

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени  
В.Р. Вильямса»  
(ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»)

На правах рукописи

ШИРОКОРЯД МАРГАРИТА СЕРГЕЕВНА

**НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ  
СЕНАЖИРОВАНИЯ И СИЛОСОВАНИЯ ЛЮЦЕРНЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ  
ДОБАВКИ «БИОТРОФ»**

Специальность: 06.02.08 - Кормопроизводство, кормление  
сельскохозяйственных животных и технология кормов

ДИССЕРТАЦИЯ  
на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научные руководители:

|  |
|--|
| доктор сельскохозяйственных наук, профессор<br>Победнов Юрий Андреевич |
|--|

доктор сельскохозяйственных наук, профессор,  
академик РАН  
Косолапов Владимир Михайлович

Лобня, 2021 г.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|   |     |
|---|-----|
| Введение.....   | 3   |
| Глава 1. Обзор литературы.....  | 8   |
| Глава 2. Материалы и методы исследований.....   | 27  |
| Глава 3. Результаты исследований.....   | 33  |
| 3.1. Зависимость сбраживаемости люцерны от скорости ее провяливания .....   | 33  |
| 3.2. Биологические показатели сахара, аммиака и масляной кислоты при провяливании, сенажировании и силосовании люцерны.....           | 37  |
| 3.3. Эффективность сенажирования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф».....   | 50  |
| 3.4. Состав бактериального сообщества в сенаже из люцерны, провяленной до содержания сухого вещества 43,5% .....                      | 61  |
| 3.5. Эффективность силосования провяленной люцерны с препаратом молочнокислых бактерий «Битроф» .....                                 | 67  |
| 3.6. Результаты физиологических опытов по изучению эффективности провяленной массы с препаратом молочнокислых бактерий «Биотроф»..... | 81  |
| Глава 4. Производственная оценка препарата «Биотроф».....   | 86  |
| 4.1. Научно-хозяйственный опыт.....   | 89  |
| Глава 5. Экономическая эффективность применения препарата молочнокислых бактерий «Биотроф».....                                       | 92  |
| Глава 6. Заключение.....  | 95  |
| 6.1. Выводы.....  | 96  |
| 6.2. Предложение производству.....  | 98  |
| Список сокращений.....  | 99  |
| Список использованной литературы.....   | 100 |
| Приложение.....   | 115 |

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Одним из путей, ведущих к снижению объёма закупок дорогостоящих белковых концентратов, является прием увеличения посева бобовых многолетников, в частности люцерны. Люцерна – важная кормовая культура мире, которая имеет очень широкую приспособляемость к различным климатическим условиям [100]. К началу нашей работы имеются исследования, которые показывают, насколько трудным бывает получение дополнительного количества протеина, да и вообще заготовка качественных силосованных кормов из этой культуры. К настоящему времени все больше внимания в мировой сельскохозяйственной практике уделяется силосованию провяленной люцерны с препаратами молочнокислых бактерий [16, 69], что является наиболее дешёвым и экологически безопасным способом её консервирования. Между тем, многие вопросы, связанные с эффективностью силосования люцерны с применением кормовых добавок, в составе которых содержатся молочнокислые бактерии, до сих пор изучены недостаточно. Прежде всего, речь идёт о биологических особенностях люцерны, как сырья для силосования, изучение которых позволит научно обосновать оптимальные параметры её силосования с внесением препаратов молочнокислых бактерий. В изучении данного вопроса, в основном, и заключается актуальность настоящей работы.

**Степень разработанности темы.** На сегодняшний день в мировой сельскохозяйственной науке большое внимание уделяется изучению вопросов, связанных с изучением биологических особенностей люцерны, как сырья для силосования. Так, установлена возможность повышения сбраживаемости люцерны за счёт накопления яблочной и лимонной кислоты при её интенсивном провяливании на солнце в прокосах [57], изучены пределы рН, при которых обеспечивается сбраживаемость яблочной кислоты молочнокислыми бактериями [35], максимальная активность протеолитических ферментов и, как следствие, интенсивное течение протеолиза в силосуемой массе [103]. В работе отражено влияние содержания сухого вещества в силосуемой массе люцерны на

интенсивность протеолиза и степень дезаминирования образовавшихся при этом аминокислот до аммиака [102]. Результаты выполненных исследований позволили обосновать и сформулировать цели и задачи выбранных исследований.

**Цели и задачи исследований.** Целью наших исследований являлось изучить, научно обосновать, разработать и сравнить технологию сенажирования люцерны, и люцерны, силосуемой с кормовой добавкой «Биотроф». В задачи исследований входило:

1) Определить влияние молочнокислых бактерий, входящих в состав кормовой добавки «Биотроф» при силосовании люцерны с различным содержанием сухого вещества.

2) Установить качество сенажа, и силоса, приготовленного с применением кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф».

3) Определить состав микробного сообщества в сенаже из люцерны, хранившегося от 4 до 90 суток в лабораторных условиях.

4) Разработать параметры консервирования люцерны, провяленной на силос, с применением добавки «Биотроф», обеспечивающие аэробную стабильность полученного корма.

5) Дать зоотехническую и экономическую оценку способам приготовления сенажа из провяленной люцерны, и силоса, приготовленного с внесением кормовой добавки «Биотроф».

**Научная новизна исследований.** Научная новизна заключается в том, что, нами были определены режимы провяливания люцерны на солнце в прокосах, обеспечивающие повышение сбраживаемости силосуемой массы. Также, в лабораторных условиях проведен ряд опытов по силосованию и сенажированию люцерны с различным содержанием сухого вещества для того, чтобы выявить оптимальное значение влажности растений, при котором, под влиянием внесенной кормовой добавки молочнокислых бактерий, обеспечивается минимальное накопление аммиака, а также максимальная скорость и степень подкисления массы. Мы изучили механизмы накопления аммиака, сахара и масляной кислоты в люцерне с разным содержанием сухого вещества и способа консервирования. В

лаборатории молекулярно-генетических исследований ООО «Биотроф» был определен состав микроорганизмов в сенаже из люцерны. Доказано влияние кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» на увеличение продуктивного действия полученного корма.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основании анализа выполненных исследований научно обоснованы основные параметры силосования люцерны с доказательством целесообразности и эффективности применения для этой цели кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф». Введение в рацион откормочных овец силоса из провяленной люцерны, приготовленного с «Биотроф» позволило повысить среднесуточные приросты живой массы на 9%. При этом дополнительная прибыль от использования препарата составила 124,4 рубля в расчёте на одно животное.

**Методология и методы исследований.** В основе методологии выполненных исследований лежат научные положения, изложенные в трудах отечественных и зарубежных исследователей по данному вопросу. В ходе исследований применяли различные методы, как общепринятые, так и специальные, в том числе:

- Технологические – разработка и обоснование технологии силосования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф»;
- Лабораторные – получение предварительных данных о силосовании и сенажировании люцерны с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф»;
- Микробиологические – определение состава микробного сообщества на исходной провяленной массе люцерны и полученного из нее корма;
- Физиологические – проведение исследований, направленных на получение более точных сведений о влиянии способов подготовки, обработки, методов консервирования и продуктивного действия корма на животных;
- Производственные - проверка полученных результатов лабораторных исследований и физиологических, итоговая цель наших опытов, направленная на получение данных, характеризующих надежность процесса консервирования;

- Экономические – расчет экономической эффективности силоса из люцерны с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- режимы провяливания люцерны, обеспечивающие улучшение качественных характеристик корма;

- параметры силосования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф», обеспечивающие стабильность корма при хранении и выемке из хранилищ;

- сравнительные особенности биохимических и микробиологических процессов, протекающих при силосовании провяленной люцерны с добавкой молочнокислых бактерий и при ее сенажировании;

- влияние добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» на продуктивное действие полученного люцернового силоса, и вследствие этого, повышение экономической эффективности откорма овец.

