tillsatsmedel	Rundbal kontroll	Fyrkantsbal tillsatsmedel	Fyrkantsbal kontroll
0	1,3 ^b	1,5 ^b	4,9 ^a	3,1 ^b
	SE 0,88	0,88	0,51	0,51
1	4,0 ^c	3,7 ^c	1,1 ^a	0,3 ^b
	SE 0,23	0,23	0,40	0,40
2	6,3 ^c	5,9 ^{ac}	5,0 ^a	4,0 ^b
	SE 0,42	0,42	0,24	0,24
3	7,3 ^c	6,3 ^b	3,7 ^a	4,1 ^a
	SE 0,33	0,33	0,19	0,19
4	7,3 ^b	7,3 ^b	4,4 ^a	4,8 ^a
	SE 0,50	0,50	0,29	0,29
5	7,9 ^b	7,0 ^b	4,5 ^a	5,0 ^a
	SE 0,63	0,63	0,37	0,37
6	5,2 ^b	5,0 ^b	3,5 ^a	3,7 ^a
	SE 0,51	0,51	0,30	0,30
7	6,0 ^b	5,5 ^b	3,7 ^a	3,4 ^a
	SE 0,56	0,56	0,32	0,32
8	5,3 ^a	4,9 ^{ab}	3,8 ^{ab}	3,6 ^b
	SE 0,66	0,66	0,38	0,38
9	5,1	5,1	3,3	3,8
	SE 0,92	0,92	0,53	0,53
10	4,8	5,3	3,9	4,4
	SE 1,60	1,60	0,92	0,92
11	5,8	5,6	4,5	7,8
	SE 2,77	2,77	1,60	1,60
12	7,0	6,8	5,3	7,9
	SE 2,66	2,66	1,53	1,53
13	5,0	5,6	5,3	8,8
	SE 3,86	3,86	2,23	2,23
14	3,5	3,9	4,0	9,5
	SE 4,96	4,96	2,86	2,86

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma rad anger skillnad vid P<0,05

Tabell 9. Medeltemperatur (°C) för de olika behandlingskombinationerna

		Småbalar ensileringsmedel (n=9)	Rundbalar ensileringsmedel (n=3)	Småbalar kontroll (n=9)	Rundbalar kontroll (n=3)
Dag 0		11,5 ^a	10,9 ^{ab}	9,7 ^b	11,1 ^{ab}
	SE	0,51	0,88	0,51	0,88
Dag 1		10,7 ^a	10,9 ^a	9,9 ^b	10,6 ^{ab}
	SE	0,23	0,40	0,23	0,40
Dag 2		11,9 ^a	10,8 ^b	10,9 ^b	10,4 ^b
	SE	0,24	0,42	0,24	0,42
Dag 3		8,2 ^a	9,6 ^b	8,6 ^a	8,6 ^a
	SE	0,19	0,33	0,19	0,33
Dag 4		6,7	6,7	7,1	6,7
	SE	0,29	0,50	0,29	0,50
Dag 5		3,9 ^a	7,6 ^b	4,4 ^a	6,7 ^b
	SE	0,37	0,63	0,37	0,63
Dag 6		3,2 ^a	4,6 ^b	3,4 ^{ab}	4,4 ^{ab}
	SE	0,30	0,51	0,30	0,51
Dag 7		3,1 ^a	5,8 ^b	2,8 ^a	5,3 ^b
	SE	0,32	0,56	0,32	0,56
Dag 8		3,6 ^a	6,8 ^b	3,4 ^a	6,4 ^b
	SE	0,38	0,66	0,38	0,66
Dag 9		4,8 ^a	8,2 ^b	5,3 ^a	8,2 ^a
	SE	0,53	0,92	0,53	0,92
Dag 10		7,0	5,2	7,5	5,7
	SE	0,92	1,60	0,92	1,60
Dag 11		4,9	4,3	8,2	4,1
	SE	1,60	2,77	1,60	2,77
Dag 12		3,8	6,9	6,4	6,7
	SE	1,53	2,66	1,53	2,66
Dag 13		5,2	7,3	8,7	7,9
	SE	2,23	3,86	2,23	3,86
Dag 14		6,3	7,4	11,8	7,8
	SE	2,86	4,96	2,86	4,96

^{a,b} Olika bokstäver inom samma rad anger skillnad vid P<0,05

Tabell 10. Utomhustemperatur (°C) för Uppsala dagtid (klockan 13) för mätperioden för aerob stabilitet

Datum	26/3	27/3	28/3	29/3	30/3	31/3	1/4	2/4	3/4	4/4	5/4	6/4	7/4	8/4	9/4	10/4
Dag efter öppning för småbalar	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Dag efter öppning för rundbalar		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Dygnsmedeltemperatur (°C)	6,6	9,6	6,9	4,5	2,3	-0,6	-0,3	-0,6	-0,2	1,5	3,1	0,4	-1,5	-0,1	2,3	3,9

Mått och vikter vid balöppningen

Resultat för baldensitet, balvikt, volym, samt täthet visas i tabell 11 och tabell 12. Den extra plaståtgången vid ompressning redovisas i tabell 13.

