

# Wpływ fermentacji na status mikrobiologiczny i mikotoksykologiczny kiszonki z lucerny

PIOTR DORSZEWSKI, MAŁGORZATA GRABOWICZ, PIOTR SZTERK,  
JAN GRAJEWSKI\*, MAGDALENA TWARUŻEK\*

Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt,  
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz  
\*Zakład Fizjologii i Toksykologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Nauk Przyrodniczych,  
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz

Dorszewski P., Grabowicz M., Szterk P., Grajewski J., Twarużek M.

## Effect of fermentation on the microbiological and mycotoxicological status of alfalfa silage

### Summary

The aim of our investigations was to evaluate the effect of the fermentation process on the microbiological and mycotoxicological status of alfalfa silage. The second cutting of alfalfa was harvested in the initial stage of blooming, field-wilted at a dry matter content of around 30%, and ensiled in 16 mini-silos (8654.63 cm<sup>3</sup> volume). The silos were stored at an ambient temperature of 20°C for 12 weeks. The samples of green fodder and silage were collected for chemical, microbiological, and mycotoxicological analyses. The content of dry matter in the forage and silage was determined according to the Polish standard PN-ISO 6496 and that of crude protein according to PN-EN ISO 5983-1, PN-EN ISO 5983-2. In addition, basic fermentation parameters were determined in the silage: pH was measured by an N-517 pH-meter, and the content of organic acids (lactic acid, acetic acid, and butyric acid) by the HPLC method. The number of lactic acid bacteria was established according to the ISO 15214:2002 standard, the number of mesophilic aerobic bacteria according to PN-R-64791:1994, and the number of yeasts and molds according to ISO 7954:1999. The levels of aflatoxins (AF) and ochratoxin A (OTA) were determined by the HPLC method with fluorescence detection, and the contents of toxins T-2 and HT-2, nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenon were determined using HPLC -MS/MS. In addition, the mold types identified were calculated as a percentage of their total numbers. Alfalfa forage was characterized by a high content of epiphytic lactic acid bacteria. The numbers of mesophilic aerobic bacteria, yeasts and molds exceeded allowable levels for high-quality feed material. The fermentation process increased the number of lactic acid bacteria and reduced the occurrence of mold in silage compared with green fodder, while totally eliminating yeast. Among the mycotoxins analyzed, only small amounts of deoxynivalenol (DON) were detected in forage. The fermentation process had no effect on the count of aerobic mesophilic bacteria. The results of these analyses demonstrated a good microbiological and mycotoxicological status of alfalfa silage.

**Keywords:** alfalfa, silage, microbiological status, mycotoxicological status

Kiszonka z lucerny jest roślinnym komponentem białkowym diety przeżuwaczy, szczególnie dla krów wysoko mlecznych, które wymagają żywienia paszami o wysokiej jakości (7, 8). Jednym z kryteriów oceny, oprócz wartości pokarmowej, jest higiena paszy (24). Jakość kiszonek zależy między innymi od jakości zielonek przeznaczanych do zakiszania. Ogólne wymagania co do jakości higienicznej pasz, w tym pasz gospodarskich, takich jak siana i kiszonki zawarto w Rozporządzeniu (WE) Nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającym wymagania dotyczące higieny pasz. Jakość higieniczna pasz zależy od czynników biotycznych, do których należą liczebność pleśni i bakterii oraz szkod-

ników magazynowych, a także od czynników abiotycznych, takich jak zanieczyszczenia, zawartość metali ciężkich i toksyn (24). Liczebność pleśni oraz poziom miktotoksyn w paszy świadczy o jej statusie mikotoksykologicznym. Szczególnie dotyczy to obecności toksyn fuzaryjnych, takich jak zearalenon (ZEN) i deoksynivalenol (DON), choć obecności pierwszej z tych miktotoksyn nie stwierdza się zbyt często w kiszonkach (2). Ponadto zearalenon, a także deoksynivalenol oraz fumonizyny B1 i B2 w ograniczonym stopniu przedostają się z pasz do mięsa, mleka i jaj, wobec czego te miktotoksyny w niewielkim stopniu zagrażają bezpieczeństwu artykułów spożywczych pochodzenia zwierzęcego (9). Najbardziej wrażliwe na miktotoksyny są

