



Inverkan av konserveringsmedel för spannmål på ensilering av hösilage

Using a grain preservative as silage additive to haylage



av

Amelie Gottfridsson

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

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

**Examensarbete 339
30 hp E-nivå**

Uppsala 2011



Inverkan av konserveringsmedel för spannmål på ensilering av hösilage

Using a grain preservative as silage additive to haylage

av

Amelie Gottfridsson

Handledare: Cecilia Müller

Examinator: Rolf Spörndly

Nyckelord: Ensilage, hösilage, ensileringsmedel, aerob lagringsstabilitet

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

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

**Examensarbete 339
30 hp E-nivå
Kurskod: EX0552
Uppsala 2011**

Innehållsförteckning

Sammanfattning	1
Inledning	2
Litteraturstudie	3
Ensilering	3
Ensileringsprocessens olika faser	3
<i>Inläggningsfas</i>	3
<i>Aktiv fermentationsfas</i>	3
<i>Stabil fas</i>	4
<i>Uttagsfas</i>	4
Inplastade ensilagebalar	5
Syretillgång och frånvaron av mekanisk bearbetning	5
Förtorkning	5
Hösilage	6
Hösilage och hygienisk kvalitet	7
Hösilage och aerob lagringsstabilitet	7
Faktorer som påverkar fodrets hygieniska kvalitet	8
Mögel	8
Jäst	8
Bakterier	9
<i>Klostridier</i>	9
<i>Enterobakterier</i>	10
<i>Bacilli</i>	11
<i>Listeria</i>	11
Bedömning av fodrets hygieniska kvalitet	11
<i>Riktvärden</i>	11
Ensileringsmedel	12
<i>Natriumbensoat</i>	14
<i>Propionsyrabaserade tillsatsmedel</i>	14
Försök	16
Målsättning	16
Material och metoder	16
Grönmasseanalyser	18
Ensilage- och hösilaganalyser	18
Statistisk bearbetning	19
Resultat	19
Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i grönmassa	19
Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i foder vid siloöppning	20
Lagringsförluster	23
Mikrobiologisk sammansättning i foder efter aerob lagring	25
<i>Synlig tillväxt av svamp efter aerob lagring</i>	26
<i>Temperaturutveckling under aerob lagring</i>	27
Diskussion	29
Torrsubstanshaltens inverkan på hygienisk kvalitet och näringsförluster	29
Torrsubstanshaltens inverkan på den aeroba lagringsstabiliteten	31

Ensileringsmedlets egenskaper som konserveringsmedel	31
Ensileringsmedlets inverkan på den aeroba lagringsstabiliteten	32
Begränsningar med försöket	33
Slutsatser	33
Acknowledgements	34
Abstract	34
Litteraturförteckning	36

Sammanfattning

En allt större del av Sveriges hästar utfodras i dag med inplastat vallfoder. Inplastat vallfoder som ges till hästar har ofta relativt hög torrsubstanshalt och benämns vanligen hösilage. I hösilaget bildas ingen eller en mindre mängd mjölksyra än i våtare ensilage, och det i sin tur innebär att pH-sänkningen blir mindre eller uteblir, och att relativt höga halter restsocker (WSC, water soluble carbohydrates) finns kvar i fodret vid öppning av balen. Detta kan gynna mikroorganismer som jästsvampar, vilket kan leda till en kort aerob lagringsstabilitet. Det är ett problem eftersom ungefär 75 % av Sveriges hästar inhyses i stall med bara 1 till 4 hästar (Persson, 2005), vilket medför att en öppnad hösilagebal i många fall inte går åt snabbare än den aeroba förskämningen framskrider. Syrakonservering av spannmål innebär liknande förutsättningar som de som råder vid konservering av hösilage, med hög torrsubstanshalt och problem med svamp. Konserveringsmedel som utvecklats för syrakonservering av spannmål skulle därmed kunna vara av intresse även för hösilage. Sådana medel innehåller ofta syror och salter som t.ex. natriumbensoat och propionsyra. Natriumbensoat dödar jästcellerna genom att sänka cellens pH-värde (Krebs *et al.*, 1983), och propionsyrabaserade tillsatser har svamphämmande egenskaper bl.a. genom att syran är aktiv på mikroorganismernas yta där den tävlar med aminosyror om ”active sites” på enzymerna, eller genom att ändra cellpermeabiliteten hos organismen (Kung *et al.*, 2003). Syftet med den här undersökningen var att utreda hur ett specifikt konserveringsmedel¹ bestående av natriumbensoat, propionsyra och natriumpropionat fungerar som ensileringsmedel i ensilage och hösilage, och om tillsats av medlet påverkar den aeroba lagringsstabiliteten i dessa fodermedel.

För att utvärdera vilken effekt detta ensileringsmedel har konserverades grönmassa med torrsubstanshalterna 300 (L), 500 (M) och 700 (H) g ts/kg i laboratoriesilor. Hälften av grönmassan i varje torrsubstanshalt behandlades med ensileringsmedel. För att följa lagringsförlusterna vägdes silorna dagligen i tre till fyra dagar, och därefter vägdes de ungefär var tredje dag i två veckor, och sedan en gång per vecka. Efter 60-62 dagar öppnades silorna varpå synlig jäst- och mögeltillväxt registrerades, och prover togs för mikrobiologisk och kemisk analys. I samband med öppningen av silorna sprayades hälften av den behandlade och hälften av den obehandlade grönmassan åter med ensileringsmedel på ytan. Silorna lämnades öppna i sju dagar i 20°C och temperaturen registrerades automatiskt varannan timme. Efter den aeroba lagringen togs åter prover för analys av svamp och synlig svamptillväxt registrerades.

Foder som hade behandlats med ensileringsmedel vid inläggningen fick generellt ett lägre pH-värde, lägre halt råprotein och mjölksyrabakterier (LAB), och högre innehåll av torrsubstans. I L och M blev innehållet av WSC högre i behandlat än i obehandlat foder och i L blev innehållet av omsättbar energi högre än i obehandlat foder. När ensileringsmedel användes minskade halten fermentationsprodukter, främst i L, och lagringsförlusterna minskade i L och M. Varken förtorkningsgraden eller tillsats av ensileringsmedel påverkade innehållet av jäst och mögel under den anaeroba lagringen. Desto mer förtorkad grödan var desto lägre blev lagringsförlusterna under den anaeroba lagringen och desto lägre antal jästsvampar och mögelsvampar detekterades efter 7 dagars aerob lagring. Tillsats av ensileringsmedel vid inläggning minskade tillväxten av jäst och mögel under den aeroba lagringen i alla behandlingsled. En ytterligare behandling vid öppning minskade inte tillväxten. Att bara behandla fodret vid öppning av silorna ledde till att mögeltillväxten blev lägre än i helt obehandlat material, men det påverkade inte innehållet av jästsvamp. Slutsatsen från försöket

¹ Kofa® Grain pH5, Addcon Nordic AS, Tyskland

är att ensileringsmedlet fungerade för att förlänga den aeroba lagringsstabilitet, och bäst resultat uppnåddes när ensileringsmedlet tillsattes redan vid inläggningen av grönmassan.

Inledning

Grovfodret utgör basen i hästens foderstat, och för att hästarna ska må bra och kunna prestera som önskat, måste fodret vara av bra näringsmässig och hygienisk kvalitet. Dålig hygien på fodret kan t.ex. innebära att fodret innehåller mögelsvamp, bakterier och toxiner, vilket kan ge upphov till bl.a. luftvägsproblem (Robinson *et al.*, 1996; Séguin *et al.*, 2010), kolik (Kaya *et al.*, 2009), och mykotoxinförgiftningar med t.ex. sämre immunförsvar och neurologiska störningar som följd (Scudamore och Livesey, 1998).

Av tradition utfodras hästar ofta med hö, men om det inte produceras och lagras under bra förhållanden, dvs. torrt och luftigt, drabbas det lätt av mögeltillväxt (Lacey, 1989). Produktionen och lagringen av inplastat vallfoder är inte lika väderberoende som för hö, och användningen av inplastat vallfoder har på senare år ökat. I dagsläget utgör det en stor andel av grovfodret som ges till Sveriges hästar. År 2000 utförde Holmquist en studie i Stockholms och Uppsala län med syftet att se hur vanligt det var att använda inplastat vallfoder som det enda grovfodret eller som en del av grovfodergivan. Av hästarna i studien utfodrades 41 % med inplastat vallfoder. När Billyson gjorde en liknande studie på ridskolor i Skåne år 2002, var användningen av inplastat vallfoder så hög som 89 %, och i en studie av travtränare i norrland 2007 använde sig 63 % av inplastat vallfoder (Westerlund, 2007). Som inplastat vallfoder räknas framför allt ensilage och hösilage i bal. Ensilage konserveras via syrefri miljö, närvaro av mjölksyrabakterier och en pH-sänkning (McDonald *et al.*, 1991a). Till hästar är det vanligt att grönmassan förtorkas till en relativt hög torrsubstanshalt. Ett sådant foder benämns ofta hösilage (Muhonen *et al.*, 2009; Jaakkola *et al.*, 2010; Wyss, 2010). Det finns ingen definitionsmissig gräns för vad som är hösilage och vad som är ensilage, men ofta pratar man om hösilage när fodret har en torrsubstanshalt över ca 500 g ts/kg (Gordon *et al.*, 1961; Müller, 2005).

I hösilage bildas ingen eller en mindre mängd mjölksyra, och det i sin tur innebär att pH-sänkningen blir mindre eller uteblir (Gordon *et al.*, 1961; Gordon *et al.*, 1965). Det är främst den anaeroba miljön som står för konserveringen. Den uteblivna mjölksyrabildningen i hösilage medför att det ofta finns relativt höga halter lättlösliga kolhydrater (WSC) kvar i fodret när balen öppnas (Woolford, 1990; McEniry *et al.*, 2008). Detta kan gynna mikroorganismer som jästsvampar, vilket leder till att förskämningssprocessen och värmebildning kan ske snabbt efter öppning av balen (Woolford, 1990). Kort aerob lagringsstabilitet i öppnade balar är ett problem, eftersom 75 % av Sveriges hästar inhyses i stall med bara 1 till 4 hästar (Persson, 2005). Vid ett så litet antal hästar är foderåtgången långsam och en bal räcker därmed länge. Det finns därmed en risk att förskämningssprocessen framskrider snabbare än hösilaget går åt vilket kan leda till problem med bl.a. mögeltillväxt och utgör således en hälsorisk för hästarna. Genom att tillsätta ett ensileringsmedel som motverkar förskämningen skulle den aeroba lagringsstabiliteten teoretiskt sett kunna förlängas. Konserveringsmedel som utvecklats för syrakonservering av spannmål kan vara av intresse även för detta ändamål. Sådana medel innehåller ofta syror och salter som t.ex. natriumbensoat, propionsyra och natriumpropionat. Natriumbensoat dödar jästcellerna genom att sänka cellens pH-värde (Krebs *et al.*, 1983), och propionsyrabaserade tillsatser har svamphämmande egenskaper bl.a. genom att syran är aktiv på mikroorganismernas yta där

den tävlar med aminosyror om "active sites" på enzymerna, eller genom att ändra cellpermeabiliteten hos organismen (Kung *et al.*, 2003).

Syftet med detta examensarbete var att undersöka hur ett specifikt konserveringsmedel för syrakonservering av spannmål fungerar som ensileringsmedel i inplastat vallfoder, och om tillsats av medlet påverkar den aeroba lagringsstabiliteten i dessa fodermedel.

Litteraturstudie

Ensilering

Ensileringsprocessens olika faser

Ensileringsprocessen bygger på att mjölksyrabakterier (LAB) fermenterar WSC till organiska syror under anaeroba förhållanden (Weinberg och Muck, 1996; Williams *et al.*, 1997). Syrorna gör att pH-värdet i fodret sjunker, och det låga pH-värdet ihop med frånvaron av syre gör att många mikroorganismer inte klarar att växa (Williams *et al.*, 1997). Det är väldigt viktigt att en syrefri miljö uppnås eftersom den hindrar tillväxt av mögel, aeroba jästsvampar och bakterier (Woolford, 1990; Keller *et al.*, 1998) och den anaeroba miljön stimulerar även mjölksyrabakteriernas tillväxt och förhindrar växternas respiration. Ensileringen kan delas in i fyra faser; inläggning, aktiv fermentationsfas, stabil fas och uttagsfas (Muck och Pitt, 1993).

Inläggningsfas

När balen eller silon försluts efter inläggning av gröda ligger pH-värdet i grönmassan mellan 5 och 6, och det finns fortfarande tillgång till syre. Det leder till att växterna och mikroorganismerna fortsätter att cellandas i några timmar ända upp till flera dagar (Kung, 2001). De aeroba och fakultativt aeroba mikroorganismerna utgörs bl.a. av jästsvamp och mögelsvamp. Det är dock främst växtenzymerna som står för förändringar och förluster i ensilaget under den här fasen (Muck och Pitt, 1993). Respirationen medför näringsförluster eftersom socker förbrukas och värme, vatten och koldioxid bildas (Henderson, 1993; Muck & Pitt, 1993). Växtenzymernas proteasaktivitet leder även till att proteiner bryts ner till aminosyror (Muck & Pitt, 1993). Eftersom aktiviteten fortgår tills syret tar slut är det viktigt att uppnå en anaerob miljö snabbt för att undvika att oönskade mikroorganismer hinner växa till och större näringsförluster sker (Kung, 2001).

Aktiv fermentationsfas

Syret måste förbrukas innan den önskade fermentationen kan inledas i någon större utsträckning. Mjölksyrabakterierna klarar att växa både anaerobt och aerobt, men metabolismen är hela tiden fermentativ oberoende om syre finns tillgänglig eller ej (McDonald *et al.*, 1991b), och en anaerob miljö gynnar mjölksyrabakteriernas tillväxt (Jonsson, 1989; Muck och Pitt, 1993). Mjölksyrabakterierna utnyttjar WSC i sin energimetabolism och producerar samtidigt organiska syror som mjölksyra, vilket leder till en pH-sänkning (Kung, 2001). Mängden WSC minskar därför som en följd av ensileringen (Jonsson, 1989). Glukos och sackaros är de viktigaste substraten. Sänkningen av pH-värdet

gör att växtcellerna kollapsar, vilket frigör näring som ytterligare stimulerar tillväxten av LAB (Jonsson, 1989). När syret tar slut tävlar fakultativa och obligat anaeroba mikroorganismer som enterobakterier, klostridier, vissa *bacilli* och jäst med LAB om näringen (McDonald *et al.*, 1991b). Det låga pH-värdet och närvaron av mjölksyra ihop med den syrefria miljön gör att många mikroorganismer inte klarar att växa (McDonald *et al.*, 1991a). Mjölksyran inhiberar oönskade bakterier genom att höja vätejonkoncentrationen till en nivå som de inte klarar av. Ett lågt pH inaktiverar dessutom växtenzymerna (Jonsson, 1989).

Mjölksyra är den i särklass starkaste syra som produceras under fermentationen och därför är den önskad som slutprodukt (Kung, 2001). Homofermentativa mjölksyrabakterier ger främst upphov till mjölksyra medan heterofermentativa mjölksyrabakterier kan ge upphov till mjölksyra, etanol och koldioxid (Madigan och Martinko 2006). Därmed eftersträvas en homofermentativ förjäsning i ensilaget (Kung, 2001). Den heterofermentativa förjäsningen är mindre önskad även av den anledningen att den leder till ts-förluster pga. bildandet av koldioxid (Woolford, 1990).

Det är inte alltid den önskade fermentationen dominerar. Orsaker kan t.ex. vara att syre läcker in i balen/silon eller att det finns brist på fermenterbara kolhydrater. Syretillgång efter förslutningen motverkar plasmolys och tillväxt av LAB (Jonsson, 1989) och kan leda till att de homofermentativa arterna av LAB producera ättiksyra eller myrsyra i stället för mjölksyra (Lindgren, 1994). Brist på näring kan också leda till att de homofermentativa mjölksyrabakterierna producerar ättiksyra i stället för mjölksyra (Lindgren, 1994). Brist på fermenterbara kolhydrater kan även leda till att pH-värdet inte sänks tillräckligt mycket under ensileringen för att förhindra tillväxt av andra mikroorganismer, vilket kan leda till att mjölksyran omvandlas via mikrobiell aktivitet till bl.a. smörsyra, propionsyra, ättiksyra eller myrsyra (Gibson, 1965). Som nämnts tidigare leder tillgång till syre till att ett flertal mikroorganismer som aerob jäst, mögel och aeroba bakterier klarar att växa i ensilaget (Woolford, 1990; O'Brien *et al.*, 2007). Det finns en risk att en del av dessa mikroorganismer är patogena (Scudamore och Livesey, 1998). Mikroorganismernas aktivitet kan även leda till värmeproduktion och ts-förluster, vilket ger ett minskat näringsvärde i ensilaget (Woolford, 1990).

Stabil fas

Fermentationen pågår från några dagar till flera veckor efter det att syret som inneslutits vid förslutningen av silon/balen gått åt (Weinberg och Muck, 1996), sedan övergår ensilaget till ett relativt stabilt tillstånd förutsatt att syre stängs ute. Det är i många fall det låga pH-värdet ihop med den lägre sockerkoncentrationen som leder till att fermentationen avstannar (Williams *et al.*, 1997). Den biologiska aktiviteten är låg under den här fasen (Muck & Pitt, 1993). Ett flertal jästarter som tolererar syra bra överlever i ett inaktivt tillstånd, och *bacilli* och klostridier överlever i form av endosporer (Buxton *et al.*, 2003).

