

Qualität von Futtermitteln und mikrobielle Kontamination

A. ADLER

Einleitung

Gesundheit und Leistung landwirtschaftlicher Nutztiere hängen in wesentlichem Umfang von der mikrobiellen Qualität der eingesetzten (Grund-)Futtermittel ab. Die Bewertung der Futtermittelqualität nach mikrobiologischen Kriterien sowie die Erforschung der Zusammenhänge zwischen Produktions-, Lager- und Konservierungsbedingungen und der mikrobiellen Qualität von Futtermitteln sind daher ein zentrales Anliegen der landwirtschaftlichen Mikrobiologie. Die mikrobiologische Untersuchung ist dabei eine grundlegende Möglichkeit, Futtermittel im Hinblick auf eine hochwertige landwirtschaftliche Qualitätsproduktion und auf maximale Lebensmittelsicherheit geforderte Unverdorbenheit zu beurteilen.

Ein gewisser Keimbesatz ist dabei für Futtermittel normal, auf pflanzlichen Materialien sind zum Zeitpunkt der Ernte unvermeidbar bestimmte Keimgruppen dominierend zu finden. Im Laufe der Lagerung kann eine Veränderung der Mikroflora durch Umschichtung der Arten eintreten, es können sich an die Bedingungen der Lagerhaltung angepasste erwünschte Produkt(ions)-spezifische Keime - wie etwa die für den Silierprozess essentiellen Milchsäurebakterien - oder auch unerwünschte Keime vermehren.

Eine Vermehrung unerwünschter Keime über einen bestimmten Toleranzbereich hinaus bedeutet für ein Futtermittel Verlust an wichtigen Inhalts- und Wirkstoffen. Sie birgt zudem das Risiko der Bildung von Stoffwechselprodukten, die für Tiere unverträglich sind und zu Leistungsminderung führen können. Auch die Mikroorganismen selbst bzw. ihre Zellwandbestandteile sind Faktoren, welche die Reinheit und Unverdorbenheit eines Futtermittels mitbestimmen.

Hinsichtlich des mengenmäßigen Einsatzes in der Fütterung landwirtschaftlicher

Nutztiere kommt betriebseigenen Grundfuttermitteln wie Grünfütter, Heu und Grummet sowie Gras- und Maissilagen eine vorrangige Bedeutung zu, und daher wird im folgenden die mikrobielle Qualität dieser Futterarten näher behandelt.

Grünfütter

Die Primärflora von Grünlandpflanzen ist vor allem durch unterschiedliche Sukzessionen durchwegs saprophytisch oder schwach parasitisch lebender Mikroorganismen charakterisiert. Pflanzliche Abwehrstoffe sowie zahlreiche Antagonismen innerhalb dieser mikrobiellen Epiphytenflora verhindern eine Massenvermehrung einzelner Gruppen von Mikroorganismen, wodurch ihre Besiedlung an lebenden grünen Pflanzen in Grenzen gehalten wird und sich ein Gleichgewicht zwischen Mikroorganismen und Pflanze einstellt. Mit dem Altern der Pflanze nimmt dieses Gleichgewicht zu Ungunsten der Pflanze ab, wobei aber bei Gräsern die mit dem Alterungsprozess einhergehende Verholzung und die gleichzeitige Abnahme des Wassergehaltes eine massive Vermehrung von Bakterien und Pilzen verhindern (DICKINSON 1976, CAMPBELL 1985, LENGAUER 1993).

In der Regel nimmt die mikrobielle Kontamination des Grünfütters von Schnitt zu Schnitt zu, worin sich die Schwächung der Pflanze mit dem Alter, aber auch der erhöhte Infektionsdruck seitens der Biosphäre mit fortschreitender Vegetationszeit widerspiegeln (CAMPBELL 1985, ADLER und LEW 1995). Wenn Grünfütter in einem relativ jungen morphologischen und physiologischen Entwicklungszustand geerntet wird, etwa zum Zeitpunkt des Rispen- bzw. Ährenschiebens der Leitgräser („Qualitätsreife“), ist der Grad der Kontamination mit Bakterien und Pilzen (Feldflora) normalerweise noch eher ge-

ring (CAMPBELL 1985, LENGAUER 1993, LEW 1993, BUCHGRABER et al. 1994, 1996, LEW und ADLER 1996).

Die Bakterienflora wird zu diesem Zeitpunkt zumeist von Gram-negativen Keimgruppen wie Pseudomonaden und epiphytischen Enterobakterien dominiert. Listerien oder sporenbildende Bakterien, wie Bazillen oder Clostridien, zählen dagegen nicht zur originären mikrobiellen Epiphytenflora frischer Grünlandpflanzen. Da sie allerdings im Boden oder auch in Wirtschaftsdünger in hohen Zahlen verbreitet sind, können sie im Verlauf der Ernte durch Verschmutzung in den Futterkreislauf gelangen.

Bei den Pilzen treten neben Hefen regelmäßig Spezies aus verschiedenen Gattungen der Hyphomyceten wie *Acremonium*, *Cladosporium* oder *Verticillium*, sowie gelegentlich auch die toxischen Pilzgattungen *Fusarium* und *Alternaria* auf. Ungleich häufiger werden aber Coelomyceten nachgewiesen, wobei sich Spezies aus den Gattungen *Phoma* und *Ascochyta* vielfach als wichtigste, die Pilzflora ganzer Grünlandbestände dominierende Gattungen erweisen.

Überhöhte Keimzahlen und Mykotoxingehalte sind bei Grünfütter zumeist ein Anzeichen für fehlerhafte Bewirtschaftung, wie etwa eine falsche Zusammensetzung der Pflanzenbestände, zu intensive Stickstoffversorgung (z.B. durch konzentriertes Ausbringen von Wirtschaftsdünger), oder ein zu spät gewählter Erntezeitpunkt (LENGAUER 1993).

Heu und Grummet

Mit dem Schnitt setzt ein Wettlauf zwischen Trocknung und Verderb des Grünfütters ein. Gelingt es nicht eine rasche Trocknung durchzuführen, dann kommt es in feuchtem Futter schnell zu einer massiven Entwicklung der vorhandenen epiphytischen Mikroflora. Entsprechen-

Autor: Dr. Andreas ADLER, BA für Agrarbiologie, Wieningerstraße 8, A-4020 LINZ

de Nährstoffverluste bzw. die mögliche Bildung toxischer Stoffwechselprodukte sind die Folge. So können Fusarien vor allem in solchen Gras- bzw. Heuproben nachgewiesen werden, die nach dem Schnitt noch mehrere Tage bei feuchter Witterung auf der Wiese liegen bleiben (LEW und ADLER 1996).