**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  $P \leq 0,05$  [65].

Основные материалы диссертационной работы доложены:

1. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-ти летнему юбилею Ярославского НИИЖК – филиала ФНЦ «ВИК им В.Р. Вильямса» «Интеграция науки и высшего образования, как основа инновационного развития аграрного производства» с докладом: «К вопросу накопления аммиака и масляной кислоты при силосовании и сенажировании люцерны».

2. Международная научно-практическая конференция «Продовольственная безопасность сельского хозяйства России в XXI веке

(Жученковские чтения II) с докладом: «К вопросу сенажирования и силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий»

3. Международная научно-практическая конференция, посвященная 130-ти летию со дня рождения выдающегося ученого в области кормления животных, педагога и общественного деятеля, профессора, академика ВАСХНИЛ, лауреата Ленинской премии И.С. Попова, с докладом: «Биологический способ консервирования люцерны».

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 7 работ в изданиях, включенных в перечень ВАК Министерства образования и науки РФ, в том числе 1 статья в международных изданиях (Scopus).

**Личное участие автора.** Диссертационная работа представляет собой результат научных исследований автора в период 2016 по 2021 год. Большая часть научных исследований, описанных в диссертационной работе, выполнена аспирантом самостоятельно под руководством научного руководителя, доктора сельскохозяйственных наук Юрия Андреевича Победнова.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, основной части (обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований), заключения, списка литературы, приложений. Работа представлена на 129 страницах компьютерного текста с включением 26 таблиц, 12 рисунков и 12 приложений. Список литературы включает 153 источника, из них 46 – иностранных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Люцерна – особенная культура. И дело не только в том, что она бедна сахаром и обладает высокой буферной ёмкостью, что предопределяет её принадлежность к несилосящимся растениям [126, 79]. Значительное влияние на результат консервирования оказывают биологические особенности этого вида растений, поэтому, чаще, люцерну предпочитают сенажировать, в проявленном до содержания сухого вещества 45% и более виде [58, 93, 19]. Однако и в люцерновом сенаже часто скапливается некоторое количество масляной кислоты [39]. Это не согласуется с существующими теоретическими представлениями, согласно которым сохранность проявленной до содержания сухого вещества 45% и более в растительной массе обеспечивается за счет создания в ней «физиологической сухости», и, следовательно, не зависит от содержащихся в растениях сахара и буферных соединений, а значит, и степени их подкисления. [25, 23, 7]. К положительным факторам, обуславливающим высокую сохранность люцернового сенажа, относили и особенности химического состава люцерны.

Возделывание бобовых трав (люцерна, клевер, эспарцет, донник, козлятник восточный и другие), по сравнению со злаковыми травами, позволяют резко увеличить производство растительного белка [51]. Дело в том, что, помимо высокого содержания белка, люцерна характеризуется и наличием большого количества пектина, достигающим 12% в расчете на сухое вещество [47]. До недавнего времени полагали [7], что чем богаче растения белками и пектиновыми веществами, тем больше они содержат влаги в связанном, то есть недоступном бактериями, состоянии. Очевидно, это и послужило основанием для того, что, несмотря на полученные многими авторами отрицательные результаты, некоторые все же рекомендуют силосовать люцерну в проявленном до содержания сухого вещества 35% виде [15]. Однако П.А. Ребиндер [79], еще в середине прошлого века доказал, что вода, связанная белком и пектином – это наименее связанная вода [65]. Важно и то, что снижение влажности до 45-50%, путем проявливания, не приводит к физиологической сухости растений. Доказательством



этого служит изучение активности воды ( $A_w$ ) в конечном продукте. При обезвоживании массы до влажности 50%, активность воды мы не можем получить ниже 0,95 [12], тогда как при консервировании растительной массы с показателем  $A_w \leq 0,85$  [4] функциональная кислотность (рН) не обеспечивается. На основании этого делаем вывод, что обеспечение сохранности люцерны при влажности 45-50% связано не столько с достижением физиологической сухости, сколько с достижением критерия низкого подкисления [72].

В первый раз в России на это обратил внимание отечественный ученый С.Я. Зафрен [23], который прямо указывал на то, что «при влажности 60-69% рост нежелательных анаэробных бактерий предотвращается «физиологической сухостью» для них субстрата». Можно сказать, что, положение, которое сформулировал С.Я. Зафрен, звучит следующим образом: «Корм с влажностью 60-69% в зависимости от содержания в нем сахара, может подкисляться до рН 4,2 или нет, но это не определяет его сохранности». В дальнейшем исследования показали, что это не совсем так, хотя процент содержания сухого вещества в силосуемой массе и оказывает существенное влияние на насыщенность и направление микробиологических процессов в силосе. В этой связи, в отличие от распределения кормовых трав по их силосуемости [25], которая не учитывала содержание сухого вещества в растениях, последние годы пригодность любой растительной массы для силосования, основанной на химическом составе трав, стали называть «сбраживаемостью» [95]. Основными параметрами сбраживаемости служат содержание сухого вещества (СВ), сахара (С), и буферная емкость (БЕ) силосуемой массы, которые в зависимости от своих количественных показателей, могут оказывать благоприятное или негативное влияние на результат силосования растений. Например, от содержания сухого вещества в силосуемой массе зависит интенсивность, а главное, направление процесса брожения, что, собственно, и определяет размер потерь и биохимические показатели полученного корма. При этом, вопреки бытующему мнению [10], провяливание трав до содержания сухого вещества 30% и более в большинстве случаев ухудшает их сбраживаемость. Это связано с угнетением молочнокислого брожения и низкой активностью воды в

растительных клетках, что приводит к задержке скорости подкисления провяленной массы, и, в последствии, к возникновению в ней ненужных микробиологических процессов [76]. Разъясняется это тем, что при развитии на провяленной до содержания сухого вещества зеленой массе у молочнокислых бактерий отмечается «осмотический стресс», ответной реакцией на который служит торможение размножения микроорганизмов [11]. Поскольку, в процессе размножения молочнокислые бактерии практически не продуцируют молочную кислоту [85], то удлинение периода их размножения приводит к существенному замедлению скорости подкисления [68] силоса. Общим для всех трав, выращенных на низком фоне азотных удобрений и силосуемых в провяленном виде, служит то, что замедление скорости их подкисления неизменно служит причиной накопление в корме некоторого количества масляной кислоты [119].

Однако, в зависимости от вида растений, последствия от возникновения нежелательных микробиологических процессов при их силосовании в провяленном виде неодинаковы. Наибольшее негативное влияние процесс провяливания оказывает при силосовании злаковых трав, что во многом обусловлено составом их эпифитной микрофлоры. Выполненные в этом направлении исследования показали [103], что на покровах злаковых трав очень высока численность бактерий кишечной палочки, которая достигает  $10^5$ - $10^6$  КОЕФ в расчете на 1г зеленой массы, и которая не изменяется ни от срока вегетации растений, ни от погодных условий. К такому же заключению на основании своих собственных исследований пришли и отечественные авторы [30]. Указанные виды бактерий в значительно большей степени, нежели молочнокислые бактерии, приспособлены к условиям брожения на провяленной массе. [86]. Поэтому повышение содержания сухого вещества в растениях до 30% и более и, связанное с этим замедление подкисления корма, создают практически идеальные условия для их продолжительного развития. При этом, бактерии кишечной группы, которые прямые конкуренты молочнокислых бактерий по использованию сахара, создают дефицит последнего в силосуемой массе, что нередко служит причиной возникновения вторичной ферментации, связанной с накоплением в корме уже

значительного количества масляной кислоты и продуктов гнилостного распада белка [75].