Tabell 11. Medelvärden för balvikt, plastvikt, täthet, volym och densitet vid balöppning för fyrkantsbalar med och utan tillsats av ensileringsmedel (N=18)

	Fyrkantsbal tillsatsmedel	Fyrkantsbal kontroll	SE	P
Balvikt (kg)	39,3	40,1	0,72	NS
Plastvikt(kg)	0,29	0,30	0,007	NS
Täthet (sekunder)	65,4	35,8	14,95	NS
Volym (m ³)	0,13	0,13	0,002	0,04
Densitet (kg ts/m ³)	178,3	180,1	5,94	0,02

Tabell 12. Medelvärden för balvikt, plastvikt, täthet, volym och densitet vid balöppning för rundbalar med och utan tillsats av ensileringsmedel (N =6)

	Rundbal tillsatsmedel	Rundbal kontroll	SE	P
Balvikt (kg)	477,3	474,3	4,36	NS
Plastvikt (kg)	2,09	2,27	0,078	NS
Volym (m ³)	1,76	1,72	0,015	NS
Densitet (kg ts/m ³)	159,7	157,7	4,00	NS
Täthet (sekunder)	539,0	917,5	441,40	NS

Tabell 13. Plaståtgång vid ompressning jämfört med att endast pressa hösilaget som rundbalar

Variabel	Medelvärde
Antal småbalar per rundbal	11,6
Plastvikt per fyrkantsbal (kg)	0,30
Extra plaståtgång per rundbal vid ompressning (kg)	3,48
Plastvikt per rundbal (kg)	2,18
Extra plaståtgång per rundbal vid ompressning (% av plaståtgången för enbart rundbalspressning)	260

Diskussion

Kemiska och mikrobiella analyser

Vid ompressning

Före ompressning gav tillsatsmedlet en högre ts-halt, lägre NDF-halt och högre VOS-värde. Detta skulle kunna tyda på en minskad mikrobiell tillväxt i hösilaget då tillsatsmedel användes, eftersom tillväxt av bakterier och svampar dels har visat sig leda till ökade ts-förluster, och dels att vatten bildas vid mikrobernas cellandning (McDonald *et al.*, 1991). Liknande resultat erhöles i studien av Jaakkola *et al.* (2010) där hösilagen behandlade med ett propionatbaserat tillsatsmedel hade högre ts-halt än de hösilage som behandlats med inokulanter. Det högre VOS-värdet samt den lägre NDF-halten skulle också troligen kunna förklaras med skillnader i den mikrobiella aktiviteten i hösilagen, där mikroberna hämmades av tillsatsmedlet. Då mikrober, med undantag av mögel, har en väldigt begränsad förmåga att bryta ned fiberfraktionen av fodret förbrukas i huvudsak de mer lättillgängliga näringsämnen i fodret som energisubstrat av mikroberna (McDonald *et al.*, 1991). Detta borde då göra att proportionellt mer osmältbart material blir kvar i fodret när mikroberna tillväxer snabbare än

när de har en lägre tillväxt (McDonald *et al.*, 1991). Det lägre ts-värdet skulle möjligen kunna bero på dels direkta ts-förluster på grund av mikrobiell tillväxt och påföljande förlust av koldioxid (McDonald *et al.*, 1991), men skulle även möjligen kunna förklaras med att kontrollbehandlingen hade en högre halt flyktiga ämnen, till exempel VFA och etanol, som avdunstade vid torkning för ts-bestämning.

Före ompressning kunde även en sparande effekt på WSC ses i hösilaget som behandlats med tillsatsmedel. Detta kan också tyda på att den mikrobiella aktiviteten hämmades av tillsatsmedlet. Denna hämmande effekt påverkade även mjölksyrabakterierna i denna studie, då antalet mjölksyrabakterier, liksom laktathalten, var lägre i hösilaget behandlat med tillsatsmedel jämfört med kontrollen. Även acetathalten var lägre i de balar som behandlats med tillsatsmedel, vilket kan tyda på att tillväxten av heterofermentativa mjölksyrabakterier, eller möjligen enterobakterier hämmades av tillsatsmedlet (McDonald *et al.*, 1991). Ingen skillnad i jästhalt kunde ses, men etanolhalten var lägre i det tillsatsbehandlade hösilaget än i kontrollen, vilket tyder på en minskad jästaktivitet, då jästsvampar producerar etanol under sin anaeroba metabolism (McDonald *et al.*, 1991). Dock finns det även andra mikroorganismer, till exempel heterofermentativa mjölksyrabakterier och enterobakterier, som även de producerar etanol vid sin anaeroba metabolism (McDonald *et al.*, 1991), så det kan inte uteslutas att det var en hämmande tillväxt av dessa mikroorganismer som stod bakom minskningen i etanolhalt. I och med att bara totalantalet mjölksyrabakterier uppskattades, och ingen artbestämning gjordes, kan denna mängd innefatta både heterofermentativa och homofermentativa arter. Således är det möjligt att det är en minskad tillväxt av heterofermentativa mjölksyrabakterier som skulle kunna förklara den minskade acetat och etanolhalten i tillsatsbehandlingen, då ingen skillnad mellan behandlingarna fanns för varken mängden jäst eller enterobakterier.

Hösilagen med tillsatsmedel hade en högre propionathalt än hösilagen i kontrollbehandlingen. Denna högre propionathalt kunde troligen förklaras med det propionat som tillsattes i och med tillsatsmedlet. Även pH-värdet var lägre i hösilaget med tillsatsmedel, troligen som en följd av den högre propionathalten. Att propionathalten var högre i ensilage med tillsats av propionatbaserade preparat kunde även observeras i studien av Jaakkola *et al.* (2010). I studien av Jaakkola *et al.* (2010) var halterna propionat i ensilagen behandlade med propionat generellt lite högre än i nuvarande studie. Dock hade tillsatsbehandlingen i nuvarande studie en propionathalt som låg mellan 2,4 och 3,7 gånger propionathalten i kontrollbehandlingen. Det verkade i denna studie som att den propionatkoncentration som återfanns i det tillsatsbehandlade hösilagen är tillräcklig för att hämma oönskade mikroorganismer.