Auf dem Heulager wird die Reliktflora der Feldpilze, die höhere Feuchtigkeitsansprüche stellt, rasch von einer Lagerflora abgelöst. Die Sporen dieser Lagerpilze sind in geringer Zahl ubiquitär im geernteten Futter vorhanden. Welche Lagerpilzflora sich entwickelt, hängt primär vom Feuchtigkeitsgehalt des Heus im Zusammenspiel mit anderen Faktoren, wie etwa der Temperatur oder einer Belüftung ab. Osmophile oder xerotolerantere Pilze wie *Wallemia sebi* und die Vertreter der *Aspergillus glaucus*-Gruppe dominieren die Pilzflora bei einer Feuchtigkeit des Heus unter 16 %. Wenn auch über das Toxinbildungsvermögen dieser Pilze auf Heu wenig bekannt ist, so bewirkt eine stärkere Verpilzung mit diesen Arten zumindest deutlichen Energieverlust (KASPERSSON et al. 1984, REIB 1986, LEW und ADLER 1996). Ungenügende Trocknung ist eine Hauptursache für hohe Keimgehalte in Heu, zusätzlich wird durch die Atmung der Pilze laufend Wasser produziert, sodass bei zu dichter Lagerung und mangelnder Belüftung der Feuchtigkeitsgehalt des Heus noch zunehmen kann. Schimmelpilze benötigen für diese Entwicklung auch Nährstoffe, die dem befallenen Futter entzogen werden und in der Folge den Futterwert deutlich mindern. Der zunehmende Verderb wird dabei durch eine Sukzession der *Aspergillus*-Arten hin zu *Aspergillus flavus* und *Aspergillus fumigatus* angezeigt. Eine höhere Ausgangsfeuchtigkeit des Heus beschleunigt diese Sukzession, wobei nicht nur die Kardinalpunkte der Wasseraktivität über die Abfolge der *Aspergillus*-Arten entscheiden, zusätzliche Einflussfaktoren stellen die Art und Zusammensetzung des Heus, sowie die Lagerdauer, Temperatur oder auch die cellulolytische Kapazität der Pilze dar (REISS 1986, KASPERSSON et al. 1995).

Ein höherer Feuchtigkeitsgehalt des Heus ermöglicht auch Bakterien das Wachstum und eine Folge der erhöhten

mikrobiellen Stoffwechselfähigkeit ist ein entsprechender Temperaturanstieg. Bei einer Temperatur von 45 °C und mehr setzt sich die thermotolerante bzw. thermophile Mikroflora durch. Dazu gehören vor allem *Aspergillus fumigatus* und Actinomyceten, deren Sporen nach Inhalation allergische Erkrankungen verursachen und bei entsprechendem Infektionsdruck zu einer Ansiedlung im Atmungs- bzw. Verdauungsbereich bei Haustieren und zu schweren Mykosen führen können (THEUNE 1977, McDONALD et al. 1991). Vor allem bei Pferden erweisen sich *Aspergillus*-Allergien auch als Wegbereiter für schwere Folgeinfektionen. Allein im abgelaufenen Jahr 2001 zeigten eigene Untersuchungen, dass in Heuproben aus entsprechenden Schadensfällen durchwegs Keime der *Aspergillus glaucus*-Gruppe oder auch zusätzlich *Wallemia sebi* vorherrschten, wobei das Spektrum der Keimgehalte von etwa 600.000 bis zu mehreren Millionen KBE je Gramm reichte.

Dass Heu als Ursache für Gesundheitsprobleme in der heimischen Tierhaltung in Betracht kommen kann, ist aus der landwirtschaftlichen Untersuchungspraxis bekannt (LENGAUER und LEW 1981, SCHMIDT 1991). Interessant ist allerdings, dass auch Grünmehl-Pellets zu einem hohen Anteil einen erheblichen Keimbesatz aufweisen können (SCHMIDT 1991). Auch Heu-Pellets, die wir im Zusammenhang mit Fütterungsproblemen bei Milchvieh untersuchten, erwiesen sich mit Bakteriengehalten von etwa 60 bis 100 Mio. KBE/g als hochgradig kontaminiert und ein Absetzen der Pellets aus der Futterration führte in den betreffenden Fällen zu einer Behebung der aufgetretenen Probleme.

Mais- und Grassilage

Silage ist durch den Prozess einer natürlichen Milchsäuregärung konserviertes hochwertiges Feld- oder Grünlandfutter, dabei kommt dem Zusammenspiel aller beteiligten Mikroorganismen größte Bedeutung zu. Bis heute stellen aber neben dem Nährstoffgehalt und der Verdaulichkeit vor allem die hauptsächlichen Fermentationsprodukte und nicht die Mikroorganismen selbst eine maß-

gebliche Basis zur Qualitätsbeurteilung dar. Tatsächlich wäre aber ein einheitliches Schema zur Beurteilung der Silagequalität anhand mikrobiologischer Parameter dringend notwendig.

Wirtschaftlich besehen nimmt die Grassilage neben Grünfutter und Trockenfutter (Heu und Grummet) den bedeutendsten Anteil in den Futterrationen von Milchvieh ein. Unabhängig vom schließlich gewählten Silierverfahren gilt es, grundsätzlich mögliche Schwachstellen beim Silieren (Tabelle 1) von Beginn weg zu vermeiden.

Ziel eines optimalen Gärverlaufes in Silagen ist es, den aus Pflanzenzellen stammenden Zucker von Milchsäurebakterien möglichst verlustfrei zu Milchsäure vergären zu lassen. Dabei sind alle am Fermentationsprozess beteiligten Mikroorganismen einer ganzen Reihe von teils wechselseitigen Einflussfaktoren ausgesetzt (Tabelle 2).

Nachfolgend sollen einige Gruppen von Mikroorganismen, denen am ehesten eine relevante Rolle hinsichtlich der Untersuchung und Qualitätsbeurteilung von Silagen aus Sicht der Mikrobiologie zukommen sollte, behandelt (Tabelle 3).

Mikroorganismen

Milchsäurebakterien (MSB): Der Prozess jeder Silierung beruht auf den MSB, die zumindest in geringer Anzahl zur epiphytischen Mikroflora von Pflanzenmaterial zählen. Zu den silagerelevanten MSB zählen dabei nach SNEATH et al. (1986) sowohl homofermentative Mikroorganismen aus den Gattungen *Lactobacillus*, *Streptococcus* und *Pediococcus*, welche überwiegend Milchsäure produzieren, als auch heterofermentative *Lactobacillus*- und *Leuconostoc*-Spezies, die neben Milchsäure auch Essigsäure, CO₂ und andere Verbindungen bilden. Der Silierungsvorgang soll das Wachstum dieser gewünschten Gärungsorganismen und ihre Säureproduktion fördern. Vielfach wird bereits zwischen Ernte und Einsilierung ein markanter Anstieg der Anzahl kultivierbarer MSB beobachtet, vor allem eine stärkere mechanische Aufbereitung des frischen Futters verbessert dabei die Verfügbarkeit von Zellsaft und Pflanzeninhaltsstoffen und führt zu einer stärkeren Mobilisierung der MSB (WOOLFORD 1984,

MCDONALD et al. 1991, PAHLOW 1991, PAHLOW et al. 1995, BUCHGRABER et al. 1996, ADLER et al. 1997). Die Entwicklung der MSB und ihre Säureproduktion im Verlauf der ersten Tage nach Einsilierung entscheiden weitgehend über Gelingen oder Misserfolg der nachfolgenden Fermentation. Bei passenden Bedingungen produzieren MSB sehr rasch und in solchem Ausmaß konservierende Säure, dass die mit im Wettbewerb um leicht umsetzbare Nährstoffe stehenden Mikroorganismen nicht bestehen können und schließlich eine stabile Silage mit niedrigem pH-Wert und ausgewogenem Säuremuster entsteht.

Im Gegensatz zur produzierten Säuremenge sind die Keimzahlen der MSB nicht über den gesamten Verlauf der Konservierung konstant. Verschiedene Keimgruppen von MSB, wie etwa Laktobazillen oder Streptokokken folgen einander in unterschiedlichen Sukzessionen. In den meisten Silagen erreichen die MSB ihre höchsten Keimzahlen spätestens etwa eine Woche nach Einsilierung, danach folgt eine langsame, aber mehr oder weniger stetige Abnahme ihrer Zahlen (MCDONALD et al. 1991, ADLER et al. 1997). Zudem zeigen eigene Untersuchungen, dass die Keimzahlen von MSB in Silagen auch infolge anhaltender Frosteinwirkung drastisch dezimiert werden können. In diesem Sinne ist diese allerwichtigste und produkttypische Gruppe von Mikroorganismen ein mehr als zweifelhafter Indikator für die mikrobielle Qualität, besonders wenn die Silage nach praxisüblicher Lagerung zum Zeitpunkt der Verfütterung untersucht wird. Zu diesem fortgeschrittenen Zeitpunkt scheint eher die Analyse unerwünschter bzw. verderbanzeigender Keime für eine mikrobielle Qualitätsbeurteilung geeignet.

