

Effects of molasses and commercial inoculant on silage quality of cultivated nettle (*Urtica dioica* L.)

Utjecaj melase i komercijalnog inokulanta na kvalitetu silaže kultivirane koprive (*Urtica dioica* L.)

Darko UHER¹ (✉), Sanja FABEK UHER², Nevena OPAČIĆ², Sanja RADMAN²

¹ University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Forage and Grassland, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

² University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Vegetable Crops, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

✉ Corresponding author: duher@agr.hr

Received: June 21, 2023; accepted: February 13, 2024

ABSTRACT

Cultivated nettle *Urtica dioica* L., a member of the *Urticaceae* family, is widely distributed throughout the temperate regions of the world and can be used as a nutritious feed for animals through the winter period. The aim of this research was to determine (i) the nutritional value of freshly cultivated nettle *Urtica dioica* L. grown in the open field and (ii) the fermentation value of cultivated nettle *Urtica dioica* L. ensiled with additives, including a commercial inoculant containing bacteria that produce lactic acid and molasses from sugar beet after 60 days of ensiling. Cultivated nettle *Urtica dioica* L. was ensiled in six treatments: without additions (control); with sugar beet molasses (2, 4, and 6%) per 1 kg of fresh mass and a commercial inoculant (2 and 4 g/t of fresh mass) in five replicates. The results of this research showed that the cultivated nettle *Urtica dioica* L. contains a large proportion of proteins and some essential minerals, including calcium, and is especially rich in magnesium and iron. Without the addition of sugar beet molasses and without treatment with a commercial inoculant, poorly preserved silage from cultivated nettle was obtained. With 2% molasses, poorly preserved silage was obtained, but with 4 and 6% molasses, well-preserved silage from cultivated nettle was obtained. Based on the results of these studies, it is recommended to use sugar beet molasses during ensiling in a concentration of 4 to 6% of the fresh mass of cultivated nettle. In future research, it would be interesting to test the joint application of commercial inoculants and sugar beet molasses when preparing cultivated nettle *Urtica dioica* L. for silage on the farm.

Keywords: cultivated nettle, silage, molasses, commercial inoculant, chemical composition, fermentation parameters

SAŽETAK

Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L., član porodice *Urticaceae*, široko je rasprostranjena u umjerenim dijelovima svijeta i može se koristiti kao krma za hranidbu životinja u zimskom razdoblju. Cilj je ovog istraživanja bio utvrditi (i) hranjivu vrijednost svježe kultivirane koprive *Urtice dioica* L. uzgojene na otvorenom polju i (ii) fermentacijske vrijednosti kultivirane koprive *Urtica dioica* L. silirane s dodacima, uključujući komercijalni inokulant koji sadrži bakterije koje proizvode mliječnu kiselinu te melasu od šećerne repe 60 dana nakon siliranja. Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. silirana je u šest tretmana: bez dodataka (kontrola); s melasom šećerne repe (2, 4 i 6%) na 1 kg svježe mase i komercijalnim inokulantom (2 i 4 g/t svježe mase) u pet ponavljanja. Istraživanjem je utvrđeno da kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. sadrži velik udio bjelančevina i nekih neophodnih minerala, uključujući kalcij, a posebice je bogata magnezijem i željezom. Bez dodavanja melase od šećerne repe i bez tretmana komercijalnim inokulantom dobivena je loše očuvana silaža od kultivirane koprive. Sa 2% melase dobivena je slabo očuvana silaža, ali sa 4 i 6% melase dobivena je dobro očuvana silaža od kultivirane

koprive. Na temelju rezultata ovih istraživanja može se preporučiti upotreba melase od šećerne repe prilikom siliranja u koncentraciji od 4 do 6% svježe mase kultivirane koprive. U budućim istraživanjima, bilo bi zanimljivo testirati i zajedničku primjenu komercijalnih inokulanata i melase od šećerne repe kod spremanja kultivirane koprive *Urtica dioica* L. za silažu na farmi.

Ključne riječi: kultivirana kopriva, silaža, melasa, komercijalni inokulant, kemijski sastav, parametri fermentacije

