

The influence of addition of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* on the fermentation quality of silages from permanent grassland

Vplyv prídavku *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* na kvalitu fermentačného procesu siláží z trvalých trávnych porastov

Miroslav JURÁČEK^{1*}, Daniel BÍRO¹, Milan ŠIMKO¹, Branislav GÁLIK¹, Michal ROLINEC¹, Ondrej HANUŠOVSKÝ¹, Pavel STRUHÁR², Adriana PÍŠOVÁ¹ and Norbert ANDRUŠKA¹

¹Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, *correspondence: miroslav.juracek@uniag.sk

²Biomín Slovakia 190, 925 85 Neded, Slovakia

Abstract

The aim of the experiment was to determine the influence of the addition of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* on the quality of the fermentation process of silage from the permanent grassland after 12 months of storage in silage bags. In the phytomas of the permanent grassland the proportion of grass was 86% (with the prevalence of *Arrhenatherum elatius*), herbs 13% and leguminous 1%. The experiment consisted of two variants: variant C (control-without additive) and variant A with the addition of additive. In experimental variant A, biological additive consisting of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* $2 \cdot 10^5$ CFU (colony forming units) $\cdot g^{-1}$ was applied on wilted grass matter at a rate of 1 liter per ton. The silage matter was stored with a press in silo bags with a diameter of 2.7 m (first bag without additive - variant C and second bag with additive - variant A). After 12 months of storage, average samples of silages were taken to determine the parameters of fermentation process. Application of biological additive based on homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis*) influenced the quality of the silages from permanent grassland after 12 months of storage with statistically lower acetic and butyric acid content, alcohols, degree of proteolysis and lower pH value. The results confirmed, that the addition *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* had positive influence on the quality of the fermentation process of silage from the permanent grassland.

Keywords: fermentation, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, permanent grassland, silage

Abstrakt

Cieľom experimentu bolo zistiť vplyv prídavku *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* na kvalitu fermentačného procesu siláží z trvalých trávnych porastov po 12 mesiacoch uskladnenia v silážnych vakoch. Vo fytomase trvalého trávneho porastu predstavoval podiel tráv 86% (s prevahou *Arrhenatherum elatius*), bylín 13% a d'atelinovín (1%). Experiment pozostával z dvoch variantov: variant C (kontrola - bez aditíva) a variant A s prídavkom biologického aditíva. V pokusnom variante A sa aplikoval biologický prípravok (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* $2 \cdot 10^5$ KTJ (kolónií tvoriacich jednotky) $\cdot g^{-1}$) na uvädnutú trávnu hmotu v dávke 1 liter na tonu. Silážovaná hmota sa pomocou lisu uskladnila do silážnych vakov s priemerom 2,7 m (jeden vak s hmotou bez aditíva - variant C a druhý vak s prídavkom aditíva -variant A). Po 12 mesiacoch uskladnenia sa odobrali priemerné vzorky siláží pre stanovenie parametrov fermentačného procesu. Aplikácia mikrobiálneho aditíva na báze homo a heterofermentatívnych baktérií mliečneho kvasenia (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis*) ovplyvnila kvalitu siláží z trvalých trávnych porastov po 12 mesiacoch uskladnenia štatisticky preukazne nižším obsahom kyseliny octovej, maslovej, alkoholov, stupňom proteolýzy a nižšou hodnotou pH. Výsledky potvrdili, že prídavok *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* pozitívne ovplyvnil kvalitu fermentačného procesu siláží z trvalých trávnych porastov.

Kľúčové slová: fermentácia, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, siláž, trvalé trávne porasty

