

Batáné Vidács Ildikó, Kosztik Judit, Tóth Ákos, Kukolya József

Évjárat és léptécsökkentés hatása kukoricaszilázs mikrobiomjának változására a silózás során

A szerzők elérhetősége

Batáné Vidács Ildikó¹ | tudományos főmunkatárs
batane.vidacs.ildiko@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0003-3019-8030> | levelező szerző

Kosztik Judit¹ | tudományos segédmunkatárs
kosztik.judit@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0002-5459-3249>

Tóth Ákos¹ | tudományos munkatárs
toth.akos.gergely@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0003-1204-8119>

Kukolya József² | tudományos főmunkatárs
kukolya.jozsef@uni-eszterhazy.hu | <https://orcid.org/0000-0002-0724-9541>

A szerzők munkahelye

¹MATE, Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoport
Munkahely címe: 1118 Budapest, Ménesi út 43-45. ²EKE,

Élelmiszertudományi és Borászati Kutatóközpont
Munkahely címe: 3300 Eger, Leányka utca 6.



Összefoglalás

2017-ben egy bálasilót és 8 mikrosilót (200 liter), 2018-ban pedig 8 mikrosilót töltöttünk meg silókukorica szecskával, ahol 150 napon keresztül vizsgáltuk a silózásban szerepet játszó főbb mikrobacsoportok, az összes csíraszám, tejsavbaktériumok, penész- és élesztőgombák számának alakulását. Célunk annak igazolása volt, hogy a kukorica-silózási kísérletekhez létrehozott 200 literes mikrosilók alkalmasak a nagyméretű silókban, mint például egy bálasilóban (800 kg) a silózási folyamat alatt lejátszódó mikrobiológiai folyamatok modellezésére. Eredményeinkkel igazoltuk, hogy a kialakított kísérleti mikrosilók esetében a kisebb méret nem befolyásolta a silózás folyamán a silókukoricában lejátszódó mikrobiológiai folyamatokat, a mikrobiom összetételének változását, megfelelően modellezi az eredeti, jóval nagyobb silókat, használatuk a további oltóanyag-kutatásokra megfelelő.

Kulcsszavak: bálasiló, mikrosiló, mikrobiom, évjárat, léptécsökkentés

Bevezetés

A silózás folyamatát sokféleképpen lehet definiálni, a legáltalánosabban elfogadott, hogy a siló-takarmány, amely zöld vagy nedves termények anaerob körülmények között történő tárolásából és fermentációjából származik (Cullison & Lowry, 1987).

A kukoricaszilázs (*Zea mays* L.) egész kukoricánövényekből készül. Ez az egyik legértékesebb takarmány a kérődző állatok számára, és mindenhol használják, ahol a kukorica növekedhet, a mérsékelt égövtől a trópusokig. A kukoricaszilázs népszerűsége

több tényezőnek köszönhető. Ízletes és nagy energiájú takarmány a kérődzők minden osztálya számára, beleértve a tejelő szarvasmarhákat, húsmarhákat, juhokat és kecskéket. Ez az egyik legjobb hozamú takarmánynövény, kevesebb munkaerőt igényel (mivel egy műveletben takarítják be), és általában olcsóbb az előállítás, mint más takarmánynövények esetében, akár a fagy, eső vagy aszály által károsított kukoricatermést is lehet kukoricaszilázzá alakítani (Arvalis, 2011). Bár viszonylag könnyen előállítható, a kukoricaszilázshoz jó termés- és betakarítás-gazdálkodás, valamint gondos silózási gyakorlat szükséges (Arvalis, 2011).