zwierzęta monogastryczne, mniej poligastryczne. Duże dawki womitoksyny (DON) na poziomie 10 ppm, były dobrze tolerowane przez przeżuwacze, gdyż związek ten jest rozkładany przez mikroflorę przewodu pokarmowego (1, 21). Działanie takie wykazują także bakterie kwasu mlekowego i drożdże (21). Na status mikrobiologiczny i mikotoksykologiczny kiszzonek wpływa fermentacja. Przy wzroście liczebności bakterii mlekowych i sukcesywnym obniżaniu się liczby drożdży i pleśni ginie większość zarodników grzybów oraz zmniejsza się aktywność mikotoksyn, a nawet ulegają one całkowitemu rozkładowi (2, 3, 11, 15).

Celem pracy była weryfikacja hipotezy badawczej, że fermentacja poprawia status mikrobiologiczny i mikotoksykologiczny kiszzonek z lucerny.

### Materiał i metody

Podsuszoną zielonkę z lucerny (*Medicago sativa* L.) odmiany Alba (drugi pokos) o zawartości suchej masy na poziomie 300 g·kg<sup>-1</sup>, po rozdrobnieniu (długość sieczonek 30 mm) zakiszono w 16 minisilosach (średnica 15 cm, wysokość 49 cm). Przechowywano je w temperaturze 20°C przez 12 tygodni.

W zielonce i kiszonce oznaczono zawartość suchej masy według normy PN-ISO 6496 oraz białka ogólnego według norm PN-EN ISO 5983-1, PN-EN ISO 5983-2.

W kiszonce określono wartość pH przy użyciu pehametru N-517, a analizę zawartości podstawowych kwasów organicznych: mlekowego, octowego i masłowego wykonano metodą HPLC z detekcją refraktometryczną, stosując kolumnę Polyspher™ OA HY 300-6,5.

Analiza mikrobiologiczna zielonki i kiszzonek obejmowała oznaczenie liczebności: bakterii mlekowych (PN-ISO 15214:2002), bakterii tlenowych mezofilnych (PN-R-64791:1994) oraz drożdży i pleśni (PN-ISO 7954:1999). Próbkę do badań mikrobiologicznych przygotowano według PN-EN ISO 6887-1:2000. Dodatkowo obliczono procentowy udział zidentyfikowanych rodzajów pleśni w ogólnej ich liczbie. Ponadto wykonano oznaczenie zawartości następujących mikotoksyn: toksyny T-2 i HT-2, niwalenolu (NIV), deoksyniwalenolu (DON), zearalenonu (ZEN), aflatoksyn (AF): B1, B2, G1, G2 oraz ochratoksyny A (OTA). Analizę toksyn T-2 i HT-2, niwalenolu, deoksyniwalenolu i zearalenonu wykonano metodą HPLC-MS/MS. Próbkę oczyszczono na kolumnkach Bond Elut® Mycotoxin firmy Varian. Aflatoksyny oraz ochratoksynę A oznaczono metodą HPLC z detekcją fluorescencją. Próbkę oczyszczono na kolumnkach powinowactwa immunologicznego Afla Test firmy Vicam dla aflatoksyn oraz Ochra-Prep firmy R-Biopharm Rhône Ltd dla ochratoksyny A, wg procedury podanej przez producenta. Do derywatywacji postkolumnowej aflatoksyn zastosowano system Kobra® Cell.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą pakietu SAS (19). Istotność różnic między średnimi zweryfikowano testem t-Studenta.