Vid balöppning

I ensilaget som pressades om hade tillsatsmedlet en hämmande effekt på den mikrobiella aktiviteten med lägre antal mjölksyrabakterier och laktathalt i behandlat hösilage jämfört med kontrollen. Inga skillnader kunde observeras i jästtillväxt i fyrkantsbalarna, även om etanolhalten, liksom i fallet med rundbalarna som pressades om, fortsatt var lägre i det foder som innehöll tillsatsmedlet, vilket skulle kunna indikera en lägre jästaktivitet (McDonald *et*

al., 1991). Även ts-, VOS- och WSC-halt var fortsatt högre i tillsatsbehandlingen, medan NDF-halten var högre för kontrollbehandlingen även efter att fodret pressats om. Propionathalten var fortsatt högre, samt pH-värdet lägre för tillsatsbehandlingen. Dock hade skillnaderna ökat mellan behandlingarna efter ompressning och lagring. Fyrkantbalarna med tillsatsmedel hade lägre energiinnehåll samt högre halter ammoniumkväve och A-tal än kontrollbehandlingen, vilket skulle kunna tyda på att en fortsatt mikrobiell nedbrytning av fodret skett efter ompressningen (McDonald *et al.*, 1991).

Vid en jämförelse mellan enbart fyrkantbalarna och proverna som togs från rundbalarna vid ompressningen kunde man se att användning av tillsatsmedel hämmade mjölksyrabakteriernas tillväxt, samt att småbalarna innehöll högre antal jäst än rundbalarna de pressades från. Tillsatsmedlet hade vid denna jämförelse även en viss hämmande effekt på jäst, med lägre jästhalter i denna behandling jämfört med kontrollbehandlingen sett över både fyrkantbalar och rundbalarna dessa pressades om från. Dock verkade även lagringstiden ha betydelse för jästtillväxten, då även de rundbalar som provtogs vid balöppningen hade en högre jästhalt än de rundbalar som provtogs vid ompressningen. Jästhalterna skilde sig inte mellan småbalarna och de rundbalar som öppnades samtidigt som dessa, vilket är en ytterligare indikation på att det kanske var den längre lagringsperioden snarare än ompressningen som gav den ökade jästtillväxten. Detta stöds av en tidigare studie där man bland annat fann att jästhalten ökade med ökad lagringsperiod, även om skillnaden i denna studie var mindre i ensilage med hög ts-halt än i ensilage med lägre ts-halt (Müller *et al.*, 2007).

Den högre jästhalten visade sig även som att rundbalarna som öppnades vid ompressningen hade högre halter VOS samt högre energivärden än de rundbalar som lagrats en längre tid. Detta tydde på att mikrobiell aktivitet fortgick i balarna vilket förbrukade lösliga näringsämnen.

De kvarvarande rundbalarna med tillsatsmedel hade lägre pH-värde, lägre laktat- och lägre acetathalt än kontrollbehandlingen. En effekt av lagringstid verkade finnas även vad gällde acetathalten, då de balar som provtogs vid ompressning hade lägre acetathalt än de rundbalar som lagrades en längre tid tillsammans med fyrkantbalarna. En möjlig slutsats av detta kunde vara att mjölksyrabakteriefloran gick från en mer homofermentativ sammansättning till en mer heterofermentativ sammansättning med ökad lagringstid, samt att tillsatsmedlet verkade hämmande även på de heterofermentativa mjölksyrabakterierna.

Smörsyrhalten var under detektionsgränsen för alla ensilage i detta försök, vilket tyder på att ingen betydande klostridietillväxt skett. Även halterna av myrsyra och 2,3-butandiol var under detektionsgränsen för alla ensilage. Att 2,3-butandiol var under detektionsgränsen tyder på att heller inga andra oönskade mikroorganismer, till exempel enterobakterier, har kunnat tillväxa, då 2,3-butandiol är en produkt av deras metabolism (McDonald *et al.*, 1991).

Denna studie tydde på att ompressningen inte hade någon märkbart negativ effekt och att de mikrobiologiska parametrarna påverkas i mycket liten grad. Både rundbalarna och det ompressade fodret höll över lag en godtagbar hygienisk kvalitet. Att tillsats av syrabaserade ensileringsmedel hämmar fermentationen och även tillväxten av mjölksyrabakterier har påvisats i flera studier (McDonald *et al.*, 1991; Jaakkola *et al.*, 2010).

Jämförelser med andra genomförda studier

Studier med direktpressat småbalsensilage (Müller, 2005) visade på liknande eller lägre halter av mjölksyrabakterier, högre halter av mögel och lite lägre halter av jäst jämfört med nuvarande studie.