Hazánk éghajlati adottságaiból kifolyólag, a haszonállatok éves takarmányszükségletét az április és november közötti időszakban kell megtermelni, a felhasználásig tartósítani szükséges, hogy a többségében szilasztakarmányt megóvjuk a növényi légzés tápanyag-veszteségétől és a mikrobák okozta romlástól. A leghatékonyabb módja a takarmány megőrzésének a silózás, amely nem olyan érzékeny a rossz időre, mint a szénázás, és az ősi idők óta ismert és ma is a legelterjedtebb módja a takarmány tartósításának. A silózás további előnyei közé tartozik, hogy sokkal kisebb tápanyagvesztéssel jár mint a szénázás és egyszerűen gépesíthető a folyamat. Különböző silótípusok léteznek: kazalsiló, szalmasiló, földbe ástott verem, szilárdfalú falközi siló (tégla vagy beton), bálasiló, toronysiló és fóliahengerbe történő silózás.

A tárolt gabona romlásának fő okozói a penészgombák. Az Élelmiszer- és Mezőgazdasági Szövetség (Food and Agriculture Association) becslései szerint a világ élelmiszernövényeinek 25%-a szennyeződik mikotoxinokkal a növekedés és a tárolás során. A penészgombák kártétele a második helyen áll a tárolt gabonatermékekben a rovarok által okozott károk mögött.

Kutatócsoportunk egy konzorcium tagjaként olyan kutatásfejlesztési programban vett részt, amely a kukoricasilók aflatoxin kontaminációjának minimalizálását tűzte ki célul. A program első feladatunk volt a silókban zajló mikrobiológiai folyamatok monitorozása, valamint a siló aflatoxin kontaminálódásának lehetséges mechanizmusának feltárása. A költségek csökkentése, valamint annak érdekében, hogy több oltóanyag és silózási paraméter hatását is tesztelhesük, kísérleti mikrosilókat hoztunk létre. A kísérleti mikrosilók használatának első lépése az volt, hogy meghatározzuk, milyen mértékben befolyásolja a kisebb méret a silózás folyamán a silókukoricában lejátszódó mikrobiológiai folyamatokat, a mikrobiom összetételének változását, mennyire modellezi a kísérleti mikrosiló az eredeti, jóval nagyobb silókat.

Anyagok és módszerek

Szilázs előállítására silókukoricából (**1. ábra**) 2017-ben bálasilót (**2. ábra**) állítottunk össze. Egy bálasiló tömege körülbelül 800 kg.

Ugyanebből a silókukoricából kukorica-szeccskával megtöltöttünk 8 db egyenként 200 literes kísérleti mikrosilót (**3. ábra**).

A harmadik vizsgált siló egy évvel később, 2018-ban került összeállításra, silókukoricából, itt szintén a 8 db kísérleti mikrosilót használtuk.



1. ábra: Silókukorica szeccska



2. ábra: Bálasilók



3. ábra: Mikrosilók

A bálasilóból a mintavételezés a 0., 1., 3., 7., 14., 28. és 60. napon, a mikrosilókból a mintavételezés mindkét évben a 0., 1., 3., 7., 14., 28., 60., 110. és 150. napon történt. Minden mintavétel a siló belsejéből történt, egy-egy minta körülbelül fél kiló mennyiségű volt.

A minták feldolgozása során 10 gramm mintából kiindulva tízes alapú hígítási sort készítettünk steril peptonvízben (9 g NaCl és 1 g pepton 1000 mL deszillált vízben). A összes élőcsíraszám meghatározását általános mikrobiológiai táptalajban (Plate Count Agar, VWR) végeztük, a lemezeket 3-5 napig 30 °C-on

inkubáltak. A tejsavbaktériumok számának meghatározása MRS (De Man, Rogosa, Sharpe Agar, VWR) táptalajra szélesztéssel történt, a lemezeket 37 °C-on két napig inkubáltuk. A penész- és élesztőgombák számát RB (Rose Bengal Chloramphenicol Agar, VWR) lemezen szélesztéssel határoztuk meg, a lemezeket szobahőmérsékleten 5-7 napig inkubáltuk. A szilázsok pH-ját desztillált víz hozzáadásával pH-mérő készülék (Hanna instruments, HI 2210) segítségével mértük.

A vizsgált minták száma minden mintavételi időpontban a bála esetében 3, a mikrosilók esetében 8-8 volt.

