

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

*На правах рукописи*

**БИКОНЯ СВЕТЛАНА НИКОЛАЕВНА**

**ПОВЫШЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ СИЛОСА И СЕНАЖА С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОКОНСЕРВАНТОВ**

4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и  
производства продукции животноводства

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук  
Лаптев Георгий Юрьевич

Волгоград - 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1 Микробиологические основы консервирования зеленой массы .....	11
1.2 Питательная ценность кормов.....	17
1.3 Изменение биохимического состава кормов в ходе ферментации.....	23
1.4 Потери питательных веществ консервированного корма.....	26
1.5 Применение консервантов для силосования .....	28
1.5.1 Применение химических консервантов .....	28
1.5.2 Применение биологических консервантов .....	32
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	43
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	52
3.1 Определение физиологического состояния бактерий в биоконсервантах для силосования .....	52
3.2 Лабораторный опыт по силосованию и сенажированию люцерны с препаратом «Биотроф® 2+».....	55
3.3 Результаты исследований микрофлоры силоса, заложенного с закваской «Биотроф® 2+», методом NGS-секвенирования .....	60
3.4 Анализ экспрессии генов синтеза L-лактатдегидрогеназы и D-лактатдегидрогеназы микробиотой силоса, заложенного с биоконсервантом «Биотроф® 2+».....	63
3.5 Процесс разработки нового биоконсерванта «Биотроф®-АС» .....	66
3.5.1 Лабораторные опыты по разработке закваски «Биотроф®-АС».....	66
3.5.2 Лабораторные опыты по силосованию с применением новой закваски «Биотроф®-АС» .....	70
3.5.2.1 Лабораторный опыт по силосованию злаково-бобовой смеси .....	70

3.5.2.2 Лабораторный опыт по силосованию кукурузы .....	73
3.6 Научно-хозяйственный опыт по силосованию с закваской «Биотроф <sup>®</sup> -АС».....	77
3.6.1 Оценка качества силосов, заложенных с закваской «Биотроф <sup>®</sup> -АС» .....	78
3.6.2 Оценка переваримости клетчатки силосов, заложенных с закваской «Биотроф <sup>®</sup> -АС» .....	81
3.6.3 Прогнозирование качества корма, заложенного с закваской «Биотроф <sup>®</sup> -АС» .....	84
3.6.4 Определение микотоксинов в кормах, заложенных с закваской «Биотроф <sup>®</sup> -АС».....	87
3.7 Эффективность биоконсерванта «Биотроф <sup>®</sup> 2+» в условиях Северо-Запада России .....	88
3.7.1 Оценка питательности силосов и сенажа, заложенных с биоконсервантом «Биотроф <sup>®</sup> 2+».....	91
3.7.2 Оценка эффективности жидкого биопрепарата «Биотроф <sup>®</sup> 2+» по сравнению с сухими биоконсервантами .....	92
3.7.3 Оценка продуктивности дойных коров и оценка экономической эффективности при скармливании силосов, заложенных с различными биоконсервантами .....	94
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	97
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАБОТЫ .....	99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	101
ПРИЛОЖЕНИЯ .....	125

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Для обеспечения продовольственной безопасности страны и для проведения импортозамещения основных продуктов питания необходимо повышение продуктивности животных и увеличение рентабельности при производстве молока и мяса. В России развитие молочного и мясного скотоводства зависит во многом от того, как животные обеспечиваются полноценными и высококачественными кормами. Использование некачественных кормов приводит к дефициту питательных веществ, что сказывается на здоровье и продуктивности животных, и, в свою очередь, сдерживает повышение рентабельности производства. Все большее внимание в хозяйствах Российской Федерации уделяется решению проблемы повышения качества и безопасности объемистых кормов (силоса, сенажа), т.е. укреплению кормовой базы. Для укрепления кормовой базы необходимо не только повышать урожайность кормовых культур, но и улучшать качество таких кормов, как силос и сенаж, сокращать потери при их заготовке и хранении, а также повышать эффективность использования питательных веществ. Одним из решений данной задачи является разработка способов консервирования растительной массы (Косолапов В.М. с соавт., 2008, Победнов Ю.А., 2011). В последние годы некоторые животноводческие хозяйства стали отказываться от применения консервантов для силоса, находя причину неудовлетворительного качества готовых кормов в действии консервантов (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2019). Однако причины получения некачественного силоса состоят в другом, а именно в регулярном нарушении технологии уборки, нарушении технологии приготовления (Владимиров В.Б. с соавт., 2001, Лаптев Г.Ю. с соавт., 2014) и хранения объемистых кормов (Ахламов Ю.Д. с соавт., 2012), а также в не правильном подборе сельскохозяйственных культур для силосования (без учета степени их сбраживаемости) (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2019).

Для создания стабильной и прочной кормовой базы необходимо повышать качество кормов, т.е. заготавливать безопасное сырье, с повышенным содержанием питательных веществ (Соляник Т.В., 2014). За счет улучшения качества заготавливаемых кормов можно добиться повышения продуктивности сельскохозяйственных животных (Николаев С.И. с соавт., 2019, Хохряков Г.А., 2019, Кислякова Е.М., 2021). Таким образом, в данный момент времени при заготовке объемистых кормов актуальным является применение различных видов биоконсервантов, которые способствуют уменьшению потерь питательных веществ, а также улучшают органолептические и качественные показатели консервированных кормов (Шинкаревич Е.Д., 2016, Буряков Н.П., 2018). Химические консерванты достаточно быстро подкисляют зеленую массу, с их помощью возможно сохранить питательные вещества, но эти консерванты дорогие и обладают коррозионной активностью, их применение отрицательно воздействует на состояние окружающей среды (Саранчина Е.Ф., 2017). В отличие от химических консервантов биоконсерванты безопаснее, экологичнее, а главное – дешевле химических консервантов (Лютых О., 2020).

**Степень разработанности темы.** В России проводилось много исследований по изучению влияния разных видов консервантов на сохранение питательной ценности силоса и сенажа, как химических, так и биологических (Зубрилин А.А. 1963, Зафрен С.Я., 1977, Косолапов, В.М., 1998, 2008), Панов А.А., 2009; Бондарев В.А., 2010, Дуборезов В.М., 2011, Клименко В.П., 2012, Кучин Н.Н., 2017; Победнов Ю.А., 2018; Лаптев Г.Ю., 2019). Исследования по разработке и применению биоконсервантов на основе микроорганизмов и их эффективность при консервировании ведутся уже более ста лет, они начались еще в тридцатых годах прошлого столетия и продолжают по сей день. Но история их использования говорит о том, что их применение биоконсервантов не всегда приводит к положительным результатам (Победнов Ю.А. с соавт., 1997а, 1997б; Буряков И.А. с соавт., 2000, Победнов Ю.А., 2010, Lynch J.P. et al., 2012). На сегодняшний день изучено и исследовано много препаратов, химических и биологических заквасок, фитонцидов, кормовых добавок, которые обладают

консервирующим эффектом при силосовании зеленой массы растений. Тем не менее, научные разработки в этом направлении продолжаются как в нашей стране, так и за рубежом. К сожалению, на отечественном рынке появляется все больше препаратов для силосования без доказанной эффективности. Часть заквасок может вообще не оказывать никакого влияния, а часть может даже навредить качественным показателям силоса, сделав его небезопасным для здоровья крупного рогатого скота (Лаптев Г.Ю., 2016). На основании анализа литературных научных данных можно сделать вывод о том, что все неудачи, связанные с применением биологических консервантов, объясняются недостатком основополагающих, фундаментальных знаний о самом процессе силосования. Поэтому в настоящий момент необходимо определиться с тем, по каким же критериям необходимо выбирать биопрепараты для консервирования растительной массы для повышения качества получаемых кормов и сохранения их питательной ценности.

**Цели и задачи исследований.** Целью исследования явилось изучение эффективности использования биоконсервантов при силосовании и сенажировании для улучшения сохранности питательных веществ. Для решения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- оценить физиологическое состояние бактерий в биоконсервантах для силосования и сенажирования;
- провести исследование микрофлоры силоса, заложенного с закваской «Биотроф 2+», методом NGS-секвенирования;
- провести анализ экспрессии генов синтеза L-лактатдегидрогеназы и D-лактатдегидрогеназы микробиотой силоса, заложенного с полиштаммовым биоконсервантом «Биотроф® 2+»;
- разработать полиштаммовый биопрепарат для силосования и сенажирования зеленой массы;
- определить качество силоса и сенажа, заготовленного с применением биоконсервантов «Биотроф® 2+» и «Биотроф®-АС»;

- оценить молочную продуктивность дойных коров при введении в рацион силосов, заложённых с биоконсервантами;
- оценить экономическую эффективность при скармливании силосов, заготовленных с биоконсервантами.

**Научная новизна исследований.** В ходе проведенных исследований впервые:

- для определения физиологического состояния бактерий в биоконсервантах был использован метод Хаттори;
- было проведено NGS-секвенирование силоса, заготовленного с закваской «Биотроф<sup>®</sup>2+»;
- был проведен анализ экспрессии генов синтеза L-лактатдегидрогеназы и D-лактатдегидрогеназы микробиотой силоса, заложённого с полиштаммовым биоконсервантом «Биотроф<sup>®</sup> 2+»;
- в условиях производства были проведены испытания нового биоконсерванта для силосования «Биотроф<sup>®</sup>-АС» и даны рекомендации по его использованию.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** На основании проведенных исследований был разработан пакет нормативно-технических документов для препарата «Биотроф<sup>®</sup>-АС»: технические условия ТУ 10.91.10-042-50932298-2021 (от 10.03.2021), декларация о соответствии РОСС RU Д-РУ.РА01.В.17657/22 от 22.05.22 (действительна до 23.05.2025), инструкция по применению биопрепарата «Биотроф<sup>®</sup>-АС» для сохранения качества и питательных свойств объемистых кормов при консервировании плющеного зерна, кукурузы, силосования, сенажирования и силажирования трав, а также технологический регламент производства биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup>-АС». Экспериментальные данные и теоретические выводы, полученные в ходе исследования, также были использованы при написании наставлений «Технология заготовки безопасных и качественных объемистых кормов» (2-е изд., 2021). Результаты исследований, апробированные и внедрённые в условиях ООО «Шекнинская Заря» Вологодской области, позволяют рекомендовать

производству использование для силосования кормов нового двуштаммового биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup>-АС». В ходе исследования были выпущены опытно-производственные партии биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup>-АС» - 7 тонн.

**Методология и методы исследований.** Для проведения научных исследований применялись такие методы как:

- лабораторный метод – были получены предварительные данные о влиянии биопрепаратов на сохранность питательных веществ и качество полученных кормов;

- научно-хозяйственный метод – были подтверждены данные, полученные в лабораторных опытах, а также были получены сведения о переваримости клетчатки силосов из разных культур, заложенных с применением закваски «Биотроф<sup>®</sup>-АС»;

- производственный метод – была определена эффективность применения полиштаммовых биоконсервантов при силосовании и сенажировании и влияние силосов, заготовленных с их применением, на продуктивность животных.

Анализы и опыты были проведены согласно стандартным методам и в соответствии с ГОСТами и нормативами, действующими в области кормопроизводства и кормления сельскохозяйственных животных. Также в исследованиях были использованы ИФА-анализ, молекулярно-биологические, классические микробиологические, хроматографические, биохимические, зоотехнические, математические, расчетные, статистические методы, описанные в разделе «Материалы и методы исследования».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- в заквасках для силосования в жидкой форме, в основу которых входят молочнокислые бактерии, данные бактерии находятся в физически активном состоянии и при внесении в зеленую массу начинают работать практически сразу;

- использование жидких консервантов на основе молочнокислых бактерий, таких как «Биотроф<sup>®</sup>-АС» и «Биотроф<sup>®</sup> 2+», способствует быстрому, контролируемому процессу силосования и обеспечивает сохранность питательных веществ заготовленных кормов;



- скармливание силоса из многолетних злаковых и бобовых культур, заготовленного с консервантом «Биотроф<sup>®</sup>2+», приводит к увеличению среднесуточного удоя молока 4% жирности.

**Степень достоверности и апробации результатов.** Результаты в достаточной степени обоснованы и обеспечены современными методами исследований. Научные положения, выводы, рекомендации производству вытекают из фактических экспериментальных данных, представленных в диссертационной работе. Статистическая обработка проведена с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при  $p \leq 0,05$ .

**Основные материалы диссертационной работы доложены:**

1. Международная конференция «Развитие агропромышленного комплекса на основе современных научных достижений и цифровых технологий» (г. Санкт-Петербург, 2020 г.).
2. Международная научно-практическая конференция «Инновационные технологии в агропромышленном комплексе в современных практических условиях» (г. Волгоград, 2021 г.)
3. Международная научная конференция "Фундаментальные и прикладные научные исследования в развитии сельского хозяйства на Дальнем Востоке" (AFE- 2021, г. Уссурийск, 2021).
4. Производственные совещания в ООО «БИОТРОФ» 2019-2022 гг.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 работ, включая 3 работы в рецензируемых изданиях, включенных в перечень ВАК Министерства образования и науки РФ, 1 статья в международных изданиях (индексируется в базах данных «Scopus») и 1 наставления.

**Личное участие автора.** Диссертационная работа представляет собой результат научных исследований автора в период с 2016 по 2023 год. Большая часть научных исследований, описанных в диссертационной работе, выполнена автором самостоятельно под руководством научного руководителя, доктора биологических наук Георгия Юрьевича Лаптева.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа включает следующие разделы: оглавление, введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, заключение, предложения производству и перспективы дальнейшей работы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и приложения. Работа представлена на 128 страницах машинописного текста с включением 33 таблиц, 2 рисунков и 2 приложений. Список используемой литературы включает 195 источников, 51 из которых – иностранных авторов.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Микробиологические основы консервирования зеленой массы

С давних времен известен такой способ заготовки кормов как силосование. Однако только в начале 30-х годов прошлого века в нашей стране началось развитие тех теоретических исследований, которые создали научную основу для консервирования зеленой массы с помощью силосования. Тогда же, в 30-е годы, во ВНИИ кормов им. Вильямса А.А. Зубрилиным были разработаны теоретические основы силосования кормов, которые послужили для начала применения силосования на практике. Также в нашей стране получило широкое распространение заготовка сенажа, теоретические основы которого также были предложены во ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса в 30-е годы прошлого столетия (Победнов Ю.А., 2017). На сегодняшний день такие методы консервирования объемистых кормов как силосование и сенажирование являются наиболее распространенными. Тем не менее многие теоретические утверждения, которые связаны с повышением сохранности питательных веществ в зеленой массе в процессе заготовки и хранения, требуют переосмысления по мере накопления новых экспериментальных данных, а также предполагают совершенствование существующих технологий заготовки кормов.

Силосование – это сложный микробиологический процесс, на который в основном влияют молочнокислые бактерии, которые обеспечивают консервирование зеленой массы различными органическими кислотами, среди которых преобладает молочная кислота. Силосование происходит благодаря микробиологическим, ферментативным, биохимическим и бродильным процессам, протекающим в зеленой массе, и для этого требуется анаэробные условия при закладке и герметичность в период хранения силоса в силосных

сооружениях. Основная цель при заготовке – получение консервированного корма высокого качества при минимальных потерях питательных веществ.

Растительная зеленая масса содержит огромное количество микроорганизмов, которые вместе с ней попадают в силосные сооружения. На процесс силосования и биохимию готового силоса влияют эпифитные микроорганизмы, которые присутствуют на надземных органах кормовых культур (Musk R., 2013). Состав эпифитной микробиоты находится в прямой зависимости от вида культур. Структура и численность эпифитной микрофлоры зависит не только от генотипа, но и от таких показателей окружающей среды как влажность, температура, уровень солнечной радиации, вид и физиология растений и т.д. (Лаптев Г.Ю., 2019). Например, в результате T-RFLP-анализа Йылдырым Е.А. с соавторами (Йылдырым Е.А. с соавт, 2019) определили, что в свежескошенном травостое среди бактерий порядка *Lactobacillales* доминировали представители рода *Pediococcus* и семейства *Leuconostocaceae*. При подвяливании зеленой массы до влажности ( $65 \pm 1,5$ ) % представители рода *Lactobacillus* вытесняли перечисленные микроорганизмы и занимали в результате доминирующее положение.

Молочнокислые бактерии играют ведущую роль в процессах силосования: используя различные дисахариды, в том числе гексозы, они синтезируют молочную кислоту в качестве основного метаболита, тем самым подкисляя силос до необходимого уровня *pH* и предотвращая развитие нежелательной микрофлоры, которая снижает качество силоса (Fabiszewska A. et al., 2019). Молочнокислые бактерии обладают устойчивостью при уровне значения *pH* от 3,0 до 3,5, это делает их весьма конкурентноспособными на стадии основного брожения при соблюдении правильной технологии закладки и хранения силоса (Guo X. et al., 2018). Молочнокислые бактерии проявляют свойство осмоотолерантности при подвяливании растительного сырья, которое в свою очередь приводит к увеличению сухого вещества (Победнов Ю.А., 2014, Шурхно Р.А., 2015). Поэтому выбирать осмоотолерантные штаммы для создания биоконсервантов следует среди бактерий рода *Lactobacillus*.

Молочнокислые бактерии подразделяются на гомо- и гетероферментативные согласно классификации Орла-Йенсена (Orla-Jensen S., 1919), которую он провел на основании способности микроорганизмами сбраживать гексозы. Первые синтезируют только молочную кислоту. Вторые — молочную кислоту, уксусную и другие кислоты, а также спирт, воду и углекислый газ (Зафрен, С.Я. 1956, Мак-Дональд П., 1985, Евтисова С.Х., 1998, Лаптев Г.Ю., 2006а). Гетероферментативные бактерии в некоторой степени увеличивают потери питательных веществ силоса при газообразовании. С другой стороны, некоторые штаммы гетероферментативных бактерий синтезируют продукты, обладающие высокой активностью против плесеней и дрожжей. В последние годы такие штаммы все чаще используют при изготовлении препаратов для силосования (Лаптев Г.Ю., 2006а, Осипян Б.А., 2014, Зиновенко А.Л., 2019, Бирюк Е.Н., 2021).

Сегодня молочнокислые бактерии уже подразделяют на 3 группы (Йылдырым Е.А., 2019):

- облигатно-гомоферментативные (используют гексозы, в том числе глюкозу, а также некоторые дисахариды, в процессе жизнедеятельности вырабатывают преимущественно одну кислоту - молочную;
- факультативно-гетероферментативные (расщепляют гексозы с образованием молочной, уксусной кислот, этанола, муравьиной кислоты при недостатке глюкозы);
- облигатно-гетероферментативные (производят разнообразные продукты, включая молочную кислоту (менее 50%), а также летучие кислоты, этиловый спирт, углекислоту и ряд других разнообразных продуктов.

Подход, основанный на классических микробиологических исследованиях (Мак-Дональд П., 1985), очень часто приводил к значительной недооценке представлений о подлинном разнообразии молочнокислых микроорганизмов в экосистеме силоса. На сегодняшний день к молочнокислым микроорганизмам относятся представители следующих родов: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* и *Weissella*, доминирующими родами

молочнокислых бактерий в силосе являются роды *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus sp.* и *Lactococcus sp.* (Лаптев Г.Ю., 2015).

Крайне нежелательными при консервировании силосной массы являются маслянокислые бактерии, в том числе клостридии (Hooker K. et al., 2019). Данные микроорганизмы в процессе маслянокислого брожения образуют масляную кислоту, углекислый газ и водород, наряду с этими веществами может получиться ряд побочных продуктов, таких как уксусная, пропионовая, муравьиная кислота, а также бутиловый спирт и ацетон (Орлов А.П., 1936, Лаптев Г.Ю., 2006а). Масляная кислота снижает поедаемость корма из-за своего запаха и вкуса. Негативное воздействие маслянокислых бактерий связано не только с образованием масляной кислоты, но также с уменьшением количества белка, т.к. эти бактерии способны синтезировать ферменты протеазы, которые разрушают белок в силосе. Маслянокислые бактерии обычно размножаются при высокой влажности (выше 75%), поэтому их развитие можно предотвратить, применив химические или биологические консерванты, поскольку эти бактерии погибают в кислой среде. Большинство маслянокислых бактерий прекращают свой рост при  $pH$ , равном 4,2-4,3, (Weissbach F, 1968). Клостридии являются облигатными анаэробами, поэтому могут синтезировать споры (токсины), стойкие к действию высоких температур (Kehler W., 1996). Например, к группе маслянокислых микроорганизмов относится *Clostridium botulinus*, который встречается в почве, откуда и попадает на зеленые растения. Он вырабатывает токсин ботулизма при развитии на питательном субстрате (Хохрин С.Н., 2013).

Маслянокислые бактерии приносят огромный ущерб. Эти микроорганизмы попадают в молоко именно из силоса. Особенно их много в «клостридиальном» силосе, в таких силосах содержится большое количество спор маслянокислых бактерий. Молоко от коров, которым скармливают такой силос, не пригодно для производства сыров, чувствительных к маслянокислому брожению (Дорофеев Р.В., 2022).

Наиболее важные виды клостридий силоса делятся на три группы по основным соединениям, которые они ферментируют: протеолитические

кlostридии, которые ферментируют в основном аминокислоты, группа *Clostridium butyricum*, которая ферментирует углеводы, и *C. tyrobutyricum*, который ферментирует некоторые сахара, но, что более важно, ферментирует молочную кислоту (Vuxton D.R. et al., 2003, Muck R., 2010).

Также примером нежелательных микроорганизмов являются энтеробактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Эти бактерии являются основным источником силосного газа. При ферментации они превращают глюкозу в смесь органических кислот (уксусная, муравьиная, янтарная), а также в спирт и в некоторых случаях в 2,3-бутандиол. Они являются конкурентами молочнокислых бактерий, т.к. используют в качестве источника питания углеводы, тем самым противодействуя снижению значения *pH*. Их ферментация менее желательна, чем молочнокислых бактерий. Также некоторые энтеробактерии могут продуцировать эндотоксины (Muck R., 2010). При заготовке кормов необходимо препятствовать деятельности таких микроорганизмов, как энтеробактерии, которые также обладают способностью разлагать аминокислоты. Рост энтеробактерий может быть подавлен молочнокислым брожением (Мусин Р.Р. с соавт., 2022). Образующаяся молочная кислота увеличивает концентрацию ионов водорода и недиссоциированных кислот до уровня, при котором подавляются нежелательные организмы (McDonald P. et al., 1991).

Уксуснокислые бактерии, описанные Е. Гансеном в 1897 году, широко распространены в природе. Число видов уксуснокислых бактерий очень велико. Это типичные аэробы, способные образовывать на поверхности субстратов пленки. Размножаются уксуснокислые бактерии чрезвычайно быстро: в течение 12 часов из одной бактериальной клетки может возникнуть до  $17 \times 10^6$  особей. Небольшое количество уксусной кислоты в субстрате ускоряет их размножение (Гурдова Б.Ю., 2021а, 2021б). Уксуснокислые бактерии способны существовать в присутствии глюкозы в анаэробных условиях, но бескислородная обстановка не является благоприятной для размножения уксуснокислых бактерий, поэтому при правильном силосовании в силосуемой массе эти бактерии не могут активно размножаться (Зубрилин А.А. с соавт., 1958).

Бактерии, вызывающие гнилостный распад белков, очень широко распространены в природе. При распаде белка накапливается значительное количество аммиака. Гнилостные бактерии рода *Bacillus* и *Pseudomonas* вызывают разогревание и гниение силоса, однако размножение этих организмов в силосуемой массе можно подавить, если обеспечить его быстрое подкисление, так как при *pH* ниже 4,5 они развиваться не могут (Лаптев Г.Ю., 2006а, Хохрин С.Н., 2013).

Присутствие в сырье микотоксинов - продуктов жизнедеятельности плесневых грибов представляет серьезную проблему во всем мире (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2014). Микотоксины — это вторичные метаболиты плесневых грибов, они поражают корма на всех этапах технологического процесса: в период выращивания, уборки, а также при хранении сельскохозяйственных культур (Wilson D.M., 1992, Кононенко Г.П., Буркин А.А., 2014, Лаптев Г.Ю. с соавт. 2018). Афлатоксины, Т-2 токсин, фумонизины, зеараленон, охратоксины и дезоксиниваленон являются основными видами микотоксинов, которые вызывают токсикозы (Диаз Д., 2006, Boudergue C. et al., 2009). Исследователи часто находят в силосованных кормах микромицеты, которые принадлежат к родам *Penicillium sp.*, *Fuzarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.*, *Byssochlamys sp.*, *Absidia sp.*, *Arthriniun sp.*, *Geotrichum sp.*, *Monascus sp.*, *Scopulariopsis sp.* и *Trichoderma sp.*, среди которых много токсинообразующих видов (Duniere L, et al. 2017, Vu V.H., Li X., Wang M. et al, 2019). Содержание микромицетов в обемистых кормах, как правило, составляет до  $10^5$  КОЕ/г субстрата. Развитие микроскопических грибов в силосе приводит к ухудшению биохимических показателей качества корма, нестабильности его при выемке, а также накоплению микотоксинов (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021). Последствиями воздействия микотоксинов на крупный рогатый скот являются тяжелые поражения различных органов и систем, расстройства пищеварения, снижение иммунитета, репродуктивных способностей животных, удоя и продуктивного долголетия, все это ведет к серьезным экономическим убыткам (Йылдырым с соавт., 2016, Бражник с соавт., 2018). Гриб *Byssochlamus nivea* синтезирует патулин,



смертельно опасный для крупного рогатого скота. Силос без плесневых грибов можно получить только с помощью качественной трамбовки и использования консервантов (Лаптев Г.Ю., 2006а, 2016б).

Впервые в 1932 году Рушман и Граф (Ruschman G., Graf C., 1932) выявили наличие дрожжей в силосе. На сегодняшний день биоразнообразие дрожжей в силосе представлено *Candida sp.* (*C. krusei*, *C. milleri*, *C. apicola* и др.), *Saccharomyces sp.* (*S. cerevisiae*, *S. martiniae* и др.), а также *Torulasporea delbrueckii*. Они участвуют в аэробном разложении силоса при попадании воздуха (например, при разрыве пленки). Они легко переносят кислую среду и остаются активными при низких значениях *pH* (до 2,0). Их присутствие крайне нежелательно: они составляют конкуренцию молочнокислым бактериям за источники питания т.к. способны ферментировать сахара до образования этилового спирта, углекислого газа и воды (Лаптев Г.Ю., 2006а, 2021).

Таким образом, силосование – это сложный микробиологический процесс, на него и на биохимию готового силоса влияют эпифитные микроорганизмы, которые присутствуют на надземных органах кормовых культур, в том числе патогенные микроорганизмы, а ведущую роль играют молочнокислые бактерии, которые синтезируют молочную кислоту в качестве основного метаболита, тем самым подкисляя силос до необходимого уровня *pH* и предотвращая развитие нежелательной микрофлоры, которая снижает качество силоса.

## 1.2 Питательная ценность кормов

Все питательные вещества организм животного получает с кормом, поэтому он должен быть качественным и питательным. Обеспечение животных энергией и протеином является одним из основных факторов, определяющих уровень их продуктивности (Калашников А.П., 1984, Тяпугин Е.А., 2012, Кузнецов В.М.,

2013). В теории кормления сельскохозяйственных животных, особенно молочных коров, проблема энергетического и протеинового питания занимает центральное положение (Магомедов М. Ш., 2011, Симонов Г.А., 2011).

Питание - сложный процесс взаимодействия между организмом животного и кормами, поступающими в его организм. В этом процессе составные питательные вещества кормов воздействуют на организм животного не изолированно друг от друга, а в комплексе. Сбалансированность в соответствии с потребностями животных является главным показателем полноценности этого комплекса (Саха У. с соавт., 2018). Полноценное питание животных положительно влияет на качество получаемой продукции.

Под питательностью корма (или рациона) понимают его свойства удовлетворять потребности животных в пище. Животные используют питательные вещества корма в качестве источника энергии, а также как материал для образования новых тканей, молока и отложения резервных веществ. Поэтому качеству корма необходимо уделять больше внимания. Общими требованиями к кормам являются:

- содержание максимального количества переваримых и усваиваемых питательных веществ, наиболее специфичных для данного корма и ценных для животных;

- отсутствие или содержание не более предельно допустимого количества вредных и ядовитых веществ, негативно влияющих на здоровье животных, усвоение питательных веществ, качество продукции;

- привлекательный внешний вид, соответствие ГОСТу цвета и запаха корма, отсутствие признаков порчи;

- высокие вкусовые качества корма;

- пригодность для длительного хранения в натуральном или консервированном виде (Симонов С.А. с соавт., 2019).