DETAILED ABSTRACT

Cultivated nettle *Urtica dioica* L., a member of the *Urticaceae* family, is widely distributed throughout the temperate regions of the world and can be used as a nutritious feed for animals through the winter period. However, cultivated nettle *Urtica dioica* L. is difficult to ensile due to the low content of water-soluble carbohydrates and moisture and the high buffering capacity of the fresh mass. Because it does not contain the required sugar minimum for successful lactic acid fermentation, it is necessary to apply chemical or bacterial inoculants in the conservation of cultivated nettle *Urtica dioica* L. Otherwise, untreated silage accelerates the activity of *Clostridium butyricum* which uses existing sugars for its activity which leads to the production of small amounts of lactic acid an increase in the content of butyric acid, and intense degradation of proteins and amino acids. However, very little data is available on the fermentation properties of cultivated nettle *Urtica dioica* L. ensiled with supplements (inoculants, molasses, grains). The aim of this research was to determine (i) the nutritional value of freshly cultivated nettle *Urtica dioica* L. grown in the open field and (ii) the fermentation value of cultivated nettle *Urtica dioica* L. ensiled with additives, including a commercial inoculant containing bacteria that produce lactic acid and molasses from sugar beet after 60 days of ensiling. Cultivated nettle *Urtica dioica* L. was ensiled in six treatments: without additions (control); with sugar beet molasses (2, 4, and 6%) per 1 kg of fresh mass and a commercial inoculant (2 and 4 g/t of fresh mass) in five replicates. The results of this research showed that the cultivated nettle *Urtica dioica* L. contains a large proportion of proteins and some essential minerals, including calcium, and is especially rich in magnesium and iron. Without the addition of molasses and without treatment with a commercial inoculant, poorly preserved silage from cultivated nettle was obtained. With 2% molasses, poorly preserved silage was obtained, but with 4 and 6% molasses, well-preserved silage from cultivated nettle was obtained. Based on the results of these studies, it is recommended to use molasses during ensiling in a concentration of 4 to 6% of the fresh mass of cultivated nettle. In future research, it would be interesting to test the joint application of commercial inoculants and sugar beet molasses when preparing cultivated nettle *Urtica dioica* L. for silage on the farm.

UVOD

Kultivirana kopriva (*Urtica dioica* L.) je višegodišnja biljna vrsta iz porodice *Urticaceae* i široko je rasprostranjena u umjerenim područjima svijeta (Bacci i sur., 2009; Kaya i Aydin, 2009). Svi su dijelovi biljke kultivirane koprive (stabljika, listovi, korijen i sjemenke) iskoristivi, stoga je kultivirana kopriva vrlo cijenjena u kozmetičkoj i tekstilnoj industriji, u biodinamičkoj poljoprivredi te s farmakološkog i nutricionističkog stajališta (Di Virgilio i sur., 2015; Đurović i sur., 2017; Kukrić i sur., 2012; Modarresi i sur., 2012). Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. također je vrlo nutritivno bogata vrsta: sadrži 193-265 g sirovih bjelančevina u kg suhe tvari, 562 mg karotena u kg suhe tvari listova te velike količine željeza, kalcija i magnezija (Radman i sur., 2015). Nekoliko istraživanja utvrdilo je da

kopriva kao krma može poboljšati zdravlje buraga kod mliječnih krava u laktaciji, utjecati na veći rast i kvalitetu kod pilića u tovu te povećati količinu proizvedenog mlijeka i kvalitetu kod mliječnih krava (Bhusal i sur., 2022; Humphries i Reynolds, 2014; Khanal i sur., 2017). Osim toga, kopriva može pomoći i u zaštiti od bolesti, uključujući genitalne, gastrointestinalne, kožne i metaboličke infekcije kod domaćih životinja (Disler i sur., 2014; Viegi i sur., 2003). Košnja za sijeno najstarija je metoda čuvanja kultivirane koprive *Urtica dioica* L. za zimsku hranidbu životinja na farmi. Međutim, oštre dlake (žaoke) uzrokuju lošu ukusnost sijena. Osim toga, kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. nije prikladna za proizvodnju sijena jer se zbog njezinih debelih stabljika i velikih listova teško suši, a