### Wyniki i omówienie

Liczebność epifitycznych bakterii mlekowych jest jednym z czynników determinujących proces fermentacji, a ich poziom w zakiszczonym surowcu jest zazwyczaj niewystarczający do jego prawidłowego przebiegu (7, 11). Jak podają Pahlow i Weissbach (14), bakterii tych nie powinno być mniej niż 5 log jtk·g<sup>-1</sup> zielonki. Analiza mikrobiologiczna zielonki i kiszzonek z lucerny (tab. 1) wykazała, że liczba bakterii mlekowych nieznacznie przekroczyła wartość 6 log jtk·g<sup>-1</sup> zielonki i była wyższa niż wartości podawane dla tego surowca w piśmiennictwie od 1 do 5,3 log jtk·g<sup>-1</sup> świeżej masy (3, 10, 11, 22). Lin i wsp. (11) zwracają uwagę na fakt, że liczebność epifitycznych bakterii mlekowych w badaniach europejskich jest zmienna i niższa niż w prezentowanych przez nich badaniach wykonanych w Stanach Zjednoczonych. Źródła różnic upatrują w położeniu geograficznym i wpływie klimatu.

W kiszonce z lucerny stwierdzono istotnie ( $p \leq 0,01$ ) większą liczebność bakterii mlekowych w porównaniu z zielonką. Proces fermentacji zwiększył ich

Tab. 1. Zawartość suchej masy i białka ogólnego oraz analiza mikrobiologiczna zielonki i kiszzonek z lucerny (n = 16)

Składniki	Zielonka	Kiszonka
Sucha masa (g)	301,9 ± 5,7	300,5 ± 4,8
Białko ogólne (g·kg <sup>-1</sup> suchej masy)	158,9 ± 3,3	157,3 ± 4,2
Drobnoustroje		
Ogółem (log jtk·g <sup>-1</sup> )	23,4054** ± 0,1722	16,3752** ± 0,2074
Bakterie kwasu mlekowego	6,0745* ± 0,1185	7,1920* ± 0,0703
Bakterie tlenowe mezofilne	6,2404 ± 0,1259	6,3507 ± 0,5760
Drożdże	5,0835** ± 0,2462	0,0000** ± 0,0000
Pleśnie	6,0070** ± 0,1980	2,8325** ± 0,1832
Pleśnie (%)		
<i>Dematiaceae</i>	90,81	NW
<i>Aureobasidium</i>	0,63	NW
<i>Cladosporium</i>	0,92	NW
<i>Oidium</i>	0,04	NW
<i>Mucor</i>	0,14	NW
<i>Penicillium</i>	0,02	80,25
<i>Acremonium</i>	0,01	NW
<i>Epicoccum nigrum (Dematiaceae)</i>	0,01	NW
Niezidentyfikowane	7,42	NW
<i>Fusarium</i> (w 2 próbkach po 1 kolonii)	NW	NW
<i>Mucorales</i>	NW	39,40
<i>Endomyces</i>	NW	4,33
<i>Aspergillus fumigatus</i>	NW	4,67

Objaśnienia: \* –  $p \leq 0,01$ ; \*\* –  $p \leq 0,001$ ; NW – nie wykryto

liczbę, co potwierdzają dane piśmiennictwa (11), jednak uzyskana wartość była niższa od wyników otrzymanych przez niektórych autorów (11, 18, 22).

Według danych piśmiennictwa (6, 12, 24), za wskaźnik jakości higienicznej pasz przyjmowana jest liczba bakterii tlenowych mezofilnych, liczebność drożdży i pleśni. Zielonka i kiszonka z lucerny (tab. 1) charakteryzowały się zbliżoną liczebnością bakterii tlenowych mezofilnych, która przewyższała proponowany limit zanieczyszczenia wynoszący do  $6 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  (6). Odnośnie do tej grupy mikroorganizmów, do porównania przyjęto sugerowany wskaźnik dotyczący kryteriów oceny mikrobiologicznej mieszanek paszowych.