Количество и качество животноводческой продукции зависят от того, насколько корм по своим физико-химическим свойствам и содержанию питательных веществ соответствует потребностям животных. Корма

характеризуются неодинаковым содержанием органических и биологически активных веществ. На протеиновую, углеводную, минеральную и витаминную питательность корма влияет заготовка, способ хранения и подготовки к скармливанию и т.д. Качество корма для животных в конечном итоге определяется его влиянием на продуктивность животных. Таким образом, качество корма оценивается с точки зрения количества произведенного молока, полученных привесов животных, репродуктивной эффективности и других реакций животных. Все это требует повышенного внимания к качеству заготавливаемых грубых, сочных кормов и сохранности в них питательных веществ (Машталенко С.С., 2021).

Использование качественных кормов с оптимальным содержанием обменной энергии и сырого протеина в рационах высокопродуктивных лактирующих коров позволит получать от них запланированную годовую молочную продуктивность и поднять на более высокий уровень экономические показатели производства молока (Симонов Г.А., 2019).

Чтобы лучше распределить корма между животными с разными пищеварительными потребностями, проводятся лабораторные исследования грубых кормов (Romero J.J. et al., 2014).

В настоящее время в нашей стране применяется схема химического анализа кормов, разработанная в 1860 г. Вильгельмом Геннебергом в Веенде (Голландия). В основе такой оценки качества кормов лежат органолептические и физико-химические показатели содержания сырых питательных веществ (сухого вещества, протеина, клетчатки, жира, золы); дополнительно: в силосованных кормах -  $pH$ , содержание органических кислот, азота, аммиака; в искусственно высушенных кормах — физическая форма, каротин и др. (Попов В.В., 2020а).

В последнее время на смену Веендевской модели приходит схема зоотехнического анализа, так называемая детергентная парадигма Ван Соеста, которая позволила отказаться от сырых питательных веществ и перейти к чистым субстратам углеводов - неструктурных (сахара, крахмал и пр.), к их переваримым

и труднопереваримым фракциям (гемицеллюлоза, целлюлоза) и к практически непереваримому лигнину (Попов В.В., 2020б).

Одним из главных показателей питательности кормов является протеин. Применяемые в настоящее время нормы кормления высокопродуктивных дойных коров, основанные на показателях сырого и перевариваемого протеина, не отражают процессы, происходящие с протеином корма в рубце. Во многих странах мира в практику кормления молочного скота была введена новая система протеинового питания, основанная на расщепляемости протеина кормов в рубце (Матяев В.И., 2013, 2015):

- сырой протеин – это общее содержание азота в образце, включая весь небелковый азот (аммиак, аммонийные соединения);

- доступный протеин отражает количество доступного для животных протеина;

- растворимый протеин – это процент сырого протеина, растворимого в буфере, который отвечает за рН рубца. Высокое содержание растворимого сырого протеина говорит о том, что большое количество протеина будет доступно в рубце;

- содержание аминокислот – отражает содержание истинного протеина в корме, представленного белками, пептидами;

- аммиак – аммиачная фракция, отражающая степень распада белка на небелковые соединения. Высокий показатель фракции аммиака указывает на процесс гниения силоса;

- НДСП (нейтрально-детергентный нерастворимый сырой протеин) – белок, связанный с клетчаткой. Усваивается медленнее, при его повышении увеличивается транзитность белка;

- КДНСП (кислотно-детергентный нерастворимый сырой протеин) – нерастворимая фракция белка, связанная с кислотно-детергентной клетчаткой. Недоступен для животных. Увеличивается при избыточном нагреве в ходе силосования или из-за излишней тепловой обработки жмыхов (Анализ кормов и ветеринарная диагностика: [сайт].URL: <https://lab.yarvet.ru>).

Углеводы являются основными источниками энергии для рубцовых микроорганизмов, ответственных за переваривание корма в рубце. Углеводы грубых кормов делятся на структурные углеводы (стенки растительных клеток) и неструктурные углеводы (содержимое клетки) (Кастильо М., 2018).

Неструктурные углеводы состоят из различных типов сахаров (например, сахарозы) и резервных углеводов (крахмал и фруктаны). Эти углеводы становятся доступными для рубцовых микробов после пережевывания и поэтому быстро и полностью перевариваются. Структурные углеводы: стенки растительных клеток состоят из целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина, пектина,  $\beta$ -глюканов, и полисахаридов. Лигнин является неуглеводным компонентом клеточной стенки, который оказывает негативное влияние на перевариваемость корма. Анализ на содержание перевариваемой клетчатки подразделяет содержимое стенок растительных клеток на нейтрально-детергентную клетчатку, кислотно-детергентную клетчатку и кислотно-детергентный лигнин (Сизова Ю.В., 2013, Саха У. с соавт., 2018).

Жиры - самая богатая энергией фракция. Самые главные жиры в грубых кормах – жирные кислоты, триглицериды и фосфолипиды. Жирные кислоты, как правило, составляют (1–3) % от содержания сухого вещества корма, причем большинство из них относится к полиненасыщенным кислотам (Hatfield R.D. et al., 2007).

Также в корме изучается содержание сахаров. Сахар — это субстрат, который используется молочнокислыми бактериями для ферментации сенажа и поэтому очень важен для получения хорошего сенажа. Кроме того, это источник хорошей и быстро доступной энергии для животного. Но, тем не менее, содержание сахара не должно быть слишком высоким, потому что это может стать причиной очень высокого содержания кислоты в рубце. Особенности образования сахара при провяливания и силосования кормовых трав начали изучать ещё в 30-х годах прошлого столетия. Было сделано заключение, что причиной новообразования сахара служит гидролиз содержащегося в растениях крахмала (Зубрилин А.А., 1938).

Основными продуктами ферментации в силосе являются:

- молочная кислота относительно сильная кислота, она отвечает за снижение уровня pH в силосе/сенаже (Ерохина А.В., 2021);
- уксусная кислота относительно слабая кислота, она обладает фунгицидной активностью, то есть защищает корм от нагрева при доступе воздуха, в больших количествах снижает поедаемость корма (Мамаев А.А., 2019);
- масляная кислота образуется в ходе жизнедеятельности клостридий, эта кислота служит маркером их присутствия в корме (Лаптев Г.Ю., 2006).

Также в готовом продукте анализируется соотношение молочной и уксусной кислот. Если процесс консервации быстрый и контролируемый, то отношение молочной к уксусной кислоте должно быть больше 3 (Анализ кормов и ветеринарная диагностика: [сайт].URL: <https://lab.yarvet.ru>).

В готовом силосе также определяется уровень *pH*, который является мерой закисления корма. Оптимальным значением принято считать 4,2, так как при более низких значениях этого параметра прекращается рост клостридий, вызывающих токсичность корма (Хохрин С.Н., 2013).

Также в силосах определяется такой показатель как «ферментационные потери». Он отражает, сколько сухого вещества было потеряно в ходе ферментации. Чем меньше значение ферментационных потерь, тем лучше. Потери сухого вещества при ферментации представляют собой потери сахара или легкоусвояемого корма во время ферментации и не дают представления о потерях урожая или кормов (Goeser J.P. et al., 2015).

Таким образом, количественные и качественные показатели продукции животноводства зависят от того, насколько корм по своим физико-химическим свойствам и содержанию питательных веществ соответствует потребностям животных. Состав питательных веществ кормов широко варьируется. Лабораторный анализ питательных веществ является ценным инструментом, позволяющим определить, существуют ли проблемы при производстве кормов, и как лучше всего использовать эти корма в хорошо спланированной программе

питания. Важно понимать результаты анализа кормов в контексте потребностей животных.

### **1.3 Изменение биохимического состава кормов в ходе ферментации**

Силосование – это процесс анаэробной ферментации сахаров, присутствующих в сельскохозяйственных культурах при участии микробиоты. Представители микробиоты метаболизируют сахара для получения энергии, продуцируя при этом ряд метаболитов, прежде всего, органические кислоты. Продукция органических кислот в силосе имеет решающее значение для успешного завершения процесса ферментации (Победнов Ю.А. с соавт., 2020).

Отсутствие гидролитической активности у молочнокислых бактерий по отношению к сложным углеводам консервированных кормов требует присутствие в силосе значительного количества легко ферментируемых сахаров (т.е. моносахаридов и олигосахаридов). В большинстве силосов субстратами для ферментации являются фруктоза и глюкоза.

Для молочнокислых бактерий доступность разных видов сахаридов зависит от многих факторов: вида культуры, особенностей выращивания, сроков уборки и может быть недостаточной для производства высококачественного силоса (Победнов Ю.А., Ширококоряд М.С., 2019, Победнов Ю.А. с соавт., 2020). После уборки общая концентрация углеводов имеет тенденцию к снижению в ходе силосования. Как правило, наблюдается выраженное уменьшение количества сахаров в ходе силосования из-за продолжающегося дыхания растений и микробной ферментации.

С точки зрения питательной ценности корма для жвачных животных, в процессе ферментации корма важно сохранить как можно больше углеводов. Структурные углеводы представляют собой потенциальные, но гораздо менее доступные для ферментов микроорганизмов источники сбраживаемых углеводов.

Сложность организации клеточной стенки растений также создает проблему с доступностью для ферментов (т.е. разлагаемый субстрат не может быть разрушен, если фермент не имеет к нему доступа).

Нежелательные микроорганизмы силоса, такие, как энтеробактерии, ферментируют углеводы до широкого спектра продуктов. Эти продукты включают лактат, ацетат, этанол, формиат и четырехуглеродные соединения, такие как ацетон и бутандион. Лактат, однако, производится в незначительных количествах, поэтому энтеробактерии нежелательны при брожении силоса (Йылдырым Е.А., 2019, Лаптев Г.Ю., 2021).

Пути, приводящие к производству масляной кислоты из гексоз и лактата, описаны для сахаролитических видов клостридий. Этот процесс нежелателен в силосе, поскольку масляная кислота является более слабой кислотой, чем лактат, и, следовательно, преобразование молочной кислоты и сахаров до масляной кислоты приводит к увеличению уровня  $pH$  силоса. Также продуктами ферментации сахаров сахаролитическими клостридиями являются ацетат, этанол, пропионат и бутанол (Йылдырым Е.А., 2019).

Снижение содержания протеина в процессе консервирования массы происходит в результате взаимодействия растительных ферментов и многочисленных видов микроорганизмов в результате протеолиза (Победнов Ю.А., 2020).

Как было отмечено, растительные белки в ходе ферментации разлагаются на олигопептиды, свободные аминокислоты, аммиак, амины и другие формы небелкового азота (Победнов Ю.А. с соавт., 2019а, 2019б). Использование небелкового азота в рубце менее эффективно. Аминная фракция включает такие компоненты, как путресцин, спермидин и тирамин. Присутствие аминов в силосе крайне нежелательно, потому что их содержание коррелирует с уменьшением потребления корма, при высокой концентрации амины могут быть токсичны. Гидролиз белка, в основном, происходит за счет действия растительных экзо- и эндопептидаз. Основные экзо- и эндопептидазы, гидролизующие кормовой белок: ди-, трипептидил- и карбоксипептидазы, а также металлопептидазы и



цистеиновые пептидазы. Помимо этого, аминопептидаза и кислотная протеиназа играют важную роль в процессе разложения белка. В дополнение к разложению белка в результате действия растительных протеиназ сообщалось также об участии микроорганизмов, таких, как протеолитические виды *Clostridium*, *Bacillus*, *Curtobacterium* и *Paenibacillus* и других (НАО W., 2019), - в протеолизе во время силосования. Так, Тао с соавторами (Тао L., 2012) исследовали влияние эпифитных бактерий и экзогенных молочнокислых бактерий на протеолиз в силосе из люцерны и пришли к выводу, что и микроорганизмы оказывали влияние на образование небелкового азота. Херон с соавторами (Heron S., 1986) также указывали, что основными конечными продуктами деятельности микробных протеиназ в силосе являются аммиак и амины.

Доминирующим путем ферментации дрожжей в анаэробных условиях является декарбоксилирование пирувата в ацетальдегид и последующее восстановление ацетальдегида до этанола. Другие конечные продукты анаэробного брожения дрожжей – это ацетат, лактат, пропионат и высшие спирты, такие как пропанол и бутанол. В результате данного процесса происходит потеря сухого вещества и увеличение уровня *pH* силоса. В присутствии кислорода сахар и молочная кислота полностью окисляются до углекислого газа и воды через гликолитический путь и цикл трикарбоновых кислот. Такой аэробный метаболизм является причиной разогревания и порчи силоса при воздействии кислорода (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021).

При проведении NGS-секвенирования силоса из ежи сборной 30-суточного срока хранения были найдены бактерии филума *Bacteroidetes* (Лаптев с соавт., 2019). Они известны своей способностью расщеплять крахмал с образованием различных кислот (янтарной, молочной, уксусной и др.) Также в силосе были обнаружены бактерии порядка *Selenomonadales*, способные расщеплять молочную кислоту с образованием уксусной, янтарной, пропионовой, масляной, валериановой кислот, водорода и углекислого газа, что препятствует снижению уровня *pH* (Йылдырым Е.А., 2019). Поэтому нахождение повышенного

количества данных микроорганизмов в силосе может говорить о том, что процесс силосования прошел неправильно.

Таким образом, представители микробиоты сельскохозяйственных культур участвуют в процессе ферментации зеленой массы, при этом они используют сахара для получения энергии и продуцируют при этом ряд метаболитов, прежде всего, органические кислоты. Нежелательные микроорганизмы силоса ферментируют углеводы до широкого спектра продуктов, в результате чего происходит потеря сухого вещества и увеличение уровня *pH* силоса.

#### **1.4 Потери питательных веществ консервированного корма**

Качество объемистых кормов определяется потерями питательных веществ при заготовке и хранении. Потери питательных веществ возникают: при уборке и транспортировке зеленой массы (это так называемые полевые потери); в процессе дыхания клеток растений после скашивания, ферментации и брожения в период силосования (это так называемые биохимические потери); в результате порчи при хранении силоса (потери в верхних и боковых слоях силосной массы) (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021).

Согласно классификации Циммера потери питательных веществ корма в процессе силосования делятся на неизбежные и устранимые. К числу неизбежных потерь питательных веществ автор относит потери от остаточного дыхания растений (1-2%) вследствие деятельности растительных ферментов. К неизбежным относятся также потери питательных веществ вследствие жизнедеятельности лактобактерий, использующих сахара в качестве источника питания, а также развития нежелательной микробиоты. Определенная доля потерь происходит при стоке силосного сока (5-7%) и подвяливание растительного сырья (2-5%). Основная же доля потерь при силосовании (до 40%), происходящих в результате жизнедеятельности нежелательной микробиоты,

приходится на устранимые потери. К ним относятся: вторичное микробное брожение (0-5%), аэробное разложение при хранении (0-10%), аэробное разложение после выгрузки (0-16%) (Zimmer E, 1966).

Одним из надежных технологических приемов, позволяющих минимизировать потери питательных веществ, служит подвяливание зеленой массы. Полученный корм лучше поедается животными и гарантирует их высокую продуктивность (Косолапов В.М., 1992, Тебердиев Д.М., 1996, Лаптев Г.Ю., 2006, Кузнецов Н.Н., 2019).

Быстрое проявление многолетних трав в ясную или пасмурную погоду в скошенных растениях приводит к процессу гидролиза сложных углеводов (преимущественно гемицеллюлозы), отчего увеличивается содержание сахаров до 20%. Заготовка корма с влажностью около 65% исключает появление в нём масляной кислоты, т.к. развитие маслянокислых бактерий останавливается (Марченко А.Ю. 2016).

Получение качественных и безопасных объемистых кормов путем снижения устранимых потерь питательных веществ – это многоступенчатый процесс, он начинается с правильного и обоснованного выбора кормовых культур, которые предназначены для консервирования, с соблюдения агротехнических приемов возделывания этих культур и оптимальных сроков уборки травостоя. Большой вклад в качество заготовленного продукта вносят технологии закладки, хранения и выемки силоса, применяемые в животноводческих хозяйствах, а также правильный выбор заквасок для силосования (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021).

Например, при сенажировании люцерны без консерванта происходит потеря питательных веществ до 12-13 %. Кроме того, люцерна, содержащая 18 и более % сырого протеина, плохо консервируется из-за недостаточного содержания сахаров и высокой буферной емкости. Высококачественный корм можно получить только при использовании консервантов (Глазов А.Ф., 2012, Марченко А.Ю. 2016).

Таким образом, основная задача при силосовании зеленых растений заключается в том, чтобы получить силос высокого качества с меньшими потерями питательных веществ.

## **1.5 Применение консервантов для силосования**

Процесс силосования зависит от многих факторов, таких как эпифитная микрофлора, условия уборки и содержание сахара в корме. Одним из способов контролирования процесса ферментации является применение различных препаратов для силосования (консервантов). Эти препараты стимулируют или предотвращают определенные виды ферментации, тем самым сокращая потери и улучшая стабильность силоса. Целью применения данных препаратов является обеспечение развития молочнокислых бактерий в процессе ферментации, которые вырабатывают молочную кислоту в количествах, необходимых для получения качественного силоса (Yitbarek M. B., Tamir B., 2014).

Использование консервантов при силосовании обусловлено необходимостью обеспечить минимизацию потерь питательных веществ и обменной энергии, связанных с процессами брожения, протекающими при консервировании корма.

В кормопроизводстве используют две основные группы консервантов: химические и биологические (Лаптев Г.Ю., 2021).

### **1.5.1 Применение химических консервантов**

Химические вещества, используемые для консервирования кормов, по их действию разделяют на четыре группы: минеральные кислоты, органические

кислоты, антибактериальные соли и газы. Минеральные кислоты (соляная, серная, фосфорная) подкисляют силосную массу до  $pH$  3,8-4,2. При этом создается устойчивая среда, которая подавляет развитие гнилостной, маслянокислого и другой нежелательной микрофлоры. Развитие молочнокислых бактерий при этом не стимулируется. Широкомасштабные исследования использования минеральных кислот как ингибиторов ферментации были проведены Виртаненом в Финляндии в 1933 году. В результате внесения растворов серной, соляной и фосфорных кислот в силос с целью снижения  $pH$  до 4,0 существенно уменьшались потери питательных веществ в результате прекращения всех ферментативных процессов и создавались оптимальные условия для его сохранения (Зафрен С.Я., 1977).

В 1931 году был получен патент на способ консервирования зеленых кормов смесью соляной и серной кислот (препарат АIV), который предложил финский ученый А.И.Виртанен. Этот препарат применялся в Финляндии до конца 60-х годов главным образом при силосовании клевера. В те же 30-е годы в Германии был разработан препарат "Дефу", состоящий из соляной, фосфорной кислот и мелассы. В 1936 году А.А.Зубрилин разработал и предложил для применения препарат ААЗ, представляющий из себя смесь, состоящую из раствора соляной кислоты и раствора сернокислого натрия (70/30) (Зубрилин А.А., 1938). В результате исследований по использованию минеральных кислот были предложены препараты из смеси минеральных кислот - соляной и серной в различных соотношениях: ВИК, ИБ-2, К-2 и др. Их внесение в сенажируемую массу способствовало снижению потерь питательных веществ по сравнению с обычным сенажированием в 2-3 раза (Хохрин С.Н., 2013). Однако, при исследованиях в физиологических опытах было установлено, что потребление дойными коровами силоса, консервированного минеральными кислотами, приводит к увеличению выделения с мочой кальция и фосфора, а также аммиака. Вместо минеральных кислот стали использовать сульфиты, бисульфиты, метабисульфиты щелочных металлов, а также нитриты. В результате опытов А.А.Березовского и др. (1948, 1960) было установлено, что применение

метабисульфита натрия способствует высокой сохранности сахара в готовом корме (до 80%) (Березовский А.А., 1970). Тем не менее, этот препарат значительно уступал по консервирующей эффективности органическим кислотам. В итоге данные химические консерванты не нашли широкого распространения в сельском хозяйстве (Зафрен С.Я., 1977).

В 30-е годы прошлого века широко использовались органические кислоты: уксусная, муравьиная, бензойная, пропионовая, салициловая и другие. По своим свойствам пропионовая, муравьиная, уксусная кислоты относятся к летучим жирным кислотам, которые имеются в силосе, сенаже и других кормах, получаемых благодаря брожению, а также производятся в преджелудках жвачных животных и являются нормальными промежуточными продуктами обмена веществ в их организме (Хохрин С.Н., 2013).

Пропионовая кислота проявляет сильное фунгицидное действие - препятствует развитию плесени. Лучше проявляет свои свойства при хранении влажного сена и зерна. Пропионовая кислота - естественный метаболит в организме животных. Законсервированные корма хорошо поедаются животными, безвредны, не ухудшают качества продукции. Однако в чистом виде эта кислота практически не применяется. Только при силосовании кукурузы она показала определенный эффект (Britt D.C., 1974, Zimmer, E, 1977, Росляков, Ю. Ф., 1993).

Особое признание получила при консервировании трав муравьиная кислота, она обладает наиболее сильным консервирующим действием. Муравьиная кислота проявляет сильное бактерицидное действие - подавляет жизнедеятельность гнилостных и масляных бактерий, сдерживает рост дрожжей. Однако это летучее соединение, выделяет пары, которые сильно раздражают слизистую оболочку верхних дыхательных путей и глаз. Если ее капли попадают на кожу, появляются ожоги. Тем не менее, муравьиная кислота прочно заняла ведущее место в химическом консервировании зеленых кормов. Учитывая высокую надежность препарата, специалисты многих стран мира отдают ей предпочтение. Муравьиная кислота является лидирующей и в нашей стране. Эффективным приемом является использование муравьиной кислоты в смеси с

другими добавками, в частности кормовыми - монокальций, -дикальций фосфаты, микро- и макроэлементы, мочевина (Таранов М.Т.,1960). Эффективность отдельных кислот увеличивается при использовании их в смеси. Например, смесь пропионовой и муравьиной кислот более эффективна, чем отдельно взятые кислоты при силосовании трав. Она гарантирует защиту корма от самосогревания и плесневения одновременно (Васильева Е., 2021).

Уксусная кислота является продуктом бродильных процессов в рубце жвачных и метаболит белков, жиров и углеводов, она используется в качестве источника энергии и для образования молочного жира у лактирующих коров. В лаборатории консервирования и хранения кормов ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса профессором В.А.Бондаревым были разработаны, проверены и предложены два новых препарата: ВИК-1 для легкосилосующегося и ВИК-2 для трудно- и несилосующегося сырья. В состав первого препарата входят: муравьиная кислота (27%), уксусная (27%), пропионовая (26%) и 20% воды. В составе второго препарата, ВИК-2 муравьиной кислоты содержится 69% (80%-концентрации), пропионовой - 11% и уксусной -9% (Панов А.А., 1998).

Органические кислоты используются при заготовке при неблагоприятных и сложных погодных условиях, при силосовании культур растений с высоким содержанием протеина, низким содержанием сахара, сухим веществом менее 30% или более 40% и др., при недостаточной трамбовке консервируемой массы. Использование препаратов из органических кислот позволяет достигать быстрого понижения  $pH$  при силосовании. В составе современных препаратов для силосования наиболее часто присутствуют муравьиная кислота и ее соли (формиат натрия, формиат аммония), пропионовая кислота и ее производные (финские препараты «AIV 2 plus Na», «AIV 3 plus Na», «AIV 2000 plus Na»), а также соединения бензойной кислоты и некоторые другие соли. Органические кислоты обладают таким свойством как синергизм, благодаря этому они часто применяются совместно (Васильева Е., 2021).

Другой класс добавок — это разнообразные соли, которые находятся на стадии экспериментальных разработок и ныне широко не используются при

производстве силоса. Влияние солей на консервацию силоса состоит в повышении осмотического давления и ингибирующего действия анионов.

Тем не менее, применение химических консервантов ограничено в связи с их высокой стоимостью, они обладают коррозионным действием, а также отрицательно влияют на здоровье персонала, который с ними работает. Химические препараты применяются только в крайних случаях, если условия не оптимальны для силосования, и в итоге силос может быть испорчен. Например, если не удастся достигнуть целевых показателей по провяливанью, или поле очень неравномерно по влажности и урожайности после провяливания. Для уменьшения потерь верхнего слоя травостоя, который плохо трамбуется, рекомендуется стабилизировать верхние 60-70 см химическим консервантом (Лютых О., 2020).

Таким образом, основной недостаток химических консервантов - дороговизна по сравнению с биологическими, но если учитывать потери питательных веществ, которые происходят в следствии порчи силоса, то использование их вполне оправданно. Чаще всего среди продуктов этой категории используются химические консерванты на основе органических кислот.

### **1.5.2 Применение биологических консервантов**

Альтернативой химическим являются консерванты биологической природы - препараты на основе микроорганизмов различных таксономических групп и экзогенных ферментов, т.е. биоконсерванты.

Для снижения потерь при силосовании актуально применение эффективных биологических консервантов на основе продуцентов органических кислот — например, лактобацилл, пропионовокислых бактерий, энтерококков и их композиций (Бикчантаев И.Т. с соавт., 2018, Марченко А.Ю. с соавт., 2020).



Наиболее распространенной добавкой к силосу является бактериальный инокулянт (биоконсервант), который содержит выбранные штаммы молочнокислых бактерий. Эти добавки помогают гарантировать быструю и эффективную ферментацию силоса, улучшают извлечение сухого вещества (СВ) из силоса, могут улучшить усвояемость СВ, но мало влияют на аэробную стабильность. Эти продукты не всегда эффективны, прежде всего потому, что им приходится конкурировать с эпифитными молочнокислыми бактериями силоса (Muck R. et. al., 1997).

В основе биологических консервантов - культуры молочнокислых бактерий, продуценты молочной кислоты, которая подавляет нежелательную микробиоту в силосе. Молочнокислые бактерии усиливают процесс силосования путем ферментации сахара в молочную и уксусную кислоты, вследствие этого подавляется рост плесеней и дрожжей, а также увеличивается аэробная стабильность кормов, улучшаются органолептические свойства силоса, что способствует его поедаемости и повышению продуктивности животных (Чехранова С.В. с соавт., 2021).

Механизм действия биоконсервантов состоит в том, что они играют основную роль в процессах становления микробиоты силоса, в качестве основного продукта метаболизма молочнокислых бактерий образуется молочная кислота, что способствует снижению рН и угнетению деятельности патогенов и условно-патогенной микрофлоры, которые снижают биохимические показатели качества силоса, а также данные бактерии продуцируют ферменты, осуществляющие биодеструкцию микотоксинов (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021, Биконя С.Н. с соавт., 2022).

К современным биологическим консервантам относятся продуценты органических кислот: лактобациллы, пропионовокислые бактерии, энтерококки в различных композициях. Они являются биологическими продуцентами органических кислот, а также биоцидов, губительно действующих на гнилостную микрофлору, в том числе на размножение плесневых грибов, вырабатывающих микотоксины. Биоконсерванты представлены препаратами на основе нескольких

видов бактерий-синергистов (обычно двух-трех различных видов). Избирательная селекция бактерий позволяет получить штаммы с высоким уровнем метаболизма тех или иных соединений (Волкова Г., 2019, Марченко А.Ю., 2020).

Автором первого высокоэффективного микробиологического препарата для консервирования силоса стал отечественный ученый Л.А. Гардер (Лютых О., 2020). В зарубежных работах в результате проведения экспериментов по внесению штаммов бактерий авторы не наблюдали позитивных изменений процесса силосования, а также улучшения качества силоса. Отсутствие эффекта, скорее всего, было связано с тем, что выбранные штаммы не были способны к адаптации существования в условиях силосной массы или же были не жизнеспособны в момент их внесения. Первой удачной попыткой использования молочнокислых бактерий в качестве заквасок для силосования кормов зарубежом явился эксперимент по консервированию свекловичного жома, проведенный французскими исследователями (Watson S., Nash M. 1960).

Требования к молочнокислым бактериям для включения их в состав силосных заквасок, сформулированные к концу 60-х годов прошлого столетия, были следующими (Whittenbury R. A, 1966):

- выбранные виды штаммов должны быть гомоферментативными (производить молочную кислоту из доступных водорастворимых углеводов);
- должны быть устойчивы к кислоте, по крайней мере, при pH 4,0;
- должны быть способны сбраживать гексозы, пентозы и фруктаны, при этом не должны производить декстрины из сахарозы, а также маннита из фруктозы и не использовать органические кислоты в качестве питательного субстрата;
- штаммы должны быстро расти и доминировать над местной силосной микрофлорой;
- проявлять антагонистическую активность в отношении нежелательной микрофлоры;
- обладать конкурентоспособностью;

- обладать способностью расти в провяленной массе (осмотолерантностью) при температуре от 10 до 50° С;

- не должны разрушать белок, т.е. должна отсутствовать протеолитическая активность (Wieringa G.W., Beck T, 1964).