В отличие от силосования провяленных злаковых трав, силосование провяленной люцерны [57] протекает более благоприятно. Впервые в 30-х годах прошлого столетия на это обратил внимание еще А.М. Михин [50]. Проводя опыты по изучению значения влажности при силосовании люцерны, он установил, что даже при силосовании люцерны с содержанием сухого вещества 33,5% корм успешно подкисляется до рН 4,3. То есть сахар преимущественно используется молочнокислыми бактериями [65]. Правда, медленное подкисление корма привело и к одновременному накоплению в его сухом веществе 0,75% масляной кислоты. Именно маслянокислое брожение и является главной причиной порчи люцернового силоса [68], на ликвидацию которого и должны быть направлены все используемые технологические приемы, тогда как бактерии кишечной группы, активно функционирующие в силосе из провяленных злаковых трав, не получают сколько-нибудь заметного развития. В отличии от злаковых трав, люцерна, и другие бобовые травы, не содержат на покровах листьях значимого количества бактерий кишечной группы [96]. Эти микроорганизмы не имеют значительного роста в процессе силосования провяленной люцерны. Не получают эти микробы сколько-нибудь значительного развития и при силосовании провяленной люцерны, что, очевидно, обусловлено дефицитом сахара в такой массе. По имеющимся сведениям, [93], при дефиците сахара в силосуемой массе кишечная палочка может развиваться только в аэробных условиях. Последнее хорошо иллюстрируется результатами микробиологических исследований, выполненных И.И. Филатовым с соавторами [90], при обычном силосовании люцерны провяленной до содержания сухого вещества 41,5% они показали, что численной бактерий кишечной группы на 6-й день силосования указанного сырья составляла всего 60 000 КОЕ в 1 грамме корма, тогда как при консервации злаковых трав с высоким содержанием сахара счет этих бактерий идет на миллионы.

Таким образом, основной принцип силосования люцерны, согласно правилу Виринага Дж [18], заключается в том, что чувствительность маслянокислых

бактерий к кислотности корма существенно растет, при увеличении содержания сухого вещества в не провяленной массе, что дает возможность получить из консервированной люцерны, не подвергающийся накоплению бутановой кислоты корм при гораздо больше, чем при силосовании злаковых трав значения рН. В последнем случае из-за необходимости подавления жизнедеятельности энтеробактерий, масса, с содержанием сухого вещества до 45% должна быть быстро подкислена до рН 4,3 и менее, то есть до предела, ограничивающего развитие этого вида бактерий [112, 58].

Выше уже отмечалось, что комбинацией необходимого содержания сухого вещества и сахаро-буферного отношения в растительной массе можно добиться ее успешной сохранности в анаэробных условиях. При этом оптимальное значение указанных параметров силосуемой массы получило название предела «сбраживаемости» [95]. Этот предел вычисляют путем расчета коэффициента сбраживаемости ( $K_{сб}$ ) массы, который не должен быть ниже 45. Рассчитывается он по следующей формуле [103]:  $K_{сб} = СВ (\%) + 8 \times С/Б\ddot{E}$ . Дальнейшая модификация указанной формулы позволяет рассчитать и минимально необходимую степень провяливания люцерны ( $СВ_{мин}$ ) с различным сахаро-буферным отношением, потребной для устранения в корме маслянокислого брожения:  $СВ_{мин} (\%) = 45 - 8 \times С/Б\ddot{E}$ .

Математические расчеты показывают, что даже при относительно высокой обеспеченности люцерны сахаром ( $С/Б\ddot{E}=0,9$ ), она должна быть провялена до содержания сухого вещества не менее 38%. Выше мы уже отмечали, что при такой степени провяливания растений наблюдается сдерживание молочнокислого брожения, что приводит к замедлению подкисления корма и, как следствие, накоплению к моменту его стабилизации в анаэробных условиях некоторого количества масляной кислоты. По мнению ряда исследователей [38, 16, 115], решить эту проблему можно за счет использования препаратов молочнокислых бактерий, ускоряющих подкисления провяленной массы люцерны. Следует, однако, отметить, что люцерна [73] значительно отличается по своим технологическим свойствам от других многолетних бобовых трав: клевера

лугового, козлятника восточного и т.п., что нужно учитывать при разработке способов ее консервирования. Прежде всего, как уже упоминалось выше, люцерна содержит много слабосвязанной воды, что даже при ее силосовании в провяленном виде обуславливает интенсивное течение протеолиза, сопровождающимся накоплением довольно значительного количества аммиака в первую фазу силосования. По имеющимся данным [109], протеолиз в первые двое суток силосования провяленной до содержания сухого вещества 35% люцерны, вследствие медленного ее подкисления, составляет 25 ммоль аминокислот/час на 1 кг сухого вещества. Немаловажно и то, что оптимальное для активности растительных протеолитических ферментов значение рН у люцерны находится на более низком уровне, чем у злаковых трав и клевера лугового – соответственно 6,0 и 6,5 [73, 108]. Интенсивное провяливание люцерны до относительно высокого содержания сухого вещества как-раз-таки и способствует значительному снижению образования аммиака в процессе силосования, в том числе и при использовании добавок молочнокислых бактерий. Однако, каким при этом должен быть минимальный предел провяливания люцерны? Имеющиеся данные показывают [111], что при силосовании провяленной до содержания сухого вещества 41,1 % [62] люцерны с препаратом молочнокислых бактерий Ecosyl корм подкислялся до рН 4,45 против 4,64 в обычном силосе [66]. При этом, количество аммиачного азота в сухом веществе силоса снизилось с 11,2 до 7,6%, то есть в 1,5 раза. При низком показателе содержания в зеленой массе продуктивность препарата Ecosyl значительно снижалась. Проводя силосование люцерны с показателем сухого вещества равным 38,1%, результаты рН в контрольных и опытных кормах, следующие: 4,73 и 4,53 соответственно. Содержание азота в аммиаке к общему азоту уменьшилось в 1,4 раза и стала 9,4% по сравнению с 12,7 первоначально. Проводя силосование люцерны с препаратом Ecosyl с показателем СВ 22,6 % рН в контрольных и опытных кормах составлял 5,23 и 4,93, а содержание азота в аммиаке к общему азоту сократилось с 17,2 до 14,5%, то есть всего в 1,2 раза [66]. На основании полученных данных можно сделать вывод, что доля аммиачного азота в корме возрастает в два раза: с 7,6% до 14,5%, при уменьшении

показателя сухого вещества в силосовании люцерны с использованием препарата молочнокислых бактерий с 41,1% до 22,6% сухого вещества.

Это означает, что под влиянием внесенного препарата молочнокислых бактерий накопление аммиака хотя и снижается, но решающую роль в сокращении количества аммиака все же играет содержание сухого вещества, которое, как следует из представленных данных, должно быть не менее 40%. К настоящему времени это положение подтверждено и фактическими экспериментальными данными [101]. При этом, глубокое проявление люцерны, равно как и ускорению ее подкисления, в основном способствуют лишь уменьшению дезаминирования образовавшихся в процессе протеолиза аминокислот, то есть образованию из них аммиака.