Detailed abstract

The aim of the experiment was to determine the influence of the addition of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* on the quality of the fermentation process of silage from the permanent grassland after 12 months of storage in silage bags. In the phytomas of the permanent grassland the proportion of grass was 86% (with the prevalence of *Arrhenatherum elatius*), herbs 13% and leguminous 1%. Grass matter from 1st cut at the beginning of flowering was cut with a field chopper (Class Jaguar 850) on a theoretical cut length of 50 mm after 24 hours of wilting. Using the Ziegler applicator (type-FDG), the biological additive (*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* $2 \cdot 10^5$ CFU $\cdot g^{-1}$) was applied to the wilted matter in a dose of 1 liter per ton with the recommended dose of 4 $g \cdot l^{-1}$ additive. Cut matter was subsequently compressed by press and stored in silo bags with a diameter of 2.7 m. To compare the effect of the additive, matter without additive (control variant C) was stored in the first silage bag and matter with the addition of the biological additive (experimental variant A) in the second silage bag. After 12 months of storage in silage bags, average samples were taken to the determination of the fermentation process parameters. The content of fermentation acids (lactic, acetic, butyric) was determined by ion electrophoresis, pH value electrometrically. The microdiffusion method for the alcohol and ammonia content was realized. From ammoniacal nitrogen and total nitrogen (determined by the Kjeldahl method) the degree of proteolysis was calculated. Determination of acidity of water extract was performed

by alkalimetric titration. The content of the fermentation products was calculated by adding the sum of the lactic, acetic, butyric and alcohol content. Statistical parameters were evaluated using SPSS Statistics 20.0 (IBM) and the statistical significance of differences between variants was tested using the ANOVA-Tukey test. In the experiment, grass silages treated with *L. plantarum* and *L. brevis* (A) had a lower acetic acid content of 12.8% compared to silages without treatment ($P < 0.05$). The addition of the additive inhibited the growth of clostridia, which resulted in a reduced content of butyric acid ($P < 0.05$). In silages of experimental variant (A), a statistically significant ($P < 0.05$) lower alcohol content by 39.9% compared to silages without additive (C) was determined. The acidity of the water extract was statistically significant ($P < 0.05$) lower in the grass silages with the addition of biological additive (A). In the silages treated with *L. plantarum* and *L. brevis* a lower degree of proteolysis was found compared to the control variant, with differences statistically significant ($P < 0.05$). The grass silage of experimental variant A had a lower pH than the silage without additive ($P < 0.05$). The results confirmed, that the addition *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* had positive influence on the quality of the fermentation process of silage from permanent grassland.

Úvod

Nutričná hodnota trávnych porastov výrazne závisí od ich botanického zloženia (Kizeková a Jendrišáková, 2008; Vozár et al., 2012) a z hľadiska silážovateľnosti vzhľadom na obsah skvasiteľných sacharidov a pufračnú kapacitu ich možno považovať sa ťažko silážovateľné krmoviny (Bíro et al., 2014). Kvalitu fermentačného procesu trávnych siláží je možné ovplyvniť prídavkom mikrobiálnych silážnych aditív, ktoré sa využívajú na stimuláciu fermentačného procesu (Jalč et al., 2009; Parvin et al., 2010; Skládanka et al., 2010; Kleinmans et al., 2011). Jedná sa o aditíva obsahujúce jednak homofermentatívne (HOBMK) ako aj heterofermentatívne kmene baktérií mliečneho kvasenia (HEBMK) (Morais et al., 2017). Homofermentatívne kmene baktérií mliečneho kvasenia fermentujú 6-uhlíkaté cukry ako je glukóza a fruktóza najmä na kyselinu mliečnu (Lád et al., 2006; Muck, 2010). Výsledkom prídavku HOBMK je rýchlejší priebeh fermentácie, vyššia koncentrácia kyseliny mliečnej, nižší obsah kyseliny octovej a maslovej, nižšia proteolýza, menej alkoholu a nižšie straty energie a sušiny v siláži. Vyššia koncentrácia kyseliny mliečnej je v dôsledku vyššej početnosti baktérií mliečneho kvasenia a ich rýchleho rozmnožovania. Nižšia proteolýza a deaminácia je dôsledkom inhibície najmä klostridií a rastlinných proteáz rýchlym okyslením. Nižšie koncentrácie kyseliny maslovej a etanolu sú dôsledkom inhibície klostridií a enterobaktérií a dominancie HOBMK (Buxton et al., 2003). Heterofermentatívne kmene baktérií mliečneho kvasenia (*L. buchneri*, *L. brevis* a i.) produkujú okrem kyseliny mliečnej aj ostatné produkty, ako je kyselina octová, 1,2 propandiol, etanol a CO₂ (Muck, 2010). Heterofermentatívne kmene baktérií mliečneho kvasenia zvyšujú aeróbnú stabilitu siláží (Adesogan et al., 2003; Danner et al., 2003; Costa Aragón et al., 2012) najmä vyššou koncentráciou kyseliny octovej, kyseliny propiónovej, ktorá vzniká degradáciou 1,2 propandiolu (Krooneman et al., 2002) a vyššou koncentráciou látok inhibujúcich rozvoj baktérií (Yldirim et al., 2002).