Таким образом в результате проведенных экспериментов и используя сформулированные критерии штаммы бактерии *Lactobacillus plantarum* были отобраны учеными как наиболее оптимальные культуры в качестве основы биоконсервантов для силосования.

В настоящий момент у нас в стране и за рубежом для силосования трав применяется три типа биологических препаратов (Бондарев В.А., 2016, Кучин Н.Н., 2018):

- в основе - преимущественно молочнокислые осмотолерантные бактерии одного вида или в комбинации с другими видами, а также пропионовокислые бактерии («Биотроф<sup>®</sup>», «Биотроф<sup>®</sup> 2+», «Бонсилаж Плюс», «Биоамид-2», «Биосиб» и т.д.);

- комбинированные препараты, в основе которых ферменты и в основном молочнокислые культуры («Пробактил», «Силос Фидтек F18», «Биосиб<sup>®</sup> Комби» и др.);

- препараты, в основе которых только ферменты, главным образом, в виде полиферментных композиций («Феркон»).

Использование ферментов помогает улучшить переваривание, использование кормов и увеличить продуктивность животных. Внесение ферментов в корм непосредственно перед кормлением позволяет избежать негативного воздействия на эффективность ферментов, уже находящихся в силосе. Также это может помочь защитить эти ферменты от расщепления в рубце. Обработка кормов ферментами может улучшить усвояемость силоса за счет ряда различных механизмов, включая прямой гидролиз, улучшение вкусовых качеств, изменение вязкости кишечника и изменения места переваривания (Kung J., 2010).

В России первые опыты с ферментными препаратами были проведены профессором А.А. Зубрилиным (Зубрилин А.А., 1963). В данных опытах

использовались ферменты гидролазы, которые должны были повысить способность растений к силосованию, а также увеличить энергетическую ценность корма за счет разложения сложных углеводов до легкодоступных сахаров. Однако данные ферменты обладали низкой активностью, которая не превышала 10-20 ед./г и 20-50 ед./г, в результате чего не удалось достигнуть положительного результата.

На базе Научно-технического центра «Лекбиотех» совместно с ВНИИ кормов была разработана ферментная композиция «Феркон» (производство «Сиббиофарм»). Препарат выпускался в сухой форме с влажностью не более 8% и состоял из смеси ферментов и наполнителя (мелкомолотые пшеничные отруби и кукурузная мука). Для использования препарат необходимо было растворить в воде. В состав препарата входили три фермента в следующем соотношении: целлюлазы и ксиланазы 1:3,8-4,2; целлюлазы и пектинлиазы 1:1,3-1,7. Ферментативная активность составляла для ксиланазы 30 (КЛА) – 4000-5000 ед./г, целлюлазы (ЦЛА) около 1000 ед./г и пектин-лиазы (ПЛА) – 1300-1650 ед./г (Анисимов, А.А., 2007). Однако использование консерванта «Феркон» при силосовании свежескошенных и слабопроявленных трав при неблагоприятной погоде не принесло положительных результатов. Применение только ферментных препаратов при силосовании имеет следующие недостатки: высокая стоимость и сложность внесения, что существенно ограничивает их использование (Сазонова И.А., 2022).

В нашей стране постоянно велись активные исследования по разработке биоконсервантов для силосования. Всего было предложено 9 препаратов на основе комбинации разных штаммов палочковидных и кокковых форм молочнокислых бактерий. Однако исследования показали, что в условиях производства они недостаточно надежны. Отсутствие положительных результатов при силосовании трав с молочнокислыми бактериями, выделяемых из готовых качественных кормов, привело к следующему этапу в разработке бактериальных препаратов. Акцент был сделан на отбор штаммов, обладающих еще большей осмоотолерантностью. Подобные исследования активно велись за

рубежом (Канада, Германия, Англия и др.), и к середине 90-х годов были получены положительные результаты и в нашей стране (Бондарев В.А., 2016, Сазонова И.А., 2022).

Так, сотрудниками ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса Ю.А. Победновым и В.В. Худокормовым была проведена производственная проверка эффективности препарата «Биотроф®» на основе штамма *Lactobacillus plantarum* при силосовании подвяленных (до содержания СВ 35-40%) трав в ЭСХ «Дятьково» Брянской области. В одну из траншей был заложен силос без добавок, в другую – с внесением препарата «Биотроф®». Уровень биохимических показателей качества корма свидетельствовал о достаточно успешном итоге силосования в обоих вариантах. Однако, силос, заложенный с закваской, характеризовался более низким уровнем *pH*. Кроме того, резкое (в 1,7 раза) сокращение образования аммиака и уксусной кислоты при полном отсутствии масляной кислоты в данном варианте свидетельствовало о быстрых процессах подавления жизнедеятельности нежелательной микробиоты. При силосовании провяленных трав с добавкой бактериального препарата потери питательных веществ сокращались в 2,0-2,5 раза (а именно, с 10-12 % до 4-5%) по сравнению с контролем (Лаптев Г.Ю., 2021).

Научно-внедренческим предприятием «БашИнком» был разработан биоконсервант «Силостан». При его разработке учли недостатки уже существующих аналогов консервантов, а также пожелания специалистов по кормозаготовке в хозяйствах. В силосной закваске «Силостан» путем многочисленных испытаний были подобраны штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* и спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis*, которые способствуют получению силоса высокого качества. Закваску использовали для повышения качества сенажа из козлятника восточного. В готовом корме с биоконсервантом содержание сухого вещества было выше на 3,66%, обменной энергии - на 8,04, сырого протеина - на 10,86, переваримого протеина - на 13,59%. Улучшение качества корма также оказало положительное влияние на метаболические процессы в рубце подопытных коров (Карамеева, А. С., 2019).

С целью оценки эффективности действия силосной закваски «Биотроф® 2+» на основе двух штаммов (*Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus faecium*) было проведено сравнение биохимических показателей качества кормов, заложенных с данной закваской, со средними результатами анализа качества силосов за 2018 г., а также результатами всероссийского конкурса «Лучший силос/сенаж» («Топ 10») в рамках выставки «АгроФарм-2019», проводимый компанией «Еврофинс Агро» (BLGG). Победителями конкурса «Лучший силос/сенаж» стали предприятия, сумевшие заготовить силоса наилучшего качества. Оценивались основные биохимические показатели качества кормов (уровень  $pH$ , содержание органических кислот, переваримость органического вещества и пр.). Были сравнены усредненные (по 50 хозяйствам) биохимические показатели качества силосов, заготовленных с закваской «Биотроф® 2+», со средними данными по России, а также десятью лучшими силосами. Все силоса были проанализированы в лаборатории BLGG. По результатам анализа образцов выявлено, что корма, полученные с применением биоконсерванта «Биотроф® 2+», по большей части показателей были на уровне и даже лучше, чем образцы десяти лучших силосов Российской Федерации, не говоря уже о средних российских показателях. По результатам анализа содержания молочной кислоты ее уровень в силосах, заготовленных с закваской «Биотроф® 2+» (как по данным за 2018, так и за 2019 гг.), превзошел результаты конкурса «Лучший силос/сенаж», что подтверждает высокую кислотопродуцирующую активность бактерий, входящих в состав консерванта «Биотроф® 2+» (Маркман И.Л., 2019).

Сегодня наиболее широко распространены комплексные ферментно-бактериальные препараты, применение которых более эффективно при силосовании и сенажировании трав и экономически более выгодно, так как позволяет снизить использование дорогостоящих ферментов (Бондаренко В.А., 2016).

Исследования по созданию эффективных совместных композиций ферментов и бактериальных культур в нашей стране были проведены на базе ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса. В качестве ферментной части был взят препарат

«Феркон», а бактериальной части – «Биосиб» (производство «Сиббиофарм»). Внесение в силосуемую зеленую массу, состоящую из провяленных до влажности 60-70% люцерны и клевера лугового, композиции препаратов «Феркон» и «Биосиб» позволили получить корм с содержанием 10,8 МДж обменной энергии и 18,4-23,2 % сырого протеина в 1 кг сухого вещества. По данным проведенных исследований, потери питательных веществ при использовании данной композиции не превысили 10%. При этом эффективность использования препарата «Феркон» в комплексе с «Биосиб» при сенажировании высокобелковых трав существенно снизилась (Клименко В.П., 2012).

У нас в стране широкое применение нашли препараты канадской компании «Lallemand», разработанные для консервирования трав, кукурузы, а также заготовки зерносенажа и плющеного зерна (Малинин И., 2019). Проведенные исследования биохимических показателей кормов подтвердили, что применение препаратов «Biotal» (например, препарат «Биотал Ацидфаст НС Голд» представляет собой комбинацию лиофильно высушенных живых молочнокислых бактерий *Pediococcus pentosaceus* NCIMB 12455 и *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U и целлюлозолитических ферментов:  $\beta$ -глюканазы и ксиланазы, который предназначен для консервации растительной массы с влажностью более 65%) способствует получению высококачественных кормов и повышению их переваримости в рубце жвачных (Марченко, А.Ю., 2020).

Для сравнения действия биологических препаратов на сохранность питательных веществ при аэробной порче Победновым Ю.А. с соавт. были изучены процессы аэробной порчи силоса клевера лугового 1-го укоса от высушенного до содержания сухого вещества 35,49%. Была выявлена возможность минимизации его аэробной порчи за счет применения различных бактериальных добавок. Было установлено, что силосование клевера лугового позволяет получить силос с минимальными потерями питательных веществ, стабильный как при анаэробном хранении, так и при последующей 7-дневной аэрации. Использование таких заквасок как «Биотроф<sup>®</sup>», «Биотроф<sup>®</sup>-111», «Биотроф<sup>®</sup> 2+» и «Биотал Ацидфаст НС Голд» оказало положительное влияние

на процессы ферментации в анаэробных условиях. Ускорение закисления высушенной массы стартовых культур привело к снижению содержания аммиака в получаемом корме в 1,3–2,0 раза по сравнению с содержанием аммиака в силосе без добавок. Большое значение имеет выявленная способность добавок «Биотроф<sup>®</sup>», «Биотроф<sup>®</sup>-111» и «Биотроф<sup>®</sup> 2+» подавлять развитие некоторых дрожжевых и плесневых грибов. «Биотроф<sup>®</sup>» ингибировал развитие дрожжей видов *D. hansenii*, *C. gattii* и *S. cerevisiae* как в процессе ферментации силоса, так и при его последующей 7-дневной аэрации. «Биотроф<sup>®</sup>» подавлял развитие микромицетов *Aspergillus sp.*, а «Биотроф<sup>®</sup>-111» и «Биотроф<sup>®</sup> 2+» подавляли развитие *Fusarium sp.* Оба этих вида плесневых грибов являются продуцентами опасных микотоксинов. Силос с «Биотал Ацидфаст НС Голд» стал прогреваться на воздухе быстрее, чем контрольный вариант, что, вероятно, было связано с активным развитием *Aspergillus sp.* (Pobednov Y. et al., 2022).

Существующие бактериальные закваски для силосования делятся на две группы в зависимости от физиологического состояния бактерий. К первой группе заквасок относятся сухие препараты на основе микроорганизмов, пребывающих в глубоком анабиозе. Во вторую группу заквасок входят жидкие препараты, основу которых составляют живые микроорганизмы, постоянно пребывающие в активном состоянии (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2016).

Эксперты в области сельского хозяйства пока не сформировали однозначного мнения, биоконсерванты какой формы (сухой или жидкой) лучше консервируют зеленую массу и обеспечивают наивысшее качество силоса. Из-за отсутствия сравнительных данных об их эффективности значительного рекламного и административного давления, большинство хозяйств покупает импортные сухие бактериальные консерванты, платя за них в 5-50 раз дороже, чем стоимость их жидких аналогов (Ганущенко О.Ф., 2009, Шинкаревич Е.Д., 2016).

Силос — это агрессивная для чужеродных искусственно внесенных штаммов среда. Во-первых, в силосе из-за подвяливания растительной массы создается высокое осмотическое давление. С другой стороны, происходит



активный процесс размножения высококонкурентных местных микроорганизмов, находящихся на поверхности растений. Поэтому эффективное использование бактерий в качестве силосных заквасок напрямую зависит от их активности и свойств, прежде всего, от их конкурентоспособности: толерантности к осмотическому давлению, способности к высокой скорости синтеза молочной кислоты и других антимикробных компонентов. (Лаптев Г.Ю., 2023а). Для изготовления сухих биоконсервантов чаще всего используется лиофильное высушивание. Леофильное высушивание – это сложный технологический процесс, который включает 3 агрессивных этапа по отношению к беспоровым бактериям: замораживание клеток; первичная сушка для удаления замороженной воды; вторичная сушка для удаления незамерзшей воды. На каждом этапе процесса бактериальные клетки подвергаются серьезным повреждениям, которые связаны с действием низких температур, обезвоживания, осмотического стресса, изменения *pH* растворов (Грачева И. В., 2016). Лактобактерии, как известно, относятся к беспоровым культурам, поэтому для них лиофильная сушка является фактором стресса. Большинство вегетативных (неспоровых) форм микроорганизмов нетермостабильны. При тепловом воздействии в диапазоне температур от 40°C до 60°C повышается скорость гибели микроорганизмов и уменьшается их активность (Turuvekere Sadguruprasad L. ,2018). Таким образом, даже те лактобактерии, которые выживают после лиофильного высушивания, медленно восстанавливают свою жизнеспособность в силосе. Поэтому микробиота силоса способна быстро вытеснить такие закваски из силоса, несмотря достаточно высокие вносимые титры (не менее  $10^5$ - $10^6$  КОЕ на грамм корма). А итогом внесения неоправданно высокого количества действительно активных молочнокислых бактерий, особенно при силосовании высокоуглеводного сырья, может стать переокисленный силос (Лаптев, Г.Ю. с соавт, 2023б).

Таким образом, использование биологических консервантов с высоким консервирующим эффектом для повышения силосуемости и питательной ценности высокобелковых растений привлекает все большее внимание

специалистов. В последние годы отечественные биологические консерванты, такие, как «ЦеллоЛюкс-Е», «Феркон», «Биотроф<sup>®</sup>», «Биотроф<sup>®</sup>-111», «Лактифит», «Силвит», «Биосиб», «Биоферм», «Силзак», «Биолакт», «Промилк<sup>®</sup>» и другие биоконсерванты получили практическое применение при консервировании свежескошенных и провяленных трав. Данные биоконсерванты являются альтернативой химическим консервантам.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая схема исследований представлена на рисунке 1.

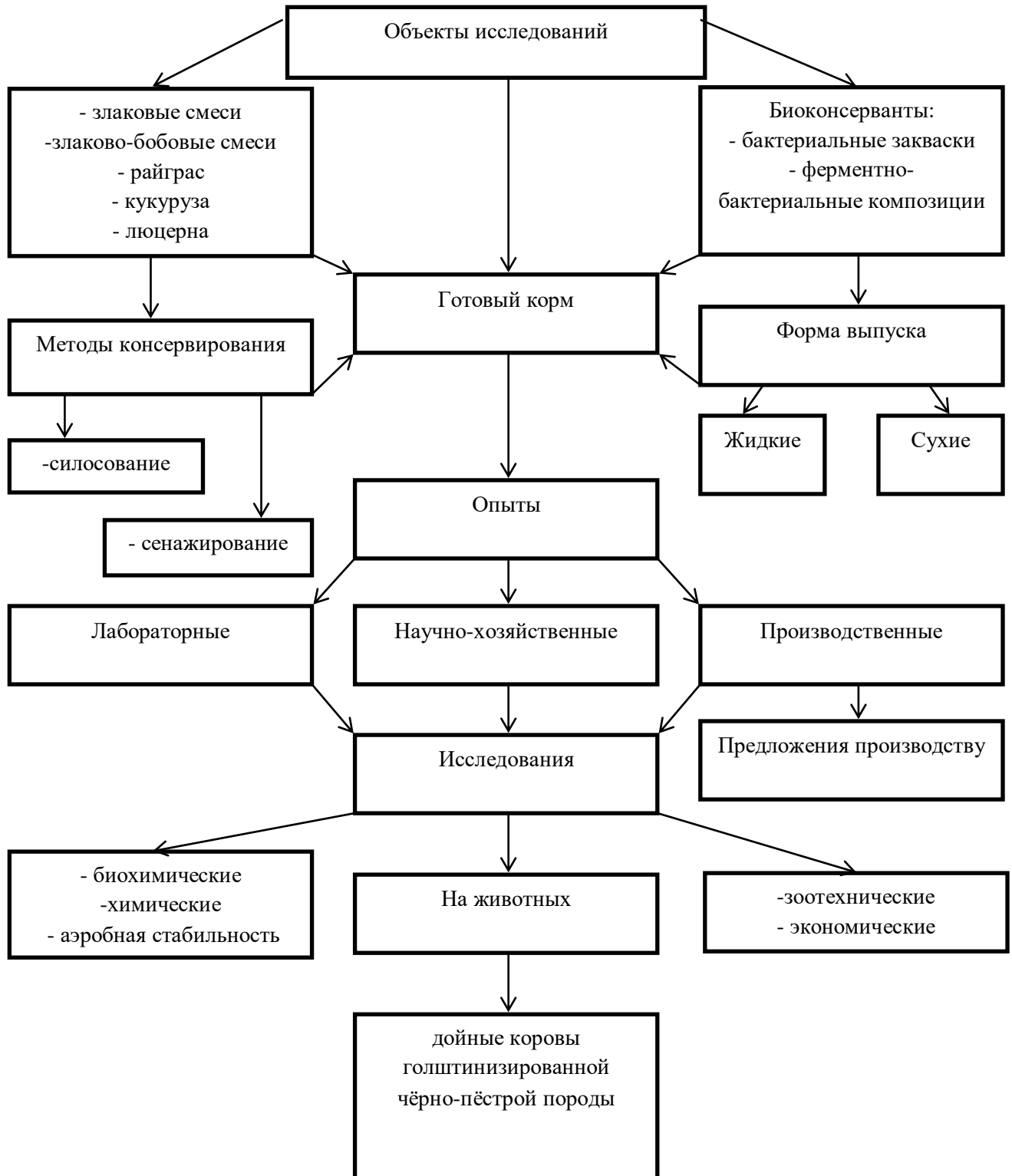


Рисунок 1 – Общая схема исследований

Объектами исследования (Приложение 1) служили разработанные в ООО «БИОТРОФ» закваски «Биотроф<sup>®</sup>», «Биотроф<sup>®</sup>2+» и «Биотроф<sup>®</sup>-АС», многоштаммовые закваски других производителей, такие как «Best-Sil dry» ("Biological Preparations T/A Agriprep", Великобритания), а также ферментно-бактериальные «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE» (Chr.Hansen A/S", Чешская Республика), «Биосиб<sup>®</sup> Комби» (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), «Биоконсервант AiVi<sup>®</sup> серии Lb 3.10F» (ООО «Зеленые линии», Россия).

В качестве исходной массы для силосования и сенажирования использовали смеси злаковых, злаково-бобовых культур, а также отдельные культуры, такие как райграс пастбищный, кукуруза молочной спелости, люцерна трех лет жизни в фазе бутонизации.

Для оценки консервирующего действия разработанной закваски были проведены лабораторные и научно-хозяйственные опыты.

Постановку опытов и оценку качества кормов с биопрепаратами проводили в соответствии с методическими рекомендациями «Проведение опытов по консервированию и хранению объемистых кормов» (Бондарев В.А., Косолапов В.М. и др., 2008), а также рекомендациями по силосованию и сенажированию кормов (Победнов Ю.А., Косолапов В.М. и др., 2012).

Лабораторные эксперименты по силосованию объемистых кормов проводили с использованием вакуумных пакетов (Done D., 1986, Johnson H. et al., 2005). Для этого зеленую массу весом 300 г, 500 г и 1 кг закладывали в пакеты, затем оттуда откачивали воздух и одновременно запаивали пакеты с помощью вакуумного упаковщика бескамерного Lava V.333 Premium. Получалась спрессованная масса в безвоздушном пространстве. Пакеты с силосом размещали в термостатной комнате при температуре  $(36 \pm 1)^\circ \text{C}$ .

Микробиологические испытания проводили в лаборатории компании ООО «БИОТРОФ» (г. Санкт-Петербург) классическими методами микробиологии. Использовали метод последовательных разведений с последующим высевом на чашки с селективными питательными средами или в пробирки. Для учета молочнокислых бактерий использовали сухую питательную среду MRS Agar

(Merck, Germany). Для учета клостридий (вегетативные клетки и споры) высев производили в пробирках на среде SPS Agar (SPS Semisolid Medium, HIMEDIA, India). Для учета дрожжей использовали сухую среду «Питательная среда №2 ГРМ (САБУРО) российского производства (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии). Для учета гнилостных бактерий использовали среду «ГРМ-бульон» российского производства (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии) совместно с бактериологическим агаром (Vacto Agar, USA). Для учета газообразующих бактерий высев производили в пробирки на среду Кесслера российского производства (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии).

Антагонистическую активность штаммов молочнокислых бактерий проверяли с помощью диффузионного метода (метода лунок), основанного на диффузии метаболитов, обладающих антимикробными свойствами, образуемых испытуемыми штаммами лактобактерий, в толщу агаровой среды, содержащей тест-культуру, и подавлении роста тест-культуры. Согласно этому методу в слое агара, содержащего тест-штамм, пробочным сверлом вырезали лунку диаметром 5–7 мм и в нее помещали определенное количество культуральной жидкости исследуемого штамма лактобактерий. Чашку Петри затем выдерживали в термостате в течение суток при температуре  $(38\pm 1)^\circ\text{C}$  (для микромицетов –  $(28\pm 1)^\circ\text{C}$  и измеряли зону ингибирования тест-штамма вокруг лунки (Ирkitова, А.Н., 2012). Антагонистическая активность определялась по наличию/отсутствию зоны роста/замедления роста у штамма-антагониста.

Молекулярно-генетические исследования микробиома силоса проводили в лаборатории компании ООО «БИОТРОФ» (г. Санкт-Петербург) с применением NGS-анализа (Next Generation Sequencing) для определения структуры (процентного содержания) представителей бактериального сообщества силоса.

Выделение тотальной ДНК для проведения молекулярно-биологических анализов микрофлоры осуществляли с использованием набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва), следуя рекомендациям производителя.

Амплификацию для последующего проведения NGS-секвенирования проводили с использованием эубактериальных праймеров (IDT), 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTСТААТ-3'), фланкирующих участок V1V3 гена 16S рРНК. Метагеномное секвенирование осуществляли на геномном секвенаторе MiSeq («Illumina, Inc.», США) с набором MiSeq Reagent Kit v3 («Illumina, Inc.», США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2 x 300 нт. Химерные последовательности были исключены из анализа с помощью программы «USEARCH 7.0».

Обработка полученных ридов 2 x 300 нт происходила с помощью биоинформатической платформы «CLC Bio GW 7.0» («Qiagen», Нидерланды) и включала в себя перекрывание, фильтрацию по качеству (QV>15), триммирование праймеров. Определение таксономической принадлежности микроорганизмов до рода проводили с применением программы «RDP Classifier».

В модельных условиях проводили сравнение скорости размножения микроорганизмов *Lactobacillus plantarum*, входящих в состав жидкой закваски «Биотроф®», и сухой закваски с использованием современного молекулярно-генетического метода ПЦР в реальном времени. Для расчетов использовали 2 фазы роста: лаг-фазу и логарифмическую (экспоненциальную) фазу. Для более информативного и точного изучения роста бактерий были проанализированы различные параметры роста культуры: удельная скорость роста или время удвоения массы, лаг-период или фаза задержки роста, максимум биомассы, степень размножения (Перт Дж. С., 1978, Варфоломеев С.Д., 1999). Рабочий раствор бактерий, входящих в состав заквасок, вносили в равной концентрации в жидкую универсальную питательную среду для культивирования лактобактерий (солодовое сусло с мелом (2-4%)).

Для изучения разницы процессов динамики увеличения содержания бактерий, входящих в состав жидких и сухих биопрепаратов, был выбран метод Хаттори (Hattori T, 1983, Якушев А.В., 2015). Это метод определения физиологического состояния различных микроорганизмов, который позволяет дать количественную оценку различиям в физиологической активности

бактериальных сообществ. В результате наблюдения за процессом культивирования микроорганизмов на твердых питательных средах Хаттори установил, что колонии бактерий при прочих равных условиях (состав питательной среды, температура и т. д.) имеют различную динамику увеличения численности до уровня визуального обнаружения (Харин С.А., 2014).

Эта динамика подчиняется распределению Пуассона и описывается следующим уравнением:

$$N(t) = N_{\infty}(1 - e^{-\lambda(t-t_r)}) \text{ при } (t > t_r), \quad (1)$$

где  $N(t)$  - количество колоний бактерий в момент времени  $t$ , КОЕ;

$N_{\infty}$  - финальное число колоний, КОЕ;

$\lambda$  — вероятность образования колоний отдельной клеткой популяции в единицу времени,  $\text{ч}^{-1}$ ;

$t_r$  - время задержки (включающая в себя лаг-фазу и время до образования видимой невооруженным глазом колоний), ч.

Показатель  $\lambda$  характеризует потенциальную способность клеток к размножению. Таким образом  $N_{\infty}$ ,  $\lambda$  и  $t_r$  характеризуют физиологическое состояние бактериальных популяций (Якушев А.В., 2015).

Определение микотоксинов проводилось в молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» с помощью прямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. Данный метод позволяет с высокой точностью определить превышение норм содержания микотоксинов в исследуемом материале. Проводили пробоподготовку образцов корма и получали рабочие экстракты, в которых определяли содержание микотоксинов. Для анализа использовали тест-системы AgraQuant® (Австрия, Romer Labs, Inc.). Экстракт образца (или стандарты) и конъюгированные с ферментом микотоксины смешивались, а затем вносились в микролунки, содержащие антитела. Принцип метода заключается в том, что микотоксины из образца, контрольного стандарта и микотоксин, связанный с ферментом, конкурируют за места связывания с антителами. После промывки в лунки добавляли однокомпонентный

преципитирующий субстрат ТМБ на основе стабилизированного раствора 3, 3', 5, 5'-тетрометилбензидина нитрохлорида, содержащий перекись водорода, в результате чего происходило его окрашивание в голубой цвет. Интенсивность окрашивания была обратно пропорциональна концентрации микотоксина в образце или стандарте. Затем добавляли остановочный раствор соляной кислоты (концентрация 10%) в случае анализа содержания Т-2 токсина, зеараленона и охратоксина или фосфорной кислот (концентрация 10%) в случае анализа количества афлатоксина и дезоксиниваленола, в результате чего цвет изменялся на желтый. Далее измеряли оптическую плотность содержимого микролунок при длине волны 450 нм с использованием микрострипового фотометра STATFAX 303 PLUS. Оптическая плотность образца сравнивалась с оптической плотностью стандартов, исходя из чего и определялся результат.

Анализ экспрессии генов, связанных с синтезом лактатдегидрогеназы в силосе, проводили следующим образом: тотальную РНК из образцов выделяли с помощью набора Aurum Total RNA Mini Kit («BioRad», США) согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции для получения кДНК на матрице РНК осуществляли при помощи набора iScript Reverse Transcription Supermix («BioRad», США).

Список исследованных праймеров для экспрессии генов, связанных с синтезом лактатдегидрогеназы:

ldhB 5'-GCAGACGCAGCCAGTGTAAGCA-3'

5'-CAACGGCTGCCCACCAATC-3'

ldh 5'-ACACGCCCATCCGAGCAGG-3'

5'-GCACAGGCACCAATTCCATAAAAC-3'

ldh1:

5'-GTYGGYGACGGCGCYGTTGGTTC-3'

ldh2:

5'-CCRTGTTACCCCATGATGTAА-3'

ldb0101 F: GCGGGATCCGATGACTAAAATTTTTGCT

R: GCGTGTCCGACTTAGCCAACCTTAACTGG

ldb0813 F: CTGGGATCCGTTGAGGGAGATGCTTAAAG



R: TCCGAAGCTTTTAGTTGACCCGGTTGAC

ldb1010 F: GCGGGATCCGATGACTAAAATTGCCATG

R: CCGCAAGCTTTTACAGGTTAACGATGCT

ldb1147 F: CGGGAATTTCGATGAAGATTGTATTGCTTGAGC

R: TTGCGTCGACTTACAGCATGGTCCGGATCT

ldb2021 F: CTGGGATCCGATGAGAATTGCATGTTAC

R: CACGAAGCTTTTAAGCCCGCAGCTTCTC

ldh-L

Forward primer: CATCAAAAAGTTGTGTTAGTCGGCG

Backward primer: TCAGCTAAACCGTCGTTAAGCACTT

Наилучшие результаты были получены со следующими праймерами, они были отобраны для дальнейшей работы:

- ldb0813 (D-лактат)
- ldh-L (L-лактат)

Расчет относительной экспрессии генов был произведен при помощи метода 2-ΔΔCt (Livak and Schmittgen, 2001). В качестве референсного гена использовали ген, связанный с синтезом рибосомального белка.