En annan studie som kartlade den näringsmässiga och hygieniska kvaliteten hos hösilage som utfodrades till friska hästar (Müller *et al.*, 2011) visade högre innehåll av klostridier, liknande resultat för enterobakterier och jäst samt högre innehåll av mögel än i nuvarande studie. Även jämfört med de riktlinjer som finns för ensilage så verkade balarna i denna studie hålla en godtagbar hygienisk kvalitet med mjölksyrabakterier över riktvärdet (10^4 cfu/g), klostridier och enterobakterier under riktvärdet (10^3 cfu/g respektive 10^2 cfu/g). Vid öppningen 26:e och 27:e mars hade dock alla balar jästhalter över riktvärdet på 10^5 cfu/g (Spörndly, 2003). Jäst i sig har, som tidigare nämnts, inte visat sig ha några märkbara negativa effekter på djurs hälsa (Müller, 2005). Dock kan jäst fungera som en inkörsport för andra, potentiellt skadliga, mikroorganismer, som till exempel mögelsvampar och eventuellt *Bacillus spp.* samt ha en negativ effekt på den aeroba stabiliteten (McDonald *et al.*, 1991).

Kleinschmit *et al.* (2005) fann ingen positiv effekt av tillsats av buffrad propionat på aerob stabilitet eller jästtillväxt i sin studie, men drog slutsatsen att detta möjligen kunde förklaras med en för låg propionatkoncentration (0,1 %), och att en högre koncentration möjligen skulle ha en starkare hämmande effekt på jästtillväxt (Kleinschmit *et al.*, 2005). I andra studier där en hämmande effekt av propionat på jäst och mögeltillväxt har påvisats har koncentrationen varit högre (Kung *et al.*, 2000; Jaakkola *et al.*, 2010), så denna slutsats verkar rimlig. I nuvarande studie var koncentrationen av det propionat- och natriumbenzoatbaserade ensileringsmedlet cirka 4,2 % av färskvikten, vilket var inom tillverkarens rekommendationer för denna fodertyp (<http://www.addcon.com>). Det fanns i denna studie vissa indikationer på att ensileringsmedlet hade en hämmande effekt på jästtillväxt, men endast i jämförelsen mellan småbalarna och de rundbalar de pressats om från. Möjligen skulle effekten varit ännu starkare om ensileringsmedlet tillsatts i högre koncentration.

Temperatur och aerob stabilitet

Generellt var skillnaderna i temperatur ganska små, och endast i en bal (en småbal i kontrollbehandlingen) skedde en ordentlig varmgång från och med dag 9-10 efter öppning med den högsta temperaturen, 46,8 °C den sista mät dagen. Vid ompressning fanns synligt mögel på den bal som denna småbal pressades från. Dock hade varken denna småbal eller rundbalen den pressats om från högre halter mögel eller jäst än de andra rundbalarna. Värt att notera var dock att en annan småbal pressad från samma rundbal hade relativt höga halter av jäst och mögel jämfört med de andra småbalarna.

Vid balöppningen (dag 0) låg småbalarna högre över omgivande dygnsmedeltemperatur än storbalarna. Därefter var det istället storbalarna som låg signifikant högre över

lufttemperaturen jämfört med småbalarna fram till dygn nio efter öppning, varefter inga skillnader fanns mellan de olika behandlingskombinationerna, se tabell 8. Från balöppningen och 48 timmar framåt låg fyrkantbalarna i kontrollbehandlingen lägre över luftens dygnsmedeltemperatur än fyrkantbalarna med tillsatsmedel, och rundbalarna i kontrollbehandlingen låg lägre över omgivande dygnsmedeltemperatur än rundbalarna med tillsatsmedel dygn 3 efter öppning. Dock var det ingen temperaturskillnad mellan tillsatsmedel eller kontrollbehandling jämfört över alla balar för något mättillfälle. EFSA valde att definiera aerob stabilitet som den tid det tar för ensilagens temperatur att överstiga omgivande temperatur med mer än 3 grader (EFSA, 2011). Enligt denna definition var den aeroba stabiliteten 24 timmar i rundbalarna, och 48 timmar i fyrkantbalarna. Detta är lägre än aeroba stabilitet för gräsenilage i andra studier (Danner *et al.*, 2003; ESFA, 2011). Dock var den omgivande temperaturen jämnare i dessa försök, och man använde den faktiska omgivande temperaturen vid mättillfället istället för dygnsmedeltemperaturen för att beräkna den aeroba stabiliteten, vilket gör det svårt att direkt jämföra dessa resultat med denna studie.

Temperaturskillnaderna var stora i nuvarande studie, både mellan dag och natt, samt mellan olika dagar. Dessa snabba temperatursvängningar var en anledning till att balarnas temperatur jämfördes med dygnsmedeltemperaturen (tabell 10) och inte med den faktiska temperaturen vid mättillfället. Till exempel kommer en kall natt att sänka balarnas temperatur, och sedan tar det lite tid för den högre dagstemperaturen att värma upp balen igen. Samma princip gäller vid snabba väderomslag, om temperaturen plötsligt stiger eller sjunker från en dag till en annan så tar det ett tag för balarnas kärntemperatur att ändras, eftersom ensilaget i sig verkar isolerande. Därför kan det vara missvisande att jämföra balarnas kärntemperatur med lufttemperaturen vid mättillfället. Genom att använda dygnsmedeltemperaturen så tar man mer hänsyn till den temperatur som påverkat balen under en längre tid, och alltså skulle detta kunna ge en mer rättvisande bild av den aeroba stabiliteten. Dock är det svårt att veta hur lång tid det tar för en förändring i luftens temperatur att påverka balarnas kärntemperatur, om det rör sig om några timmar, ett dygn eller flera dygn, och detta har heller inte testats i denna studie. Därför är det svårt att säga ifall just dygnsmedeltemperaturen ger den absolut bästa jämförelsen.