Clostridien: Zumeist führen erdige Verschmutzungen zu einer Kontamination des Futters mit Clostridien, die kaum zur originären mikrobiellen Epiphytenflora frischer Grünlandpflanzen zählen oder nur in geringen Zahlen und vorwiegend in Sporenform darauf zu finden sind. Zusätzlich stellt Wirtschaftsdünger eine häufige Eintragsquelle von Clostridien in das zu silierende Futter dar.

Sind das Siliergut gut verdichtet und der Silo effektiv abgedichtet, entwickeln sich

Tabelle 1: Schwachstellen von Silierverfahren

Zu später Nutzungstermin (oft nicht nur witterungsbedingt)
 Zu geringe oder zu starke Anwelkung, mangelnde Zerkleinerung
 Einsilieren von verschmutztem oder verregnetem Futter
 Zu lange Feldzeiten, verzögertes Vorgehen, Unterbrechung der Befüllung
 Schlechte Verteilung oder Verdichtung des Siliergutes
 Schlechte Abdeckung bzw. Abschluss des Futters im Silo
 Mangelnde Sorgfalt bei der Entnahme, Auflockerung des Futterstockes
 Zu geringe tägliche Entnahmemengen aus dem Silo

Tabelle 2: Einflussfaktoren auf Silage-Mikroorganismen und Gärprozesse

Art und Zusammensetzung des Ausgangsmaterials	Im Zuge des Siliervorganges beeinflussbare Bedingungen
Feuchtigkeitsgehalt, Anwelkung, Verschmutzung	
Erntetechnik, mechanische Aufbereitung, Zerkleinerung	
Verdichtung, Abdeckung, Luftabschluss	
Konservierungsmittel, Silierzusätze	
Grad der Ansäuerung, Gärsäuremuster	
Temperatur	

Tabelle 3: Gruppen von Mikroorganismen mit besonderer Relevanz hinsichtlich Untersuchung und Qualitätsbeurteilung von Silagen *)

• Produkt-typische Mikroorganismen	Milchsäurebakterien
• Mikroorganismen bzw. Keimassoziationen als mögliche Indikatoren im Hinblick auf aerobe und/oder anaerobe Verderbvorgänge	Clostridien, Bazillen Enterobacterien, Pseudomonaden Hefen, Schimmelpilze, Listerien

*) In Anlehnung an WOOLFORD (1984) und MCDONALD et al. (1991)

sehr rasch anaerobe Verhältnisse im Futterstock und der aus dem Pflanzenmaterial austretende Zellsaft stellt ein exzellentes Medium für das Wachstum von Clostridien dar. Nach WOOLFORD (1984) erfolgt die intensivste Entwicklung von Clostridien allerdings vielfach erst in einer späteren Phase der Silierung und ihre Fermentationsprodukte werden vorwiegend erst in reiferen Silagen nachgewiesen.

Clostridien, die auf Grünfutter zunächst vorwiegend im Sporenstadium vorliegen, bevorzugen feuchtes Milieu für ein aktives Wachstum, dagegen wird ihre Entwicklung durch eine Anwelkung des Erntegutes und den damit verbundenen höheren osmotischen Druck im Siliergut entscheidend gehemmt (WOOLFORD 1984, MCDONALD et al. 1991, PAHLOW 1991, BUCHGRABER et al. 1994, 1996, BUCHGRABER 1998). Zudem verhindert auch eine rasche Absenkung des pH-Wertes (< 4,2 bis 4,5 je nach Trockenmassegehalt) im Siliergut das Aufkommen von Clostridien. Auch Nitrat wirkt hemmend auf die Entwicklung von Clostridien (SPOELSTRA 1983, 1985), und in Futter mit zu geringem Nitratgehalt, etwa infolge Extensivierung und stark reduzierter N-Düngung, kann diese inhibitorische Wirkung

deutlich herabgesetzt sein (KAISER 1994, WYSS und VOGEL 1995, WEISSBACH und HONIG 1996). Im weiteren Verlauf der Silierung werden Wachstum und Entwicklung der Clostridien generell durch höhere Lagertemperaturen, geringen Trockenmassegehalt und eine hohe Pufferkapazität des Siliergutes stimuliert. Kann in einer Silage nicht auf Dauer ein stabiler niedriger pH-Wert aufrecht erhalten werden, droht die Aktivität der Clostridien anzusteigen.

Das Wachstum von Clostridien ist in Silagen grundsätzlich unerwünscht, sie können Fehlgärungen verursachen und sie wirken der Silage-Konservierung durch Abbau der konservierenden Milchsäure entgegen. Clostridien sporen überstehen unbeschadet die Passage durch den Verdauungstrakt der Tiere, in der Folge können sie durch fäkale Kontaminationen oder durch Verschmutzungen des Euters auch in die Milch gelangen. Clostridien sporen in der Käseemilch werden auch durch eine Pasteurisierung nicht abgetötet und können schließlich Spätblähungen und Geschmacksbeeinträchtigungen bei Schnitt- und Hartkäse verursachen (GINZINGER et al. 2001). Der Clostridien sporengelalt der Milch stellt daher ein wichtiges Qualitätskriterium für Rohmilch dar.

Die Clostridien-Untersuchung erfolgt zumeist in pasteurisierten Proben und erfasst dadurch nur Sporen. Leider resultiert daraus gelegentlich eine nur äußerst geringe Korrelation zwischen ermittelter Sporenzahl und den analysierten Fermentationsprodukten, wie etwa Ammoniak oder Buttersäure. Aber auch praktisch buttersäurefreie Silagen können viele Sporen enthalten, weil etwa bereits ganz geringe Unzulänglichkeiten im Luftabschluss die Sporulation von Clostridien in den Randschichten des Futterstockes zu fördern scheinen. Dieser Effekt kann auch durch längere Zwischenlagerung von Silagen auftreten (KWELLA et al. 1991), daher ist stets mit einer ungleichmäßigen Verteilung des Sporengehaltes im Silo mit einem besonderen Risiko in den oberflächennahen Bereichen des Futterstockes sowie während der Silageentnahme zu rechnen.

Bazillen: Endosporen formende fakultativ anaerobe Bazillen werden nur in geringen Zahlen am frischen Grünlandfutter gefunden. Sie können sich aber mit fortgeschrittenem aeroben Verderb vor allem bei Silage mit hoher Trockenmasse zur dominanten Keimart entwickeln. Wie Clostridiensporen können auch Sporen von Bazillen über fäkale Verunreinigungen schließlich in die Milch gelangen.

Enterobakterien und Pseudomonaden: Die epiphytische Mikroflora von Grünfutter wird vielfach von Enterobakterien und Pseudomonaden dominiert und ihre Keimzahlen auf dem eingebrachten Futter können während der ersten Tage der Einsilierung noch erheblich ansteigen. Die Entwicklung der MSB und die damit einhergehende Ansäuerung des Futters sollten in der Folge aber zu einer drastischen Reduktion ihrer Zahlen führen. Andererseits sind die in vielen Gram-negativen Bakterien enthaltenen toxischen Substanzen relativ stabil und einmal produziert, bleiben sie auch über längere Perioden der Silagelagerung unbeschadet erhalten (MCDONALD et al. 1991, PAHLOW 1991). Unter bestimmten Bedingungen, wie etwa bei einer verzögert anlaufenden Gärung, können diese Bakterien in hohen Zahlen überdauern, auch aerober Verderb kann zu einer neuerlich einsetzenden massiven Entwicklung führen

(WOOLFORD 1990, MCDONALD et al. 1991). Als Nährstoffkonkurrenten zu den MSB sowie im Zusammenhang mit einer möglichen Produktion von Endotoxinen ist das Vorkommen dieser Keime in Silagen grundsätzlich unerwünscht.

