



SPRAWOZDANIE

z prowadzenia w 2009 roku badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie przetwórstwa produktów roślinnych, zwierzęcych metodami ekologicznymi.

pt.: Wpływ kultury starterowej LAB na hamowanie rozwoju bakterii patogennych w kiszonkach, sporządzonych metodą opracowaną dla gospodarstw ekologicznych

Realizowany przez:

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego

finansowany zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 kwietnia 2007 roku w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz.U. 2007, Nr 67, poz. 446 oraz z 2008, Nr 102, poz. 654 i Nr 146, poz. 930) na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Z dnia 25.05. 2009 r., nr RR-re-401-18-166/09

Kierownik tematu: **dr inż. Krystyna M. Stecka**

Główni wykonawcy: **dr inż. Krystyna J. Zielińska, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski, mgr inż. Alina M. Suterska, mgr inż. Marta Kupryś, dr inż. Antoni H. Miecznikowski.**

1. Cel realizacji zadania.

Celem badań zrealizowanych w 2009 roku było określenie wpływu preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego, opracowanego dla rolnictwa ekologicznego, na hamowanie rozwoju bakterii patogennych w procesie kiszenia runi łąkowej z trwałych użytków zielonych nawożonych nawozami organicznymi.

W gospodarstwach ekologicznych realne jest zagrożenie zanieczyszczenia zielonek, pochodzących z łąk nawożonych, nie do końca przefermentowaną gnojowicą lub gnojówką, bakteriami fekalnymi. W celu poprawy stanu higieny kiszonych pasz objętościowych konieczna jest eliminacja skażenia *Clostridium* wywołującym fermentację masłową i psucie się kiszzonek oraz skażenia chorobotwórczymi bakteriami *Escherichia coli* i *Salmonella spp.*, pleśniami i syntetyzowanymi przez nie toksynami, które wpływają negatywnie na zdrowie i dobrostan zwierząt. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Europy nr 1774/2002 oraz uzupełniające Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz. U. Nr 236. z 2004 roku) określają parametry jakościowe nawozów organicznych i organiczno-mineralnych, w których nie mogą występować bakterie z rodzaju *Salmonella spp.* w 25 g lub ml, a liczba bakterii z rodziny *Enteriobacteriaceae* nie może przekraczać 1 000 j.t.k./g lub ml. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Europy nr 2160/2003 nakłada na kraje członkowskie obowiązek zwalczania pałeczek *Salmonella* u zwierząt, w paszach i w żywności pochodzenia zwierzęcego. Realizacja tego programu w Polsce rozpoczęła się w 2007 roku.

Nawożenie trwałych użytków zielonych nawozami organicznymi, które mogą zawierać pałeczki *Salmonella spp.* powoduje ich obecność w glebie przez dłuższy czas. W wyniku licznych badań okazało się, że czas przeżycia pałeczek *Salmonella* w glebie wynosi zależnie od warunków 33 tygodni a nawet znacznie dłużej. Tempo redukcji bakterii fekalnych w glebie zależy od temperatury, pH, typu i wilgotności gleby, pory roku oraz obecności w niej mikroflory antagonistycznej w stosunku do patogenów. Bakterie fekalne, obecne w nawozach organicznych jak gnojówka czy gnojowica po wprowadzeniu do gleby i na odrastająca ruń łąkową, mogą przetrwać i być obecne w roślinach stanowiących paszę dla zwierząt. Wyniki badań nad możliwościami ograniczenia zanieczyszczenia mikrobiologicznego pasz, wskazują na możliwość hamowania rozwoju bakterii patogennych i grzybów przez bakterie fermentacji mlekowej w procesach biotechnologicznych. Poprawa stanu higieny kiszonych pasz, eliminacja skażenia ich bakteriami patogennymi, dzięki

zastosowaniu preparatu zawierającego szczepy bakterii fermentacji mlekowej o szczególnych aktywnościach: antybakteryjnej, antypleśniowej i antymikotoksynowej jest istotnym zagadnieniem badawczym, ponieważ skutki skarmiania kiszonek, zawierających mikroorganizmy produkujące toksyny oraz mikroorganizmy potencjalnie chorobotwórcze są bezpośrednio groźne dla zdrowia zwierząt i ludzi.

2. Omówienie przebiegu badań.

Badania prowadzono w wybranych sześciu gospodarstwach ekologicznych, położonych w województwie mazowieckim, z których cztery w powiecie Maków Mazowiecki, jedno w powiecie Wołomin i jedno pokazowe należące do CDR Radom oraz w dwóch gospodarstwach rolnych konwencjonalnych położonych w powiatach Wołomin i Ostrołęka. W wybranych do badań gospodarstwach trwale użytki zielone – TUZ nie były nawożone (trzy gospodarstwa ekologiczne), były nawożone kompostem jesienią (jedno gospodarstwo ekologiczne), lub były nawożone płynnymi nawozami organicznymi jak gnojówka bydłęca wiosną i po pierwszym lub pierwszym i drugim pokosie (jedno gospodarstwo ekologiczne i dwa konwencjonalne oraz gnojowicą bydłęcą jesienią i po każdym pokosie runi łąkowej (jedno gospodarstwo ekologiczne).

