

**KORJUASTEEN JA SÄILÖNTÄAINEEN VAIKUTUS
MAISSISÄILÖREHUN KOOSTUMUKSEEN JA KÄYMISLAATUUN
SUOMEN OLOSUHTEISSA**

KATARINA PARTTI
MAISTERINTUTKIELMA
KOTIELÄINTEN RAVITSEMUSTIEDE
HELSINGIN YLIOPISTO
MAATALOUSTIETEIDEN OSASTO
LOKAKUU 2019

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Maataloustieteiden osasto	
Tekijä — Författare — Author Katarina Partti			
Työn nimi — Arbetets titel — Title KORJUUASTEEN JA SÄILÖNTÄAINEEN VAIKUTUS MAISSISÄILÖREHUN KOOSTUMUKSEEN JA KÄYMISLAATUUN SUOMEN OLOSUHTEISSA			
Oppiaine — Läroämne — Subject Kotieläinten ravitsemustiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma		Aika — Datum — Month and year 10/2019	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 39
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Maissia on perinteisesti viljelty Suomen olosuhteisiin verrattuna pidemmän ja lämpimämmän kasvukauden maissa. Tutkielman tarkoitus oli selvittää maissin kehitystason ja säilöntäaineen vaikutusta maissisäilörehun laatuun Suomessa. Tutkimus toteutettiin kasvukaudella 2017 osana laajempaa tutkimusta Viikin opetus- ja tutkimustilalla. Säilörehuun käytettiin katteellisesti viljeltyä P7326 (Pioneer) maissilajiketta. Kylvöpäivä oli 11.5.2017 ja korjuupäivät 6.9.2017 ja 1.11.2017. Säilöntä suoritettiin samana päivänä korjuun kanssa 1,5 litran laboratoriosiihoihin. Säilönnän yhteydessä otetuista säilörehun raaka-ainenäytteistä analysoitiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, tuhka, tärkkelys, vesiliukoiset hiilihydraatit (sokerit), typpi ja liukoinen typpi sekä in vitro -sulavuus, jonka avulla laskettiin D-arvo.</p> <p>Eri aikoina korjatuille rehuille käytettiin osittain eri säilöntäaineita. Ensimmäisen korjuun rehu säilöttiin ilman säilöntäainetta, biologisella säilöntäaineella (<i>Lactobacillus buchneri</i>, <i>Lactobacillus plantarum</i>), happoseoksella (muurahaihappo, natriumformaatti, propionihappo ja sorbiinihappo) sekä muurahaihapon kahdella eri annostustasolla. Jälkimmäisen korjuun rehu säilöttiin ilman säilöntäainetta, biologisella säilöntäaineella, happoseoksella, NaHe-säilöntäaineella (natriumnitriitti, heksamiini, natriumbentsoaatti) sekä BeSo-säilöntäaineella (natriumbentsoatti, kaliumsorbaatti). Säilörehusiilot avattiin 132 päivän kuluttua säilönnästä ja rehuista määritettiin aerobinen stabiilisuus sekä analysoitiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, pH, typpi, ammonium-N, vesiliukoiset hiilihydraatit, maitohappo ja haihtuvat rasvahapot (VFA).</p> <p>Raaka-aineissa oli eroa korjuuajan mukaan. Myöhemmin korjatussa rehuraaka-aineessa oli suurempi kuiva-aine- ja tärkkelyspitoisuus kuin aikaisemmin korjatussa. Aikaisemmin korjatussa raaka-aineessa oli suurempi sokeripitoisuus kuin myöhemmin korjatussa. Säilöntäaineet paransivat aerobista stabiilisuutta verrattaessa painorehuun. Toisella korjuukerralla biologisesti, NaHe- sekä BeSo-säilötyt rehut olivat merkittävästi aerobisesti stabiilimpia kuin painorehu. Ensimmäisellä korjuukerralla painorehussa ja biologista säilöntäainetta käytettäessä rehuun muodostui huomattavan paljon maitohappoa. Seos- ja muurahaihapporehuissa käymistä oli selvästi vähemmän ja niihin jäi paljon vesiliukoisia hiilihydraatteja painorehuun ja biologisesti säilöttyyn rehuun verrattuna.</p> <p>Osassa koekäsittelyjä oli etikkahappoa ja ammoniumtyyppiä enemmän kuin laatuvaatimusten mukaan hyvälaatuisessa rehussa on. Rehujen hygieeninen laatu oli kuitenkin hyvä eikä voihappokäymistä havaittu. Suomessa kasvatetun maissin kuiva-ainepitoisuus on pienempi kuin kansainvälisissä tutkimuksissa on havaittu. Maissin kuiva-ainepitoisuuden vaikuttaa kasvukausi, joka Suomessa on lyhyt. Lisätutkimusta suomalaisen maissisäilörehun vaikutuksesta syöntiin ja tuotokseen kaivataan, mutta hygieenisen ja ravitsemuksellisen laadun perusteella maissi voi olla hyvä säilörehukasvi Suomen olosuhteissa.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Maissi, säilörehu, säilöntäaineet, käymislaatu			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Maataloustieteiden osasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työtä ohjasi yliopistonlehtori Seija Jaakkola			

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Katarina Partti			
Työn nimi — Arbetets titel — Title THE EFFECT OF HARVEST MATURITY AND SILAGE ADDITIVE TO THE COMPOSITION AND SILAGE QUALITY IN MAIZE GROWN IN FINLAND			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal nutrition			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year 10/2019	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 39
<p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>Maize is usually grown in countries with warmer climate than Finland. The aim of this study was to investigate the effect of harvest maturity and silage additive in the quality of whole-crop maize silage from maize grown in Finland. The research was carried out in 2017 as a part of a larger study in Viikki Experimental Farm. The maize hybrid used in the silage was P7326 (Pioneer). After sowing the seedbed was covered with a film. Sowing date was 11.5.2017 and harvesting dates 6.9.2017 and 1.11.2017. Ensiling was carried out on the same day using 1,5 liter laboratory silos. Samples were taken from the harvested, chopped whole-crop plant material before ensiling. They were analysed for primary and secondary dry matter, ash, starch, water soluble carbohydrates (sugars), nitrogen, soluble nitrogen and in vitro-digestibility that was used to calculate the D-value.</p> <p>Some of the additives used in the two harvests were different. The whole-crop maize of the first harvest was ensiled without additives (control) and with four different additives. The additives used were: biological additive with <i>Lactobacillus buchneri</i> and <i>Lactobacillus plantarum</i>, acid mixture additive with formic acid, sodium formate, propionic and sorbic acid and the two treatments with formic acid with different application rates. The late harvest was ensiled without additives (control), with the biological additive, with the acid mixture additive, NaHe-additive which contained sodium nitrite, hexamine and sodium bentsoate and BeSo-additive with sodium bentsoate and potassium sorbate. The silos were opened 132 days after the ensiling and the samples were analysed for aerobic stability, primary and secondary dry matter, pH, nitrogen, ammonium-N, water soluble carbohydrates, lactic acid and volatile fatty acids (VFA).</p> <p>The harvest date affected the composition of the whole crop maize. The material from the late harvest had a higher dry matter and starch content than the material from the first harvest. The amount of sugars was greater in the material from the first harvest than in the late harvest. The silage additives enhanced the aerobic stability of the silages compared to the silages without additives. From the late harvest, the biological, NaHe and BeSo additives had significantly longer aerobic stability time than the control without additives. From the first harvest, there was a high amount of lactic acid in the control silage without additives and in the silage inoculated with the biological additive. The silages inoculated with the acid mixture or two different rates of formic acid had fermented significantly less and they contained more water soluble carbohydrates than the control or the silage inoculated with the biological additive.</p> <p>In some of the treatments the amount of acetic acid and ammonium nitrogen was higher than accepted in the requirements for a good quality silage. However the overall hygienic quality was good and there wasn't butyric acid in any of the samples. The dry matter content of maize grown in Finland is lower than in most international studies. The dry matter is affected by the length and the temperature of the growing season. More research is needed on the effect of the Finnish maize in the intake and the performance of growing cattle and dairy cows. In Finland whole crop maize can be suitable material for silage based on the silage quality and nutritional value.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Maize, silage, silage additives, silage quality			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Thesis work was supervised by university lecturer Seija Jaakkola			

Sisällysluettelo

1	Johdanto	5
2	Kirjallisuuskatsaus	6
2.1	Maissi säilörehun raaka-aineena	6
2.1.1	Kehitysasteen vaikutus maissin koostumukseen	7
2.1.2	Säilöntäaineen vaikutus maissisäilörehun laatuun	8
2.2	Maissisäilörehun rehuarvo ja vaikutukset ruokinnassa	11
3	Tutkimuksen tavoitteet	13
4	Aineisto ja menetelmät	13
4.1	Koerehujen valmistus	14
4.2	Näytteiden otto ja analysointi	15
4.3	Aerobisen stabilisuuden määrittäminen	17
4.4	Tulosten lasku ja analysointi	17
5	Tulokset	18
5.1	Raaka-aineen koostumus	18
5.2	Säilörehun käymislaatu	19
5.2.1	Aikainen korjuu (koe 1)	19
5.2.2	Myöhäinen korjuu (koe 2)	22
5.2.3	Aerobinen stabilisuus	25
6	Tulosten tarkastelu	25
6.1	Raaka-aineiden koostumus	25
6.2	Säilönnällinen laatu	29
6.2.1	Säilöntäaineiden vaikutustapa	29
6.2.2	Käymislaatu laatukriteereihin verrattuna	33
6.2.3	Syötiin vaikuttava laatu	34
6.3	Aerobinen stabiilisuus	35
7	Johtopäätökset	36
8	Lähdeluettelo	37

1 Johdanto

Lämpenevät sääolosuhteet ja kasvien jalostus luovat mahdollisuuksia uusien rehukasvien viljelyyn. Maissia viljellään maailmalla erityisesti säilörehuksi märehittäjille. Suomessa viljelyssä haasteita aiheuttaa lyhyt kasvukausi ja epävakaiset korjuuolosuhteet. Koska maissin kasvuaika on suhteellisen pitkä ja sato korjataan vain kerran vuodessa koneellisesti, saattaisi maissista saada suurempi sato vähemmällä työmäärällä kuin perinteisestä nurmiviljelystä.

Rehun hyvän laadun takaamiseksi Suomessa on perinteisesti käytetty säilöntäaineita. Maissia kasvatetaan paljon maissa, joissa on pidempi kasvukausi kuin Suomessa, jolloin sato voidaan korjata kuivempana kuin Suomessa. Pitkän kasvukauden maissa maissisäilörehuun voi tulla rehua pilaavia hiivoja ja homeita, koska rehu on kuivaa. Toisaalta rehusta saadaan hyvin tärkkelyspitoista. Suomessa yli 300 g/kg kuiva-ainepitoisuuden ei yleensä ennen sadonkorjuuta päästä, joten rehun säilönnässä virhekäymisestä johtuvat laatuongelmat ovat myös erilaisia.

Maissiin liittyvä tutkimus onkin keskittynyt alueille, joissa maissia kasvatetaan paljon. Suomen viljelyolosuhteet eroavat niistä paljon, joten on tarpeen tutkia maissinkasvatusta Suomessa. Maissisäilörehun laatuun vaikuttavat monet tekijät: ympäristö- ja maaperätekijät, maissin lajike, korjuuaste ja säilöntätapa. Tämän tutkielman tarkoitus on tarkastella korjuuasteen sekä säilöntäaineen vaikutusta Suomessa kasvatetun maissin säilörehulaatuun.

2 Kirjallisuuskatsaus

Maissi (*Zea Mays L.*) on yksi maailman käytetyimmistä viljelykasveista. Siinä on suhteellisen korkea energiapitoisuus ja matala proteiinipitoisuus. Maissi tuottaa yhden sadon vuodessa, joten yhdellä korjuulla on mahdollista saada suhteessa työn määrään ja pinta-alaan suuri sato (Allen ym. 2003). Kirjallisuudessa mainitaan 10 °C alimpana lämpötilana, jossa maissi itää tai kasvaa (McDonald ym. 1991). Maissista on olemassa monenlaisia lajikkeita. Maissin lajike vaikuttaa sekä koko kasvin kuiva-ainepitoisuuteen että varren ja tähkän suhteisiin (Lynch ym. 2012). Maissilajikkeita on jalostettu eri ominaisuuksien mukaan, muun muassa valkuaisen laadun sekä öljyn määrän mukaan. Myös säilörehukäyttöön on jalostettu omia lajikkeita, joiden tähkissä on vähemmän sulavuutta heikentävää ligniiniä (Allen ym. 2003).