dulje bi vrijeme sušenja nažalost dovelo do povećanog gubitka hranjivih tvari u sijenu. Siliranje nudi alternativan način čuvanja kultivirane koprive *Urtica dioica* L. zimi na farmi. Time bi se smanjio gubitak hranjivih tvari, a siliranje bi moglo poboljšati i okus silaže eliminacijom dlaka (žaoke) koje bodu (Zhang i Zhao, 2008). Prema Zhang i sur., 2010; Zhang i sur., 2014, kopriva *Urtica cannabina* L. sadrži nizak udio ugljikohidrata topljivih u vodi, visoki puferski kapacitet te visoki sadržaj vlage, što otežava uspješno siliranje koprive bez dodavanja aditiva. Osim visokog sadržaja vlage, kod koprive je utvrđena i snažna sposobnost antibakterijskog djelovanja koja inhibira rast gram pozitivnih i gram negativnih bakterija iz roda *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Bacillus* i *Lactobacillus* (Kregiel i sur., 2018). Među navedenim bakterijama, *Enterococcus* i *Lactobacillus* najvažnije su bakterije mliječne kiseline utvrđene tijekom siliranja koprive *Urtica cannabina* L. (Huang i sur., 2022). Međutim, vrlo je malo podataka dostupno o fermentacijskim svojstvima kultivirane koprive *Urtice dioica* L. silirane s dodacima (inokulant, melasa, zrno žitarica). Melasa je nusproizvod industrije šećerne repe i šećerne trske, a njezin je glavni sastojak šećer saharoza koja može poslužiti kao supstrat za rast bakterija mliječne kiseline u silaži. Već je dobro poznato da inokulant i melasa mogu poboljšati fermentacijska svojstva silaže (Hashemzadeh-Cigari i sur., 2014; Lima i sur., 2010; Luo i sur., 2021). Također, vrlo je važno napomenuti da postoje razlike i u kemijskom sastavu između samoniklih i kultiviranih biljnih vrsta koprive (Radman i sur., 2016). Samonikli biljni materijal koprive promjenjiva je sastava, što u konačnici može utjecati na sastav i kvalitetu silaže koprive. U uzgoju kultivirane koprive *Urtice dioica* L. brojnim se agrotehničkim mjerama može utjecati na proizvodnju biljnog materijala ujednačenoga kemijskog sastava. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi (i) hranjivu vrijednost svježe kultivirane koprive *Urtice dioica* L. uzgojene na otvorenom polju i (ii) fermentacijske vrijednosti kultivirane koprive silirane s dodacima, uključujući komercijalni inokulant koji sadrži bakterije koje proizvode mliječnu kiselinu te melasu od šećerne repe. Rezultati ovih istraživanja mogli bi dati pozitivan doprinos u rješavanju problema siliranja kultivirane koprive *Urtica dioica* L. u Republici Hrvatskoj.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na dvogodišnjoj kultiviranoj koprivi *Urtica dioica* L. uzgojenoj na otvorenom polju Pokusne postaje Maksimir Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (45°49' N, 16°02' E). Sjeme koprive (B&T World Trade, Francuska) posijano je 14. ožujka 2018. u polistirenske posude punjene supstratom Klassman Potgrond H (Eurobrod, Hrvatska). Sadnice kultivirane koprive posađene su sredinom lipnja 2018. godine u tri reda s razmakom sadnje 1,5 m x 0,7 m. Prva berba dvogodišnjeg nasada kultivirane koprive obavljena je u svibnju 2019. godine u fenofazi početka cvatnje. U ovoj fenofazi kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. ima najveći sadržaj bioaktivnih spojeva, prema Repajiću i sur. (2021). Nakon berbe kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. usitnjena je sjeckalicom na dužinu od 10 mm. Nakon toga, aditivi (melasa, inokulant) su dodani u svježu masu kultivirane koprive te ručno dobro izmješani. Pripremljeni uzorci pakirani su u vakumirane PVC vrećice dimenzije (280 mm x 360 mm), a zatim su PVC vrećice (mikrosilos) zavareni vakuum uređajem (SmartVac STATUS SV2000). Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. silirana je u šest tretmana: bez dodataka (kontrola); s melasom šećerne repe (2, 4 i 6%) na 1 kg svježe mase i komercijalnim inokulantom Sil-All4x4 (2 i 4 g/t svježe mase) u pet ponavljanja. Komercijalni inokulant Sil-All4x4 sadržao je: *Lactobacillus plantarum* $2,5 \times 10^{11}$ cfu/g, *Pediococcus acidilactici* 1×10^{11} cfu/g, *Pediococcus pentosaceus* 1×10^{11} cfu/g, *Propionibacterium acidipropionici* 5×10^{11} cfu/g, Alfa-amilazu, Celulazu, Beta-glukanazu i Ksilanazu. Ukupno je pohranjeno 30 uzoraka (500 g) na 60 dana u tamnu prostoriju na sobnu temperaturu od 22 °C. Dostavna vlaga (g/kg svježeg uzorka) utvrđena je sušenjem uzoraka u sušioniku s ventilatorom (ELE International) na temperaturi od 60 °C do konstantne mase uzorka. Laboratorijska suha tvar utvrđena je sušenjem 5 grama uzorka na temperaturi od 105 °C kroz 4 sata (ISO 6496). Pepeo je određivan zagrijavanjem suhih uzoraka u pećnici na 550 °C tijekom 2 sata. Kalcij, magnezij i željezo određeni su pomoću atomskoga apsorpcijskog spektrofotometra (Thermo Scientific, model M serije AA spektrometar, Kina, 2008.) prema AOAC metodi (2005) nakon digestije s

koncentriranim HNO₃ (Mikrovalni digestor Milestone 1200 Mega). Udio sirovih bjelančevina određivan je prema Kjeldahlu (AOAC, 2005), udio neutralnih i kiselih deterdžent vlakana utvrđen je prema metodi Van Soesta i sur. (1991) kuhanjem uzoraka u neutralnom i kiselom deterdžentu, topljivi dušik/ukupni dušik prema Licitra i sur. (1996), NH₃-N određivan je destilacijskom metodom pomoću analizatora Kjeltex 1026, a pH - vrijednost izmjerena je pH - metrom Hanna Instruments HI 83141. Ugljikohidrati topljivi u vodi određeni su antron metodom, korištenjem liofilizacije uzoraka, gdje su ugljikohidrati topljivi u vodi ekstrahirani vodom (Tomas, 1977). Udio mliječne, octene, propionske i maslačne kiseline analiziran je plinskim kromatografom (GC-2014, Shimadzu, Kyoto, Japan) prema Faithfullu (2002). Na rezultatima analitičkih istraživanja praćenih pokazatelja provedena je statistička obrada primjenom statističkoga programa SAS Version 9.4 (SAS Inst. Inc., 2013). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost korištenjem LSD vrijednosti, ako je F-test bio signifikantan $P = 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

Tablica 1 prikazuje da kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. u početku cvatnje sadrži visok udio sirovih bjelančevina (213 g/kg suhe tvari). Može se usporediti s visokokvalitetnom lucernom koja sadrži udio sirovih bjelančevina od 166 do 225 g/kg suhe tvari (Contreras-Govea i sur., 2011; Lynch i sur., 2014; Uher i sur., 2019).

Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. sadržala je umjeren udio neutralnih deterdžent vlakana (304 g/kg suhe tvari) i kiselih deterdžent vlakana (261 g/kg suhe tvari). Bila je usporediva s vlaknima dehidrirane lucerne pokošene u istoj fenofazi (tj. 418 odnosno 295 g/kg suhe tvari), prema INRA (2004). Seglar (2003) preporučuje da optimalan udio kiselih deterdžent vlakana bude manji od 300 g/kg suhe tvari u silaži lucerne. Stoga bi kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. mogla biti dopunski izvor dostupnih sirovih bjelančevina i sirovih vlakana u hranidbi stoke na farmi. Osim toga, kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. također može osigurati i minerale u hranidbi stoke na farmi. Udio magnezija (57 g/kg suhe tvari; Tablica 1) bio je oko 36 puta veći nego u dehidriranoj lucerni u sličnoj fenofazi

Table 1. Chemical composition of fresh nettle *Urtica dioica* L. prior to ensiling in g/kg of dry matter in five replicates

Tablica 1. Kemijski sastav svježe koprive *Urtica dioica* L. prije siliranja u g/kg suhe tvari u pet ponavljanja

Chemical composition Kemijski sastav	Srednja vrijednost Mean
Dry matter in g/kg Suha tvar u g/kg	255
Crude protein in g/kg Sirove bjelančevine u g/kg	213
Crude ash in g/kg Pepeo u g/kg	187
Water soluble carbohydrates in g/kg Ugljikohidrati topivi u vodi u g/kg	57
Acid detergent fibre in g/kg Kisela deterdžent vlakna u g/kg	261
Neutral detergent fibre in g/kg Neutralna deterdžent vlakna g/kg	304
Calcium in g/kg Kalcij u g/kg	49
Magnesium in g/kg Magnezij u g/kg	57
Iron in mg/kg Željezo u mg/kg	1542
pH	8.4

rasta (1,6 g/kg suhe tvari) prema INRA (2004). Važno je istaknuti da je ova količina magnezija sigurna za hranidbu domaćih životinja na farmi. Prema NRC-u (2005), maksimalna tolerantna razina za magnezij iznosi 0,6% u suhoj tvari krmiva. Utvrđeno je da je kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. dobar izvor i kalcija - 49 g/kg suhe tvari prema istraživanju Szewczuk i Mazur (2004). Udio željeza u suhoj tvari u kultiviranoj koprivi (1542 mg/kg suhe tvari) bio je veći u usporedbi s divljom koprivom (Başgel i Erdemoğlu, 2006; Konięcyński i Wesołowski, 2007; Rutto i sur., 2013), što potvrđuju u svojim istraživanjima i Radman i sur. (2015).

U tablici 2 prikazani su učinci melase od šećerne repe (2, 4 i 6%) i komercijalnog inokulanta (2 i 4 g/t svježe mase)

na karakteristike fermentacije silaže kultivirane koprive *Urtica dioica* L. otvorene nakon 60 dana. pH se kretao od 3,97 (6% melasa) do 6,66 (kontrola), što predstavlja smanjenje od 111%, odnosno 27%, u usporedbi s pH - koprive prije siliranja (8,4). U usporedbi s najvišim pH izmjerenim u kontroli i komercijalnim inokulantom (Tablica 2), u tretmanima sa 2%, 4% i 6% melase pH se značajno smanjio ($P < 0,05$) nakon siliranja, sa 5,35 na 4,01, odnosno 3,97. U tretmanima sa 4% i 6% melase, obje pH - vrijednosti bile su vrlo prikladne za očuvanje silaže kultivirane koprive. Ovaj se rezultat slaže s istraživanjima Zhanga i sur. (2010) za silažu *Urtica cannabina* L. tretiranu sa 4% i 8% melase.

Tretmani s komercijalnim inokulantom (2 i 4 g/t svježe mase) rezultirali su nižim pH - silaže kultivirane koprive *Urtica dioica* L. u usporedbi s kontrolom ($P < 0,05$), ali su se obje vrijednosti smanjivale puno manje nego kod drugih navedenih tretmana melasom (Tablica 2). Nasuprot tome, tretmani melasom od šećerne repe (2, 4 i 6%) rezultirali su značajno ($P < 0,05$) većim udjelom mliječne kiseline (70,7, 94,3, odnosno 112,3 g/kg) u usporedbi s kontrolom (17,1 g/kg suhe tvari). Muck i sur. (2018) utvrdili su da se primjenom inokulanta smanjio pH i povećao udio mliječne kiseline u silaži, a Jahanzad i sur. (2016) utvrdili su da melasa može poboljšati aktivnost homofermentativnih bakterija koje pretvaraju ugljikohidrate topljive u vodi u mliječnu kiselinu u silaži prosa i soje. Tretmani melasom (4 i 6%) rezultirali su značajno ($P < 0,05$) manjim udjelom octene kiseline (18,4 odnosno 16,9 g/kg suhe tvari) u usporedbi s kontrolom (23,3 g/kg suhe tvari), a tretmani melasom (2 i 4%) manjim udjelom propionske kiseline (1,09 odnosno 1,15 g/kg suhe tvari) u usporedbi s kontrolom (1,42 g/kg suhe tvari). Tretmani s komercijalnim inokulantom (4 g/t) rezultirao je značajno ($P < 0,05$) manjim udjelom octene kiseline (19,8 g/kg) u usporedbi s kontrolom (23,3 g/kg suhe tvari), a tretmani sa (2 i 4 g/t) značajno ($P < 0,05$) većim udjelom propionske kiseline (7,59 odnosno 8,33 g/kg suhe tvari) u usporedbi s kontrolom (1,42 g/kg suhe tvari).