В силу указанных выше причин не менее важным вопросом является и снижение образования масляной кислоты при силосовании, проявленной до указанного содержания сухого вещества люцерны [73]. Некоторые исследователи [105], в результатах своих опытов по силосованию проявленной до содержания сухого вещества 39% люцерны обычным способом и с внесением препаратов молочнокислых бактерий, указывают [73] на количество образовавшихся кислот брожения, что не приводит к увеличению содержания масляной кислоты в полученном корме. Очевидно, это связано с тем, что последнее либо вообще не накапливалось, либо накапливалось в количестве, не заслуживающем внимания. А.М. Михин [50] не отмечал накопление масляной кислоты только при сенажировании проявленной до содержания сухого вещества 49% люцерны. При меньшем содержании сухого вещества в силосуемой массе она накапливалась в количестве до 0,75%. Другие исследователи [114] так же отмечают накопление масляной кислоты в силосе из проявленной до содержания сухого вещества 43,8% люцерны в количестве [73] 0,2% в расчете на сухое вещество. При этом, силос, в конечном счете, подкислялся до рН 4,6, критического для маслянокислых бактерий. Любопытно отметить, что ускорение подкисления такой массы за счет внесения муравьиной кислоты не привело к сокращению накопления масляной кислоты, содержание которой в сухом веществе силоса достигало 0,24% [65].

Украинские исследователи [38] отмечали накопление масляной кислоты в количестве 0,21% даже в обычном сенаже из люцерны, проявленной до содержания сухого вещества около 50%. Применение препарата молочнокислых бактерий Литосил способствовало устранению образования масляной кислоты в таком корме.

При рассмотрении вопроса, связанного с накоплением масляной кислоты в сенаже и силосе из проявленной люцерны, следует учитывать то, что отсутствие масляной кислоты в таких кормах, как правило, наблюдается лишь при проведении опытов в лабораторных условиях, то есть при закладке массы в небольшие по объёму сосуды с абсолютной степенью их герметизации. В производственных же условиях, результаты которых описаны в двух последних случаях, масляная кислота, хотя и относительно в небольших количествах, накапливается даже при сенажировании люцерны. Это объясняется тем, что в люцерне присутствуют вторичные растительные метаболиты, которые проявляются в антимикробных действиях [119]. Из них можно выделить: [95] сапонины, некоторые фенольные соединения, алкалоиды [42], и другие соединения. По имеющимся сообщениям [68], влияние вторичных растительных метаболитов очень значима, поэтому результаты лабораторных исследований нельзя применять в производственных условиях без определенной корректировки, и, как следствие, из представленной выше информации, без определенного подкисления корма в производственных условиях невозможно добиться должной сохранности силоса и сенажа из люцерны. Однако, как следует из приведенных выше данных, обеспечить высокую сохранность силоса и сенажа из люцерны в производственных условиях без должного подкисления корма они не могут.

Чтобы создать условия для эффективного использования препаратов молочнокислых бактерий нужно, прежде всего, повысить сбраживаемость люцерны, что, как уже отмечалось, достигается путем интенсивного ее проявливания до содержания сухого вещества около 40% [73]. Во-первых, это способствует снижению накопления аммиака в полученном корме, а, следовательно, и его буферной емкости. Во-вторых, увеличение содержания сухого

вещества в люцерне до указанного значения позволяет устранить развитие маслянокислых бактерий уже при рН 4,75, в то время как при силосовании свежескошенных растений это достигается только при рН 4,2 и ниже [121]. Но и это еще не все. При интенсивном проявлении заметно возрастает содержание сахара в сухом веществе люцерны и, как следствие, возрастает ее сахаро-буферное отношение. Так, при 10-ти часовом проявлении люцерны до содержания сухого вещества 48,8% содержание сахара в нем возросло с 3,0 до 4,8%, то есть в 1,6 раза [56]. Г.В. Богданов и О.Е. Привало [7] наблюдали заметное увеличение содержание сахара в сухом веществе люцерны и при более продолжительном сроке ее проявления. По их данным, при 20-ти часовом проявлении люцерны до содержания сухого вещества 53,8% содержание сахара в ней возросло с 7,33 до 8,73%. Наконец, важным условием повышения сбраживаемости люцерны является накопление в ней в процессе проявления органических кислот, прежде всего яблочной [56]. Роль последней, как и других 4-х углеродных органических кислот (янтарной, фумаровой) сводится к стимулированию поглощения растениями кислорода в условиях сильного обезвоживания [80]. В литературе имеются сведения [48], что молочнокислые бактерии способны сбраживать яблочную кислоту и ее соли в молочную кислоту [62], что также повышает сбраживаемость проявленной люцерны. В немалой степени способствует этому и исключительно гомоферментативный тип молочнокислого брожения, отмечающийся даже при спонтанном силосовании проявленной люцерны, что обеспечивает максимальный выход молочной кислоты из содержащегося в растениях сахара [116]. Определенное количество сахара образуется и в процессе силосования люцерны. А.Л. Березовский и М.Ф. Егорова [6], проводя опыты по силосованию проявленной люцерны с добавкой летучих антисептиков установили увеличение содержания сахара в сухом веществе силоса до 7,45% против 5,50% в исходной массе. Согласно существующему представлению, причиной этому служит наличие в листьях растений крахмала, который гидролизуетеся до простых сахаров.

Многие отечественные исследователи не признают наличие сколько-нибудь значительного количества крахмала в молодой люцерне, то есть убранной в фазе



бутонизации. Однако это не так. Следует отличать запасной крахмал, который откладывается в семенах или клубнях растений, от транзитного крахмала, откладывающегося в листьях, без которого растения попросту не могут существовать.

Объясняется это тем, что для осуществления своей жизнедеятельности растениям требуются углеводы. У высших растений они образуются при фотосинтезе. При этом основной транспортной формой служит дисахарид сахароза [91]. Поскольку синтез углеводов в листьях при фотосинтезе осуществляется только днем, эти углеводы должны запасаться для того, чтобы обеспечить остальные части растений энергетическим субстратом ночью или при наступлении неблагоприятных погодных условий. Для этого углеводы первично запасаются в форме полисахаридов, в частности крахмала, который и откладывается в пластидах, а именно в хлоропластах гетеротрофных тканей. Крахмальные зерна в листьях могут достигать очень большой величины к концу светового дня и, в отличие от запасного крахмала, значительно деградируют в течении последующей ночи. Источником сахаров может служить и сапонин ( $C_{27}H_{37}O_{16}$ ), который в процессе ферментации расщепляется на сапогенин, глюкозу, и неизвестное горькое вещество [93].

Для создания условий эффективного применения препаратов молочнокислых бактерий при силосовании провяленной люцерны важно учитывать и то, что отнюдь не любые препараты способны обеспечить быстрое подкисление провяленной массы до необходимого предела [57,73]. Это обусловлено тем, что эпифитная микрофлора люцерны, равно как и других бобовых трав, обеспечивает минимальное значение (рН 3,6-3,9) лишь на питательных растворах с осмотическим давлением не выше 20 атмосфер [26]. При дальнейшем повышении осмотического давления снижение рН резко затормаживается.

Это означает, что препараты, созданные на основе эпифитных молочнокислых бактерий, мало пригодны для силосования растений, провяленных до содержания сухого вещества 40% и более. Для этой цели следует применять препараты, созданные на основе штаммов молочнокислых бактерий, специально

отселетированных по признаку осмотолерантности, то есть, способных с одинаковым успехом расти как на свежескошенной, так и на провяленной до указанного содержания сухого вещества в зеленой массе [61].