Maissin viljely voi aiheuttaa maaperän köyhtymistä ja eroosiota, koska maahan ei jää sadonkorjuun jälkeen biomassaa. Koska maissi korjataan koneellisesti, myös maaperän laadun heikkeneminen tiivistymisen seurauksena on mahdollista. Haittapuolia voidaan kuitenkin torjua huolellisella suunnittelulla, viljelykierrolla sekä peitekasveilla (Allen ym. 2003). Myös lannoitteille on kestäviä vaihtoehtoja. Suomessa tehdyn tutkimuksen mukaan maaperään voi kierrättää ravintoaineita ilman, että se vaikuttaa maissin laatuun (Seleiman ym. 2017).

2.1 Maissi säilörehun raaka-aineena

Maissikasvi koostuu pitkästä varresta, siitä kasvavista lehdistä sekä tähkistä. Maissin kypsyessä tähkät tiivistyvät ja muuttuvat kovemmiksi. Koko kasvusta tehty säilörehu on erittäin heterogeenista rakenteeltaan. Rehun altistuminen hapelle tai puutteellinen säilöntä voi aiheuttaa virhehäymistä, madaltunutta kuiva-ainepitoisuutta ja tärkkelyspitoisuuden laskua (Brüning ym. 2017), joten maissia säilöessä tulee olla huolellinen. Kuitenkin maissilla on hyvät ominaisuudet säilöntään. Siinä on suhteellisen korkea kuiva-ainepitoisuus sekä matala puskurikapasiteetti ja tarpeeksi vesiliukoisia hiilihydraatteja maitohappokäymiseen. Maissin vesiliukoiset hiilihydraatit ovat lähinnä sakkaroosia, glukoosia ja fruktoosia (McDonald ym. 1991).

Kun maissi kypsyy, sen säilörehuun sopiva laatu säilyy pitkään verrattuna ruohokasveihin. Maissin optimaalinen sadonkorjuuaika on jopa kaksi viikkoa (Allen ym. 2003). Esimerkiksi ruohokasveilla laatu heikkenee jo muutamassa päivässä (Daynard ym. 1975, Marsalis ym. 2010). Maissi on myös satoisampi kuin monet viileän ilmaston kasvit. Maissi voi tuottaa 13-20 t/hehtaari kuiva-ainetta (Allen ym. 2003).

Maissin rehulaatu säilyy suhteellisen hyvänä myös vaihtelevissa olosuhteissa. Suomessa eri tavalla lannoitetuissa maisseissa oli eroa vain raakaproteiinin määrässä, muuten eri lannoituksilla ei ollut merkittävää vaikutusta maissien koostumukseen (Seleiman ym. 2017). Marsalis ym. (2010) huomasivat, että typpilannoituksen ja kasvitiheyden vähentäminen ei vaikuttanut merkittävästi satoisuuteen tai maissien ravitsemukselliseen laatuun. Päinvastoin kasvitiheyden lisääminen saattaa vähentää kuiva-ainetta, tärkkelyksen ja liukoisen typen määrää (McDonald ym. 1991).

2.1.1 Kehitysasteen vaikutus maissin koostumukseen

Maissin kuiva-ainepitoisuus lisääntyy kasvin kehittyessä ja maissi saavuttaakin sekä satoisuuden että laadun huipun samaan aikaan (Allen ym. 2003). Sulavuus säilyy pitkään suhteellisen samana, koska kasvavan tähkän hyvä sulavuus kompensoi lehtien ja varren heikentyvää sulavuutta (McDonald ym. 1991). Kasvuvaiheessa maississa on paljon vesiliukoista sokeria, jonka pitoisuus vähenee samalla kun tärkkelyspitoisuus kasvaa. Kasvin kehittymisen myötä myös NDF:n ja raakaproteiinin pitoisuudet laskevat. Kuiva-aineen sulavuus lisääntyy samalla (Allen ym. 2003).

Tähkässä on jyviä, jotka koostuvat idusta, endospermistä ja endokarpista. Kypsyessään maissin jyvät muuttuvat kovemmiksi kosteuden vähetessä. Jyvissä oleva sokeri muuttuu tärkkelykseksi, joka on amyloosia tai amylopektiiniä. Endospermi sisältää tärkkelyksen ja jonkun verran proteiinia (Allen ym. 2003). Tähkien rakenne ja koko suhteessa muihin kasvinosiin riippuu maissin lajikkeesta.

Kehitysasteen ei ole todettu vaikuttavan merkittävästi kuiva-aineseen, tuhkaan, kokonaistyppeen tai D-arvoon. Sen sijaan vesiliukoisten hiilihydraattien sekä tärkkelyksen pitoisuuksissa oli merkitsevä ero Englannissa tehdyssä tutkimuksessa (McDonald ym. 1991). Myöskään Suomessa tehdyssä 3-vuotisessa tutkimuksessa

maissin korjuupäivä (120 tai 150 kasvupäivää) ei vaikuttanut kuiva-ainepitoisuuteen, mutta pidempi kasvuaika vähensi tuhkan ja valkuaisen määrää. Myöhäisemmän korjuupäivän maisseissa oli myös enemmän tärkkelystä. Kuitenkin korjuuvuoden ja -ajan kesken oli yhdysvaikutus maissien ravintoarvoihin (Seleiman ym. 2017).

2.1.2 Säilöntäaineen vaikutus maissisäilörehun laatuun

Säilöntäaineen perustehtävä on saada rehu pysymään syömäkelpoisena säilytyksen ajan. Säilönnän onnistumista voidaan mitata hygieenisen laadun ja syömislaadun kannalta. Sulavuus ja syönti ovat tärkeitä tekijöitä maissisäilörehun laatua arvioitaessa, sillä maissisäilörehu on pääasiassa energiarehu. Eläimen tuotostasoon määräävä tekijä on eläimen energiansaanti, johon vaikuttaa sekä rehun kuiva-aineen syönti että rehun energiatiheys (Allen ym. 2003).

Säilöntäaineiden hyväksyntää koskevan kansallisen lainsäädännön (kumottu 2006) aikana annettiin raja-arvot hygieenisesti hyvälaatuiselle säilörehulle (taulukko 1) (MMM 1999). Hyvälaatuisessa rehussa ei myöskään ole ei-toivottuja aerobisia tai anaerobisia organismeja kuten hiivoja, *Listeria monocytogenes*, enterobakteereja tai clostrideja (Kung ym. 2003). Hyvä aerobinen stabiilisuus on tärkeää myös erityisesti Suomen oloissa, kun säilörehun täytyy säilyä pitkän talvikauden yli (Seppälä ym. 2016).

Taulukko 1. Säilörehun laatutekijöiden ylärajat eri laatuluokilla (MMM 1999)

Laatutekijä	Säilörehun laatuluokka	
	hyvä	tydyttävä
Maitohappo (g/kg)	25,0	Ei rajoitusta
Etikkahappo (g/kg)	6,0	10,0
Voihappo (g/kg)	1,0	1,0
Ammonium-N kokonaistypestä (g/kg N)	80,0	120,0
pH*	4,20	4,20

*Jos kuiva-ainepitoisuus on yli 275g/kg, voi pH olla korkeampi.

Rehua pilaavat mikrobit käyttävät energiakseen maito- ja etikkahappoa sekä vesiliukoisia hiilihydraatteja. Niiden hapettuminen johtaa hiilidioksidin ja veden muodostumiseen ja rehun lämpenemiseen. Aerobisten mikrobien maito- ja etikkahapon metabolia nostaa pH:ta ja aiheuttaa kuiva-aineen vähentymistä. Clostridit tuottavat voihappoa ja nostavat

ammoniumtypen määrää. Kuitenkaan maitohapon tai vesiliukoisten hiilihydraattien määrästä ei voi suoraan päätellä onko rehu pilaantunut (McDonald ym. 1991).

Säilöntäaineet voidaan jakaa kategorioihin niiden toimintamekanismin mukaan: maitohappokäymisen lisääjät, mikrobikasvun estäjät, aerobisen hajoamisen hillitsijät sekä ravinteet ja imeyttäjät. Säilöntäaineet voivat kuulua useampaan kategoriaan samanaikaisesti (McDonald ym. 1991, Kung ym. 2003). Säilöntäaine ja rehukasvin ominaisuudet vaikuttavat säilönnän lopputulokseen. Esimerkiksi rehun kuiva-aineen määrä vaikuttaa käymisprosessiin, joten korkean ja matalan kuiva-aineen rehuille samalla säilöntäaineella voi tulla erilaatuinen lopputuote. Säilöntäaine ei välttämättä paranna korkean kuiva-ainepitoisuuden rehujen säilönnällistä laatua merkittävästi, mutta saattaa vähentää hiivojen ja homeiden kasvua (Seppälä ym. 2016).

Maitohappokäymistä voi stimuloida joko lisäämällä rehuun maitohappobakteereita tai hiilihydraatteja. *Lactobacillus buchneri* parantaa maissisäilörehun laatua (Rabelo ym. 2016). Maitohappobakteerit voivat lisätä maitohapon ja etikkahapon määrää verrattuna säilöntäaineettomaan maissisäilörehuun (Basso ym. 2014).

Maitohappobakteerit voidaan jakaa homo- ja heterolaktisiin lopputuotteiden määrän perusteella (taulukko 2). Teoriassa homolaktinen käymisprosessi on toivottavampi, koska siinä yhdestä glukoosimolekyylistä tulee kaksi maitohappomolekyyliä ja kaksi ATP:ia. Näin kuiva-aine- ja energiahukka on pienempi kuin heterolaktisessa fermentaatiossa, jossa lopputuotteita on useita, kuten maitohappo, etanoli, etikkahappo ja hiilidioksidi (Kung ym. 2003). Kuitenkin pelkän homolaktisen maitohappobakteerin käyttö säilöntäaineena saattaa aiheuttaa heikentyneitä aerobista stabiilisuutta (Seppälä ym. 2016).

Lactobacillus buchneri lisääminen maissisäilörehuun nosti rehun pH:ta verrattuna säilöntäaineettomaan kontrolliin (Rabelo ym. 2016). Tämä selittyy *L. buchneri* kyvyllä käyttää maitohappo etikkahapoksi (Pahlow ym. 2003). Etikkahappo on heikompi happo kuin maitohappo, siksi pH voi nousta, kun rehuun lisää *L. buchneria* (Rabelo ym. 2016). *Lactobacillus plantarum* on fakultatiivisesti heterofermentatiivinen eli se voi käydä homo- tai heterolaktisesti (Pahlow ym. 2003). Maissisäilörehun säilönnässä *L. buchneri* ja *L. plantarum* toimivat erityisesti korkeilla kuiva-ainepitoisuuksilla. *L. buchneri* lisäsi

aerobista stabiilisuutta ja vähensi hiivoja kun taas *L. plantarum* vähensi ammoniumtyypen määrää. Maitohappobakteereilla ei havaittu yhdysvaikutuksia (Hu ym. 2009).

Taulukko 2. Pääasialliset käymistiet säilörehussa ja kuiva-aineen sekä energian teoreettinen säilyminen rehussa (McDonald ym. 1973)

Käymistyyppi	Lopputuote	Rehussa säilynyt %	
		Kuiva-aine	Energia
Homolaktinen (glukoosi)	maitohappo	100	99
Heterolaktinen (glukoosi)	Maitohappo, etanoli, CO ₂	76	98
Heterolaktinen (fruktoosi)	Maitohappo, etikkahappo, mannitoli, CO ₂	95	99
Hiiva (glukoosi)	Etanoli, CO ₂	51	99
Clostridia (glukoosi ja laktaatti)	Voihappo, CO ₂	49	82

Mikrobikasvun estäjät voidaan jakaa kahteen kategoriaan: happoihin ja muihin. Happoihin kuuluu esimerkiksi muurahaishappo-, sitruuna-, sorbiini- ja maitohappo. Eri hapot ehkäisevät mikrobikasvua eri pH-arvoissa. Perinteinen haposäilöntä perustuu pH:n laskemiseen 3,6:een mahdollisimman nopeasti, jolloin mikrobit inaktivoituvat. Esimerkiksi muurahaishappo inhiboi mikrobeja parhaiten pH 4:n happamuudessa. Muurahaishappo ei ole tehokas hiivoja vastaan, mutta hiivoja esiintyy eniten suhteellisen korkean kuiva-aineen rehuissa (McDonald ym. 1991). Brüning ym. (2018) havaitsivat ilman säilöntäainetta säilötyissä maissisäilörehuissa runsaasti etanolia. Etanolin esiintyminen rehussa korkeina pitoisuuksina indikoi hiivojen aktiivisuudesta säilönnän aikana (McDonald ym. 1973). Muihin mikrobikasvun estäjiin kuuluu muun muassa formaldehydi, natriumnitriitti ja -kloridi (McDonald ym. 1991).