Om man istället jämförde den faktiska temperaturen i balarna (och inte tog hänsyn till den omgivande temperaturen) hade småbalarna högre temperatur vid dag 2 efter balöppning, för att sedan ligga lägre än storbalarna de dagar det fanns skillnader (tabell 9). Dag 3 efter balöppning fanns en interaktion mellan baltyp och ensileringsmedel, där ensileringsmedlet verkar ge en lägre temperatur i småbalarna jämfört med kontrollbehandlingen. Dag 10 efter balöppning fanns inga skillnader i temperatur mellan de olika behandlingskombinationerna sett till den faktiska baltemperaturen.

Dock skedde som nämnts ovan ingen uttalad varmgång i mer än en bal, vilket ändå talade för en relativt god aerob stabilitet i fodret. De relativt höga jästhalterna i både småbalarna och rundbalarna vid öppning för mätning av aerob stabilitet borde kunna antas ha en negativ effekt på den aeroba stabiliteten, men detta kunde alltså inte ses i detta försök. Dock var utomhustemperaturen låg under mätperioden (mellan någon minusgrad nattetid och cirka 12-13 °C som varmast dagtid), vilket i sig kan antas gjort den mikrobiella tillväxten

långsammare än den skulle varit vid högre omgivande temperatur, närmare mikroorganismernas temperaturoptimum. Detta var nog en bidragande orsak till den relativt goda aeroba stabilitet som kunde observeras för de allra flesta balarna.

Den högre halten av propionat skulle kunna bidra till att öka den aeroba stabiliteten i balarna. I en studie med ett propionatbaserat tillsatsmedel såg man att den aeroba stabiliteten var högre i det propionatbehandlade ensilaget, även i ensilage med ts-halter uppemot 60 % (Jaakkola *et al.*, 2010). Detta kunde dock inte bekräftas i detta försök.

Mått och vikter vid balöppningen

Småbalarna med ensileringsmedel hade en lägre baldensitet och volym än småbalarna med kontrollbehandling. Detta skulle kunna bero på att balarna pressades om behandlingsvis, med de med ensileringsmedel först och de med kontrollbehandling efter. Detta gjordes för att hålla isär de olika behandlingarna. En lägre baldensitet leder till en högre genomsläpplighet av syre, vilket kan öka risken för mögel- och jästtillväxt och är alltså inte önskvärt i ensilagebalar (Müller, 2002). Dock var, som visas i tabell 11, skillnaderna i baldensitet små, och har troligen endast en marginell betydelse för ensilagens hygieniska kvalitet i denna studie. De uppmätta baldensiteterna i denna studie var dessutom höga jämfört med direktpressade småbalar (Müller, 2002), och även högre än en tidigare genomförd studie med ompressning av ensilage från rundbal till småbal (Müller, 2002). Den höga densiteten jämfört med direktpressade balar beror troligen på att fodret bearbetats först en gång vid pressningen och sedan ännu en gång vid ompressningen. Detta gör att stråna blir mjukare och därmed lättare att sammanpressa än i ett mindre bearbetat foder (Müller, 2002). I övrigt fanns inga skillnader mellan behandlingarna för småbalarna. Inte heller resultaten för rundbalarna visade på några skillnader mellan behandlingarna, se tabell 12.

Plaståtgången vid ompressning blev, som visas i tabell 13 mellan två och tre gånger så hög som vid enbart rundbalspressning. Dessutom tillkom det foderspill som uppkom vid ompressningen, till exempel foder som hamnade på marken och smutsas ned och därför måste kasseras. En annan typ av foderspill som förekom vid ompressningen i detta försök var att den sista småbalen från varje rundbal ibland blev för liten för att kunna plastas in, då den var för lätt för att ligga kvar på inplastaren under inplastning. Detta foderspill uppkom på grund av att hösilaget i detta försök måste hållas åtskilt mellan olika balar för analysernas skull. I praktiken blandar man ensilage från olika balar varvid detta problem inte uppkommer speciellt ofta, möjligen om man vill särskilja mellan foder med olika botanisk och/eller näringsmässig sammansättning vid ompressningen. Ovan nämnda faktorer, tillsammans med den extra tiden och kostnaden för arbete, gör att småbalarna borde bli märkbart dyrare att producera per kg foder än rundbalarna. Dock skulle det ändå kunna vara ett ekonomiskt försvarbart alternativ att producera dessa småbalar förutsatt att betalningsvilja finns hos till exempel hästägare för att täcka upp den extra kostnad som produktionen skulle innebära.

Täthet

En täthet på 100 sekunder brukar räknas som ett riktvärde för rundbalar (Müller, 2002). Med ledning av detta kunde man dra slutsatsen att storbalarna i detta försök hade en god täthet. Dock var variationen stor, med värden mellan 35 sekunder och över 1800 sekunder. En av balarna hade även ett synligt hål i plasten och för denna bal kunde inte någon täthet bestämmas. Av de rundbalar som ingick i detta försök var det dock bara två som hade en täthet under 100 sekunder.