При заготовке силоса из люцерны с меньшим содержанием сухого вещества и, тем более, из свежескошенных растений, рекомендуется применять препараты молочнокислых бактерий в комбинации с сахаристыми добавками: мелассой, свекловичной пульпой и т.д. [9]. Это связано с тем, что применение одной только сахаристой добавки нередко приводит к противоположному результату, стимулируя развитие не молочнокислых, а маслянокислых бактерий [18], обуславливая тем самым накопление в корме еще большего количества масляной кислоты. Немаловажно и то, что применение сахаристых добавок в сочетании с препаратами молочнокислых бактерий, улучшая биохимические показатели полученного корма, не способствует снижению потерь питательных веществ при силосовании. По имеющимся данным [94], при силосовании свежескошенной люцерны с внесением 5% мелассы и препарата молочнокислых бактерий потери питательных веществ достигали 30%, т.е. были практически такими же, как и без использования мелассы, что делает этот прием малопривлекательным для практики.

Проводились также исследования по использованию в качестве консервантов при силосовании люцерны некоторых широко распространённых в России растений, обладающих фитонцидным действием [87]. Было установлено, что наибольшим консервирующим эффектом при добавлении из расчета 20% массе к люцерне обладают одуванчик, лопух и черемуха. При смешивании люцерны с исследуемыми растениями в количестве 1:1 по массе, лучшими оказались силоса с добавлением хвои лиственницы, мать-и-мачехи, хвои сосны, ели, борщевика Сосновского, чернобыльника и ромашки аптечной. Однако, из-за трудности выполнения этот прием не нашел сколько-нибудь заметного применения в сельскохозяйственном производстве.

Хорошие результаты при силосовании провяленной люцерны [57] до содержания сухого вещества 32,3 % получены венгерскими исследователями [115],

которые применяли кукурузную муку с содержанием крахмала 89%, гидролизованную до простых сахаров, в комбинации с молочнокислой закваской. Как утверждают авторы, им удалось получить качественный корм, с оптимальным соотношением молочной и уксусной кислот [73]. Однако, использование при силосовании проявленной до сухого вещества 34% люцерны целлюлозолитических ферментов, как в чистом виде, так и в комбинации с препаратами молочнокислых бактерий, оказалось не эффективным.

Неудовлетворительные результаты по применению целлюлозолитических ферментов при силосовании проявленной до содержания сухого вещества 30% люцерны были получены и отечественными исследователями [35], хотя сделанные ими выводы и свидетельствуют об обратном. По мнению авторов, эффективность ферментного препарата Феркон в хороших климатических условиях не уступает муравьиной кислоте при консервировании люцерны определенной влажности. Но как показывает сравнительный анализ результатов – это не так. Неэффективными оказались и муравьиная кислота и ферментный препарат Феркон. Как при внесении Феркона, так и при внесении муравьиной кислоты в дозе 0,5% к массе люцерны, рН корма составлял 4,72-4,70, а накопление аммиака в его сухом веществе достигало 0,43-0,41%. Ни один из этих препаратов не обеспечил в полученном корме рН, не допускающим маслянокислого брожения [73], которое должно быть больше 4,45 [121] при влажности люцерны 70%. При силосовании люцерны с применением Феркона и муравьиной кислоты в производственных условиях положительные результаты также были получены лишь при проявлении растений до содержания сухого вещества 40% и более [3].

В этом случае силос подкислялся соответственно до рН 4,47 и 4,33, что обеспечило его хорошую стабильность при хранении [73].

Хорошие результаты при силосовании проявленной до содержания сухого вещества 33,4 и 53,0% люцерны были получены и от использования Танина, эффект от которого повышался по мере увеличения дозы его внесения [118]. К недостатку этого метода следует отнести то, что высокие дозы танина (2% и более в расчете на сухое вещество) [73], при которых заметно ограничивается накопление аммиака в

корме, существенно снижают переваримость питательных веществ крупным рогатым скотом.

Недостаточно обоснованными на сегодняшний день являются и рекомендованные производству дозы внесения жидких органических кислот при силосовании люцерны. Об этом на примере применения муравьиной кислоты мы уже говорили выше. Именно высокая стоимость жидких органических кислот на фоне недостаточной эффективности зачастую и сдерживает их широкое применение при заготовке силоса из люцерны на сельскохозяйственных предприятиях. В нашей стране впервые на это обратил внимание М.Т. Таранов с соавторами [88], еще в середине 80-х годов прошлого столетия, предложив дифференцированно подходить к расчету доз органических кислот в зависимости от содержания сухого вещества в силосуемой массе люцерны. На основании выполненных исследований авторы пришли к заключению, что рекомендуемые дозы жидких органических кислот следует применять лишь при относительно не высоком содержании сухого вещества в силосуемой массе (от 21 до 30%). При большем содержании сухого вещества в люцерне дозу химических консервантов следует повышать на 0,8% на каждый процент увеличения содержания сухого вещества в растениях. До этого, как известно, считалось общепринятым, что повышения содержания сухого вещества в силосуемой массе, наоборот, обуславливает возможность снижения дозы вносимых химических консервантов.

Еще более качественный подход к расчету дозы муравьиной кислоты при силосовании люцерны предложил профессор Ф. Вайсбах с соавторами [14]. По мнению авторов для того, чтобы гарантировать успешное силосование люцерны, нужно соблюдать диапазон содержания сухого вещества, при котором в наибольшей степени проявляется действие муравьиной кислоты, и ее дозу внесения. Диапазон необходимого содержания сухого вещества в люцерне ограничивается следующими показателями:  $< 45-8 \times C/Б\ddot{E}$  и  $\geq 29-8 \times C/Б\ddot{E}$ . Например, при сахаро-буферном отношении в люцерне, равном 1,0, наибольший эффект от использования муравьиной кислоты будет проявляться при содержании сухого вещества в массе  $\geq 21 < 37\%$ . То есть, химические консерванты на основе

муравьиной кислоты наиболее эффективны в тех пределах содержания сухого вещества в люцерне, при которых использование препаратов молочнокислых бактерий как в чистом виде, так и в сочетании с целлюлозолитическими ферментами не дают положительного результата. Необходимая доза муравьиной кислоты (Д) в грамм – эквивалентах  $\text{HCOOH}$  на 1ц сухого вещества вычисляется по формуле:  $D=10+2,5(45-\text{CB}-8 \times \text{C}/\text{Б}\ddot{\text{E}})$ . Авторы отмечают, что при соблюдении указанных условий можно рассчитывать на 95 % - ый успех применения муравьиной кислоты.

В настоящее время уже разработаны приборы «точной обработки», находящее применение и при заготовке силоса [117]. Это обеспечивает возможность внесения химического консерванта в строго дозированном виде, точно основанного на его реальной потребности. Современные кормоуборочные комбайны оборудованы датчиками, определяющими их пропускную способность и содержания сухого вещества в растениях в режиме реального времени, а также дозаторами, осуществляющими контролируемое внесение химических консервантов. Для каждого химического консерванта может быть разработана своя специфическая для каждой культуры математическая функция, которая обеспечит его внесение в строго регламентированной для каждого содержания сухого вещества дозе, что, в свою очередь, приведет к сокращению совокупных затрат при силосовании и, на фоне существенного улучшения качества полученного корма, к повышению конкурентоспособности этого приема в практике силосования.

Для многих сельскохозяйственных предприятий, обеспечение себя кармами с содержанием в сухом веществе до 22% сырого протеина является прямой возможностью выжить в сложных экономических условиях [80].