Uttagsfas

När balen öppnas får syre tillträde vilket möjliggör för aeroba mikroorganismer att börja föröka sig (O'Brien *et al.*, 2007). En mängd olika substrat används som energikälla. En del substrat fanns i gräset redan vid inplastningen och andra har producerats via fermentationsprocessen. Den aeroba förskämningen inleds vanligen av jäst, som använder restsocker och mjölksyra som substrat (Lindgren *et al.*, 1985; Woolford, 1990; Kung, 2001).

När de organiska syrorna omsätts höjs pH-värdet, vilket möjliggör för mindre syratoleranta mikroorganismer som mögel och bacillusarter att börja växa (Jonsson, 1989; Williams *et al.*, 1997). Aktiviteten leder till att temperaturen stiger i fodret (Jonsson, 1989; Woolford, 1990; Lindgren, 1994).

Inplastade ensilagebalar

Enligt Jonsson (1990) är de huvudsakliga förutsättningarna för att uppnå en bra konservering av inplastat ensilage i balar; en syrefri miljö, hög baldensitet och lågt pH. Inplastat vallfoder i bal skiljer sig från exakthackat ensilage i silo (McEniry *et al.*, 2007a; McEniry *et al.*, 2008) genom att det inplastade vallfodret ofta är långstråigt (Jonsson, 1990), mer förtorkat (McEniry *et al.*, 2006), mindre homogent (Pauly *et al.*, 1999) och mer utsatt för syre (Weinberg och Muck 1996). Det kan göra att det är svårare att uppfylla grundförutsättningarna för en bra konservering (Jonsson, 1990). Låg koncentration av organiska syror, ett högt pH och närvaro av syre innebär en miljö som möjliggör för oönskade mikroorganismer att växa (Jonsson, 1990).

Syretillgång och frånvaron av mekanisk bearbetning

Större delen av fodret i en bal befinner sig nära sträckfilmen som fungerar som syrebarriär (Weinberg och Muck 1996). Polyetylenplasten släpper dessutom igenom små mängder syre och är känslig för mekaniska skador (Jonsson, 1990). Att gräset är långstråigt kan medföra att balens densitet inte blir lika hög (Jonsson, 1990). En lägre densitet medför en högre porositet och högre gasutbyte hos fodret (Williams, 1994). Hackning och annan mekanisk bearbetning kan dessutom förbättra ensilagens fermentation genom att frigöra växtsaft (Greenhill, 1964). Att vallfodret inte är hackat kan innebära att näringsämnen som behövs för mjölksyrafermentationen inte frigörs i samma utsträckning (Jonsson, 1990). Det leder i många fall till en mindre omfattande fermentation med en lägre koncentration av mjölksyra och andra fermentationsprodukter (Pauly *et al.*, 1999; McEniry *et al.*, 2007b). Risken är att betingelserna för oönskade mikroorganismer som klostridier och jäst därmed blir mer gynnsamma (McEniry *et al.*, 2007b). I en studie av Müller (2009b) fanns det dock ingen skillnad i innehållet av fermentationsprodukter eller aerob lagringsstabilitet mellan snittat och långstråigt hösilage med en ts-halt på knappa 600 g ts/kg lagrat i inplastade balar.

Förtorkning

Förtorkning av grönmassan är en utbredd metod för att undvika tillväxt av klostridier i ensilaget (McDonald *et al.*, 1991c) och minska produktionen av pressvatten (Haigh, 1987; Jonsson *et al.*, 1990; Dawson *et al.*, 1999). Förtorkningen leder till en minskad vattenaktivitet i ensilaget, vilket missgynnar många oönskade mikroorganismer (Knicky och Lingvall 2004). Mikroorganismer kan bara leva i ensilagens vattenfas, vilket medför att den mikrobiologiska aktiviteten oftast är lägre i ett ensilage med högre torrsbstanshalt och därmed låg vattenaktivitet (McDonald *et al.*, 1991). Förtorkningen leder även till att växtcellerna töms på vatten, vilket gör att de förlorar sin spänst. Grödan blir då lättare att packa till en hög densitet (McDonald *et al.*, 1991). En hög baldensitet motverkar tillväxt av jäst både under lagringen och efter öppning av balar (Müller, 2002).

Ensilage i balar har i de flesta fall förtorkats till en högre torrsubstanshalt än ensilage i silo (McEniry *et al.*, 2006). Grönmassan i en plansilo förtorkas oftast till en torrsubstanshalt på 300 till 350 g ts/kg, medan ensilage i balar vanligen har en torrsubstanshalt på över 400 g ts/kg (Pauly, 2011 personligt meddelande). Då torrsubstanshalten blir högre resulterar det i ett ensilage med mer begränsad fermentation och ett högre pH-värde (Gordon, 1965; Dawson *et al.*, 1999; McEniry *et al.*, 2008). Hur lågt pH-värde ensilaget måste ha för att feljäsning ska undvikas, är starkt kopplat till vallfodrets torrsubstanshalt (Weissbach, 1996). En högre torrsubstanshalt medför att pH-värdet kan vara högre och feljäsning ändå undviks i ensilaget. Det innebär att ett ensilage som inte har potential att bli speciellt surt ändå kan bli välkonserverat om fodret förtorkas till en högre torrsubstanshalt. Eftersom vatten avdunstar under förtorkningen leder förtorkningen till att koncentrationen av socker ökar (McDonald *et al.*, 1991). Mjölksyrabakterierna är beroende av tillgång på WSC för att kunna tillväxa (Kung, 2001). Hur stor mängd mjölksyra som behöver bildas för att undvika tillväxt av oönskade mikroorganismer och smörsyrafermentation bestäms också av fodrets buffertkapacitet, dvs. hur stor mängd mjölksyra som krävs för att sänka pH-värdet till ett givet värde. Te.x. har klöver vanligen en högre buffertkapacitet än gräs. Fodrets ”syrningsförmåga” kan uttryckas som förhållandet mellan sockerinnehållet och buffertkapaciteten (WSC/BC). En låg WSC/BC-kvot innebär alltså att en mer uttalad förtorkning krävs för att uppnå ett bra resultat (Weissbach, 1996).

McEniry *et al.* (2007b) visade att när anaeroba förhållanden väl är uppfyllda har torrsubstanshalten en mycket större påverkan på ensilagens fermentation än både hackning och densitet har. I en studie av McEniry *et al.* (2008) ledde en mer utökad förtorkningstid till att koncentrationen av smörsyra, ammonium-N, mjölksyra, ättiksyra, propionsyra och etanol gick ner, och halten bevarat WSC blev högre än i ett ensilage med lägre torrsubstanshalt. Den mindre omfattande ensileringen med en lägre halt av fermentationsprodukter och ett högre pH-värde ihop med den högre halten bevarat WSC kan leda till att den aeroba lagringsstabiliteten riskerar att bli sämre pga. mindre motståndskraft mot jästaktivitet (McEniry *et al.*, 2007b; McEniry *et al.*, 2008). Därför är det extra viktigt att anaeroba förhållanden upprätthålls under lagring av sådant foder.

Hösilage

Till hästar är det vanligt att fodret förtorkas till en högre torrsubstanshalt. Ett sådant foder, med en torrsubstanshalt på över ca 500 g ts/kg, benämns ofta hösilage (Gordon *et al.*, 1961; Müller, 2005). Till hästar rekommenderas hösilaget ha en torrsubstanshalt på mellan 450 och 650 g ts/kg (Jansson *et al.*, 2004). En lägre torrsubstanshalt ökar risken för tillväxt av bakterien *C. botulinum* (Jansson *et al.*, 2004) vilket kan ge upphov till sjukdomen botulism (Myllykoski *et al.*, 2009), och en torrsubstanshalt över 65 % uppges öka risken för tillväxt av mögel i fodret (Jansson *et al.*, 2004). Den höga torrsubstanshalten i hösilage medför att fermentationen vanligen är mycket begränsad (Müller 2005; Müller *et al.*, 2007; Wichert *et al.*, 2008). Hög torrsubstanshalt innebär lägre vattenaktivitet, vilket medför att tillväxten av bl.a. mjölksyrabakterier sker långsammare (Kung, 2001). Den nedre gränsen för vattenaktivitet för att LAB ska kunna tillväxa är 0,93-0,94, vilket teoretiskt överensstämmer med en torrsubstanshalt på 600 till 750 g ts/kg beroende på gröda (Pitt *et al.*, 1985). I ett så pass torrt foder är det i stället uteslutande den relativt syrefria miljön som står för konserveringen.

Hösilage och hygienisk kvalitet

En generell uppfattning är att ensilage av hög hygienisk kvalitet karakteriseras av ett lågt pH, lågt innehåll av smörsyra, ättiksyra och ammonium-N, och högt innehåll av mjölksyra. Mjölksyra och pH används dessutom ibland som huvudindikatorer på den hygieniska kvaliteten. Då fermentationen i hösilage är begränsad, karakteriseras den mer av frånvaron av oönskade fermentationsprodukter än av närvaron av önskade fermentationsprodukter (Gordon *et al.*, 1961). Enbart pH-värdet är därför inte ett tillförlitligt mått på hösilagets hygieniska kvalitet. Ett högre pH-värde behöver inte vara ett tecken på dålig hygienisk kvalitet om torrsubstanshalten är hög, utan visar då bara att fermentationsgraden varit låg (Müller, 2005).

Det inplastade vallfodrets torrsubstanshalt och pH-värde har betydelse för risken för tillväxt av svamp (Auerbach *et al.*, 1998; O'Brien *et al.*, 2007). Att konservera vallfodret i form av hösilage har visat sig kunna leda till högre ts-förluster och värmeutveckling än i ett blötare ensilage om inte lagringsförhållandena varit syrefria (Gordon *et al.*, 1961). En högre torrsubstanshalt har i flera studier även hängt ihop med fler kolonibildande enheter (cfu) mögel/g foder (Auerbach *et al.*, 1998; McEniry *et al.*, 2007a; O'Brien *et al.*, 2007;). En hög torrsubstanshalt ger ett vallfoder med hårda stjälkar (Keller *et al.*, 1998) vilket kan öka risken för perforering av plasten med lufttillträde som följd (McEniry *et al.*, 2008). Ett vallfoder med högre torrsubstanshalt kan också vara svårt att packa, vilket medför att det ofta finns mer luft kvar i grönmassan vid förslutning av en bal (Williams, 1994; Kung, 2001). Även Keles *et al.* (2009) och Gordon *et al.* (1961) uppger att högre torrsubstanshalter innebär att ensilagens porositet ökar vilket medför svårigheter i att utestänga syre. Om balarna inte blir tillräckligt kompakta leder det till att syre lättare diffunderar in i fodret (Rees *et al.*, 1983). En lägre torrsubstanshalt underlättar produktionen av tyngre, kompaktare ensilage vilket hjälper till att stänga syre ute, vilket motverkar mögeltillväxt (O'Brien *et al.*, 2007).

Trots det som tagits upp ovan uppvisar hösilage i många fall en god hygienisk kvalitet. I en studie av Wichert *et al.* (2008) genomförd i Schweiz, hade hösilage med en torrsubstanshalt mellan 550 g ts/kg och 800 g ts/kg, en bra hygienisk kvalitet, och inget samband mellan fodrets torrsubstanshalt och antalet cfu svamp per gram foder hittades. I en studie av Müller (2005) uppmättes inte mer mögelsporer i ett hösilage med torrsubstanshalten 500 g ts/kg än i ensilage med 350 g ts/kg, och i en studie av Han (2006) var det ingen skillnad i mängden mögel mellan balar med torrsubstanshalterna 500 g ts/kg och 700 g ts/kg. Det var heller ingen skillnad i balarnas densitet (Han, 2006).

Hösilage och aerob lagringsstabilitet

En hög torrsubstanshalt kan leda till en ökad risk för problem med den aeroba lagringsstabiliteten (Woolford, 1990). Den begränsade fermentationen med en lägre halt av fermentationsprodukter och ett högre pH-värde medför ett sämre skydd mot svamptillväxt vid lufttillträde (Keles *et al.*, 2009). Den begränsade fermentationen leder även till högre halter av restsocker, vilket kan utgöra näring för oönskade mikroorganismer när balen är öppnad (Woolford, 1990).

Hur snabbt förskämningen av fodret sker efter att en bal har öppnats, beror bland annat på omgivningens temperatur (Woolford, 1990). Vid varmt väder minskar hållbarheten eftersom många aeroba mikroorganismer växer snabbare vid högre temperaturer (Muck & Pitt, 1993). I en studie av Müller (2009b) på hösilage med en torrsubstanshalt av knappa 600 g ts/kg och omgivningstemperaturen 10°C, uppmättes ingen ändring i hösilagets temperatur under de 5

dagar mätningarna pågick. I en annan undersökning samma år (Müller, 2009a) på hösilage med en torrsubstanshalt på 500 g ts/kg i omgivningstemperaturen 20°C, dröjde det drygt 4 dygn innan temperaturen började stiga, och maxtemperaturen uppmättes dygn 5 till 6 beroende på när under säsongen fodret var skördat (Müller, 2009a). Hösilaget i den studien var lagrat i laboratoriesilos.

Faktorer som påverkar fodrets hygieniska kvalitet

Mögel

Grödan kan infekteras av ett flertal olika mögelsvampar på fältet. Den anaeroba miljön i balen hindrar att mögelsvamparna tillväxer i ensilaget, men vid syreläckage kan de växa till och bilda mykotoxiner (Scudamore & Livesey, 1998). Mögel bryter ner socker och mjölksyra och omsätter cellulosa och andra cellväggskomponenter (Scudamore & Livesey, 1998). Mykotoxiner kan produceras vid svamparnas metabolism både innan och efter skörd. Det är sekundära metaboliter som är toxiska för djur och människor (Buckle, 1983). Enligt Gotlieb (1997) finns det tre kritiska miljöfaktorer för att svampar med kapacitet att producera toxiner ska göra det; temperatur över 0°C, torrsubstanshalt under 800 g ts/kg och närvaro av syre. Då mögelsvampar kan växa i väldigt breda intervall när det gäller både temperatur, vattenaktivitet och pH-värden, är syretillgången nyckelfaktorn till om mögelsvamparna producerar toxiner eller ej i inplastat vallfoder (Wilkinson, 1999).

O'Brien *et al.* (2007) visade att prov från balar med synligt mögel innehöll mer mögel även ifrån balpartier med icke synligt mögel, jämfört med prov från balar utan något synligt mögel alls. Mykotoxiner kan dock vara närvarande även i det sistnämnda (O'Brien *et al.*, 2007). I de fall balensilaget är angripet av mögel är det i de flesta fall ytan på balen som är drabbad (Jonsson *et al.*, 1990). Det beror huvudsakligen på ett gasutbyte med den omgivande luften om plastfilmen är skadad, och diffusion av CO₂-utströmning och O₂-inflöde genom filmen. I många fall beror dessa problem på otillräckligt antal lager av plastfilm (Keller *et al.*, 1998).

Penicillium roquiforti är den vanligaste mögelarten i ensilage, och är känd för att producera mykotoxinet roquefortin C (Auerbach *et al.*, 1998). *Penicillium* är tillsammans med *Aspergillus* de släkten som med störst sannolikhet hittas i ensilage som har utsatts för syre (Wilkinson, 1999) och *Penicillium*, *Aspergillus* och *Fusarium* är de viktigaste släkten som producerar mykotoxiner i ensilage (Scudamore och Livesey, 1998). Olika *Penicillium*-arter och *Aspergillus fumigatus* hittas dessutom ofta i hö som tagit värme (Wilkinson, 1999).

Jäst

Jästsvampar är inte speciellt delaktiga under ensileringen, men de är oftast den viktigaste faktorn vid aerob förskämning av ensilaget, även om bakterier ibland också kan spela roll (McDonald *et al.*, 1991b). Jästen i sig själv är inte skadlig, men den tävlar med mjölksyrabakterierna om näring, vilket resulterar i produktion av etanol i stället för mjölksyra, och därmed bidrar den inte till en pH-sänkning. Under jästfermentationen produceras dessutom koldioxid vilket leder till ts-förluster och en minskning av fodrets näringsvärde (Woolford, 1990). En av de viktigaste åtgärderna för att motverka tillväxt av jäst är att förslutningen av silon eller balen sker snabbt och att täthet uppnås och bibehålls (Pettersson, 1988).

Hur känsligt ensilaget är för aerob förskämning vid öppning styrs bl.a. av hur mycket jästsvampar som finns i ensilaget. Över 10^5 cfu/g sägs innebära att ensilaget är speciellt känsligt (Woolford, 1990). Antalet jästsvampar ökar ofta under förtorkningen pga. goda förhållanden för tillväxt och genom att vändning och strängläggning kan leda till jordkontaminering (McDonald *et al.*, 1991b). Jästsvamparna som finns på grönmassan utgörs främst av icke-fermentativa arter av släktena *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* och *Torulopsis*. När förhållandena i stället blir anaeroba ersätts de av fermenterande jästsvampar av bl.a. släktena *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* och *Torulopsis* (McDonald *et al.*, 1991b).