Na brak wartości referencyjnych dotyczących jakości higienicznej pasz objętościowych zwracają uwagę autorzy niemieccy (23). Liczba drożdży i pleśni przekraczała w zakiszanej lucernie poziom zazwyczaj występujący na roślinach, który dla drożdży wynosi 3-5, a dla pleśni 3-4  $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  zielonki (1, 12). W kiszonce z lucerny nie wykryto obecności drożdży w przeciwieństwie do zielonki, a liczba pleśni nie przekroczyła  $2,9 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  świeżej masy i była niższa ( $p \leq 0,001$ ) niż w zakiszonym surowcu. Rossi i Dellaglio (18) informują o obecności drożdży we włoskich kiszonkach z lucerny na poziomie od 0 do ponad  $4 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  kiszonki. Liczebność drożdży charakterystycznych dla produktu kiszzonego może wynosić do 6, a pleśni do  $3,6990 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  paszy (23). W dobrej kiszonce z traw liczebność pleśni i drożdży powinna wynosić poniżej  $4 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  paszy, a gdy jest na poziomie  $5 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  lub więcej, świadczy o złej jakości (24). Liczba pleśni w przypadku kukurydzy nie powinna przekraczać 4, a drożdży –  $5 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  kiszonki. W złych kiszonkach z tego surowca liczebność przewyższa 5, a drożdży  $7 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ . Obecność drożdży i pleśni na poziomie  $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  kiszonki z traw lub kukurydzy wskazuje na wysoką jakość higieniczną (23).

Należy więc uznać, że jakość higieniczna kiszzonek z lucerny będących przedmiotem badań własnych pod względem liczebności drożdży i pleśni była bardzo dobra. Proces fermentacji spowodował obniżenie liczby tych mikroorganizmów, podobnie jak miało to miejsce w badaniach amerykańskich (11). Potwierdzają to także inne dane piśmiennictwa (17).

Analizując procentowy udział zidentyfikowanych rodzajów pleśni w ogólnej ich liczebności (tab. 1) stwierdzono, że w zielonce z lucerny największy odsetek (ponad 90%) stanowiły *Dematiaceae*. W odniesieniu do pozostałych rodzajów pleśni wartości te nie przekraczały 1%. Natomiast w kiszonce dominowały pleśnie *Penicillium* oraz *Mucorales*, a ich liczba nie przekraczała dopuszczalnego wyniku, który wynosi dla *Penicillium* i *Aspergillus* –  $3,6990$ , a dla *Mucorales* –  $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  kiszonki (23).

W kiszonkach z traw dominującymi rodzajami pleśni były również *Penicillium* i *Monascus* oraz rodzina *Mucoraceae* (1). W kiszonkach z traw o złej jakości

Tab. 2. Zawartość mikotoksyn w zielonce i kiszonce z lucerny (n = 16)

Mikotoksyna (ppm)	Zielonka	Kiszonka
T-2	NW	NW
HT-2	NW	NW
Niwalenol (NIV)	NW	NW
Deoksyniwalenol (DON)	< 0,005	NW
Zearalenon (ZEA)	NW	NW
Aflatoksyna B1 (AFB1)	NW	NB
Aflatoksyna B2 (AFB2)	NW	NB
Aflatoksyna G1 (AFG1)	NW	NB
Aflatoksyna G2 (AFG2)	NW	NB
Ochratoksyna A (OTA)	NW	NW

Objaśnienia: NW – nie wykryto; NB – nie badano

Tab. 3. Podstawowe parametry fermentacyjne kiszonki z lucerny (n = 16)

Parametr	Kiszonka
pH	$4,15 \pm 0,04$
Kwas mlekowy ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy)	$74,02 \pm 1,95$
Kwas octowy ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy)	$36,43 \pm 2,65$
Kwas masłowy ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy)	NW

Objaśnienia: NW – nie wykryto

higienicznej dominującym gatunkiem jest *Penicillium roqueforti* (24).

Najczęściej występującą w paszach europejskich trichoteceną jest deoksyniwalenol, który stwierdza się głównie w próbkach jęczmienia i kukurydzy (90% europejskich próbek) na poziomie dochodzącym do 67 ppm (2, 20). W badaniach własnych spośród analizowanych mikotoksyn (tab. 2) w zielonce z lucerny wykryto jedynie deoksyniwalenol w ilości nie przekraczającej 0,005 ppm. Według danych piśmiennictwa dotyczących skażenia kukurydzy, jedynie we wtórnych kolbach stwierdzono obecność deoksyniwalenolu na poziomie 1,442 ppm w świeżej masie, natomiast w kolbach właściwych nie wykryto tej mikotoksyny (24).