Eredmények és értékelésük

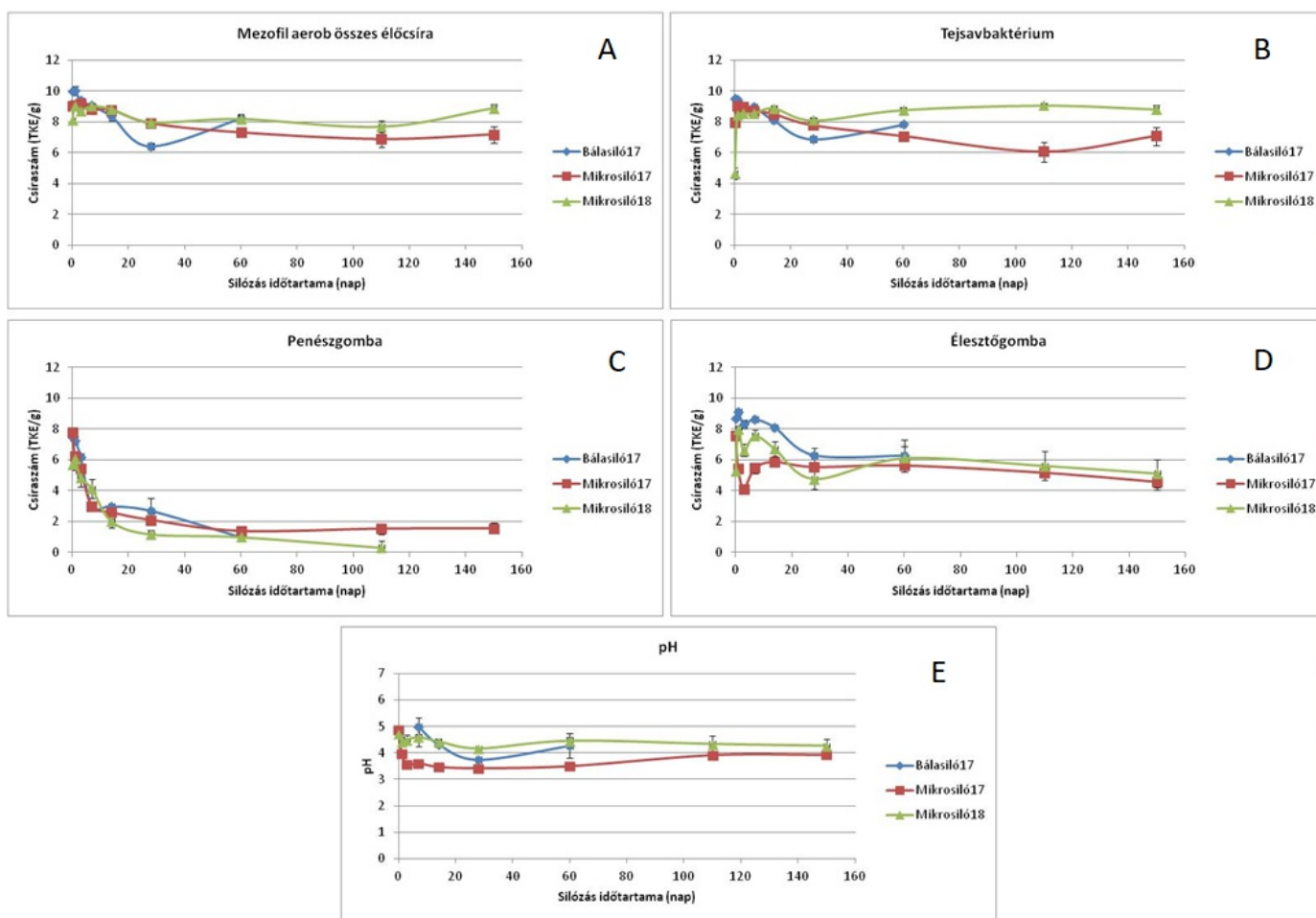
Összes élőcsíra

A silókukorica összes élőcsíraszám a betakarításakor mindkét évben 10^8 és 10^{10} TKE/g (telepképző egységek száma/g) között volt. Mivel a 2017-ben készült bálasiló