Det är inte bara mängden jäst som avgör hur snabbt förskämningen sker, utan vilken typ av jästsvampar det rör sig om har också betydelse. Jästarterna som är involverade i den aeroba förskämningen delas in i två grupper; de som använder syra som substrat och de som använder socker. Den första gruppen utgörs av *Candida*, *Hansenula*, *Endomycopsis*, och *Pichia*, och de som använder socker tillhör arter av *Torulopsis*. Det är främst mängden syrafermenterande jäst i ensilaget som avgör hur snabbt ensilaget förstörs vid syretillgång (Woolford, 1990). Syrediffusion under lagring är en viktig orsak till etableringen av laktat-assimilerande jäst (Lindgren *et al.*, 1985).

Ett lägre pH-värde inhiberar inte jästtillväxt i ensilaget (Lindgren *et al.*, 1985; Jonsson, 1989). De flesta jästarter klarar att växa i ett pH-intervall mellan 3 och 8, med ett optimum på mellan 3,5 och 6,5 (Jonsson, 1989). Jäst växer bäst aerobt, men kan också växa anaerobt beroende på art (Lowe *et al.*, 2000). Under aeroba betingelser står jäst emot organiska syror bättre än de flesta andra mikroorganismer (Woolford, 1975; McDonald *et al.*, 1991b) och kan konsumera ett flertal olika substrat (McDonald *et al.*, 1991b). Under anaeroba förhållanden kan bara socker användas som energikälla (McDonald *et al.*, 1991b).

Jämfört med de flesta bakterier klarar jästsvampar att växa i vallfoder med högre torrsubstanshalter (Henderson *et al.*, 1972), men de behöver en fuktig yta (McDonald *et al.*, 1991b). Jonsson *et al.* (1990) uppger att en högre torrsubstanshalt i många fall leder till ett större antal jästsvampar. I en anaerob miljö inhiberas jäst av kortkedjiga organiska syror genom att syrorna ockuperar en del av det aktiva transportsystemet som är inblandat i ATP-bildningen. När odissocierade syramolekyler passerar genom jästens cellmembran genom passiv diffusion, och dissocieras, frigörs vätejoner. Det leder till en pH-sänkning i jästcellen som snabbt dör om den inte har tillräckligt med energi för att genom aktiv transport föra ut vätejonerna igen. Högre antal jästsvampar kan därför ofta hittas i ensilage med mer WSC bevarat (McDonald *et al.*, 1991b).

De flesta arter av jäst växer bra när temperaturen ligger mellan 0°C och 37°C (Jonsson, 1989). I en studie av Lindgren *et al.* (1985) ersattes jästen av *bacilli* vid temperaturer över 40°C under den aeroba förskämningen. Ytterst få jästarter överlever när temperaturen går över 45°C (McDonald *et al.*, 1991b).

Bakterier

Klostridier

Klostridier är sporbildande bakterier som växer under strikt anaeroba förhållanden med några få undantag. Det finns fler än sextio arter inom klostridiesläktet, men bara sju anses ha

betydelse för ensilagens kvalitet. Beroende på substratpreferenser delas klostridierna in i två grupper. De sackarolytiska klostridierna fermenterar främst socker och organiska syror, vilket ger upphov till smörtsyra, koldioxid och vätgas. Proteolytiska klostrider däremot fermenterar främst aminosyror och proteiner till ammoniak, aminer och fettsyror. Även ättiksyra och koldioxid bildas i vissa fall. Korrelationen mellan antalet klostridiesporer och produkter från klostridief fermentationen som smörtsyra och ammoniak är ofta låg. Orsaken är troligen att smörtsyra och ammoniak produceras av de vegetativa cellerna och inte av sporena (McDonald *et al.*, 1991b).

I normalfallet innehåller grödan väldigt låga halter av klostridier, men via jordpartiklar kan vallfoder kontamineras (Lindgren, 1994). En annan källa kan vara kadaver som kommit med vid skörden. Klostridierna härrör från kadavrets mag-tarmkanal, och troligen är ursprungskällan jord från kontaminerad föda. Även flytgödsel och urin är möjliga källor (McDonald *et al.*, 1991b).

Klostridierna är delaktiga i den exponentiella tillväxten av bakterier som sker under de första dagarna av ensileringen, men det är främst under de senare stadierna som den huvudsakliga klostridietillväxten kan ske. Tillväxt av klostridier i ensilage stimuleras av låg torrsubstanshalt, hög temperatur, lågt innehåll av WSC, hög buffertkapacitet hos grödan och om inplastning eller förslutning av silon drar ut på tiden (McDonald *et al.*, 1991b). Klostridier är inte speciellt osmotoleranta (Kung, 2001). Vid torrsubstanshalter över 300 g ts/kg begränsas vanligen tillväxten av klostridier, men oftast krävs en torrsubstanshalt på över 400 g ts/kg för att helt inhibera tillväxten. I foder med högre torrsubstanshalter kan klostridier ändå växa till i fuktiga fickor eller om aeroba mikroorganismer har skapat speciella mikronischer med gynnsamma förhållanden för klostridietillväxt (Lättemäe, 1997). Då de aeroba mikroorganismerna använder mjölksyra och aminosyror som substrat och samtidigt förbrukar det tillgängliga syret, skapas en miljö med högre pH-värde och med lägre syrekonzentration, där klostridier kan tillväxa (Lättemäe, 1997).

Klostridiernas aktivitet i ensilaget är oönskad eftersom de höjer fodrets pH-värde när de förbrukar mjölksyran, de försämrar ensilagens näringsvärde när de bryter ner socker och aminosyror och producerar smörtsyra och koldioxid, och då vissa arter producerar neurotoxin kan de dessutom utgöra en hälsorisk för djuren som äter av fodret (McDonald *et al.*, 1991b). Ett exempel på en sådan art är bakterien *Clostridium botulinum* som producerar neurotoxinet botulin, vilket kan ge upphov till sjukdomen botulism (Myllykoski *et al.*, 2009).

Enterobakterier

Enterobakterier är ej sporbildande, fakultativt anaeroba bakterier som fermenterar laktos och kan producera ättiksyra, myrsyra, butandiol, etanol, ammoniak, vätgas och koldioxid (Jonsson, 1989; McDonald *et al.*, 1991b). De är oönskade i ensilage eftersom de konkurrerar med mjölksyrabakterierna om näringen och kan bilda endotoxiner (Lindgren, 1994).

Det färska gräset innehåller främst enterobakterier av arterna *Erwinia herbicola* och *Rahnella aquilititis*. De ersätts efter ensileringen snabbt av *Hafnia alvei* och slutligen av *Escherichia coli*. Förtorkning minskar antalet enterobakterier, men antalet kan öka snabbt under de första dagarna efter förslutningen av en silo. Om pH-värdet sjunker pga. ökande antal mjölksyrabakterier minskar antalet enterobakterier eftersom de är känsliga för låga pH-värden (McDonald *et al.*, 1991b).

Bacilli

Bakterier av släktet *bacilli* är sporbildande bakterier som kan växa till under aeroba förhållanden. Vissa arter klarar även att växa under anaeroba förhållanden men de är inte speciellt delaktiga i ensileringsprocessen. *Bacilli* förekommer naturligt på gräs och kan producera mjölksyra, men de är sämre på det än mjölksyrabakterierna. *Bacilli* kan inte själv starta en förskämning av ensilaget utan det krävs att jäst först har höjt pH-värdet till en mer gynnsam nivå (McDonald *et al.*, 1991b). *Bacilli* dominerar mikrobfloran då ensilaget når temperaturer över 40°C (Lindgren *et al.*, 1985).

Listeria

Listeria monocytogenes är den dominerande arten av listeriabakterier som kan påträffas i ensilage. Det är en fakultativt anaerob bakterie som växer bäst i pH-intervall runt 6-7 (Fenlon *et al.*, 1989). Den är vitt spridd i naturen men förekommer i låg koncentration. Den kan komma med i ensilaget via t.ex. multnande växter, träck och jord (McDonald *et al.*, 1991b). I ensilage där små mängder syre har kunnat tränga in i fodret under en längre period gynnas tillväxten av *Listeria* eftersom konkurrensen från både de anaeroba mjölksyrabakterierna och de aeroba mikroorganismerna minskar då miljön inte är speciellt gynnsam för någon av dem (Fenlon *et al.*, 1989). Bakterien producerar toxin och kan orsaka sjukdomar som hjärnhinneinflammation, abort och hos föl dödlig blodförgiftning. Det är främst djur med nedsatt immunförsvar som drabbas (Sargison, 1993).

Bedömning av fodrets hygieniska kvalitet

Ensilagets hygieniska kvalitet kan delvis bedömas via en okulär besiktning. Ensilaget ska ha en gulaktig eller ljus- till olivgrön färg (Lingvall, 1995). Om färgen i stället är mörkt brunaktig är det ett tecken på att temperaturen under ensileringen varit för hög pga. närvaro av syre. Synliga mögelangrepp vid öppning av balen betyder att konserveringen störts av syreläckage. Ett bra ensilage luktar friskt och ofta svagt syrligt. En stark stickande lukt tyder på att ensilaget innehåller ättiksyra, och en stark karakteristisk odör som fastnar i kläder och hår brukar innebära att smörsyra har bildats i fodret. Bakterietillväxt i ensilaget kan leda till att en del av proteinet bryts ned till enklare kväveföreningar, vilket yttrar sig i en ruttet eller ammoniakmättad lukt (Lingvall, 1995).

Riktvärden

I tabell 1 redovisas riktvärden för hygienisk kvalitet i ensilaget. Ensilage bör inte ha någon synlig jäst eller mögelsvamp, ammoniakhalten bör vara under 80 g NH₃-N/kg total-N, och innehållet av smörsyra mindre än 1 g/kg foder. Fodrets pH-värde styrs till stor del av vilken torrsbstanshalt grödan har (Spörndly, 2003).

Tabell 1. Gräns- och normalvärden för analyser som indikerar den hygieniska kvaliteten för ensilage (efter Spörndly, 2003)

Analys		
pH-värde	$< (0,0257 \times \text{ts } \%) + 3,71$	Gäller mellan ts 15-50 %
Mögel	10^5 cfu/g	Max
Jäst	10^5 cfu/g	Max
Mjölksyra	Direktskörd med myrsyra: 6-10 % av ts Direktskörd utan myrsyra: 8-12 % av ts Förtorkat (> 30 % ts): 3-7 % av ts	Normalt Normalt Normalt
Ammoniumkväve	< 8 % av totalkväve 8-12 % av totalkväve > 12 % av totalkväve	Bra Mindre bra Dåligt
Smörsyra	< 0,10 % av prov 0,10-0,30 % av prov > 0,30 % av prov	Bra Mindre bra Dåligt
Ättiksyra	Allt ensilage 1-3 % av ts	Normalt
Mjölksyrabildande bakterier	$> 10^4$ cfu/g	Önskvärt
Gramnegativa bakterier	10^3 - 10^4 cfu/g 10^9 cfu/g	Max Mycket dåligt
Aeroba bakterier	10^3	Max
Koliforma bakterier, 37°	10^2	Max
Anaeroba bakterier	10^3	Max
<i>Clostridium spp.</i>	10^3	Max
<i>Bacillus</i>	10^3	Max

Ensileringsmedel

För att gynna en önskad förjäsning och förlänga den aeroba lagringsstabiliteten hos ensilaget har ett flertal olika ensileringsmedel tagits fram. Olika medel används beroende på vilka problem man vill komma tillrätta med (Lingvall, 1994; Kung, 2001). De olika ensileringsmedlen kan delas in i kemiska tillsatsmedel, näringsberikande tillsatsmedel och biologiska tillsatsmedel (Lingvall, 1994). Kemiska tillsatsmedel utgörs av syror och salter av organiska och oorganiska syror. Näringsberikande tillsatsmedel kan utgöras av t.ex. melass eller betmassa, och har som syfte att ge näring åt mjölksyrabakterierna, suga upp pressvatten och öka fodrets densitet. Biologiska tillsatsmedel är frystorkade mjölksyraproducerande bakterier och/eller enzymer, vilka bryter ner strukturella kolhydrater till enkla sockerarter som förser mjölksyrabakterierna med näring (Lingvall, 1994).

Vid lagring av inplastade grödor med torrsbstanshalter under 400 g ts/kg är tillsats av ensileringsmedel nödvändig för att undvika tillväxt av klostridier (Lingvall, 1994). Myrsyra är av tradition vanlig att använda för att förbättra kvaliteten på ensilage. Det sänker pH-värdet i grönmassan och motverkar tillväxt av oönskade mikroorganismer som klostridier (Lingvall,

1994). Jäst däremot är speciellt tolerant mot myrsyra (Henderson *et al.*, 1972). Myrsyra används främst när grödan har en lägre torrsubstanshalt och är exakthackad (Müller, 2002).

Den höga torrsubstanshalten i hösilage minskar risken för problem med oönskade bakterier som klostridier (McDonald *et al.*, 1991b), men i stället kan jäst och mögel bli ett problem i den typen av material. I ett välkonserverat ensilage förhindrar mjölksyra tillväxt av oönskade bakterier, men den har ingen direkt inhiberande effekt på jäst och mögel (Woolford, 1975). För att motverka tillväxt av jäst och mögel kan t.ex. natriumbensoat tillsättas i fodret. Från tabell 2 går det att utläsa att natriumbensoat och kaliumsorbat i de flesta fall inhiberar jäst och mögel i lägre koncentrationer än de koncentrationer som medför att mjölksyrabakterierna inhiberas.

Tabell 2. Minsta inhiberande koncentration (mM) av mjölksyra, natriumbensoat och kaliumsorbat mot några olika grupper av mikroorganismer vid olika pH-värden (efter Woolford, 1975)

	Mjölksyra			Natriumbensoat			Kaliumsorbat		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6	pH4	pH5	pH6
Mjölksyrabakterier									
Homofermentativa	12	94	250	P	110	> 110	13	50	100
Heterofermentativa	13	31	250	7	7	110	25	25	100
Sporformande bakterier									
Klostridier	Eu	8	31	Eu	7	28	Eu	13	25
Bacillus	Eu	6	63	Eu	28	110	Eu	13	13
Jäst	> 250	> 250	> 250	2	55	110	3	13	25
Mögel	> 250	> 250	> 250	3	14	55	2	3	25
Övriga bakterier									
Gram +	Eu	31	125	Eu	28	55	Eu	13	125
Gram -	Eu	16	94	Eu	55	110	Eu	13	94

Eu, Ej undersökt

P, ”denotes antimicrobial effect due to pH”

Tidigare studier har påvisat att det kan finnas fördelar med att tillsätta ensileringsmedel till hösilage för att öka den aeroba lagringsstabiliteten (Wyss, 2002; Müller, 2005; Jaakkola *et al.*, 2010; Wyss *et al.*, 2010). Ett exempel på ensileringsmedel är Kofasil Ultra[®], vilket består av natriumpropionat, natriumbensoat, hexametylentetramin (hexamin) och natriumnitrit. Hexamin och natriumnitrit minskar framför allt tillväxten av klostridier, och natriumbensoat motverkar tillväxt av jäst (Lättemäe & Lingvall, 1996). Natriumnitrit kan fördela sig bra i långstråigt ensilage eftersom det övergår i gasform när pH-värdet sjunker (Lingvall, 1994). I en studie av Müller (2005) undersöktes hur Kofasil Ultra[®] påverkade den aeroba lagringsstabiliteten hos hösilage med en torrsubstanshalt på drygt 500 g ts/kg. Efter 6 dagars aerob lagring innehöll det behandlade hösilaget lägre antal cfu mögel/g foder än kontrollerna gjorde, men ingen skillnad i antalet jästsvampar uppmättes mellan det behandlade och obehandlade hösilaget. Ett liknande resultat som för Kofasil Ultra[®] uppnåddes vid tillsats av ensileringsmedlet Lactisil 200 NB, innehållande frystorkade *Lactobacillus plantarum* arter, ett cellulazym och natriumbensoat.

I en studie av Jaakkola *et al.* (2010) behandlades hösilage på fyra olika sätt för att öka den aeroba lagringsstabiliteten; tillsats av mjölksyrabakterierna *L. plantarum* + *L. buchneri*; en

blandning av propionsyra och ammoniumpropionat; tillsats av *L. plantarum* + natriumbensoat; och mjölksyrabakterien *L. rhamnosus*. Försöket genomfördes i tre olika torrsubstanshalter; 440, 560 och 643 g ts/kg. Resultaten visade att tillsats av mjölksyrabakterier till hösilage med en torrsubstanshalt under 600 g ts/kg stimulerade fermentationen, minskade pH-värdet och innehållet av WSC. I högre torrsubstanshalter var fermentationen mycket begränsad och behandlingen ledde till marginella skillnader i koncentrationen av mjölksyra och WSC. På samma sätt gav tillsats av *L. buchneri* eller natriumbensoat ihop med *L. plantarum* en förbättrad aerob lagringsstabilitet endast i torrsubstanshalter under 600 g ts/kg. Natriumbensoat var bättre än *L. buchneri* för att förhindra varmgång. I alla de olika torrsubstanshalterna ledde däremot tillsats av propionsyreblandningen till en klar förbättring av den aeroba lagringsstabiliteten genom att förhindra att materialet tog värme.

Kofa[®] Grain pH5 består av natriumbensoat (140 g/kg), propionsyra (370 g/kg) och natriumpropionat (110 g/kg) som är löst i vatten och har ett pH mellan 4,8 och 5,2. Enligt Europeiska Kommissionen togs produkten från början fram för att motverka tillväxt av svamp i fuktig spannmål under lagring (European Commission, 2002). I en studie av Wyss (2002) undersöktes hur Kofa[®] Grain pH5 påverkade lagringsstabiliteten i gräensilage med torrsubstanshalterna 460 och 620 g ts/kg. Ensilaget lagrades i 1,5 liters laboratoriesilos i två månader. Sju dagar innan silorna öppnades utsattes de för lufttillträde under 24 timmar. Det behandlade ensilaget var mindre utsatt för aerob förskämning än det obehandlade. Kofa[®] Grain pH5 var därmed i den studien en effektiv tillsats för att förbättra den aeroba lagringsstabiliteten i hösilage med torrsubstanshalten 460 och 620 g ts/kg.