Puno je istraživanja utvrdilo da octena kiselina ima antifungalna svojstva te da smanjuje aerobno kvarenje silaže i rast plijesni i kvasaca (Schmidt i sur., 2009; Čabarkapa i sur., 2010). Inače, octena kiselina se

prirodno proizvodi tijekom fermentacije sa primjenom komercijalnih inokulanata ili bez njihove primjene. Svi tretmani u pokusu sa melasom od šećerne repe (2, 4 i 6%) i komercijalnim inokulantom (2 i 4 g/t) sadržali su značajno ($P < 0,05$) manje maslačne kiseline u odnosu na kontrolu (Tablica 2). Kung i sur. (2018) utvrdili su u svojim istraživanjima da je prisutnost maslačne kiseline u silaži rezultat aktivnosti bakterija maslačnog vrenja (*Clostridium saccharobutyricum*) koje razgrađuju mliječnu kiselinu u maslačnu kiselinu.

Značajno manji udio $\text{NH}_3\text{-N}$ ($P < 0,05$) utvrđen je u silažama tretiranim melasom od šećerne repe (27,1, 25,4 i 22,8 g/kg suhe tvari) i dva inokulanta (26,7 i 27,4 g/kg suhe tvari) u odnosu na kontrolu (35,1 g/kg suhe tvari). U silažama tretiranim melasom od šećerne repe (2, 4 i 6%) i inokulantom (2 i 4 g/t svježe mase) udio $\text{NH}_3\text{-N}$ bio je niži nego u tipičnim silažama krmnog bilja (40-100 $\text{NH}_3\text{-N}$ g/kg), što je utvrdio u svojim istraživanjima Haigh (1987), vjerojatno zato što kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. sadrži polifenole (Jimoh i sur., 2010), uključujući tanin, koji bi mogli učinkovito spriječiti razgradnju sirovih bjelanjčevina silaže (Guo i sur., 2007; Tabacco i sur., 2006). Veći udio amonijaka upućuje na razgradnju bjelanjčevina zbog proteolitičke enzimske aktivnosti. Obično silaža s visokim udjelom amonijaka u kombinaciji s maslačnom kiselinom također može sadržati značajne udjele drugih nepoželjnih krajnjih proizvoda, kao što su amini, koji mogu smanjiti učinak u proizvodnji kod domaćih životinja (Kung i sur., 2018). Značajno veći ($P < 0,05$) udio ugljikohidrata topljivih u vodi uočeni su u silažama tretiranim sa melasom od šećerne repe (4% i 6%) nego u ostalim silažama (Tablica 2).

Silaža tretirana melasom rezultirala je povećanjem udjela suhe tvari, uglavnom zato što melasa od šećerne repe ima i sama visoki sadržaj suhe tvari. Kako bi kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. sadržala dovoljno šećera za fermentaciju, tijekom siliranja korištene su tri razine melase od šećerne repe (2, 4 i 6%). U kontrolnoj silaži šećer je bio gotovo iscrpljen, ali je sa povećanjem dodavanja melase od šećerne repe sadržaj šećera u siliranoj kultiviranoj koprivi *Urtica dioica* L. značajno porastao.

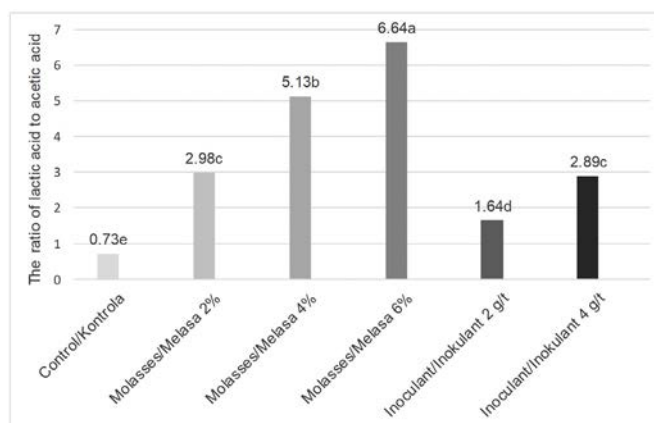
Table 2. Effects of additives in five replicates on the fermentation characteristics of cultivated nettle *Urtica dioica* L. ensiled for 60 days in g/kg of dry matter**Tablica 2.** Utjecaj aditiva u pet ponavljanja na fermentacijske karakteristike kultivirane koprive *Urtica dioica* L. dobivene nakon 60 dana u g/kg suhe tvari