Ruń łąkowa z pierwszego i drugiego pokosu, po skoszeniu, przewiednięciu na łące do zawartości suchej masy około 50 %, była przeznaczana do produkcji kiszonek. Kiszonki sporządzano w postaci balotów a 500 lub 900 kg, owiniętych folią kiszonkarską, bez dodatku i z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego. Ruń łąkową przeznaczoną do sporządzenia kiszonek doświadczalnych, przed balotowaniem, spryskiwano roztworem wodnym części bakteryjnej preparatu i sypano komponentem mineralno-witaminowym. Dawka dwuskładnikowego preparatu wynosiła 5 g. granulatu bakterii o mianie 5×10^9 j.t.k./g i 200g mieszanki mineralno-witaminowej na tonę kiszonych roślin.

Czas kiszenia wynosił dwa miesiące. W reprezentatywnych próbkach zielonki oraz kiszonek oznaczano parametry niezbędne do określenia ich jakości, wartości paszowej i czystości mikrobiologicznej.

Zakres badań obejmował:

1. Zebranie informacji o stosowanym nawożeniu TUZ w gospodarstwach doświadczalnych.
2. Analizy mikrobiologiczne i chemiczne nawozów, gleby, zielonki przeznaczonej do produkcji kiszonek oraz kiszonek sporządzonych bez i z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego.
3. Analizy chemiczne i enzymatyczne oraz ocenę jakości kiszonek na podstawie zawartości suchej masy i kwasów organicznych.
4. Ocenę wartości paszowej i strawności suchej masy pasz na podstawie ich składu chemicznego.
5. Określenie skażenia materiału roślinnego i kiszonek pleśniami.
6. Określenie wpływu preparatu na hamowanie rozwoju pleśni w procesie kiszenia.
7. Określenie zawartości bakterii patogennych z rodzajów: *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, grupy coli, *Enterobacter spp.*, *Clostridium perfringens* w gnojówce, gnojowicy bydłowej, glebie, runi łąkowej i kisonkach sporządzonych metodą tradycyjną i opracowaną metodą ekologiczną.
8. Ocenę wpływu preparatu na hamowanie rozwoju lub eliminację badanych bakterii patogennych.

Stosowano następujące metody badań:

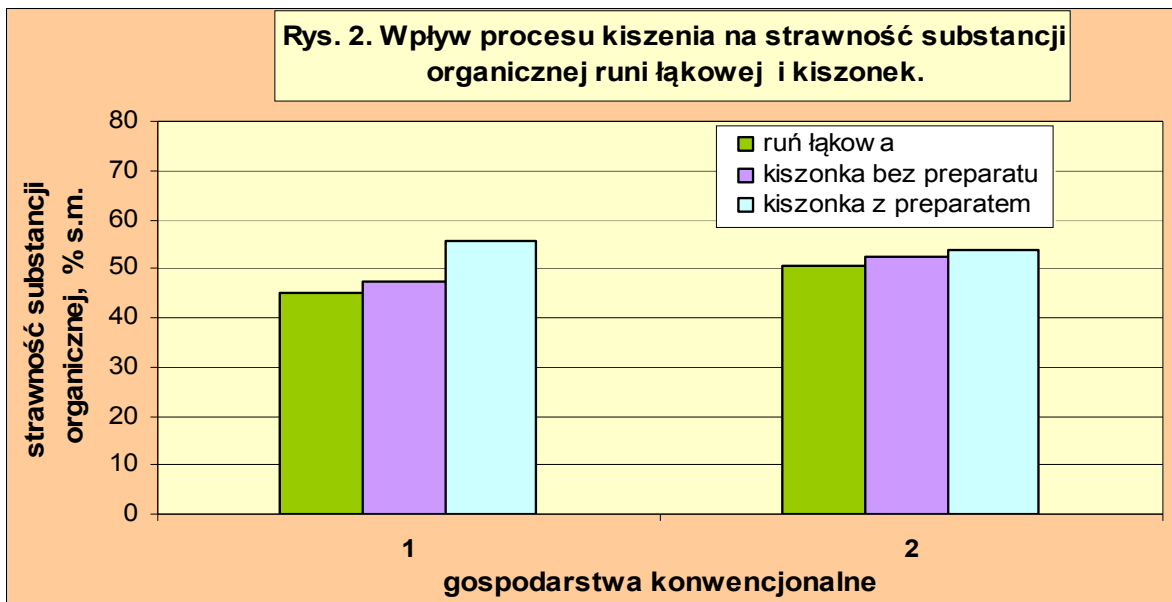
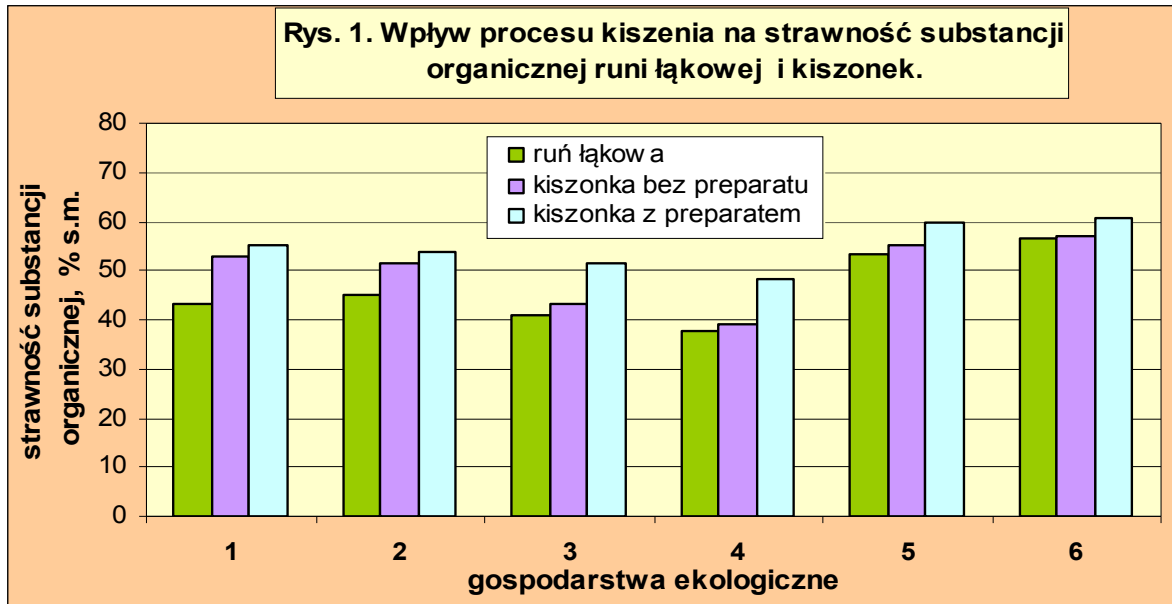
- oznaczanie zawartości białka ogólnego, włókna surowego, tłuszczu, popiołu i strawności masy organicznej metodą NIRS, przy użyciu aparatu NIRFlex N-500, z zastosowaniem gotowych kalibracji dla traw suchych, firmy INGOT,
- oznaczanie antybakteryjnych właściwości szczepów LAB metodą Pileta, polegającą na pomiarze strefy zahamowania wzrostu bakterii patogennych pod wpływem działania 24 h hodowli badanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej,
- wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* metodami mikrobiologii żywności (PN-A-04023: 2001),
- oznaczanie liczby pałeczek *Salmonella spp.* z zastosowaniem specjalistycznego podłoża agarowego Rambach firmy Merck,
- oznaczanie liczby bakterii *Escherichia coli* z zastosowaniem podłoża Petrifilm selekt 3M, firmy Nocka,