Natriumbensoat

Natriumbensoat används som tillsats för att konservera olika typer av livsmedel och foder (Kung *et al.*, 2003; Knicky och Spörndly 2009). Det inhiberar sporbildande bakterier, jäst och mögel (Woolford, 1975), och är verksamt även när pH-värdet är så pass högt som 5 (Lättemäe och Lingvall, 1996). De svamphämmande egenskaperna hos bensoat är dock starkare vid ett lägre pH-värde (Krebs *et al.*, 1983). Den odissocierade (COOH) formen av bensoat tränger igenom jästcellens cellmembran tills koncentrationen inne i och utanför cellen har nått ett jämviktsläge. Neutraliseringen av bensoat via cellens buffrande ämnen gör att cellens pH sjunker. Krebs *et al.* (1983) föreslår att de svamphämmande egenskaperna hos bensoat härrör från att det låga intracellulära pH-värdet påverkar enzymet fosfofruktokinas negativt, och därmed inhiberas glykolysen. Detta orsakar brist på ATP, vilket i sin tur motverkar celltillväxt (Krebs *et al.*, 1983).

Propionsyrabaserade tillsatsmedel

Vid lagring av spannmål används i många fall propionsyra (McDonald *et al.*, 1991). Propionsyra kan även förbättra den aeroba lagringsstabiliteten hos ensilage. Den har svamphämmande egenskaper och är effektiv när det gäller att reducera mängden jäst och mögel i ensilage (Kung, 2001). Nackdelarna med propionsyra är att använt i stora mängder begränsar det fermentationen, och pga. att den är korroderande är den besvärlig att hantera. I många fall används idag i stället syrans salter, som kalcium-, natrium- och ammoniumpropionat, i kommersiella produkter. Hur effektiv propionsyran och dess salter är beror till stor del på hur lösligt det är i vatten. Ju starkare bindning mellan syran och basen, ju mindre löslig är produkten. Sämre löslighet hänger ihop med sämre svampinhiberande

egenskaper. Ammoniumpropionat har en löslighet på 90 % i vatten, natriumpropionat har en löslighet på 25 % och kalciumpropionat 5 % (Kung, 2001).

De svamphämmande egenskaperna hos propionsyran härrör från syrans fria odissocierade form. Hur stor andel av syran som befinner sig i odissocierad form (COOH) och hur stor andel som befinner sig i dissocierad form (COO-) beror till stor del på pH-värdet. Ett pH-värde på omkring 4,8 leder till att omkring 50 % av syran är i odissocierad aktiv form, medan ett pH-värde på 6,5 leder till att endast 1 % av syran är aktiv. Propionsyran har svamphämmande egenskaper bl.a. genom att syran är aktiv på mikroorganismernas yta där den tävlar med aminosyror om "active sites" på enzymerna. Propionsyran kan också ändra organismens cellpermeabilitet. Syrans vätejon medverkar även den till de svamphämmande egenskaperna (Kung *et al.*, 2003).

Försök: Inverkan av konserveringsmedel för spannmål på ensilering av hösilage

Målsättning

Syftet med försöket var att undersöka om ett ensileringsmedel² som utvecklats för syrakonservering av spannmål, fungerar som konserveringsmedel i ensilage och hösilage, och om tillsats av detta ensileringsmedel påverkar den aeroba lagringsstabiliteten i dessa fodermedel. Ensileringsmedlet bestod av en blandning av natriumbensoat (140 g/kg), propionsyra (370 g/kg) och natriumpropionat (110 g/kg).

Material och metoder

Grödan som användes i försöket togs från förstaskörden av en gräsdominerad vall bestående av främst timotej (*Phleum pratense*), ängssvingel (*Fescua pratensis*) och en mindre andel rödklöver (*Trifolium pratense*). Grödan slogs av förmiddagen den 15:e juni 2010 med en slåtterkross och torkades i breda strängar. Vädret vid slåtter var mulet, och det kom en liten regnskur på eftermiddagen. Uppskattningsvis föll 1-2 mm nederbörd. Grönmassans torrsubstanshalt bestämdes med jämna mellanrum med hjälp av torkning av ett prov i mikrovågsugn. Proven kördes i ungefär 8 till 10 minuter på hög effekt och vikten noterades med några minuters mellanrum. När vikten inte längre ändrades skrevs slutvikten upp.

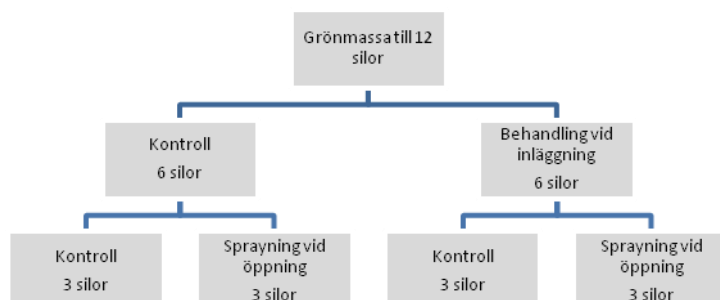
Dagen efter slåtter lades grönmassa med torrsubstanshalter på ca 300 g ts/kg (L) och 500 g ts/kg (M) in i laboratoriesilor, och två dagar efter slåtter lades grönmassa med torrsubstanshalten 700 g ts/kg (H) in. Båda de berörda dagarna var det uppehåll och soligt. Tre grönmasseprover per torrsubstanshalt togs slumpmässigt ur strängarna för kemisk och mikrobiologisk analys. Proverna togs i samband med att övrig grönmassa hämtades på vallen. Grönmassan transporterades till Kungsängens grovfoderlaboratorium. Där delades den upp i 2 lika stora delar och hälften av grönmassan av varje torrsubstanshalt behandlades med ensileringsmedel enligt figur 1. I L tillsattes 9 liter ensileringsmedel per ton, i M tillsattes 7 liter per ton och i H tillsattes 5 liter per ton grönmassa. De i förväg märkta, taravägda och desinficerade laboratoriesilorna av stål (25 l) fylldes med grönmassa innan de vägdes, förslöts och försågs med jäsrör med vattenlås. Silorna fylldes med 9 kg grönmassa vid förtorkningsgraden L, 7 kg vid M och 5 kg vid H. För att följa lagringsförlusterna vägdes silorna med 2 decimalers noggrannhet dagligen i tre eller fyra dagar beroende på vilken dag de fylldes. Därefter vägdes de ungefär var tredje dag i två veckor, och sedan en gång per vecka.

Efter 60 till 62 dagar öppnades silorna och vägdes utan lock. Synlig jäst- och mögeltillväxt registrerades och prover togs ut för mikrobiologisk och kemisk analys. För mikrobiologisk analys togs 49-51 g från varje silo och stoppades i en aseptisk påse. Mellan varje prov flamberades instrumenten. Påsarna rullades ihop och märktes med silonummer. Prover som togs för mikrobiologisk analys förvarades i kylskåp under en natt och proverna som togs för kemisk analys förvarades i frysrum i -18°C i väntan på analys.

² Kofa® Grain pH5, Addcon Nordic AS, Tyskland

I samband med öppningen av silorna sprayades hälften av de behandlade och hälften av de obehandlade silornas yta på ovansidan med 10 ml ensileringsmedel. Silorna lämnades sedan öppna i sju dagar i 20°C innan de åter undersöktes för synlig svamptillväxt och prover togs för analys av svamp. Innan prov togs avlägsnades de översta centimetrarna för att undvika kontaminering från omgivningen. I övrigt var provtagningsproceduren som vid öppningen av silorna. Synlig svamptillväxt undersöktes både på ytskiktet och längre ner i silon. Silon tömdes genom att plocka bort ”kaka för kaka”. Där det växte som mest svamp längre ner i silon gjordes en subjektiv bedömning av hur stor del av kakans ”ovanskikt” som var täckt av svamp. Under den vecka silorna var öppna registrerades temperaturen automatiskt varannan timme med hjälp av termogivare kopplade till en datalogger. En termogivare användes i varje individuell silo. Termogivaren stacks ner uppifrån så den hamnade knappt halvvägs ner i silon.

Behandlingsleden för grönmassan visas i figur 1. Samma procedur gällde för grönmassa av alla förtorkningsgraderna; L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg).



Figur 1. Behandlingsled för grönmassa. Samma procedur gällde för grönmassa av alla förtorkningsgraderna; L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg).

I tabell 3 redovisas hur gröda namngetts beroende på behandling.

Tabell 3. Namngivning av grönmassa beroende på behandling

Förtorkningsgrad	Behandling vid inläggning	Behandling vid öppning	Namn
300 g ts/kg (Låg; L)	Kontroll (K)	Kontroll (K)	LKK
300 g ts/kg (Låg; L)	Kontroll (K)	Sprayad (S)	LKS
300 g ts/kg (Låg; L)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Kontroll (K)	LBK
300 g ts/kg (Låg; L)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Sprayad (S)	LBS
500 g ts/kg (Mellan; M)	Kontroll (K)	Kontroll (K)	MKK
500 g ts/kg (Mellan; M)	Kontroll (K)	Sprayad (S)	MKS
500 g ts/kg (Mellan; M)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Kontroll (K)	MBK
500 g ts/kg (Mellan; M)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Sprayad (S)	MBS
700 g ts/kg (Hög; H)	Kontroll (K)	Kontroll (K)	HKK
700 g ts/kg (Hög; H)	Kontroll (K)	Sprayad (S)	HKS

700 g ts/kg (Hög; H)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Kontroll (K)	HBK
700 g ts/kg (Hög; H)	Behandlad med ensileringsmedel (B)	Sprayad (S)	HBS

Grönmasseanalyser

Grönmasseproverna frystes i väntan på kemisk analys, medan mikrobiologiska analyser gjordes på färska prov. De kemiska analyserna utfördes på Kungsängens foderlaboratorium och de mikrobiologiska analyserna utfördes av SVA i Uppsala. Proverna analyserades med avseende på torrsubstans, aska, råprotein, WSC, NDF (Neutral Detergent Fibre) och VOS (Vomvätskelöslig Organisk Substans) samt mikrobiologiskt för klostridier, enterobakterier, LAB, jäst och mögel. Proverna torkades i värmeskåp i 18 timmar i 55°C och bearbetades till mindre bitar med hjälp av en sax innan det maldes i en hammarkvarn (KAMAS Slagy 200 B) med 1 mm:s såll. För att bestämma torrsubstanshalten torkades de malda proverna ytterligare 20 timmar i 103°C. Innehållet av aska bestämdes via föraskning i ugn i 550°C under tre timmar. Energivärdet bestämdes med hjälp av VOS enligt Lindgren (1979) och halten råprotein bestämdes med Kjeldalmetod. Innehållet av WSC analyserades via sur hydrolys enligt Larsson och Bengtsson (1983). Innehållet av NDF bestämdes i enlighet med Chai och Udén (1998), via inkubering av proven i värmeskåp i 85°C under 20 timmar.

Innehållet av mögel och jäst bestämdes enligt Samson *et al.* (2000). Agarplattor med DG-18 (dichloran 18 % glycerol) som substrat användes för både kvantitativ och kvalitativ bestämning av svamp. Vid den kvantitativa bestämningen av svamp blandades 20 g prov med peptonvatten i 2 minuter i en stomacher, därefter gjordes en spädningsserie som ansattes på agarplattorna. Den kvalitativa undersökningen utfördes via direktutlägg där en liten mängd foder placerades direkt på ytan på agarplattan (Samson *et al.*, 2000). Agarplattorna inkuberades i aerob atmosfär i 25°C. Antalet jästsvampar räknades efter 2 till 3 dagar och antalet mögelsvampar räknades och identifierades efter 5 dagar. Enterobakterier kultiverades aerobt på VRBG (violet red bile glucose agarplattor) (Oxoid Ltd, Cambridge, UK) i förseglade plastpåsar i 37°C i 26 timmar, och oxidastest utfördes via kultivering på bromcresol purple lactose agar. De kolonier som var positiva på VRBG agar och negativa på oxidastest antogs vara enterobakterier (NMKL Nr 8:4, 2008). Klostridiesporer kultiverades anaerobt på "reinforced clostridial medium agar plates" (med tillsats av neutralrött och cycloserin) i 2 dagar i 37°C (Seale *et al.*, 1986; Jonsson, 1989). Antalet mjölksyrabakterier bestämdes genom odling på Rogosa-agarplattor i 30°C under 72 h enligt Seale *et al.* (1986).

Ensilage- och hösilageanalyser

Prover togs för analys av innehåll av torrsubstans, VOS, råprotein, WSC, NDF, pH, VFA (Volatile Fatty Acids dvs. flyktiga fettsyror), AmN (ammoniumkväve), samt för mikrobiologisk analys av klostridier, enterobakterier, LAB, jäst och mögel. Analyserna utfördes på samma sätt som för grönmassa (se rubrik "Grönmasseanalyser"). Dessutom preparerades pressvattenprover för analys av VFA, etanol, butandiol, mjölksyra, pH och ammoniumkväve. Från varje bal användes 50 till 70 g foder. L och M späddes 1:1 och H späddes 1:2 med destillerat vatten för att vätska skulle kunna erhållas. De spädda proverna förvarades två dygn i kylskåp innan de pressades, och det pressvatten som erhöles frystes i väntan på analys. Innehållet av VFA, etanol, butandiol och mjölksyra bestämdes med hjälp av HPLC enligt Andersson och Hedlund (1983). pH mättes med en pH-meter. Innehållet av ammoniumkväve bestämdes med FIA-teknik (FOSS-Tecator, 1992).

Statistisk bearbetning

Resultaten från analyserna sammanställdes i Microsoft Excel och bearbetades statistiskt med hjälp av datorprogrammet SAS 9:1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) med General Linear Model (GLM) procedur. Signifikansnivån sattes till 5 %.

Modell för grönmassan: $Y_{ij} = \mu + (ts)_i + error_{ij}$

Modell för ensilage/hösilage: $Y_{ijk} = \mu + (ts)_i + (behandling)_j + (ts \times behandling)_{ij} + error_{ijk}$

Resultat

Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i grönmassa

Analysresultat för grönmassan redovisas för de olika torrsubstanshalterna i tabell 4. Innehållet av råprotein blev lägre i takt med att förtorkningsgraden ökade, och innehållet av NDF var högre i H än i de lägre förtorkningsgraderna. Grönmassan med förtorkningsgraden L hade högre innehåll av jäst än grönmassa med högre torrsubstanshalter. Övriga mikrobiologiska parametrar skiljde sig inte åt mellan de olika förtorkningsgraderna. *Cladosporium spp* var den mögelsvamp som dominerade oberoende av torrsubstanshalt. Mängden klostridiesporer var under detektionsgränsen i alla silorna.

Tabell 4. Kemisk och mikrobiologisk sammansättning, log CFU/g, i grönmassa med förtorkningsgraden L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg)

Variabel	L	M	H	Medelfel	P-värde
Kemisk sammansättning					
Torrsubstans (g/kg)	295 ^a	503 ^b	694 ^c	5,49	< 0,0001
Aska (g/kg ts)	68 ^a	74 ^b	67 ^c	0,75	0,0013
Råprotein (g/kg ts)	117 ^a	108 ^b	94 ^c	2,45	0,0019
Lättlösliga kolhydrater (g/kg ts)	111	103	107	2,23	0,13
Neutral detergent fibre (g/kg ts)	553 ^a	555 ^a	582 ^b	6,47	0,034
Omsättbar energi för idisslare (MJ/kg ts)	9,9	9,9	9,6	0,12	0,25
Omsättbar energi för häst (MJ/kg ts)	9,9	10,0	9,7	0,15	0,27
Mikrobiologisk sammansättning (log CFU/g)					
Enterobakterier	5,7	5,3	4,8	0,29	0,21
Mjölksyrabakterier	4,2	3,8	3,5	0,37	0,51
Jäst	5,3 ^a	4,2 ^b	4,5 ^b	0,14	0,0054
Mögel	5,0	5,2	4,8	0,26	0,54

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

Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i foder vid siloöppning

Grödans kemiska sammansättning vid siloöppning redovisas i tabell 5. Innehållet av råprotein blev lägre i takt med att förtorkningsgraden ökade, och när ensileringsmedel användes uppmättes en lägre halt av råprotein i alla förtorkningsgraderna. Innehållet av NDF var högre i H än i de lägre förtorkningsgraderna. Grödans torrsbstanshalt var högre i silorna där ensileringsmedel hade använts. Inga interaktioner mellan ensileringsmedel och förtorkningsgrad fanns för ovan nämnda parametrar.

Tabell 5. Torrsbstanshalt, innehåll av aska, NDF och råprotein (g/kg ts om inte annat anges) i foder vid öppning av silor med förtorkningsgraderna L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg)

	Ts-halt (g/kg)	Aska	Neutral detergent fibre	Råprotein
Förtorkningsgrad				
L	298 ^a	76 ^a	563 ^a	125 ^a
M	515 ^b	76 ^a	572 ^a	112 ^b
H	729 ^c	69 ^b	603 ^b	97 ^c
Behandling				
K	506 ^a	74	583	114 ^a
B	522 ^b	73	576	108 ^b
Medelfel				
Förtorkningsgrad	4,94	0,81	3,61	1,64
Behandling	4,03	0,66	2,95	1,34
P-värde				
Förtorkningsgrad	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Behandling	0,0076	0,1986	0,1113	0,0014

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån $P < 0,05$.