Aerobista hajoamista estävät esimerkiksi propioni- ja sorbiinihappo. Jotkin maitohappobakteerit saattavat parantaa aerobista stabiilisuutta. Erityisesti *Lactobacillus* bakteereilla saattaa olla hiivojen kasvua estävä ja aerobista stabiilisuutta parantava vaikutus, jos rehussa on tarpeeksi vesiliukoisia hiilihydraatteja. Vähähappisissa oloissa maitohappobakteerien tuottama maitohappo ja etikkahappo vähentävät hiivojen kasvua, mutta runsashappisissa oloissa hiivat pystyvät hapettamaan etikkahapon ja käyttämään energian lähteenä (McDonald ym. 1991). Esimerkiksi *L.buchnerin* on huomattu

parantavan aerobista stabiilisuutta ja lisäävän propionihapon määrää rehussa (Kung ym. 2003). Ravinteita ovat lisäaineet, jotka parantavat rehun ravintoarvoa, kuten urea ja ammoniakki. Imeyttäjät, kuten olki ja bentoniitti, nostavat rehun kuiva-ainepitoisuutta (McDonald ym. 1991).

2.2 Maissisäilörehun rehuarvo ja vaikutukset ruokinnassa

Maissin kasvuympäristö sekä säilöminen, niin säilöntätapa kuin sen onnistuminenkin, vaikuttavat maissisäilörehun energia- ja valkuaispitoisuuteen. Rasvahappokoostumus maissisäilörehuissa vaihtelee paljon riippuen maissin kehitysvaiheesta korjattaessa (Allen ym. 2003). Maissisäilörehuissa on suhteellisen matala raakavalkuaispitoisuus. Proteiini on kuitenkin suhteellisen hyvin sulavaa (Khan ym. 2015 review).

Taulukossa 3 on esitetty tuoreesta maissista ja vertailuksi monivuotisesta raiheinästä tehdyn säilörehun rehuarvoja (McDonald ym. 1991). Rehut on tehty ilman säilöntäaineita. Maissiraaka-aineessa vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus oli 145 g/kg ka ja raiheinässä 177 g/kg ka. Raiheinään verrattuna maissiraaka-aineen puskurikapasiteetti oli pienempi, maissiraaka-aineella 170 mE/kg ka ja monivuotisella raiheinällä 350 mE/kg ka. Maissisäilörehun kuiva-ainepitoisuus ja valkuaispitoisuuden osuus kokonaistypestä olivat huomattavasti korkeammat kuin monivuotisella raiheinällä.

Taulukko 3. Maissi- ja raiheinäsäilörehujen koostumus ja erot (McDonald ym. 1991).

Yksiköt ovat g/kg ka ellei muuta ole mainittu

	Maissisäilörehu	Monivuotinen raiheinäsäilörehu
pH	3.91	3.90
Kuiva-aine (g/kg)	285	190
Puskurikapasiteetti (mE/kg ka)	-	1120
Kokonaistyyppi	15	23
Valkuaistyyppi (g/kg N)	545	235
Ammoniumtyppi (g/kg N)	63	78
Vesiliukoiset hiilihydraatit	16	10
Glukoosi	-	2
Fruktoosi	-	3
Tärkkelys	206	-
Etikkahappo	26	36
Propionihappo	0	2
Voihappo	0	1
Maitohappo	53	102
Etanoli	<10	12
Raakakuitu	-	298
NDF	413	-
ADF	219	-
Tuhka	55	68

NDF=neutraalidetergenttikuitu

ADF=happodetergenttikuitu

Maissisäilörehua käytetään yleisesti märehitjoiden, erityisesti lypsykarjan, ravitsemuksessa. Nurmikasvipohjaista säilörehua saavien lypsylehmien kuiva-aineen syönti on usein lisääntynyt, kun rehuun lisätään maissisäilörehua (Khan ym. 2015 review). Maissisäilörehun lisääminen lisäsi yhteenvedon mukaan myös maidon määrää ja sen valkuaispitoisuutta. Sen sijaan pelkkää maissisäilörehua saavilla lehmillä tuotos oli pienempi, koska maissisäilörehu oli huonommin sulavaa kuin nurmisäilörehu. Maidon ja maitoproteiinin määrä korreloi suoraan kuiva-aineen syönnin kanssa (Khan ym. 2015 review). Maissiraaka-aineen kehitysaste vaikuttaa myös maissisäilörehua saavien lypsylehmien syöntiin, maitomäärään ja maidon proteiinipitoisuuteen (Allen ym. 2003). Kun korjatun maissin kuiva-ainepitoisuus ylitti 350g/kg, kuiva-aineen syönti väheni hieman lypsylehmillä tehdyssä tutkimuksessa (Khan ym. 2015 review).

Maissiraaka-aineen säilöntätapa voi vaikuttaa myös syöntiin ja muihin vaikutuksiin eläimillä. Rehun säilönnällinen laatu on tärkeä tekijä. Vuohilla tehdyssä tutkimuksessa rehun altistuminen hapelle vaikutti negatiivisesti syöntiin (Brüning ym. 2018).

Lammastutkimuksessa taas maitohappobakteeripohjaiset säilöntäaineet lisäsivät syöntiä verrattuna säilöntäaineettomaan kontrollirehuun. *Lactobacillus buchneri* ja *Lactobacillus plantarum* yhdessä säilöntäaineena maissisäilörehussa lisäsivät myös lampaiden päiväkasvua ja pienensivät asetaatti-propionaattisuhdetta pötsinesteessä. Pelkkä *Lactobacillus buchneri* maissisäilörehussa ei vaikuttanut päiväkasvuun, mutta lisäsi mikrobitypen saantia (Basso ym. 2014).

3 Tutkimuksen tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää miten maissin kehitysaste ja säilöntäaine vaikuttavat siitä tehdyn säilörehun koostumukseen ja rehulaatuun. Kuiva-ainepitoisuuden ajateltiin muuttuvan kehitysasteen mukaan ja sen uskottiin vaikuttavan säilyvyyteen.

Hypoteesit:

1. Säilöntäaineet vaikuttavat positiivisesti rehun säilyvyyteen ja aerobiseen stabilisuuteen siilon avaamisen jälkeen verrattuna säilöntäaineettomaan rehuun (painorehu).
2. Erytyypiset säilöntäaineet vaikuttavat eri tavoin rehun käymishappojen määrään, valkuaisen hajoamiseen ja aerobiseen stabiilisuuteen
3. Säilöntäaineiden suhteellinen tehokkuus vaihtelee eri kehitysvaiheissa.

4 Aineisto ja menetelmät

Kenttäkoe toteutettiin kasvukaudella 2017 Viikin opetus- ja tutkimustilan pellolla. Säilöntään käytettiin kasvustoa, joka oli osa laajempaa tutkimusta. Mukana oli kaksi lajiketta, Ambient (Nordic Maize Breeding, The Netherlands) sekä P7326 (Pioneer), joka kylvettiin sekä biohajoavaan katteeseen (Samco, Adare, Irlanti) että ilman. Yhteensä tutkimuskasvustossa oli siis kolme erillistä maissialaa. Jokaiselle alalle kylvettiin neljää korjuukertaa varten kolme 16 metrin riviä eli yhteensä 12 riviä per ala. Riviväli oli 0,75 m ja kasvien väli oli 0,15 m. Säilörehututkimukseen käytettiin maissilajiketta P7326 (Pioneer), joka kylvettiin katteeseen 11.5.2017.

Maa lannoitettiin 10.5.2017 käyttämällä N 100 kg/ha, P 16,5 kg/ha, K 120 kg/ha, Mg 18,24 kg/ha, S 51,68 kg/ha. Lannoitteina käytettiin 50 kg/ha NPK (20-3-8) (Kevätviljan hiven Y, Kemira Growhow, Suomi) ja 304 kg/ha K-Mg-S (30-10-42) (Patenttikali, K+S Kali GmbH, Saksa). Kasvinsuojeluun käytettiin kylvön yhteydessä katteen alle rikkakasvintorjuntaan pendimetaaliinia vahvuudelta 400 g/l suhteessa 1,2 l/ha (Stomp, BASF). Ennen sadonkorjuuta rivien välistä niitettiin rikkaruohot siimaleikkurilla.

Tässä tutkielmassa tarkastellaan kahdessa eri kehitysasteessa korjatusta maisseista valmistetun säilörehun ja niiden raaka-aineen ominaisuuksia. Maissin korjuukerrat olivat 6.9.2017 (koe 1) ja 1.11.2017 (koe 2). Säilöntää varten yhdistettiin molemmilla korjuukerroilla kolmen 15 metrin rivin rehuerät, jotka korjattiin yksirivisellä maissisilppurilla (JF) ja vietiin säilöttäväksi välittömästi.

4.1 Koerehujen valmistus

Koerehujen raaka-aineet kuljetettiin välittömästi korjuun jälkeen Kotieläintieteen laboratorioon. Rehusta otettiin raaka-ainenäyte ja 20 rehuerää säilöntää varten. Säilöttävä määrä päätettiin korjuukertakohtaisesti yhden siilon koetäytön perusteella. Jokaiseen 20 siiloon punnittiin sama määrä rehua. Kokeessa käytettiin lasisia 1,5 litran laboratoriosiiloja (Weck®, Wher-Oflingen, Saksa). Kutakin käsittelyä tehtiin neljä rinnakkaissiiloa eli 20 siiloa yhteensä per korjuukerta.

Eri kasvuasteilla korjatuille maisseille käytettiin osittain eri säilöntäaineita.

Käytetyt säilöntäainekäsittelyt olivat kasvuasteella 1: Ei säilöntäainetta (PR), Biologinen (Biol), Happopohjainen (Seoshappo), Muurahaishappo 4 l/t (MH4) ja Muurahaishappo 6 l/t (MH6). Kasvuasteella 2 käsittelyt olivat: Ei säilöntäainetta (PR), Biologinen (Biol), Happopohjainen (Seos), Na-nitriittipitoinen (NaHe) ja Bentsoaatti-sorbaatti (BeSo). Säilöntäainekäsittelyiden yksityiskohdat on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Tutkimuksessa käytetyt säilöntäaineet

Käsittely/ kauppanimi	Koodi	Annostus	Koostumus
Kasvuaste 1			
Painorehu	PR	-	-
Kofasil Duo ¹	Biol	100 000 pmy/g	<i>Lactobacillus buchneri</i> DSM 13573, <i>L. plantarum</i> DSM 3676 ja 3677
Grass AAT SX ¹	Seos- happo	5 l/t	Muurahaishappo 37 %, natriumformiaatti 22 %, propionihappo 18 %, sorbiinihappo 1 %
Muurahaishappo	MH4	4 l/t	Muurahaishappo 100%
Muurahaishappo	MH6	6 l/t	Muurahaishappo 100%
Kasvuaste 2			
Painorehu	PR	-	-
Kofasil Duo ¹	Biol	100 000 pmy/g	<i>Lactobacillus buchneri</i> DSM 13573, <i>L. plantarum</i> DSM 3676 ja 3677
Grass AAT SX ¹	Seos- happo	5 l/t	Muurahaishappo 37 %, natriumformiaatti 22 %, propionihappo 18 %, sorbiinihappo 1 %
Kofasil LP ¹	NaHe	3,5 l/t	Natriumnitriitti 19 %, heksamiini 14 %, natriumbentsoaatti 5 %
Kofasil Maize ¹	BeSo	2,5 l/t	Natriumbentsoaatti 21,9 %, kaliumsorbaatti 13,2 %

1) Säilöntäaineiden valmistaja Addcon, Saksa

Jokaisen liuksen annostelumäärä rehuerään laskettiin koetäytetyn siilon rehumäärän perusteella. Annostelu tehtiin pipetillä mahdollisimman tasaisesti useassa erässä niin että rehua sekoitettiin huolellisesti lisäysten välissä. Rehut purkitettiin silloihin huolellisesti ja suljettiin tiiviisti ja varastoitiin huoneen lämpötilassa pimeässä.