- oznaczanie liczby bakterii z grupy coli z zastosowaniem podłoża Petrifilm Coliform Mount Plater 3M, firmy Nocka,
- oznaczanie liczby bakterii *Clostridium perfringens* z zastosowaniem podłoża Agar Base 9188 firmy Neogen,
- oznaczanie liczby bakterii *Salmonella spp.* i *Enterobacter spp.* z zastosowaniem podłoża Compass Salmonella Agar, firmy Noack.

Ruń łąkowa, pochodząca z gospodarstw ekologicznych, które nie stosowały nawożenia TUZ, charakteryzowała się średnią zawartością białka ogólnego w suchej masie 11,3 %, natomiast z nawożonych łąk zielonka zawierała więcej białka, średnio o 3,1 jednostki procentowej. W gospodarstwach konwencjonalnych, pomimo stosowanego nawożenia średnia zawartość białka w runi łąkowej wynosiła w suchej masie 10,3 %. W kiszonkach bez dodatku preparatu, sporządzonych z runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych, gdzie nie stosowano nawożenia, średnia zawartość białka ogólnego w suchej masie wynosiła 9,5 %, natomiast z dodatkiem preparatu 9,65 %. W gospodarstwach, w których stosowano nawożenie organiczne wartość pokarmowa kiszonek, mierzona zawartością białka, była wyższa i wynosiła odpowiednio w suchej masie 10,8 % i 12,0 % w gospodarstwach ekologicznych i w gospodarstwach konwencjonalnych przy nawożeniu gnojówką, zawartość białka w kiszonkach kontrolnych wynosiła 11,0 %, a w kiszonkach doświadczalnych 11,9 %.

We wszystkich badanych gospodarstwach ekologicznych strawność suchej masy organicznej runi łąkowej wynosiła średnio 46,1 %, zwiększyła się pod wpływem procesu kiszenia do wartości 49,9 %, a pod wpływem procesu kiszenia, stymulowanego dodatkiem kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej, wprowadzonych z preparatem bakteryjno-mineralno-witaminowym, zwiększyła się do wartości 54,9 % (rysunek 1).

W gospodarstwach konwencjonalnych uzyskano podobny efekt procesu kiszenia i działania preparatu na wzrost strawności masy organicznej. Strawność masy organicznej runi łąkowej wynosiła średnio w tych gospodarstwach 47,8 %, w kiszonkach kontrolnych wzrosła do średniego poziomu 49,7 %, a w kiszonkach z preparatem osiągnęła wartość – 54,8 % (rysunek 2).



Stwierdzono że, w każdym objętym badaniami gospodarstwie ekologicznym lub konwencjonalnym pod wpływem procesu kiszenia zwiększała się strawność masy organicznej roślin, a szczególnie widoczny był wzrost strawności pod wpływem działania kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej, wprowadzonych z preparatem bakteryjno-mineralno-witaminowym.