Кроме большого содержания сырого протеина, люцерна также богата пектином и особой структурированной клетчаткой [47]. За счет высокой сбраживаемости пектина ускоряется процесс ферментации силоса и сенажа из люцерны в рубце жвачных животных. Результаты физиологических опытов показатели, что переваримость пектина и пектиновой кислоты у овец достигает 90% [97]. Поэтому, к люцерне [73] нельзя применить утверждение, что с

повышением энергетической питательности силосованного корма возрастает потребление сухого вещества корма у крупного рогатого скота. Согласно результатам исследований, вопреки тому, что энергетическая питательность сухого вещества силоса из злаковых трав была больше и составила 7,1 МДж, в сравнении с этим же показателем корма из силоса люцерны, равным 6,9 МДж, поедаемость крупным рогатым скотом злакового корма составила 20,3-21,2 кг на животное за сутки, против 21,1-23,2 кг корма из люцерны. Значит, увеличивается получение питательных веществ животными, потребляющих силос из люцерны, соответственно, растет продуктивность скота.

Выявлено, что применение препарата, содержащее молочнокислые бактерии, еще больше повышают продуктивные свойства силоса из провяленной люцерны. Полученные исследования показали [105], что при увеличении в рационе крупного рогатого скота силоса из люцерны с молочнокислыми бактериями всего на 0,3 кг среднесуточный удой коров увеличился на 0,8 кг [19] и стал 40,7 при первоначальном 39,9 кг, а жирность выросла на 0,6% и стала 3,43%. На сегодняшний день нет четких доказательств данного в научной литературе. Некоторые исследователи полагают [108,109], что повышение продуктивных свойств силоса из провяленной люцерны, приготовленной с добавлением молочнокислой бактерий, обеспечивается увеличением массы рубцовой микрофлоры.

Что касается влияния препаратов молочнокислых бактерий на сокращение потерь питательных веществ при сенажировании и силосовании провяленной массы люцерны, то в этом вопросе еще нет окончательной ясности. Некоторые исследователи [38] отмечают довольно значительное сокращение потерь сухого вещества под влиянием внесенного препарата молочнокислых бактерий даже при сенажировании провяленной до содержания сухого вещества около 50% люцерны. Так, при сенажировании люцерны в траншеях обычным способом и с препаратом Литосил потери сухого вещества сократились с 17,62 до 13,22% или в 1,3 раза. Еще больший эффект от использования указанного препарата автор отмечал при сенажировании люцерны в рулонах под пленками. В этом случае потери сухого

вещества снизились до 4,27%, против 7,94% в контроле, то есть в 1,9 раза. Правда, в другой статье этого же автора [38] отмечается, что согласно принятой на Украине технологии сенажирования люцерны в рулонах, формирование рулонов осуществляется в поле. После чего их перевозят к месту постоянного хранения, где и производится и герметизация полиэтиленовой пленкой. При этом, разрыв во времени от момента формирования рулонов до их обмотки пленкой растягивается до 5-ти часов, что, в принципе, не допустимо, так как приводит к сильному разогреванию спрессованной массы и началу ее порчи. В этой связи, значительное сокращение потерь питательных веществ под влиянием внесенного препарата молочнокислых бактерий может быть обусловлено элементарным нарушением технологии сенажирования люцерны в рулонах под пленками. Вместе с тем, тот факт, что внесение препарата молочнокислых бактерий, очевидно, в значительной степени устраняет указанный недостаток, заслуживает внимания. Правда, пока не понятно, если это действительно имеет место, то каким образом указанные препараты способствуют устранению разогревания такой массы?

В опытах К.Г. Нугматжанова [52] был получен хороший результат при силосовании провяленной до содержания сухого вещества 40% люцерны с внесением амилोलитического молочного стрептококка (АМС). Это способствовало сокращению потерь белка при силосовании с 24,2 до 18,2%, что, как считает автор, объясняется защитным действием органических кислот, в большом количестве образующихся под воздействием внесенной молочнокислой закваски.

Важно отметить то, что в данной работе К.Г. Нугматжанов уже ставит под сомнение первостепенное значение «физиологической сухости» при консервировании, провяленной до содержания сухого вещества  $\geq 40\%$  люцерны, отдавая предпочтение необходимости создания в корме нужной активной кислотности. Необходимость создания нужной активной кислотности даже при сенажировании бобовых трав нашло свое отражение и в публикациях других авторов [53, 60]. Другим важным практическим выводом, к которому пришел К.Г. Нугматжанов [47], является предпочтительное силосование люцерны в провяленном до содержания сухого вещества 40% виде с препаратами

молочнокислых бактерий, по сравнению [65] с ее сенажированием. Свое мнение автор обосновывает тем, что длительное провяливание люцерны на солнце до «сенажной» влажности приводит к существенным потерям сухого вещества (до 12-14%), которые уже не компенсируются в процессе ее консервирования.

По мнению других авторов, основной эффект от использования препаратов молочнокислых бактерий при силосовании провяленной массы люцерны сводится лишь к улучшению биохимических показателей корма, в то время как на увеличение сохранности питательных веществ этот прием не оказывает существенного влияния. Выполненные во ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса исследования по изучению влияния препарата молочнокислых бактерий Кофасил – Лак на величину распада питательных веществ до газообразных продуктов при силосовании провяленных трав показали [76] что по мере уменьшения сахаро-буферного отношения в растениях ниже 1,3, то есть при силосовании в провяленном виде преимущественно многолетних бобовых трав, эффективность этого препарата резко снижается. На основании полученных данных было сделано заключение [74], что проблемы, возникающие при силосовании провяленных трав, противоположны тем, которые возникают при силосовании свежескошенной массы. Если при силосовании трав в свежескошенном виде гарантия получения качественного корма с минимальными потерями питательных веществ возрастает по мере улучшения обеспеченности растений сахаром, то при силосовании трав в провяленном виде она, наоборот, заметно снижается. Теперь мы уже знаем, что это объясняется высокой активностью энтеробактерий, наблюдающейся на первом этапе силосования хорошо обеспеченных сахаром провяленных злаковых трав. И, наоборот, очень благоприятным направлением процесса брожения, отмечающимся при силосовании в провяленном виде бобовых трав с необеспеченным сахарным минимумом.

Любопытно отметить, что благоприятное влияние процесса провяливания люцерны на биохимические показатели полученного корма отмечали еще в 30-х годах прошлого столетия [8]. Силосуя люцерну в провяленном и свежескошенном виде, авторы отмечали, что в первом случае силос отличался приятным запахом и



вполне сохранившейся структурой, тогда как в последнем он представлял по внешнему виду навоз. По мнению указанных исследователей, проявление оказывает благоприятное влияние на улучшение процесса брожения не только при силосовании люцерны, но и вообще для растений с необеспеченным сахарным минимумом, что, как уже отмечалось выше, и приводит к снижению эффективности применения препаратов молочнокислых бактерий при их силосовании в провяленном виде.

Особо следует отметить то, что проявление в то время рассматривалось исключительно как вынужденный прием и рекомендовалось только для необеспеченного сахаром сырья, то есть растений, которые без большой вероятности порчи не могли быть засилосованы с естественной влажностью. Что касается остальных культур, то, как полагали А.А. Зубрилин и Е.Н. Мишустин [27]: «Во избежание потерь питательной ценности силоса, скошенную массу не следует оставлять в поле ни на один день».