För innehållet av WSC och energivärde fanns det interaktioner mellan förtorkningsgraden och tillsats av ensileringsmedel (tabell 6). Desto mer förtorkad grödan var desto mer WSC fanns bevarat i det obehandlade fodret. LB och MB innehöll mer WSC än LK och MK, men det fanns ingen skillnad mellan HB och HK. LK utskiljde sig genom att ha ett lägre energivärde än övriga behandlingsled. I L medförde alltså tillsats av ensileringsmedel att energivärdet blev högre medan det inte påverkade energivärdet i de högre förtorkningsgraderna.

Tabell 6. Innehåll av lättlösliga kolhydrater och omsättbar energi i foder med förtorkningsgraderna L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg) vid öppning av silorna

	Lättlösliga kolhydrater (g/kg ts)	Omsättbar energi för idisslare (MJ/kg ts)	Omsättbar energi för häst (MJ/kg ts)
Förtorkningsgrad			
L	44,2 ^a	9,4 ^a	9,5 ^a
M	73,8 ^b	9,6 ^b	9,7 ^b
H	93,1 ^c	9,7 ^b	9,8 ^b
Behandling			
K	58,1 ^a	9,5 ^a	9,5 ^a
B	82,6 ^b	9,7 ^b	9,8 ^b
Interaktioner			
LK	14,0 ^a	9,2 ^a	9,2 ^a
MK	67,2 ^b	9,5 ^b	9,6 ^b
HK	93,2 ^c	9,7 ^{bc}	9,7 ^{bc}
LB	74,3 ^d	9,7 ^{bc}	9,7 ^{bc}
MB	80,5 ^d	9,7 ^{bc}	9,8 ^{bc}
HB	93,0 ^c	9,8 ^c	9,9 ^c
Medelfel			
Förtorkningsgrad	1,64	0,05	0,05
Behandling	1,34	0,04	0,04
Interaktioner	2,32	0,06	0,08
P-värde			
Förtorkningsgrad	< 0,0001	< 0,0001	0,0006
Behandling	< 0,0001	0,0004	<0,0001
Interaktioner	< 0,0001	0,0067	0,032

^{a,b,c,d} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån $P < 0,05$.

Fermentationsvariablerna och pH-värde i ensilage och hösilage skiljde sig åt både vid jämförelse mellan de olika förtorkningsgraderna och mellan K vs B (tabell 7). Det fanns interaktioner mellan förtorkningsgraden och användningen av ensileringsmedel för samtliga fermentationsvariabler utom för pH-värdet. Innehållet av mjölksyra, ättiksyra och etanol i K blev lägre desto högre förtorkningsgrad fodret hade, och för B utskiljde sig L genom att ha ett högre innehåll av dessa fermentationsprodukter än de högre förtorkningsgraderna. Halterna propionsyra och A-tal var högre i LK än i MK och HK. Även i B utskiljde sig LB genom att ha ett högre A-tal än MB och HB och när det gällde propionsyran utmärkte sig endast HB genom att inte innehålla någon detekterbar syra alls. Observera att det i tabellen inte är korrigerat för tillsatt propionsyra. Via ensileringsmedlet tillsattes ca 15 g propionsyra per kg torrsbstans i L, 7 g i M och 3,6 g i H. Butandiol hittades bara i KL.

Lägst pH-värde uppmättes i L och högst i M och användning av ensileringsmedel ledde generellt till ett lägre pH-värde. Tillsats av ensileringsmedel ledde till en ytterligare minskning av innehåll av mjölksyra, ättiksyra och A-tal i L, men inte i de högre förtorkningsgraderna. Etanolinnehållet påverkades på så sätt att i L och M sänktes innehåll med tillsats av ensileringsmedel, vilket inte inträffade inte i H. Innehållet av propionsyra

minskade i L och höjdes i M, men i H gav tillsats av ensileringsmedel inte upphov till någon skillnad. Innehållet av smörsyra och myrsyra var under detektionsgränsen för alla prov.

Tabell 7. Fermentationsvariabler och pH i ensilage och hösilage med förtorkningsgraderna L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg) vid öppning av silorna. g/kg ts om inget annat anges

	pH	Mjölksyra	Ättiksyra	Propionsyra	Etanol	2,3-butandiol	A-tal (%)
Förtorkningsgrad							
L	5,25 ^a	28,9 ^a	5,9 ^a	14,0 ^a	16,7 ^a	11,1 ^a	8,7 ^a
M	5,71 ^b	6,8 ^b	1,4 ^b	2,3 ^b	3,6 ^b	Nd ^b	3,7 ^b
H	5,58 ^c	4,3 ^b	0,8 ^c	0,4 ^b	0,4 ^c	Nd ^b	2,8 ^c
Behandling							
K	5,63	17,4 ^a	3,9 ^a	7,5 ^a	11,2 ^a	7,4 ^a	7,0 ^a
B	5,40	9,3 ^b	1,5 ^b	3,6 ^b	2,7 ^b	Nd ^b	3,1 ^b
Interaktioner							
LK	5,38	39,1 ^a	9,4 ^a	21,6 ^a	27,9 ^a	21,9 ^a	13,0 ^a
MK	5,83	8,4 ^b	1,4 ^b	Nd ^b	5,0 ^b	Nd ^b	4,3 ^{bc}
HK	5,68	4,8 ^c	0,7 ^c	0,7 ^{bd}	0,6 ^c	Nd ^b	3,6 ^{bc}
LB	5,12	18,8 ^d	2,3 ^d	6,3 ^c	5,6 ^b	Nd ^b	4,4 ^b
MB	5,60	5,3 ^{bc}	1,3 ^{bc}	4,4 ^{cd}	2,2 ^c	Nd ^b	3,1 ^{cd}
HB	5,48	3,9 ^c	0,8 ^{cc}	Nd ^b	Nd ^c	Nd ^b	2,0 ^d
Medelfel							
Förtorkningsgrad	0,03	0,87	0,14	0,92	0,52	0,18	0,21
Behandling	0,04	0,71	0,12	0,75	0,43	0,15	0,18
Interaktioner	0,02	1,24	0,20	1,31	0,74	0,26	0,30
P-värde							
Förtorkningsgrad	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Behandling	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0010	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Interaktioner	0,72	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c,d,e} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån P < 0,05.

Nd, not detected. Minsta detekterbara värde; 0,3 g/kg ts.

Vid öppning av silorna fanns det synlig svamp i 5 silor av behandlingsled LK, 2 av MK och 2 av MB. Det rörde sig om något enstaka strå här och där som var angripet. I de övriga behandlingsleden fanns ingen synlig svamp. Det var några silor som hade jämvikt av vatten i jäsröret vid periodens slut, dvs. de var potentiellt otäta. Det gällde 2 silor av behandlingsled LK, 1 av MK, 1 av MB och 1 av HB. För LK var berörda silorna även angripna av svamp, men för M och H var det inte samma silor som var potentiellt otäta som var synligt angripna av svamp.

I tabell 8 redovisas den mikrobiologiska sammansättningen i ensilage och hösilage vid öppning av silorna. Inga interaktioner mellan förtorkningsgraden och användningen av ensileringsmedel uppmättes. Klostridier detekterades i fem silor av förtorkningsgraden L och fyra av värdena låg över maxvärdet för vad som anses vara en godtagbar kvalitet. Det var ingen skillnad i antal cfu klostridier/g mellan K och B. Antalet enterobakterier, jäst och mögel skiljde sig inte mellan de olika förtorkningsgraderna och behandlingarna. Mängden mjölksyrabakterier var lägre ju mer förtorkat fodret var, och vid tillsats av ensileringsmedel blev innehållet ännu lägre.

Tabell 8. Mikrobiologisk sammansättning i ensilage och hösilage (log CFU/g) med förtorkningsgraderna L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg) vid öppning av silor

	Klostridier	Enterobakterier	LAB	Jäst	Mögel
Förtorkningsgrad					
L	2,5 ^a	0,87	6,5 ^a	2,6	1,8
M	Nd ^b	0,70	5,5 ^b	2,4	Nd
H	Nd ^b	0,93	2,5 ^c	1,9	1,7
Behandling					
K	1,9	0,89	5,3 ^a	2,4	1,8
B	2,0	0,77	4,4 ^b	2,2	Nd
Medelfel					
Förtorkningsgrad	2,0	0,12	0,18	0,26	0,04
Ensileringsmedel	0,16	1,64	0,15	0,21	0,03
P-värde					
Förtorkningsgrad	0,0085	0,38	< 0,0001	0,17	0,52
Behandling	0,81	0,35	0,0002	0,61	0,21

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån $P < 0,05$.
Nd, not detected. Minsta detekterbara värde; log 1,7 CFU/g.

Lagringsförluster

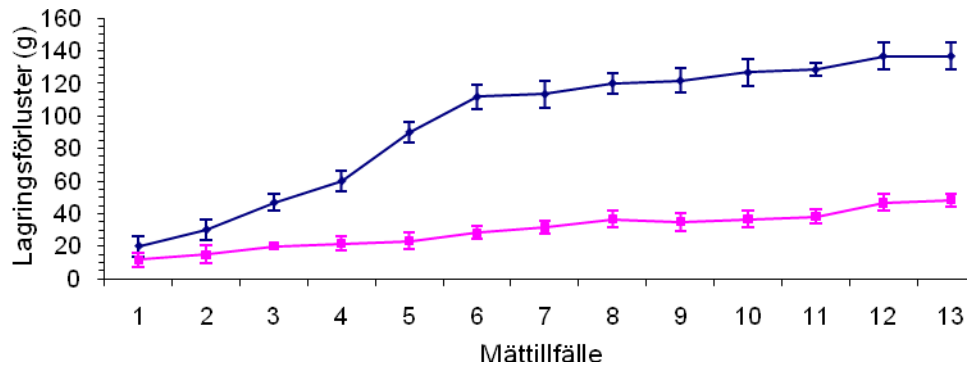
Fodrets totala lagringsförluster från inläggning till öppning av silor redovisas i tabell 9. Det fanns interaktioner (med medelfelet 2,6 g och P-värdet $< 0,0001$) mellan förtorkningsgraden och behandling med ensileringsmedel. Tillsats av ensileringsmedel minskade lagringsförlusterna för L och M, och för H fanns det en tendens till en minskning av lagringsförlusterna när ensileringsmedel användes.

Tabell 9. Silornas totala viktminskning beroende på grödans förtorkningsgrad; L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg) och behandlat eller ej behandlat med ensileringsmedel

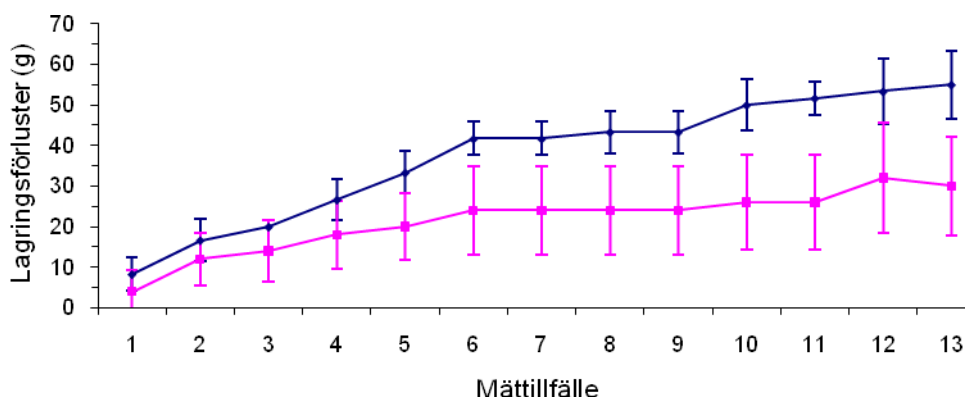
	Total viktförlust (g)
Förtorkningsgrad	
L	93 ^a
M	44 ^b
H	17 ^c
Behandling	
K	71 ^a
B	31 ^b
Medelfel	
Förtorkningsgrad	1,7-1,8
Behandling	1,4
P-värde	
Förtorkningsgrad	< 0,0001
Behandling	< 0,0001

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån $P < 0,05$.

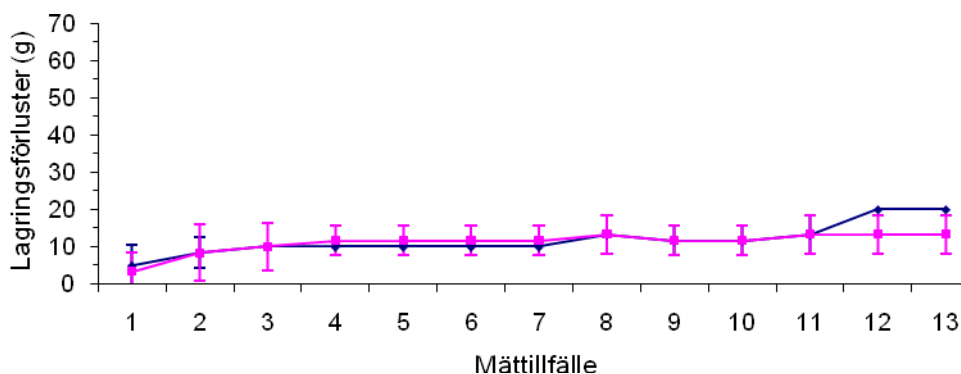
Lagringsförlusterna var som störst under de första dagarna. Lagringsförlusterna över tid för L, M och H synliggörs i figur 2a till 2c (observera att tidsintervallet mellan de olika mättillfällena är olika långt). Den totala viktförlusten under den anaeroba lagringsperioden var 137 g för LK, 58 g för LB, 55 g för MK, 32 g för MB, 20 g för HK och 13 g för HB.



Figur 2a. Lagringsförluster (g) i L (300 g ts/kg) (♦ , Kontroll; ■ , Behandlat med ensileringsmedel) vid mättillfälle 1 (dag 1), 2 (dag 2), 3 (dag 3), 4 (dag 4), 5 (dag 6-7), 6 (dag 11-12), 7 (dag 12-13), 8 (dag 15-16), 9 (dag 21-22), 10 (dag 28-29), 11 (dag 36-37), 12 (dag 56-57) och 13 (dag 61-63). Felstaplarna anger standardavvikelsen.



Figur 2b. Lagringsförluster (g) i M (500 g ts/kg) (♦ , Kontroll; ■ , Behandlat med ensileringsmedel) vid mättillfälle 1 (dag 1), 2 (dag 2), 3 (dag 3), 4 (dag 4), 5 (dag 6-7), 6 (dag 11-12), 7 (dag 12-13), 8 (dag 15-16), 9 (dag 21-22), 10 (dag 28-29), 11 (dag 36-37), 12 (dag 56-57) och 13 (dag 61-63). Felstaplarna anger standardavvikelsen.



Figur 2c. Lagringsförluster (g) i H (700 g ts/kg) (♦, Kontroll; ■, Behandlat med ensileringsmedel) vid mättillfälle 1 (dag 1), 2 (dag 2), 3 (dag 3), 4 (dag 4), 5 (dag 6-7), 6 (dag 11-12), 7 (dag 12-13), 8 (dag 15-16), 9 (dag 21-22), 10 (dag 28-29), 11 (dag 36-37), 12 (dag 56-57) och 13 (dag 61-63). Felstaplarna anger standardavvikelsen.

Mikrobiologisk sammansättning i foder efter aerob lagring

Förtorkningsgrad och behandling inverkar på hur stort antal kolonibildande enheter av jäst och mögel fodret innehöll efter sju dagars aerob lagring (tabell 10). En högre förtorkningsgrad innebar lägre tillväxt av jäst och mögel. Att behandla grönmassan antingen vid inläggning (BK) eller öppning (KS) eller vid båda tillfällena (BS) ledde till ett lägre innehåll av mögel jämfört med vid ingen ensileringsmedelsbehandling alls (KK), men innehållet av jäst blev däremot inte lägre vid behandling vid öppning (KS) än för helt obehandlat material (KK). Foder behandlat vid inläggning (BK) eller vid inläggning plus öppning (BS) innehöll mindre mögel och jäst än foder endast behandlat vid öppning (KS), men om grönmassan hade behandlats vid inläggning (BK) hade inte behandlingen vid öppning (BS) någon ytterligare effekt på innehållet av vare sig mögel eller jäst.