Fermentation characteristics Karakteristike fermentacije	Silage treatment Tretmani siliranja					
	Control Kontrola	Molasses (2%) Melasa (2%)	Molasses (4%) Melasa (4%)	Molasses (6%) Melasa (6%)	Inoculant (2 g/t) Inokulant (2 g/t)	Inoculant (4 g/t) Inokulant (4 g/t)
pH	6,66 ^a	5,35 ^d	4,01 ^e	3,97 ^e	6,46 ^b	6,02 ^c
Lactic acid Mliječna kiselina	17,1 ^f	70,7 ^c	94,3 ^b	112,3 ^a	36,3 ^e	57,4 ^d
Acetic acid Octena kiselina	23,3 ^a	23,7 ^a	18,4 ^c	16,9 ^c	22,1 ^{ab}	19,8 ^{bc}
Propionic acid Propionska kiselina	1,42 ^c	1,09 ^c	1,15 ^c	1,49 ^c	7,59 ^b	8,33 ^a
Butyric acid Maslačna kiselina	2,21 ^a	1,01 ^c	0,67 ^e	0,84 ^d	1,18 ^b	0,97 ^c
NH ₃ -N	35,1 ^a	27,1 ^b	25,4 ^{cb}	22,8 ^c	26,7 ^b	27,4 ^b
Water-soluble carbohydrate Ugljikohidrati topivi u vodi	1,76 ^e	7,54 ^c	16,5 ^b	25,9 ^a	4,98 ^d	8,12 ^c
Dry matter Suha tvar	238 ^c	267 ^b	273 ^b	285 ^a	259 ^b	262 ^b

Different letters in the row mean significant difference ($P < 0.05$)Različita slova u vodoravnoj liniji znače značajnu razliku ($P < 0,05$)

Samo kada je tretirana sa 2% melase pH (5,35) je bio iznad kritične vrijednosti od 4,2 (Kung i sur., 2018) i stoga nije bio dovoljno šećera za poboljšanje karakteristika fermentacije silaže. Grafikon 1 prikazuje omjer mliječne i octene kiseline kod primijenjenih tretmana u ovom istraživanju.

Najveća razlika u omjeru dviju kiselina vidljiva je kod tretiranja silaže kultivirane koprive *Urtica dioica* L. sa 6% melasom od šećerne repe (6,64), a najmanja kod primjene komercijalnog inokulanta 2 g/t (1,64) i na kontroli (0,73). Kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. tretirana komercijalnim inokulantom sa 2 g/t svježe mase koprive rezultirala je vrlo slabo očuvanom silažom, a primjena 4 g/t svježe mase koprive nije znatno poboljšala kvalitetu silaže, iako su pH i udjeli mliječne kiseline s primjenom 2 g/t i 4 g/t komercijalnog inokulanta bile značajno različite ($P < 0,05$) od onih u kontrolnoj silaži.

Different letters mean significant difference ($P < 0.05$)Različita slova označavaju značajnu razliku ($P < 0,05$)**Figure 1.** The ratio of lactic acid to acetic acid in silages of cultivated nettle *Urtica dioica* L. after 60 days of ensiling**Slika 1.** Omjer mliječne kiseline i octene kiseline u silažama kultivirane koprive *Urtica dioica* L. 60 dana nakon siliranja

Vrlo je vjerojatno da je kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. tretirana s komercijalnim inokulantom sadržala premalo šećera za poboljšanu fermentaciju silaže s učinkovitošću konzerviranja. Wan i sur. (2021) također su utvrdili u svojim istraživanjima da dodavanje melase i bakterija *Lactobacillus plantarum* utječe na kvalitetu siliranja i karakteristike fermentacije u silaži sudanske trave. Potencijal za poboljšanje očuvanja silaže kultivirane koprive *Urtica dioica* L. (poboljšanje učinkovitosti inokulanta) leži u zajedničkoj primjeni komercijalnog inokulanta i melase od šećerne repe.

ZAKLJUČAK

Istraživanjem je utvrđeno da kultivirana kopriva *Urtica dioica* L. sadrži veliki udio bjelancevina i nekih neophodnih minerala, uključujući kalcij, a posebice je bogata magnezijem i željezom. Bez dodavanja melase od šećerne repe i bez tretmana komercijalnim inokulantom dobivena je loše očuvana silaža od kultivirane koprive. Sa 2% melase dobivena je slabo očuvana silaža, ali sa 4 i 6% melase dobivena je dobro očuvana silaža od kultivirane koprive. Na temelju rezultata ovih istraživanja, preporuka je upotreba melase od šećerne repe prilikom siliranja u koncentraciji od 4 do 6% svježe mase kultivirane koprive. U budućim istraživanjima, bilo bi zanimljivo testirati i zajedničku primjenu komercijalnih inokulanata i melase od šećerne repe kod spremanja kultivirane koprive *Urtica dioica* L. za silažu na farmi.