W gospodarstwach ekologicznych sianokiszonki kontrolne charakteryzowały się średnią zawartością suchej masy 50 %, wartością pH - 5,7 ; zawartością kwasu mlekowego 0,28 % i oceną jakości dobrą. Sianokiszonki z dodatkiem preparatu odznaczały się niższym pH średnio 5,1; wyższą zawartością kwasu mlekowego średnio 0,83 %, i jakością ocenioną jako bardzo dobra. W gospodarstwach konwencjonalnych sucha masa kiszonek kontrolnych średnio wynosiła 52,9 %, wartość pH 5,2 a zawartość kwasu mlekowego 0,64 %, natomiast w kiszonkach doświadczalnych odpowiednio sucha masa wynosiła 51,5 %, pH 4,7 a zawartość kwasu mlekowego - 1,07 %. Jakość kiszonek kontrolnych oceniono jako dobrą lub zadawalającą a doświadczalnych jako bardzo dobrą. Pozytywny wpływ preparatu zaznaczył się we wszystkich przypadkach zwiększeniem w kiszonkach doświadczalnych zawartości kwasu mlekowego.

Tabela 1

Efekt działania badanych szczepów *Lactobacillus plantarum* na hamowanie wzrostu bakterii patogennych (Stecka i in. 2007).

Szczep bakterii patogennych	Procent zahamowania strefy wzrostu bakterii patogennych, przez wybrane szczepy <i>Lactobacillus plantarum</i>		
	K KKP/593/p	ATCC 14917	C KKP/788/p
<i>Salmonella enteritidis</i>	70	80	70
<i>Salmonella cholerae-suis</i>	90	100	70
<i>Salmonella</i> sp., serotyp BO	70	90	50
<i>Salmonella</i> CO sp., serotyp	90	90	90
<i>Salmonella</i> sp., serotyp DO	100	100	80
<i>E. coli</i> hemolityczna I	90	80	90
<i>E. coli</i> hemolityczna II	100	70	100
<i>Listeria monocytogenes</i> SGGW	100	70	60
<i>Listeria monocytogenes</i> CIP 7838	100	80	50

W tabeli 1 przedstawiono wyniki wcześniejszych badań autorów pracy, które były inspiracją do podjęcia doświadczeń w dziedzinie ekologii, dotyczących antybakteryjnych zdolności szczepów bakterii z gatunku *Lactobacillus plantarum* wchodzących w skład

preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego przeznaczonego do stymulowania procesu kiszenia runi łąkowej.

Wzrost patogennych szczepów bakterii, pochodzących od chorych zwierząt gospodarskich, hamowany był na powierzchni podłoża o średnicy 10 cm od 50 do 100 % przez 10 μ l 24h hodowli badanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej. Szczepy te podobnie jak szczep odniesienia *Lactobacillus plantarum* ATTC 14917 wykazywały zdolności do hamowania rozwoju bakterii chorobotwórczych, wyizolowanych z przewodu pokarmowego chorych zwierząt gospodarskich.

W oparciu o przedstawione wyniki doświadczeń podjęto badania nad możliwością poprawy higieny kiszonek z runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych, dzięki stosowaniu kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej o zdolności zwalczania bakterii patogennych.

W pierwszym etapie tego zadania określono liczbę bakterii fekalnych, potencjalnie chorobotwórczych, obecnych w gnojówkach i gnojowicy, które stosowano w gospodarstwach do użyźniania łąk TUZ. Bakterie patogenne mogą być obecne w niedostatecznie przefermentowanym moczu i kale zwierząt, a po wprowadzeniu do gleby i na odrost łąkowy mogą przeżyć przez wiele tygodni, a nawet miesięcy w glebie, w zielonkach i w kiszoncek.

W doświadczeniu modelowym, którego wyniki podano w tabeli 2 sprawdzono efekt działania kultury starterowej preparatu, zawierającej szczepy bakterii fermentacji mlekowej o aktywności hamowania rozwoju bakterii patogennych, na obniżenie ich zawartości w płynnych nawozach organicznych: gnojówce i gnojowicy bydłowej. Przez 10 dni inkubacji w temperaturze pokojowej badanego nawozu, pod wpływem działania preparatu następowała pełna eliminacja zakażenia odchodów pałeczkami *Salmonella spp.* W gnojówce ponadto zostało wyeliminowane zakażenie bakteriami *Escherichia coli* i z grupy coli, natomiast w gnojowicy nastąpiło obniżenie ich zawartości odpowiednio z 4,60 \log_{10} do 1,00 \log_{10} j.t.k./g i z 3,48 \log_{10} na 1,47 \log_{10} j.t.k./g. Najbardziej odporne na działanie kultury starterowej preparatu były bakterie *Clostridium perfringers*, chociaż i w tym przypadku w warunkach doświadczenia pozostało ich w nawozach od 40 do 45 % początkowej zawartości (tabela 2).

W kolejnym etapie badań określono liczbę bakterii patogennych i pleśni w glebach TUZ, które nawożono nawozami organicznymi lub nie były nawożone w czasie realizacji niniejszego zadania.