és mikrosilók ugyanabból a silókukoricából kerültek összeállításra, a mért csíraszámok közötti különbségek a mikrobák egyenetlen eloszlásával magyarázhatók. Két hét és egy hónap közötti időtartam kellett ahhoz, hogy mindhárom siló összes élőcsíraszám beálljon egy 10^7 - 10^8 TKE/g értékre, ezek az értékek a silózás végéig, változatlanok maradtak. Sem az évjárat, sem a silók mérete nem okozott számottevő különbséget a stabilizálódott kukoricaszilázs összes élőcsíraszámában az 5 hónapos silózási folyamat alatt (4. ábra A).

Tejsavbaktériumok

A tejsavbaktériumok jelenléte meghatározó a silózás folyamata során. A homofermentatív tejsavbaktériumok feladata a silókészítésben a gyors savanyítás, hiszen a baktériumok általában 4,5-es pH alatt nem képesek szaporodni, a heterofermentatív baktériumok pedig képesek penészgombagátló- és egyéb anyagcsere-termékeikkel a szilázsok aerob (silónyitás utáni) stabilitását alapvetően befolyásolni (Muck et al., 2013). A kísérlethez felhasznált silókukorica



4. ábra: Mikrobaszámok és a pH alakulása a 2017-es bálasilóban (Bálasiló17, n=3), a 2017-es mikrosilókban (Mikrosiló17, n=8) és a 2018-as mikrosilókban (Mikrosiló18, n=8). A – összes élőcsíraszám, B – tejsavbaktériumok, C – penészgombák, D – élesztőgombák, E – pH

kezdeti tejsavbaktérium száma mindkét évben 10^8 - 10^9 TKE/g volt. Egy hónap alatt beállt a silók tejsavbaktérium száma arra az értékre, amely utána a silózás végéig megmaradt, ez a 2017-es silók esetében, függetlenül a silók méretétől, 10^7 TKE/g, a 2018-as évben pedig 10^9 TKE/g volt. A két évjárat közötti eltérés oka a kukorica esetlegesen eltérő érési állapota, tápanyagösszetétele lehetett (**4. ábra B**).

Penészgombák

A penészgombák jelenléte nem kívánatos a silóban, hiszen egy sor takarmány-minőségi, illetve egészségügyi probléma forrása ez a mikrobacsoport. A penészgombákkal átszótt takarmány a haszonállatoknál légzési problémákat, a bendőben folyó emésztés zavarát, szaporodásbiológiai problémákat, vesekárosodást, bőr- és szemgyulladást okozhat. A takarmánybiztonsági előírások szerint a szilázs 10^5 TKE/g feletti penészgomba száma már a kifogásolt kategóriába esik. A silóból izolált leggyakoribb penészgombák az *Aspergillus*, *Penicillium* és a *Fusarium* nemzetségbe tartoznak (Samson et al., 2010). A mikotoxinok különböző penészgombák által termelt másodlagos anyagcseretermékek, melyek elfogyasztva, azok mennyiségétől és a fogyasztás időtartamától függően, az állati és emberi szervezetre egyaránt toxikus/mérgező hatást fejtenek ki. Közülük talán a legsúlyosabb problémát okozó mikotoxinok az *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* és *Aspergillus niger* gombák által termelt aflatoxinok. Az aspergillusok hagyományosan megtalálhatóak a szántóföldeken, azonban Magyarország klimatikus viszonyai mellett ez idáig nem okoztak gondot. A klímaváltozás hatására azonban hazánkban is megemelkedett a kiemelkedően magas hőmérsékletű napok száma, ez pedig jelentősebb csapadékmennyiséggel párosulva a nyári hónapokban már kedvező feltételeket biztosíthat a penészgomba toxintermeléséhez, illetve az emelt toxintermelésre képes *Aspergillus flavus* penészgomba törzsek elszaporodásához (Dobolyi et al., 2014).