Schimmelpilze: Schimmelpilze benötigen zum Wachstum in der Regel zumindest Spuren von Sauerstoff. Bei einer ordentlich durchgeführten Einsilierung werden Keimzahlen und Artenreichtum der mit dem Erntegut eingebrachten feldbürtigen Pilzflora wegen des rasch entstehenden Sauerstoffmangels, der steigenden CO_2 -Konzentration und auch infolge der Ansäuerung des Futters drastisch reduziert. Feldpilze und mit ihnen die vor allem bei Mais problematischen Fusarien können sich ab diesem Zeitpunkt nicht mehr weiterentwickeln und es kommt daher im Silo normalerweise zu keiner wesentlichen Erhöhung des Mykotoxingehaltes. Bereits vorher gebildete Toxine überstehen aber zumeist die Silierung (LEW 1993).

Luft, die während der Befüllung mit dem Siliergut in den Silo gelangt, sollte dabei nur geringen Einfluss auf die spätere Silagequalität haben, da nach einem dichten Abschluss der verbliebene atmosphärische Sauerstoff binnen kürzester Zeit vor allem durch die Pflanzen verdunstet wird (WOOLFORD 1990, MCDONALD et al. 1991, ADLER et al. 1997). Bei guter Verdichtung und gleichmäßiger Verteilung soll die Luft jedoch ausreichend aus dem Siliergut verdrängt sein, was Atmungsverluste im Futterstock verhindern und optimale Bedingungen für MSB schaffen soll. In der Silierpraxis erweist es sich aber fallweise als sehr schwierig, eine absolute Dichtheit des Silos und damit vollständige Anaerobiose auf Dauer zu gewährleisten und bereits geringste Spuren von Sauerstoff, die im Verlauf der Gärung und Lagerung in die Silage gelangen, können ausreichen, um den Stoffwechsel bestimmter Pilze aufrecht zu erhalten. Nach der Öffnung kann durch eine Auflockerung des Futterstockes bei der Entnahme intensiver Luftzutritt bis in tiefer liegende Schichten der Silage erfolgen.

Normalerweise baut sich bei Lufteinströmen oder nachträglichem Sauerstoffzutritt rasch eine typische Silage-

pilzflora auf, die eine höhere Toleranz gegenüber niedrigen Fettsäuren und höheren CO_2 -Konzentration aufzuweisen scheint. Diese Pilzflora wird von wenigen *Penicillium*-Arten, einigen *Aspergillus*-, *Monascus*- und *Byssoschlamis*-Arten dominiert (REISS 1986, MCDONALD et al. 1991, ADLER und LEW 1993). Unzureichende Verdichtung, vor allem bei grob strukturiertem Pflanzenmaterial und ein hoher Trockenmassegehalt bzw. Anwelkgrad machen Silagen anfälliger gegenüber einer stärkeren Verpilzung (ADLER und LEW 1993, BUCHGRABER et al. 1994), dazu kommen undichte Silobehälter oder beschädigte Planen sowie zu geringe Entnahmemengen als weitere Risikofaktoren hinsichtlich einer Verpilzung.

Toxikologisch sind von der Silagepilzflora vor allem *Penicillium roqueforti* und *Aspergillus fumigatus* bedeutsam (GEDEK et al. 1981). Inwieweit ihr Toxinbildungsvermögen bei Silagen aus der landwirtschaftlichen Praxis zum Tragen kommt und welche Risiken für die tierische Gesundheit erwachsen, ist vorläufig noch nicht restlos geklärt. In stark verpilzten Silageknollen konnte jedenfalls in eigenen Untersuchungen Roquefortin C (bis zu 5 ppm) und Mycophenolsäure (bis zu 80 ppm) nachgewiesen werden (LEW und ADLER 1996). Die Toxizität dieser Verbindungen ist allerdings gering. Im Fütterungsversuch führten praxisrelevante Roquefortin-Gehalte im Futter weder zu toxischen Effekten bei Schafen noch zu einem für die menschliche Gesundheit relevanten Carry-over des Toxins ins tierische Gewebe (BAUER et al. 1997).

Hefen: Verschiedene Hefearten zählen zur Feldpilzflora und gelangen mit dem Futter in die Silage. Hefen sind säuretolerant, vertragen einen niederen pH-Wert und können ihren Stoffwechsel sowohl auf aerobe als auch auf anaerobe Verhältnisse ausrichten. Sie werden als Hauptverursacher des Verderbs selbst zunächst gut konservierter Silagen infolge aerober Umsetzungen nach Luftzutritt angesehen. Oberhefen wie *Candida* sp. bauen neben Zucker unter anderem die Milchsäure ab, und können, wenn genügend Luftsauerstoff zur Verfügung steht, eine kräftige Nacherwärmung auslösen. Gleichzeitig wird bei diesem Vor-

gang auch der pH-Wert erhöht und so das Milieu auch für andere Mikroorganismen aufbereitet (MCDONALD et al. 1991). Maissilagen sind in dieser Hinsicht bedeutend anfälliger als Grassilagen, und insbesondere zu geringe tägliche Entnahmemengen stellen einen bedeutenden Risikofaktor dar. Bereits ein geringer Sauerstoffgehalt, etwa durch schleichenden Luftzutritt, kann das Wachstum von Hefen anheizen, zusätzlich scheinen sowohl Ergebnisse eigener Untersuchungen als auch die von anderen Autoren (WEISE 1989, ROUEL und WYSS 1994, LEW und ADLER 1996) einen Zusammenhang zwischen einem niedrigen Essigsäuregehalt und der Verhelfung von Silagen aufzuzeigen.

Im Tier kann stark verheftetes Futter Störungen im gesamten Verdauungstrakt bewirken, wodurch Folgen wie etwa Minderaufnahmen oder Leistungseinbußen verursacht werden können (WIEDNER und NEUHAUSER 1996).

Als Ursachen hoher Hefezahlen können, vergleichbar mit den Risikofaktoren hinsichtlich einer Verschimmelung des Futters, Silierfehler wie etwa eine verspätete Ernte, langsame oder unterbrochene Silobefüllung, oder mangelhafte Verteilung und Verdichtung des Siliergutes in Frage kommen. Zu geringe Entnahmemengen sind im Zusammenhang mit dem Problem der Nacherwärmung zu sehen, sie können im Bereich der Anschnittfläche zu einer starken Vermehrung von Hefekeimen und in der Folge zu aerobem Nährstoff- und vor allem Milchsäureabbau führen.

Listerien: Durch den steigenden Trend zur Direktvermarktung und der im Zuge der Biowelle verstärkten Nachfrage nach Rohmilch und Rohmilchprodukten hat die Listerienproblematik in der Milchgewinnung wieder beträchtlich an Bedeutung gewonnen.

Listerien sind anspruchslose aerobe oder fakultativ anaerobe Keime. Trotz häufiger Exposition werden aber Infektionen bei Milchvieh vergleichsweise selten nachgewiesen. Ein direkter Listerieneintrag in die Rohmilch durch infizierte Kühe ist selbst bei Verfütterung minderwertiger Silagen in der Regel nicht gegeben, die Kontamination der Rohmilch mit Listerien erfolgt vielmehr vor allem aus dem Umfeld (SLADE et al. 1989).