Tabell 10. Innehåll av jäst och mögel i ensilage och hösilage efter sju dagars aerob lagring av öppnade silor

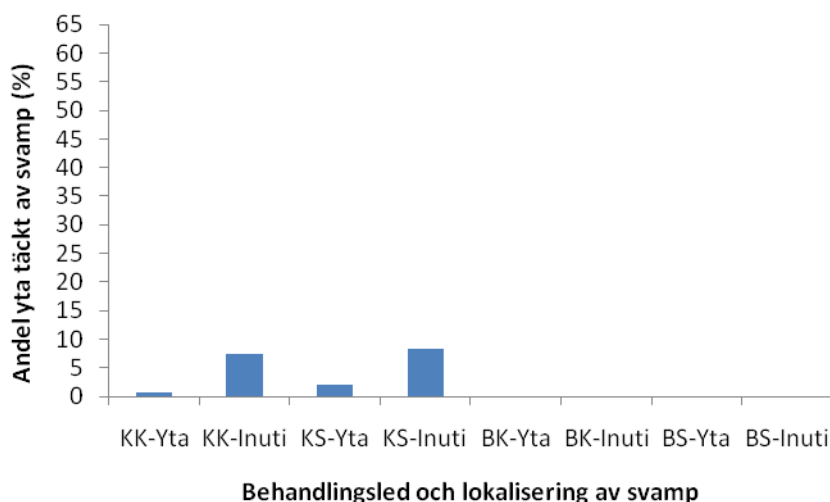
	Jäst CFU/g	Mögel CFU/g
Förtorkningsgrad		
L	4,3 ^a	4,3 ^a
M	3,0 ^b	3,4 ^b
H	2,0 ^c	1,9 ^c
Ensileringsmedel		
KK	4,0 ^a	5,0 ^a
KS	4,0 ^a	4,0 ^b
BK	2,4 ^b	2,1 ^c
BS	1,9 ^b	1,8 ^c
Medelfel		
Förtorkningsgrad	0,19	0,14
Behandling	0,21	0,17
P-värde		
Förtorkningsgrad	< 0,0001	< 0,0001
Behandling	< 0,0001	< 0,0001

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån P < 0,05.

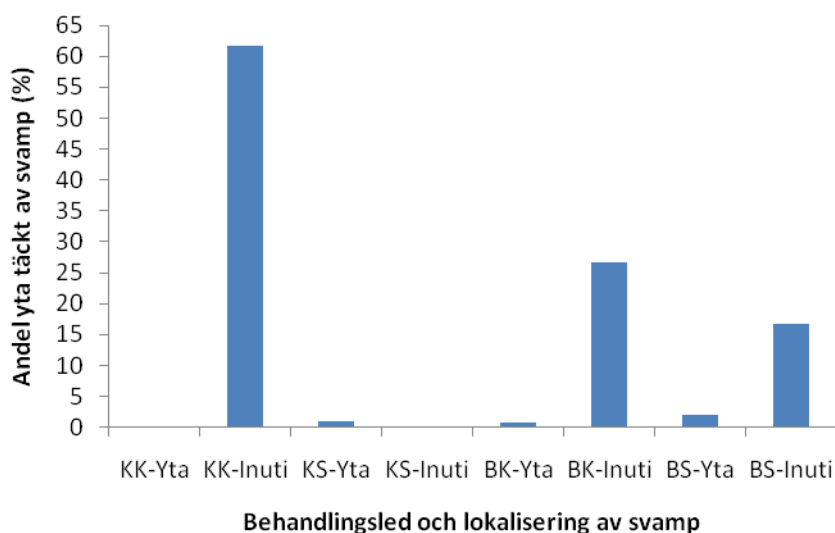
I L fanns förekomst av mögelsvampen *Penicillium spp.*, i M förekom *Penicillium* och *Aspergillus niger* och i H förekom *Cladosporium*, *Penicillium* och ”övrig mögelsvamp”.

Synlig tillväxt av svamp efter aerob lagring

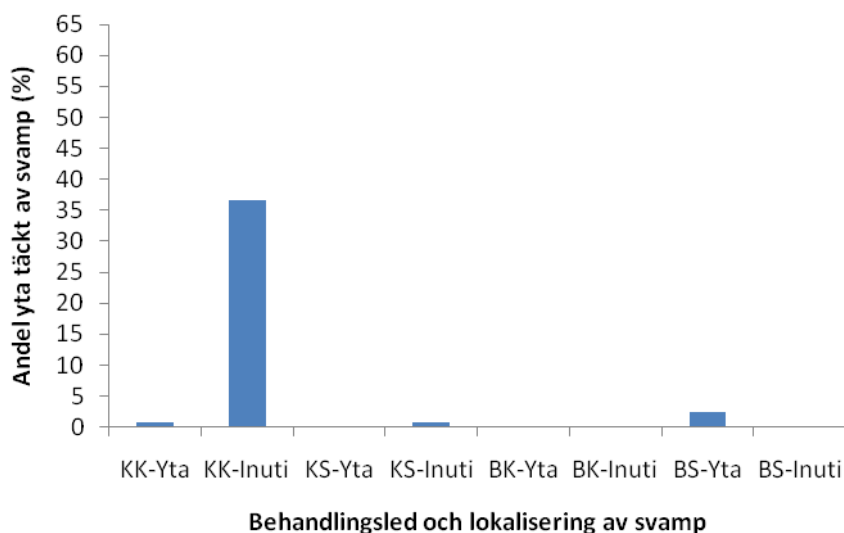
I figur 3a till 3c redovisas dels hur stor andel av ytskiktet i silon som var synligt täckt av svamp, och dels hur stor andel av ”ovanskiktet” som var täckt hos den kaka som var som mest täckt av svamp längre ner i silon efter 7 dagars aerob lagring.



Figur 3a. Andel yta som i medeltal var täckt av svamp efter 7 dagars aerob lagring av silor med förtorkningsgraden L (300 g ts/kg) (K-Yta och B-Yta: Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ytskikt som i medeltal var täckt av svamp, K-Inuti och B-Inuti; Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ”yta” som var som mest täckt längre ner i silon).



Figur 3b. Andel yta som i medeltal var täckt av svamp efter 7 dagars aerob lagring av silor med förtorkningsgraden M (500 g ts/kg) (K-Yta och B-Yta: Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ytskikt som i medeltal var täckt av svamp, K-Inuti och B-Inuti; Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ”yta” som var som mest täckt längre ner i silon).



Figur 3c. Andel yta som i medeltal var täckt av svamp efter 7 dagars aerob lagring av silor med förtorkningsgraden H (700 g ts/kg) (K-Yta och B-Yta: Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ytskikt som i medeltal var täckt av svamp, K-Inuti och B-Inuti; Hur stor del av kontrollsilornas och de behandlade silornas ”yta” som var som mest täckt längre ner i silon).

Temperaturutveckling under aerob lagring

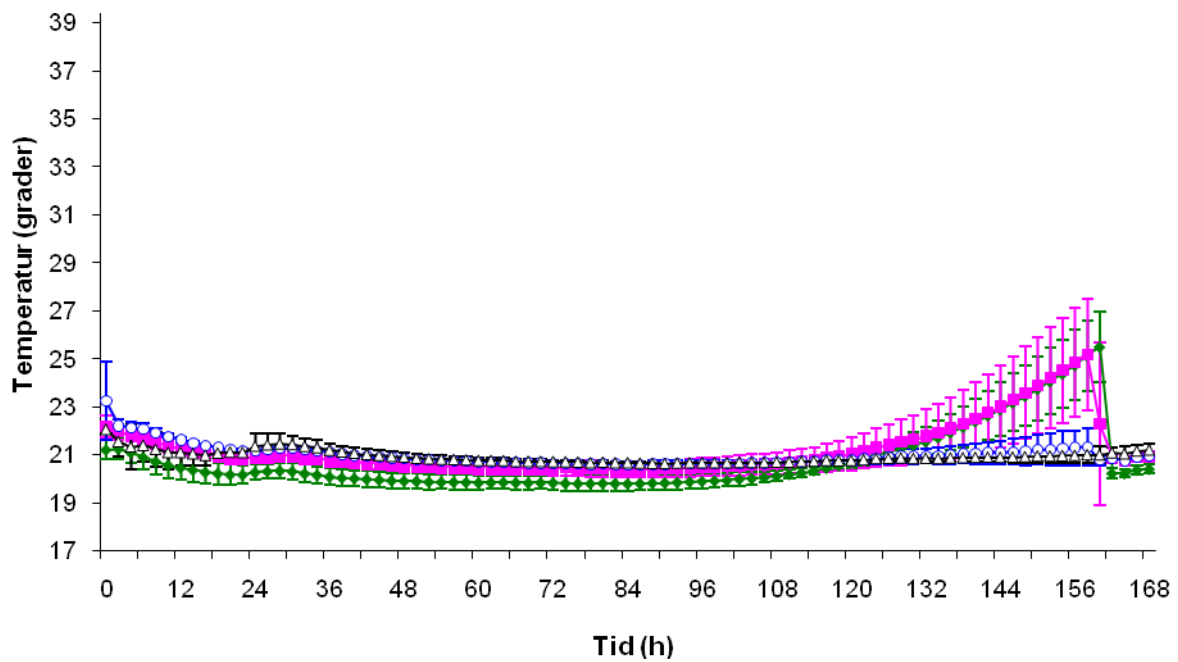
Den lägst uppmätta temperaturen, mediantemperaturen, medeltemperaturen och antalet timmar tills den maximala temperaturen uppnåddes, skiljde sig inte mellan förtorkningsgrad och behandling. Det var heller ingen skillnad i maxtemperatur mellan de olika förtorkningsgraderna. Det var däremot skillnad i maxtemperaturen mellan KK och BS; KK hade den högsta maxtemperaturen och BS den lägsta maxtemperaturen (tabell 11).

Tabell 11. Den högst uppmätta temperaturen i ensilage och hösilage med förtorkningsgraderna L (300 g ts/kg), M (500 g ts/kg) och H (700 g ts/kg), och behandlat eller obehandlat med ensileringsmedel

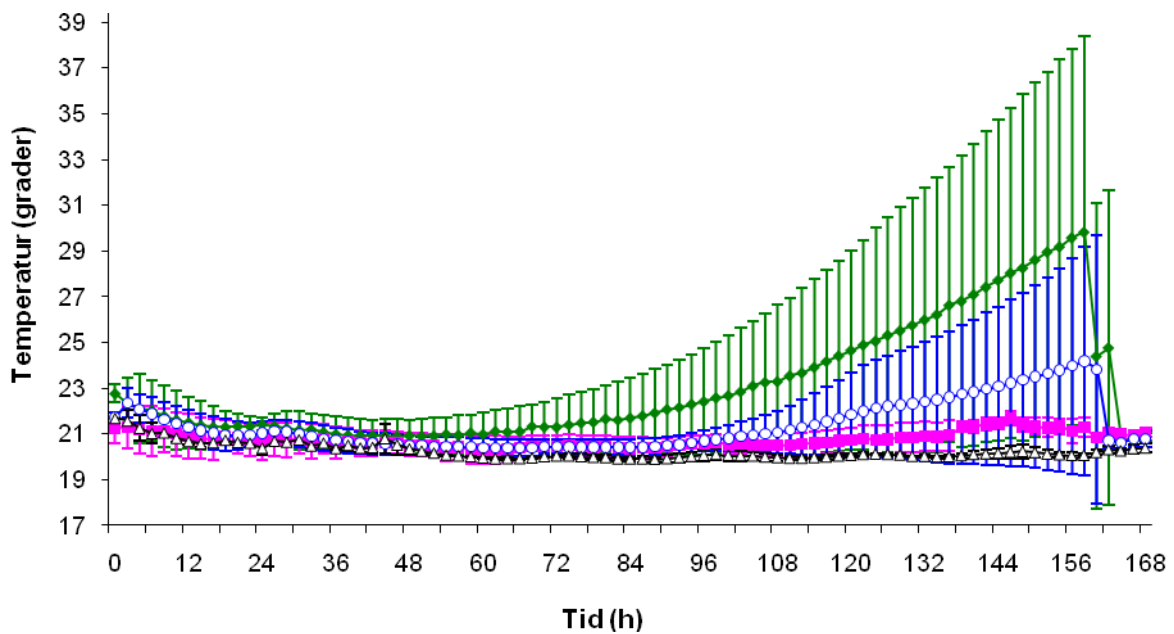
	Max temperatur (°C)
Förtorkningsgrad	
L	24,1
M	24,9
H	21,8
Behandling	
KK	26,1 ^a
KS	23,3 ^{ab}
BK	23,3 ^{ab}
BS	21,7 ^b
Medelfel	
Förtorkningsgrad	0,85-0,90
Behandling	1,06
P-värde	
Förtorkningsgrad	0,051
Behandling	0,043

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma kolumn och grupp av variabler anger skillnad vid signifikansnivån $P < 0,05$.

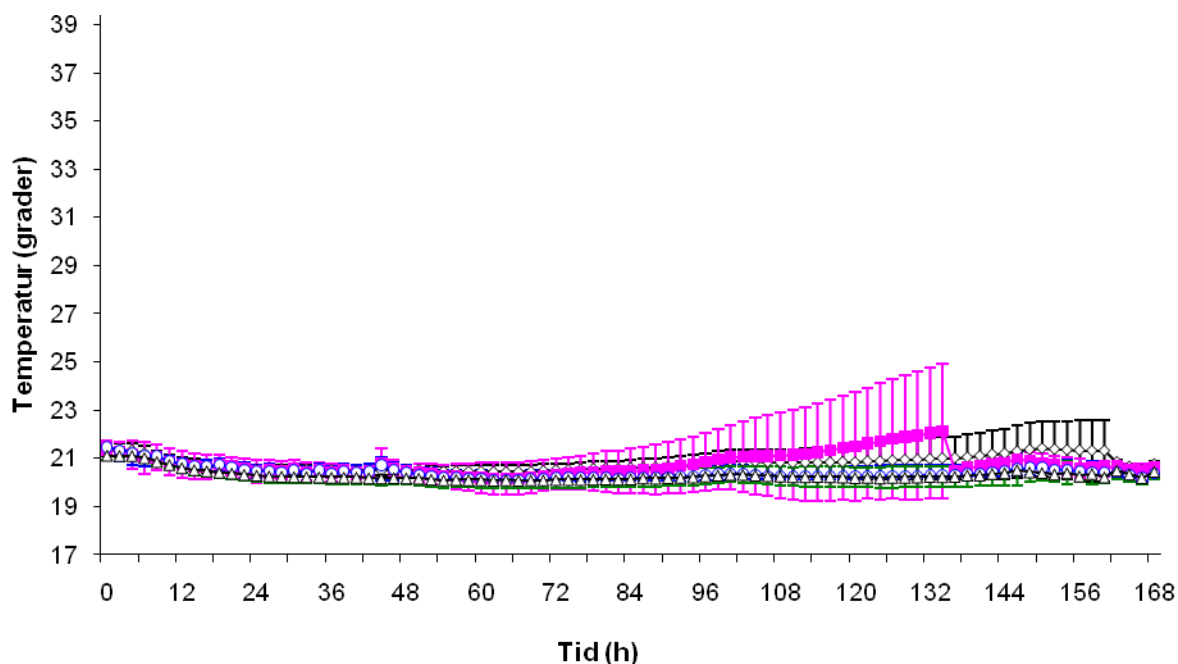
Temperaturutvecklingen i grader °C över tid under den aeroba lagringen i L, M och H redovisas i figur 4a till 4c.



Figur 4a. Temperaturutveckling (°C) i ensilage med förtorkningsgraden L (300 g ts/kg). (◆, KK; ■, KS; ○, BK; △, BS). Felstaplarna anger standardavvikelsen.



Figur 4b. Temperaturutveckling (°C) i hösilaget med förtorkningsgraden M (500 g ts/kg). (◆, KK; ■, KS; ○, BK; △, BS). Felstaplarna anger standardavvikelsen.



Figur 4c. Temperaturutveckling (°C) i ensilaget med förtorkningsgraden H (700 g ts/kg). (◆, KK; ■, KS; ○, BK; △, BS). Felstaplarna anger standardavvikelsen.

Diskussion

Anledningen till att ensileringsmedel ibland används vid konservering av ensilage eller hösilage, är för att förhindra att oönskade mikroorganismer tillväxer, för att förlänga den aeroba lagringsstabiliteten och i vissa fall för att minska lagringsförlusterna (Lingvall, 1994). När det gäller inplastat vallfoder till häst är det av extra vikt att en öppnad bal håller relativt länge eftersom många hästgårdar har få hästar och balarna då går åt långsamt (Persson, 2005). Syftet med den här undersökningen var dels att undersöka hur ett specifikt konserveringsmedel som vanligen används för syrakonservering av spannmål fungerar som ensileringsmedel i ensilage och hösilage, och dels att se om den aeroba lagringsstabiliteten kan förlängas via tillsats av detta ensileringsmedel. Även ensileringsmedlets inverkan på lagringsförlusterna undersöktes.

Torrsubstanshaltens inverkan på hygienisk kvalitet och näringsförluster

Inplastat vallfoder har i de flesta fall en högre torrsubstanshalt än ensilage som är lagrat i silo. En högre torrsubstanshalt har i vissa studier påvisats innebära mer problem med mögel (O'Brien *et al.*, 2007; McEniry *et al.*, 2007), men det finns även studier där en högre torrsubstanshalt inte har lett till högre förekomst av mögelsvampar (Müller, 2005; Han *et al.*, 2006). Anledningarna till att hösilage kan ha ett sämre skydd mot oönskade mikroorganismer är dels den mindre uttalade fermentationen (Wichert *et al.*, 2008), dels att ett torrare hösilage har hårdare stjälkar vilket ökar risken för perforering av plasten (Keller *et al.*, 1998), och dels att grönmassan blir svårare att packa vilket medför svårigheter i att utestänga syre (Williams, 1994; Kung, 2001). Inplastade balar kan dessutom hanteras och flyttas, vilket medför en risk att plasten skadas med syreinträde som följd.