Важным условием обеспечения высокой сохранности силоса из провяленных трав является устранение его аэробной порчи при выемке из хранилищ. Считается [119, 100], что силос, приготовленный из провяленных бобовых трав, в частности из люцерны, довольно устойчив к отрицательному воздействию воздуха. Однако результаты производственных опытов по сенажированию люцерны показывают [49], что проблема аэробной порчи возникает и при выемке из хранилища этого вида корма. Было установлено, что при вскрытии траншеи с люцерновым сенажом масляная кислота в нем отсутствовала. Однако начавшееся поступление воздуха в толщу корма обусловило возникновение гнилостных процессов, сопровождающихся увеличением (в 1,5-4,0 раза), образование аммиака, что, в свою очередь, привело к уменьшению активной кислотности корма и, как следствие, накоплению в нем 0,17% масляной кислоты.

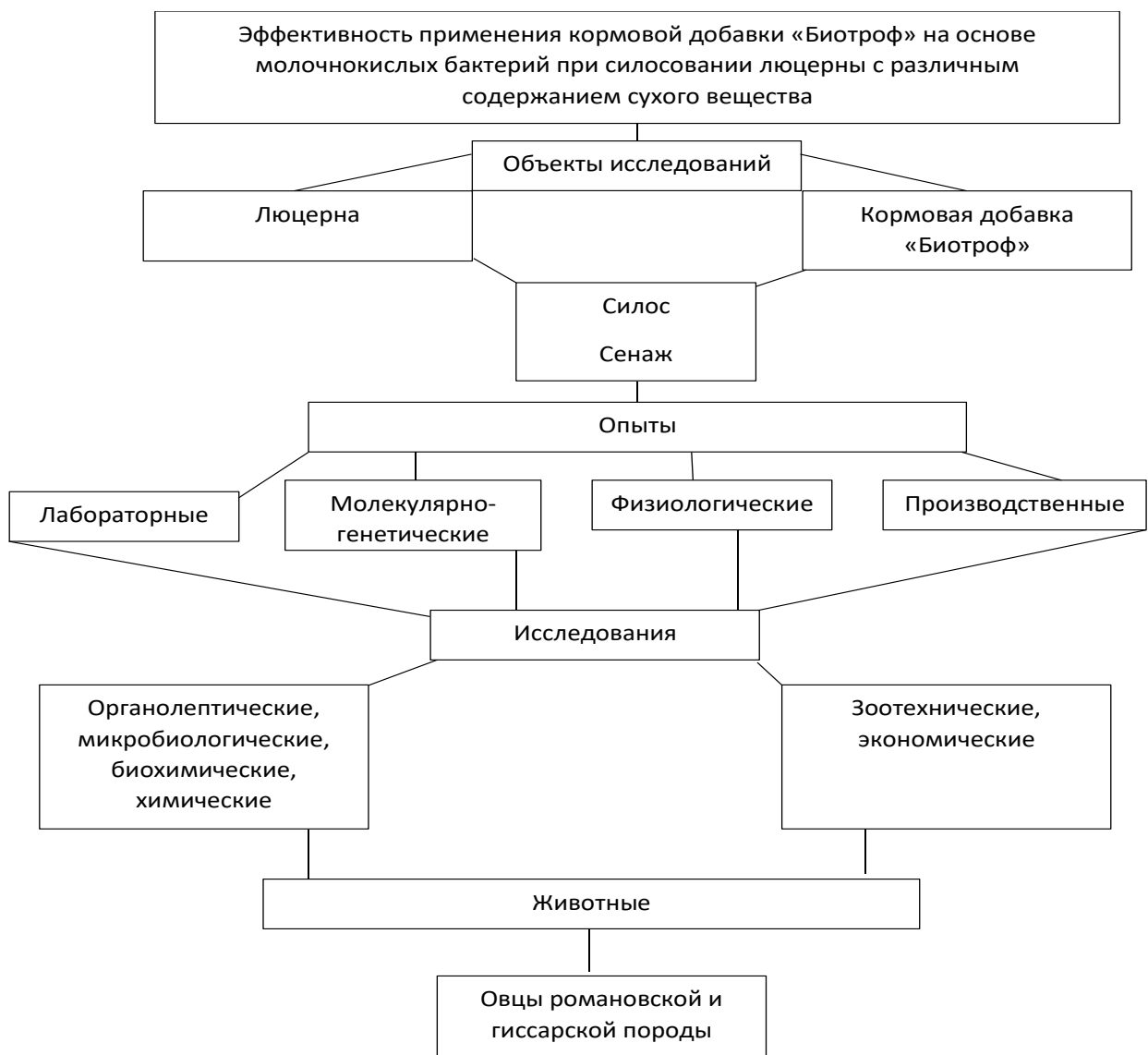
Это обстоятельство также предопределяет необходимость использования даже при сенажировании люцерны созданных на основе осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий препаратов. Это объясняется тем, что чем ниже будет рН сенажа или силоса из провяленной до оптимального содержания сухого

вещества люцерны, тем больше времени при доступе воздуха требуется для увеличения рН до предела, обуславливающего активность маслянокислых бактерий. Это, при условии соблюдения правил выемки корма из хранилищ, позволит существенно минимизировать опасность возникновения вторичной ферментации.

Таким образом, по полученным на настоящий момент данным, можно утверждать, что в сравнении с другими кормовыми травами, люцерна имеет высокую буферную емкость, при одновременной нехватке сахара. Буферная емкость обеспечивает возможность набора достаточно большого объема молочной кислоты, которая, в свою очередь, позволяет достичь в корме требуемого показателя активной кислотности. Обнаруженная в люцерне слабосвязанная вода объясняется большим содержанием белка и пектина. Слабосвязанная вода обеспечивает высокую активность протеолитических растительных ферментов, в том числе, и в условиях проявлявания люцерны до содержания сухого вещества 40%. А при поддержании процесса медленного подкисления, повышенная буферность создается увеличением объемов аммиака в силосуемой массе. Если проявленной люцерне не обеспечить подкисления до критического рН, то возникает риск развития клостридий, и, как следствие, образование масляной кислоты. Чтобы избежать такого, необходимо уменьшить протеолиз в кормовой массе, остановить разрастание маслянокислых бактерий в начальную фазу силосования люцерны путем повышения рН. Обеспечить это возможно проявляванием люцерны, одновременно повышая действие молочнокислого брожения, которое дает быстрое повышение активной кислотности корма до критического значения рН. Такая цель может быть достигнута, если обеспечить быстрое проявлявание люцерны до содержания сухого вещества около 40% и проводить силосование с добавлением препаратов, содержащие осмоотолерантные штаммы молочнокислых бактерий [73].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Шифр и тематика исследований: 0597-2019-0026 Разработать научные основы и эффективные технологии консервирования многолетних и однолетних трав, способы рационального использования объемистых и концентрированных кормов в составе рационов сельскохозяйственных животных и птицы, обеспечивающие эффективную биоконверсию в полноценную животноводческую продукцию, повышение продуктивности и рентабельности производства. Госзадание № 075-00586-21-01. Схему проведенных исследований можно видеть на рисунке 1.



**Рисунок 1 - Схема научных исследований**

Исследования проводили на Центральной экспериментальной базе ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса», в лаборатории хранения и консервирования кормов, в период с сентября 2016 года по июль 2021 года. Нами были изучены условия, которые улучшают сбраживаемость люцерны.

Скошенную в прокосы массу подсушивали при разных климатических условиях, добиваясь содержания сухого вещества не менее 40%. Данный процесс был разделен на 0, 4, 8, 24, и 48 часов. В зеленой и провяленной массе после указанного времени выявляли содержание сухого вещества, сахара, аммиака, яблочной, янтарной, и лимонной кислот. В исходной и провяленной массах [62] определяли активную кислотность (рН), а после определения содержания сахара и буферной емкости рассчитывали ее сахарно-буферное отношение. Провяленную зеленую массу люцерны с разным содержанием сухого вещества консервировали в лабораторных емкостях объемом 0,5 литров, снабженных устройством для определения количества выделившихся в процессе хранения газов.