**Wpływ kultury starterowej preparatu na obniżenie liczby bakterii patogennych
w płynnych nawozach organicznych**

Rodzaj nawozu	Liczba bakterii w nawozach, log ₁₀ j.t.k./ml lub /g			
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakterie z grupy coli	<i>Clostridium Perfringers</i>
Gnojówka	3,60	3,90	4,3	3.30
Gnojówka po 10 dniach inkubacji, bez preparatu	3,00	2,95	1,3	3,00
Gnojówka po 10 dniach inkubacji, z dodatkiem preparatu (0,05 %)	brak	Brak	brak	1,47
Gnojowica	4,30	4,60	3,48	3,90
Gnojowica po 10 dniach inkubacji, bez preparatu	3,90	3,48	3,00	3,60
Gnojowica po 10 dniach inkubacji, z dodatkiem preparatu (0,05 %)	brak	1,00	1,47	1,60

Warianty badań: - A• (trzy gospodarstwa), w których rolnicy nie stosowali nawożenia; - B stosowano nawożenie kompostem jesienią; - C-1; stosowano nawożenie rozcieńczoną 1:2 gnojówką wiosną, w ilości 15m³/ ha ; - C-2 wiosną i po pierwszym pokosie runi łąkowej, w ilości 25 m³/ha; - C-3; wiosną, po pierwszym i drugim pokosie runi łąkowej, w ilości 30 m³/ha oraz – D stosowano nawożenie gnojowicą jesienią i po każdym pokosie runi łąkowej, w ilości 24 m³/ha. Wyniki analizy mikrobiologicznej gleb podano w tabeli 3 i na rysunkach 3 - 7.

W glebach TUZ położonych w gospodarstwach ekologicznych, w których rolnicy jesienią 2008 i w czasie roku 2009 nie stosowali nawożenia organicznego nie stwierdzono obecności pałeczek *Salmonella spp.* oraz bakterii *Escherichia coli*, w tych glebach obecne były bakterie z grupy coli, *Clostridium perfringers*, *Enterobacter spp.* oraz pleśnie.

Tabela 3

Liczba bakterii patogennych oraz pleśni w glebach, przy różnych sposobach nawożenia organicznego TUZ

Sposób nawożenia TUZ	Liczba mikroorganizmów w log ₁₀ j.t.k./g gleby					
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakterie z grupy coli	<i>Clostridium perfringers</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	Pleśnie
A•	brak	brak	1,00	1,00	1,00	2,00
B	1,00	brak	2,95	1,00	3,00	2,60
C-1	1,00	2,00	3,48	1,00	2,00	3,90
C-2	1,30	2,00	2,60	1,30	2,30	5,00
C-3	2,30	2,30	2,60	1,30	2,47	4,60
D	2,30	3,00	2,95	1,42	3,60	5,00

A• - wyniki średnie z trzech gospodarstw

W glebie nawożonej kompostem stwierdzono obecność pałeczek *Salmonella spp.*, przy braku *Escherichia coli*, obecne były bakterie z grupy coli oraz *Clostridium perfringers*, *Enterobacter spp.* i pleśnie. W glebach nawożonych gnojówką lub gnojowicą liczba pałeczek *Salmonella spp.* kształtowała się na poziomie 1,00- 2,30 log₁₀ j.t.k./g, jak również stwierdzono podwyższoną ilość wszystkich badanych mikroorganizmów.

W runi łąkowej zebranej z użytków zielonych nawożonych gnojówką i gnojowicą stwierdzono obecność *Salmonelli spp.*, w liczbie od 1,00 do 1,30 log₁₀ j.t.k./g. Niezależnie od sposobu nawożenia łąk nie stwierdzono w zielonce obecności bakterii *Escherichia coli*, przy wysokim poziomie bakterii z grupy coli, natomiast stwierdzono obecność *Clostridium perfringers*: 2,3- 3,9 log₁₀ j.t.k./g oraz wysokie zanieczyszczenie pleśniami od 4,0 do 5,0 log₁₀ j.t.k./g zielonki. Wyniki przedstawiono w tabeli 4 i na rysunkach 3 – 7.

Tabela 4

Liczba bakterii patogennych i pleśni w runi łąkowej, przy różnych sposobach nawożenia organicznego TUZ

Sposób nawożenia TUZ	Liczba mikroorganizmów w runi łąkowej, log ₁₀ j.t.k./g				
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakterie z grupy coli	<i>Clostridium perfringers</i>	Pleśnie
A•	brak	Brak	4,00	1,00	4,30
B	brak	Brak	5,30	3,00	4,30
C-1	1,00	Brak	5,60	2,30	4,00
C-2	1,00	Brak	5,60	3,30	4,30
C-3	1,30	Brak	5,70	3,90	5,00
D	1,30	Brak	5,90	3,00	5,00

A• - wyniki średnie z trzech gospodarstw

Tabela 5

Liczba bakterii patogennych i pleśni w kiszonkach z runi łąkowej, bez dodatku preparatu, przy różnych sposobach nawożenia organicznego TUZ

Sposób nawożenia TUZ	Liczba mikroorganizmów w kiszonkach kontrolnych, log ₁₀ j.t.k./g				
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakterie z grupy coli	<i>Clostridium perfringers</i>	Pleśnie
A•	brak	1,30	2,00	2,30	5,60
B	brak	Brak	2,30	3,00	3,30
C-1	1,00	2,00	2,48	2,30	3,60
C-2	1,00	2,30	2,60	3,30	5,00
C-3	2,30	3,30	3,30	2,70	5,00
D	2,60	3,00	2,30	2,30	3,30