Отбор проб кормов проводили в соответствии с ГОСТ ISO 6497-2014.

Биохимические исследования зеленой массы и консервированных кормов определялись в испытательной лаборатории Северо-Западного филиала ФБГУ «ВНИИЗЖ», а также в лаборатории глубокого анализа кормов «ЯРВЕТ» методом спектроскопии в ближней инфракрасной области на анализаторе NIRS DS2500 фирмы FOSS.

В образцах корма определяли сухое вещество методом высушивания навесок при температуре +105°C в соответствии с ГОСТ 31640-2012; сырой протеин в соответствии с ГОСТ 13496.4-2019, переваримый протеин – в соответствии с ГОСТ Р 51423-99; сырую клетчатку – по Геннебергу и Штоману в соответствии с ГОСТ 31675-2012, сырой жир – по Сокслету в соответствии с ГОСТ 13496.15-2016, содержание сахаров – по методу Бертрана в соответствии с ГОСТ 26176-2019, сырую золу – в соответствии с ГОСТом 26226-95, уровень активной кислотности (*pH*) — в соответствии с ГОСТ 26180-84, содержание кислотно-детергентной клетчатки – по ГОСТ ISO 13906-2013,

содержание нейтрально-детергентной клетчатки – по ГОСТ ISO 16472-2014, массовые доли молочной, уксусной и масляной кислоты – по ГОСТ Р 55986-2022, содержание кормовых единиц – по ГОСТ 23630-90, обменную энергию согласно «Методике расчета обменной энергии в кормах ВИЖ. Дубровицы. 2008 год». Для определения переваримости клетчатки использовали химический метод *in vitro*, в лабораторных условиях в колбе воспроизводили условия, в которых клетчатка переваривается в рубце.

При определении аэробной стабильности силоса в лабораторных условиях использовали следующую методику: образцы исследуемого сырья помещали в литровые банки в 2-3 повторностях (плотность набивки составляет 0,5 – 0,6 кг/л), которые затем устанавливали в полипропиленовом контейнере для минимизирования тепловых потерь и создания эффекта «термоса». Опыт проводили в термостате при постоянной температуре (28±2) °С. В каждую банку помещали термодатчик и фиксировали температуру каждые 6 часов, либо в режиме постоянной записи на приборе «Элметро». Окончание аэробной стабильности определяли, когда температура в образце становилась больше окружающей температуры на 2°С.

Эксперименты по изучению эффективности препарата «Биотроф® 2+» по сравнению с сухими импортными биоконсервантами проводили в 2019 году на базе СПК «Кобраловский» Ленинградской области. Экономические показатели при производстве молока в ходе проведения исследований оценивались на основе результатов научно-производственного опыта и бухгалтерской информации. Массовую долю жира в молоке определяли по ГОСТ 5867-90 и белок - по ГОСТ 23327-98. Учет удоев молока, определение в молоке жира, белка проводили в соответствии с «Правилами оценки молочной продуктивности коров молочно-мясных пород СНПлем Р-22-97» в лаборатории селекционного контроля ОАО «Невское» по племенной работе Ленинградской области. Для исследования использовали комбинированную систему «Bentley Combi FTS 500». Транспортировку проб молока в лабораторию осуществляли транспортом племенного хозяйства в течение часа.

В вологодском животноводческом хозяйстве «Шекснинская Заря» в 2021 году был проведен анализ биохимических показателей качества силосов, заготовленных с закваской «Биотроф<sup>®</sup>-АС»: было заложено более 9 тыс. тонн кормов с различной влажностью исходной массы, в том числе и из трудносилосуемых культур. Норма внесения препарата — 1 л на 50 т зеленой массы. Силоса закладывали в бурты.

Полученный в ходе научно-хозяйственных испытаний материал был обработан с использованием метода вариационной статистики и программы Microsoft Excel на компьютере. В таблицах представлены средние (M) и ошибки средних ( $\pm$ SEM). Достоверность различий между средними значениями исследуемых показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Определение физиологического состояния бактерий в биоконсервантах для силосования

На сегодняшний день все многообразие бактериальных заквасок для силосования делится на 2 основные группы в зависимости от физиологического состояния бактерий, входящих в их состав: жидкие и сухие. В состав сухих заквасок входят высушенные с помощью щадящих методов молочнокислые бактерии (например, лиофилизация). Основу жидких заквасок составляют живые бактерии, пребывающие в физиологически активном состоянии. И до сих пор продолжаются споры между специалистами о том, какой же консервант выбрать для получения силоса наивысшего качества (Шинкаревич Е.Д., 2016).

Самый главный аргумент в пользу использования сухих консервантов — это, конечно же, его длительный срок хранения. Напротив, главными недостатками жидких заквасок являются срок годности и необходимость поддерживать определенные условия при хранении и транспортировке. Но жидкие консерванты со сроком годности 3-4 месяца являются сезонным продуктом, и гораздо выгоднее, как показывает опыт, использовать жидкие закваски здесь и сейчас, пока идет сезон (Ганущенко О.Ф., 2009, Селиванов Д., 2018, Марченко А.Ю. с соавт., 2020, Лаптев Г.Ю. с соавт., 2022, 2023).

Исходя из данных научной литературы по своим физиологическим свойствам бактерии можно разделить на две большие группы: неспорообразующие и спорообразующие. Спорообразующие бактерии для длительного выживания в неблагоприятных условиях образуют так называемые эндоспores. Они помогают им переносить высокие температуры при высушивании и обезвоживании. Лактобактерии относятся к неспорообразующим бактериям, для них лиофильная сушка, несмотря на щадящий режим, является

стрессом. Для сохранности данных бактерий при лиофилизации добавляют специальные защитные средства – криопротекторы. Но, во-первых, это повышает себестоимость сухих препаратов, т.к. требуется использование дорогих защитных сред и использование дополнительного оборудования для обезвоживания. Во-вторых, это приводит к снижению жизнеспособности микроорганизмов. При добавлении в силосуемое сырье лиофильно-высушенные бактерии восстанавливают свой метаболизм не сразу, а через довольно продолжительное время. В жидких биопрепаратах бактерии находятся в физиологически активном состоянии и при попадании в силосуемое сырье начинают действовать уже в первые часы после закладки силоса, подавляя нежелательную микрофлору, в том числе микроскопические грибы - продуценты микотоксинов (афлатоксинов, фумонизинов, охратоксинов, Т-2 токсина, зеараленона и др.), относящиеся преимущественно к родам *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, которые поражают кормовые культуры во время их вегетации, сбора урожая, а также при транспортировке и хранении готового силоса (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2017).

Нами (Биконя С.Н., Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л. А., Новикова Н.И., Филиппова В.А., Дубровин А.В.) был проведен опыт с целью исследования динамики скорости размножения бактерий *L.plantarum* в сухой и жидкой закваске, а также с целью оценки их физиологического состояния (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2016, 2017).

Результирующая концентрация бактерий обеих заквасок в среде составляла  $4,5 \times 10^5$  клеток/мл (по результатам ПЦР в реальном времени). Результаты исследования динамики скорости размножения бактерий *L. plantarum* методом ПЦР в реальном времени представлены в таблице 1.

Уже через сутки культивирования концентрация *L. plantarum* в варианте с использованием «Биотроф®» на 3 порядка превосходила исходную концентрацию бактерий в рабочем растворе закваски «Биотроф®». Через 24 часа культивирования количество клеток бактерий, входящих в состав препарата «Биотроф®», составляло  $1,2 \times 10^9$  клеток/мл, т.е. в 7,7 раз больше, чем через 24 часа культивирования микроорганизмов, входящих в состав сухой закваски. Через

30 часов культивирования содержание бактерий, входящих в состав препарата «Биотроф®», достигло  $7,6 \times 10^9$  клеток/мл, т.е. почти в 11 раз больше, чем в варианте с сухой закваской (Лаптев Г.Ю. с соавт., 2017).

Таблица 1 - Динамика размножения бактерий *L.plantarum*

Время культивирования <i>in vitro</i>	клеток/мл (среднее по 2 повторностям)	
	«Биотроф®»	«AiVi®» серии Lb 3.10F
0	$4,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$
1 час	$3,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$
2 часа	$4,1 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$
4 часа	$5,2 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$
6 часов	$4,2 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$
24 часа	$1,2 \times 10^9$	$1,55 \times 10^8$
30 часов	$7,6 \times 10^9$	$7,1 \times 10^8$

Для более глубокого понимания разницы процессов динамики увеличения содержания бактерий, входящих в состав жидких и сухих препаратов, был выбран метод Хаттори (Hattori T., 1982, Лаптев Г. С соавт., 2016). С помощью метода наименьших квадратов были рассчитаны параметры вероятность образования колоний  $\lambda$  и время задержки размножения  $t_r$  (таблица 2).

Таблица 2 - Значения параметров, характеризующих активность лактобактерий

Вариант	Вероятность образования колоний ( $\lambda$ ), ч <sup>-1</sup>	Время задержки размножения, $t_r$ , ч
«Биотроф®»	0,086	15,2
Сухая закваска «AiVi»	0,073	28,6

Из полученных данных видно, что время задержки размножения бактерий *L.plantarum* ( $t_r$ ) у сухой бактериальной закваски №1 составляет более суток. При этом время задержки размножения бактерий у жидкой закваски «Биотроф®» практически в 2 раза меньше и составляет лишь 15,2 ч.

В результате математических вычислений также были получены следующие результаты: удельная скорость роста, время удвоения биомассы и степень размножения бактерии *L. plantarum* в закваске «Биотроф®» выше, чем в закваске «AiVi», а время лаг-фазы меньше (таблица 3).

Таблица 3 - Сравнение параметров роста культуры *L. plantarum*.

Параметр	«Биотроф®»	Сухая закваска «AiVi»
$\mu$ - удельная скорость роста, $c^{-1}$	$9 \times 10^{-5}$	$6,8 \times 10^{-5}$
td – время удвоения биомассы, ч	2,13	2,84
n – степень размножения	14	10,6
L - время лаг-фазы, ч	6,1	7

Подводя итог, можно говорить о том, что эффективность биологических консервантов различна и зависит от того, в каком физиологическом состоянии бактерии в них находятся.

Таким образом, в отличие от «спящих» бактерий, входящих в состав высушенных заквасок, «высокоактивные» бактерии жидкой закваски «Биотроф®» начинают «работать» значительно быстрее, увеличивая свою численность намного эффективней. Именно поэтому использование жидкой закваски приводит к быстрому подкислению силоса и подавлению нежелательных микроорганизмов, в том числе патогенов и грибов-продуцентов микотоксинов, уже в первые сутки силосования.

### **3.2 Лабораторный опыт по силосованию и сенажированию люцерны с препаратом «Биотроф® 2+»**

Большинство заквасок на основе молочнокислых бактерий плохо работает при силосовании трав с повышенной влажностью (80% и выше). Поэтому часто в

наставления по силосованию указывается, что их можно использовать только на зеленой массе с влажностью ниже 80% (Казанцев А.А., 2011).

Учитывая это, в 2019 г. в лаборатории ООО «БИОТРОФ» нами был заложен модельный эксперимент по консервированию люцерны третьего года жизни в фазе бутонизации при различной влажности исходного сырья с применением жидкого полиштаммового препарата «Биотроф<sup>®</sup>2+» (на основе штаммов *Lactobacillus plantarum* 60 и *Enterococcus faecium* 1-35). Закладка сырья производилась вручную по 300, 500 г, 1 кг в пакеты, предназначенные для хранения под вакуумом, для создания вакуума и запайки пакетов использовался вакуумный упаковщик Arach AVM3. Норма внесения препарата – 1 л на 30 тонн силосуемой массы.

Люцерна – одна из наиболее ценных бобовых кормовых культур, отличающаяся высоким содержанием протеина, который, в основном, представлен конституционными (функциональными, богатыми азотом) белками, хорошо сбалансирован по аминокислотному составу и является одним из наиболее полноценных. Тем не менее, часто попытки сохранения люцерны при помощи ее силосования терпят неудачу: корм получается крайне низкого качества (Солдатов В.В. с соавт., 2016, Победнов Ю.А., 2021). По рекомендациям ФНЦ «ВИК им. В.Р.Вильямса», содержание сухого вещества в заготавливаемой люцерне должно составлять не менее 38%, чего достичь на практике не всегда удается (Йылдырым Е.А. с соавт., 2021).

Первый опыт был проведен с люцерной с исходной влажностью ( $81,7 \pm 1,2$ )% и  $pH = 6,24$ , второй с люцерной, подвяленной до влажности ( $46,9 \pm 1,3$ )%. Варианты опыта представлены в таблице 4.

Оценку качества силоса проводили в соответствии с ГОСТ Р 55986-2014 (заменен на ГОСТ Р 55986-2022) по величине  $pH$ , биохимическим показателям и внешнему виду, сенажа по ГОСТ Р 55452-2013 (заменен на ГОСТ Р 55452-2021).



Таблица 4 - Варианты модельного опыта по силосованию люцерны с различной влажностью исходного сырья

№	Вариант	
	Влажность (81,7±1,2) % <i>pH</i> = 6,24±0,03	Влажность (46,9±1,3) % <i>pH</i> = 6,43±0,02
1	Контроль. Без добавок	
2	«Биотроф® 2+»	

Основным критерием оценки эффективности бактериальных препаратов в краткосрочных опытах по силосованию является скорость и степень подкисления силосуемой массы. В данном опыте подкисление массы до оптимальных значений (*pH* 4,1-4,2) не произошло из-за избыточной влажности исходного сырья (таблица 5).

Таблица 5 - Изменение значения параметра *pH* после закладки люцерны с исходной влажностью (81,7±1,2) %

Вариант	<i>pH</i> , ед. <i>pH</i>					
	Исходное значение	1 сутки	3 сутки	7 сутки	15 сутки	30 сутки
Контроль	6,24±0,03	5,52±0,04	5,45±0,01	5,38±0,05	5,42±0,04	5,42±0,02
«Биотроф® 2+» на основе <i>L. plantarum</i> 60 и <i>Enterococcus faecium</i> 1-35	–	5,4*±0,03	5,47±0,01	5,41±0,04	5,36±0,02	5,36*±0,02

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ .

На 30 сутки после закладки силоса был проведен анализ биохимических показателей качества готового силоса в Северо-Западной испытательной лаборатории ФБГУ «ВНИИЗЖ», результаты представлены в таблице 6. В таблице 6 также представлены результаты анализа исходной зеленой массы для сравнения.

Таблица 6 - Биохимические показатели качества исходной зеленой массы люцерны и готового силоса на 30-е сутки хранения (n=3)

Показатель	Единицы измерения	Исходная масса	Контроль	Биотроф® 2+
Обменная энергия	МДж/кг	8,79±0,02	8,41±0,02	8,76**±0,01
СВ	%	18,3±0,09	16,5±0,04	18,3±0,03
СЖ	%	2,08±0,03	3,38±0,07	3,27±0,03
СП	%	19,22±0,06	18,72±0,06	19,6**8±0,07
СЗ	%	10,12±0,03	11,45±0,06	10,55**±0,13
СК	%	27,69±0,12	27,65±0,08	28,23*±0,08
Растворимые углеводы	%	3,14±0,05	0,06±0,01	0,16*±0,07
Масляная кислота	%	–	0,77±0,09	0,00±0,00
Молочная кислота	%	–	0,13±0,04	1,43**±0,07
Уксусная кислота	%	–	0,83±0,09	0,69±0,13

Примечание: результаты испытаний обменной энергии, массовой доли сырого жира, сырого протеина, сырой золы, сырой клетчатки, растворимых углеводов указаны в сухом веществе; достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,01$ ; \*\* -  $p \leq 0,001$ .

Из таблицы видно, что потери сухого вещества в контроле составили 9,8%, потери сырого протеина в контроле составили 2,6%, в образце с биопрепаратом содержание сырого протеина увеличилось на 2,4 %. Массовая доля молочной кислоты в общем количестве (молочной, уксусной, масляной) в варианте с биопрепаратом составила 67,5%, что соответствует 1-му классу силоса согласно ГОСТ Р 55986-2022. Наличие масляной кислоты в контроле говорит о том, что исходная масса люцерны была контаминирована клостридиями, которые, возможно, попали в нее во время скашивания; в образце с закваской масляная кислота отсутствует, это говорит о том, что молочнокислые бактерии, входящие в состав закваски «Биотроф® 2+», подавили развитие нежелательной микрофлоры.

Далее нами было изучено качество брожения в сенаже из люцерны, проявленной перед закладкой до влажности (46,9±1,3) %.

Молочнокислое брожение в сенаже протекает значительно слабее, чем при силосовании, и зависит от влажности и вида консервируемого сырья. Поэтому

значение рН в сенаже выше, чем в силосе, и составляет 4,4-5,6 (Маслова О.А. с соавт., 2023).

При ферментации люцерны даже в подвяленном виде происходят интенсивные процессы протеолиза, который сопровождается накоплением в силосе большого количества аммиака и повышением уровня рН. Поэтому обязательным условием получения из люцерны корма высокого качества является применение заквасок (Победнов Ю.А., 2021).

В таблице 7 показаны изменения значений рН на 9 и 30 сутки силосования. Только к концу 30 суток значение рН в образце с закваской стало равным 4,65.

Таблица 7 - Изменение значения параметра рН после закладки люцерны с исходной влажностью (46,9±1,3) %.

Вариант	рН, ед. рН		
	Исходное значение	9 сутки	30 сутки
Контроль	6,43±0,02	6,39±0,01	5,3±0,02
«Биотроф <sup>®</sup> 2+» (в составе: <i>L. plantarum</i> 60 и <i>Enterococcus faecium</i> 1-35)	–	6,3*±0,01	4,65±0,02

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,01$ .

По результатам биохимического анализа готовых сенажей были получены следующие показатели по сухому веществу (таблица 8): по показателю «обменная энергия» согласно ГОСТ Р 55452-2021 образцы относятся к 3 -му классу. Количество сырого протеина и в контроле, и в образце с закваской увеличилось соответственно на 1,9% и 8,9%. Масляной кислоты не было обнаружено. При сенажировании люцерны с консервантом образовалось большее количество молочной кислоты при небольшом снижении уксусной по сравнению с контролем.

Таблица 8 - Биохимические и энергетические показатели качества исходной зеленой массы люцерны и готового сенажа на 30-е сутки хранения (n=3)

Показатель	Единицы измерения	Исходная масса	Контроль	«Биотроф® 2+»
Обменная энергия	МДж/кг	9,12±0,21	8,46±0,12	8,46±0,08
СВ	%	53,1±0,29	53,8±0,07	54,5±0,78
СЖ	%	–	2,08±0,02	2,05±0,04
СП	%	15,7±0,06	16,0±0,13	17,1*±0,13
СЗ	%	7,5±0,08	7,5±0,07	7,7±0,09
СК	%	30,3±0,06	30,3±0,12	28,1±0,05
Растворимые углеводы	%	10,22±0,03	5,93±0,05	2,65±0,08
Масляная кислота	%	–	0,00±0,00	0,00±0,00
Молочная кислота	%	–	4,36±0,07	6,75±0,09
Уксусная кислота	%	–	0,57±0,08	0,56±0,08

Примечание: результаты испытаний обменной энергии, массовой доли сырого жира, сырого протеина, сырой золы, сырой клетчатки, растворимых углеводов указаны в сухом веществе; достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ .

Таким образом, можно сделать вывод о том, что применение биоконсерванта «Биотроф® 2+» способствовало образованию молочной и уксусной кислот в сенаже, которые ускорили процесс ферментации. Штаммы, входящие в состав препарата, подавили жизнедеятельность гнилостных и маслянокислых бактерий, и тем самым снизили потери питательных веществ при заготовке и хранении.

### 3.3 Результаты исследований микрофлоры силоса, заложенного с закваской «Биотроф® 2+», методом NGS-секвенирования

Чтобы понять, за счет чего молочнокислые бактерии, входящие в состав закваски «Биотроф® 2+», подавили развитие нежелательной микрофлоры, мы

провели с помощью метода NGS-секвенирования анализ микрофлоры силоса, заложеного с препаратом «Биотроф<sup>®</sup>2+». Результаты исследования представлены на рисунке 2.

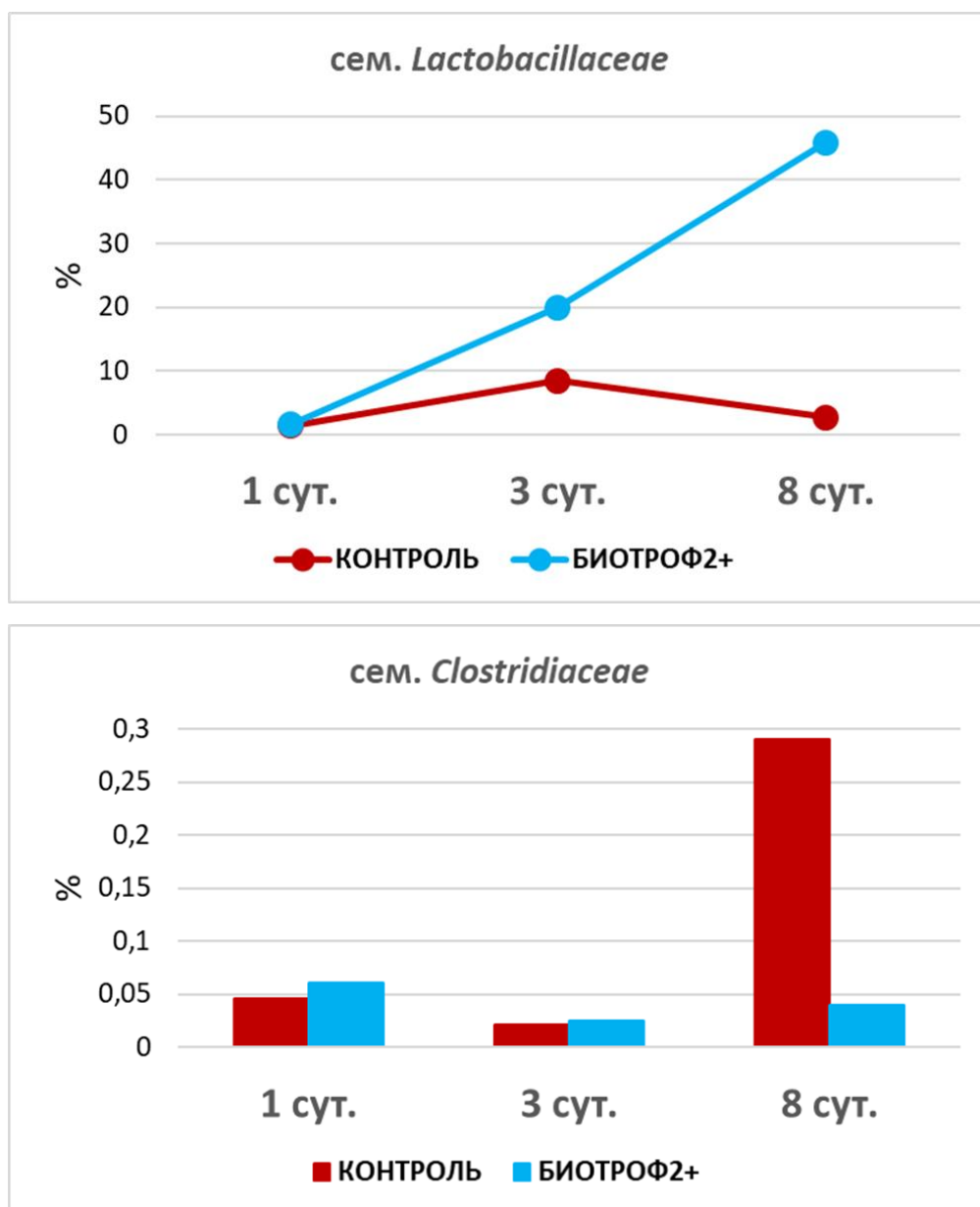


Рисунок 2 - Результаты исследования микрофлоры силоса методом NGS-секвенирование (данные НПК «БИОТРОФ»)

Как показали результаты, «Биотроф<sup>®</sup>2+» увеличивает количество лактобактерий в силосе до 43,2%; «Биотроф<sup>®</sup>2+» сдерживает развитие клостридий по сравнению с контролем. Детальный состав лактобактерий, определенный методом NGS-секвенирование в ходе ферментации, представлен в таблице 9.

Таблица 9 - Детальный состав лактобактерий, определенный методом NGS-секвенирование, %

Наименование штамма	Контроль			«Биотроф® 2+»		
	1 сутки	3 сутки	8 сутки	1 сутки	3 сутки	8 сутки
<i>Lachnospira pectinoschiza</i>	0	0,13	0	3,85	0	0,13
<i>Lactobacillus brantae</i>	15,26	6,23	2,08	20,51	0,68	0,90
<i>Lactobacillus brevis</i>	0	3,51	0	0	0,08501	0
<i>Lactobacillus camelliae</i>	4,21	3,90	10,42	20,51	0,43	0,23
<i>Lactobacillus faeni</i>	1,05	0,13	0	0	0,06	0
<i>Lactobacillus gigeriorum</i>	2,64	0	4,17	1,29	0	0,07
<i>Lactobacillus intermedius</i>	1,58	0,13	4,17	0	0,03	0
<i>Lactobacillus japonicus</i>	25,79	15,06	27,08	20,51	21,17	21,06
<i>Lactobacillus letivazi</i>	1,58	0,13	0	0	0,06	0
<i>Lactobacillus malefermentans</i>	0	3,38	0	0	0,06	0
<i>Lactobacillus manihotivorans</i>	28,95	8,18	2,08	14,10	0,71	1,94
<i>Lactobacillus parabrevis</i>	0	0,78	0	0	0,03	0
<i>Lactobacillus paracasei</i>	0	0	2,08	0	0,06	0
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	4,21	50,39	0	2,56	0,94	0,13
<i>Lactobacillus pentosus</i>	1,58	4,42	4,17	2,56	73,73	72,67
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0	0	0	0	1,70	2,51
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1,58	1,69	8,33	5,13	0	0
<i>Lactobacillus salivarius</i>	3,16	0	8,33	0	0	0
<i>Lactobacillus senmaizukei</i>	0,53	0,78	2,08	2,56	0,11	0,20
<i>Lactobacillus tucseti</i>	3,16	0,91	2,08	1,28	0,11	0,03
<i>Lactobacillus ultunensis</i>	3,16	0,13	22,92	5,13	0,06	0,10

Интересно, что биопрепарат «Биотроф<sup>®</sup>2+» уже на ранних стадиях ферментации стимулировал в силосе размножение видов *Lactobacillus pentosus* и *Lactobacillus plantarum*. Многие штаммы этих видов известны своей выраженной кислотообразующей активностью, а также способностью продуцировать высокоактивные бактериоцины. Так, многие штаммы этих видов проявляют антагонизм в отношении клостридий, энтеробактерий, токсинообразующих грибов. Это гарантирует быструю скорость подкисления силоса при использовании закваски «Биотроф<sup>®</sup> 2+» и объясняет подавление нежелательной микрофлоры. В контрольном варианте наблюдался разброс видов лактобактерий, доминирующим был низкоактивный вид *Lactobacillus japonicus*, при этом *Lactobacillus pentosus* был представлен в низком количестве, а *Lactobacillus plantarum* отсутствовал.

### **3.4 Анализ экспрессии генов синтеза ферментов L-лактатдегидрогеназы и D-лактатдегидрогеназы микробным сообществом силоса, который был заложен с закваской «Биотроф<sup>®</sup> 2+»**

Силосование является сложным микробиологическим процессом, происходящим в основном под воздействием молочнокислых бактерий, которые обеспечивают консервацию растительного сырья за счет продуцирования органических кислот с преобладанием молочной кислоты, которая имеет два оптических изомера: L (+)-лактат и D (-)-лактат, и очень часто наблюдается заметная разница в воздействии этих двух стереоизомеров, хотя они и обладают сходными химическими и физическими свойствами. L-лактат полезен для животных. Он быстро расщепляется в печени до пирувата, который используется для синтеза глюкозы, а, значит, энергии. Кроме того, L-лактат является важным поставщиком электронов для восстановления нитратов до аммиака в рубце. Известно, что D-лактат, в отличие от L-лактата, в больших количествах токсичен

для животных. Он плохо утилизируется рубцовой микробиотой, снижая *pH* рубца и подавляя развитие полезных целлюлозолитиков и бактерий, продуцирующих летучие жирные кислоты, что провоцирует лактатный ацидоз. Другим важным отличием между изомерами молочной кислоты является их способность к выведению почками, гораздо более низкая для D-лактата. (Hernández J. et al., 2014, Ёылдырым Е.А. с соавт., 2021, Лаптев Г.Ю. с соавт., 2021).