LITERATURA

- AOAC (2005) Official Methods of Analysis. 18th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists (AOAC).
- Bacci, L., Baronti, S., Predieri, S., Di Virgilio, N. (2009) Fiber yield and quality of fiber nettle (*Urtica dioica* L.) cultivated in Italy. *Industrial Crops and Products*, 29, 480-484.
- Başgel, S., Erdemoğlu, S.B. (2006) Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. *Science of the Total Environment*, 359, (1), 82-89.
- Bhusal, K.K., Magar, S.K., Thapa, R., Lamsal, A., Bhandari, S., Maharjan, R., Shrestha, S., Shrestha, J. (2022) Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*, 8, e09717. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09717>
- Contreras-Govea, F.E., Muck, R.E., Mertens, D.R., Weimer, P.J. (2011) Microbial inoculant effects on silage and in vitro ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, bmr corn, and corn silages. *Animal Feed Science and Technology*, 163, 2-10. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.anifeeds.2010.09.015>
- Di Virgilio, N., Papazoglou, E.G. Jankauskiene, Z., Di Lonardo, S., Praczyk, M., Wielgusz, K. (2015) The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. *Industrial Crops and Products*, 68, 42-49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.012>
- Disler, M., Lvemeyer, S., Walkenhorst, M. (2014) Ethnoveterinary herbal remedies used by farmers in four north-eastern Swiss cantons (St. Gallen, Thurgau, Appenzell Innerrhoden and Appenzell Ausserrhoden). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10 (32). DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-32>
- Čabarkapa, I., Palić, D., Plavšić, D., Vukmirović, Đ., Čolović, R. (2010) The influence of a bacterial inoculant on reduction of aerobic microflora during ensiling of alfalfa. *Food and Feed Research*, 37 (1), 23-26.
- Đurović, S., Pavlič, B., Šorgić, S., Popov, S., Savić, S., Pertonijević, M., Radojković, M., Cvetanović, A., Zeković, Z. (2017) Chemical composition of stinging nettle leaves obtained by different analytical approaches. *Journal of Functional Foods*, 32, 18-26. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7AY02559A>
- Faithfull, N. (2002) *Methods in Agricultural Chemical Analysis: A Practical Handbook*. Wallingford: CABI Publishing.
- Guo, X.S., Ding, W.R., Han, J.G., Zhou, H. (2007) Protein fractions (Cornell system) of lucerne dried or ensiled with different additives. *Journal Animal Feed Science*, 16, 261-265. DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/74503/2007>
- Haigh, P.M. (1987) The effect of dry matter content and silage additives on the fermentation of grass silage on commercial farms. *Grass and Forage Science*, 42, 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1987.tb02084>
- Hashemzadeh-Cigari, F., Khorvash, M., Ghorbani, G.R., Ghasemi, E., Taghizadeh, A., Kargar, S., Yang, W.Z. (2014) Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (*Medicago sativa* L) silage. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl)*, 98, 290-299. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.12079>
- Huang, R.Z., Chen, Y., Ma, C., Chai, Y., Jia, S., Zhang, F. (2022) Potential factors causing failure of whole plant nettle (*Urtica cannabina*) silages. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1113050. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1113050>
- Humphries, D.J., Reynolds, C.K. (2014) The effect of adding stinging nettle (*Urtica dioica*) haylage to a total mixed ration on performance and rumen function of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 189, 72-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2014.01.006>
- Institut Nationale de la Recherche Agronomique (INRA) (2004) *Table de composition et de valeur nutritive des matieres premieres destinees aux animaux d'eleveage: porcs, volailles, bovins, caprins, lapins, chevaux, poisons*. Paris: INRA Editions.
- ISO (1979) *Animal Feedstuffs, ISO 6496, ISO 5983, ISO 5984*. Geneva: International Organization for Standardization.
- Jahanzad, E., Sadeghpour, A., Hashemi, M., Keshavarz Afshar, R., Hosseini, M.B., Barker, A.V. (2016) Silage fermentation profile, chemical composition and economic evaluation of millet and soya bean grown in monocultures and as intercrops. *Grass Forage Science*, 71, 584-94. DOI: <https://doi.org/10.1111/gfs.12216>
- Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., Afolayan, A. (2010) Polyphenolic and biological activities of levels extracts of Argemone subfusiformis (*Papaveraceae*) and *Urtica urens* (*Urticaceae*). *Revista Biologia Tropical*, 58, 1517-1531. DOI: <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i4.5428>
- Kaya, A., Aydin, O. (2009) An experimental study on drying kinetics of some herbal leaves. *Energy Conversion and Management*, 50 (1), 118-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.08.024>