Materiál a metódy

Pokus so silážovaním hmoty z trvalých trávnych porastov sa realizoval na RD Klenovec, ktorý sa nachádza v podhorskej výrobnjej oblasti v okrese Rimavská Sobota (N48.59704°, E19.89008°). Vo fytomase trvalého trávneho porastu predstavoval podiel tráv 86%, bylín 13% a ďatelinovín 1%. V trávach dominoval *Arrhenatherum elatius* - 36%. Botanická charakteristika (zastúpenie jednotlivých tráv, bylín a ďatelinovín) bola posudzovaná v spolupráci s Výskumným ústavom trávnych porastov a horského poľnohospodárstva v Banskej Bystrici metódou redukovanej projektívnej dominancie podľa Klappa (1971). Trávna hmota z 1. kosby na začiatku kvitnutia sa po 24 hodinovom uvädaní narezala pomocou rezačky (Class Jaguar 850) na teoretickú dĺžku rezanky 50 mm. Experiment pozostával z dvoch variantov: variant C (kontrola - bez aditíva) a variant A (s prídavkom biologického aditíva). Pomocou aplikátora Ziegler (typ-FDG) sa v pokusnom variante A aplikoval biologický prípravok (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* $2 \cdot 10^5$ KTJ \cdot g $^{-1}$) v dávke 1 liter na tonu s odporúčanou dávkou aditíva 4 g \cdot l $^{-1}$. Narezaná hmota sa následne pomocou lisu EB 316 LG (EURO bagging) uskladnila do silážnych vakov s priemerom 2,7 m. Pre porovnanie účinku aditíva sa do jedného vaku uskladnila hmota bez aditíva (variant C) a do druhého vaku s prídavkom biologického aditíva (variant A). Po 12 mesačnom uskladnení hmoty v silážnych vakoch sa odobrili priemerné vzorky siláží pre stanovenie parametrov fermentačného procesu. Vzorky siláží boli odoberané manuálnym vzorkovačom. Pomocou štandardných laboratórnych metód (AOAC, 2000) sa analyzovali priemerné vzorky siláží. Obsah sušiny sa stanovil vážkovo ako úbytok po vysušení vzorky pri teplote 103 ± 2 °C (PolEco Aparatura). Obsah fermentačných kyselín (kyselina mliečna, octová, maslová) sa stanovil vo vodnom výluhu siláže iónovou elektroforézou (izotachoforéza EA 100, Villa Labeco). Hodnota pH bola stanovená vo vodnom výluhu elektrometricky pomocou pH metra (Hanna Instruments). Mikrodifúznou metódou sa stanovil obsah alkoholov. Alkoholy uvoľnené pri zvýšenej teplote po difúzii do roztoku dvojchromanu draselného sa stanovili jodometrickou titráciou. Obsah amoniaku (NH₃) sa stanovil mikrodifúznou metódou. Amoniak uvoľnený uhličitanom draselným a slabob alkalickým prostredím sa po difúzii do roztoku kyseliny boritej stanovil alkalimetrickou titráciou. Z obsahu amoniakálneho dusíka a celkového dusíka (stanoveného Kjeldahlovou metódou) sa vypočítal stupeň proteolýzy v % podľa vzorca:

$$\text{Stupeň proteolýzy (\%)} = \frac{\text{N-NH}_3}{\text{N-celkový}} \cdot 100$$

Stanovenie kyslosti vodného výluhu sa realizovalo alkalimetrickou titráciou vodného výluhu siláže do hodnoty pH 8,5. Súčtom obsahu kyseliny mliečnej, octovej, maslovej a obsahu alkoholov sa vypočítal obsah fermentačných produktov. Štatistické parametre sa vyhodnocovali pomocou programu SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp. Released, 2011) a štatistická významnosť rozdielov medzi variantami sa testovala použitím ANOVA - Tukey testu.