Закваски для силосования содержат разные виды лактобактерий, которые по определению Берджи могут синтезировать изомеры молочной кислоты (Лаптев Г. Ю. с соавт., 2017):

- L-лактат: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus lactis*, *Enterococcus faecium*;

- D-лактат – *Lactobacillus delbrueskii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*;

- нейтральную смесь DL-лактата – *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*.

Молочнокислая бактерия *Lactobacillus plantarum* обладает большим количеством фенотипических свойств, метаболической способностью и чаще используется для промышленного применения. У различных штаммов данной бактерий в пределах одного вида *L. plantarum* лишь 80% генов консервативны, остальные 20% обладают уникальностью и вариабельностью (Siezen R.J., Vlieg J.E., 2011, Evanovich E. et al., 2019, Limanska M. et al., 2019).

Разнообразие свойств бактерий обусловлено гетерогенностью геномов бактерий внутри вида. Например, гибкое и адаптивное «поведение» *L. plantarum* было обнаружено и в генах, которые кодируют L– и D-лактатдегидрогеназы (фермент). Таким образом, в составе генома специально отселектированных штаммов *L. plantarum* ген, связанный с синтезом D-лактатдегидрогеназы, может быть полностью «выключен» (Ёылдырым Е.А. с соавт., 2021).

Мы провели анализ экспрессии генов синтеза ферментов L-лактатдегидрогеназы и D-лактатдегидрогеназы микробным сообществом силоса, который был заложен с закваской «Биотроф® 2+» и без добавок. Экспрессия



(работа) генов – это процесс, в ходе которого наследственная информация от гена преобразуется в функциональный продукт – РНК, а затем белок (например, фермент лактатдегидрогеназу). Таким образом, анализ экспрессии генов при помощи наблюдения за РНК методом количественной ПЦР позволяет обнаружить, какие гены силосных бактерий активируются в ответ на выбранный прием консервирования, что может приводить к запуску синтеза соответствующего белка. В таблице 10 показан относительный уровень экспрессии генов синтеза L-лактатдегидрогеназы, связанных с продукцией L-лактата, в силосе с закваской «Биотроф® 2+» по сравнению с контролем. С «Биотроф® 2+» наблюдалось усиление экспрессии генов, связанных с синтезом лактатдегидрогеназы в силосе на 3 и 8 сутки ферментации по сравнению с контролем. Внесение закваски резко усиливало синтез силосными молочнокислыми бактериями L-лактата (до 851 раза). А вот уровень синтез D-лактата не отличался от контрольного варианта. Возможно, такой эффект был достигнут благодаря сигналингу и другим межмикробным взаимодействиям микроорганизмов силоса (Йылдырым Е.А. с соавт., 2022).

Таблица 10 - Увеличение экспрессии генов L-лактата в силосе

Праймер	Экспрессия генов			
	3 сутки		8 сутки	
	Контроль	Биотроф 2+	Контроль	Биотроф 2+
ldh-L	1	7,5 (относительно контроля на 3 сутки)	1	851,2 (относительно контроля на 8 сутки)

Таким образом можно говорить о том, что штаммы бактерий закваски «Биотроф® 2+» специфически адаптируют свою метаболическую способность в силосе, усиливают синтез силосными молочнокислыми бактериями L-изомера лактата и гарантируют оптимальный кислотный профиль – доминирование L-лактата.

### 3.5 Процесс разработки нового биоконсерванта «Биотроф®-АС»

Разработка новых продуктов, применяемых в сельском хозяйстве для кормления животных, в настоящее время не теряет актуальности. Современные тенденции требуют научно-обоснованного подхода в этом процессе.

Для того, чтобы получить новый качественный продукт, необходимо тщательно продумать стратегию разработки востребованного товара. На основе уже имеющихся экземпляров продукции можно определить критерии для новой продукции, изучить требования международных стандартов качества, исследовать состояние рынков сбыта, а также потребности покупателей и заказчиков. Потенциальное качество продукта закладывается на всех стадиях его жизненного цикла: на этапе исследования, разработки, проектирования и производства, а также при проведении научно-производственных опытов. Таким образом путем разработки нового продукта можно улучшить и его качество (Биконя С.Н. с соавт., 2022).

#### 3.5.1 Лабораторные опыты по разработке закваски «Биотроф®-АС»

Нами для исследования были отобраны следующие штаммы (их комбинации), перспективные для создания именно силосных заквасок:

- *Lactobacillus plantarum* 60 + *Lactobacillus buchneri* 600.

Штамм *Lactobacillus plantarum* 60 обладает высокой активностью размножения, способен в более короткие сроки по сравнению с другими известными штаммами лактобацилл образовывать преимущественно молочную кислоту, а также обладает по сравнению с ними более выраженными антагонистическими свойствами по отношению к гнилостным бактериям,

встречающимися в силосе. Является факультативным анаэробом. Ферментирует лактозу, мальтозу, рамнозу, сорбит, сахарозу, галактозу.

Штамм *Lactobacillus buchneri* 600 обладает антагонистической активностью к грибам *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger* и *A. flavus*, к дрожжам родов *Torula*, *Pichia* и *Saccharomyces*. Гетероферментативный штамм, факультативный анаэроб. Образует газ из глюкозы и глюконата. Сбраживает сахара: арабинозу, фруктозу, глюкозу, мальтозу, рибозу, ксилозу, слабо сбраживают раффинозу.

Данные штаммы депонированы в коллекции Всероссийского государственного Центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ») и хранятся в коллекции микроорганизмов ООО «БИОТРОФ».

Нами была проверена антимикробная активность данных штаммов в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium butyricum*, а также дрожжей *Candida albicans* и грибов-продуцентов микотоксинов. Результаты представлены в таблице 11. Высокую антагонистическую активность данные штаммы проявляют в отношении грибов продуцентов микотоксинов *Fuzarium graminearum*.

Таблица 11 - Зоны задержки роста тест штаммов, мм ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Тест-штамм	Зоны задержки роста тест-штаммов, мм		
	<i>Lactobacillus plantarum</i> 60	<i>Lactobacillus buchneri</i> 600	<i>Lactobacillus plantarum</i> 60 + <i>Lactobacillus buchneri</i> 600
<i>Staphylococcus aureus</i>	15±0,68	10±0,45	10±0,36
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8±0,32	20±0,48	7±0,32
<i>Escherichia coli</i>	н/о*	7±0,27	2±0,06
<i>Clostridium butyricum</i>	н/о	н/о	2±0,09
<i>Candida albicans</i>	2±0,05	н/о	2±0,05
<i>Fuzarium graminearum</i>	35±0,48	40±0,52	33±0,43

Примечание: \*н/о – не обнаружено

Это позволяет предположить присутствие в составе культуральной жидкости данных штаммов диффундирующих в агар антимицробных веществ.

Данные штаммы были проверены на осмоотолерантность. Известно, что одной из проблем интродукции микроорганизмов в силосную экосистему является проблема конкурентоспособности внесенных штаммов бактерий по сравнению с присутствующими местными эпифитными микроорганизмами, которые могут превосходить данные штаммы по скорости роста и приспособленностью к условиям обитания. Осмотолерантные штаммы микроорганизмов имеют конкурентное преимущество перед другими микроорганизмами при силосовании. (Отт Е.Ф., 2020, Лаптев Г.Ю., 2021). В таблице 12 представлены результаты роста штаммов на среде MRS без и в присутствии хлорида калия (10%). Как видно из таблицы 12, штамм бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 проявил большую осмоотолерантность по сравнению со штаммом *Lactobacillus buchneri* 600.

Таблица 12 - Осмотолерантность штаммов *Lactobacillus plantarum* 60 и *Lactobacillus buchneri* 600

Состав среды	<i>Lactobacillus plantarum</i> 60	<i>Lactobacillus buchneri</i> 600
MRS (контроль)	$5,5 \times 10^8 \pm 2,4 \times 10^7$	$5,2 \times 10^8 \pm 1,9 \times 10^7$
MRS + KCl (10%)	$4,8 \times 10^8 \pm 2,2 \times 10^7$	$2,4 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^7$

Для совместного культивирования штаммов бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 и *Lactobacillus buchneri* 600 в составе закваски «Биотроф®-АС» был осуществлен подбор компонентов производственной питательной среды.

В результате был подобран следующий состав питательной среды: меласса – 2%, кукурузный экстракт – 0,9%, кормовые дрожжи – 0,5%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 0,7%, кислота аскорбиновая – 0,03%, магний сернокислый – 0,01%. Стерильные питательные среды в колбах для инокулята засеивали трехсуточной культурой штаммов бактерий и инкубировали при температуре  $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$  в термостате в течение 24 часов. Через сутки

инкубирования на данной среде штамм *Lactobacillus plantarum* 60 имел титр  $4,5 \times 10^8$  КОЕ/мл, а *Lactobacillus buchneri* 600 –  $6,1 \times 10^8$  КОЕ/мл, кислотообразующая активность в инокуляте составила 90 градусов Тернера при  $pH=3,5$ . В качестве исходных культур использовались музейные производственные штаммы *Lactobacillus plantarum* 60 и *Lactobacillus buchneri* 600. Их засеивали в пробирки со стерильной питательной средой «уколом». Засеянные пробирки также выращивали в термостате при температуре  $(28 \pm 1)$  °С в течение  $(70 \pm 2)$  часов. Перед засевом инокулята пробирки проверяли на отсутствие посторонней микрофлоры и морфологическую однородность культур.

С целью проверки стабильности титра была наработана опытная партия закваски «Биотроф®-АС» в ферментере на утвержденной питательной среде. Стабильность закваски проверяли в течение 4 месяцев при температуре  $(5 \pm 1)$ ° и  $(24 \pm 1)$ °С соответственно, высевая закваску на среду MRS. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Общее количество жизнеспособных клеток в составе закваски при культивировании на среде MRS, КОЕ/мл ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Температура хранения, °С	Время хранения, сутки				
	1	30	60	90	120
$(5 \pm 1)$	$9,4 \times 10^8$ $\pm 4,5 \times 10^7$	$7,4 \times 10^8$ $\pm 3,2 \times 10^7$	$4,3 \times 10^8$ $\pm 1,7 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$ $\pm 1,9 \times 10^6$	$1,0 \times 10^8$ $\pm 3,3 \times 10^6$
$(24 \pm 1)$	$9,4 \times 10^8$ $\pm 4,4 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$ $\pm 3,1 \times 10^6$	$5,3 \times 10^6$ $\pm 2,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$ $\pm 9,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$ $\pm 4,2 \times 10^2$

Как видно из таблицы 13, при температуре  $(5 \pm 1)$  °С общий титр бактерий в закваске «Биотроф®-АС» уменьшался менее чем на порядок в течение четырех месяцев, что имеет высокую технологическую ценность для закваски.

### 3.5.2 Лабораторные опыты по силосованию с применением новой закваски «Биотроф®-АС»

#### 3.5.2.1 Лабораторный опыт по силосованию злаково-бобовой смеси

В 2021 году мы заложили лабораторный эксперимент по силосованию бобово-злаковой смеси с применением нового биоконсерванта на основе двух штаммов лактобактерий «Биотроф®-АС» (*Lactobacillus plantarum* 60 и *Lactobacillus buchneri* 600). Варианты опыта представлены в таблице 14. Для сравнения эффекта применения новой закваски использовали полиштаммовый препарат «Биотроф® 2+» на основе бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Таблица 14 - Варианты лабораторного эксперимента по консервированию злаково-бобовой смеси.

№	Варианты опыта
1	Контроль (без добавок)
2	Закваска «Биотроф® 2+»
3	Закваска «Биотроф®-АС»

Исходная влажность закладываемой зеленой массы была (62,0±1,0) % при исходном уровне  $pH=5,29$ . Закладку проводили в вакуумных пакетах. На 1,3, 4 и 30 сутки силосования проводили отбор проб для определения уровня  $pH$  в образцах. Значения  $pH$  представлены в таблице 15.

$pH$  показывает меру закисления корма. Оптимальным значением можно назвать 4,1-4,2, так как ниже этого значения прекращается рост клостридий, которые вызывают токсичность корма. Как видно из таблицы 15, уже на 4 сутки произошло снижение значения  $pH$ , необходимого для снижения количества большинства представителей нежелательной микрофлоры. Все образцы исходя из

содержания сухого вещества называются согласно ГОСТ Р 55986-2022 силажами и по показателю  $pH$  они получились вне класса.

Таблица 15 - Изменение значения параметра  $pH$  после закладки ( $n=3$ )

Вариант опыта	Уровень pH			
	1 сутки	3 сутки	4 сутки	30 сутки
Контроль	4,75±0,05	4,43±0,03	4,26±0,02	4,12±0,01
«Биотроф <sup>®</sup> 2+»	4,7±0,04	4,36±0,02	4,28±0,02	4,16±0,01
«Биотроф <sup>®</sup> -АС»	4,67±0,04	4,32*±0,02	4,23±0,02	4,14±0,01

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ .

Также мы провели микробиологический анализ исходного травостоя и готового силоса классическим методом микробиологии – посевом на чашки Петри и в пробирки с селективными средами. Результаты посева представлены в таблице 16.

Как видно из таблицы 16, снизилось количество молочнокислых бактерий в готовом силосе, снизилось количество дрожжей и газообразующих бактерий, снизилось количество гнилостных бактерий.

Таблица 16 - Микрофлора исходной зеленой массы и готового силоса, КОЕ/г

Вариант	Лактобактерии	Дрожжи	Гнилостные бактерии	Клостридии	Газообразующие бактерии
Исходная масса	$2,6 \times 10^8$	$1,0 \times 10^5$	$2,8 \times 10^6$	н/о*	$1,0 \times 10^3$
14 сутки					
Контроль	$1,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$7,3 \times 10^4$	н/о	10
«Биотроф <sup>®</sup> 2+»	$1,2 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$8,6 \times 10^4$	н/о	10
«Биотроф <sup>®</sup> -АС»	$1,1 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$	н/о	10
Готовый силос, 30 сутки					
Контроль	$2,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$3,7 \times 10^4$	н/о	10
«Биотроф <sup>®</sup> 2+»	$1,3 \times 10^5$	$4,6 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	н/о	10
«Биотроф <sup>®</sup> -АС»	$1,3 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^6$	н/о	10

Примечание: \* н/о – не обнаружено.

На 30 сутки были проанализированы биохимические показатели и показатели энергетической питательности готовых силлажей. Полученные данные сравнивали с результатами анализа исходной зеленой массы. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Показатели качества исходной массы и готовых силлажей на 30-е сутки хранения (n=3)

Показатель	Единицы измерения	Исходная масса	Контроль	Биотроф® 2+	Биотроф®-АС
СВ	%	38,2±0,02	38,5±0,05	30,1±0,01	37,4***±0,01
Обменная энергия	МДж/кг	9,36±0,02	9,66±0,03	9,92**±0,03	9,97**±0,02
СП	%	14,8±0,02	14,2±0,03	14,5***±0,03	13,8**±0,01
СЗ	%	5,84±0,02	5,48±0,02	5,45±0,01	5,53*±0,02
СК	%	27,7±0,03	28,6±0,04	25,9±0,01	25,1±0,09
Масляная кислота	%	–	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Молочная кислота	%	–	2,62±0,03	2,78±0,03	2,71±0,03
Уксусная кислота	%	–	0,43±0,03	0,51±0,01	0,46±0,01

Примечание: результаты испытаний обменной энергии, массовой доли сырого жира, сырого протеина, сырой золы, сырой клетчатки, растворимых углеводов указаны в сухом веществе; достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$ .

Как было сказано выше, по содержанию СВ, согласно ГОСТ Р 55986-2022, полученные образцы называются силлажами. В исходной массе было 38,2% СВ, а в варианте с «Биотроф®-АС» - 37,4%. Произошла потеря СВ в варианте с «Биотроф®-АС», но это составило всего 2%. По содержанию сырого протеина образцы с заквасками соответствовали 2 классу, потеря СП в варианте с «Биотроф® 2+» составила 2% (14,5% от сухого вещества), в варианте с «Биотроф®-АС» - 6,8% (13,8% от сухого вещества) по сравнению с исходной массой (14,8% от сухого вещества). Отношение молочной кислоты к уксусной во всех вариантах было более 3. Это означает, что процесс консервации прошел быстро и контролируемо. Во всех образцах отсутствовала масляная кислота, которая служит маркером присутствия клостридий в силосе. Согласно ГОСТ Р



55986-2022 по показателям содержания обменной энергии варианты с заквасками также соответствовали 1 классу.

Для подтверждения эффективности жидких биоконсервантов «Биотроф<sup>®</sup> 2+» и «Биотроф<sup>®</sup>-АС» были отобраны по 3 образца силежа от каждого из трех вариантов для определения аэробной стабильности в лабораторных условиях (таблица 18). Как видно из таблицы, использование бактериальных добавок привело к уменьшению в силосе количества дрожжей во время 7-дневной аэрации за счет входящих в биоконсерванты молочнокислых бактерий, во всех образцах произошла потеря питательных веществ, но в варианте без добавок потерь больше.

Таблица 18 - Влияние биоконсервантов «Биотроф<sup>®</sup> 2+» и «Биотроф<sup>®</sup>-АС» на аэробную стабильность силежа из злаково-бобовой смеси (n=3)

Показатель	Контроль (без добавок)	с «Биотроф <sup>®</sup> 2+»	с «Биотроф <sup>®</sup> -АС»
рН силежа после вскрытия	4,12±0,01	4,16±0,02	4,14±0,03
рН силежа после 7-ми дней	4,12±0,01	4,09±0,02	4,05*±0,01
Содержание дрожжей после вскрытия, lg, КОЕ/г	3,69	2,41	3,84
Содержание дрожжей после 7-ми дней, lg, КОЕ/г	3,9	1,91	0,69
Потери питательных веществ, %	3,5	0,6	1,2

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ .

Вывод: по результатам лабораторного опыта биоконсервант «Биотроф<sup>®</sup>-АС» сработал на уровне биопрепарата «Биотроф<sup>®</sup> 2+».

### 3.5.2.2 Лабораторный опыт по силосованию кукурузы

Также в 2021 году мы провели опыт по силосованию кукурузы молочной спелости с повышенной влажностью. Кукуруза является легко силосуемым

сырьём, так как имеет высокое содержание сахара при относительно низком содержании буферных веществ (сырой протеин и зола) (Сычевский Н. П., 2016).

Варианты закладки представлены в таблице 19. Для сравнения эффекта применения новой закваски использовали препарат «Биотроф® 2+» на основе бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 и *Enterococcus faecium* 1-35, иностранную сухую закваску «Силос Feedtech® M20XCE» на основе трех молочнокислых бактерий и ферментов, а также российскую сухую закваску «Биосиб® Комби» на основе лактобактерий, пропионовокислых бактерий и ферментов.

Таблица 19 - Варианты лабораторного эксперимента по консервированию кукурузы

№	Варианты опыта
1	Контроль (без добавок)
2	Жидкая закваска «Биотроф® 2+»
3	Жидкая закваска «Биотроф®-АС»
4	Сухая закваска «Силос Feedtech® M20XCE»
5	Сухая закваска «Биосиб® Комби»

Исходная влажность закладываемой зеленой массы была  $(81,5 \pm 1,5)$  % при исходном уровне  $pH=5,9$ . Закладку проводили в вакуумных пакетах. На 1, 2, 7 и 30 сутки силосования отбирали пробы для определения уровня  $pH$  в образцах. Значения  $pH$  представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Изменение значения параметра  $pH$  после закладки

Вариант	Уровень $pH$			
	1 сутки	2 сутки	7 сутки	30 сутки
Контроль	5,18	4,04	3,74	3,69
Биотроф®-АС	4,91	3,99	3,77	3,75
Биотроф® 2+	5,07	4,08	3,72	3,7
Силос Feedtech® M20XCE	4,72	3,96	3,72	3,72
Биосиб® Комби	5,0	4,03	3,76	3,74

Как видно из таблицы 20, уже на 2 сутки произошло значительное снижение уровня  $pH$ . Все образцы силоса отличались повышенной кислотностью.

Также был проведен микробиологический анализ исходной массы и готового силоса классическим методом микробиологии – посевом на чашки Петри. Результаты посева представлены в таблице 21. В исходной массе содержались грибы. Как видно из таблицы 21, снизилось количество молочнокислых бактерий в готовом силосе, снизилось количество дрожжей и газообразующих бактерий, снизилось количество гнилостных бактерий в вариантах с жидкими консервантами «Биотроф®-АС» и «Биотроф® 2+».

Таблица 21 - Микрофлора исходной зеленой массы и готового силоса, КОЕ/г

Вариант	Лактобактерии	Дрожжи	Гнилостные бактерии	Клостридии	Газообразующие бактерии
Исходная масса	$1,4 \times 10^9$	$4,1 \times 10^8$	$2,6 \times 10^4$	н/о*	$1,0 \times 10^3$
Готовый силос, 30 суток					
Контроль	$6,7 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5$	н/о	10
Биотроф®-АС	$1,3 \times 10^7$	$2,4 \times 10^6$	$3,5 \times 10^3$	н/о	10
Биотроф® 2+	$4,5 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$	$1,5 \times 10^3$	н/о	10
Силос Фидтек М20ХСЕ	$3,2 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$7,0 \times 10^3$	н/о	10
Биосиб® Комби	$4,3 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$	н/о	10

Примечание: \*н/о – не обнаружено

На 30 суток были проанализированы биохимические показатели и показатели энергетической питательности готовых силосов. Полученные данные сравнивали с результатами анализа исходной зеленой массы. Результаты представлены в таблице 22.

По содержанию обменной энергии в сухом веществе полученные силоса оказались вне класса, во всех образцах содержание обменной энергии было менее 10,4 МДж/кг. Наибольшее количество молочной кислоты образовалось в образце с биоконсервантом «Биотроф®-АС» - 2,09%, в контроле – 1,85%. Быстрое снижение *pH* в образцах способствовало прекращению развития нежелательной микрофлоры, о чем свидетельствует отсутствие масляной кислоты. Все образцы силоса отличались повышенной кислотностью, значение *pH* варьировалось от 3,69

до 3,75 ед.рН. Наибольшее количество уксусной кислоты образовалось в контроле – 0,44%, наименьшее – в варианте с «Биотроф® 2+» - 0,32%. Содержание сухого вещества в варианте с «Биотроф®-АС» составило 16,8%, что на 5% ниже по сравнению с контролем, в варианте с «Биотроф® 2+» и в варианте с «Силос Фидтек М20ХСЕ» содержание СВ составило 17,2%, что на 2,8% ниже по сравнению с контролем, в варианте с «Биосиб® Комби» содержание СВ составило 20,9%, что больше содержания СВ в контроле на 18%. Содержание СП в сухом веществе в вариантах с «Биотроф®-АС» и «Силос Feedtech® М20ХСЕ» больше по сравнению с контролем на 7,2% и 0,9% больше. Содержание СП в сухом веществе в вариантах с «Биотроф-2+» и «Биосиб® Комби» меньше по сравнению с контролем на 0,9% и 12,5% меньше.

Таблица 22 - Показатели качества исходной массы и готовых силосов на 30-е сутки хранения

Показатель	Исходная масса	Контроль	Биотроф® -АС	Биотроф® 2+	Силос Feedtech® М20ХСЕ	Биосиб® Комби
СВ, %	18,5	17,7	16,8	17,2	17,2	20,9
ОЭ*, МДж/кг	9,51	9,77	9,64	9,7	9,6	10,0
Массовая доля СП, %	10,5	11,0	11,8	10,9	11,1	9,62
Массовая доля СЗ, %	4,7	5,2	5,36	5,4	5,12	4,45
Массовая доля СК, %	23,8	26,9	28,2	27,0	28,7	24,5
Массовая доля масляной кислоты, %	–	Менее 0,01	Менее 0,01	Менее 0,01	Менее 0,01	Менее 0,01
Массовая доля молочной кислоты, %	–	1,85	2,09	1,77	2,1	2,08
Массовая доля уксусной кислоты, %	–	0,44	0,42	0,32	0,36	0,5

Примечание\*: - результаты испытаний, обменной энергии, массовой доли сырого жира, сырого протеина, сырой золы, сырой клетчатки, растворимых углеводов указаны в сухом веществе.

Таким образом, по результатам лабораторной проверки и лабораторных опытов по силосованию препарат «Биотроф®-АС» на основе *L. plantarum* 60 и *L.*

*buchneri* 600 является перспективным биоконсервантом для консервирования растительного сырья.

### 3.6 Научно-хозяйственный опыт по силосованию с закваской «Биотроф®-АС»

Научно-хозяйственный опыт по силосованию с закваской «Биотроф®-АС» был поставлен в животноводческом хозяйстве «Шекснинская Заря» Вологодской области. Хозяйство «Шекснинская Заря» расположено в юго-западной части Шекснинского района Вологодской области. Специализация хозяйства — молочное скотоводство, выращивание зерновых культур и заготовка грубых и сочных кормов. В 2021 году надой на 1 корову составил 8577 кг. Общее поголовье крупного рогатого скота 2170 голов, из них коров — 1080 голов. В части растениеводства: общая площадь посева зерновых культур в хозяйстве в 2021 году составила 2080 га. Основными культурами, возделываемыми в хозяйстве, являются яровые пшеница, ячмень, овес и многолетние травы. Для заготовки кормов в хозяйстве используется много разной техники от разных производителей: трактора, пресс-подборщики, валкователи, ворошилки, косилки. В заготовке кормов основной рабочей единицей в хозяйстве являются комбайны CLAAS: кормоуборочные комбайны JAGUAR 850-й.

В 2021 году в хозяйстве было заложено более 9000 тонн кормов с различной влажностью исходной массы, в том числе и из трудносилосуемых культур. Объектами исследования стали силосы, заложенные с препаратом «БИОТРОФ®-АС» производства ООО «БИОТРОФ». В состав биоконсерванта входят два вида молочнокислых бактерий — *Lactobacillus plantarum* 60 и *Lactobacillus buchneri* 600 — в среде культивирования. Норма внесения препарата — 1 л на 50 тонн зеленой массы. Силос закладывали в бурты (Биконя С.Н. с соавт., 2022).

Для заготовки и хранения силосов используют различные виды хранилищ: траншеи, курганы, башни, бурты. Бурты являются простейшим и самым дешевым

типом хранилища. Однако они имеют ряд существенных недостатков и используются в крайних случаях: при недостатке или отсутствии других хранилищ, превышении плановой урожайности, высоком уровне стояния грунтовых вод и др. При данном способе закладки силоса теряется значительное количество питательных веществ и снижается качество готового корма (угар). Общие потери питательных веществ достигают 30—40%, так как трудно осуществить надежную герметизацию силосуемой массы (Жуков В.П. с соавт., 2009, Тищенко П.И., 2018). Поэтому для минимизации потерь сухого вещества и процессов порчи в результате деятельности нежелательной микрофлоры при силосовании кормов необходимо создать благоприятные условия для развития в зеленой массе полезных микроорганизмов, например, путем внесения в нее гомоферментативных молочнокислых бактерий с помощью заквасок. Важно получить такой уровень  $pH$ , при котором нежелательная микрофлора не сможет размножаться, а это достигается в результате сбраживания сахаров растений в молочную, уксусную, пропионовую кислоты с преобладанием молочной кислоты (Биконя С.Н. с соавт., 2022).

### 3.6.1 Оценка качества силосов, заложенных с закваской «Биотроф®-АС»

Исходные данные заготовленных кормов представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Варианты закладки силоса

№ образца	Состав силоса	Место хранения	Срок заготовки
1	клевер 90% + злаки 10%	бурт «Шотма № 1»	22.06.2021— 24.06.2021
2	клевер 80% злаки 20%	бурт «Переезд № 2»	24.06.2021— 27.06.2021

## Продолжение таблицы 23

№ образца	Состав силоса	Место хранения	Срок заготовки
3	клевер 80% + злаки 20%	бурт «За Четвериково»	28.06.2021— 01.07.2021
4	клевер 50% + разнотравье 50%	бурт «Зерносклад»	03.07.2021— 03.07.2021
5	люцерна 40% + разнотравье 60%	бурт «Елочки»	01.07.2021— 03.07.2021
6	злаки* 100%	бурт «Пашнец № 2»	04.07.2021— 06.07.2021
7	райграс 100%	бурт «Пашнец № 2» (1)	04.07.2021— 06.07.2021

Примечание: \* - доминирующий вид – тимофеевка луговая.

В таблице 24 представлены показатели качества брожения в заготовленных силосах. Стандартам высокого качества брожения соответствует силос № 2 из клевера и злаков (бурт «Переезд № 2»). В трех вариантах корма из семи соотношение молочной и уксусной кислот больше 3, что указывает на быстрый и контролируемый процесс силосования. Небольшие количества масляной кислоты обнаружены в 3 образцах из семи, что свидетельствует о начале развития в силосе клостридий, которые попали туда вместе с почвой. Доля силоса, достигнувшего уровня  $pH < 4,2$ , составила 28,6%, от 4,2 до 4,4 — 71,4% (при том, что критическое значение  $pH$  равно 4,6).