- Khanal, D., Tiwari, I., Bastola, R., Upreti, C. (2017) Beneficial effects of stinging nettle supplementation on milk production. *Nepalese Veterinary Journal*, 34, 60-68.
DOI: <https://doi.org/10.3126/nvj.v34i0.22904>
- Kregiel, D., Pawlikowska, E., Antolak, H. (2018) *Urtica* spp.: Ordinary plants with extraordinary properties. *Molecules*, 23, 1664.
DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules23071664>
- Koniecznyński P., Wesolowski M. (2007) Determination of zinc, iron, nitrogen and phosphorus in several botanical species of medicinal plants. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 785-790.
- Kukrić, Z.Z., Topalić-Trivunović, Lj.N., Kukavica, B.M., Matoš, S.B., Pavičić, S.S., Boroja, M.M., Savić A.V. (2012) Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta Periodica Technologica*, 43, 257-272.
- Kung, L., Shaver, R.D., Grant, R.J., Schmidt, R.J. (2018) Silage review: interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal Dairy Science*, 101 (40), 20-33.
DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>
- Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J. (1996) Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 51, 347-358.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)
- Lima, R., Lourenço, M., Díaz, R.F., Castro, A., Fievez, V. (2010) Effect of combined ensiling of sorghum and soybean with or without molasses and lactobacilli on silage quality and *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science Technology*, 155, 122-131.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.10.008>
- Luo, R., Zhang, Y., Wang, F., Liu, K., Huang, G., Zheng, N., Wang, J. (2021) Effects of Sugar Cane Molasses Addition on the Fermentation Quality, Microbial Community, and Tastes of Alfalfa Silage, *Animals*, 11, 355. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11020355>
- Lynch, J.P., Jin, L., Lara, E.C., Baah, J., Beauchemin, K.A. (2014) The effect of exogenous fibrolytic enzymes and a ferulic acid esterase-producing inoculant on the fibre degradability, chemical composition and conservation characteristics of alfalfa silage. *Animal Feed Science and Technology*, 193, 21-31.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.03.013>
- Modarresi Chahardehi, A., Ibrahim, D., Fariza Sulaiman, Mousavi, L. (2012) Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Revista de Biología Tropical*, 60, 1567-1576.
- Muck, R.E., Nadeau E.M.G., McAllister, T.A., Contreras-Govea, F.E., Santos, M.C., Kung, L. (2018) Silage review: recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101, 3980-4000. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>
- National Research Council (NRC) (2005) Mineral tolerance of animals, 2nd revised edn. Washington, DC: The National Academies Press.
- Radman, S., Žutić, I., Čoga, L., Fabek, S., Benko, B., Toth, N. (2016) Yield and mineral content of stinging nettle as affected by nitrogen fertilization. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18, 1117-1128.
- Radman, S., Žutić, I., Fabek, S., Šic Žlabur, J., Benko, B., Toth, N., Čoga, L. (2015) Influence of nitrogen fertilization on chemical composition of cultivated nettle. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27 (12), 889-896. DOI: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-04-089>
- Repajić, M., Cegledi, E., Zorić, Z., Pedisić, S., Elez Garofulić, I., Radman, S., Palčić, I., Dragović-Uzelac, V. (2021) Bioactive Compounds in Wild Nettle (*Urtica dioica* L.) Leaves and Stalks: Polyphenols and Pigments upon Seasonal and Habitat Variations. *Foods*, 10, 190, 1-18. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10010190>
- Rutto L., Yixiang X., Ramirez E., Brandt M. (2013) Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *International Journal of Food Science*, 1-9.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/857120>
- SAS Institute Inc. (2013) SAS/STAT® 9.4 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schmidt, R., Hu, W., Mills, J., Kung, L. (2009) The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 92, 5005-5010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1701>
- Seglar, B. (2003) Fermentation analysis and silage quality testing. In: *Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference*. Bloomington, Minnesota, 29 May, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, pp. 119-136.
- Szewczuk, C., Mazur, M. (2004) Effect of different rates of nitrogen fertilizers chemical composition of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) plants harvested at three development stages. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 3 (1), 239-248.
- Tabacco, E., Borreani, G., Crovetto, G. M., Galassi, G., Columbo, D., Cavallarin, L. (2006) Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis and protein rumen degradability of alfalfa silage. *Journal Dairy Science*, 89, 4736-4746.
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72523-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72523-1)
- Tomas, T.A. (1977) An automated procedure for the determination of soluble carbohydrate in herbage. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 28, 639-642.
- Uher, D., Konjačić, M., Jareš, D., Maćešić, D. (2019) The effect of bacterial inoculant on chemical composition and fermentation of alfalfa silage. *Journal of Central European Agriculture*, 20 (2), 657-664. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/20.2.2314>
- Van Soest, P.J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P. M., and Vangelisti, R. (2003) A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 221-224.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.08.003>
- Wan, J.C., Xie, K.Y., Wang, Y.X., Liu, L., Yu, Z., Wang, B. (2021) Effects of wilting and additives on the ensiling quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of sudangrass silage. *Animal Bioscience*, 34, (1), 56-65, DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0079>
- Zhang, X.Q., Jin, Y.M., Zhang, Y.J., Yu, Z., Yan, W.H. (2014) Silage quality and preservation of *Urtica cannabina* ensiled alone and with additive treatment. *Grass Forage Science*, 69, 405-414.
DOI: <https://doi.org/10.1111/gfs.12036>
- Zhang, X. Q., Jin, Y. M., Sun, Q. Z., Wang, L., Zhang, H. J. (2010) Effect of additives on fermentation quality of hempleaf nettle (*Urtica cannabina* L.) silage. *Acta Agrestia Sinica*, 291-296.
- Zhang, X.Q., Zhao, S.Z. (2008) Nutritional function and silage characteristics of *Urtica cannabina*. *Animal Husbandry and Feed Science*, 4, 11-13.