Kontaminierte Silage (SANAA et al. 1993) und vor allem fäkale Verunreinigungen werden vielfach als Hauptinfektionsquelle für die Kontamination der Rohmilch mit Listerien angesehen (SEELIGER 1989, MCDONALD et al. 1991). In diesem Zusammenhang sind Fütterungs- und Haltungsbedingungen, wobei hier neben der Stall- und Melkhygiene auch der Qualität von Silagen eine ganz besondere Bedeutung beigemessen wird, die wesentlichsten Einflussfaktoren (PLESS et al. 1999, ADLER et al. 2000, PÖTSCH et al. 2001).

Listerien zählen nicht zur originären mikrobiellen Epiphytenflora frischer Grünlandpflanzen. Da sie im Boden jedoch weit verbreitet sind, können sie infolge von Verschmutzungen über die konservierten Pflanzen in den Futtermittelkreislauf und somit in den Stall und zum Tier gelangen. Listerienhaltige Futtermittel führen durchwegs auch zu einem positiven Listerienachweis im Kot der Tiere (SKOVGAARD und MORGEN 1988). Auch aufgrund einer lokalen Besiedelung ihres Intestinaltraktes können ansonsten symptomfreie gesunde Milchkühe (Dauerausscheider, carrier) Listerien in großer Zahl im Kot ausscheiden (SLADE et al. 1989). Über den ausgeschiedenen Kot und den in weiterer Folge auf die Felder rückgeführten Wirtschaftsdünger wird schließlich ein möglicher betriebsinterner Infektionskreislauf geschlossen.

In Silage werden Vorkommen und Entwicklung von Listerien vor allem durch den Säuregrad und das Ausmaß der Anaerobiose begrenzt. Das Wachstumsoptimum liegt dabei für Listerien im schwach alkalischen Bereich. Im Kulturversuch mit *L. monocytogenes* erfolgte im sauren Bereich ein rascher Aktivitätsabfall und unter pH 4 wurde das Wachstum praktisch eingestellt (BECK und GROSS 1991). Ist Sauerstoff jedoch zumindest in Spuren vorhanden, kann *L. monocytogenes* auch bei einem pH-Wert von etwa 4 noch für einen längeren Zeitraum in Silagen überleben, wird aber unter strikt anaeroben Verhältnissen bei diesem pH-Wert rasch abgetötet (DONALD et al. 1995). Mit dem Grad der Anfälligkeit gegenüber aerobem Verderb erhöht sich für Silagen das Risiko einer Listerienkontamination (FENLON et al. 1989). In gut konservierten Silagen mit

einem stabilen niederen pH-Wert kommen Listerien dagegen gar nicht erst zur Entwicklung und die Erhaltung strikt anaerober Bedingungen in der Silage gilt als effektivste Maßnahme zur Vermeidung ihrer Vermehrung (MCDONALD et al. 1991).

Nachweisverfahren

Für eine einheitliche Beurteilung der mikrobiellen Unverdorbenheit müssen sowohl die angewandten Untersuchungstechniken als auch die Interpretation der ermittelten Ergebnisse eine gemeinsame Grundlage aufweisen.

Bei der Untersuchung auf Listerien wurde nach ÖNORM EN ISO 11290-1 vorgegangen. Die Bestätigung verdächtiger Kolonien erfolgte anhand der Morphologie, Katalasereaktion und mittels ELISA. Für die Listerienquantifizierung wurde bei positiven Nachweisen das zwischenzeitlich bei 4°C gelagerte Probenmaterial auch einer Titerbestimmung unterzogen.

Die Bestimmung der Clostridiensporen sowie der Nachweis von *Clostridium tyrobutyricum*-Sporen wurden in Anlehnung an die von JONSSON (1990) beschriebene Methode in RCM-Medium bzw. in Tyrobutyricum-Bouillon, jeweils supplementiert mit D-Cycloserin und Neutralrot, durchgeführt (ADLER 1993, 1999; BUCHGRABER et al. 1996).

Die Durchführung von Keimgehaltsbestimmungen erfolgte auf Basis der von SCHMIDT et al. (1981) erarbeiteten und im Jahre 1993 in Berlin von der IAG/EFMO (European Feed Microbiology Organisation) modifiziert übernommenen Methodik. Mit diesem in *Tabelle 4* kurz beschriebenen Lebendkeimzählverfahren (SCHMIDT et al. 1981, IAG/EFMO 1993) sind sowohl produkttypische, als auch verderbanzeigende Bakterien, Hefen und Schimmelpilze nachzuweisen und müssen entsprechend diagnostisch differenziert werden. MSB wurden nach dem in *Tabelle 4* beschriebenen Verfahren als Gruppe der verschiedenen homo- und heterofermentativen Stäbchen und Kokken auf modifiziertem MRS-Agar (ADLER 1993) erfasst.

Mikrobiologische Vorgänge von Verderbprozessen unter der Beteiligung von Bakterien, Schimmelpilzen und Hefen

Tabelle 4: Kurzbeschreibung von Probenvorbereitung und Untersuchungsmethodik

Probenvorbereitung *)		Probe vermahlen (Heu) oder mit einer Schere zerkleinern	
Einwaage / Suspendierung		40 g/360 ml oder 20 g/380 ml (Heu) in Stomacher-Beutel	
Suspendierungs- / Verdünnungslösung		Gepufferte Pepton-Natriumchlorid-Lösung, die einen Zusatz von Tween 80 enthält	
Untersuchungsmethodik		Nährmedien	Technik / Inkubation
Mesophile (fakultativ) aerobe Bakterien (ohne MSB)		Pepton-Fleischextrakt-Glukose-Agar nach SCHMIDT et al. (1981)	Ausstrichverfahren Inkubation: aerob, 4 bis 7 Tage, 30°C
Schimmelpilze und Hefen		Malzextrakt-Hefeextrakt-Glukose-Bengalrosa-Agar nach SCHMIDT et al. (1981), modif. (IAG/EFMO 1993)	Ausstrichverfahren Inkubation: aerob 7 Tage, 25°C
Milchsäurebakterien (MSB) (ADLER 1993)		MRS-Agar (Merck) supplementiert mit 0,5 g/l gepulvertem Kalk 4 ml/l Essigsäure	Ausstrichverfahren, Inkubation: anaerob BBL Gas-Pack System, 5 Tage, 30°C
Clostridiensporen (JONSSON 1990, ADLER 1993)		RCM-Medium (Oxoid) supplementiert mit 0,05 g/l Neutralrot, 0,20 g/l D-Cycloserin	Erhitzung: 20 min, 75°C, MPN-Technik Inkubation: anaerob, 5 Tage, 30°C
<i>Listeria</i> spp. (EN ISO 11290)		Fraser-Bouillon, Supplemente halb-, anschl. voll konzentriert Palcam- und Oxford-Agar	Inkubation: aerob 24 h 30°C, anschl. 48 h 37°C 1 bis 2 Tage, 37°C

*) Methode von SCHMIDT et al. (1981) nach Modifikation durch die IAG/EFMO (1993)

sind sehr vielfältig und spiegeln sich in unterschiedlicher Weise in den Ergebnissen der Keimzahlbestimmung und den Anteilen einzelner Gruppen von Mikroorganismen wider. Die ermittelten Analysenergebnisse müssen daher sowohl nach Höhe der Keimzahlen als auch nach der Artenzusammensetzung der Mikroflora anhand von Erfahrungs- oder Orientierungswerten interpretiert werden.