A• - wyniki średnie z trzech gospodarstw

Liczba bakterii patogennych i pleśni w kiszonkach z runi łąkowej, z dodatkiem preparatu, przy różnych sposobach nawożenia organicznego TUZ

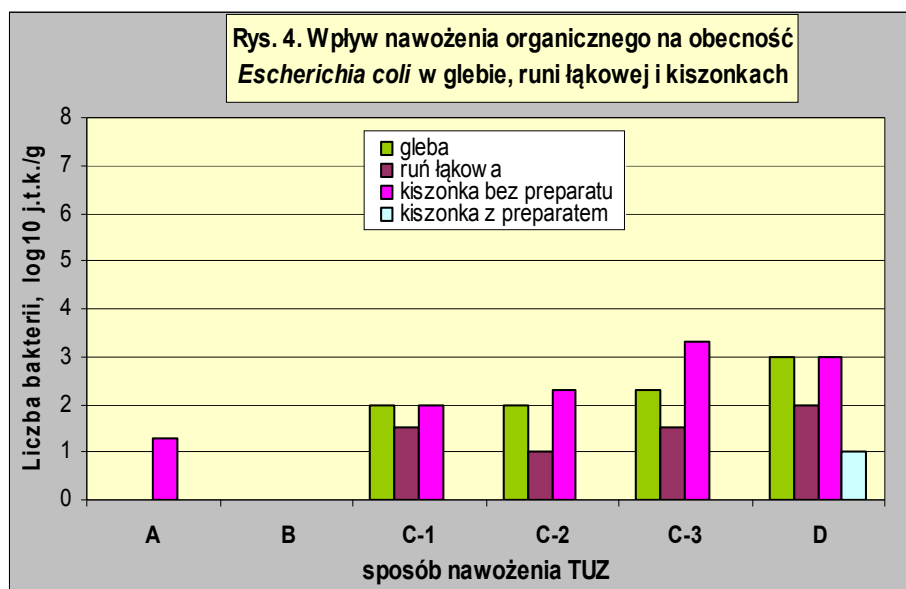
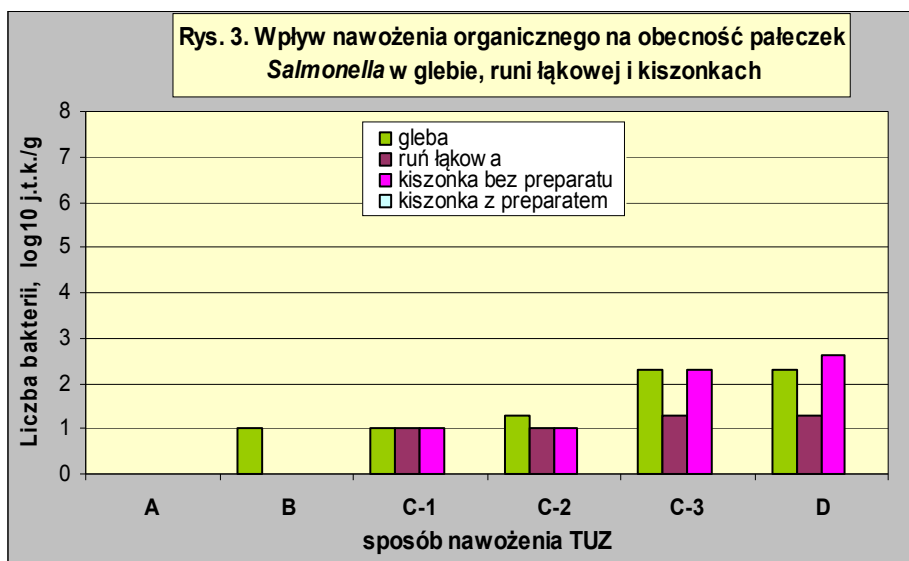
Sposób nawożenia TUZ	Liczba mikroorganizmów w kiszonkach doświadczalnych, log ₁₀ j.t.k./g				
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakterie Z grupy coli	<i>Clostridium perfringers</i>	Pleśnie
A•	brak	Brak	brak	1,00	4,00
B	brak	Brak	brak	1,00	2,30
C-1	brak	Brak	brak	brak	2,00
C-2	brak	Brak	brak	brak	2,60
C-3	brak	Brak	brak	brak	1,00
D	brak	1,00	1,00	1,30	2,30