A penészgombák száma a szántóföldről frissen betakarított terményben nagymértékben függ az adott év időjárási körülményeitől (Temba et al., 2021). A KSH adatai szerint 2017-ben Magyarországon a hőségnapok száma duplája volt a 2018 évének, a magasabb nyári hőmérséklet kedvezett a szántóföldi penészgombák szaporodásának. A 2017-es kiindulási penészgomba szám a bálasilóban és a mikrosilóban 10^8 TKE/g volt, míg a hűvösebb, csapadékosabb 2018-as évben 10^6 TKE/g. A silókban nagyon hamar kialakuló anaerob körülmények következtében a penészgombák száma drasztikusan csökkent, egy hét alatt körülbelül 10^3 TKE/g-ra, majd a 40. naptól már mindhárom silóban mérettől és évjáratától függetlenül a kimutathatósági határ

közelébe, 10^2 TKE/g alá, amely utána a silózási folyamat végéig ezen a szinten is maradt (**4. ábra C**). Eredményeink alapján azt a következtetést lehet levonni, hogy a penészgombák számára a silóban uralkodó körülmények nem megfelelőek az élettevékenységük folytatásához, pár nap alatt elpusztulnak, tehát ennek következtében toxint sem képesek termelni. Amennyi mikotoxint a silóban kimutatunk, az a silózás előtt, illetve a siló megbontása után, újra aerob környezet kialakulása mellett termelődhet csak meg.

Élesztőgombák

Számos élesztőgomba faj – a valódi gombák között egyedülállóan – néhány cukrot anaerob úton, erjesztéssel is képes felhasználni. A szerves anyagok mennyiségének csökkentésével, a siló hőmérsékletének emelésével és kellemetlen íz- és illatanyagok termelésével aktivitásuk nemkívánatos a silóban. A silóban bekövetkező bármely változás hatására közülük egyesek felszaporodhatnak, metabolizmusukkal a tejsavat bonthatják, anyagcseretermékeikkel ronthatják a szilázs minőségét, a siló káros felmelegedését is okozhatják, emiatt megjelenésük nemkívánatos. Ugyanakkor, jelenlétük gátolhatja is egyes toxinogén gombák tevékenységét (Deák, 1998). A tejsavbaktériumok jelenléte a silóban gátat szabhat az élesztőgombák térnyerésének. Az általunk vizsgált silók élesztőgomba száma a kiindulási időpontban 10^7 - 10^8 TKE/g között volt. A silózás első hetében nagyon érdekes folyamatok voltak megfigyelhetők. Az első pár napban a silókukoricán jelenlévő, az anaerob körülmények között jól szaporodó élesztőgombák számában jelentős csökkenés figyelhető meg, ahogy a körülményeik anaerobbá változnak, majd anyagcseréjük átállításával, illetve olyan fajok térhódításával, amelyek kedvelik az anaerob körülményeket, számuk ismét növekedésnek indul. A silózás során aztán az élesztőgombák mennyisége lassan csökkenni kezd, majd a silózás végére silómérettől és évjáratától függetlenül 10^4 TKE/g értékre csökken (**4. ábra D**).

pH

A silókukorica pH-ja a besilózás időpontjában 5 körüli érték volt mindkét évben, amely megegyezik a szakirodalomban található adatokkal (Haigh & Parker, 1985). Főként a tejsavbaktériumok anyagcsere tevékenységének köszönhetően az első pár hétben ez a pH, különösen a 2017-es évben készített silóknál, kicsit tovább is csökkent, azonban a 60. napra mindhárom siló pH-ja 4-es értékre állt be és ez az érték nem is változott a silózási folyamat végéig (**4. ábra E**). A szilázs beltartalmi értékeinek megőrzésére, mikrobiológiai biztonságosságára és eltarthatóságára ez a pH érték ideális (Kaewpila et al., 2021).