Výsledky a diskusia

Siláže z trvalých trávnych porastov po 12 mesiacoch skladovania mali obsah sušiny 357,9 g*kg⁻¹ (kontrola) a 368,5 g*kg⁻¹ (s prídavkom aditíva). V silážach s prídavkom *L. plantarum* a *L. brevis* (A) sa zaznamenal vyšší obsah konzervačnej kyseliny mliečnej, avšak rozdiely neboli štatisticky preukazné (P>0,05) (Tabuľka 1). Schmidt et al. (2009) zistili zhodne s našimi výsledkami po aplikácii homo a heterofermentatívnych baktérií mliečneho kvasenia štatisticky nepreukazne (P>0,05) vyšší obsah kyseliny mliečnej zatiaľ čo Twaružek et al. (2015) preukazne (P<0,001) vyšší. Podiel kyseliny mliečnej z celkového obsahu kyselín predstavoval 85,9% (C) a 88,6% (A). Obsah kyseliny mliečnej v pôvodnej hmote bol vo variante C 25,5 g*kg⁻¹ a vo variante A 26,8 g*kg⁻¹. Výsledky nepotvrdili predchádzajúce zistenia, že prídavok *L. brevis* zvyšuje obsah kyseliny octovej v silážach. Trávne siláže ošetrené *L. plantarum* a *L. brevis* (A) mali nižší obsah kyseliny octovej o 12,8% v porovnaní so silážami bez ošetrenia (P<0,05). Potvrdili to aj výsledky Wróbel (2008), ktorá v inokulovaných silážach s prídavkom *L. plantarum*, *L. brevis* a *L. buchneri* zaznamenali nižší obsah kyseliny octovej v trávnych silážach. Dané zistenie je však v rozpore s viacerými výsledkami experimentov, ktoré potvrdili, že heterofermentatívne kmene baktérií mliečneho kvasenia zvyšujú obsah kyseliny octovej v silážach (Muck, 2010; Wang et al., 2014; Twaružek et al. 2015; Zielińska et al., 2015). Pomer kyseliny mliečnej ku kyseline octovej bol 6,7:1 (C) a 7,9:1 (A). Priaznivejší pomer v prospech kyseliny mliečnej zistili aj Twaružek et al. (2015) a Zielińska et al. (2015) v silážach ošetrených homo a heterofermentatívnymi kmeňmi baktérii mliečneho kvasenia. Prídavok aditíva (*L. plantarum* a *L. brevis*) inhiboval rozvoj klostridií, čo sa prejavilo na zníženom obsahu kyseliny maslovej (P<0,05). Zistené výsledky sú v súlade s viacerými publikovanými prácami (Wróbel, 2008; Addah et al., 2012; Wambacq et al., 2013). V silážach pokusného variantu (A) sa zaznamenal štatisticky preukazne (P<0,05) nižší obsah alkoholov o 39,9% v porovnaní so silážami bez ošetrenia (C). Rovnako aj Li a Nishino (2011) potvrdili v silážach *Lolium italicum* po prídavku heterofermentatívneho kmeňa baktérií mliečneho kvasenia zhodne štatisticky preukazne nižší obsah alkoholov, zatiaľ čo Twaružek et al. (2015) naopak – v silážach lucerny zistili vyšší obsah po aplikácii homo a heterofermentatívnych baktérií mliečneho kvasenia. V silážach variantu A sa zaznamenala nižšia hodnota fermentačných produktov (P<0,05) než v silážach bez aditíva. Hodnota kyslosti vodného výluhu bola štatisticky preukazne (P<0,05) nižšia v trávnych silážach s prídavkom mikrobiálneho aditíva (A). V silážach ošetrených *L. plantarum* a *L. brevis* sa zistil nižší stupeň proteolýzy v porovnaní s kontrolným variantom, pričom rozdiely boli štatisticky preukazné (P<0,05). Aj Bureenok et al. (2005) zistili nižší obsah amoniaku v silážach inokulovaných baktériami mliečneho kvasenia. Trávne siláže pokusného variantu A mali nižšiu hodnotu pH ako siláže bez prídavku aditíva (P<0,05), čo je v súlade s výsledkami Parvin et al. (2010) a Zielińska et al. (2015).