Kiszonka z lucerny będąca przedmiotem badań własnych była wolna od analizowanych mikotoksyn. Występowanie deoksyniwalenolu jest możliwe w kiszonkach, gdyż związek ten nie posiada grupy acetylowej, przez co jest oporny na obniżającą się wartość pH na skutek procesu fermentacji oraz działanie enzymów pochodzenia mikrobiologicznego (2). Zawartość tego związku w kiszonkach może dochodzić nawet do 9,8 ppm (13). Proces fermentacji kiszonki z kukurydzy może jednak zmniejszać zawartość deoksyniwalenolu (17) lub nie mieć wpływu na jego biodegradację (16).

Wartości podstawowych parametrów fermentacyjnych (tab. 3) wskazują na dobrą jakość kiszonki z lucerny (7, 25).

Podsumowując wyniki badań własnych stwierdzono, że:

- zielonka z lucerny charakteryzowała się wysoką zawartością epifitycznych bakterii mlekowych, beztlenowych bakterii mezofilnych oraz drożdży i pleśni;
- badane kiszonki cechowała dobra jakość mikrobiologiczna i mikotoksykologiczna;
- proces fermentacji spowodował wzrost liczebności bakterii mlekowych, a ograniczył występowanie pleśni oraz wyeliminował całkowicie drożdże, jednak nie miał wpływu na liczebność tlenowych bakterii mezofilnych;
- spośród badanych mikotoksyn jedynie w zielonce stwierdzono niewielkie ilości deoksyniwalenolu.

W badaniach własnych wykazano, że fermentacja poprawiła status mikrobiologiczny i mikotoksykologiczny kiszonki z lucerny sporządzonej w warunkach laboratoryjnych. Uzyskane wyniki mogą się jednak nie potwierdzić w praktyce, gdyż w warunkach gospodarstwa rolniczego nie ma możliwości zupełnego odciążenia zakiszanej biomasy od wpływu powietrza atmosferycznego oraz dokładnego monitorowania czynników środowiskowych (5). Z tego względu wskazane jest kontynuowanie badań na skalę produkcyjną.