Következtetések, javaslatok

Célunk annak igazolása volt, hogy a kukorica-silózási kísérletekhez létrehozott 200 literes mikrosilók alkalmasak a nagyméretű silókban, mint például egy bálasilóban (800 kg) a silózási folyamat alatt lejátszódó mikrobiológiai folyamatok modellezésére. Ehhez 2017-ben egy bálasilót és 8 mikrosilót (200 liter), 2018-ban pedig 8 mikrosilót töltöttünk meg silókukorica szecskával, ahol 150 napon keresztül vizsgáltuk a silózásban szerepet játszó főbb mikrobacsoportok, az összes csírászám, tejsavbaktériumok, penész- és élesztőgombák számának alakulását. Eredményeinkkel igazoltuk, hogy a kialakított kísérleti mikrosilók esetében a kisebb méret nem befolyásolta a silózás folyamán a silókukoricában lejátszódó mikrobiológiai folyamatokat, a mikrobiom összetételének változását, megfelelően modellezi az eredeti, jóval nagyobb silókat, használatuk a további oltóanyag-kutatásokra megfelelő.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az NVKP_16-1-2016-0009 „A takarmány és élelmiszerbiztonság erősítése a takarmányok mikotoxinmentesítésére alkalmas innovatív technológiák kifejlesztésével” című pályázat támogatta.

Irodalomjegyzék

Arvalis (2011): Les territoires du maïs fourrage en France. Arvalis, FNPSMS, UFS
Cullison, A.E., Lowrey, R.S. (1987): Feeds and Feeding.

Published by Reston Pub Co, Cronus Books, Carson City, NV, U.S.A. ISBN 10: 0835919072; ISBN 13: 9780835919074

- Deák, T. (1998): Élesztőgombák a természetben és az iparban. Budapest: Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó.
- Dobolyi, Cs., Sebők, F., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Baranyi, N., Szécsi, Á., Tóth, B., Varga, M., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Krifaton, Cs., Kukolya, J. (2013): Occurrence of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* isolates in maize kernel in Hungary. *Acta Alimentaria*, 42:451-459. <https://doi.org/10.1556/aalim.42.2013.3.18>
- Haigh, P.M., Parker, J.W.G. (1985): Effect of silage additives and wilting on silage fermentation, digestibility and intake, and on liveweight change of young cattle. *Grass Forage Sci.*, 40:429-436. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1985.tb01774.x>
- Kaewpila, C., Gunun, P., Kesorn, P., et al. (2021): Improving ensiling characteristics by adding lactic acid bacteria modifies in vitro digestibility and methane production of forage-sorghum mixture silage. *Sci Rep.*, 11, 1968. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81505-z>
- Muck, R.E., Weinberg, Z.G., Contreras-Govea, F.E. (2013): Silage extracts used to study the mode of action of silage inoculants in ruminants. *Agric. Food Sci.*, 22:108-114. <https://doi.org/10.23986/afsci.6717>
- Samson, R., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. & Andersen, B. (2010): Food and indoor fungi. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Temba, B.A., Darnell, R.E., Gichangi, A., et al. (2021): The influence of weather on the occurrence of aflatoxin B1 in harvested maize from Kenya and Tanzania. *Foods*, 10(2):216. <https://doi.org/10.3390/foods10020216>

Effects of harvest year and scaling-down on changes in maize silage microbiome during ensiling

Bata-Vidács I., Kosztik J., Tóth Á., Kukolya J.

Abstract

In 2017, a bale silo (800 kg) and 8 microsilos (200 litres), and in 2018, 8 silos were filled with chopped full corn, and the changes in the numbers of total bacteria, lactic acid bacteria, moulds and yeasts, the major microbial groups involved in ensiling, were determined from 0 to 150 days. Our aim was to demonstrate that the 200-litre microsilos created for maize silage experiments are suitable for modelling the microbiological processes that take place during the silage process in large silos such as a bale silo. With our results we proved that in the case of the experimental microsilos the smaller size did not affect the microbiological processes taking place during silage period, changes in the microbiome composition properly models the original, much larger silos, their use is suitable for further starter culture research.

Keywords: bale silo, microsilos, microbiome, vintage, downscaling