Table 1. The quality of grass silages after 12 months of storage in silage bags
 Tabuľka 1. Kvalita trávnych siláží po 12 mesiacoch uskladnenia v silážnych vakoch

Variant	SP	Lactic acid a	Acetic acid a	Butyric acid a	Alcohols a	FP a	AWE B	DP c	pH
C	\bar{x}	71,1	10,61*	1,07*	6,39*	89,26*	1840,24*	8,1*	4,25*
	SD	3,18	0,23	0,53	0,58	8,39	25,13	0,03	0,09
A	\bar{x}	72,81	9,25*	0,16*	3,84*	86,44*	1554,5*	6,9*	3,94*
	SD	8,53	0,12	0,06	0,42	2,57	52,22	0,68	0,17

C: without additive, A: *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis*, SP: statistical parameter, FP: fermentation products, AWE: acidity of water extract, DP: degree of proteolysis, a: g*kg⁻¹ of dry matter, b: mg KOH per 100 g of silage, c: %, \bar{x} : average, SD: standard deviation, *the values with identical superscripts in column are significantly different at P<0.05.

C: bez aditíva, A: *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis*, SP: štatistický ukazovateľ, FP: fermentačné produkty, AWE: kyslosť vodného výluhu, DP: stupeň proteolýzy, a: g*kg⁻¹ sušiny, b: mg KOH na 100 g siláže, c: %, \bar{x} : priemer, SD: smerodajná odchýlka, *hodnoty s rovnakými indexmi v stĺpci sú štatisticky preukazné pri P<0,05.

Záver

Aplikácia biologického aditíva na báze homo a heterofermentatívnych baktérií mliečneho kvasenia (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis*) ovplyvnila kvalitu siláží z trvalých trávnych porastov po 12 mesiacoch uskladnenia štatisticky preukazne nižším obsahom kyseliny octovej, maslovej, alkoholov, stupňom proteolýzy a nižšou hodnotou pH. Výsledky potvrdili, že prídavok *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis* pozitívne ovplyvnil kvalitu fermentačného procesu siláží z trvalých trávnych porastov.

Podakovanie

Práca vznikla s podporou projektu Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 1/0723/15).

Použitá literatúra

Acosta Aragón, Y., Jatkauskas, J., Vrotniakienė, V. (2012) The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farm scale. International Scholarly Research Network Veterinary Science, 2012, 1-6. DOI: <https://dx.doi.org/10.5402/2012/345927>

- Addah, W., Baah, J., Okine, E.K., McAllister, T.A. (2012) A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 90 (5), 1541-1552.
DOI: <https://dx.doi.org/10.2527/jas.2011-4085>
- Adesogan, A.T., Salawu, M.B., Ross, A.B., Davies, D.R., Brooks, A.E. (2003) Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of crimped wheat grains. *Journal of Dairy Science* 86 (5), 1789-1796.
DOI: [https://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73764-3](https://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73764-3)
- AOAC (2000) Official methods of analysis. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- Bíro, D., Juráček, M., Šimko, M., Gálik, B., Rolinec, M. (2014) Konzervovanie a úprava krmív. 1. vyd. Nitra: SPU.
- Bureenok, S., Namihira, T., Kawamoto, Y., Nakada, T. (2005) Additive effects of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria on the fermentative quality of guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) silage. *Grassland Science*, 51, (3) 243-248. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1744-697x.2005.00032.x>
- Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (2003) Silage science and technology. Madison: Wisconsin.
- Danner, H., Holzer, M., Mayrhuber, E., Braun, R. (2003) Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (1) 562-567.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.1.562-567.2003>
- IBM Corp. Released (2011) IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Jalč, D., Lauková, A., Simonová, M., Váradyová, Z., Homolka, P. (2009) The use of bacterial inoculants for grass silage: their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silages. *Czech Journal of Animal Science*, 57 (2), 84-91.
- Kizeková, M., Jendrišáková, S. (2008) Biochemická diverzita trávnych porastov. *Enviromagazín*, 3, (3) 28.
- Klapp, E. (1971) Wiesen und Weiden. Hamburg und Berlin.
- Kleinmans, J.J., Dewar, W.R., Erasmus, H.J.H., Densley, R.J. (2011) Using silage inoculants to improve the quality of pasture and maize silage in New Zealand. In: Proceedings of the New Zealand Grassland Association. Gisborne: New Zealand Grassland Association.