Grönmassan i det här försöket innehöll ett högre antal jästsvampar i L än i M och H. Det är lite förvånande eftersom antalet jästsvampar vanligen ökar under förtorkningen (Woolford, 1990; McDonald *et al.*, 1991). Vid öppningen av silorna fanns det inte någon skillnad i antalet CFU för mögel och jäst mellan de olika förtorkningsgraderna. Innehållet av jäst och mögel i alla silorna var klart under värdet 10^5 som uppges öka risken för en snabb aerob förskämning vid lufttillträde (Woolford, 1990). Teoretiskt kunde det högre innehållet av WSC i M och H ha gynnat tillväxten av jäst och mögel eftersom det innebär att det finns gott om substrat (Woolford, 1990). Att så inte blev fallet tyder på att silorna var täta, eftersom tillgång till syre behövs för att mögel ska kunna tillväxa. Att miljön i en hösilagebal är syrefri är troligen den viktigaste faktorn för en lyckad lagring. Det påståendet styrks av en studie av Keles *et al.* (2009) där andelen synligt mögel ökade med en mer uttalad förtorkning, men endast när otillräckligt med plastfilm hade använts. Om tillräckligt mycket plastfilm användes blev det ingen skillnad i mängden synbart mögel beroende på torrsustanshalt. Den lägre vattenaktiviteten i ett torrare hösilage bidrog med stor sannolikhet också till att inte mer mögel och jäst tillväxte. Förutom tillgång till substrat behöver mikroorganismerna även tillgång till vatten (McDonald *et al.*, 1991).

Innehållet av mjölksyra och ättiksyra var lägre än normalt i alla förtorkningsgraderna utom i LK (se tabell 1 och 7), men samtidigt anger Gordon *et al.* (1961) att eftersom fermentationen i hösilage är så pass begränsad, så är det viktiga inte mängden önskade fermentationsprodukter, utan att inte oönskade fermentationsprodukter finns närvarande. Anledningen till att fermentationen vanligen är mycket begränsad i högre torrsustanshalter, är att tillväxten av mjölksyrabakterier blir begränsad vid den låga vattenaktiviteten (Kung, 2001; Pitt *et al.*, 1985). Det stämmer väl överens med att halten mjölksyrabakterier var lägre än det önskade $> 10^4$ cfu/g i H.

Till skillnad från i hösilaget är en uttalad ensileringsprocess med mjölksyra som slutprodukt önskad i ensilaget, eftersom det annars finns risk för problem med oönskade mikroorganismer och feljäsning (Lindgren, 1994). Innehållet av fermentationsprodukter var högst och pH lägst i L, vilket visar på en mer uttalad fermentation än i de högre förtorkningsgraderna. Att det blev en mer uttalad fermentation i L än i M och H stämmer väl överens med att innehållet av LAB generellt blev högre med en lägre förtorkningsgrad och att innehållet av WSC var lägre desto lägre förtorkningsgraden var. LAB förbrukar WSC i fermentationsprocessen (Jonsson, 1989) vilket leder till ett lägre innehåll av WSC när vallfodret utsatts för en mer uttalad fermentationsprocess. Innehållet av omsättbar energi var också lägst i L och näringsförlusterna blev högre desto lägre förtorkningsgraden var, vilket stämmer bra överens med att fermentationen blev mer utbredd desto mindre grönmassan hade förtorkats. Innehållet av råprotein blev däremot lägre desto mer förtorkad grödan var. Det kan förklaras av att ett torrare foder blir sprödare, vilket kan medföra större bladförluster vid hantering. Eftersom bladen innehåller en större andel av växtens protein än stjälken gör (Mowat *et al.*, 1965) leder bladförluster till en minskning av fodrets proteininnehåll.

Smörsyra eller myrsyra hittades inte i någon av silorna vilket är ett tecken på att feljäsning inte skett. Klostridier detekterades dock i fem silor av förtorkningsgraden L och fyra av värdena låg över maxvärdet för vad som anses vara en godtagbar kvalitet. Ett högt innehåll av klostridier kan vara ett tecken på jordinblandning. Att klostridier inte detekterades i de högre förtorkningsgraderna stämmer väl överens med tidigare studier där tillväxten uppges begränsas i gröda med torrsustanshalter över 300 g ts/kg (Kung, 2001).

Torrsubstanshaltens inverkan på den aeroba lagringsstabiliteten

Efter sju dagar innehöll silor från alla behandlingsleden fortfarande under 10^5 cfu/g jäst och mögelsvampar, men nu fanns det skillnader mellan de olika förtorkningsgraderna. Antalet jäst- och mögelsvampar var högre desto mindre grönmassan hade förtorkats (se tabell 10). Den lägre tillväxten av jäst och mögel i de högre förtorkningsgraderna är lite förvånande då tillväxten av jäst vanligen gynnas av en högre förtorkningsgrad (Henderson *et al.*, 1972; Jonsson *et al.*, 1990; O'Brien *et al.*, 2007; McEniry *et al.*, 2007). Hösilage kan ha en kortare aerob lagringsstabilitet än ensilage pga. att innehållet av fermentationsprodukter är lägre och pH-värdet högre (Keles *et al.*, 2009). En högre halt WSC finns då också bevarat vilket gynnar oönskade nedbrytande mikroorganismer (Woolford, 1990). En gröda med högre torrsubstanshalt är även känsligare på så sätt att dess värmekapacitet är lägre än för en gröda med lägre torrsubstanshalt. Det krävs mer energi för att höja temperaturen på vatten än torrsubstans (Muck och Pitt, 1993).

Woolford (1990) uppger dock att det främst är mängden av de jästarter som använder syra som substrat som avgör hur snabbt förskämningen sker. I hösilaget borde det främst finnas jästarter som fermenterar socker, eftersom det oftast finns gott om socker men mängden fermentationsprodukter är begränsade. Det skulle kunna bidra till att hösilaget blir mindre känsligt för aerob förskämning än ensilaget. Syrediffusion under lagring är en viktig orsak till att laktatassimilerande jäst etableras (Lindgren *et al.*, 1985). Om det redan finns en större mängd jäst och mögel i fodret när balen är försluten så "ligger de och väntar på" att syretillgången ska öka, och när balen öppnas kan de öka snabbt i antal (Lingvall, 1994). Det har redan sagts, men är värt att nämna igen; syrefria förhållanden under lagring verkar om möjligt vara ännu viktigare under lagringen av hösilage än för ensilage. Kanske är det så att hösilaget i slutändan är mindre känsligt för aerob förskämning än ensilaget så länge syrefria förhållanden upprätthållits under lagringen? Den låga vattenaktiviteten begränsar troligen tillväxten av mikroorganismer eftersom de kräver vatten för sin aktivitet (McDonald *et al.*, 1991).

När det gäller temperaturändringarna under den aeroba lagringsperioden fanns det inga skillnader mellan de olika förtorkningsgraderna. Studerar man figurerna 4a till 4c och specifikt kontrollerna, ser det ut som maxtemperaturen för M är betydligt högre än för L och H, men pga. den stora standardavvikelsen finns inte någon skillnad. I H inträffade ingen temperaturstegring alls. Frånvaron av temperaturstegring stämmer överens med att tillväxten av jäst och mögel inte var speciellt uttalad i H.

Ensileringsmedlets egenskaper som konserveringsmedel

När ensileringsmedel tillsattes vid inläggningen hade alla förtorkningsgraderna en högre torrsubstanshalt, ett lägre pH-värde och lägre halt råprotein. Den högre torrsubstanshalten i det behandlade vallfodret kan troligen förklaras av att grönmassan till kontrollerna lades in i silor först, vilket medförde att grönmassan som behandlades innan inläggning hann torka en aning mer under tiden. Det skulle även kunna förklara det lägre innehållet av råprotein. Ett torrare foder kan ha inneburit att bladförlusterna vid hantering var större och därmed att mer protein förlorades. Ensileringsmedlet verkar ha motverkat ensileringsprocessen eftersom halten LAB minskade vid tillsats av ensileringsmedel i alla förtorkningsgraderna, och mängden mjölksyra och ättiksyra var lägre i LB än i LK. Tillsats av ensileringsmedlet ledde även till att etanolinnehållet minskade i L och M. Den mindre utbredda ensileringsprocessen skulle dels kunna bero på den lite högre torrsubstanshalten i de behandlade silorna. Skillnaden

mellan den behandlade och obehandlade grönmassan var dock relativt stor, så troligen räcker det inte som förklaring. Ensileringsmedlet i sig själv hade alltså med största sannolikhet en hämmande effekt på ensileringsprocessen. Propionsyra är sedan tidigare känt för att kunna begränsa fermentationen (Kung, 2001). Propionsyra är även en metabolit i ensileringsprocessen. I alla behandlingsleden utom LK har den tillsatta propionsyran ”åtgått”. I LK fanns en högre koncentration än den som tillsattes via ensileringsmedlet (se tabell 7). Det stämmer med att den mest uttalade fermentationsprocessen inträffade i LK även när man ser till övriga fermentationsprodukter. Det fanns mer WSC bevarat i LB och MB än i LK och MK vilket troligen kan förklaras av den mer begränsade fermentationen vid tillsats av ensileringsmedel.

Tillsats av ensileringsmedel minskade lagringsförlusterna i L och M (se tabell 9). I H fanns det bara en tendens till att lagringsförlusterna minskade. Anledningen till att det inte blev någon skillnad i H är troligen att lagringsförlusterna var förhållandevis låga i det materialet oavsett om ensileringsmedel var tillsatt eller ej. De låga lagringsförlusterna berodde troligen på avsaknaden av en uttalad fermentation men en i övrigt lyckad konservering.

Det fanns synligt mögel på ytan av 7 silor av K och 2 av B, vid öppning av silorna, men den hygieniska kvaliteten var enligt analysresultaten helt oberoende av om ensileringsmedel använts eller inte. Det fanns ingen skillnad i mängd klostridier, enterobakterier, jäst och mögel mellan det behandlade och det obehandlade fodret. Det kan vara värt att tänka på att den använda analysmetoden bara ger svar på antal cfu/g foder, inte på den egentliga mängden svamp i fodret. En spor ger upphov till en ”prick” på plattan, men det skulle kunna skilja väldigt mycket mellan silorna hur mycket synligt mögel sporererna gett upphov till. En spor kan i en silo växa ut till massor av synliga fruktkroppar som täcker en stor yta, medans en annan silo skulle kunna innehålla ett stort antal sporer som ännu inte har vuxit ut, och därmed ser fodret för blotta ögat inte svampangripet ut.

Ensileringsmedlets inverkan på den aeroba lagringsstabiliteten

Om ensileringsmedel använts vid inläggning eller vid inläggning plus öppning, uppmättes lägre antal svampar jämfört med om grönmassan inte behandlats alls eller endast sprayats vid öppning av silorna. Att bara behandla vid öppning ledde till att mindre mögel detekterades än i kontrollerna, men för jäst fanns inte denna skillnad.

Det högre innehållet av jäst och mögel i kontrollerna avspeglar sig även i temperaturförändringarna under den aeroba lagringen. Maxtemperaturen var över fyra grader högre i KK än i BS (se tabell 11). Det fanns även en tendens till att BK och KS hade en lägre maxtemperatur än KK. LKK och LKS hade en temperaturstegring som nådde sitt maximum sista halvan på det sjunde dygnet. Skillnaden i temperatur var ungefär 5°C mellan den lägsta temperaturen och maxtemperaturen. LBK och LBS hade ingen temperaturstegring, vilket tyder på en lägre mikrobiell aktivitet. I M var mönstret lite annorlunda än i L. Även här inträffade en temperaturstegring i MKK, men ej i MKS. Däremot skedde en ökning av temperaturen i MBK. Det är dock svårt att uttala sig om resultatet då standarddeviationen var så pass stor. I H inträffade som redan nämnt ingen temperaturstegring, vilket troligen beror på den generella låga mikrobiella aktiviteten, vilket kan förklaras av den låga vattenaktiviteten.

Begränsningar med försöket

Den stora skillnaden mellan det här försöket och hur det praktiskt ser ut i verkligheten var att grönmassan lagrades i försökssilor i stället för i inplastade balar. Förutsatt att silon inte läcker in luft via t.ex. jäsrör så är den helt tät. Polyetylenplasten som omger en ensilagebal är däremot inte hundra procent tät, utan kan släppa igenom små mängder syre (Jonsson *et al.*, 1990) och en gröda med hårda stjälkar kan perforera plasten med syreinträde som följd. Det skulle kunna förklara varför det uppnåddes ett så pass bra resultat för H, trots att det är känt sedan tidigare att höga torrsubstanshalter kan leda till problem med svamptillväxt.

Prover för analyserna togs nära silons ytskikt. Det kanske inte ger en helt rättvisande bild av tillväxten av svamp i hela silon. Vid jämförelse mellan t.ex. LKK och HKK inuti silon, innehöll LKK minst synlig svamp (se figur 3a och 3c), men enligt analysresultatet innehöll H mindre mögel än L oberoende av behandling (se tabell 10). I många av silorna växte det mer mögel längre ner i silon än det gjorde vid ytan. Hade även proverna för mikrobiologisk analys tagits längre ner i silorna hade resultatet blivit ett annat. Det är dock relativt svårt att avgöra hur mycket svamp som finns i hela silon på en ganska oprecis okulär bedömning.

Att bara använda tre silor till varje behandling av varje förtorkningsgrad ger ett mycket begränsat antal observationer och försöket blir väldigt beroende av hur resultatet blir för varje enskild silo. Nu lagrades silorna en väldigt begränsad period. En längre lagringsperiod hade ökat risken för en högre tillväxt av jäst, mögel och bakterier, och det hade varit intressant att se om det då funnits skillnader mellan det behandlade och obehandlade fodret även vid öppningen av silorna.

Slutsatser

Varken förtorkningsgraden eller tillsats av ensileringsmedel påverkade innehållet av jäst och mögel under den anaeroba lagringen. En högre förtorkningsgrad ledde till lägre näringsförluster under den anaeroba lagringen och att lägre antal jäst- och mögelsporer detekterades efter sju dagars aerob lagring. Tillsats av ensileringsmedel vid inläggningen ledde till att fodret fick ett lägre pH-värde och lägre antal LAB, och att fermentationen blev mindre utbredd, framförallt i L. Tillsats av ensileringsmedel minskade lagringsförlusterna i L och M, och för H fanns det en tendens till att lagringsförlusterna minskade. Användning av ensileringsmedel vid inläggning eller vid inläggning plus öppning ledde till en klar minskning av antalet svampar vid jämförelse med kontrollerna eller fodret som behandlats endast vid öppning av silorna. Att bara behandla fodret vid öppning ledde till att mindre mögel detekterades än i kontrollerna, men för jäst uppmättes inte denna skillnad. Slutsatsen kan alltså dras att ensileringsmedlet fungerade för att förlänga den aeroba lagringsstabiliteten i det här försöket, och att bäst resultat uppnåddes om ensileringsmedlet tillsattes redan vid inläggningen av grönmassan.

Acknowledgements

Stort tack till Addcon Nordic för sponsringen av ensileringsmedlet

Stort tack till följande personer;

Cecilia Müller, för all tid du lagt ner, och all hjälp med arbetet

Börje Ericsson, för de utförda analyserna och pedagogiska svar på mina frågor

Cathrine Haaga, för all hjälp med provberedning osv.

Mina föräldrar och mina kompisar, för allt stöd och coaching!

Sist men inte minst; Anczyk – Min bästa kompis och största inspirationskälla! Utan dig hade jag aldrig orkat.

Abstract

An increasing part of the Swedish horse population are fed plastic-wrapped forages. These often have relatively high dry matter content and is often referred to as haylage. In haylage little or no lactic acid is formed, which means that the pH reduction is small or absent, and that relatively high concentrations of water soluble carbohydrates remains in the feed when opening the bale. This favours micro-organisms such as fungi of yeast, which can cause a short aerobic storage stability. This is problematic since 75% of the Swedish horses are housed in stables with just 1 to 4 horses (Persson, 2005), which means that the bales of haylage in many cases are not consumed at the same rate as the progression of aerobic deterioration. The conditions for acid preservation of cereals are similar to those for preservation of haylage; high-dry-matter and problems with fungus. Consequently additives developed for acid preservation of cereals can be of interest for conservation of haylage as well. Such additives often contain acids and salts such as sodium benzoate and propionic acid. Sodium benzoate kills yeast cells by lowering the cell pH (Krebs *et al.*, 1983), and propionic acid based additives have antifungal properties through competing with amino acids for space on the enzyme's active sites on the surface of microorganisms (Kung *et al.*, 2003). The purpose of the present study was to examine how a additive³ consist of sodium benzoate, propionic acid and sodium propionate acts as a preservative in silage and haylage and how it may affect the aerobic storage stability of these feeds.

To evaluate the effect of the additive green forage with dry matter content of 300 (L), 500 (M) and 700 (H) g ts/kg was conserved in laboratory silos with and without additive. In order to follow storage losses the silos were weighed daily for three to four days after filling. After that they were weighed approximately every third day for two weeks, and finally once a week. After 60-62 days, silos were opened, visible yeast and mould growth was recorded and samples were taken for microbiological and chemical analysis. When opening the silos half of the treated and half of the untreated silos were treated again with additive on the surface. The silos were left open for seven days at 20 °C and the temperature was registered automatically every two hours. After being stored aerobically for seven days the silos were sampled once more for analysis of fungi and visible yeast and mould growth was recorded.