Таблица 24 - Показатели качества брожения

Показатель	№ образца силоса							Целевое значение параметра
	1	2	3	4	5	6	7	
рН, ед.рН	4,31	4,22	4,25	4,38	4,15	4,38	4,13	<4,2
Молочная кислота, % СВ	6,13	6,45	6,28	4,73	5,66	5,86	6,99	>3
Уксусная кислота, % СВ	2,07	1,60	1,8	1,76	2,56	1,69	2,61	<1,5
Масляная кислота, % СВ	0	0	0	0,22	0,3	0	0,22	<0,25
Сумма кислот, % СВ	8,2	8,05	8,08	6,71	8,52	7,55	9,82	<10
Доля молочной кислоты от суммы кислот, %	74,8	80,1	77,7	70,5	66,4	77,6	71,2	70—80
Отношение содержания молочной кислоты к уксусной	2,96	4,04	3,48	2,69	2,21	3,46	2,68	>3
Аммиак, % СП	4,72	4,65	6,45	7,62	8,13	3,46	10,43	<10

Показатели сырого протеина являются одними из важнейших характеристик корма. Как известно, на содержание сырого протеина и в зеленой массе, и в готовом корме оказывают влияние вид растений, время заготовки, погодные условия, минеральная подкормка, но самое большое — сроки заготовки и фаза развития растений.

В таблице 25 представлен такой показатель как доступный протеин. Известно, что протеин, который поступает вместе с кормом, не весь доступен. Такой потенциально доступный получается, когда из общего количества протеина вычитают недоступный протеин, такой как С фракция протеина и кислотно детергентный нерастворимый сырой протеин (Анализ кормов и ветеринарная диагностика: [сайт].URL: <https://lab.yarvet.ru>).



Показатель сохранности протеина свидетельствует о том, какой процент белка остался в неизменном виде и сколько его распалось. Растворимый протеин, состоящий из быстрых фракций белка, показывает процент сырого протеина, растворимого в буфере, и отвечает за *pH* рубца. Высокое содержание растворимого сырого протеина говорит о том, что большое количество протеина будет доступно в рубце.

Таблица 25 - Содержание сухого вещества, протеина, сахаров и крахмала

Показатель	№ образца силоса						
	1	2	3	4	5	6	7
Сухое вещество, %	28,52	32,69	27,44	37,68	28,84	33,09	25,11
Сырой протеин, % СВ	12,95	11,90	13,11	11,49	11,75	14,71	15,15
Доступный протеин, % СВ	12,00	11,00	12,05	10,49	10,52	13,45	14,48
Сохранность протеина, % СП	78,11	78,73	77,82	73,72	67,95	79,54	85,06
Растворимый протеин, % СП	34,98	38,18	36,76	35,42	37,99	39,32	60,20
КДНСП, % СП	7,34	7,60	8,11	8,74	10,41	8,56	4,42
Сахара (водорастворимые), % СВ	8,86	7,47	5,87	6,01	2,89	5,48	4,15
Крахмал, % СВ	3,32	1,87	1,3	1,05	0,27	2,2	1,81

Таким образом, растворимый сырой протеин является индикатором качества протеина. Наибольшие сохранность его и процент содержания растворимого протеина (85,06% СП и 60,2% СП соответственно) — в силосе из райграса.

### 3.6.2 Оценка переваримости клетчатки силосов, заложенных с закваской «Биотроф®-АС»

Клетчатка играет особую роль в рубцовом пищеварении жвачных. От содержания этого углевода в рационах коров зависит их здоровье, а также

продуктивность и качественные показатели молока (Ганущенко О., 2019). Как известно, клетчатка является основой для определения норм потребления всех питательных веществ, обеспечивая поступление в организм необходимого количества энергии. Она является самым важным компонентом при оценке питательности кормов и при составлении рационов для молочного и мясного скота (Якушева А.В., 2015, Курепин А.А., 2020).

При проведении зоотехнического анализа кормов определяют две фракции углеводов: неструктурные углеводы (безазотистые экстрактивные вещества) и структурные – сырую клетчатку (Быкова М.Ю., Гибадуллина Ф.С., 2010). Но постепенно на смену применяемой в нашей стране Веендевской системе анализа кормов приходит более расширенная система зоотехнического анализа (Попов В.В., 2020). Требования к нормам содержания клетчатки в кормах постоянно растут, ведь для жвачных животных клетчатка является важной частью метаболизма в рубце. Согласно современным подходам к определению качества корма, стандартный анализ корма в настоящее время должен включать нейтрально-детергентную (НДК) и кислотно-детергентную (КДК) клетчатки (Иванова Е.П., 2020). НДК, КДК, а также лигнин используются в качестве показателей энергии рациона и потребления, особенно для жвачных животных, то есть применяется оценка кормов по методу Ван Соеста (Van Soest, 1979). С 01.01.2023 в нашей стране в действие вступил в силу ГОСТ Р 55986-2022 «Силос и силаж. Общие технические условия», в котором в стандартный анализ кормов включили определение таких показателей как содержание нейтрально-детергентной и кислотно-детергентной клетчатки.

В таблице 26 представлены показатели, характеризующие скорость переваримости клетчатки силосов из разных культур (КДК, лигнин, нНДК(240ч) – неперевариваемая НДК за 240 часов, kd – скорость переваривания НДК, аНДК – нейтрально-детергентная клетчатка и TTNDFD – полная переваримость НДК).

НДК — это самый низкопереваримый компонент корма. Чем ниже ее показатель, тем выше энергия корма. Содержание НДК увеличивается по мере старения трав. Также при этом ухудшается ее переваримость. Чем выше скорость

переваривания НДК (коэффициент переваримости, kd), тем быстрее клетчатка переварится в рубце. Лучшим индикатором переваримости клетчатки служит полная переваримость НДК (TTNDFD). Например, при равном содержании НДК в рационе, но более высоком (на 12%) уровне TTNDFD, можно получить на 3 л молока больше при условии отсутствия сокращения потребления корма. Значение TTNDFD сильно зависит от того, из каких культур приготовлен силос, и от этого может сильно варьироваться (Combs D.K., 2013). На содержание КДК и НДК в кормах существенное влияние оказывает фаза вегетации растения, его вид и состав рациона. Соответственно, исходя из содержания клетчатки и ее переваримости, мы сможем оценить выдерживание сроков и условий уборки зеленой массы.

Таблица 26- Показатели, характеризующие скорость переваримости клетчатки

Показатель	№ образца силоса						
	1	2	3	4	5	6	7
КДК, %СВ	36,36	37,68	37,68	39,78	40,14	37,04	35,68
Лигнин, %СВ	7,18	7,88	8,34	8,4	8,8	8,54	6,4
нНДК(240ч), %СВ	16,07	19,17	20,98	21,83	23,12	21,08	14,49
kd, %/ч	4,84	5,14	6,00	5,4	5,49	6,49	6,04
аНДК, %СВ	48,59	49,94	47,99	54,04	55,43	45,01	54,84
TTNDFD, %НДК	37,25	35,33	34,79	35,12	34,8	33,58	47,78

Согласно полученным данным, полная переваримость НДК (47,78% от НДК) входит в норму только в варианте с силосом из райграсса, в нем меньше всего лигнина - 6,4% от сухого вещества. Данный силос целесообразно использовать для дойного стада среднепродуктивных животных. Другие виды силоса лучше использовать на остальном, недойном стаде, так как они обладают пониженной переваримостью. Это, вероятно, связано с тем, что условия при уборке были неидеальные.

Таким образом, в настоящее время для оценки кормов помимо физико-химических показателей в анализ входит определение скорости и переваримости фракций клетчатки, а также содержания лигнина. Фермерам и животноводам важно знать, какая часть кормов переварилась и какой питательностью обладают заготовленные для КРС корма.

Исследования TTNDFD служит дополнительным инструментом для более четкого понимания того, как клетчатка из кормов используется молочным скотом. Полная переваримость НДК может дать ценные сведения для оценки кормов и прогнозирования продуктивности животных.

В результате анализа показателей качества полученных силосов к первому классу были отнесены образцы № 3 (клевер 80% + злаки 20%) и № 6 (злаки), ко второму классу — №7 (райграс), остальные относятся к третьему классу. Было заготовлено 3167, 2046 и 4023 тонн силоса 1, 2 и 3 классов соответственно. Применение биоконсерванта на основе живых молочнокислых бактерий обеспечило сохранность питательных веществ заготовленных кормов в течение всего периода хранения за счет быстрого снижения уровня *pH*, а также правильного процесса брожения зеленой массы и подавления роста нежелательной микрофлоры.

### **3.6.3 Прогнозирование качества корма, заложенного с закваской «Биотроф®-АС»**

Для прогнозирования качества кормов были разработаны две системы для выражения качества корма с помощью индекса, который сочетает в себе как потребление, так и усвояемость. Индекс относительной кормовой ценности (RFV) был разработан Американским советом по кормам и пастбищам (Rohweder D.A., 1978), а система относительного качества корма (RFQ) была разработана Муром и Андерсандером (Moore J. E., Undersander D. J. 2002).

Относительная ценность корма (RFV) и индекс качества (QI) основаны на разумной концепции: добровольном потреблении доступной энергии. Показатель RFV сравнивает потенциальный уровень потребления, переваримость двух и более видов объемистых кормов на основе потребляемого животным количества энергии, необходимой для производства единицы продукции. Показатель RFQ используется для оценки разных видов силоса на основе их относительной кормовой ценности. Показатель RFQ рассчитывают именно на основании уровня потребления корма и истинного количества переваримых питательных веществ, а не на основании уровня переваримости СВ корма. Благодаря этому показатель RFQ точнее прогнозирует качества силоса по сравнению с индексом RFV (Саха У. с соавт., 2019).

Индекс RFQ имеет преимущества перед индексом RFV, особенно при оценке трав и злаково-бобовых травосмесей по сравнению с бобовыми. В обеих системах значение 100 примерно соответствует люцерне в фазе полного цветения (Rohweder D.A., 1978, Кастильо М., 2018).

Индекс RFQ связан с содержанием сырого протеина, КДК и НДК, жира, золы и переваримости НДК за 48 часов. Чем больше величина индекса, тем лучше качество корма и более высокий прогноз потребления данного корма коровами (Косинцев В.В. с соавт., 2018).

В таблице 27 представлена энергетическая ценность кормов и оценка относительной ценности и качества кормов (силосов, заложенных с закваской «Биотроф®-АС»). Согласно данным таблицы 27, коэффициент RFQ больше ста получился во всех образцах. Наибольшее значение в образце №1 из смеси клевера и злаков. Коэффициент RFV меньше ста получился в образце №5 из смеси люцерны и разнотравья.

Во всех образцах содержание ОЭ меньше 10 МДж/кг СВ. Наименьшее содержание обменной энергии в образцах №4 и №5 – 8,8 и 8,91 МДж/кг СВ соответственно. Данные силоса не подходят для кормления высокопродуктивных коров, т.к. для них в сухом веществе объемистых кормов должно содержаться 10 – 11 МДж обменной энергии (1- 1,1 ЭКЕ) (Фитатов В.И. с соавт, 2014).

Таблица 27- Энергетическая ценность кормов и оценка относительной ценности и качества кормов

Показатель	№ образца силоса						
	1	2	3	4	5	6	7
Обменная энергия, МДж/кг СВ	9,25	9,07	9,26	8,80	8,91	9,24	9,18
Чистая энергия лактации (ЧЭЛ), МДж/кг СВ	5,71	5,59	5,72	5,39	5,47	5,71	5,66
RFQ (относительное качество корма)	124,6	107,85	113,93	103,89	100,38	108,72	114,96
RFV (относительная кормовая ценность)	116,00	111,00	115,00	100,00	97,00	124,00	104,00

Показатель «чистая энергия лактации» увязан с молочной продуктивностью, поэтому, зная содержание ЧЭЛ в корме и долю этого корма в рационе, можно рассчитать выход молока при скармливании данного корма. Данный параметр дает представление о том, какое количество энергии доступно для лактации и поддержания жизнедеятельности. Полученные данные – это идеализированная величина, она зависит от рубцового пищеварения. Если животное страдает, например, ацидозом, и микрофлора его рубца угнетена, то добиться максимальной конверсии корма в молоко будет невозможно. Несмотря на это, полученное значение является потенциально возможным максимумом, который обеспечивает энергетика объемистого корма, скармливаемого в рационе (Богомолов В.В. с соавт., 2009).

Так как чистая энергия для молочного скота – это часть обменной энергии, то, соответственно, самые низкие значения ЧЭЛ получились в образцах №4 и №5.

Как видно из таблицы, данные показатели в образцах в целом сильно зависят от вида травосмеси.

Таким образом, качество корма может быть выражено через индексы, такие как RFV и RFQ. Эти индексы могут быть использованы для оценки качества корма и его влияния на продуктивность животных.

### **3.6.4 Определение микотоксинов в кормах, заложенных с закваской «Биотроф®-АС»**

Нами были исследованы образцы кормов из ООО «Шекснинская заря»: ячмень, пшеница и силос из бобово-злаковой смеси (клевер 80% злаки 20%), заготовленный с закваской «Биотроф®-АС» (Приложение 2). Анализ микотоксинов проводили с использованием прямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Agra®Quant. Данный метод позволяет с высокой точностью определить превышение норм содержания микотоксинов в материале (Бражник Е.А. и соавт., 2018.).

Результаты исследования основных групп микотоксинов представлены в Приложении 2. Результаты сравнивали с предельно допустимыми концентрациями (ПДК), опубликованными на официальном сайте Таможенного союза.

Во всех пробах не было обнаружено превышение норм содержания дезоксиниваленола и Т2 токсина.

Превышение норм содержания суммы афлатоксинов в 1,87 раз было обнаружено в пробе силоса. Афлатоксин способствует снижению молочной продуктивности, поражению печени, накоплению жира в печени, почках, сердце, энцефалопатия, отеки. Поступление афлатоксинов в организм крупного рогатого скота уменьшает численность полезной микрофлоры рубца, которая обладает антимикробными и целлюлозолитическими свойствами, что, в свою очередь,

влечет к увеличению содержания представителей патогенной микрофлоры (Биконя С.Н. с соавт., 2020).

Также в силосе было обнаружено превышение содержания охратоксина А в 2,6 раз. Охратоксин А оказывает тератогенное действие на эмбрионы, способен вызвать гастроэнтериты, поражения почек, печени, легких (Фисинин В.И., 2013, Moyosore J.A., 2020).

Также было отмечено превышение нормы ПДК содержания зеараленона во всех образцах от 1,4 до 2,8 раза. Зеараленон в корме может привести к проблемам воспроизводства (Minervini F., 2008, Брылина Е.В., 2020, Тарасова Е.Ю., 2021).

Для деконтаминации микотоксинов рекомендуется использовать энтеросорбенты, способные адсорбировать микотоксины в желудочно-кишечном тракте животных и птиц и далее выводить их из организма, тем самым понижая уровень всасывания микотоксинов в желудочно-кишечном тракте (Меджеев З.Б., 2012, Лаптев Г.Ю. с соавт., 2016б, Йылдырым Е.А., 2018, Ефременко Е.Н. с соавт. 2020).

### **3.7 Эффективность препарата «Биотроф® 2+» в условиях Северо-Запада России**

Эксперименты по изучению эффективности препарата «Биотроф®2+» проводили в 2019 году на базе СПК «Кобраловский» Ленинградской области. СПК «Кобраловский» находится в поселке Кобралово Гатчинского района Ленинградской области вблизи железнодорожной станции Кобралово. Удаленность от города Гатчина – 26 километров, а от Санкт-Петербурга – 60 километров. Сельское хозяйство является ведущей отраслью производства предприятия и занимает 99% в общей структуре товарной продукции, а животноводство является основным направлением деятельности предприятия. Основным видом товарной продукции является молоко. Его доля в выручке



предприятия- 87%. Реализация племенных телок и нетелей голштинизированной черно-пестрой породы, молодняка КРС занимает второе место в производстве предприятия и составляет 11% от общей выручки. Из сельскохозяйственной продукции на предприятии реализуется еще силос и сено собственного производства.

В траншеи закладывался силос из многолетних трав (смесь злаковых (доминирующий вид - тимофеевка луговая) и бобовых культур (доминирующий вид - клевер). В период закладки силоса провяленная зелёная масса тщательно трамбовалась, после завершения трамбовки закрывалась плёнкой. Препараты вносились, исходя из рекомендаций производителей консервантов, с помощью насосно-дозировочного комплекса уборочного комбайна. Через 30–35 дней, после окончания ферментации силоса, отбирали образцы готового корма для оценки биохимических показателей (питательности, содержания органических кислот).

Заготовленные корма скармливали дойным коровам голштинизированной чёрно-пестрой породы в учетный период в течение 30 дней. Группы-аналоги были сформированы по возрасту, рациону, продуктивности, количеству лактаций, состоянию здоровья. В каждую группу входило по 10 животных (таблица 28).

Таблица 28 - Схема производственного опыта в СПК «Кобраловский»

Период опыта	Группа	Количество дней	Количество животных, голов	Схема кормления
Уравнительный	1-я группа	15	10	ОР (основной рацион)
	2-я группа		10	ОР
	3-я группа		10	ОР
Учетный (главный)	1-я группа	30	10	ОР, в том числе силос с закваской «Биотроф 2+».
	2-я группа		10	ОР, в том числе силос с закваской «Best-Sil dry»
	3-я группа		10	ОР, в том числе силос с закваской «Силос Feedtech® M20XCE».

В рацион коров всех групп включался силос, заготовленный с одним из трёх препаратов: с отечественным жидким биоконсервантом «Биотроф<sup>®</sup>2+», а также с биологическими препаратами «Best-Sil dry» и «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE», которые были представлены в сухой форме. Подготовка, смешивание, кратность раздачи кормов и нормирование суточного кормления осуществлялось по технологии производства, принятой на СПК «Кобраловский». В таблице 29 представлен рацион коров.

Таблица 29 - Рацион лактирующих коров (период 140–170-е сутки)

Структура	Количество в рационе, кг
Зерно ячменя дроблёное	3,1
Кукуруза дроблёная	4,2
Шрот рапсовый	1,5
Шрот соевый	0,9
Дробина пивная	2,2
Жом свекловичный	2,4
Силос	35
Сено	1
Премикс	0,21
Мел	0,1
Соль	0,1
Полис	0,25
Фунгистат	0,1
Кетостоп	0,3

В учётный период молочная продуктивность коров оценивалась три раза в месяц. Использовался метод контрольных доек с регистрацией данных контрольных удоев в журнале. Для определения суточных удоев сумма удоев делилась на 3. Оценивалась массовая доля жира и белок (Ахматчин Д.А. с соавт., 2020).

### 3.7.1 Оценка питательности силосов и сенажа, заложённых с биоконсервантом «Биотроф® 2+»

На первом этапе исследований мы проводили оценку питательности различных видов кормов: силосов из многолетних трав первого и второго укосов (отавы), а также сенажа из смеси злаковых и бобовых культур. Корма были заложены с консервантом «Биотроф® 2+». Злаковые убирали в фазу выхода в трубку – начала колошения, бобовые — в фазу бутонизации – начала цветения. В эти фазы вегетации растения обладают наивысшим содержанием питательных веществ. Результаты оценки питательности представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Качество кормов, полученных с использованием закваски «Биотроф® 2+» в СПК «Кобраловский»

Показатели	Силос 1 укоса			Силос 2 укоса		Сенаж 2-го укоса	
	Траншея 1	Траншея 2	Траншея 3	Траншея 1	Траншея 2	Траншея 1	Траншея 3
Сухое вещество, %	31,5	37,7	31	29,7	34,1	47,6	42,4
Сырой протеин, %	10	15,9	17,45	15,35	15,48	15,7	14,3
Сырая клетчатка, %	26,3	24,4	25,8	26,9	27,2	28	28,9
ОЭ, МДж/кг	10,1	10,9	11,5	11	9,7	10,3	9,7
Молочная кислота, %	9,83	4,19	7,95	4	3,75	5,67	4,4
Уксусная кислота, %	0,85	0,17	1,55	1,1	1,4	0,5	1,1
Масляная кислота, %	0	0,01	0	0	0	0,01	0
Молочная кислота, % от общего кол-ва орг-х кислот	92	95,8	83,7	78,4	72,8	91,7	80
pH	3,91	4,1-4,3	3,6-4,2	4,3	4,3	4,71	4,3

При использовании микробиологического препарата «Биотроф<sup>®</sup>2+» для заготовки минимизируется риск порчи корма. Как видно из результатов, у консерванта «Биотроф<sup>®</sup>2+» отмечена стабильная эффективность: его преимущество заключается в ингибировании развития гнилостных микроорганизмов, маслянокислых бактерий и создании благоприятных условий для молочнокислого брожения (Лаптев и др., 2018). Высокое содержание сырого протеина в результате использования препарата «Биотроф<sup>®</sup> 2+» при заготовке кормов из трав 1-го и 2-го укосов (отава) может указывать на угнетение деятельности нежелательных протеолитических бактерий, некоторых бактерий рода *Clostridium* и др. Известно, что силосные клостридии обладают повышенной устойчивостью при высокой влажности, а при содержании сухого вещества выше 30% в силосе минимизируется вероятность развития клостридий, вызывающих вторичную ферментацию. Стоит добавить, что некоторые выделяемые в процессе вторичной ферментации вещества, такие как масляная кислота, аммиак, а также уксусная кислота, негативно влияют на качество силоса. Масляная кислота является слабой, а поскольку аммиак является довольно сильной щелочью, то совместное их присутствие значительно повышает *pH* силоса.

### **3.7.2 Оценка эффективности жидкого биопрепарата «Биотроф<sup>®</sup> 2+» по сравнению с сухими биоконсервантами**

На следующем этапе исследования нами был проведён сравнительный эксперимент по оценке силоса из многолетних злаковых травосмесей с влажностью от 71,3 до 75,8%, заложенного с биопрепаратом «Биотроф<sup>®</sup>2+» и импортными препаратами зарубежного производства. В отличие от «Биотроф<sup>®</sup>2+» иностранные консерванты были представлены в сухой форме. Эффективность используемых препаратов отличалась по ряду показателей. В

таблице 31 приведены сравнительные данные по содержанию питательных веществ.

Таблица 31 - Качество кормов в зависимости от применяемых при их заготовке биопрепаратов (n=3)

Показатель	«Биотроф <sup>®</sup> 2+»	«Best-Sil dry»	«Силос Feedtech <sup>®</sup> M20XCE»
Количество, т	1144	1736	1371
Дата заготовки	25-26.05	30.05.-01.06	02-03.06
Сухое вещество, г/кг	28,7±0,15	24,2±0,08*	26,5±0,13*
Сырой протеин, %	20,4±0,09	16,4±0,09	15,5±0,11
Сырая клетчатка, %	23,4±0,1	28,3±0,07	26,7±0,11
pH	3,8±0,04	4±0,04*	4,2±0,05**
Уксусная кислота, %	1,2±0,01	1,9±0,01	1,6±0,01
Масляная кислота, %	0	0	0
Молочная кислота, %	8,9±0,05	8,3±0,05***	8,8±0,06
Обменная энергия, МДж	11,2±0,08	10,3±0,05	9,6±0,04

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с вариантом с «Биотроф<sup>®</sup> 2+»; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$ .

Готовый корм, заготовленный с биоконсервантом «Биотроф<sup>®</sup>2+», содержал сырого протеина на 24,4% больше, чем корм, заготовленный с «Best-Sil dry», и на 31,6% больше по сравнению с силосом, заготовленным с «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE». Нужно отметить, что и содержание обменной энергии было выше у силоса, заготовленного с препаратом «Биотроф<sup>®</sup>2+». Силосная масса с препаратом «Биотроф<sup>®</sup>2+» отличалась наибольшей скоростью подкисления. На вторые сутки ферментации pH силоса составлял 3,8. Молочнокислые бактерии быстро сбрасывали сахар в молочную кислоту, в результате снижалась интенсивность протеолитических процессов, что обусловило повышенное содержание сырого протеина. Полученные позитивные результаты связаны с тем,

что форма содержания бактерий в препарате может влиять на их выживаемость и скорость развития.

### **3.7.3 Оценка продуктивности дойных коров и оценка экономической эффективности при скармливании силосов, заложенных с различными биоконсервантами**

Молочная продуктивность и химический состав молока являются критериями, позволяющими рассчитать эффективность влияния того или иного препарата (Patel M. et al. 2017, Zeng V. et. al., 2018).

Поэтому нами была проведена оценка продуктивности дойных коров. По данным таблицы 32 видно, что скармливание дойным коровам силоса, заложенного с закваской «Биотроф<sup>®</sup>2+», приводило к увеличению молочной продуктивности по сравнению с другими вариантами.

Среднесуточный удой молока 4% жирности у коров, которым скармливали силос, заготовленный с закваской «Биотроф<sup>®</sup>2+», был на 5,1% выше в сравнении с удоем коров, которым скармливали силос, заготовленный с закваской «Best-Sil dry», и на 8,4% — заготовленный с препаратом «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE». Наблюдалось повышенное содержание молочного жира на 5,0 и 8,5% соответственно.

Использование в рационах лактирующих коров силоса, заготовленного с закваской «Биотроф<sup>®</sup> 2+», экономически эффективно. Выручка от применения жидкого биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup> 2+» получилась выше по сравнению с использованием сухого препарата «Best-Sil dry» и сухого препарата «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE» на 2,3 и 5,6 % соответственно.

Таблица 32 - Продуктивность дойных коров при скармливаниях силоса, заготовленного с различными биопрепаратами (в среднем на 1 гол., n=10)

Показатель	«Биотроф <sup>®</sup> 2+»	«Best-Sil dry»	«Силос Feedtech <sup>®</sup> M20XCE»
Среднесуточный удой, кг	26,6±0,28	26±0,36	25,21±0,11***
Валовый удой (за учетный период), кг	798	780	756
Среднесуточный удой молока 4% жирности	24,6±0,18	23,4±0,20	22,7±0,23
Базовая реализационная цена, руб.	29,26	29,26	29,26
Жир, %	3,7±0,04	3,6±0,06*	3,6±0,03**
Белок, %	3,1±0,02	3,2±0,02	3,2±0,01***
Молочный жир, кг	29,5	28,1	27,2
Молочный белок, кг	29,7	24,9	24,1
Выручка (2019), руб.	23349,5	22822,8	22120,5
Прибыль, руб.	10660,0	10175,2	9519,2
Рентабельность, % (Прибыль, руб/Выручка, руб*100%)	45,7	44,6	43,0
Рентабельность по отношению к варианту с «Биотроф <sup>®</sup> 2+», %	–	- (2,40)	- (6,1)

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с вариантом с «Биотроф<sup>®</sup> 2+»; разность достоверна при \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$ .

Прибыль, полученная от реализации молока в группе, которой скармливали силос с закваской «Биотроф<sup>®</sup> 2+», оказалась выше, чем у групп, которым скармливали силос с заквасками «Best-Sil dry» и «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE» соответственно на 4,8 и 12%. Применение закваски «Биотроф<sup>®</sup>2+» способствовало увеличению рентабельности в группе, которой скармливали силос с этой закваской, по сравнению с другими группами, которым скармливали силос с заквасками ««Best-Sil dry» и ««Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE», на 2,4 и 6,1% соответственно.

Экономическая эффективность биоконсервантов значительно зависит от их стоимости (Михалев В.В., 2013). Затраты различных видов биоконсервантов («Биотроф<sup>®</sup> 2+», «Best-Sil dry» и «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE») для заготовки 1

тонны силоса существенно различаются в денежном выражении (12,7 , 55 и 120 руб. соответственно) (таблица 33).

Затраты на приобретение и использование биоконсерванта «Биотроф® 2+» из расчета на суточное потребление силоса составило 0,44 руб., «Best-Sil dry» – 1,93 руб., «Силос Feedtech® M20XCE» – 4,2 руб. В качестве контроля был использован вариант силоса с консервантом «Силос Feedtech® M20XCE». Дополнительный доход на один рубль, затраченный с применением биоконсерванта «Best-Sil dry», составил 12,01 руб., с применением «Биотроф® 2+» – 91,5 руб.