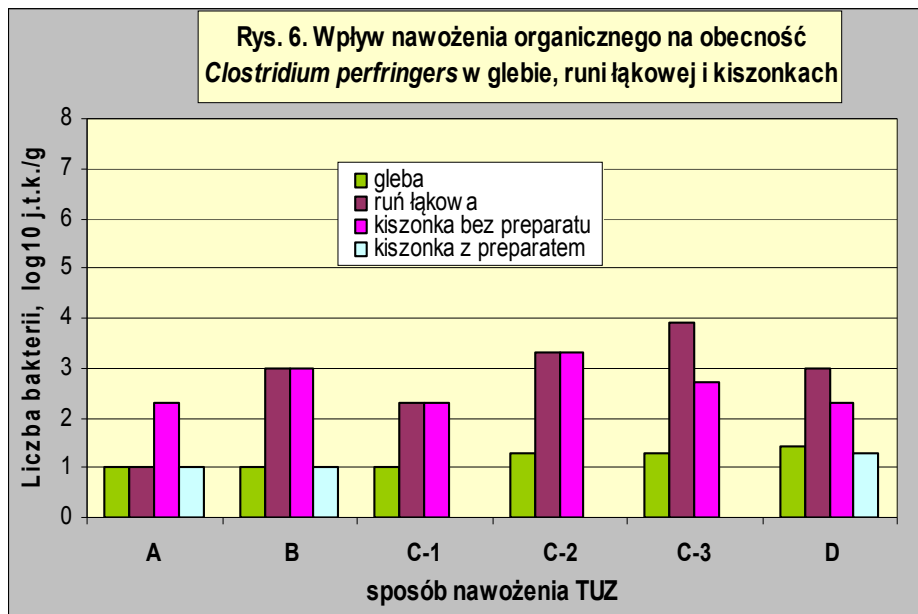
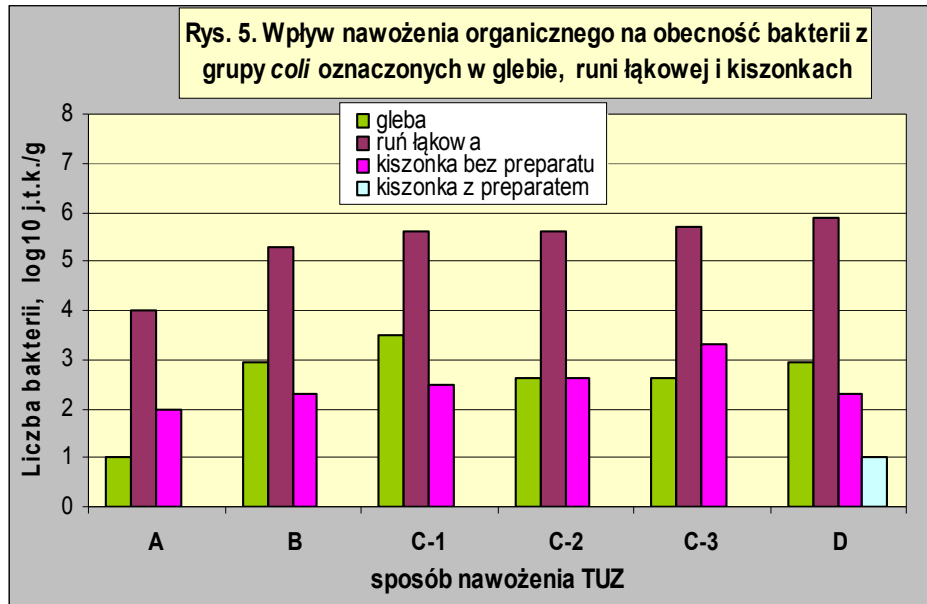
A• - wyniki średnie z trzech gospodarstw

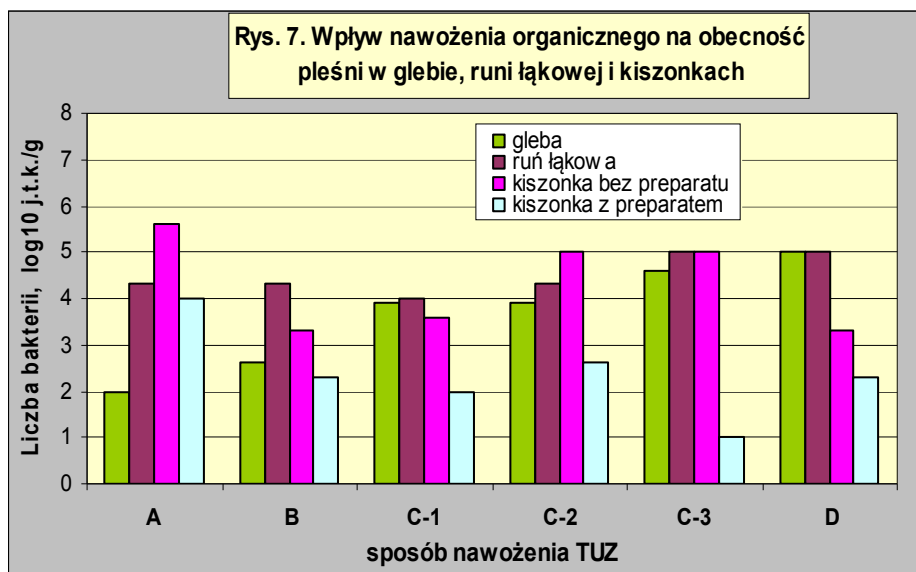
W kiszonkach z runi łąkowej liczba badanych bakterii patogennych kształtowała się na zbliżonym a nawet nieco wyższym poziomie w przypadku pałeczek *Salmonella spp.* Obecność bakterii *Escherichia coli* wykryto w kiszonkach kontrolnych, natomiast nie stwierdzono ich obecności w zielonkach. Liczba bakterii z grupy coli była około dwukrotnie wyższa w kiszonkach kontrolnych, w porównaniu do ich ilości w zielonkach, a liczba bakterii *Clostridium perfringers* pozostawała na zbliżonym poziomie w materiale przeznaczonym do kiszenia i w kiszonkach bez dodatku preparatu. Ogólnie wyższy poziom skażenia bakteriami patogennymi występował w roślinach nawożonych płynnymi nawozami organicznymi.