4.2 Näytteiden otto ja analysointi

Säilörehun raaka-ainenäytteistä analysoitiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, tuhka, tärkkelys, vesiliukoiset hiilihydraatit (sokerit), raakavalkuainen ja liukoinen typpi, puskurikapasiteetti sekä in vitro –sulavuus, jonka avulla laskettiin D-arvo eli sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineessa.

Säilörehusiilot avattiin 132 päivän kuluttua säilömisestä ja niistä analysoitiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, pH, raakavalkuainen, ammoniakkityppi, vesiliukoiset hiilihydraatit, maitohappo ja haihtuvat rasvahapot (VFA). Edellämainitut, poislukien kuiva-aineet, analysoitiin tuoreesta näytteestä.

Analyysinäytteet kuivattiin tuulettavassa lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa), ensin 103 °C:ssa tunnin ajan, jonka jälkeen 50 °C:ssa kaksi vuorokautta. Kuivatut analyysinäytteet jauhettiin 1mm seulan läpi vasaramyllyllä (sakomylly KT-3100, Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi).

Primääristä kuiva-ainetta varten näytteet kuivattiin lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103 °C:ssa 24 tuntia. Säilörehun kuiva-ainekorjaukseen käytettiin Huidan ym. (1986) kaavaa. Sekundäärinen kuiva-aine määritettiin kuivasta analyysinäytteestä, jota kuivattiin lämpökaapissa 103 °C:ssa 17 h. Sen jälkeen samasta näytteestä analysoitiin tuhka muhveliuunipoltolla (Heraeus Thermicon T, Heraeus, Hanau, Saksa) pitämällä näytettä 600 °C:ssa 24 h.

Raakavalkuainen ja vesiliukoinen typpi analysoitiin näytteistä Kjeldahl-menetelmällä (AOAC 1995) Tecator-polttolaitteella (Tecator Digestion Auto ja Tecator Scubber) sekä käyttäen tislauk- ja titrauslaitteistoa (FOSS Kjeltex Auto 2300, Foss, Hillerød, Tanska). Säilörehun ammoniakkityppi määritettiin kolorimetrisellä menetelmällä McCulloughin (1967) mukaan spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa).

Vesiliukoiset hiilihydraatit (sokerit) (Somogyi 1945, Salo 1965) ja tärkkelys (Salo ja Salmi 1968) analysoitiin kolorimetrisellä menetelmällä spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa). Samalla laitteella mitattiin myös maitohappo (Barker ja Summerson 1941).

Neutraalidetergenttikuitu (NDF) analysoitiin Van Soest'in ym. (1991) menetelmällä käyttäen kuuma- ja kylmäuuttolaitetta (Tecator Fibertec System 1020/1021, Foss, Hillerød, Tanska). Raaka-aineiden orgaanisen aineen *in vitro* -sulavuus määritettiin pepsiini-sellulaasi-menetelmällä (Friedel 1990) käyttäen Nousiainen ym. (2003) muunnelmaa. D-arvo saatiin laskemalla sellulaasiliukoisuuden perusteella sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineessa. *In vivo* -sulavuudeksi muutettaessa käytettiin Huhtasen ym. (2006) korjausyhtälöä (yleiskaava). Raaka-aineiden puskurikapasiteetti määritettiin Weissbachin (1992) menetelmällä. pH:n mittaamiseen käytettiin pH-mittaria (SevenCompact™ S220, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia). Säilörehuista määritettiin VFA nestekromatografilla (Waters Acquity UPLC, Waters, Milford, MA,

Yhdysvallat), kolonni (186004097, Waters MassTrak AAA, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat) Puhakan ym. (2016) kuvaamalla tavalla.

4.3 Aerobisen stabilisuuden määrittäminen

Aerobinen stabilisuus eli säilörehujen lämpenemisherkkyys määritettiin seuraamalla rehun lämpötilassa tapahtuvia muutoksia siilon avaamisen jälkeen, kun rehu joutui kosketuksiin ilman kanssa. Siilojen avaamisen yhteydessä aerobisen stabiilisuuden mittaamista varten otettu näyte laitettiin muovipussiin ja rehumassan sisälle asetettiin lämpötila-anturillinen dataloggeri (MicroLite), joka rekisteröi rehussa tapahtuvia lämpötilan muutoksia. Pussi laitettiin styroksiseen laatikkoon, joka sijoitettiin vedottomaan tasaiseen noin +20 °C lämpötilaan. Pussia ei suljettu ja ilma pääsi rehuun laatikon kannessa olevan aukon kautta.

Lämpötilaa seurattiin 10 vuorokautta, jonka aikana dataloggeri tallensi lämpötilan automaattisesti 5 minuutin välein. Styroksilaatikoiden ulkopuolelle oli sijoitettu myös dataloggeri, jotta varmistuttiin ympäristön tasaisesta lämpötilasta. Aerobisen stabiilisuuden katsottiin loppuneen, kun näytteen lämpötila nousi 2 astetta huoneen lämpötilaa korkeammaksi. Mikäli näin ei tapahtunut mittausjakson aikana, tulosten laskennassa käytettiin stabiilisuusaikana 10 vuorokautta.

4.4 Tulosten lasku ja analysointi

Tutkielmassa verrattiin kahdesta eri kehitysvaiheesta eri tavalla säilöttyjen rehujen säilönnällistä laatua ja aerobista stabilisuutta. Kehitysasteita ei verrattu toisiinsa. Tulokset testattiin varianssianalyysillä käyttäen SAS-ohjelmistoa (SAS 9.3, Institute Inc., Cary, NC) erikseen kahden kehitysasteen rehuille.

Tilastollinen malli oli $Y = \mu_i + \alpha_j + e_{ijk}$, jossa Y on havainto, μ on yleiskeskisarvo, α on säilöntäainekäsittelyn vaikutus ja e virhetermi. Säilöntäainekäsittelyn neliösumma jaettiin ortogonaalisiin kontrasteihin seuraavasti:

Kasvuaste 1

- 1) Painorehun ja säilöntäainekäsiteltyjen rehujen ero, PR vs. säilöntäaineet
- 2) Biologisen ja muiden säilöntäainekäsittelyjen ero, Biol vs. hapot
- 3) Seoshapon ja muurahaishappojen ero, Seoshappo vs MH
- 4) Muurahaishapon annostustasojen ero, MH4 vs MH6

Kasvuaste 2

- 1) Painorehun ja säilöntäainekäsiteltyjen rehujen ero, PR vs. säilöntäaineet
- 2) Biologisen ja muiden säilöntäainekäsittelyjen ero, Biol vs. kemialliset
- 3) Seoshapon ero verrattuna NaHe:en ja BeSo:on, Happo vs. muut kemialliset
- 4) NaHe vs BeSo

Kaikki tutkitut muuttujat eivät olleet normaalisti jakautuneita, jonka vuoksi ne testattiin logaritmimuunnettuna. Jos myöskään muunnettu aineisto ei ollut normaalijakautunut, käytettiin ei-parametristä testiä (Kruskal-Wallis yksisuuntainen varianssianalyysi) SPSS-ohjelmistolla (SPSS, versio 21, IBM, Armonk, USA). Käsittelyiden väliset erot testattiin sen jälkeen SPSS:llä parittaisella keskiarvotestillä (Dunn-Bonferroni).

5 Tulokset

5.1 Raaka-aineen koostumus

Aikaisen korjuupäivän raaka-aineen kuiva-ainepitoisuus oli pienempi kuin myöhäisen korjuupäivän. Tuhkan, raakavalkuaisen ja liukoisen typen pitoisuuksissa ei ollut suurta eroa korjuukertojen välillä (Taulukko 5).

Taulukko 5. Maissin koostumus korjuupäivänä aikaisessa ja myöhäisessä kehitysvaiheessa ennen säilöntää (g/kg kuiva-ainetta, ellei muuta mainittu).

	Aikainen	Myöhäinen
Korjuupäivä	6.9.2017	1.11.2017
Kuiva-aine, g/kg	193	284
Tuhka	52,4	41,3
Raakavalkuainen	80,0	80,1
Sokeri	374	143
Tärkkelys	7	159
NDF	542	526
Liukoinen N, g/kg N	438	427
D-arvo g/kg ka	685	704
Puskurikapasiteetti, mekv/kg ka	342	262

Aikaisen korjuupäivän raaka-aineessa oli sokeria 231 g/kg enemmän kuin myöhäisen korjuupäivän raaka-aineessa. Toisaalta tärkkelystä oli myöhäisen korjuun raaka-aineessa 152 g/kg ka enemmän kuin aikaisen korjuun raaka-aineessa. Neutraalidetergenttikuidun ja liukoisen typen määrät olivat hieman korkeammat ensimmäisessä korjuussa verrattaessa toiseen. D-arvo oli suurempi ja puskurikapasiteetti pienempi myöhemmin korjatussa raaka-aineessa verrattuna aikaiseen korjuuseen.

5.2 Säilörehun käymislaatu

5.2.1 Aikainen korjuu (koe 1)

Taulukossa 6 on esitetty eri säilöntäainekäsiteltyjen rehujen kemiallinen koostumus ja tilastolliset merkitsevyydet eri kontrasteilla (koe 1). Painorehun pH oli matalampi kuin säilöntäaineella käsiteltyjen säilörehujen pH:n keskiarvo ($p=0,028$). Vesiliukoisia hiilihydraatteja oli painorehussa vähemmän ($p<0,001$) kuin säilöntäaineella käsitellyissä rehuissa keskimäärin. Maitohappoa, etikkahappoa ja happoja yhteensä sekä ammoniumtyyppiä oli enemmän painorehussa kuin säilöntäaineellisissa rehuissa keskimäärin ($p <0,001$). Myös tuorepainosta ilmaistuna maitohapon ja etikkahapon pitoisuudet painorehussa olivat suuremmat ($p<0,001$) kuin säilöntäaineellisten säilörehujen keskiarvo.

Biologisen säilöntäaineen ja muiden säilöntäaineiden välillä ei ollut merkitsevää eroa vaikutuksessa rehun pH-arvoon. Vesiliukoisia hiilihydraatteja oli vähemmän biologisella säilöntäaineella säilötyssä rehussa kuin muilla säilöntäaineilla käsitellyissä rehuissa ($p < 0,001$). Maitohappoa, etikkahappoa ja happoja yhteensä sekä ammoniumtyyppiä oli enemmän biologisesti säilötyssä rehussa kuin muilla säilöntäaineellisilla rehuilla keskimäärin ($p < 0,001$). Myös maitohapon ja etikkahapon pitoisuudet tuorepainosta ilmaistuna olivat merkitsevästi suuremmat ($p < 0,001$).

Seoshappokäsitellyn säilörehun pH oli korkeampi ($p = 0,002$) kuin muurahaishappokäsitelyjen säilörehujen keskiarvo. Vesiliukoisia hiilihydraatteja oli vähemmän seoshapolla säilötyssä rehussa kuin muurahaishapolla käsitellyissä rehuissa ($p < 0,001$). Maitohappoa ja happoja yhteensä oli enemmän seoshapolla säilötyssä rehussa kuin muurahaishapolla säilötyillä rehuilla keskimäärin ($p < 0,001$). Maitohapon pitoisuus ilmaistuna tuoreesta rehusta oli suurempi ($p < 0,001$).

pH:ssa oli suuntaa-antava ero ($p = 0,071$) muurahaishappokäsitelyjen rehujen välillä niin, että pienemmällä muurahaishapon määrällä (MH4) käsitellyssä rehussa oli korkeampi pH. Propionihappoa oli vain Seoshappo-rehussa pitoisuuden ollessa keskimäärin 6,4 g/ka, jonka vastaa säilöntäaineessa lisättyä propionihapon määrää. Muita haihtuvia rasvahappoja ei todettu rehuissa.

Taulukko 6. Säilöntäaineen vaikutus maissisäilörehun käymislaatuun (g/kg kuiva-ainetta, jos muuta ei mainittu) ja aerobiseen stabiilisuuteen (koe 1, kehitysaste 1).