Haylages treated with additives at sealing had a lower pH, lower content of crude protein and LAB, higher content of dry matter, and in L and M the content of water soluble carbohydrates

³ Kofa[®] Grain pH5, Addcon Nordic AS, Germany

was higher and in L the content of metabolisable energy was higher. The additive treatment also led to a reduction of fermentation products, mainly in L. Neither the dry matter content nor addition of silage additives influenced the content of yeasts and moulds during the aerobic storage. The more the forages were dried the lower the storage losses, and a lower content of yeast and mould was detected after 7 days of aerobic storage. After seven days of aerobic storage the number of yeasts and moulds was higher the less the crop had been dried. Addition of additive at sealing served to reduce the growth of yeasts and moulds during the aerobic storage. A second treatment at the opening did not reduce the growth. Only treating the silage when opening the silos led to less mould growth than in completely untreated material, but the content of yeast was not affected. The conclusion of the experiment is that the additive worked well to extend the aerobic storage stability, and best results were achieved when the additive was added at sealing.

Litteraturförteckning

Andersson, R., Hedlund, B. 1983. HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung* 176, 440-443.

Auerbach, H., Oldenburg, E., Weissbach, F., 1998. Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortine C in silages. *Journal of the science of Food and Agriculture* 76, 565-572.

Billysson, F., 2002. *Kartläggning av utfodring hos ridskolor i skåne*. Examensarbete i lantmästarprogrammet. Sveriges lantbruksuniversitet, Alnarp, Sverige.

Buckle, A.E. 1983. The Occurance of Mycotoxins in Cereals and Animal Feedstuffs. *Veterinary Research Communication* 7, 171- 186

Chai, W., 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.

Dawson, L.E.R., Ferris, C.P., Steen, R.W.J., Gordon, F.J., Kilpatrick, D.J. 1999. The effects of wilting grass before ensiling on silage intake. *Grass and Forage Science* 54, 237-247.

Fenlon, D.R., Wilson, J., Weddel, J.R. 1989. The relationship between spoilage and *Listeria monocytogenes* contamination in bagged and wrapped silage. *Grass and Forage Science* 44, 97-100.

FOSS-Tecator. 1992. Ammonia. Application Note ASN 50-01/92. Tecator, Höganäs, Sweden.

Gibson, T. 1965. Clostridia in silage. *Journal of applied bacteriology* 28, 56-62.

Gordon, C. H., Derbyshire, H. G., Jacobson, W. C., Humphrey, J. L. 1965. Effects o dry matter in low-moisture silage on preservation, acceptability, and feeding value for dairy cows. *Journal of dairy science* 48, 1062-1068.

Gordon, C.H., Derbyshire, J.C., Wiseman, H.G., Kane, E.A., Melin, C.G. 1961. Preservation and feeding value of alfalfa stored as hay, haylage and direct-cut silage. *Journal of diary science* 44, 1229-1311.

Gotlieb, A. 1997. Causes of mycotoxins in silages. In: *Silage: Field to feedbunk*. NRAES-99. NRAES, Ithaca: New York; 213-221.

Greenhill, W.L. 1964. Plant juices in relation to silage fermentation. 1. The role of the juice. *Journal of the British Grassland Society* 19, 30-37.

- Haigh, P.M. 1987. The effect of dry matter content and silage additives on the fermentation of grass silage on commercial farms. *Grass and Forage Science* 42, 1-8.
- Han, K.J. 2006. Characteristics of baled silage made from first and second harvests of wilted and severely wilted forages. *Grass and Forage Science* 61, 22-31.
- Henderson, A.R., McDonald, P., Woolford, M.K., 1972. Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass treated with formic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23, 1079-1087.
- Henderson, N. 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology* 45, 35-56.
- Holmquist, S. 2000. *Vallfoderrelaterade problem vid utfodring av hästar*. Examensarbete 142. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Jaakkola, S., Saarisalo, E., Heikkilä, T. 2010. Aerobic stability and fermentation quality of round bale silage treated with inoculants or propionic acid. *Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation*, Kiel, Germany. pp. 503-505.
- Jansson, A., Rundgren, M., Lindberg, J.E., Ronéus, M., Hedendahl, A., Kjellberg, L., Lundberg, M., Karlsson Palmgren, C., Ekström, K. 2004. *Utfodringsrekommendationer för häst*. Hippologenheten. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. pp. 26-28.
- Jonsson, A. 1989. *The Role of Yeast and Clostridia in Silage Deterioration*. Dissertation. Rapport 42, Institutionen för mikrobiologi. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. pp. 11-15.
- Jonsson, A., Lindberg, H., Sundås, S., Lingvall, P., Lindgren, S. 1990. Effect of additives on the quality of big-bale silage. *Animal Feed Science and Technology* 31, 139-155.
- Kaya, G., Sommerfeld-Stur, I., Iben, C. 2009. Risk factors of colic in horses in Austria. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93, 339-349.
- Keles, G., Kiely, P.O., Lenehan, J.J., Forristal, P.D. 2009. Conservation characteristics of baled grass silages differing in duration of wilting, bale density and number of layers of plastic stretch-film. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 48, 21-34.
- Keller, TH., Nonn, H., Jeroch, H. 1998. The effect of sealing and additives on the fermentation characteristics and mould and yeast counts in stretch film wrapped big-bale lucerne silage. *Archives of Animal Nutrition* 51, 63-75.
- Knicky, M., Lingvall, P. 2004. Ensiling of high wilted grass-clover mixture by use of different additives to improve quality. *Acta. Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.* 54, 197-205.

- Knicky, M., Spörndly, R. 2009. Sodium benzoate, potassium sorbate and sodium nitrate as silage additives. *Journal of the science of Food and Agriculture* 89. pp. 2659-2667.
- Krebs, H.A., Wiggings, D., Stubbs, M., Sols, A., Bedoya, F. 1983. Studies on the antifungal action of benzoate. *Biochemistry Journal* 214, 657-663.
- Kung, L. JR. 2001. Silage fermentation and additives. In: Science & Technology in the feed industry. *Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. Ed: Lyons, T.P., Jacues, K.A. pp. 145-159.
- Kung, L. JR., Stokes, M.R., Lin, C.J. 2003. Silage additives. In: *Silage Science and Technology*. Ed: Buxton, D.R. Muck, R.E., Harrison, J.H. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. pp. 305-360.
- Lacey, J., 1989. Pre- and postharvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of applied Bacteriology* 67, 11S-25S.
- Larsson, K., Bengtsson, S. 1983. *Bestämning av lättillgängliga kolhydrater i växtmaterial. Metod 22*. Statens Lantbrukskemiska Laboratorium, Uppsala.
- Lingvall, P. 1994. *Vilka problem kan vi lösa med tillsatsmedel?* Utfodringskonferens Svensk Husdjursskötsel, Eskilstuna. pp. 9-20.
- Lingvall, P., 1995. *Konsten att storbalsensilera*. Trioplast AB, Smålandsstenar, Sverige.
- Lindgren, E. 1979. *Valfodrets näringsvärde bestämt in vivo och med olika laboratoriemetoder*. Rapport 45. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Lindgren, S., Pettersson, K., Kaspersson, A., Jonsson, A., Lingvall, P. 1985. Microbial Dynamics During Aerobic Deterioration of Silage. *Journal of the science of Food and Agriculture* 36, 765-774.
- Lindgren, S. 1994. *Ensilagets mikrobiologi*. Utfodringskonferens Svensk Husdjursskötsel, Eskilstuna. pp. 9-20.
- Lowes, K.F., Shearman, C.A., Payne, J., MacKenzie, D., Archer, D.B., Merry, R.J. 2000. Prevention of Yeast Spoilage in Feed and Food by the Yeast Mycocin HMK. *Applied and environmental microbiology* 66, 1066-1076.

Lättemäe, P. 1997. *Ensiling and Evaluation of Forage Crops - Effects of harvesting strategy and use of additives to fresh-cut and wilted crops*. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Animal Nutrition and Management, Uppsala.

Lättemäe, P., Lingvall, P. 1996. Effect of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and storage stability of wilted and long cut grass silage. *Swedish Journal of Agricultural Research* 26, 135-146.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2006. *Brock, Biology of Microorganisms*. 11:nt edition. Pearson Prentice Hall, United States of America. pp. 374-379.

McDonald, P., Hendersson, A.R. & Heron, S.J.E. 1991a. *The biochemistry of silage*. 2:nd edition. Chalcombe publikations. Marlow, Bucks. pp. 9-18.

McDonald, P., Hendersson, A.R. & Heron, S.J.E. 1991b. *The biochemistry of silage*. 2:nd edition. Chalcombe publikations. Marlow, Bucks. pp. 81-151.

McDonald, P., Hendersson, A.R. & Heron, S.J.E. 1991c. *The biochemistry of silage*. 2:nd edition. Chalcombe publikations. Marlow, Bucks. pp. 167-183.

McEniry, J., O' Kiely, P., Clipson, N.J.W., Forristal, P.D., Doyle., E.M. 2006. The microbiological and chemical composition of baled and precision-shop silages on a sample of farms in Country Meth. *Irish Journal of Agricultural and Food Resarch* 45, 73-83.

McEniry, J., O'Kiely, P., Clipson, N.J.W., Forristal, P.D., Doyle., E.M. 2007a. Manipulating the ensilage of wilted, unchopped grass through the use of additive treatments. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 46, 77-91.

McEniry, J., O'Kiely, P., Clipson, N.J.W., Forristal, P.D., Doyle., E.M. 2007b. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass and Forage Science* 62, 470-484.

McEniry, J., Kiely, O., Clipson, N.J.W., Forristal, P.D., Doyle., E.M. 2008. The microbial and chemical composition of silage over the course of fermentation in round bales relative to that of silage made from unchopped and precision-chopped herbage in laboratory silos. *Grass and Forage Science* 63, 407-420.

Muck, R.E., Pitt, R.E. 1993. Ensiling and its effect on crop quality. In: *Silage Production – from seed to animal*. Proceedings from the National Silage Production Conference. Syracuse, New York. Pp. 57-66.

Mowat, D.N., Fulkerson, R.S., Tossell, W.E., Winch, J.E. 1965. The in vitro dry matter

digestibility of several species and varieties and their plant parts with advancing stages of maturity. In: *Proceedings of the IXth international Grassland Congress*, Sao Paolo 1. pp. 801-806.

Muhonen, S., Julliand, V., Lindberg, J.E., Bertilsson, J., Jansson, A. 2009. Effects of the equine colon ecosystem of grass silage and haylage diets after an abrupt change from hay. *Journal of Animal Science* 87, 2291-2298.

Müller, C. 2002. *Småbalsensilage - paketensilage till hästar*. Rapport 254. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. pp. 22-23.

Müller, C. 2005. Fermentation patterns of small-bale silage and haylage produced as a feed for horses. *Grass and forage science* 60, 109-118.

Müller, C. 2007., Pauly, T., 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. 2009a. Influence of harvest date of primary growth on microbial flora of grass herbage and haylage, and on fermentation and aerobics stability of haylage conserved in laboratory silos. *Grass and forage science* 64, 328-338.

Müller, C. 2009b. Long-stemmed vs. cut haylage in bales- Effects on fermentation, aerobic storage stability, equine eating behaviour and characteristics of equine faeces. *Animal Feed Science and Technology* 152, 307-321.

Mylykoski, J., Lindström, M., Keto-Timonen, R., Söderholm, H., Jakala, J., Kallio, H., Sukura, A., Korkeala, H. 2009. Type C bovine botulism outbreak due to carcass contaminated non-acidified silage. *Epidemiology Infection* 137, 284-293.

O'Brien, M., O'Kiely, P., Forristal, P.D., Fuller, H.T. 2007. Quantification and identification of fungal propagules in well-managed baled grass silage and in normal on-farm produced bales. *Animal Feed Science and Technology* 132, 283-297.

Pauly, T.M., Hansson, I.B., Tham, W.A. 1999. The effect of mechanical treatments on the growth of *Clostridium tyrobutyricum* and *Listeria monocytogenes* in grass silage. *Animal Feed Science and Technology* 78, 127-139.

Persson, P. 2005. *Kartläggning och analys av hästverksamheten i Sverige*. Rapport från Jordbruksverket, Jönköping. Sverige. ISSN 1102-3007.

Pettersson, K. 1988. *Ensiling of forages - Factors affecting silage fermentation and quality*. Dissertation. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. Rapport 179. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Pitt, R.E, Muck, R.E., Leibensperger, R.Y. 1985. A quantitative model of the ensilage model process in lactate silages. *Grass forage science* 40, 279-303.

Rees, D.W.H., Audsley, E., Neale, M.A. 1983. Some physical properties that affect the rate of diffusion of oxygen into silage. *Journal of Agricultural Science*. Cambridge 100, 601-605.

Robinson, N.E., Derksen, F.J., Olszewski, M.A., Buechner-Maxwell, V.A. 1996. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. *British veterinary journal* 152, 283-306.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Lund, F., Filtenborg, O., Frisvad, J.C. 2000. Methods for the detection, isolation and characterisation of food-borne fungi. In: *Introduction to food-borne fungi*, 6th edn. Ed: Samson R.A., Hoekstra E.S., Filtenborg O., Frisvad J.C. Utrecht, Nederländerna: Centraalbureau voor schimmelcultures. pp. 283 -297.

Sargison, N. 1993. Health hazards associated with the feeding of big bale silage. *In Practice Journal of Veterinary Postgraduate Clinical Study* 15 (6), 291-297.

Scudamore, K.A. & Livesey, C. 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., Dellaglio, F., Lowe, J.F. 1986. Methods for the microbiological analysis of silage. In: *Proceedings of the Eurobac Conference*, Uppsala, Sweden. pp. 147-164.

Séguin, V., Lemauviel-Lavenant, S., Garon, D., Bouchart, V., Gallard, Y., Blanchet, B., Diquelou, S., Personeni, E., Gauduchon, P., Ourry, A. 2010. Effect of agricultural and environmental factors on the hay characteristics involved in equine respiratory disease. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 135, 206-215.

Spörndly, R. 2003. *Fodertabeller för idisslare*. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. pp. 78-79.

Weinberg, Z.G. & Muck, R.E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews* 19, 53-68.

Weissbach, F. 1996. New developments in crop conservation. *Proceedings of the 11th International Silage Conference*. University of Wales, Aberystwyth, UK. pp. 11-24.

Westerlund, E. 2007. *Kartläggning av grovfoderanvändning hos travtränare i norrland*. Hippologerheten. Fördjupningsarbete nr. 341.

Wichert, B., Nater, S., Wittenbrink, M.M., Wolf, P., Meyer, K., Wanner, M. 2008. Judgement of hygienic quality of roughage in horse stables in Switzerland. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92, 432-437.

Wilkinson, J.M. 1999. Silage and animal health. *Natural Toxins* 7, 221-232.

Williams, A.G. 1994. The Permeability and Porosity of Grass Silage as Affected by Dry matter. *J. Agric. Enging Res.* 59, 133-140.

Williams, A.G., Hoxey, R.P., Lowe, J.F. 1997. Changes in temperature and silo gas composition during ensiling, storage and feeding-out grass silage. *Grass and Forage Science* 52, 176-189.

Woolford, M.K. 1975. Microbial Screening of Food Preservatives, Cold Sterilants and Specific Antimicrobial Agents as Potential Silage Additives. *Journal of the science of Food and Agriculture* 26, 229-237.

Woolford, M.K. 1990. The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology* 68, 101-116.

Wyss, U. 2002. Silage additives and aerobic stability. Results of the tests in 2000. *Revue Suisse d'Agriculture* 34, Abstract.

Wyss, U., Klein, P., Mund, K., von Niederhausern, R., Strickler, B., Wichert, B. 2010. Stability of silages for horses during feeding. *Agrarforschung Schweiz* 1, pp. 314-319. Abstract.

Personliga meddelanden:

Thomas Pauly. 2011. Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Fodervetenskap. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Elektroniska källor:

European Commission. 2002. Opinion of the Scientific Committee for animal Nutrition on the use of Kofa[®] Grain pH5 (a mixture of sodium benzoate, propionic acid and sodium propionate) in feedingstuffs for pigs, cattle for fattening and dairy cows. [online] (2002-07-19) Tillgänglig: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scan/out84_en.pdf. [2011-04-21].

Nr	Titel och författare	År
332	Automatic registration of dairy cows grazing behaviour on pasture Automatisk registrering av mjölkkors betningsbeteende 30 hp E-nivå Kristina Blomberg	2011
333	Svenska mjölkkor på bete – Värmens påverkan på beteende och produktion hos mjölkkor i en besättning med AMS Swedish dairy cows at pasture – The effect of temperatur and THI on behaviour and production of dairy cows in a Swedish AMS herd 30 hp E-nivå Hanna Alfredius	2011
334	Motivation for eating roughage in sows – as an indication of hunger Suggors motivation att äta ensilage som en indikator på hunger 30 hp E-nivå Tove Bergström	2011
335	Methane Production from Dairy Cows Relations Between Enteric Production and Production from Faeces and Urine Metanproduktion från mjölkkor Relationer mellan enterisk produktion och produktion från gödsel 30 hp E-nivå Agnes Willén	2011
336	Mjölkföretag i Skåne och Halland – Management, produktion och ekonomi Dairy farms in Skåne and Halland – Management, production and economy 30 hp E-nivå Rebecca Nilsson	2011
337	Magnesium chloride in dry cow silage to prevent hypocalcaemia 30 hp E-nivå Mikaela Jardstedt	2011
338	Nutrient digestibility of wheat wet and dried distillers' grain in growing pigs 30 hp E-nivå Kishor Kumar Gautam	2011

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15 eller 30 högskolepoäng) samt större enskilda arbeten (15-30 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.

DISTRIBUTION:
Sveriges Lantbruksuniversitet

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