

**Mgr inż. Martyna Wilk**

**Dziedzina:** Nauki rolnicze

**Dyscyplina:** Zootechnika

**Data otwarcia przewodu doktorskiego:** 09.05.2017

**Temat:** Wpływ inokulantu *Lactobacillus buchneri* na wartość pokarmową kiszonek z *Sorghum saccharatum* (L.) Moench oraz procesy przemian żwaczowych

**Topic:** Effect of *Lactobacillus buchneri* inoculum on the nutritional value of *Sorghum saccharatum* (L.) Moench silages and the processes of rumen transformation

**Promotor:** dr hab. inż. Andrzej Wiliczkiewicz, profesor UPWr

**Promotor pomocniczy:** dr inż. Barbara Król, profesor UPWr

**Recenzenci:** 1) Prof. dr hab. Cezary Purwin

2) Prof. dr hab. Renata Filipina Klebaniuk

Martyna Wilk

## Streszczenie

Zmiany warunków klimatycznych obserwowane na całym świecie, również w Europie Środkowej, wymuszają na rolnikach poszukiwanie alternatywnych roślin, których uprawa przyniesie zadowalający plon o wysokiej jakości. W strukturze gruntów ornych w Polsce dominują gleby lekkie, które są mało przydatne do uprawy kukurydzy - paszy objętościowej charakteryzującej się jedną z najwyższych wartości pokarmowych w żywieniu wysokowydajnych krów mlecznych. Pogłębiający się deficyt wodny powoduje, że uzyskiwane plony są znacznie niższe. Alternatywą dla kukurydzy może być sorgo, gatunek trawy tropikalnej, który znalazł zastosowanie w przemyśle spożywczym, piwowarskim, energetycznym. W żywieniu zwierząt gospodarskich z powodzeniem wykorzystuje się ziarno, słomę, zielonkę oraz kiszonkę z sorgo.

Sorgo cukrowe (*Sorghum saccharatum*) z uwagi na wysoką koncentrację cukrów łatwo rozpuszczalnych w wodzie, uprawiane jest w celach paszowych oraz do produkcji biopaliw. Wyłoki to produkt uboczny ekstrakcji soku z łodyg sorgo cukrowego. Ta celulozowa, niewykorzystana biomasa roślinna, jak wiele innych produktów ubocznych np. śruta rzepakowa, może znaleźć zastosowanie w żywieniu zwierząt.

*Lactobacillus buchneri* zalecany jest do stosowania w konserwacji pasz o małych ziarnach lub wysokiej wilgotności, podatnych na psucie i niestabilność tlenową. Jednakże dodatek tego inokulantu bakteryjnego może wpływać na profil fermentacji w żwaczu. Produkty heterofermentacji (kwas octowy, CO<sub>2</sub>) są wykorzystywane przez mikroorganizmy metanogenne, naturalnie bytujące w żwaczu, jako substraty do syntezy metanu. Intensywne procesy metanogenezy prowadzą do zwiększenia strat energetycznych z paszy i nasilenia negatywnego wpływu hodowli zwierząt przejuwających na środowisko naturalne.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu heterolaktycznego szczepu bakterii *Lactobacillus buchneri* ( $5 \times 10^4$  JTK/ml) dodanego podczas procesu zakiszania całych roślin oraz wyłoków z Sucrosorgo 506 na skład chemiczny, stabilność tlenową, jakość otrzymanych kiszonek i ich pH oraz profil fermentacji żwaczowej *in vitro*, ze szczególnym uwzględnieniem wpływu na proces metanogenezy.

Całe rośliny Sucrosorgo 506 oraz wyłoki Sucrosorgo 506 zakiszano zgodnie z następującym schematem: rośliny Sucrosorgo 506 z inokulantem bakteryjnym (WCCS1); rośliny Sucrosorgo 506 bez dodatku (WCCS0); wyłoki Sucrosorgo 506 z inokulantem bakteryjnym (SB1); wyłoki Sucrosorgo 506 bez dodatku (SB0).

Analiza składu chemicznego, zawartość składników mineralnych oraz profil aminokwasowy zostały określone zarówno dla materiałów świeżych, jak i otrzymanych kiszonek. W celu oceny jakości oznaczono pH kiszonki, stabilność tlenową, zawartość azotu amonowego, koncentrację lotnych kwasów tłuszczywych oraz etanolu. Celem fermentacji *in vitro* była ocena wpływu heterofermentacyjnego *Lactobacillus buchneri* dodanego podczas procesu zakiszania biomasy sorgo na profil lotnych kwasów tłuszczywych w żwaczu krów mlecznych. Do badań wykorzystano otrzymane kiszonki oraz płyn żwaczowy pozyskany od krów mlecznych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Inkubację prowadzono w warunkach beztlenowych w łaźni wodnej z wytrząsaniem (39°C) przez 8 i 24 godziny. Pod koniec fermentacji, metodą chromatografii gazowej, oznaczono całkowitą produkcję gazu, koncentrację metanu oraz profil lotnych kwasów tłuszczywych.