	Säilöntäainekäsittely					SEM	Tilastollinen merkitsevyys, P-arvot			
	PR	Biol	Seos- happo	MH4	MH6		PR vs säilöntä- aineet	Biol vs hapot	Seoshappo vs MH	MH4 vs MH6
Kuiva-aine, g/kg	191	190	192	192	196	0,3	0,587	0,214	0,383	0,318
pH	3,59	3,70	3,80	3,68	3,58	0,041	0,028	0,757	0,002	0,071
Vesiliukoiset hiilihydraatit	17	10	318	368	367	10,2	<0,001	<0,001	0,001	0,969
Maitohappo, log	2,39	2,30	1,88	-0,35	-0,42	0,074	<0,001	<0,001	<0,001	0,464
Maitohappo, alkuperäinen	245	200	81,1	0,5	0,4					
Etikkahappo	42,5	60,9	6,5	2,8	2,6	2,61	<0,001	<0,001	0,209	0,962
Hapot yhteensä	288	262	94,0	3,3	2,8	12,6	<0,001	<0,001	<0,001	0,973
Ammonium-N, g/kg N	80,9	85,5	32,0	23,6	23,8	4,17	<0,001	<0,001	0,092	0,973
Pitoisuudet tuoreesta, g/kg										
Maitohappo, log	1,68	1,55	1,15	-1,07	-1,13	0,073	<0,001	<0,001	<0,001	0,554
Maitohappo, alkuper.	46,75	38,08	15,45	0,10	0,10					
Etikkahappo	8,12	11,59	1,24	0,54	0,52	0,552	<0,001	<0,001	0,256	0,977
Aerobinen stabiilisuus, h ¹⁾	144	>240	213	>240	>240	28,8				

¹⁾ Kruskal-Wallis ei-parametrinen testi, parivertailussa vain lähes suuntaa-antavia eroja PR vs Biol P=0,11; PR vs MH6 P=0,11

PR = painorehu, Biol = biologinen säilöntäaine, Seoshappo = muurahaishapon, natrium-formiaatin, propionihapon ja sorbiinihapon seos, MH4 ja MH6 = muurahaishappo 4 tai 6 l/t

5.2.2 Myöhäinen korjuu (koe 2)

Taulukossa 7 on esitetty eri säilöntäainekäsiteltyjen rehujen kemiallinen koostumus ja tilastolliset merkitsevyydet eri kontrasteilla (koe 2). Kuiva-aineen pitoisuudessa ei ollut merkitsevää eroa ($p=0,917$) säilöntäainekäsiteltyjen rehujen ja painorehun välillä. pH oli merkitsevästi ($p<0,001$) matalampi painorehussa kuin säilöntäaineellisissa säilörehuissa. Painorehussa oli maitohappoa enemmän ($p=0,033$) ja etikkahappoa vähemmän ($p<0,001$) kuin säilöntäainekäsitellyissä rehuissa keskimäärin. Kuitenkaan happojen kokonaismäärässä ei ollut merkitsevää eroa ($p=0,432$). Korjatun ammoniumtyypen määrä painorehussa oli suurempi ($p<0,001$) kuin säilöntäainekäsiteltyjen rehujen keskiarvo. Myös tuoreesta säilörehusta ilmaistuna maitohapossa ja etikkahapossa oli merkitsevä ero. Maitohappoa oli enemmän painorehussa ($p=0,049$) ja etikkahappoa vähemmän ($p<0,001$) kuin säilöntäaineellisissa rehuissa keskimäärin.

Biologisten ja kemiallisten säilöntäaineiden ero oli merkitsevä suurimmassa osassa tutkittavia arvoja. Kuiva-aineen määrä oli matalampi ($p=0,003$), pH oli korkeampi ($p<0,001$), maitohappoa oli vähemmän ($p=0,001$) ja etikkahappoa enemmän ($p<0,001$) biologisella säilöntäaineella käsitellyllä säilörehulla kuin kemiallisesti käsitellyillä säilörehuilla. Happojen kokonaismäärässä ei ollut merkitsevää eroa ($p=0,818$) biologisesti ja kemiallisesti säilöttyjen rehujen välillä.

Sekä ammoniumtyypeä että korjattua ammoniumtyypeä oli enemmän ($p<0,001$) biologisesti säilötyssä rehussa kuin kemiallisilla säilöntäaineilla säilötyssä rehussa. Tuorepainosta ilmaistuna näytteissä maitohappoa oli vähemmän ($p=0,000$) ja etikkahapon määrä oli suurempi ($p<0,001$) kuin kemiallisten säilörehujen keskiarvo.

Seoshappoa käytettäessä rehun kuiva-ainemäärä ja pH olivat matalampia ($p=0,005$ ja $p=0,004$) kuin käytettäessä muita kemiallisia säilöntäaineita. Maito- ja etikkahappoa sekä happoja yhteensä oli myös vähemmän ($p<0,01$). Tuorepainosta ilmaistuna maitohappoa ($p=0,005$) ja etikkahappoa ($p=0,000$) oli vähemmän kuin muiden kemiallisten säilörehujen keskiarvossa.

NaHe- ja BeSo-käsiteltyjen säilörehujen kuiva-aineissa ei ollut merkitsevää eroa ($p=0,324$). NaHe-rehun pH oli ($p<0,001$) korkeampi kuin BeSo-rehun ja maito- ja etikkahappoa sekä happoja yhteensä oli NaHe-rehussa vähemmän ($p<0,01$). NaHe-rehussa oli ammoniumtyyppiä enemmän ($p=0,020$), mutta korjattua ammoniumtyyppiä ei ollenkaan ($p<0,001$). Tuoreesta säilörehusta ilmoitettuna NaHe-rehussa oli maitohappoa ($p=0,008$) ja etikkahappoa ($p<0,001$) vähemmän kuin BeSo-säilörehussa.

Parivertailuna tehdyssä testissä todettiin, että biologisesti säilötyssä säilörehussa oli vähemmän ($p<0,05$) vesiliukoisia hiilihydraatteja kuin seoshapolla tai NaHe-käsitellyssä säilörehussa. NaHe-käsitellyssä säilörehussa oli suuntaa-antavasti enemmän ($p<0,10$) vesiliukoisia hiilihydraatteja kuin BeSo-käsitellyssä.

Propionihapon määrässä merkitsevä ero ($p<0,05$) oli painorehun ja seoshapolla käsitellyn rehun välillä niin, että seoshapolla käsitellyssä rehussa oli enemmän propionihappoa. Korjatussa propionihapon määrässä ei kuitenkaan ollut eroa näiden välillä. Biologisesti säilötyn ja seoshapolla säilötyn rehun välillä oli suuntaa-antava ($p<0,10$) tulos, joka indikoi, että seoshapporehussa olisi enemmän propionihappoa kuin biologisesti säilötyssä rehussa. Korjatuissa arvoissa eroa ei kuitenkaan ollut edellä mainittujen välillä. BeSo-säilötyssä säilörehussa oli enemmän ($p<0,001$) korjattua ammoniumtyyppiä kuin NaHe-käsitellyssä säilörehussa, jossa sitä ei ollut ollenkaan.

Taulukko 7. Säilöntäaineen vaikutus maissisäilörehun käymislaatuun (g/kg kuiva-ainetta) ja aerobiseen stabiilisuuteen (koe 2, kehitysaste 2).

	Säilöntäainekäsittely					SEM	Tilastollinen merkitsevyys, P-arvot			
	PR	Biol	Seos- happo	NaHe	BeSo		PR vs säilöntä- aineet	Biol vs kemialliset	Happo vs muut kemialliset	NaHe vs BeSo
Kuiva-aine, g/kg	270	258	263	275	280	0,4	0,917	0,003	0,005	0,324
pH	3,72	4,23	3,86	4,28	3,81	0,043	<0,001	0,000	0,004	<0,001
Vesiliukoiset hiilihydraatit ²	13,7	1,6	93,7	133,4	6,5	7,17	Biol vs Seos; Biol vs NaHe P<0,05, NaHe vs BeSo P<0,10			
Maitohappo	80,9	24,0	46,3	62,0	99,1	8,78	0,033	0,001	0,006	0,009
Etikkahappo	11,8	58,2	7,8	8,7	26,6	2,05	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
Propionihappo ²	0,00	0,12	3,19	0,52	0,33	0,184	PR vs Seos P<0,05; Biol vs Seos P<0,10			
Korjattu propionihappo ¹²	0,00	0,12	0,00	0,52	0,33	0,072	PR vs NaHe ja Seos vs NaHe P<0,05			
Hapot yhteensä	92,7	82,3	57,3	71,3	126,1	9,41	0,432	0,818	0,003	0,001
Ammonium-N, g/kg N	72,5	113,6	45,7	76,4	68,1	2,27	0,190	<0,001	<0,001	0,020
Korj. ammonium-N, g/kg N ¹	72,5	113,6	45,7	0,0	68,1	2,23	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
Pitoisuudet tuoreesta, g/kg										
Maitohappo	21,8	6,2	12,4	17,1	27,9	2,49	0,049	0,000	0,005	0,008
Etikkahappo	3,2	15,0	2,1	2,4	7,4	0,52	<0,001	<0,001	0,000	<0,001
Aerobinen stabiilisuus, h ²	155	>240	201	>240	>240	17,7	Pr vs Biol, PR vs NaHe ja Pr vs BeSo P<0,05			

1) Määritetystä pitoisuudesta on vähennetty rehuun Seoshappo-säilöntäaineen mukana lisätty propionihappo ja NaHe-säilöntäaineen mukana lisätty typpi.

2) Muita haihtuvia rasvahappoja ei todettu rehuissa.

3) Kruskal-Wallis ei-parametrinen testi

PR = painorehu, Biol = biologinen säilöntäaine, Seoshappo = muurahaishapon, natrium-formiaatin, propionihapon ja sorbiinihapon seos;

NaHe = natriumnitriitin, heksamiinin ja natriumbentsoaatin seos; BeSo = natriumbentsoaatin ja kaliumsorbaatin seos

5.2.3 Aerobinen stabilisuus

Aerobinen stabilisuus oli hyvä kaikissa säilörehuissa. Ensimmäisen korjuun testeissä ei saatu merkitseviä eroja eri käsittelyjen välille aerobisessa stabilisuudessa.

Toisessa korjuussa painorehun ja kaikkien muiden käsittelyiden, paitsi seoshapon, välillä oli merkitsevä ero niin, että painorehun aerobinen stabiilisuus oli heikompi verrattuna biologiseen säilöntäaineeseen, NaHe:een ja BeSo:oon.

6 Tulosten tarkastelu

Tässä tutkimuksessa ensimmäinen korjuu oli 118 päivän ja toinen 174 päivän jälkeen kylvöstä. Kun suomalaisissa tutkimuksissa maissien kasvukausi on ollut vähintään 120 päivää (Seleiman ym. 2017), niin ulkomaisissa se on ollut esimerkiksi vain 78-117 päivää Turkissa (Filya 2004) tai 132-174 Irlannissa (Lynch ym. 2012). Kummassakin edellä mainitussa tutkimuksessa vertailtiin nimenomaan aikaisen ja myöhäisen korjuun vaikutusta maissin rehuominaisuuksiin. Kasvukauden pituus ja sääolosuhteet ovat Suomessa huomattavan vaihtelevat verrattuna maihin, joissa yleensä kasvatetaan maissia. Lisäksi Suomessa saatetaan joutua sadonkorjuuseen aiemmin kuin olisi sadonkehitysvaiheen kannalta optimaalista tai lykkäämään sadonkorjuuta optimin yli sääolosuhteiden takia, joten tämän tutkimuksen koeasetelma vastasi todellisuutta ääritilanteissa.

6.1 Raaka-aineiden koostumus

Ensimmäisen korjuun raaka-aineen kuiva-ainepitoisuus oli 193 g/kg, joka on kirjallisuuteen verrattuna pieni. Lynchin ym. (2012) tutkimuksessa osalla maissilajikkeista aikaisimman korjuun kuiva-ainepitoisuudet olivat samalla tasolla. Toisen korjuun kuiva-ainepitoisuus oli 284 g/kg, joka asettuu suomalaisesta kirjallisuudesta löytyvien arvojen väliin. Irlannissa tehdyn tutkimuksen myöhäisimmässä korjuussa oli maissilajikkeita, joiden kuiva-ainepitoisuus oli lähellä tätä jälkimmäisen

korjuun arvoa myös (Lynch ym. 2012). Jo Liettuassa kasvatetussa maississa kuiva-ainepitoisuus on yli 300 g/kg (Jatkauskas ym. 2018), joten pohjoisempi sijainti vaikuttaa selkeästi maissin kuiva-ainepitoisuuteen ja sen vaihteluun.