Таблица 33 – Экономическая эффективность разных видов консервантов

Показатель	Ед. изм.	Силос		
		«Биотроф® 2+»	«Best-Sil dry»	«Силос Feedtech® M20XCE»
Стоимость биоконсерванта:				
- на тонну силоса	руб.	12,7	55	120
- на суточную потребность (35 кг)	руб.	0,44	1,93	4,2
Повышение среднесуточного удоя	кг	1,39	0,79	–
Реализационная цена 1 кг молока	руб.	29,26	29,26	29,26
Выручка от реализации доп. надоя	руб.	40,67	23,12	–
Дополнительный доход на 1 рубль*	руб.	91,50	12,01	–

Примечание: \* - отношение выручки от реализации доп. надоя к суточной потребности

Таким образом, лучшие экономические показатели были отмечены в группе, которой скармливали силос, заготовленный с биоконсервантом «Биотроф® 2+».



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главной задачей производителей сельскохозяйственной продукции на сегодняшний день остается получение безопасной и качественной продукции для обеспечения продовольственной безопасности страны и осуществления импортозамещения основных продуктов питания. От обеспечения животных полноценными и высококачественными кормами зависит молочное и мясное скотоводство в России. Для укрепления кормовой базы необходимо повышать качество таких основных видов кормов, как силос и сенаж. Эффективным, удобным и дешевым способом повышения сохранности питательных веществ объемистых кормов является применение биоконсервантов, в основе которых – различные комбинации молочнокислых бактерий. Химические консерванты дорогие и обладают коррозионной активностью, их применение отрицательно воздействует на состояние окружающей среды. В отличие от химических консервантов биоконсерванты безопаснее, экологичнее, а главное – дешевле.

Результаты проведенных нами исследований говорят о том, что применение биоконсервантов способствует сохранности питательных веществ консервируемых кормов, увеличению молочной продуктивности коров и повышению качества молока.

В результате проведенных исследований был разработан препарат для сохранения качества и питательных свойств объемистых кормов при консервировании кукурузы, силосовании, сенажировании и силажировании трав «Биотроф®-АС», разработан пакет нормативно-технической документации на препарат, выпущено 7 тонн опытно-производственных партий препарата.

На основании проведенных экспериментальных исследований влияния биоконсервантов на питательную ценность силосов и сенажей получены следующие основные результаты:

1. В заквасках для силосования на основе молочнокислых бактерий в жидкой форме бактерии находятся в активной фазе развития. Использование

препарата в виде жидкой закваски приводит к быстрому подкислению зеленой массы и подавлению гнилостной микрофлоры в первые сутки силосования, что, в свою очередь, приводит к получению качественного силоса.

2. Внесение «Биотроф<sup>®</sup>2+» увеличивает количество лактобактерий в силосе до 43,2%; биоконсервант «Биотроф<sup>®</sup>2+» сдерживает развитие клостридий и способствует сохранности протеина.

3. Внесение закваски «Биотроф<sup>®</sup> 2+» в зеленую массу усиливает синтез силосными молочнокислыми бактериями L-лактата (в 851 раз).

4. Применение «Биотроф<sup>®</sup>-АС» способствует быстрому и правильному подкислению силосуемой массы: доля силоса, достигнувшего уровня  $pH < 4,2$ , составила 28,6%, достигнувшего уровня  $pH$  от 4,2 до 4,4 — 71,4% при том, что критическое значение  $pH=4,6$ .

5. Использование «Биотроф<sup>®</sup> 2+» при приготовлении силоса из смеси многолетних злаковых и бобовых культур приводит к оптимизации процессов ферментации и сокращению потерь питательных веществ. Готовый корм, заготовленный с биоконсервантом «Биотроф<sup>®</sup> 2+», содержал сырого протеина на 24,4% больше, чем корм, заготовленный с закваской «Best-Sil dry», и на 31,6% больше по сравнению с препаратом «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE».

6. Среднесуточный удой молока 4% жирности у коров, которым скармливали силос, заготовленный с закваской «Биотроф<sup>®</sup> 2+», был на 5,1% выше в сравнении с удоем коров, которым скармливали силос, заготовленный с сухой закваской «Best-Sil dry», и на 8,4% — заготовленный с сухим препаратом «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE».

7. Использование в рационах лактирующих коров силоса, заготовленного с закваской «Биотроф<sup>®</sup> 2+», экономически эффективно. Выручка от применения жидкого биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup> 2+» получилась выше по сравнению с использованием сухого препарата «Best-Sil dry» и сухого препарата «Силос Feedtech<sup>®</sup> M20XCE» на 2,3 и 5,6 % соответственно.

## ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАБОТЫ

При консервировании многолетних злаковых и бобовых трав для быстрого и контролируемого процесса силосования, а также сенажирования и силажирования, уменьшения потерь питательных веществ рекомендуется использование заквасок:

- «Биотроф<sup>®</sup> 2+» необходимо вносить в силосное сооружение из расчета 1 л закваски на 30 тонн зеленой массы, для чего 1 л препарата необходимо развести в 60 л воды и использовать 2 л рабочего раствора на 1 тонну зеленой массы. Рабочий раствор необходимо готовить на предполагаемый суточный объем закладки и использовать в течение суток. Бактериальную взвесь в силосуемую массу необходимо вносить с помощью вакуумного насоса и распыляющей насадки. Для внесения закваски можно также использовать дозирующее устройство, установленное на комбайн-подборщике, что позволит получить быстрое равномерное распределение препарата на силосуемой массе.

- «Биотроф<sup>®</sup>-АС» необходимо вносить при загрузке зеленой массы в силосное сооружение из расчета 1 л на 50 т зеленой массы, для чего 1 л препарата разводят в 50-150 л воды и расходуют на 1 т зеленой массы 1-3 л рабочего раствора. Рабочий раствор необходимо готовить на предполагаемый суточный объем закладки и использовать в течение суток.

**Перспективы дальнейшей разработки темы:** необходимо продолжить исследования по изучению влияния биоконсерванта «Биотроф<sup>®</sup>-АС» на сохранность питательных веществ консервированных кормов и аэробную стабильность кормов при вскрытии с целью понимания механизма действия бактерий, входящих в состав биоконсерванта.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

**aНДК** – фракция корма, остающаяся после обработки нейтральным промывочным раствором (нейтрально-детергентная клетчатка);

**ДНК** - дезоксирибонуклеиновая кислота;

**ИФА** – иммуноферментный анализ;

**КДК** – кислотнo-детергентная клетчатка;

**КДНСП** – нерастворимая фракция протеина;

**КОЕ** - колониеобразующая единица;

**КРС** – крупный рогатый скот;

**НДК** – нейтрально-детергентная клетчатка;

**нНДК (240ч)** - неперевариваемая НДК за 240 часов;

**ОЭ** – обменная энергия;

**ПДК** – предельно-допустимая концентрация;

**ПЦР** – полимеразная цепная реакция;

**рРНК** – рибонуклеиновая кислота;

**СВ** – сухое вещество;

**СЖ**- сырой жир;

**СЗ** – сырая зола;

**СК** – сырая клетчатка;

**СП**- сырой протеин;

**СПК** – сельскохозяйственный производственный кооператив;

**BLGG** - Еврофинс Агро Тестинг Вагенингени – лаборатория;

**NGS**-секвенирование – секвенирование следующего поколения (next generation sequencing);

**NIRS** - спектроскопия ближнего инфракрасного излучения (Near-Infrared Reflectance Spectroscopy);

**T-RFLP**-анализ — полиморфизм длин терминальных рестрикционных фрагментов (Terminal restriction fragment length polymorphism);

**TTNDFD** - полная переваримость НДК (total-tract NDF digestibility).

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Анализ кормов и ветеринарная диагностика: [сайт]. – 2023. -URL: <https://lab.yarvet.ru/> (дата обращения 10.05.2023). – Текст: электронный.
2. Анисимов, А.А. Разработка технологии силосования высокобелковых многолетних бобовых трав с использованием полиферментного препарата Феркон: автореф. дис. канд. с.-х. наук.: 06.02.02 / Анатолий Анатолиевич Анисимов - М., 2007. - 17 с.
3. Ахламов, Ю.Д. Современные способы хранения кормов / Ю.Д. Ахламов, А.В. Шевцов // Кормопроизводство. – 2012. -№6. – С.39–41.
4. Березовский, А. А. Технологические основы производства силоса из провяленных трав // Производство и использование силоса. М.: Колос, 1970. - С. 70-77.
5. Биконя, С. Н. Влияние микотоксинов кормов на микробиом рубца жвачных / С. Н. Биконя, Е. А. Ёылдырым // Генетика, селекция и биотехнология животных: на пути к совершенству: Материалы научно-практической конференции с международным участием, Пушкин, 13–15 октября 2020 года. – Пушкин: Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных РАСХН, 2020. – С. 49-51.
6. Биоконсервант-рекордсмен Биотроф 2+ / И. Маркман, Г. Лаптев, Е. Ёылдырым [и др.] // Животноводство России. – 2019. – № 4. – С. 30-32.
7. Биологические консерванты для заготовки объемистых кормов / А. Ю. Марченко, Н. В. Быченко, Н. Н. Забашта, Е. Н. Головки // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 101-105. – DOI 10.34617/gny1-8z25.
8. Бондарев, В.А. Перспективные направления исследований по разработке эффективных технологий приготовления высококачественных объемистых

- кормов / В.А. Бондарев, В.П. Клименко // Адаптивное кормопроизводство. - 2010. - №1. - С. 35-42.
9. Бондарев, В.А., Косолапов, В.М., Клименко, В.П., Кричевский, А.Н. Приготовление силоса и сенажа с применением отечественных биологических препаратов. М.: ФГБНУ ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса, 2016. - 212 с.
10. Брылина, В. Е. Борьба с зеараленоном в кормах для племенной птицы с использованием элиминатора микотоксинов Элитокс® / В. Е. Брылина, М. А. Брылина // Птицеводство. – 2020. – № 5-6. – С. 25-30. – DOI 10.33845/0033-3239-2020-69-5-6-25-30.
11. Буряко, И.А. Изменение жизнеспособности лактобацилл в процессе хранения биопрепарата Силактим / И.А. Буряко, Л.И. Стефанович, Е.П. Полещук, С.И. Дубатовка // Международ. конф. «Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия» Сб. тез. – Минск, 2000. – С.32–33.
12. Буряков, Н.П. Эффективность использования силоса, приготовленного с применением биоконсервантов / Н.П. Буряков, М.М. Миронов // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2018. - №4. – С.38-53.
13. Быкова, М. Ю. Содержание структурных углеводов в кормах Татарстана и оптимизация их в рационах молодняка крупного рогатого скота / М. Ю. Быкова, Ф. С. Гибадуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – Т. 202. – С. 50-55.
14. Быстрый старт - залог успешного силосования / Г. Лаптев, Н. Новикова, С. Биконя, Т. Грудинина // Животноводство России. – 2016. – № 4. – С. 65.
15. Варфоломеев, С.Д., Гуревич, К.Г. Биокинетика: Практический курс. - М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999. - 720 с.
16. Васильева, Е. Химические консерванты – будущее в силосовании / Е. Васильева // Эффективное животноводство. – 2021. - №3(169). – С. 39-41.

17. Владимиров, В.Б. Стратегия кормопроизводства России / В.Б. Владимиров, В.А. Щеглов // Животноводство России. – 2001. -№12. – С.8–11.
18. Влияние комбинации гомоферментативных и гетероферментативных молочнокислых бактерий на качество силоса люцерны / Р. Р. Мусин, А. М. Тремасова, Е. В. Скворцов [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2022. – № 1(207). – С. 89-94. – DOI 10.53083/1996-4277-2022-207-1-89-94.
19. Волкова, Г. Использование пробиотических бактерий в кормопроизводстве / Г. Волкова, Е. Куксова, Е. Серба // Комбикорма. – 2019. – № 6. – С. 55-56. – DOI 10.25741/2413-287X-2019-06-3-074.
20. Ганущенко, О. Ф. Консерванты силоса. Сухие или жидкие? / О. Ф. Ганущенко, Д. С. Давидюк, Я. Л. Рыжик // ТЖ. – 2009. – № 5–6 (16). – С. 3.
21. Ганущенко, О. Клетчатка в рационах жвачных / О. Ганущенко // Животноводство России. – 2019. – № 10. – С. 37-43. – DOI 10.25701/ZZR.2019.72.82.010.
22. Глазов, А.Ф. Качество сенажа из люцерны и силоса кукурузного, приготовленных с использованием различных биоконсервантов / Глазов А.Ф., Головки Е.Н., Забашта Н.Н., Кузнецова Т.К., Полежаева О.А., Москаленко Е.А. // Сб. науч. тр. 5-й междунар. конф. «Научные основы повышения продуктивности с.-х. животных» / СКНИИЖ. - Краснодар. – 2012. - Ч. 2. - С. 77-79.
23. Грачева, И. В. Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред / И. В. Грачева, А. В. Осин // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 3. – С. 5-12.
24. Гурдова, Б. Ю. Бактериальная микрофлора при силосовании / Б. Ю. Гурдова // Проблемы современных интеграционных процессов и пути их решения: сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции, Тюмень, 04 декабря 2021 года. – Стерлитамак: Общество с ограниченной ответственностью "Агентство международных исследований", 2021а. – С. 9-13.

25. Гурдова, Б. Ю. Бактериальное уксуснокислое брожение / Б. Ю. Гурдова, А.З. Мухитов // Проблемы современных интеграционных процессов и пути их решения: сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции, Тюмень, 04 декабря 2021 года. – Стерлитамак: Общество с ограниченной ответственностью "Агентство международных исследований", 2021б. – С. 9-13.
26. Диаз, Д. Микотоксины и микотоксикозы / Д. Диаз. // Москва: Печатный город. - 2006. - 382 с.
27. Динамика накопления микотоксинов в силосе на разных этапах хранения / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Л. А. Ильина [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – Т. 49. – № 6. – С. 123-130. – DOI 10.15389/agrobiology.2014.6.123rus.
28. Дорофеев, Р. В. Бактериальная закваска для биоконсервирования кормов / Р. В. Дорофеев, Е. Ф. Отт // Аграрная наука - сельскому хозяйству: Сборник материалов XVII Международной научно-практической конференции. В 2-х книгах, Барнаул, 09–10 февраля 2022 года. Том Книга 2. – Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2022. – С. 114-116.
29. Дуборезов, В.М. Пути решения белковой проблемы в молочном животноводстве/ В.М. Дуборезов, И.О. Кирнос, Н.И. Васильев // Молочная промышленность. - 2011. - №3. - С. 70-71.
30. Евтисова, С. Х. Консервирование с применением молочнокислых заквасок / С. Х. Евтисова // Кормопроизводство. – 1998. – № 7. – С.28-30.
31. Ерохина, А. В. Оценка процесса брожения при силосовании кукурузы с применением биоконсервантов / А. В. Ерохина, И. А. Сазонова, Т. Н. Черных // Орошаемое земледелие. – 2021. – № 3. – С. 35-37. – DOI 10.35809/2618-8279-2021-3-6.
32. Жуков, В.П., Кулик, М.Ф., Спирин, А.В. Сравнительная оценка технологий заготовки силосованных кормов в хранилищах разного типа / В.П. Жуков, М.Ф. Кулик, А.В. Спирин // Актуальные проблемы заготовки, хранения и рационального использования кормов : материалы Международной научно-



- практическая конференция, посвященной 100-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора С.Я. Зафрена, Москва, 19–20 августа 2009 года / Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт кормов имени В.Р. Вильямса Российской академии сельскохозяйственных наук. – Москва, 2009. – С. 124–130.
33. Закваска Промилк обеспечит качество силоса и зерносенажа / Г. Лаптев, Е. Ёылдырым, Л. Ильина [и др.] // Животноводство России. – 2023б. – № 4. – С. 50-54. – DOI 10.25701/ZZR.2023.04.04.007.
34. Закваски: сухие или живые? / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Е. А. Ёылдырым [и др.] // Сельскохозяйственные вести. – 2017. – № 1(108). – С. 12-14.
35. Зафрен, С.Я. Значение антибактериальных свойств сырья при силосовании кормов / С.Я. Зафрен // Микробиология кормов. – Алма-Ата, 1956. – С. 38-50.
36. Зафрен, С.Я. Технология кормов / С.Я. Зафрен. - М., Колос, 1977. - 340 с.
37. Зиновенко, А. Л. Использование гетероферментативных молочнокислых бактерий при силосовании злаково-бобовых трав / А. Л. Зиновенко, Е. П. Ходаренок, Л. М. Медведько, А. А. Курепин, Е. Н. Бирюк. - Текст: непосредственный // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. - 2019. - № 22-1. - С. 170-177.
38. Зубрилин, А.А. Консервирование зелёных кормов. М.: Сельхозгиз, 1938. 200 с.
39. Зубрилин, А.А. Новое в силосовании / А.А. Зубрилин // Наука сельскохозяйственному животноводству. - М., 1963. - С. 55-61.
40. Иванова, Е. П. Фракционный состав клетчатки в оценке качества современных кормов / Е. П. Иванова // Аграрный вестник Приморья. – 2020. – № 3(19). – С. 17-21.
41. Изучение распространения микотоксинов в кормах собственной заготовки / Е. А. Ёылдырым, Л. А. Ильина, В. А. Филиппова [и др.] // Сборник научных

- трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 181-185.
42. Изучение региональных штаммов лактобацилл и введение их в состав бактериальной закваски для биоконсервирования кормов / Е. Ф. Отт, Т. Н. Орлова, И. А. Функ, Р. В. Дорофеев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2020. – № 6(188). – С. 132-137.
43. Иркитова, А. Н. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий / А. Н. Иркитова, Я. Р. Каган, Г. Г. Соколова // Известия Алтайского государственного университета. – 2012. – № 3-1(75). – С. 41-44.
44. Использование силоса, заготовленного с консервантом "Best-Sil", в рационах крупного рогатого скота / С. В. Чехранова, А. К. Карапетян, В. В. Ионов, С. Н. Куприянов // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. – 2021. – № 4(64). – С. 215-223. – DOI 10.32786/2071-9485-2021-04-23.
45. Исследование микрофлоры травяных кормов как фактора влияния на молочную продуктивность крупного рогатого скота / Г.Ю. Лаптев, Л.А. Ильина, В.А. Филиппова [и др.] // Современные ресурсосберегающие технологии производства молока: от теории к практике: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Великий Новгород, 07-08 ноября 2018 года. – Великий Новгород: Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого, 2018. - С.52-56.
46. Ёылдырым, Е.А., Динамика микробиоценоза в процессе силосования с использованием методов t-rflp и количественной ПЦР / Е.А. Ёылдырым, Л.А. Ильина // Аграрный вестник Верхневолжья. - 2017. - № 4 (21). - С. 65-71.
47. Ёылдырым, Е. А. Изучение истинной сорбционной емкости сорбента микотоксинов заслон / Е. А. Ёылдырым, Л. А. Ильина // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2018. – № 1(50). – С. 122-126.

48. Казанцев, А. А. Применение консервантов в технологических процессах силосования люцерны различной влажности / А. А. Казанцев // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2011. – № 4. – С. 57-59.
49. Как достоверно определить энергетическую питательность корма? / В.В. Богомолов, И.И. Малинин // Сельскохозяйственные вести. – 2009. - №3.
50. Калашников, А.П. Воспроизводительная способность и состояние рубцового метаболизма коров при разной структуре рационов/А.П. Калашников и др.//Доклады ВАСХНИЛ. -1984. -№ 11. -С. 29-30.
51. Карамеева, А. С. Влияние биоконсерванта "Силостан" на качество сенажа из козлятника восточного и сыропригодность молока коров / А. С. Карамеева, Н. В. Соболева, С. В. Карамеев // Молочное и мясное скотоводство. – 2019. – № 6. – С. 51-56.
52. Кастильо, М. Качество кормов: Концепции и практика / М. Кастильо // Вестник Международного института питания растений. – 2018. – № 2. – С. 2-5.
53. Кислякова, Е. М. Влияние силоса, приготовленного с биологическими консервантами, на продуктивность коров / Е. М. Кислякова, Г. А. Хохряков // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2021. – № 5(190). – С. 28-40. – DOI 10.33920/sel-05-2105-04.
54. Клименко, В.П. Научное обоснование и разработка эффективных способов повышения энергетической и протеиновой питательности силоса и сенажа из трав: Автореф. дис.канд. с.-х. наук: 06.02.08 / Владимир Павлович Клименко. - Дубровицы, 2012. - 36 с.
55. Кононенко, Г.П., Буркин А.А. О контаминации микотоксинами сенажа и силоса в животноводческих хозяйствах // Сельскохозяйственная биология. – 2014. - №6. – С.116-122.
56. Консервант для регионов «рискованного силосования» / Е.А. Ёылдырым, Г.Ю. Лаптев, Д.Г. Селиванов [и др.] // Сельскохозяйственные вести. – 2021. – № 2(125). – С. 58-60.

57. Косинцев, В. В поисках эффективности силосных консервантов - опыт ООО "ЭкоНива-АПК Холдинг" / В. Косинцев, В. Молодкин // Эффективное животноводство. – 2018. – № 4(143). – С. 52-54.
58. Косолапов, В. М. Влияние подвяливания злаковых трав на поедаемость, переваримость и питательность / В. М. Косолапов. – Киров: Кировский центр научно-технической информации, 1992. – 4 с.
59. Косолапов, В.М. Использование биоконсервантов при заготовке кормов с торфяных почв / В.М. Косолапов, В.Г. Косолапова // Региональные и муниципальные проблемы природопользования. Сборник трудов конференции. - Кирово-Чепецк: Кирово-Чепецкая типография. - 1998. - С. 152-153.
60. Косолапов, В.М. Повышение качества объемистых кормов / В.М. Косолапов, В.А. Бондарев, В.П. Клименко // Доклады РАСХН. – 2008. -№ 5. – С.20–23.
61. Косолапов, В.М. Эффективность силосования бобовых с препаратом Феркон / В.М. Косолапов, В.П. Клименко // Молочное и мясное скотоводство. – 2008. - №7. - С. 19-21.
62. Кузнецов, Н. Н. Исследование процесса удаления влаги при приготовлении кормов из трав / Н. Н. Кузнецов, А. М. Захаров, А. В. Зыков // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. – 2019. – № 3(55). – С. 380-388. – DOI 10.32786/2071-9485-2019-03-47.
63. Курепин, А. А. Использование современных методов оценки качества силоса кукурузного с учётом содержания нейтрально- и кислотно-детергентной клетчатки / А. А. Курепин // Зоотехническая наука Беларуси. – 2020. – Т. 55. – № 2. – С. 21-29.
64. Кучин, Н.Н. Технологические особенности силосования многолетних бобовых трав / Н.Н. Кучин, А.П. Мансуров // Кормопроизводство. - 2017. - № 7. - С. 33-37.

65. Кучин, Н. Н. Биопрепараты при силосовании клевера лугового / Н. Н. Кучин, А. П. Мансуров, В. А. Жирнов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 4(44). – С. 165-171. – DOI 10.18286/1816-4501-2018-4-165-171.
66. Лаптев, Г.Ю. Микроорганизмы в силосе. // - Агрорынок. -2006а. -№8.
67. Лаптев, Г.Ю. Потери при силосовании кормов в основном устранимы / Г.Ю. Лаптев // Аграрный эксперт. – 2006б. – № 5. – С. 44-46.
68. Лаптев, Г. Ю. Современные методы анализа микрофлоры силоса: новые итоги / Г. Ю. Лаптев, Е. А. Йылдырым, Л. А. Ильина // Многофункциональное адаптивное кормопроизводство / Под редакцией члена-корреспондента РАН В. М. Косолапова, Н. И. Георгиади, ФГБНУ «ВНИИ кормов им. В. Р. Вильямса». – Москва: Угрешская типография, 2015. – С. 241-256.
69. Лаптев, Г.Ю. Всегда ли соответствует заявленному качество силосных заквасок? / Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Л.А. Ильина [и др.]. – Ценовик. – 2016а. - №4. – С. 60-61.
70. Лаптев, Г. Что первично? / Г. Лаптев, М. Хоффман, Й. Винкельман // Новое сельское хозяйство. – 2017. – № 2. – С. 80-81.
71. Лаптев, Г. Стоит ли переплачивать за закваски? / Г. Лаптев, Е. Йылдырым, И. Маркман // Животноводство России. – 2022. – № 4. – С. 50-52.
72. Ли, С. С. Пути повышения качества заготовки силоса и сенажа / С. С. Ли, Е. Н. Пшеничникова, Е. А. Кроневальд // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 2(112). – С. 098-102.
73. Лютых, О. Особенности выбора консервантов при заготовке кормов для сельскохозяйственных животных / О. Лютых // Эффективное животноводство. – 2020. - №3 (160). – С.40-46.
74. Магомедов, М. Ш. Биотехнология продукции животноводства: Учебники и учебные пособие для студентов высших учебных заведений / М. Ш. Магомедов, Г. А. Симонов, В. С. Никульников. – Махачкала: ГУП "Типография ДНЦ РАН", 2011. – 504 с.

75. Мак-Дональд, П. Биохимия силоса. – М.: Агропромиздат, 1985. – С. 271.
76. Мамаев, А. А. Роль уксусной кислоты в устойчивости силоса из злаковых трав к неблагоприятной микрофлоре при доступе воздуха / А. А. Мамаев, Б. А. Осипян, В. В. Козлова // Адаптивное кормопроизводство. – 2019. – № 2. – С. 48-57. – DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2019-2-48-5.
77. Малинин, И. Биологические консерванты для кормов / И. Малинин // Животноводство России. – 2019. – № 3. – С. 50-52.
78. Марченко, А. Ю. Биоконсерванты - способ повышения качества сенажа из люцерны / А. Ю. Марченко, Н. Н. Забашта, Е. Н. Головки // Инновационные подходы в ветеринарной и зоотехнической науке и практике: Материалы международной научно-практической интернет-конференции, Ставрополь, 01–05 февраля 2016 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный аграрный университет, 2016. – С. 424-429.
79. Марченко, А. Ю. Биологические консерванты для заготовки объемистых кормов / А. Ю. Марченко, Н. В. Быченко, Н. Н. Забашта, Е. Н. Головки // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2020. – Т. 9. – № 2. – С. 101-105. – DOI 10.34617/gny1-8z25.
80. Матяев, В. И. Определение потребности дойных коров в сыром протеине и его фракциях / В. И. Матяев, И. С. Андин, Ю. Р. Базеева // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции : материалы IX Международной научно-практической конференции "Лапшинские чтения", Саранск, 18–19 апреля 2013 года / Редколлегия: Емельянов С.В. (отв. секретарь), Ивойлов А.В. , Кирдяев В.М.. Том Часть I. – Саранск: Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, 2013. – С. 129-130.
81. Матяев, В. И. Расщепление сырого протеина кормов рациона в рубце высокопродуктивных дойных коров / В. И. Матяев, И. С. Андин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 1(29). – С. 102-105.

82. Машталенко, С. С. Питательность силоса, полученного из разных гибридов кукурузы / С. С. Машталенко, О. Г. Шляхова // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 362-366. – DOI 10.48612/fkm7-rxuf-epn1.
83. Меджеев, З. Б. Сорбент микотоксинов "SaproSORB" в рационах молодняка крупного рогатого скота калмыцкой породы на откорме / З. Б. Меджеев, В. П. Ходыков // Наука и молодежь : Осеннее итоговое мероприятие программы УМНИК-2012, межрегиональная молодежная научно-техническая конференция, Элиста, 22–24 ноября 2012 года / Министерство образования и науки Российской Федерации; Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере; Калмыцкий государственный университет; Клуб "УМНИК" Республики Калмыкия. – Элиста: Калмыцкий государственный университет, 2012. – С. 18-19.
84. Микотоксины в силосе и стратегия борьбы с ними. Наставления / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Е. А. Ёылдырым [и др.]. – Санкт-Петербург: ООО "Биотроф", 2016. – 64 с.
85. Михалёв, В.В. Технологическое обоснование использования биоконсервантов и других инноваций при силосовании объёмистых кормов в условиях Приамурья: специальность 06.02.08 «Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Михалёв Владимир Васильевич. – Благовещенск, 2013. - 24 с.
86. Можно ли силосовать люцерну? / В. В. Солдатова, Е. А. Ёылдырым, Л. А. Ильина [и др.] // Сельскохозяйственные вести. – 2016. – № 1. – С. 48-51.
87. Определение физиологического состояния бактерий в биоконсервантах для силосования / С. Н. Биконя, Г. Ю. Лаптев, Е. А. Ёылдырым, Л. А. Ильина // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения: Сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург - Пушкин, 23–25 января 2020

- года. Том Часть 1. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2020. – С. 130-132.
- 88.Осипян, Б. А. Эффективность применения препаратов на основе гетероферментативных молочнокислых бактерий при силосовании / Б. А. Осипян, А. А. Мамаев // Охрана био-ноосферы. Нетрадиционное растениеводство. Эниология. Экология и здоровье : Материалы XXIII Международного симпозиума посвященного 450-летию великого ученого, космолога Галилео Галилея; 200-летию гения поэзии и свободы Т.Г. Шевченко, Алушта, 07–09 сентября 2014 года / Под редакцией: В.Л. Головина, З.Ш. Шамсутдинова, В.С. Шевелухи, В.М. Косолапова, В.Ф. Пивоварова, И.С. Дорогунцова, К.М. Сытника, В.Я. Шевчука. – Алушта: Издательство "Парабеллум" (ИП Аринин Д.А.), 2014.
- 89.Орлов, А.П. О возбудителях маслянокислого брожения в силосе / А.П. Орлов // Труды Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии. – 1936. - Т. 10. – С. 6-34.
90. Оценка качества кормов, заготовленных с биоконсервантом / С. Н. Биконя, Е. А. Бражник, Г. Ю. Лаптев [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2023. – № 1. – С. 27-30. – DOI 10.33943/MMS.2023.84.50.006.
91. Панов, А.А. Разработка и совершенствование технологий силосования зеленой массы кормовых культур с использованием химических и биологических препаратов: дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.02 / Панов Алексей Андреевич. – М., 1998. – 263 с.
- 92.Панов, А.А. Гарантия качества силоса – Биотал / А.А Панов // Животноводство России. – 2009. – №6. – С. 52-53.
- 93.Петр, Дж. С. Основы культивирования микроорганизмов и клеток (перевод с англ.). - М.: Издательство «Мир», 1978. - 331 с.
- 94.Победнов, Ю.А. Эффективность препаратов молочнокислых бактерий при силосовании трав / Ю.А. Победнов, Ф. Вайсбах, Г. Палов // Аграрная наука. – 1997а. -№4. – С.35–38.