När det gäller småbalar har 70 sekunder visat sig vara en godtagbar täthet (Müller, 2002). Medelvärdena för småbalarna i denna studie låg under detta värde, möjligen beroende på att fodret var ganska grovt och med en hög ts-halt. Detta gör att de hårda stjälkarna relativt enkelt kan sticka hål på plasten, i många fall hål så små att de inte syns med blotta ögat. Dessa små hål kan minska plastens täthet (McNamara *et al.*, 2002), och skulle kunna förklara de relativt låga värdena för många av balarna även om variationen var stor också här, mellan 5 och 156 sekunder, vilket gjorde det svårt att dra slutsatser mellan behandlingarna. Dock var förekomsten av synlig jäst- eller mögeltillväxt låg, och i de fall där sådan tillväxt förekom var den relativt begränsad i omfattning. Denna tillväxt borde kunna förväntats öka om balarna vore otäta.

Slutsats

Ompressning av hösilage från rundbal till småbal kan resultera i ett foder med fullt acceptabel hygienisk kvalitet och god aerob stabilitet. Den huvudsakliga mikrobiella förändring som ompressningen i detta försök gav upphov till var en ökad jästtillväxt, vilket inte är något som tros ha några negativa hälsoeffekter vid utfodring och troligen åtminstone delvis kan förklaras med den längre lagringsperioden för småbalarna, eftersom även de kvarvarande rundbalar som öppnades samtidigt med fyrkantbalarna hade högre jästantal, jämfört med de rundbalar som öppnades tidigare för att pressas om.

Det syrabaserade tillsatsmedlet gav ett lägre pH-värde i hösilaget och hade en viss hämmande effekt på mjölksyrabakterier och jästsvampar. Denna hämmande effekt på jästtillväxten skulle kunna göra denna typ av tillsatsmedel intressanta vid ompressning, eventuellt i en ännu högre dosering än vad som användes i detta försök.

Abstract

Many horse stables are small with only a few animals in each stable. These stables are also often less mechanized than stables housing other farm animals. This has created a requirement from horse-owners for silage or haylage in small bales, partly so that the bale can be fed out before the feed has been spoiled by aerobic deterioration, and partly because smaller bales are easier to handle manually than large bales. Production of small bales directly in the field is more weather-dependent and time consuming than the production of large

bales, why some forage producers instead choose to first produce large haylage bales during harvest, and then open the large bales with already conserved forage and rebale it into smaller bales before selling.

The purpose of this experiment was to study the effect this rebaling procedure on the chemical and microbial composition of the forage, and to investigate if adding an acid-based additive to the forage resulted in a different microbial and chemical composition in the forage compared to controls, after rebaling. Also, the aerobic storage stability of opened bales was investigated, to determine if it was affected by the rebaling procedure compared to bales that were not rebaled but stored for the same period.

To do this, six round bales of haylage with the additive Addcon Kofa grain pH 5[®] and six round bales without additive (control) was produced from the same grass crop. After six months of storage, three round bales from each treatment were opened and rebaled into small square bales that were wrapped individually. These bales together with the remaining round bales were stored in a stack outdoors for 10 weeks before all the bales were opened for sampling and determination of aerobic stability. Samples for chemical and microbial analysis were taken with a core sampler at rebaling and at opening. Aerobic storage stability was followed by measuring bale temperature daily in opened bales for 14 days.

The results showed that both the small square bales and the large round bales had an acceptable hygienic quality with low to normal counts of moulds, clostridia and enterobacteria. However, the yeast counts were higher than desirable, both for the rebaled haylage in small bales and for the haylage in large bales that were stored for an equally long period as the small bales. This has, however, most likely no negative effect on animal health during feeding, but might potentially have an adverse effect on the aerobic stability. The additive suppressed the growth of lactic acid bacteria and gave a haylage with lower pH, lactate content, ammonia-nitrogen content and ethanol content compared to the control. There were also indications that the additive had a suppressing effect on the growth of yeast in the rebaled forage, compared to the yeast counts before rebaling. The aerobic stability was acceptable, both in small bales and large bales, with significant heat production in only one small bale of 18.

The conclusion of this study is that it is possible to produce a haylage of adequate hygienic quality through a rebaling procedure. Acid based additives seemed to have a suppressing effect on the growth of undesired microorganisms in haylage, why it can be motivated to use these additives when rebaling forage into small bales from large bales, to counteract the negative effect the extra aerobic exposure might have on the hygienic quality.

The production costs for small bales made from large bales are much higher than the costs for only making large bales. This might, however, not be an obstacle if the buyers of such small bales are willing to pay for these increased production costs.

Acknowledgements

Ett stort tack till följande personer: min handledare Cecilia Müller för all hjälp och goda råd kring arbetet. Börje Ericsson på Kungsängens laboratorium för de utförda kemiska analyserna och svar på mina frågor, och Jorge André för handledning och svar på mina frågor kring provberedningen. Elin Svedberg, Simon Annmo, Johan Andersson och Sune Andersson för hjälp vid ompressningen, Rainer Nylund för hjälp vid balöppningen och Mats Westman för att vi fick låna inplastaren.