Khan ym. (2015) luokittelivat maissiraaka-aineet kuiva-ainepitoisuuden perusteella luokkiin. Ensimmäisen kokeen kuiva-ainepitoisuus oli pienempi kuin pienin arvo ”hyvin märkä”-kategoriassa (kuiva-aine alle 250 g/kg) ja toisen kokeen kuiva-ainepitoisuus vastasi ”märkä”-kategoriaa (kuiva-aine 250-300 g/kg). Suomessa kasvatetun maissin kuiva-ainepitoisuus jää pienemmäksi kuin maissa, joissa maissia kasvatetaan ja tutkitaan yleensä.

Ensimmäisen korjuun aikaan maissiraaka-aine oli vielä hyvin kehittymätöntä, koska kirjallisuudesta ei löydy yhtä pientä kuiva-aine- tai tärkkelyspitoisuutta tai yhtä suurta vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuutta (McDonald ym. 1991, Allen ym. 2003, Lynch ym. 2012, Khan 2015, Seleiman ym. 2017). Khanin ym. (2015) yhteenvedossa todetaan, että keskimääräinen kuiva-aineen sulavuus laskee, kun kuiva-ainepitoisuus nousee yli 350 g/kg eli huomattavasti korkeammilla kuiva-ainepitoisuuksilla kuin tässä tutkimuksessa mitattiin.

Seleimanin ym. (2017) 3-vuotisessa tutkimuksessa 120 päivää kylvöstä korjattujen maissien kuiva-ainepitoisuus vaihteli eri vuosina noin 240-300 g/kg. Myös 150 päivän jälkeen korjattujen maissiraaka-aineiden kuiva-ainepitoisuus vaihteli 230-310 g/kg vuodesta riippuen. Kuiva-ainepitoisuuden vaihtelu johtuu todennäköisesti sääolosuhteista. Kesän lämpökertymä saattaa vaihdella sekä korjuupäivän olosuhteet. Ilmatieteen laitoksen mukaan vuonna 2017 terminen kesä alkoi myöhemmin kuin Seleimanin (2017) tutkimusvuosina, joka selittää ensimmäisen korjuun pienen kuiva-ainepitoisuuden verrattuna Seleimanin ym. (2017) 120 päivän arvoihin.

Tässä tutkimuksessa maissista otettiin näytteet myös kokeiden 1 ja 2 välissä. Huomattavaa oli, että kuiva-ainepitoisuus ei kasvanut merkittävästi. Kuiva-ainepitoisuus oli 20. syyskuuta ja 12. lokakuuta otetuissa näytteissä vain noin 200g/kg. Ennen myöhäisempää korjuuta (koe 2) ehti sataa lunta. Kuitenkin jälkimmäisen korjuun raaka-aineen D-arvo ja kuiva-ainepitoisuus olivat korkeammat kuin ensimmäisessä korjuussa.

Tulos on linjassa Allenin ym. (2003) toteamuksen kanssa, jonka mukaan maissi saavuttaa parhaan satoisuuden ja laadun samaan aikaan.

Khanin ym. (2015 review) mukaan maissin paras laatu säilörehun tekemiseen on kuiva-ainepitoisuuden ollessa 300-350g/kg, joten ainakaan vuonna 2017 kasvukauden pituus tai lämpökertymä ei riittänyt niin korkean kuiva-ainepitoisuuden kasvattamiseen tässä kokeessa. Suomen oloissa olisi hyvä tutkia miten kostea syksy ja jopa lumisade vaikuttavat maissin laatuun. Tässä tutkimuksessa lumisade ei näyttäisi vaikuttaneen rehun laatuun negatiivisesti, mutta näissä kokeissa ei tutkittu raaka-aineista mikrobeja, hiivoja tai homeita. Tosin, jos niitä oli, niin ainakin säilöntäaineet estivät suurimmaksi osaksi niitä kasvamasta säilönnän aikana eli pieni lumisade ei estä hyvälaatuisen säilörehun tekemistä maissista.

Maissin kehittyessä sen sokeripitoisuus laskee ja tärkkelyspitoisuus nousee (McDonald ym. 1991). Ensimmäisen korjuun raaka-aineessa oli enemmän sokeria ja vähemmän tärkkelystä ja toisen korjuun raaka-aineessa sokeri oli suurelta osin muuttunut tärkkelykseksi. Tässä tutkimuksessa mitatut sokeri- ja tärkkelyspitoisuudet erosivat muista tutkimustuloksista paljon. Ensimmäisen korjuun maissiraaka-aineessa oli vesiliukoisia hiilihydraatteja yli 200 g/kg ka enemmän kuin Seleimanin (2017) tutkimuksen suurin mitattu arvo. Vaikka kuiva-ainepitoisuus tässä tutkimuksessa vastasi Lynchin ym. (2012) aikaisen ja myöhäisen korjuun arvoja niin tämän tutkimuksen kummankin osakokeen sokeripitoisuus oli paljon suurempi ja tärkkelyspitoisuus pienempi kuin Lynchin ym. (2012) tutkimuksessa.

Ensimmäisen korjuun raaka-aineessa oli 100 g/kg ka pienempi määrä tärkkelystä kuin Seleimanin ym. (2017) tutkimuksessa mitattu pienin tärkkelyspitoisuus. Myös Khanin ym. (2015) yhteenvedon pieninkin tärkkelyspitoisuus oli moninkertainen ensimmäisessä kokeessa mitattuun arvoon verrattuna. Maissin lajike vaikuttaa sokeri- ja tärkkelyspitoisuuksiin ja niiden kehittymiseen huomattavasti (Lynch ym. 2012). Koska tässä tutkimuksessa vesiliukoisten hiilihydraattien ja tärkkelyksen määrä eroavat huomattavasti muista tutkimuksista, joissa käytössä on ollut muita maissilajikkeita, ainakin osa poikkeuksellisista tuloksista johtuu todennäköisesti maissin lajikkeesta.

Maissin raakavalkuaispitoisuus on yleensä alle 100 g/kg ka (McDonald ym. 1991, Khan ym. 2015). Niin myös tässä tutkimuksessa. Myöhemmin korjatun maissin (koe 2) raaka-

aineen koostumus vastasi eurooppalaisesta kirjallisuudesta löytyviä arvoja (McDonald ym. 1991, Lynch ym. 2012). Khanin ym. (2015) yhteenvedossa raakavalkuaisen pitoisuus väheni kuiva-ainepitoisuuden kasvaessa. Myös Lynchin ym. (2012) tutkimuksessa eri korjuuasteilla myöhemmin korjatuilla maisseilla oli keskimäärin suurempi kuiva-ainepitoisuus ja myös pienempi raakavalkuaispitoisuus. Tässä tutkimuksessa raakavalkuaisen pitoisuus ei muuttunut oleellisesti korjuukertojen välillä. Tämä voi johtua esimerkiksi maissilajikkeesta tai sään vaikutuksesta kasvuun. Myöskään Lynchin ym. (2012) tutkimuksessa raakavalkuaisen määrä ei muuttunut kaikilla maissilajikkeilla eri korjuuaikoina. Joka tapauksessa tässä tutkimuksessa korjuiden välillä ei tapahtunut niin mittavaa kasvua, että raakavalkuaisen suhteellinen määrä olisi laskenut.

Jälkimmäisen korjuun raaka-aineen in vitro –analyysiin perustuva D-arvo oli suurempi kuin ensimmäisessä korjuussa eli sulavuus parani maissin kehittyessä. Tosin kyseinen in vitro-menetelmä vaatii lisää kalibrointinäytteitä, jotta menetelmää saataisiin tarkennettua nimenomaan maissinäytteisiin sopivaksi. Tulosten tarkkuudesta ei siis tässä vaiheessa voi olla varma.

Maissin NDF-pitoisuus on vaihdellut jonkun verran eri tutkimuksien välillä (McDonald ym. 1991, Filya 2004, Khan 2015 review, Seleiman ym 2017). Tässä tutkimuksessa NDF-pitoisuus laski hieman toiseen korjuuseen mennessä. Seleimanin ym. (2017) 3-vuotisen tutkimuksen aineistosta voisi päätellä, että pienemmällä NDF-pitoisuudella ja suuremmalla sulavuudella olisi yhteys. Huhtanen ym. (2007) esittävät, että NDF-pitoisuudella ja syönnillä on yhteys. Kuitenkin maissinlajike vaikuttaa NDF-pitoisuuden vaihteluihin eri kehitysvaiheissa (Lynch ym. 2012). Tässä tutkimuksessa NDF-pitoisuudesta ei voi tehdä johtopäätöksiä sillä sulavuuden nousu selittyy jo pelkällä maissin kehittymisellä eli tähkän kasvulla ja siitä seuraavan tärkkelyksen osuuden lisääntymisellä korjuiden välillä.

Maissiraaka-aineen puskurikapasiteetti laski kokeen 1 ja 2 välillä. Kuten McDonald ym. (1991) totesivat, korkea kuiva-ainepitoisuus, matala puskurikapasiteetti ja tarpeeksi suuri määrä sokeria ovat hyvän raaka-aineen ominaisuuksia säilöntää varten. Tässä tutkimuksessa maissin puskurikapasiteetti oli vähän kirjallisuudesta löytyviä arvoja korkeampi (McDonald ym. 1991). Ensimmäisessä kokeessa kuiva-ainepitoisuus oli matala maissiraaka-aineeksi, mutta tarpeeksi hygieenisesti hyvälaatuisen säilörehun

tuottamiseen säilöntäaineiden kanssa. Jälkimmäisen korjuun kuiva-ainepitoisuus oli tarpeeksi korkea ja puskurikapasiteetti tarpeeksi matala, että säilörehu oli suhteellisen hyvälaatuista jopa ilman säilöntäaineita. Vesiliukoisia hiilihydraatteja oli tarpeeksi säilöntään kummassakin kokeessa.

6.2 Säilönnällinen laatu

6.2.1 Säilöntäaineiden vaikutustapa

Säilöntäaineista maitohappobakteerien (Biol) toimintamekanismi eroaa muista. Niiden tehtävä on stimuloida käymistä sekä estää aerobista pilaantumista, kun muiden säilöntäaineiden pääasiallinen tehtävä on estää käymistä, tiettyjä mikrobeja tai aerobista pilaantumista. Taulukossa 8 on esitetty kokeessa käytettyjen säilöntäaineiden eri komponenttien toimintamekanismi McDonaldin ym. (1991) ja Kungin ym. (2003) mukaan.

Taulukko 8. Säilöntäaineiden toimintatapa

Koe	Koodi	Koostumus	Säilöntäaineen toimintamekanismi *
1 ja 2	Biol	<i>Lactobacillus buchneri</i> DSM 13573, <i>L. plantarum</i> DSM 3676 ja 3677	Käymisen edistäminen sekä aerobisen pilaantumisen estäminen
1 ja 2	Seoshappo	Muurahaishappo 37 %, Natrium-formiaatti 22 % Propionihappo 18 % Sorbiinihappo 1 %	Käymisen estäminen pH:ta laskemalla, antimikrobiaalinen Käymisen estäminen Hiivojen ja homeiden kasvun sekä aerobisen hajoamisen estäminen Hiivojen ja homeiden kasvun sekä käymisen estäminen
1	MH4 ja MH 6	Muurahaishappo 100%	Käymisen estäminen pH:ta laskemalla, antimikrobiaalinen
2	NaHe	Natriumnitriitti 19 %, Heksamiini 14 %, Natriumbentsoaatti 5 %	Käymisen estäminen, antimikrobiaalinen (erityisesti klostrideja ja enterobakteereja vastaan) Antimikrobiaalinen, käymisen estäminen Hiivojen ja homeiden kasvun estäminen, antimikrobiaalinen
2	BeSo	Natriumbentsoaatti 21,9 % Kaliumsorbaatti 13,2 %	Hiivojen ja homeiden kasvun estäminen, antimikrobiaalinen Homeiden kasvun estäminen

*McDonald ym. 1991, Kung ym. 2003

Ensimmäisessä kokeessa biologisella säilöntäaineella käsitellyssä rehussa oli vähemmän vesiliukoisia hiilihydraatteja kuin muilla säilöntäainekäsittelyillä tehdyissä rehuissa. Kokeessa 2 Biol-rehussa oli vesiliukoisia hiilihydraatteja vain vähän jäljellä verrattuna NaHe-rehuun. Vesiliukoisten hiilihydraattien määrä laskee nopeasti käymisprosessissa mikrobien käyttäessä niitä ravintona. Kummassakin kokeessa maitohappobakteereilla säilytyksessä rehussa oli myös enemmän ammoniumtyyppiä kuin muilla säilöntäaineilla käsitellyissä rehuissa. Tämä viittaa siihen, että Biol-rehussa maitohappobakteerit ovat käyttäneet sokerit ravinnokseen ja muodostaneet maito- ja etikkahappoa. *L. buchneri* ja *L. plantarum* yhdessä lisäävät maitohapon sekä etikkahapon määrää rehussa (Basso ym. 2014).