### Piśmiennictwo

1. *Bauer J.*: Mikrobiologie der Silierung. 20. Hülsenberger Gespräche. Mikrobiologie und Tierernährung. Aus der Schriftenreihe der H. Wilhelm Schumann Stiftung. Lübeck 2004, 65-72.
2. *Bauer J., Meyer K.*: Stoffwechselprodukte von Pilzen in Silagen: Einflüsse auf die Gesundheit von Nutztieren. Übers. Tierernährg. 2006, 34, 27-55.
3. *Grajewski J., Potkański A., Raczowska-Werwińska K., Miklaszewska B., Twarużek M., Woźniak A., Waszkiewicz K.*: Mikotoksyny i patogenne pleśnie w kiszonce z kukurydzy z biologicznym i chemicznym dodatkiem. Mat. konf. Mikotoksyny i patogenne pleśnie w środowisku. Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz 2004, s. 91-94.
4. *Kizilsimsek M., Schmidt R. J., Kung L. Jr.*: Effects of a mixture of lactic acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Sci. 2007, 90, 5698-5705.
5. *Knický M.*: Possibilities to improve silage conservation. Effects of crop, ensiling technology and additives. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. Acta Univ. Agric. Sueciae 2005, 62.
6. *Kukier E., Goldsztejn M., Grenda T., Kwiatek K., Wasyl D., Hoszowski A.*: Microbial quality of compound feed used in Poland. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2012, 56, 349-354.
7. *Kung L. Jr.*: Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment. Proc. California Alfalfa&Forage Symp., Visalia CA 2010, s. 41-54.
8. *Kung L. Jr., Taylor C. C., Lynch M. P., Neylon J. M.*: The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 2003, 86, 336-343.
9. *Leibetseder J.*: Importance of feed hygiene to animals and human health. Acta Sci. Pol. Med. Vet. 2008, 7, 3-10.
10. *Lin C., Bolsen K. K., Brent B. E., Hart R. A., Dickerson J. T., Feyerherm A. M., Aimutis W. R.*: Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. J. Dairy Sci. 1995, 75, 2484-2493.
11. *Lin C., Hart R. A., Bolsen K. K., Dickerson J. T., Curtis J. L.*: Indigenous microflora on alfalfa and corn, and populations changes during ensiling. Proc. Cattleman's Day, Kansas State University, Manhattan, KS 1990, 118-122.
12. *Muck R. E.*: Silage microbiology and its control through additives. Rev. Bras. Zootec. 2010, 39, 183-191.
13. *Oldenburg E., Valenta H., Sator C.*: Risikoabschätzung und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung, [w:] S. Daenicke, E. Oldenburg (Hrsg.): Risikofaktoren für die Fusariumtoxinebildung in Futtermitteln und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung und Fütterung. Landbauforsch. Völkenrode 2000, SH 216, 5-34.
14. *Pahlow G., Weissbach F.*: New aspects of evaluation and application of silage additives. Proc. Int. Symp. Contributions of grassland and forage research to the development of systems of sustainable land use. Landbauforsch. Völkenrode 1999, SH 206, 141-158.
15. *Podkówka L., Dorszewski P., Pańka D.*: Yield, chemical composition and ensiling ability of green forage from meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) infected with *Neotyphodium uncinatum*. Acta Sci. Pol., Agricultura 2011, 10, 47-56.
16. *Potkański A., Grajewski J., Twarużek M., Selwet M., Miklaszewska B., Błajet-Kosicka A., Szumacher-Strabel M., Cieślak A., Raczowska-Werwińska K.*: Chemical composition, fungal microflora and mycotoxin content in maize silages infected by smut (*Ustilago maydis*) and the effect of biological and chemical additives on silage aerobic stability. J. Anim. Feed Sci. 2010, 19, 130-142.
17. *Purwin C., Lipiński K., Pysera B.*: Jakość higieniczna kiszzonek. Życie Wet. 2012, 87, 37-40.
18. *Rossi F., Dellaglio F.*: Quality of silages from Italian farms as attested by number and identity of microbial indicators. J. Appl. Microbiol. 2007, 103, 1707-1715.
19. SAS/STAT v 9.1, 1995. User's guide.
20. *Seeling K., Daenicke S., Valenta H., van Egmond H. P., Schothorst R. C., Jekel A. A., Lebzien P., Schollenberger M., Razzazi-Fazeli E., Flachowsky G.*: Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and feed intake level on the biotransformation and carry-over of deoxynivalenol in dairy cows. Food Addit. Contam. 2006, 23, 1008-1020.
21. *Selwet M.*: Mikotoksyny w paszach. Wiad. Zoot. 2010, XLVIII, 9-13.
22. *Tyrolowa Y., Vyborna A., Loucka R.*: The effects of wilting and additives on the number of lactic acid bacteria in alfalfa forage and silage. Proc. XVI<sup>th</sup> Int. Silage Conf., Hämeenlinna, Finland 2012, s. 382-383.
23. *Wagner W., Wolf H., Losand B.*: Die Beurteilung des mikrobiologischen Status von Silagen. Übers. Tierernähr. 2007, 35, 93-102.
24. *Wiedner G.*: Hygienestatus des Grundfutters – Erfahrungen eines Praxislabors. 15. Alpenländisches Expertenforum. Grundfutterqualität – aktuelle Ergebnisse und zukünftige Entwicklungen. LFZ Raumberg-Gumpenstein 2009, 45-48.
25. *Wilkinson J. M.*: Silage. Chalcombe Publications, United Kingdom, Lincoln 2005, s. 254.

Adres autora: dr hab. inż. Piotr Dorszewski, prof. nadzw. UTP, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz; e-mail: piodor@utp.edu.pl