Referenser

- Andersson, R., och Hedlund, B., 1983. HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 176, 440–443.
- Blank, S., Klonsky, K., Fuller, K., Orloff, S. och Putnam, D.H., 2009. Hay harvesting services respond to market trends. *California Agriculture*, 63, 143-148.
- Caloni, F. och Cortovis, C., 2010. Effects of fusariotoxins in the equine species. *The Veterinary Journal*, 186, 157-161.
- Carlile, F.S., 1984. Techniques for the isolation and identification of lactic acid bacteria and clostridia in silage. In: Gordon F.J. and Unsworth E.F. (eds) *Proceedings of the VIIth International Silage Conference*, The Queens University, Belfast, 1984, pp. 67–68. Belfast, UK: Queen's University.
- Chai, W. och Udén, P., 1998. An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre. *Animal Feed Science and Technology*, 74, 281–288.
- Cheeke, P.R. och Dierenfeld, E.S., 2010. *Comparative nutrition and metabolism*. CABI international. Cambridge, USA. pp 78-79.
- Danner, H., Holzer, M., Mayrhuber, E. och Braun, R., 2003. Acetic Acid Increases Stability of Silage under Aerobic Conditions. *Applied and environmental microbiology*, 69, 562-567.
- Driehuis, F., Oude Elferink, S.J.W.H. och Spoelstra, S.F., 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 583–594.
- Dürr, L., 2004. Silage effluent production from round baled grass silage. Land use systems in grassland dominated regions. *Proceedings of the 20th General Meeting of the European Grassland Federation*, Luzern, Switzerland, 21-24 June 2004 Pp: 894-896.

European Food Safety Authority (EFSA), 2011. Scientific Opinion on the safety and efficacy of *Lactobacillus buchneri* (DSM 12856) as a silage additive for all species. *EFSA Journal* 9:2361.

Enhäll, J., Nordgren, M. och Kättström, H., 2012. Hästhållning i Sverige 2010. SJV rapport 2012:1. ISSN 1102-3007.

Eriksson, H., 2005. Råd inför ensileringen. *Nytt från institutionen för norrländsk jordbruksvetenskap: husdjur*, 2005:2. ISSN 1651-0801.

Field, M. och Wilman, D., 1996. pH in relation to DM content in clamped and baled grass silages in England and Wales. Page 126 In Proc. 11th Int. Silage Conf. D.I.H. Jones, R.Jones, R. Dewhurst, R. Merry, and P. M. Haigh, eds. IGER, Aberystwyth, UK

Gabrielson, K.L., Hogue, B.A., Bohr, V.A., Cardounel, A.J., Nakajima, W., Kofler, J., Zweier, J.L., Rodriguez, R.E., Martin, L.J., de Souza-Pinto, N.C. och Bressler, J., 2001. Mitochondrial Toxin 3-Nitropropionic Acid Induces Cardiac and Neurotoxicity Differentially in Mice. *American Journal of Pathology*, 159, 1507-1520.

Gleerup, A., 2000. Ensilage och djurhälsa. Examensarbete 127. Inst. för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Henderson, A.R., Ewarta, J.M. och Robertson, G.M., 1979. Studies on the Aerobic Stability of Commercial Silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30, 223-228.

Hendersson, N., 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*, 45, 35-56.

Hollman, M., Razzazi-Fazeli, E., Grajewski, J., Twaruzek, M., Sulyok, M. och Bohm, J., 2008. Detection of 3-nitropropionic acid and cytotoxicity in *Mucor circinelloides*. *Mycotoxin research*, 24, 140-150.

Holmquist, S., 2000. Vallfoderrelaterade problem vid utfodring av hästar. Examensarbete 142. Inst. för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Huisden, C.M., Adesogan, A.T., Kim, S.C. och Ososanya, T., 2008. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science* 92, 690–697.

Jaakkola, S., Saarisalo, E. och Heikkila, T., 2010. Aerobic stability and fermentation quality of round bale silage treated with inoculants or propionic acid. Grassland in a changing world. Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation, Kiel, Germany, 29th August - 2nd September 2010, 503-505.

Jonsson, A., Lindberg, H. och Sundhs, S., 1990. Effect on additives on the quality of big-bale silage. *Animal Feed Science and Technology*, 31, 139-155.

- Kleinschmit, D.H., Schmidt, R.J., Kung, L., 2005. The Effects of Various Antifungal Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *Journal of Dairy Science*, 88, 2130–2139.
- Kung, L., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M. och Pesek, J.D., 2000. Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid-Based Preservative. *Journal of Dairy Science*, 83, 1479–1486.
- Kung, L., 2001. Silage fermentation and additives. Science and technology in the feed industry. Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium: a time for answers, pp. 145-159.
- Larsson, K., och Bengtsson, S., 1983. Bestämning av lättillgängliga kolhydrater i växtmaterial (Determination of water soluble carbohydrates in plant material) (In Swedish) Method 22, Statens Lantbrukskemiska Laboratorium, Uppsala, Sverige.
- Lepage, O.M., Perron, M.F. och Cador, J.L., 2004. The mystery of fungal infection in the guttural pouches. *The Veterinary Journal*, 168, 60–64.
- Li, Y. och Nishimo, N., 2011a. Effects of inoculation of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and microbial communities in whole crop corn silage *Grassland Science*, 57, 184–191.
- Li, Y., och Nishino, N., 2011b. Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*. *Letters in Applied Microbiology* 52, 314–321.
- Lindgren, E., 1983. Vallfodrets näringsvärde bestämt in vivo och med olika laboratoriemetoder (Forage analysis-method descriptions for sampling and analysis) (In Swedish) Rapport 45, institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- McDonald, P., Henderson, A.R. och Heron, S.J.E., 1991. The biochemistry of silage 2nd edition. Chalcombe publications. Marlow, Bucks. pp 48-250.
- McNamara, K., O'Kiely, P., Whelan, J., Forristal, P.D. och Lenehan, J.J., 2002. Simulated bird damage to the plastic stretch-film surrounding baled silage and its effects on conservation statistics. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 41, 29-41.
- Müller, C.E., 2002. Småbalsensilering – paketensilage till hästar. Rapport 254. Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Müller, C.E., 2005. Fermentation patterns of small-bale silage and haylage produced as a feed for horses. *Grass and Forage Science*, 60, 109–118.
- Müller, C.E., Pauly, T.M., Udén, P., 2007. Storage of small bale silage and haylage – influence of storage period on fermentation variables and microbial composition. *Grass and Forage Science*, 62, 274–283.