Etikkahapon määrä tässä kokeessa selittyy heterofermentatiivisen *L. buchnerin* käymisessä muodostamasta etikkahaposta (Kung ym. 2003). Myös Seppälä ym. (2016) havaitsivat, että heterofermentatiivisen maitohappobakteerin käyttö *L. plantarumin* kanssa yhdessä säilöntäaineena lisäsi rehun etikkahappopitoisuutta verrattuna pelkällä

homofermentatiivisella maitohappobakteerilla säilöttyyn rehuun. Myös *L. buchneri* yhdessä toisen heterofermentatiivisen maitohappobakteerin kanssa on lisännyt etikkahapon ja myös maitohapon määrää ja vähentänyt ammoniumtypen määrää (Jatkaukas ym. 2018). Etikkahappoa muodostui kuitenkin runsaasti kirjallisuudesta löytyviin arvoihin nähden (Queiroz ym. 2013, Tabacco ym. 2011), joka voi johtua raaka-aineen erilaisesta koostumuksesta. Koska *L. plantarum* on fakultatiivisesti heterofermentatiivinen (Pahlow ym. 2003), voi olla että se on raaka-aineesta tai olosuhteista johtuen käynyt eri tavalla kuin muissa tutkimuksissa. Tämä johtuu todennäköisesti kosteammasta rehusta kuin maissitutkimuksissa on yleensä käytetty.

Kokeessa 2 Biol-rehun maitohappopitoisuus oli pienempi kuin muilla säilöntäaineilla käsitellyillä rehuilla. Tähän todennäköinen selitys on että *L. buchneri* pystyy anaerobisesti käyttämään maitohapon etikkahapoksi, etanoliksi sekä 1,2 propanidioliksi (Kung ym. 2003). Tätä tukee myös tutkimus, jonka mukaan *L. buchnerin* käyttö yksin säilöntäaineena lisää kostean (kuiva-ainepitoisuus 270 g/kg) maissisäilörehun etikkahappopitoisuutta ja vähentää maitohappopitoisuutta (Rabelo ym. 2014).

Seoshapon eri happojen toimintamekanismit perustuvat erilaisten mikrobien ja käymisen estämiseen. Ensimmäisessä korjuussa seoshappo ei vähentänyt käymistä yhtä paljon kuin muurahaishappo. Maitohapon määrä oli pienempi kuin painorehussa, joten seoshappo rajoitti kuitenkin maitohappokäymistä. Myös Seppälä ym. (2016) havaitsivat vastaavan seoshapon (muurahaishappo, natriumformaatti, propionihappo, bentsoehappo, glyseroli) vähentävän käymistä kosteassa rehussa. Siinä kuitenkin vain etikkahapon pitoisuus oli merkittävästi pienempi kuin painorehussa, joka voi johtua säilörehun raaka-aineen, timotei-nurminata, korkeasta puskurikapasiteetista. Seppälän ym. (2016) tutkimuksessa seoshappo ei riittänyt estämään mikrobiaktiivisuutta vähäisen sokeripitoisuuden perusteella. Tässä tutkimuksessa vesiliukoisten hiilihydraattien määrä oli kuitenkin korkea säilöamisen jälkeen. Ensimmäisen korjuun kontrasteissa seoshappoa ei valitettavasti verrattu painorehuun, mutta numeerisesti ero oli iso kuten myös verrattaessa Seppälän ym. (2016) arvoihin.

Vaikka seoshapossa osa muurahaishaposta oli neutraloituna natriumformiaattina, vähentyi käyminen. Tämä johtuu maissin matalasta puskurikapasiteetista, jonka ansiosta pH laskee helposti. Propionihapon on huomattu vähentävän nimenomaan kostean maissin

maitohappokäymistä (Kung ym. 2003). Myös ammoniumtyypen määrä oli seoshapolla käsitellyssä pienempi kuin painorehussa. Vaikka ensimmäisen korjuun raaka-aineen puskurikapasiteetti oli korkeampi kuin jälkimmäisessä kokeessa, oli puskurikapasiteetti silti tarpeeksi matala, jotta säilöntäaineen happovaikutus riitti estämään käymistä.

Toisessa korjuussa seoshappo toimi samoin kuten ensimmäisessäkin korjuussa. Happoja muodostui vähemmän kuin painorehuun, vesiliukoisten hiilihydraattien määrä oli suurempi sekä ammoniumtyypen määrä pienempi kuin painorehussa. Nämä muutokset viittaavat vähäisempään mikrobiaktiivisuuteen. Vastaava seoshappo pienensi myös Seppälän ym. (2016) tutkimuksessa ammoniumtyypen pitoisuutta.

Ensimmäisessä kokeessa oli kaksi rehuerää, jotka käsiteltiin eri pitoisuuksilla 100 %:sta muurahaishappoa. MH4 ja MH6 eivät eronneet kuiva-aineen, vesiliukoisten hiilihydraattien, happojen tai ammoniumtyypen määrän perusteella toisistaan. Annostustasojen välillä ei ollut merkitseviä tuloksia. Annostustason ollessa 6 l/t pH oli matalampi, joka oli suuntaa-antava tulos. Koska muurahaishapolla säilötyissä rehuissa laatu oli hyvä, voisi tästä päätellä että pienempi määrä muurahaishappoa riittää. Muurahaishappo ei estä hiivoja kasvamasta (McDonald ym. 1991). Ensimmäisen kokeen maissiraaka-aine oli kuitenkin niin kosteaa, että siinä eivät hiivat todennäköisesti olisi kasvaneet muutenkaan.

Toisessa kokeessa NaHe- ja BeSo-rehuissa oli kummallakin suurempi kuiva-ainepitoisuus kuin Biol-rehussa. Tämä voi olla seurausta säilöntäaineiden erilaisesta toimintamekanismista tai Biol-rehun virhekäymisestä. Biol-säilöntäaineen heterolaktisen maitohappobakteerin käymisprosessissa voi hävitä kuiva-ainetta (Pahlow ym. 2003), joten se voi olla syynä heikompaan kuiva-aineen pidäntymiseen. Kuitenkin BeSo-rehun vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus oli matala verrattuna NaHe-rehuun (suuntaa-antava tulos). BeSo-rehussa oli myös enemmän etikkahappoa ja happoja kokonaisuudessaan, jonka perusteella voi päätellä, että BeSo:n natriumbentsoaatti ja kaliumsorbaatti eivät ainakaan tässä tutkimuksessa käytetyllä pitoisuudella onnistuneet estämään käymistä rehussa. BeSo soveltuu korkeamman kuiva-aineen rehuille, koska se estää pääasiassa hiivojen ja homeiden kasvua (Kung ym. 2003). Tämä tukee Seppälän ym. (2016) tutkimuksessa havaittuja tuloksia, jossa natriumbentsoaattia ja kaliumsorbaattia sisältäneen säilörehun sokeripitoisuus oli pienempi ja

etikkahappopitoisuus suurempi kuin muiden tutkimuksessa käytettyjen synteettisillä säilöntäaineilla käsiteltyjen rehujen.

6.2.2 Käymislaatu laatukriteereihin verrattuna

MMM päätöksessä (MMM 1999) tuoreen rehukasvin säilöntäaineista todetaan, että laboratoriokoerehun tulee täyttää tyydyttävän säilörehun laatukriteerit ja sen on oltava painorehua parempi säilönnälliseltä laadultaan. Lisäksi koerehun ammoniumtyypen osuus kokonaistypestä ja etikkahapon määrän tulee olla pienempi kuin painorehussa.

Ensimmäisen kokeen rehuissa kaikkien pH oli sallituissa rajoissa eli alle 4,20. Seppälä ym. (2016) tulivat johtopäätökseen, että Suomen oloissa rehu on yleensä niin kosteaa, että hyvään säilöntälaatuun yhdistettynä aerobiseen stabiilisuuteen ja hyvään syömislaatuun, päästään vain käyttämällä muurahaishappopohjaisia säilöntäaineita. Tässä kokeessa MMM:n hyvän säilörehun kriteereihin pääsivät muurahaishappopohjaisella seoshapolla (Seoshappo) ja pelkällä muurahaishapolla käsitellyt koerehut (MH4 ja MH6) eli ainakin käymislaadun kohdalla johtopäätös pitää paikkansa ensimmäisen korjuun rehuille.

Biologisen säilöntäaineen maitohappobakteerit tuottavat etikkahappoa. Oletettavasti tämän johdosta biologisella säilöntäaineella säilötyn rehun etikkahappopitoisuus ylitti tyydyttävän rajan ja ammoniumtyypen määrä ylitti hyvän laadun rajan. Painorehun etikkahappopitoisuus oli tyydyttävän raja-arvoissa eli laatukriteereiden (MMM 1999) mukaan biologisella säilöntäaineella säilötty rehu ei täytä näitä vaatimuksia.

Toisen kokeen rehuista maitohappobakteereilla säilötty (Biol) sekä natriumnitriitti-heksamiini-natriumbentsoaattiliuksella säilötty (NaHe) ylittivät pH-rajaa 4.20. Kuitenkin, koska pH voi olla korkeampi rehuilla, joiden säilöntäaineen toiminta perustuu formaldehydiin tai vastaavaan käymistä estävään aineeseen (MMM 1998), myös NaHe voidaan laskea hyvälaatuiseksi. MMM:n hyvän rehun määritelmään pääsi NaHe:n lisäksi Painorehu ja Seoshappo toisen korjuun rehuista. Biologisesti säilötyn rehun laatu oli MMM (1999) määritelmän mukaan heikkolaatuisempaa kuin painorehun, sillä siinä oli enemmän etikkahappoa ja ammoniumtyyppiä kuin painorehussa. Biologisesti säilötyssä

rehussa oli merkittävästi enemmän etikkahappoa kuin kemiallisilla säilöntäaineilla käsitellyissä. BeSo-rehun maitohapon ja etikkahapon pitoisuuden olivat tyydyttävän rehun arvoissa.

Huomattavaa on kuitenkin, että kaikkien rehujen hygieeninen laatu oli hyvä siinä mielessä, ettei niissä esiintynyt virhekäymisestä indikoivaa voihippaa. Pidemmällä säilytyksellä olisi saattanut syntyä selkeämpiä eroja rehujen välille. Ainakaan näiden kriteerien perusteella kokeessa käytetty maitohappobakteereihin pohjautuva säilöntäaine ei tuottanut hyvälaatuisia säilörehua. Esimerkiksi Seppälän ym. (2016) tutkimuksessa ei havaittu yhtä suuria pitoisuuksia etikkahappoa eri maitohappobakteereilla säilömisen jälkeen timotei-nurminatasäilörehussa. Siinä säilörehu tehtiin timotei-nurminataseoksesta. Voi olla, että Suomen oloissa kasvatetun maissin säilöntään maitohappobakteerisäilöntäaine, joka sisältää *L.buchneria*, ei ole hyvä vaihtoehto.

6.2.3 Syötiin vaikuttava laatu

Syöntilaatua voi tarkastella sulavuuden ja kuiva-aineen syöntimäärän perusteella. Maissin sulavuuden määrittäminen ilman ruokintakoetta on haastavaa. Vaikka maissin energia-arvo paranee sen kehittyessä, myös soluseinät ja tähkä muuttuvat kovemmiksi, jolloin tarvitaan enemmän mekaanista työtä, jotta rehun saa sulatettua (Mahanna ja Chase 2003). Syöntimäärään vaikuttaa ainakin itse rehun ominaisuuksien lisäksi eläinlaji jolle sitä syötetään sekä ruokinnan muut rehut.