10/14

W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano pozytywny wpływ dodatku *Lactobacillus buchneri* na koncentrację składników odżywczych oraz jakość kiszonek, a zwłaszcza profil lotnych kwasów tłuszczyowych. Wszystkie badane kiszonki z Sucrosorgo 506 były stabilne tlenowo. Dodatek *Lactobacillus buchneri* zwiększył stężenie kwasu mleковego i kwasu octowego oraz zmniejszył stężenie kwasu masłowego i kwasu mrówkowego w kiszonkach.

Dodatek *Lactobacillus buchneri* obniżył stężenie octanu po 8h fermentacji *in vitro* kiszonki WCCS i SB w żwaczu. Rodzaj fermentowanej paszy wpływał na stężenie octanu, propionianu, maślanu, izowalerianianu i walerianianu po 8h fermentacji *in vitro* w żwaczu. Ponadto rodzaj fermentowanej paszy wpływał na stężenie propionianu, izomaślanu i maślanu po 24h fermentacji. Dodatek *Lactobacillus buchneri* zwiększył poziom metanu po 8h fermentacji WCCS i SB. Natomiast po 24h fermentacji dodatek *Lactobacillus buchneri* wpływał na zmniejszenie stężenia metanu w kiszonce WCCS. Profil fermentacji (24h) kiszonek SB charakteryzował się wyższym poziomem metanu w porównaniu do kiszonek WCCS.

Kiszonka z sorgo nie może być uznana za paszę konkurencyjną dla dobrej jakości kiszonki z kukurydzy. Należy jednak podkreślić, że zależność ta obowiązuje w sytuacji gdy obie rośliny uprawiane są w sprzyjających warunkach. W okresie kwitnienia kukurydza jest gatunkiem szczególnie wrażliwym na czynniki stresowe. W warunkach stresu wodnego plon ziarna kukurydzy ulega obniżeniu podczas gdy ziarno sorgo pozostaje praktycznie bez zmian. W konsekwencji energia metaboliczna zawarta w plonie biomasy z kukurydzy gwałtownie spada i może być nawet niższa niż w sorgo uprawianym w tych samych warunkach. Warunki pogodowe w okresie wegetacji mają duży wpływ na plonowanie roślin. Nadmiar, a także brak opadów, zbyt niska lub za wysoka temperatura w dużym stopniu decydują o stabilności plonowania. Do prowadzenia produkcji roślinnej w pogarszających się warunkach pogodowych konieczny jest dobór roślin uprawnych, tolerancyjnych na czynniki stresowe. Z uwagi na wysoką tolerancję na niekorzystne warunki pogodowe w okresie wegetacji sorgo zalecane jest do uprawy na obszarach, na których potencjał kukurydzy jest ograniczony.

Sorgo jest również rośliną interesującą pod względem produkcji biopaliw ponieważ posiada wiele zalet, których brakuje innym uprawom. Wraz ze wzrostem popularności sorgo cukrowego w produkcji biopaliw wzrastać będzie ilość uzyskiwanych produktów ubocznych. Wykorzystanie wyłoków do produkcji kiszonek pozwoli na racjonalne zagospodarowanie tego produktu ubocznego. Dobrej jakości kiszonki z wyłoków sorgo cukrowego stanowić mogą paszę komplementarną w żywieniu przeżuwaczy.

Oprócz niższej koncentracji energii kiszonki z roślin i wyłoków w sorgo cukrowego charakteryzują się również wyższym poziomem włókna surowego, w porównaniu do kiszonki z kukurydzy. Kiszonki z sorgo z powodzeniem mogą stanowić podstawę żywienia rosnących jałówek i krów zasuszonych, których zapotrzebowanie na energię jest znacznie niższe niż zapotrzebowanie krów wysokoprodukcyjnych.

W:U

## Abstract

Changes in climatic conditions observed across the world, also in Central Europe, force farmers to search for alternative plants, which will bring a satisfactory and high-quality crop yield. In the structure of Polish arable land the light soils are dominated. They are of little use for the cultivation of maize - roughage with one of the highest nutritional values and most popular for feeding high-performance dairy cows. The worsening water scarcity causes much lower yields. An alternative to maize can be sorghum, a species of tropical grass that has been used in the food, brewing and energy industries. Grain, straw, green fodder and sorghum silage are successfully used in the nutrition of livestock.

Sweet sorghum (*Sorghum saccharatum*), due to the high concentration of water-soluble sugars, is cultivated for fodder and for the biofuel production. Bagasse is a by-product of the extraction of juice from sweet sorghum stalks. This cellulosic, unused plant biomass, like many other by-products, e.g. rapeseed meal, may be used in animal nutrition.