95. Победнов, Ю.А. Новое в использовании молочнокислых бактерий при силосовании трав / Ю.А. Победнов, Ф. Вайсбах, Г. Палов // Кормопроизводство. – 1997б. -№8. – С.24–25.
96. Победнов, Ю.А. Основы и способы силосования трав / Ю.А. Победнов. – СПб.: ООО «Биотроф», 2010. – 192 с.
97. Победнов, Ю.А. Факторы и приемы, обуславливающие стабильность силоса из провяленных трав при хранении и выемке / Ю.А. Победнов // Адаптивное кормопроизводство. – 2011. -№2. – С.41–50.
98. Победнов, Ю. А. Биологические основы силосования и сенажирования трав (обзор) / Ю. А. Победнов, В. М. Косолапов // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – Т. 49. – № 2. – С. 31-41.
99. Победнов, Ю. А. Теоретические предпосылки и способы консервирования кукурузы и трав на основе регулирования микробиологических процессов: (методические указания) / Ю. А. Победнов. – Санкт-Петербург: Аргус, 2017. – 52 с.
100. Победнов, Ю.А. Биологические основы силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий (обзор) / Ю.А. Победнов, В.М. Косолапов // Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т. 53. - № 2. - С. 58-269.
101. Победнов, Ю. А. Динамика аммиака и масляной кислоты в зависимости от степени провяливания и способа силосования люцерны / Ю. А. Победнов, М. С. Иванова, А. А. Мамаев // Кормопроизводство. – 2019. – № 4. – С. 41-46.
102. Победнов, Ю. А. Исследование накопления продуктов ферментации в процессе сенажирования и силосования люцерны при спонтанном брожении и применении биоконсерванта / Ю. А. Победнов, А. А. Мамаев, М. С. Ширококоряд // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2019. – № 2. – С. 89-98. – DOI 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2019.2.89-98.

103. Победнов, Ю. А. Биологические особенности силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий / Ю. А. Победнов, А. А. Мамаев, М. С. Широкомяд // Кормопроизводство. – 2020. – № 3. – С. 43-48.
104. Победнов, Ю. А. Как получить качественный силос из люцерны? / Ю. А. Победнов // Эффективное животноводство. – 2021. – № 3(169). – С. 48-51.
105. Попов, В. В. Влияние провяливания, высокотемпературной сушки, гранулирования и брикетирования на питательность кормов, приготовленных из клевера красного / В. В. Попов, А. А. Макаров, А. И. Фицев // Кормопроизводство : Технология заготовки и использования кормов. Том Выпуск 22. – Москва: Подразделение оперативной полиграфии ВИК, 1980. – С. 69-77.
106. Попов, В. В. Переосмысление парадигмы оценки качества кормов / В. В. Попов // Адаптивное кормопроизводство. – 2020а. – № 1. – С. 79-90. – DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2020-1-79-90.
107. Попов, В. В. Прорывные новации в оценке качества и питательности кормов / В. В. Попов // Адаптивное кормопроизводство. – 2020б. – № 3. – С. 65-76. – DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2020-3-65-76.
108. Присутствие микотоксинов в сочных кормах - риск развития микотоксикозов для высокопродуктивных коров / Г. Ю. Лаптев, В. Х. Меликиди, Е. А. Бражник, А. В. Дубровин // *Advances in Medical Mycology*. – 2018. – Т. 19. – С. 317-321.
109. Проведение опытов по консервированию и хранению объемистых кормов: методические рекомендации / В. А. Бондарев, В. М. Косолапов, Ю. А. Победнов [и др.]. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Федеральный центр сельскохозяйственного консультирования и переподготовки кадров агропромышленного комплекса", 2008. – 67 с.
110. Разработка процессов создания нового востребованного продукта на примере закваски для силосования / С. Н. Биконя, О. В. Кочеткова, Г. Ю.

- Лаптев, Е. А. Бражник // Нива Поволжья. – 2022. – № 2(62). – С. 2002. – DOI 10.36461/NP.2022.62.2.009.
111. Разработка сухого биоконсерванта на основе гетероферментативных молочнокислых бактерий / Е. Н. Бирюк, Н. Н. Фурик, Е. П. Ходаренок, И. А. Сидерко // Вестник АПК Верхневолжья. – 2021. – № 4(56). – С. 63-66. – DOI 10.35694/YARCX.2021.56.4.011.
112. Распространенность основных микотоксинов в силосе / Е. А. Бражник, В. Х. Меликиди, Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова // Евразийское Научное Объединение. – 2018. – № 6-3(40). – С. 163-165.
113. Росляков, Ю. Ф. Целесообразность использования пропионовой кислоты для консервирования влажного зерна / Ю. Ф. Росляков, Т. Н. Прудникова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 1993. – № 5-6(216-217). – С. 17-19.
114. Сазонова, И. А. Применение биологических препаратов при силосовании: опыт и перспективы (обзор) / И. А. Сазонова, В. И. Пронина, О. И. Болотова // Зыкинские чтения: Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина, Саратов, 28 апреля 2022 года. – Саратов: Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2022. – С. 182-187.
115. Саранчина, Е. Ф. Экологические приемы заготовки объемистых кормов для сельскохозяйственных животных / Е. Ф. Саранчина // Наука в центральной России. – 2017. – № 3(27). – С. 28-35.
116. Селиванов, Д. Грамотный подход к силосованию / Д. Селиванов, В. Солдатова, Е. Ыылдырым // Животноводство России. – 2018. – № 4. – С. 40-42.
117. Сизова, Ю. В. Функционально-метаболическое значение углеводов в кормлении коров / Ю. В. Сизова // Вестник НГИЭИ. – 2013. – № 4(23). – С. 115-121.

118. Силосная закваска для профилактики ацидоза / Е. А. Ёылдырым, Л. А. Ильина, А. В. Дубровин [и др.] // Эффективное животноводство. – 2022. – № 2(177). – С. 12-15.
119. Силосование и сенажирование кормов: Рекомендации / Ю. А. Победнов, В. М. Косолапов, В. А. Бондарев [и др.]. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2012. – 22 с.
120. Симонов, Г. А. Советы фермеру молочного скотоводства / Г. А. Симонов, П. А. Алигазиева. – Махачкала: Наука ДНЦ, 2011. – 144 с.
121. Соляник, Т. В. Микробиология. Микробиология кормов животного и растительного происхождения: курс лекций / Т.В. Соляник, М.А. Гласкович. – Горки: БГСХА. - 2014. – 76 С.
122. Сорбенты с ферментами против микотоксинов / Е. Н. Ефременко, О. В. Маслова, Н. А. Степанов [и др.] // Биотехнология: взгляд в будущее, Ставрополь, 16 апреля 2020 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, 2020. – С. 150-153.
123. Сухая закваска: без потери активности/ Г. Ю. Лаптев, Е. А. Ёылдырым, И.Л. Маркман [и др.] // Сельскохозяйственные вести. – 2023а. – № 1. – С. 46-49.
124. Сычев, В. Г. Методические указания по оценке качества и питательности кормов: Методические указания / В. Г. Сычев, В. В. Лепешкин; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Центральный научно-исследовательский институт агрохимического обслуживания сельского хозяйства. – Москва: Центральный научно-исследовательский институт агрохимического обслуживания сельского хозяйства, 2002. – 76 с.
125. Сычевский, Н. П. Эффективность препарата "Сеносил" для консервирования силоса / Н. П. Сычевский, К. В. Копылова, С. Г. Даниленко // Зерновые продукты и комбикорма. – 2016. – Т. 3, № 63. – С. 16-21.

126. Таранов, М. Т. Сухие препараты для химического консервирования зеленых кормов // Химическое консервирование зеленых кормов. М., 1960. - С. 91-104.
127. Тарасова, Е. Ю. Изучение сорбционной активности нанотрубок галлуазита по отношению к зеараленону и охратоксину А / Е. Ю. Тарасова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2021. – Т. 7, № 1(25). – С. 64-70. – DOI 10.30914/2411-9687-2021-7-1-64-69.
128. Тебердиев, Д. М. Повышение энергонасыщенности пастбищного корма путем подвяливания перед стравливанием животными / Д. М. Тебердиев, В. М. Косолапов, А. П. Полубена // Современные проблемы и перспективы луговодства на пойменных лугах, польдерах и освоенных болотах: тезисы докладов международного семинара, Новгород, 02–04 июля 1996 года / Новгородская государственная сельскохозяйственная академия, Российская академия сельскохозяйственных наук (секция луговодства). – Новгород: Новгородская государственная сельскохозяйственная академия, 1996. – С. 27-28.
129. Термины, используемые в кормопроизводстве / У. Саха, Л. Сонон, Д. Хэнкок [и др.] // Животноводство России. – 2018. – № 7. – С. 62-64.
130. Технология заготовки безопасных и качественных объемистых кормов / Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Н.И. Новикова [и др.]. – Санкт-Петербург: ООО «БИОТРОФ», 2021.- 164 с. – ISBN 978-5-6042569-7-8.
131. Технология заготовки сенажа в рулонах с использованием биологических и химических консервантов / О. А. Маслова, М. С. Жужин, Н. Н. Кучин, В. А. Жирнов // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 4. – С. 130-136. – DOI 10.28983/asj.y2023i4pp130-136.
132. Тищенко, П. И. Преимущества и недостатки различных технологий заготовки силоса / П. И. Тищенко // Эффективное животноводство. – 2018. – № 4(143). – С. 27-29.

133. Требования к качеству кормов для молочных коров различной продуктивности / Г. А. Симонов, В. М. Кузнецов, В. С. Зотеев [и др.] // Эффективное животноводство. – 2019. – № 7(155). – С. 82-83.
134. Тяпугин, Е. А. Интенсификация кормопроизводства и улучшение качества кормов в условиях Северо-Западного региона России / Е. А. Тяпугин, Г. А. Симонов, В. С. Зотеев. – Вологда: Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, 2012. – 110 с.
135. Филатов, В. И. Энергетическая и протеиновая ценность суданской травы в зависимости от фазы вегетации / В. И. Филатов, Е. В. Филатова // Вестник КрасГАУ. – 2014. – № 1(88). – С. 129-131.
136. Фисинин, В. Микотоксины и антиоксиданты: непримиримая борьба. Охратоксин А / В. Фисинин, П. Сурай // Комбикорма. – 2012. – № 3. – С. 55-60.
137. Харин, С.А., Кураков, А.В. Характеристика физиологического состояния грибов по расписанию появления колоний на твердых средах // Микробиология. – 2014.- Том 83. №1.- С.83-89.
138. Хохрин, С.Н. Микробиологические основы консервирования зеленых кормов: учебное пособие / С.Н. Хохрин. -СПб.: Проспект Науки, 2013. – С. 192.
139. Хохряков, Г. А. Биологические консерванты при силосовании кормовых культур как фактор, обуславливающий молочную продуктивность коров / Г. А. Хохряков, Е. М. Кислякова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – № 5(79). – С. 226-229.
140. Шинкаревич, Е.Д. Эффективность применения сухих и жидких форм бактериальных силосных консервантов / Е.Д. Шинкаревич // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2016. - № S2. - С.44
141. Шурхно, Р. А. Свойства штаммов молочнокислых бактерий, используемых для ферментации высокобелковой растительной массы

- (обзор) / Р. А. Шурхно, А. С. Сироткин // Вестник Технологического университета. – 2015. – Т. 18. – № 10. – С. 227-232.
142. Эффективность биоконсерванта "Биотроф 2+" в условиях Северо-Запада России / Д. А. Ахматчин, С. Н. Биконя, В. В. Солдатова, Г. Ю. Лаптев // Кормопроизводство. – 2020. – № 8. – С. 38-42.
143. Якушев, А.В. Комплексный структурно - функциональный метод характеристики микробных популяций / А.В. Якушев // Почвоведение. - 2015. - №4. - С. 429- 446.
144. Якушева, Л. И. Динамика сырой клетчатки силоса, приготовленного с использованием биологических консервантов / Л. И. Якушева, А. Н. Ульянов // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2012. – Т. 2, № 1. – С. 229-230.
145. Aerobic Spoilage of Dried Meadow Clover Silage and Methods of its Minimization / Y. Pobednov, A. Mamaev, B. Osipyanyan [et al.] // Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East : Agricultural Innovation Systems, Volume 2, Ussuriysk, 21–22 июля 2021 года. Vol. 354. – Ussuriysk, 2022. – P. 580-589. – DOI 10.1007/978-3-030-91405-9\_64.
146. Boudergue, C., Burel, C., Dragacci, S., Favrot, M., Fremy, J., Massimi, C., Avantaggiato, G. Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety // EFSA Supporting Publications. – 2009. - 6(9). - doi: 10.2903/sp.efsa.2009.en-22.
147. Britt, D.C. Effects of organic acids and non-protein nitrogen on fungal growth, nutritive value, fermentation and re-fermentation of corn silage//Dissertation Abstr. Internation. - 1974.
148. Buxton, D.R., Muck, R., Joseph, H. Silage Science and Technology // Madison: American Society of Agronomy, Incorporated. – 2003. – P. 927.
149. Changes in the physiological status of agricultural animals and poultry under the influence of biologically active additives / S. I. Nikolaev, A. K.

- Karapetyan, O. A. Budtuev [et al.] // – 2019. – Vol. 7, No. Special Issue 1. – P. 100-105. – DOI 10.17582/journal.aavs/2019/7. s1.100.105.
150. Combs, D.K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages // Proceedings of the 2013 Cornell Nutrition Conference, Department of Animal Science. Cornell University, Ithaca, NY, 2013. — Pp. 113—125.
151. Done, D.L. Silage inoculants – a review of experimental work // Research and Development in Agriculture. - 1986. - V. 3. – P. 83–87.
152. Duniere, L. et al. Bacterial and fungal core microbiomes associated with small grain silages during ensiling and aerobic spoilage. BMC Microbiol. 2017. Mar 3; 17(1):50. doi: 10.1186/s112866-017-09447-0.
153. Evanovich, E., de Souza Mendonça Mattos, P. J., & Guerreiro, J. F. Comparative Genomic Analysis of *Lactobacillus plantarum*: An Overview. International Journal of Genomics. - 2019. – P. 1–11. - doi:10.1155/2019/4973214
154. Fabiszewska, A.U. Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview / A. U. Fabiszewska, K. J. Zielińska, B. Wróbel // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2019. - 3(5):76. doi.org/10.1007/s11274-019-2649-2.
155. Goeser, J.P. Heuer, C.R. Crump, P. Forage fermentation product measures are related to dry matter loss through meta-analisis / J.P. Goeser [et al.] // Professional Animal Scientist. - 2015. - №31. – P. 137-145.
156. Guo, X. S., Ke, W., Ding, W., Ding, L., Xu, D., Wang, W., Zhang P., Yang F. Profiling of metabolome and bacterial community dynamics in ensiled *Medicago sativa* inoculated without or with *Lactobacillus plantarum* or *Lactobacillus buchneri* // Scientific Reports. – 2018. - № 8:357. - P. 1-10. DOI:10.1038/s41598-017-18348-0.
157. Hao, W., Tian, P., Zheng, M., Wang, H., Xu, C. Characteristics of proteolytic microorganisms and their effects on proteolysis in total mixed ration silages of soybean curd residue // Asian-Australas J Anim Sci. – 2020.- Vol.33.- №1. – P. 100-110. doi:10.5713/ajas.18.0933.



158. Hatfield, R.D. et al. In Forages: The Science of Grassland Agriculture - 2007.- Vol. II.- 6th Ed.- pp. 687-707.
159. Hattori, T. Analysis of plate count data of bacteria in natural environments // J. Gen. Appl. Microbiol. - 1982.- V. 28. № 6.- P. 13–22.
160. Hernández, J., Benedito, J. L., Abuelo, A., & Castillo, C. Ruminant Acidosis in Feedlot: From Aetiology to Prevention // The Scientific World Journal. – 2014. - P. 1–8.- doi:10.1155/2014/702572
161. Heron, S, Edwards, R.A., Mcdonald, P. Changes in the nitrogenous components of gamma irradiated and inoculated ensiled ryegrass // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 1986. - №37. – P.979-985. doi:10.1002/jsfa.2740371005.
162. Hooker, K., Forwood, D.L., Caro, E. et al. Microbial characterization and fermentative characteristics of crop maize ensiled with unsalable vegetables. Sci Rep 9, 13183 (2019). doi:10.1038/s41598-019-49608-w.
163. Johnson, H.E., Merry, R.J., Davies, D.R., Kell, D.B. et al. Vacuum packing: A model system for laboratory-scale silage fermentations // Journal of Applied Microbiology. - 2005. - V. 98(1). - P. 106-113.
164. Kehler, W. Botulismus des Rindes / W. Kehler, H. Scholz // Übersichten zur tierernährung. – 1996. – 24. - P. 83-91.
165. Kung, Jr., L. A Review on Silage Additives and Enzymes. Department of Animal and Food Sciences University of Delaware Newark. - 2010.- DE 19717-1303.
166. Limanska, M., Merlich, A., Galkin, M., Vasylieva, N. [et al.]. Biofilm formation and genetic diversity of Lactobacillus plantarum strains originated from France and Ukraine // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2019. - № 8(6):1242. – P. 1326-1331.
167. Livak, K., Schmittgen, Thomas D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  // Methods. - 2001. – 25. – P.402-408.doi:10.1006/meth.2001.1262.

168. Lynch, J.P. Conservation characteristics of corn ears and stover ensiled with the addition of *Lactobacillus plantarum* MTD-1, *Lactobacillus plantarum* 30114, *Lactobacillus buchneri* 11A44 / J.P. Lynch, P. Okiely, S.M. Waters, E.M. Doyle // J. Dairy Sci. – 2012. – Vol.95. -N.4. – P.2070–2080.
169. McDonald, P., Henderson, A. R., Heron, S., Jo, E. The biochemistry of silage. Chalcombe publications, 1991.
170. Minervini, F., Dell'Aquila, M.E. Zearalenone and reproductive function in farm animals // International Journal of Molecular Sciences. 2008. № 9 (12). P. 2570–2584. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms9122570>.
171. Moore, J. E., Undersander, D. J. Relative forage quality: An alternative to relative feed value and quality index //Proceedings 13th annual Florida ruminant nutrition symposium. – 2002. – Vol. 32. – P. 16-29.
172. Moyosore, J.A., Poonooru, R.K., Cynthia, A.C. Mycotoxin toxicity and residue in animal products: Prevalence, consumer exposure and reduction strategies // Toxicon. 2020. № 177. P. 96–108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.01.007>.
173. Muck, R. E., Kung, Jr L. Effects of silage additives on ensiling //Silage: Field to feedbunk. Northeast Regional Agricultural Engineering Service (NRAES), Ithaca, New York, USA. – 1997.
174. Muck, R. Silage microbiology and its control through additives // Revista Brasileira de Zootecnia. – 2010. - V.39, P.183-191.
175. Muck, R. Recent advances in silage microbiology // Agricultural and Food Science. - 2013.- V.22.- P.3-15. DOI:10.23986/AFSCI.6718.
176. Ogunade, I. M., Martinez-Tuppia, C., Queiroz, O. C. M., Jiang, Y., Drouin, P., Wu, F., Adesogan, A. T. Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation / I. M. Ogunade, Y. Jiang, D. Vyas [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2018. – Vol. 101, No. 5. – P. 4034-4059. – DOI 10.3168/jds.2017-13788.
177. Orla-Jensen, S. The Lactic Acid Bacteria. Andr. Fred. Hort U. Sonh-Ver. – Kopenhagen. – 1919. – 98 pp.

178. Patel, M., Wredle, E., Spörndly, E., & Bertilsson, J. Whole lactation production responses in high-yielding dairy cows using high-quality grass/clover silage / M. Patel [et al.] // Journal of the Science of Food and Agriculture. - 2017. - Vol. 97. - P. 2883-2890. - doi.org/10.1002/jsfa.8119.
179. Rohweder, D. A., Barnes, R. F., & Jorgensen, N. (1978). Proposed Hay Grading Standards Based on Laboratory Analyses for Evaluating Quality. Journal of Animal Science, 47(3), 747–759. - doi:10.2527/jas1978.473747x.
180. Romero, J.J., Castillo, M., Burns, J.C., Davidson, S., Moriel, P. Forage Quality: Concepts and Practices / J.J.Romero [et al.] // NCSU Cooperative Extension Service. AG-792. – 2014. - P. 1- 6.
181. Ruschman, G., Graf, C. Lbl. Bact. II.-1932.-V.85.-P.436-469.
182. Siezen, R. J., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2011). Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer // Microbial Cell Factories. – 2011. - 10(Suppl 1). - S3. - doi:10.1186/1475-2859-10-s1-s3
183. Tao, L., Li M., Guo, X., Yang, F., Zhou, H. Effect of epiphytic microorganisms and exogenous lactic acid bacteria on the formation of non-protein nitrogen during the ensiling of alfalfa // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2012. - №11. – P.2181-2186. doi:10.3923/javaa.2012.2181.2186
184. Turuvekere Sadguruprasad, L., & Basavaraj, M. (2018). Statistical modelling for optimized lyophilization of *Lactobacillus acidophilus* strains for improved viability and stability using response surface methodology. AMB Express, 8(1), 129. doi: 10.1186/s13568-018-0659-3.
185. Zeng, B., Sun, J. J., Chen, T., Sun, B. L., He, Q., Chen, X. Y., Xi, Q. Y. Effects of *Moringa oleifera* silage on milk yield, nutrient digestibility and serum biochemical indexes of lactating dairy cows // B. Zeng [et al.] // Anim Physiol Anim Nutr. - 2018. - Vol. 102. - P. 75-81. -doi:10.1111/jpn.12660
186. Zimmer, E. Verwendung von Cramoxone zum Vorwelken bei der Silagebereitung Wurtshafseigene / E. Zimmer / Futter. — 1966. — No. 12. — P.3.

187. Zimmer, E. Changes in grain and chopped maize cobsilage under various methods of insiling / E. Zimmer, H. Honig, P. Daniel, F. Weise // *Wirtschaftseiene Futter.* - 1977. – V. 19. - № 3. – P. 204-221.
188. Van Soest, P. J. Discount factors for energy and protein in ruminant diets / P. J. Van Soest, J. Fabel, C. J. Sniffen // *Proceeding of the cornel university.* - 1979. - № 1. - P. 63-75.
189. Vu, V.H. Li, X., Wang, M., et al. Dynamics of fungal community during silage fermentation of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) produced in northern Vietnam. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2019 Jul;32(7):996-1006. doi: 10.5713/ajas.18.0708.
190. Watson, S., Nash, M. The conservation of grass and forage crops. // Oliver and Boyd, Edinburgh. UK. – 1960. – P.758.
191. Weissbach, F. Sonderdr aus dem Fachschullenbuch Tiererhahrung und allgemeine Futter ungslere / F. Weissbach // *Konservierung der Futter mittel.* – Berlin, 1968. - 176 p.
192. Whittenbury, R. A study of the genus *Leuconostoc* / R. Whittenbury // *Arch Mikrobiol.* – 1966. - V. 9. - P. 317–327.
193. Wieringa, G.W., Beck T. // *Das Wirtschafteigene Futter.* -1964. – V. 10. - S. 34-44.
194. Wilson, D.M., Abramson, D. Micotoxins // *Storage of cereal grains and their products.* – 1992. -P. 341-391.
195. Yitbarek, M. B., Tamir, B. Silage additives // *Open Journal of Applied Sciences.* – 2014. – T. 2014.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

Приложение 1. Биоконсерванты, использованные для исследований

Описание препарата	Бактериальные препараты				Ферментно-бактериальные препараты		
	1	2	3	4	5	6	7
Название	Биотроф <sup>®</sup> 2+	Биотроф <sup>®</sup> - АС	Биотроф <sup>®</sup>	Best-Sil dry (Бест-Сил Драй)	Силос Feedtech <sup>®</sup> M20XCE (Силос Фидтек M20XCE)	Биосиб <sup>®</sup> Комби	Биоконсервант AiBi <sup>®</sup> серии Lb 3.10F
Производитель	ООО «БИОТРОФ», Россия	ООО «БИОТРОФ», Россия	ООО «БИОТРОФ», Россия	"Biological Preparations T/A Agriprep", Великобритания	«Chr.Hansen A/S", Чешская Республика	ООО ПО «Сиббиофарм», Россия	ООО «Зеленые линии», Россия
Форма	жидкий	жидкий	жидкий	сухой	сухой	сухой	сухой
КОЕ в 1 мл (г)	1,0×10 <sup>9</sup>	5,0×10 <sup>8</sup>	1,0×10 <sup>8</sup>	1,1×10 <sup>11</sup>	4,0×10 <sup>10</sup>	3,0×10 <sup>10</sup>	1,0×10 <sup>10</sup>
Состав бактерий	L.plantarum E.faecium	L.plantarum L.buchneri	L.plantarum	L. buchneri P.pentosaceus	L. lactis E.faecium L.plantarum	L. lactis P. freudenreichii L.plantarum	L.plantarum P. shermanii L.buchneri L. diolivorans

## Продолжение Приложения 1

Описание препарата	Бактериальные препараты				Ферментно-бактериальные препараты		
	1	2	3	4	5	6	7
Ферменты	-	-	-	-	Ксиланаза ≥ 100000 ГХЦ/г	Ксиланаза ≥ 50000 ед/г Пектин-лиаза ≥ 30000 ед/г	Целлюлаза ≥1090 ед/г Амилаза ≥3630 ед/г Глюконаза ≥2420 ед/г Ксиланаза ≥2400 ед/г
Норма внесения на тонну зеленой массы	33 мл	20 мл	13,3 мл	1,0 г	5 г	5 г	0,5 г
КОЕ на 1 г зеленой массы	$3,3 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^3$

Приложение 2. Содержание микотоксинов (мг/кг сухого вещества) в кормах из ООО «Шекснинская заря»

Группа микотоксинов	Действие на организм животных	Ячмень		ПДК	Пшеница		ПДК	Силос		ПДК
		мг/кг	Отн. к ПДК		мг/кг	Отн. к ПДК		мг/кг	Отн. к ПДК	
<b>Афлатоксины</b>	Снижение молочной продуктивности, поражение печени, накопление жира в печени, почках, сердце, энцефалопатия, отеки	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,004</b>	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,004</b>	0,0075	> 1,87 раза	<b>0,004</b>
<b>Охратоксин А</b>	Тератогенное действие на эмбрионы, гастроэнтериты, поражение почек, печени, легких	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,005</b>	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,005</b>	0,013	> 2,6 раз	<b>0,005</b>
<b>Зеараленон</b>	Проблемы воспроизводства	0,15	> 1,5 раза	<b>0,1</b>	0,14.	> 1,4 раза	<b>0,1</b>	0,28	> 2,8 раза	<b>0,1</b>
<b>Т-2 токсин</b>	Гастроэнтериты, некроз кишечника, поражения ЖКТ вплоть до летального исхода животных и др.	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,06</b>	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,06</b>	* < п.д.о.	Не прев. ПДК	<b>0,06</b>
<b>ДОН</b>	Снижение удоев и жирности молока, снижение потребления корма	0,28	Не прев. ПДК	<b>1,0</b>	0,11	Не прев. ПДК	<b>1,0</b>	0,4	Не прев. ПДК	<b>1,0</b>

Примечание: \*- ниже предела достоверного определения