Matala pH voi vaikuttaa syötiin negatiivisesti (Weiss ym. 2003). Sekä ensimmäisessä että toisessa kokeessa painorehun pH oli matalampi verrattuna säilöntäainekäsittelyihin keskimäärin. Koska pH:n kokonaismerkitys syönnille on kuitenkin vaikeasti todennettava (Weiss ym. 2003) ja tässä tutkimuksessa rehut olivat yleisesti hyvälaatuisia niin pelkän pH:n vaikutuksesta syötiin ei voi tehdä johtopäätöstä.

Vesiliukoisten hiilihydraattien (sokerit) määrä voi korreloida syömisestä kanssa positiivisesti (Huhtanen ym. 2007). Ensimmäisen korjuun Seoshappo- ja muurahai-shappo-rehuissa oli merkittävästi enemmän sokereita jäljellä kuin muissa käsittelyissä. Toisen korjuun rehuista Seoshappo- ja NaHe-käsittelyillä vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus pysyi korkealla. Vaikuttaisi siis siltä, että käymisen estämiseen

perustuvat säilöntäaineet paransivat vesiliukoisten hiilihydraattien säilymistä ja tältä osin paransivat rehun syöntiominaisuuksia.

Toisen korjuun raaka-aineen D-arvo oli suurempi kuin ensimmäisen korjuun (704 vs 685 g/kg ka). D-arvo ja säilönnällisestä laadusta kertova kokonaishappopitoisuus korreloivat säilörehun kuiva-aineen syönnin kanssa erityisen selkeästi lypsylehmillä (Huhtanen ym. 2007). Osassa rehuja oli paljon maito- ja etikkahappoa, jotka saattavat vaikuttaa syöntiin negatiivisesti ainakin suurina pitoisuuksina (Huhtanen ym. 2007). Hyvän säilörehun laatuksiteereissä (MMM 1999) oli määritelty maitohapolle enimmäisraja 25g/kg tuoreessa näytteessä, koska sitä suurempi maitohappopitoisuus voi heikentää syöntiä. Tässä tutkimuksessa enemmän maitohappoa oli kokeessa 1 Painorehussa ja Biol-rehussa ja kokeessa 2 BeSo-rehussa. Myös etikkahapon suuremmat pitoisuudet voivat korreloida negatiivisesti syönnin kanssa. Kuitenkin nimenomaan rehujen, joissa suuri etikkahappopitoisuus on johtunut *L.buchnerista*, ei vaikutusta syöntiin havaittu (Kung ym. 2003).

6.3 Aerobinen stabiilisuus

Koska aerobinen stabiilisuus oli verrattain hyvä kaikissa tutkituissa näytteissä, eivät erot olleet merkitseviä suurimmaksi osaksi näytteiden välillä. Ensimmäisessä korjuussa Painorehu ja Seoshappo-rehu lämpenivät muita aiemmin, mutta sillä ei ollut tilastollista merkitsevyyttä ($p=0,11$). Kuitenkin Biol-, MH4 ja MH6-rehut eivät lämmenneet yli 2 astetta koko 10 päivän mittaamisen aikana.

Kummassakaan osakokeessa maitohappobakteereilla (Biol) säilötyn rehun aerobinen stabiilisuus säilyi 10 päivän mittaamisen aikana. Tämä on linjassa kirjallisuuden (Kung ym. 2003) kanssa sillä maitohappobakteereja ja erityisesti *L.buchneria* käytetään aerobisen stabiilisuuden parantamiseen.

Toisessa korjuussa Seoshappo oli ainoa säilöntäaine, joka ei parantanut aerobista stabiilisuutta Painorehuun verrattuna. Tämä oli yllättävää, sillä propionihapon pitäisi estää rehun lämpenemistä ja kaikkien seoksessa olevien säilöntäaineiden pitäisi nimenomaan estää käymistä (McDonald ym. 1991). Saattaa olla, että propionihappoa oli

liian vähän estämään haittamikrobeja ja niiden aiheuttamaa lämpenemistä tai käyminen johtui mikrobeista, joihin seoshapon kemikaalit eivät näissä olosuhteissa ainakaan vaikuta. Biol-, NaHe- sekä BeSo-säilöntäaine paransivat aerobista stabiilisuutta verrattuna painorehuun, joka on linjassa muiden tutkimusten kanssa (Queiroz ym. 2013, Seppänen ym. 2016).

7 Johtopäätökset

Suomessa kasvatetun maissin ominaisuuksiin vaikuttaa merkittävästi kasvatusvuoden sääolosuhteet. Kasvukauden pituus voi vaihdella merkittävästi sekä maissisäilörehun raaka-aineen koostumus. Kuiva-ainepitoisuus vastaa pohjoisessa Euroopassa toteutettujen tutkimusten tuloksia, mutta tässä tutkimuksessa vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus oli suuri jopa suomalaisen tutkimukseen verrattaessa.

Säilöntäaineet parantavat maissisäilörehun laatua Suomessa. Maissin säilöntäominaisuudet ovat hyvät vaikka kuiva-ainepitoisuus olisi pienikin. Sokeripitoisen ja matalamman kuiva-ainepitoisuuden maissiraaka-aineen säilömiseen parhaat säilöntäaineet olivat muurahaishappopohjaisia (Seoshappo, MH4 ja MH6). Koska maissin puskurikapasiteetti on niin pieni, saattaisi tässä tutkimuksessa käytettyjä säilöntäainetasoja pienempi pitoisuus muurahaishappopohjaista säilöntäainetta riittää maissisäilörehun hyvälaatuisen säilöntään. Tässä tutkimuksessa myöhäisemmän kehitysasteen maissiraaka-aineen säilöntään parhaat säilöntäaineet olivat Seoshappo ja NaHe.

Biol-säilöntäaine ei toiminut näissä olosuhteissa toivotusti. Maitohappobakteereista *L.buchneria* sisältävät säilöntäaineet eivät välttämättä ole hyvä valinta suomalaisen maissin säilöntään, koska *L.buchneri* muuntaa maitohapon etikkahapoksi, joka heikentää rehun laatua ja voi heikentää syöntiä.

Eri kehitysvaiheiden välillä ei tehty tilastollista analyysiä, mutta rehun käymislaatuun liittyvien kriteerien perusteella muurahaishappopohjainen säilöntäaine sopi kummallekin tässä kokeessa käytetylle maissin kehitysasteelle.

8 Lähdeluettelo

- Allen, M. S, Coors, J. M & Roth, G. W. 2003. Corn silage. In: Buxton, D. R, Muck, R. E. & Harrison, J. H. (eds.). *Silage Science and Technology*. Madison, USA: American Society of Agronomy. s. 547–608.
- Barker, S. B. & Summerson, W. H. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological materials. *The Journal of Biological Chemistry* 138: 537–554.
- Basso F. C., Adesogan A. T., Lara E. C., Rabelo C. H., Berchielli T. T., Teixeira I. A., Siqueira G. R. & Reis R. A. 2014. Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. *Journal of Animal Science* 92: 5640–5650.
- Brüning, D., Gerlach, K., Weiß, K. & Südekum, K. H. 2018. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on forage choice and short-term intake of maize silage by goats. *Grass and Forage Science* 2: 392-405.
- Daynard, T. B. & Hunter, R. B. 1975. Relationships among whole-plant moisture, grain moisture, dry matter yield, and quality of whole-plant corn silage. *Canadian Journal of Plant Science* 55: 77-84.
- Friedel, K. 1990. Die Schätzung des energetischen Futterwertes von Grobfutter mit Hilfe einer Cellulasemethode. [The estimation of the energetic feeding value of roughages by means of a cellulase method]. *Wissenschaftliche Zeitung Universität Rostock, N-Reihe* 39: 78–86.
- Hu, W., Schmidt, R. J., McDonell, E. E., Klingerman, C. M., Kung Jr, L. 2009. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science* 92: 3907–3914.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2006. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agricultural and Food Science* 15: 293–323.
- Huhtanen, P., Rinne, M. & Nousiainen, J. 2007 Evaluation of the factors affecting silage intake of dairy cows: a revision of the relative silage dry-matter intake index. *Animal* 1: 758–770
- Huida, L., Väätäinen, H. & Lampila, M. 1986. Comparison of dry matter contents in grass silages as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 215–230.
- Ilmatieteen laitos, kesätilasto. <https://ilmatieteenlaitos.fi/kesatilastot> (2.10.19)
- Jatkauskas, J., Vrotniakienië, V., Stoškus, R. (2018) Variations in fermentation, bacterial population and aerobic stability in maize silage. *Zemdirbyste-Agriculture* 105:377–382

- Khan, N. A., Yu, P., Ali, M., Conea, J. W. & Hendriksa, W.H. 2015 Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality REVIEW Journal of the Science of Food and Agriculture 95: 238–252
- Kung jr, L., Stokes, M. R. & Lin, C. J. 2003. Silage Additives. In: Buxton, D.R, Muck, R. E. & Harrison, J. H. (eds.). Silage Science and Technology. Madison, USA: American Society of Agronomy. s. 305–360.
- Lynch, J. P., O’Kiely, P. & Doyle, E. M. 2012 Yield, quality and ensilage characteristics of whole-crop maize and of the cob and stover components: harvest date and hybrid effects. Grass and Forage Science 67: 472–487
- Mahanna, B. & Chase, L. E. 2003. Practical Applications and solutions to silage problems. In: Buxton, D. R, Muck, R. E. & Harrison, J.H. (eds.). Silage Science and Technology. Madison, USA: American Society of Agronomy. s. 855–895.
- Marsalis, M. A., Angadi, S. V. & Contreras-Govea, F. E., 2010 Dry matter yield and nutritive value of corn, forage sorghum, and BMR forage sorghum at different plant populations and nitrogen rates. Field Crops Research 116: 52–57.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. Clinica Chimica Acta 17: 297–304.
- McDonald, P., Henderson, A. R. & Ralton, I. 1973 Energy changes during ensilage. Journal of the Science of Food and Agriculture 24: 825-269.
- McDonald, P., Henderson, A. R. & Heron, S.J.E. 1991 The Biochemistry of Silage Marlow, Bucks, UK: Chalcombe Publications. 340s.
- MMM päätös 48/1999 Tuoreen rehukasvin säilöntäaineista. Nro 48/1999. (Dnro 1547/563/1999).
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2003. Prediction of the digestibility of the primary growth of grass silages harvested at different stages of maturity from chemical composition and pepsin-cellulase solubility. Animal Feed Science and Technology 103: 97–111.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H. & Spoelstra, S. F. Microbiology of ensiling. In: Buxton, D. R, Muck, R. E. & Harrison, J.H. (eds.). Silage Science and Technology. Madison, USA: American Society of Agronomy. s. 31–93.
- Queiroz, O. C. M., Arriola, K. G., Daniel, J. L. P. & Adesogan, A. T. 2013. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. Journal of Dairy Science 96: 5836–5843
- Rabelo, C. H. S., Basso, F. C., Lara, E. C., Jorge, L. G. O., Härter, C. J., Mari, L. J. & Reis, R. A. 2016. Effects of Lactobacillus buchneri as a silage inoculant or probiotic on in vitro organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. Grass and Forage Science 72: 534–544.

- Salo, M. -L. 1965. Determination of carbohydrate fractions in animal foods and faeces. *Acta Agraria Fennica* 105: 1–102.
- Salo, M. -L. & Salmi, M. 1968. Determination of starch by the amyloglucosidase method. *The Journal of Scientific Agricultural Society of Finland* 40: 38–45.
- Seleiman, M. F., Selim, S., Jaakkola, S. & Mäkelä P. 2017. Chemical composition and in vitro digestibility of whole-crop maize fertilized with synthetic fertilizer or digestate and harvested at two maturity stages in Boreal growing conditions. *Agricultural Food and Science* 26: 47–55
- Seppälä, A., Heikkilä, T., Mäki, M. & Rinne, M. 2016 Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations *Grass and Forage Science* 71: 458-471
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61–68.
- Tabacco, E., Piano, S., Revello-Chion, A. & Borreani, G. 2011. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *Journal of Dairy Science* 94: 5589–5598
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- Weiss, W. P., Chamberlain, D. G. & Hunt, C. W. 2003. Feeding silages. In: Buxton, D. R, Muck, R. E. & Harrison, J. H. (eds.). *Silage Science and Technology*. Madison, USA: American Society of Agronomy. s. 469–504.
- Weissbach, F. 1992. Determination of the buffering capacity. Internal Report. Institute of Grassland and Forage Research, Braunschweig. 3 s.