- Müller, C. E., Hultén, C. och Gröndahl, G., 2011. Assessment of hygienic quality of haylage fed to healthy horses. *Grass and Forage science* 66, 453–463.
- Pitt, R.E., Muck, R.E. och Pickering, N.B., 1991. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. *Grass and Forage science* 46, 301-312.
- Rütten, M., Lehner, A., Pospschil, A. och Sydler, T., 2006. Cerebral Listeriosis in an Adult Freiburger Gelding. *Journal of Comparative Pathology*, 134, 249–253.
- Scudamore, K.A. och Livesey, C.T, 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 1-17.
- Seale D.R., Pahlow, G., Spoelstra, S.F., Lindgren, S., Dellagio, F. och Lowe, J.F., 1986. Methods for the microbiological analysis of silage. In: Lindgren S. och Pettersson K.L. (eds) Proceedings of the Eurobac Conference, Uppsala, Sweden, pp. 147–164. Uppsala, Sweden: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Spörndly, R. 2003. Fodertabeller för idisslare. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. pp. 78-79.
- Sundberg, M., 1999. Ensilage i balar till hästar. Teknik för lantbruket 76. JTI rapport nr 76. ISSN: 0282-6674.
- Taylor, C.C., Ranjir, N.J., Mills, J.A., Neylon, M. och Kung, L., 2002. The Effect of Treating Whole-Plant Barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on Silage Fermentation, Aerobic Stability, and Nutritive Value for Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 1793–1800.
- Tell, L.A., 2005. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. *Medical Mycology Supplement*, 43, 71-73.
- Tunney, H., 1997. Phosphorus loss from soil to water. Phosphorus fertilizer strategies: present and future pp. 177-203. CAB International, Wallingford Oxon OX10 8DE, England, UK.
- Umaña R., Staples, C.R., Bates, D.B., Wilcox, C.J. och Mahanna, W.C., 1991. Aerobic stability and digestibility of Bermuda grass ensiled at two moisture contents -Effects of a microbial inoculant and (or) sugarcane molasses on the fermentation. *Journal of Animal Science* 69, 4588-4601.
- Van Soest P.J., Robertson J.B. och Lewis B.A., 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
- Wagener, R.E., Davis, N.D. och Diener, U.L., 1980. Penitrem A and Roquefortine production by *Penicillium commune*. *Applied and Environmental Microbiology* 39, 882-887.
- Weinberg, Z.G. och Muck, R.E., 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*, 19, 53-68.

Woolford, M. K., 1975. Microbiological Screening of the Straight Chain Fatty Acids (C1-C12) as Potential Silage Additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 219-228.

Woolford, M. K. 1990. The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology* 68, 101- 111.

Wyss, U., Honig, H. och Pahlow, G., 1991. The influence of air stress and the effect of specific additives on the aerobic stability of wilted grass silage. *Wirtschaftseigene Futter*, 37, 129-141.

Elektroniska källor:

<http://www.addcon.com> 2012-05-08

Nr	Titel och författare	År
369	Hästens behov av vitamin A, D och E i foderstaten The requirement of vitamins A, D and E in equine feed 15 hp G2E-nivå Caroline Robersson	2012
370	The effect of social rank on milking and feeding behaviour in automatic milking system for diary cows 30 hp A2E-nivå Tina Danielsson	2012
371	Stallmiljöns inverkan på förekomst av gödselförorenade slaktsvin Barn environments impact on the presence of manure contaminated pigs 30 hp A2E-nivå Anna Karlsson	2012
372	Raps som fodermedel till slaktkycklingar Rapeseed meal and rapeseed in broiler diets 30 hp A2E-nivå Åsa Karlsson	2012
373	Hur kan kalvningsförflamning förebyggas? How to prevent milk fever? 15 hp G2E-nivå Ida Hansson	2012
374	Effect of botanically diverse pastures on the milk fatty acid profiles in New Zealand dairy cows 30 hp A2E-level Gunilla Ström	2012
375	Renen – En framtida mjölkproducent? The reindeer – A future milk producer? 15 hp G2E-nivå Alexandra Sveen	2012
376	Mjölkkureahalten som mått på vommikrobernas kväveförsörjning och kons miljöbelastning Milk urea concentration as a measure of nitrogen supply to rumen microbes and indicator of the environmental load 15 hp G2E-nivå Anna Strömgren	2012

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15, 30, 45 eller 60 högskolepoäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet. En förteckning över senast utgivna arbeten i denna serie återfinns sist i häftet. Dessa, samt tidigare arbeten, kan i mån av tillgång erhållas från institutionen.

In this series Degree projects (corresponding 15, 30, 45 or 60 credits) at the Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, are published. Earlier numbers are listed at the end of this report and may be obtained from the department as long as supplies last.

DISTRIBUTION:
Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Box 7024
750 07 UPPSALA
Tel. 018-67 28 17