Liczba pleśni w procesie naturalnego kiszenia, zależnie od początkowego skażenia zielonki podwyższała się lub obniżała w pewnym stopniu ewentualnie pozostawała na zbliżonym poziomie. Wyniki przedstawiono w tabeli 5 i na rysunku 7.

Rysunki 3-7 przedstawiają wpływ stosowanych sposobów nawożenia łąk TUZ na obecność i poziom poszczególnych rodzajów patogennych mikroorganizmów w glebach, runi łąkowej i w kiszonkach sporządzanych metodą tradycyjną bez preparatu oraz ich wrażliwość na antybakteryjne działanie kultury LAB w procesie kiszenia z dodatkiem preparatu.







We wszystkich kiszonkach z dodatkiem preparatu znacznie obniżyła się lub została wyeliminowana obecność *Clostridium perfringers*, a liczba pleśni obniżyła się o 45 %, w stosunku do jej początkowej wartości w materiale roślinnym poddanym kiszeniu. Wyniki przedstawiono w tabeli 11 i na rysunkach 3-7.

Wyniki z przeprowadzonych doświadczeń potwierdziły istotny wpływ kultury starterowej LAB preparatu na zahamowanie rozwoju bakterii patogennych i pleśni w procesie kiszenia runi łąkowej.

3. Streszczenie wyników

Podjęto badania nad możliwością zwalczania w gospodarstwach ekologicznych bakterii patogennych, potencjalnie chorobotwórczych, które były i mogą być obecne w niedostatecznie przefermentowanym moczu i kale zwierząt, a po wprowadzeniu jako nawóz organiczny do gleby lub na odrost łąkowy przeżywają a nawet mogą się rozwijać w zielonce i w sporządzanych z niej kiszonkach. Celem badań, które zrealizowano w roku 2009, było określenie wpływu preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego na hamowanie rozwoju bakterii patogennych w procesie kiszenia runi łąkowej, w gospodarstwach stosujących nawożenie TUZ nawozami organicznymi

W każdym objętym badaniem gospodarstwie pod wpływem procesu kiszenia zwiększała się strawność masy organicznej runi łąkowej, a szczególnie widoczny był wzrost strawności pod wpływem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego.

Ponadto działanie preparatu spowodowało wzrost zawartości kwasu mlekowego, eliminację kwasu masłowego, a zatem poprawę jakości kiszonek.

Sprawdzono efekt działania preparatu na obniżenie liczby bakterii fekalnych, potencjalnie chorobotwórczych, obecnych w płynnych nawozach organicznych: gnojówce i gnojowicy bydłowej. Pod wpływem kultury starterowej LAB, preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego, dodanego do płynnego nawozu organicznego, po 10 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej, następowała eliminacja zakażenia pałeczkami *Salmonella spp.*, w gnojówce i gnojowicy, w gnojówce również eliminacja bakterii *Escherichia coli* i z grupy coli. W gnojowicy zawartość bakterii *Escherichia coli* i z grupy coli obniżyła się odpowiednio: z 3,48 do 1,00 log₁₀ j.t.k./g. oraz z 3,00 do 1,47 log₁₀ j.t.k./g. Najbardziej odporne na działanie kultury starterowej preparatu były bakterie *Clostridium perfringers*.

W glebach TUZ w gospodarstwach ekologicznych, w których rolnicy jesienią 2008 i w czasie roku 2009 nie stosowali nawożenia organicznego nie stwierdzono obecności pałeczek *Salmonella spp.* oraz bakterii *Escherichia coli*, w tych glebach obecne były w niewielkich ilościach bakterie z grupy coli, *Clostridium perfringers* oraz pleśnie. W glebie nawożonej kompostem w jesieni 2008, obecne były pałeczki *Salmonella spp.*, bakterie z grupy coli, *Clostridium perfringers* i pleśnie. W glebach nawożonych gnojówką lub gnojowicą liczba pałeczek *Salmonelli spp.* kształtowała się na poziomie 1,00 – 2,30 log₁₀ j.t.k./g, jak również stwierdzono podwyższoną zawartość wszystkich badanych mikroorganizmów.

Potwierdzono wyniki wcześniejszych badań autorów niniejszego zadania dotyczące antybakteryjnych zdolności szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum*, wchodzących w skład preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego, które były inspiracją do podjęcia badań w dziedzinie ekologii. Hamowanie rozwoju bakterii patogennych i pleśni przez niektóre szczepy bakterii fermentacji mlekowej prawdopodobnie jest wynikiem synergicznego działania wytwarzanych przez nie metabolitów: bakteriocyn, kwasu mlekowego i octowego, nadtlenu wodoru, peroksydazy mleczanowej, lizozymu, reuteryny i glikolu propylenowego.

Stosowanie preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego do produkcji kiszonek jest bardzo ważne w gospodarstwach ekologicznych, ponieważ nawożenie trwałych użytków zielonych nie zawsze do końca przefermentowanym nawozem organicznym, nawet przy pojedynczych przypadkach utajonych chorób przewodu pokarmowego zwierząt, może być przyczyną skażenia materiału roślinnego bakteriami potencjalnie chorobotwórczymi,

co wykazano porównując skażenie mikrobiologiczne runi łąkowej pochodzącej z TUZ, przy stosowaniu różnych sposobów, terminów nawożenia i ilości płynnych nawozów organicznych.