*Lactobacillus buchneri* is recommended for use in the preservation of forages with small grains or high moisture content, susceptible to spoilage and oxygen instability. However, the addition of this bacterial inoculum may affect the rumen fermentation profile. The products of heterofermentation (acetic acid, CO<sub>2</sub>) are used by methanogenic microorganisms that naturally live in the rumen as substrates for the synthesis of methane. Intensive methanogenesis processes lead to an increase in energy losses from feed and the intensification of the negative impact of breeding ruminants on the natural environment.

The present research aimed to determine the effect of heterolactic strain of bacteria *Lactobacillus buchneri* ( $5 \times 10^4$  CFU/ml) added during ensilage of whole crop cereal sorghum (WCCS) and sorghum bagasse (SB) on the chemical composition, aerobic stability, quality of the obtained silages and their pH as well as *in vitro* rumen fermentation profile, with particular emphasis on taking into account the influence on the process of methanogenesis.

Sucrosorgo 506 whole crop cereal sorghum and bagasse were ensiled according to the following scheme: Sucrosorgo 506 WCCS with a bacterial inoculant (WCCS1); Sucrosorgo 506 WCCS without additives (WCCS0); Sucrosorgo 506 bagasse with bacterial inoculant (SB1) and Sucrosorgo 506 bagasse silage without the additive served as control (SB0).

Chemical analysis, mineral compositions and amino acids profile were determined for both fresh and ensiled materials. The pH value of the silage, aerobic stability, ammonia nitrogen content, volatile fatty acids and ethanol contents of the silage were determined to evaluate its quality. The aim of *in vitro* fermentation study was to evaluate the effect of heterofermentative *Lactobacillus buchneri* added to sorghum biomass during the ensiling process, on the profile of volatile fatty acids in the rumen. Obtained silages and Polish Holstein-Friesian dairy cows were used in the study. The incubation was performed under anaerobic conditions in a shaking water bath (39°C) for 8 and 24 hours. At the end of fermentation the gas production, level of methane, concentration and the profile of VFA were determined using gas chromatography.

10:04

A positive effect of the addition of *Lactobacillus buchneri* on the concentration of nutrients and quality of silages, especially volatile fatty acid profile were revealed. It was also found that all investigated Sucrosorgo 506 silages were aerobically stable and exhibited satisfactory quality. The *Lactobacillus buchneri* additive increased the concentration of major acids, namely lactic and acetic, but decreased the concentration of butyric and formic acids in silages. The addition of *Lactobacillus buchneri* did not significantly affect the rumen fermentation profile, but the share of methane in the produced gas slightly decreased during the fermentation of silages with the addition of this bacteria.

The addition of *Lactobacillus buchneri* decreased the acetate concentration after 8h of *in vitro* rumen fermentation WCCS and SB silages. The fodder material affects the acetate, propionate, butyrate, isovalerate and valerate concentration after 8h of *in vitro* rumen fermentation. Moreover, fodder material affects the propionate, isobutyrate and butyrate concentration after 24h of fermentation. *Lactobacillus buchneri* increased the level of methane after 8h fermentation of WCCS and SB silages. However, after 24h of fermentation WCCS silage *Lactobacillus buchneri* decreased the concentration of methane. The fermentation profile (24h) of SB silages was characterized by higher levels of methane compared to WCCS silages.

The sorghum silage cannot be regarded as a competitive fodder for good quality maize silage. However, it should be emphasized that this relationship is valid when both plants are grown under favorable conditions. During flowering, maize is a species particularly sensitive to stress factors. Under water stress, the yield of maize grain decreases, while grain sorghum remains unchanged. As a consequence, the metabolic energy contained in the yield of maize biomass drops sharply and may even be lower than in sorghum grown under the same conditions. Weather conditions during the growing season have a great influence on the yield of plants. Excess of rainfall and no rainfall, too low or too high temperature largely determine the stability of the yield. To conduct plant production in worsening weather conditions, it is necessary to select crops that are tolerant to stress factors. Due to its high tolerance to unfavorable weather conditions during the growing season, sorghum is recommended for cultivation in areas where the potential of maize is limited.

Sorghum is also an interesting plant for biofuel production because it has many advantages that other crops lack. Along with the growing popularity of sugar sorghum in the production of biofuels, the amount of obtained by-products will increase. The use of bagasse for the production of silage will allow for rational management of this by-product. Good quality sugar sorghum bagasse silage can be a complementary feed in the nutrition of ruminants.

In addition to the lower energy concentration of silage from whole crop and bagasse of sugar sorghum, they also have a higher level of crude fiber compared to maize silage. The sorghum silage can be used for the feeding of growing heifers and dry cows, which the energy demand is much lower compared to highly productive cows.

W.U.