Interpretation

Während der vergangenen Jahrzehnte wurden hunderte Heu- und Silageproben aus Praxisbetrieben untersucht, um einen zwar regional bezogenen aber repräsentativen Überblick über den aktuellen hygienischen Zustand von Grundfutter in Österreich zu erhalten. Ein wesentlicher Teil der Proben stammte dabei aus Forschungsprojekten, die unter anderem in Zusammenarbeit mit der BAL Gumpenstein durchgeführt wurden, und die vor allem auf eine Erfassung von Zusammenhängen zwischen Methoden der Heu- und Silagebereitung und der entsprechenden Futterqualität abzielten. Zusätzlich wurden zahlreiche bei Schadensfällen inkriminierte Futtermittel untersucht. Die hohe Anzahl der somit bei bekannten Rahmenbedingungen (Betriebskenndaten, Probenahme, Proben-transport, etc.) untersuchten Proben, signifikante Korrelationen mit anderen Parametern der Futtermittel-Untersuchung sowie die charakteristische Ver-

teilung der ermittelten Keimzahlen erlaubten eine statistische Aufarbeitung des Datenmaterials mit dem Ziel, Erfahrungswerte für die Beurteilung der mikrobiellen Qualität von Grundfutter zu formulieren.

Die tatsächliche Verteilung von Mikroorganismen in einem Futtermittel entspricht in den seltensten Fällen einer Normalverteilung oder einer Zufallsverteilung, sondern sie liegen meist in Klumpen oder Zellaggregaten vor. Bei der Gesamtheit aller Proben eines Futtermittels ist hingegen für Keimgruppen, die mit großer Häufigkeit vorkommen, annähernd eine Normalverteilung zu erkennen.

Ein gewisser Keimbesatz ist dabei für Futtermittel normal, auf pflanzlichen Materialien sind unvermeidbar produkttypische Keime in mehr oder weniger hohen Zahlen anzutreffen und müssen innerhalb gewisser Grenzen akzeptiert werden. Der vielfach zur Beschreibung der Normalität von Eigenschaften herangezogene 2/3-Wert (das 66. Perzentil) wird in den Tabellen 5, 6 und 7 als ein „Erfahrungswert für Keimzahlen in Grundfutter guter Qualität“ angeführt und soll nicht als Grenzwert zwischen Qualitätskategorien aufgefasst werden. Dieser Wert ist eine Interpretationshilfe und dient einer Orientierung, welches produktspezifische Mikroorganismenspektrum zu erwarten und welche Mikroorganismengehalte in den jeweiligen

Futtermitteln erreichbar sind. Andere Voraussetzungen gelten für verderb- anzeigende Keime. Hier zeigt die Überschreitung bestimmter Keimzahlen eine Vermehrung in einem nicht gewünschten Umfang an und damit Verderbvorgänge, die unter guten Produktions- und Lagerbedingungen verhindert werden (können) sollten.

Die Einzelbetrachtung bestätigt diese durch Konvention festgelegte Vorgehensweise und soll anhand eines Beispiels (Bakterienbesatz von Silageproben) erläutert werden. Wie aus dem grundsätzlich auch für andere Keimgruppen gültigen Kurvenverlauf in *Abbildung 1* ersichtlich, nehmen die Keimzahlen bis in den Bereich um das 90. Perzentil der Zahl untersuchter Proben eher gleichmäßig zu, um dann zunehmend steiler anzusteigen. Der Bereich oberhalb des 95. Perzentils kann daher als jene Schnittstelle interpretiert werden, ab der die Normalität bezogen auf eine einzelne Keimgruppe signifikant verlassen wird.

Ob und inwieweit beim Überschreiten dieses Signifikanzwertes im Bereich des 95. Perzentils durch die verschiedenen untersuchten Keimgruppen auch mit leistungsmindernden bzw. gesundheitsbeeinträchtigenden Wirkungen (z. B. Defizite an Nähr- und Wirkstoffen, Schädigungen des resorptiven Darmepithels, alimentäre Intoxikationen durch bakteriogene oder mykogene Toxine, Immun-

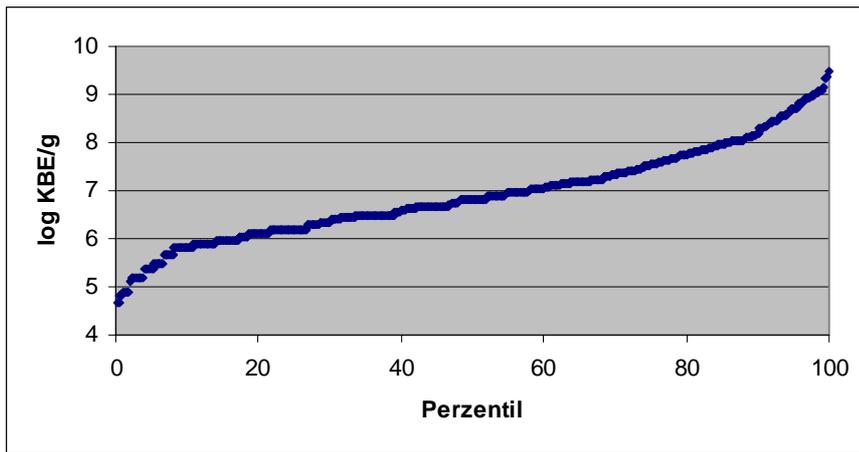


Abbildung 1: Bakterienbesatz von 522 Grassilagen, Untersuchungsjahre 1988 bis 1991

Tabelle 5: Erfahrungswerte für Keimzahlen in Heu und Grummet, gerundet

Heu und Grummet (log KBE/g)	Erfahrungswerte für Keimzahlen, gerundet Heuproben hoher mikrobieller Qualität	Verdacht mikrobiell bedingter Qualitätsminderung
Bakterien, gesamt	< 7	> 8
Pilze, Feldflora	< 5	> 6
Pilze, Lagerflora	< 4	> 5

Tabelle 6: Erfahrungswerte für Keimzahlen in Gras- und Maissilagen, gerundet

Grassilagen * (log KBE/g)	Erfahrungswerte für Keimzahlen, gerundet Grassilagen hoher mikrobieller Qualität	Verdacht mikrobiell bedingter Qualitätsminderung
Bakterien, aerob	< 7	> 8
Schimmelpilze	< 3	> 5
Hefen	< 3	> 5

Maissilagen * (log KBE/g)	Erfahrungswerte für Keimzahlen, gerundet Maissilagen hoher mikrobieller Qualität	Verdacht mikrobiell bedingter Qualitätsminderung
Bakterien, aerob	< 6	> 8
Schimmelpilze	< 3	> 5
Hefen	< 6	> 7

* Mindestens 2 Monate gelagert

Tabelle 7: Erfahrungswerte für Keimgehalte bzw. Sporenzahlen in Silagen, gerundet

Gras- und Maissilagen (log KBE/g)	Erfahrungswerte für Keimgehalte, gerundet Gras- und Maissilagen hoher mikrobieller Qualität
<i>Clostridium</i> sp.	< 4
<i>C. tyrobutyricum</i>	< 3
<i>Listeria</i> sp.	in 25 g nicht nachweisbar

suppressionen) insbesondere bei Jung- und Zuchttieren, gerechnet werden muss, kann aus den Keimzahlen zwar nicht direkt beurteilt werden, das entsprechende Risiko ist jedenfalls deutlich erhöht. Nach einer statistischen Auswertung von Datenmaterial aus der langjährigen Laborroutine und unter Berücksichtigung von Untersuchungsreihen, die unter anderem in Zusammenarbeit mit der BAL Gumpenstein im Laufe der 80er und 90er

Jahre durchgeführt wurden, stellte sich unter Praxisbedingungen etwa die Anwendung der in den Tabellen 5, 6 und 7 zusammengefassten Erfahrungswerte als praktikabel heraus. In ihrer Dimension entsprechen dabei die Erfahrungswerte für Keimzahlen von Futter höchster mikrobieller Qualität jeweils einem etwa im Bereich des 66. Perzentils angesiedelten Orientierungswert. Beim Überschreiten eines seiner Größenordnung nach im Be-

reich des 90. bis 95. Perzentils liegenden Signifikanzwertes besteht für Futterproben der Verdacht mehr oder weniger fortgeschrittener mikrobiell bedingter Qualitätsminderung.