- Krooneman, J., Faber, F., Alderkamp, A., Elferink, S., Driehuis, F., Cleenwerck, I., Swings, J., Gottschal, J., Vancanneyt, M. (2002) *Lactobacillus diolivorans* sp nov., a 1,2- propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52 (2), 639-646.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1099/00207713-52-2-639>
- Lád, F., Čermák, B., Jančík, F., Kadlec, J. (2006) The influence of silage additives for qualitative parameters of clover-grass silages. *Journal of Central European Agriculture*, 7 (2), 313-318.
- Li, Y., Nishino, N. (2011) Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*. *Letters in Applied Microbiology*, 52 (4), 314-321.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.03000.x>
- Morais, G., Daniel, J.L.P., Kleinshmitt, C., Carvalho, P.A., Fernandes, J., Nussio, L.G. (2017) Additives for grain silages: a review. *Slovak Journal of Animal Science*, 50 (1), 42-54.
- Muck, R.E. (2010) Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39 (S), 183-191.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>
- Parvin, S., Wang, C., Li, Y., Nishino, N. (2010) Effects of inoculation with lactic acid bacteria on the bacterial communities of Italian ryegrass, whole crop maize, guinea grass and rhodes grass silages. *Animal Feed Science and Technology*, 160 (3-4), 160-166.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.010>
- Schmidt, R.J., Hu, W.J., Mills, A., Kung, L. (2009) The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 92 (10), 5005-5010.
DOI: <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1701>
- Skládanka, J., Doležal, P., Nedělník, J., Moravcová, H., Poštulka, R. Vyskočil, I. (2010) Influence of species and preservations on the quality and safety of grass silages. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendellianae Brunensis*, 58 (5), 329-336.
DOI: <https://dx.doi.org/10.11118/actaun201058050329>
- Twarużek, M., Dorszewski, P., Grabowicz, M., Szterk, P., Grajewski, J., Kaszkowiak, J. (2016) Effect of additives on the fermentation profile, microbial colonization and oxygen stress of alfalfa silages. *Journal of Elementology*, 21 (4), 1161-1172. DOI: <https://dx.doi.org/10.5601/jelem.2015.20.4.1066>
- Vozár, Ľ., Jančovič, J., Kovár, P., Bačová, S. (2012) Adaptability of permanent grassland to drought. *Journal of Life Sciences*, 6 (9) 1057-1060.
- Wambacq, E., Latré, J.P., Haesaert, G. (2013) The effect of *Lactobacillus buchneri* inoculation on the aerobic stability and fermentation characteristics of alfalfa-ryegrass, red clover and maize silage. *Agricultural and Food Science*, 22 (1), 127-136.

- Wang, M., Yang, Ch., Jia, L., Yu, K. (2014) Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation characteristics and aerobic stability of whipgrass silage in laboratory silos. *Grassland Science*, 60 (4), 233-239. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/grs.12065>
- Wróbel, B. (2008) Quality and aerobic stability of big-bale silage treated with bacterial inoculants containing *Lactobacillus buchneri*. In Biodiversity and animal feed future challenges for grassland production, proceedings of the 22nd general meeting of the European Grassland Federation. Uppsala: SLU Repro.
- Yildirim, Z., Avsar, Y.K., Yildirim, M. (2002) Factors affecting the adsorption of buchnericin LB, a bacteriocin produced by *Lactobacillus* [correction of *Lactocobacillus*] *buchneri*. *Microbiological Research*, 157 (2), 103-107.
- Zielińska, K., Fabiszewska, A., Stefańska, I. (2015) Different aspects of *Lactobacillus* inoculants on the improvement of quality and safety of alfalfa silage. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75 (3), 298-306. DOI: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392015000400005>