Die in Tabelle 5 angegebenen Keimzahl-Erfahrungswerte für Proben hoher Qualität decken sich mit den von LENGAUER und LEW (1981) angegebenen Toleranzwerten. Diese Autoren verwiesen auch bereits darauf, dass die Risikoeinschätzung für ein Futtermittel natürlich nicht nur von der Höhe der Keimzahlen, sondern von vielen zusätzlichen Faktoren abhängt, so z.B. auch von der artenmäßigen Zusammensetzung der Mikroflora und der Vorgeschichte des Futtermittels. Wurde es etwa heißluftgetrocknet, so sind seine Keimzahlen anders zu beurteilen, als wenn es eine Selbsterhitzung durchgemacht hat. SCHMIDT (1981) berücksichtigte in seiner Zusammenstellung auch Untersuchungsergebnisse von Proben aus Schadensfällen, sodass die von ihm angegebenen Werte sowohl bezüglich des Bakterien- als auch des Pilzbesatzes etwa eine halbe Logstufe höher liegen.

Im Gegensatz zu den mehr oder weniger futtertypischen Feldpilzen wurde der für verderbanzeigende Lagerpilze angegebene Signifikanzwert für Heuproben nicht im Bereich des 90. bis 95. Perzentils angesetzt, sondern in einer Größenordnung, die erfahrungsgemäß noch keine verminderte Qualität anzeigt oder die erfahrungsgemäß auch bei Pferden noch keine leistungsmindernden bzw. gesundheitsbeeinträchtigenden Wirkungen auslösen sollte.

Bei der Interpretation von Ergebnissen aus der mikrobiologischen Untersuchung von Silagen sind in wesentlich stärkerem Ausmaß als bei der Untersuchung von trockenen Futtermitteln auch andere, nicht im Bereich des Untersuchungslabors liegende Einflussfaktoren, wie etwa Art und Zeitpunkt der Probenahme, die Verpackung der Probe, oder auch der Probenversand bzw. Probentransport, zu berücksichtigen. Als Berechnungsgrundlage für die in den Tabellen 6 und 7 zusammengestellten Erfahrungswerte für Keimgehalte in Gras- und Maissilagen wurden daher nur Ergebnisse von solchen Proben herangezogen, die fachgerecht, etwa mit einem Probenstecher, aus dem Kernbereich von möglichst zum

Zeitpunkt der Probenahme noch ungeöffneten oder erst kurz geöffneten Silagen entnommen und unverzüglich zur Untersuchung gebracht oder versandt worden sind.

Werden in einer Silageprobe höhere, die in *Tabelle 6* angeführten Signifikanzwerte übersteigende Gehalte an unerwünschten Keimen festgestellt, und lassen sich nachteilige, etwa aus dem Bereich von Probenahme oder Probenversand herrührende Einflüsse ausschließen, ist jedenfalls der Verdacht mikrobiell bedingter Qualitätsminderung gegeben. Entsprechend dem festgestellten Fortschritt des Verderbnisprozesses können eventuell auch Empfehlungen bzw. Einschränkungen bezüglich der Verfütterbarkeit getroffen werden. Erfahrungswerte (vergl. *Tabelle 7*) zeigen auch, dass geringe Clostridiengehalte in Silagen - abhängig vom jeweiligen Produktionsverfahren - vielfach akzeptiert werden müssen, während das Vorkommen der potentiell pathogenen Listerien in Silagen grundsätzlich unerwünscht ist.

Nur sorgfältig gezogene und unverzüglich versandte Silageproben führen zu einem sinnvoll interpretierbaren Ergebnis. Zu berücksichtigen ist insbesondere, dass etwa Teilproben von Rand- oder oberflächennahen Schichten in ihrer hygienischen Beschaffenheit vom Durchschnitt stark abweichen oder dass die Keimgehalte von Silageproben während des Transportweges drastisch ansteigen können. Nicht zuletzt auf diesen Einflussfaktoren dürften möglicherweise auch Abweichungen zwischen den in *Tabelle 6* formulierten Werten und den Ergebnissen anderer Studien beruhen, wobei allerdings die festgestellten Abweichungen nicht einseitig gerichtet ausfielen (ADLER 1999). In ihrer grundsätzlichen Tendenz entsprechen jedoch die in den *Tabellen 6* und *7* angeführten Keimgehalte den Resultaten vergleichbarer Untersuchungsreihen und umfangreichen Erfahrungen aus der Untersuchungspraxis (LENGAUER und LEW 1981, BUCHGRABER et al. 1994, KOCH 1996, BUCHGRABER 1998, WIEDNER und NEUHAUSER 1996, STRAUSS 1999, 2000).

Literatur:

- ADLER, A., 1993: Zur Beurteilung der mikrobiellen Qualität von Silagen. Bericht IAG-Jahrestagung, Berlin, 43-57
- ADLER, A., 1999: Discussion of an EFMO method for microbiological analysis and interpretation of silage quality. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings, Leipzig, 8-12
- ADLER, A. und H. LEW, 1993: Untersuchungen zur mikrobiellen Qualität von Gras- und Mais-silagen. Veröff. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein 20, 43-51
- ADLER, A. und H. LEW, 1995: Dynamik der epiphytischen Mikroflora auf Grünlandpflanzen im Zusammenhang mit verschiedenen Düngungsvarianten. Die Bodenkultur 46, 223-240
- ADLER, A., C. BERGER, J. NEUHAUSER und H. LEW, 1997: Dynamik der epiphytischen Milchsäurebakterienflora auf Grünlandpflanzen vom Feldbestand bis zur Silage. Die Bodenkultur 48, 165-171
- ADLER, A., P. PLESS, R. RESCH und E. M. PÖTSCH, 2000: Silage quality and incidence of *Listeria* spp. in raw milk. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings, Bonn, 15-20
- BAUER, J., G. TÜLLER, S. WIEDENMANN, G. ARMBRUSTER, K. SEIDEL, D. SCHAMS und T. HÄNICHEN, 1997: Toxicity of roquefortine in sheep. Proc. 19. Mykotoxin-Workshop, München, 181-185
- BECK, T. und F. GROSS, 1991: Entwicklungsmöglichkeiten von pathogenen Listerien in Silagen - Einfluss von pH-Wert und Zusatz von Konservierungsstoffen. Das wirtschaftseigene Futter 37, 68-78
- BUCHGRABER, K., 1998: So verdirbt schlechte Silage die Milch. Der fortschrittliche Landwirt 5, 6-7
- BUCHGRABER, K., G. GINDL und A. DEUTSCH, 1994: Zeitgemäße Grünlandbewirtschaftung. Leopold Stocker Verlag, Graz
- BUCHGRABER, K., R. RESCH und A. ADLER, 1996: Einfluss des Nutzungszeitpunktes bei der Silierung von Grünlandfutter. Veröff. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein 27, 1-38
- CAMPBELL, R., 1985: Plant microbiology. Edw. Arnold Publ. Ltd., London
- DICKINSON, C.H., 1976: Fungi on the aerial surfaces of higher plants. In: Dickinson, C.H. and T.F. Preece (Eds.): Microbiology of aerial plant surfaces. Academic Press, London, 293-324
- DONALD, A.S., D.R. FENLON und B. SEDDON, 1995: The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. J. Appl. Bacteriol. 79, 141-148
- FENLON, D.R., J. WILSON und J.R. WEDDELL, 1989: The relationship between spoilage and *Listeria monocytogenes* contamination in bagged and wrapped big bale silage. Grass Forage Sci. 44, 97-100.
- GEDEK, B., J. BAUER und H. SCHREIBER, 1981: Toxinbildung Silage-verderbender Schimmelpilze. Wien. tierärztl. Mschr. 68, 299-301
- GINZINGER, W., F. ELISKASES-LECHNER und F. OSL, 2001: Einfluss der Silage auf die Milch. Bericht ALVA-Tagung „Landwirtschaftliche Qualitätsprodukte - Basis für hochwertige Nahrungsmittel“. Wolfpassing, 161-162
- IAG, 1993: Verfahren zur mikrobiologischen Untersuchung von Futtermitteln. Internationale Arbeitsgemeinschaft für Futtermitteluntersuchung, Fachgruppe Mikrobiologie, Berlin
- JONSSON, A., 1990: Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, D-cycloserine, and lactatdehydrogenase activity. J. Dairy Sci. 73, 719-725
- KAISER, E., 1994: Zur Bedeutung des Nitratgehaltes im Grünfutter. VDLUFA-Schriftenreihe 38, 445-448
- KASPERSSON, A., R. HLÖDVERSSON, U. PALMGREN und S. LINDGREN, 1984: Microbial and biochemical changes occurring during deterioration of hay and preservative effect of urea. Swedish J. agric. Res. 14, 127-132
- KOCH, J., 1996: Microbiological quality of grass silages from Rheinland-Pfalz. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings, Speyer, 69-78
- KWELLA, M., F. WEISSBACH und S. KÖLLER, 1991: Clostridiensporengehalte im Rinderkot als Kriterium für die Fütterungshygiene bei der Erzeugung käseereitauglicher Milch. VDLUFA-Schriftenreihe 33, 557-562
- LENGAUER, E., 1993: Die Mikroflora auf lebenden und abgestorbenen Pflanzenteilen, ihre Bedeutung und ihre Auswirkung. In: Mykotoxine in der landwirtschaftlichen Produktion (II). Aktuelle Probleme der landwirtschaftlichen Produktion. Veröffentlichungen der Bundesanstalt für Agrarbiologie Linz, 21, 83-124
- LENGAUER, E. und H. LEW, 1981: Über den mikrobiellen Zustand wirtschaftseigener Futtermittel. Wien. tierärztl. Mschr. 68, 288-298
- LEW, H., 1993: Die aktuelle Mykotoxinsituation in der heimischen Landwirtschaft. In: Mykotoxine in der landwirtschaftlichen Produktion (II). Aktuelle Probleme der landwirtschaftlichen Produktion. Veröffentlichungen der Bundesanstalt für Agrarbiologie Linz, 21, 5-26
- LEW, H. und A. ADLER, 1996: Mikrobielle Qualität von Grund- und Krafffutter. Bericht über die 23. Tierzuchttagung „Futterbewertung und Futterqualität, Stoffwechsel und Gesundheit, Milchviehfütterung sowie alternative Formen der Rindermast“. BAL Gumpenstein, 29-38
- MCDONALD, P., A.R. HENDERSON und S.J.E. HERON, 1991: The biochemistry of silage. 2nd ed., Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK
- ÖNORM EN ISO 11290-1:1996: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln. Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes*. Teil 1: Nachweisverfahren.
- PAHLOW, G., 1991: Role of microflora in forage conservation. Landbauforschung Völknerode, Sonderheft 123, 26-36
- PAHLOW, G., T. MÜLLER und D. LIER, 1995: Einfluss des Ernteverfahrens auf die Nachweisbarkeit epiphytischer Laktobakterien von Fut-

- terpflanzten. Das wirtschaftseigene Futter 41, 306-326
- PLESS, P., A. DEUTZ, J. KÖFER, E.M. PÖTSCH, und W. OBRITZHAUSER, 1999: Einfluss der Silagequalität und der Melkhygiene auf den Listeriengehalt in Rohmilch. 40. DVG-Arbeitstagung - Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 272-277.
- PÖTSCH, E.M., A. ADLER, P. PLESS, A. DEUTZ und W. OBRITZHAUSER, 2001: Zum Auftreten von Listerien in steirischen Milchviehbetrieben. Bericht ALVA-Tagung „Landwirtschaftliche Qualitätsprodukte - Basis für hochwertige Nahrungsmittel“. Wolfpassing, 125-126
- REISS, J., 1986: Schimmelpilze - Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung. Springer-Verlag, Berlin
- ROUEL, M. und U. WYSS, 1994: Aerobe Stabilität von Maissilagen. Agrarforschung 1, 393-396
- SANAA, M., B. POUTREL, J.L. MENARD and F. SERIEYS, 1993: Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. J. Dairy Sci. 76, 2891-2898
- SCHMIDT, H.L., 1991: Zur Keimzahlverteilung bei Stroh, Heu und Grünmehl-Pellets. Bericht IAG-Jahrestagung. Linz 75-79
- SCHMIDT, H.L., E. BUCHER und G. SPICHER, 1981: Keimgehaltsbestimmung von Bakterien, Schimmelpilzen und Hefen in Futtermitteln – Nährböden und Methodik. Landwirtsch. Forsch. 34, 242-250
- SEELIGER, H.P.R., 1989: *Listeria monocytogenes*. Forum Mikrobiologie 6, 300-304
- SKOVGAARD, N. and C.A. MORGEN, 1988: Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. Int. J. Food Microbiol. 6, 229-242
- SLADE, P.J., E.C. FISTROVICI and D.L. COLLINS-THOMPSON, 1989: Persistence at source of *Listeria* spp. in raw milk. Int. J. Food Microbiol. 9, 197-203
- SNEATH, P.H.A. (ed.), N.S. MAIR, M.E. SHARPE and J.G. HOLT, 1986: Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore, USA
- SPOELSTRA, S.F., 1983: Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. J. Sci. Food Agr. 34, 145-152
- SPOELSTRA, S.F., 1985: Nitrate in silage. A review. Grass Forage Sci. 40, 1-11
- STRAUSS, G., 1999: Microbiological quality of silages in Rheinland-Pfalz in the feeding period 1998/99. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings. Leipzig, 13-19
- STRAUSS, G., 2000: Microbiological quality of silages in Rheinland-Pfalz in the feeding period 1999/2000. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings. Bonn, 33-37
- THEUNE, H.H., 1977: Konservierungsmittel bei der Heubereitung. Das wirtschaftseigene Futter 23, 88-100
- WEISE, G., 1989: Aerobic stability of silages and factors influencing it. Proceedings of the International Symposium on production, evaluation and feeding of silage. Rostock, 123-130
- WEISSBACH, F. und H. HONIG, 1996: Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau. Landbauforschung Völknerode 46, 10-17
- WIEDNER, G. und J. NEUHAUSER, 1996: Ursachen, Auswirkungen und Maßnahmen zur Verhinderung von Futtermittelpilzungen. Der fortschrittliche Landwirt 21, SB 1-6
- WOOLFORD, M.K., 1990: The detrimental effects of air on silage. J. Appl. Bacteriol. 68, 101-116
- WOOLFORD, M.K., 1984: The Silage Fermentation. Microbiological Series, 14, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel
- WYSS, U. und R. VOGEL, 1995: Silagequalität von Grünfütter aus intensiver und extensiver Bewirtschaftung. VDLUFA-Schriftenreihe 40, 441-444