Лабораторные опыты проводились по двум схемам: без внесения каких-либо добавок, а также с применением «Биотроф», в состав которого входят гомоферментативные осмоотолерантные штаммы *Lactobacillus plantarum* №.60, в 1 мл раствора содержится не менее 100 млн КОЕ. Добавку молочнокислых бактерий применяли в дозе, которую рекомендует производитель. Обработку провяленной люцерны добавкой «Биотроф» проводили следующим образом: в соответствии с инструкцией завода-изготовителя готовили рабочий раствор, навеску массы тонким слоем расстилали на подносе, опрыскивая ее из пульверизатора половиной полученной дозы рабочего раствора, затем переворачивали массу и обрабатывали раствором с другой стороны. Массу тщательно перемешивали руками и загружали в сосуд. После чего, поднос, уплотняющие устройства и руки протирали ватным тампоном, смоченным этиловым спиртом, для удаления остатков добавки. После, расстилали следующую навеску на поднос, обрабатывали раствором и проделывали вышеуказанные действия.

О стабилизации и окончании срока хранения корма в анаэробных условиях судили по прекращению выделения газов брожения. В полученном таким образом

корме определяли активную кислотность, содержание сухого вещества, сахара, аммиака и органических кислот. В результате полученных данных делали вывод насколько эффективным приемом является использование добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» при силосовании люцерны с различным содержанием сухого вещества [73].

Для определения характера течения процессов брожения, проявленную до содержания сухого вещества 39,9 и 52,5% массу консервировали в 0,5 литровых лабораторных сосудах, также создавая анаэробные условия. Консервация проходила обычным способом и с внесением кормовой добавки «Биотроф». Полученную массу вскрывали через 0, 3, 7, 15, 30 и 60 суток хранения. Далее были определены: рН, содержание сухого вещества, сахар, аммиак и органические кислоты. По результатам анализа полученных данных были сделаны выводы о скорости подкисления корма, особенности накопления аммиака и органических кислот, в зависимости от содержания сухого вещества в силосуемой массе и способа ее силосования [62].

Состав микробного сообщества на исходной проявленной массе люцерны и полученного из нее корма анализировали в динамике в молекулярно-генетической лаборатории ООО «Биотроф» (г.Санкт-Петербург) с использованием метода NGS-секвенирования. Отбор проб производили по ГОСТ ISO 6497-2014 Корма. Отбор проб. Тотальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва) согласно прилагаемой инструкции. Анализ основан на селективном детергентно-опосредованном осаждении ДНК из субстрата с применением растворов для анализа клеточных стенок, осаждения ДНК, раствора 1,2 М хлорида натрия, хлороформа. Оценку бактериального сообщества сенажа проводили методом NGS-секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, США) с применением праймеров для V3-V4 региона 16S рРНК. Прямой праймер: 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG; обратный праймер: 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTA

АТСС. Секвенирование проводили при помощи реагентов для подготовки приготовления библиотек Nextera® XT IndexKit, для очистки ПЦР-продуктов - Agencourt AMPure XP и для проведения секвенирования MiSeq® ReagentKit v2 (500 cycle). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2 x 250 п.н. Биоинформатический анализ данных был выполнен в программном обеспечении Qiime2 ver. 2020.8 (<https://docs.qiime2.org/2020.8/>). После первоначального импорта последовательностей в формат Qiime2 парные строки прочтений были выровнены. Далее произведена фильтрация последовательностей по качеству с использованием параметров настроек по умолчанию. Фильтрацию шумовых последовательностей проводили с помощью метода Deblur, при этом использовали максимальную длину последовательности обрезки, равную 250 п.н. (<https://msystems.asm.org/content/msys/2/2/e00191-16.full.pdf>). Для построения филогении de novo применяли программный пакет MAFFT, далее проводили маскированное выравнивание последовательностей. Для анализа таксономии использовали справочную базу данных Silva 138 (<https://www.arb-silva.de/documentation/release-138/>).

Для проведения физиологических опытов использовали двухслойные полиэтиленовые мешки, в которых масса корма составила 200 кг. Порцию провяленной до содержания сухого вещества около 40% зеленой массы люцерны (20 кг) расстилали тонким слоем на полиэтиленовом пологе и в нее опрыскивателем вносили положенную дозу рабочего раствора добавки «Биотроф». Массу тщательно перемешивали и переносили в мешки для силосования, где ее тщательно уплотняли. После заполнения мешков на поверхность укрытой пленкой массы укладывали груз – чугунный блин массой 10-12кг каждый, для имитации давления 2-х метрового слоя корма. Аналогичным образом, но без обработки массы добавкой молочнокислых бактерий, закладывали силос контрольного варианта. Выемку силоса производили спустя 2 месяца хранения, порциями, которые взвешивали. В процессе выемки определяли содержание сухого вещества в полученном корме и его биохимические показатели. Опыт по перевариваемости проводили на валухах романовской породы в соответствии с методическими

рекомендациями по оценке кормов на основе их переваримости [21]. Испытуемые варианты силоса скармливали в качестве единственного корма. Животные дополнительно в пищу получали поваренную соль [73].

Производственную проверку эффективности сенажирования и силосования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф» проводили в животноводческом хозяйстве КФХ ИП Михайлиди, расположенного в Республике Карачаево-Черкесия.

Люцерну изменчивую, сорта «Пастбищная 88», первого укоса, скашивали в фазе бутонизации в прокос косилкой роторной, навесной КРН 2,1. В первом случае нам было необходимо получить сенаж, для чего массу люцерны провяливали в течении 6-ти часов, получив показатель сухого вещества равный 51,05%. Во втором случае - в течении 4-х часов на силос до содержания сухого вещества 37,82%. По достижении указанного содержания сухого вещества массу сгребали в валки и подбирали с одновременным измельчением и погрузкой в транспортные средства кормоуборочным комбайном Дон 680 М. Рабочий раствор добавки «Биотроф» в силосуемую массу вносили насосом – дозатором НВУ - 3, смонтированным на шасси кормоуборочного комбайна. Сенажируемую и силосуемую массу закладывали в бетонные траншеи емкостью 300 тонн в течение двух суток и после уплотнения колесными тракторами Т 150К, герметизировали полиэтиленовой пленкой с придавливанием последней отработанными автопокрышками. Срок хранения обоих видов корма составил 4 месяца. Полученный нами таким образом силос и сенаж из люцерны скармливали в составе основного рациона растущим овцам гиссарской породы. Нормирование рационов приводили в соответствии с методическими рекомендациями А.П. Калашникова [33].

Отбор проб для проведения лабораторных анализов полученного корма производили в соответствии с ГОСТ ISO 6497-2014 Корма. Методика проведения анализов и их наименования:

- Содержание сухого вещества в корме определяли по ГОСТу 31640-2012. Высушивали навеску в сушильном шкафу при температуре +105°C до постоянного веса.

- Азот по ГОСТу 13496.4-93; Метод Кьельдаля. Данный метод определения азота в органических веществах чаще всего используется для анализа кормов и пищевых продуктов.

- Аммиак по ГОСТу 26180-84; Методом Лонге. Сущность метода заключается в перегонке аммиака из водного настоя силоса и сенажа в раствор борной кислоты при воздействии слабого основания с последующим титрованием поглощенного аммиака.

- Клетчатку по ГОСТу 31675-2012; Метод Геннеберга и Штомана. Метод основан на последовательной обработке навески испытуемой пробы растворами кислоты и щелочи, количественном определении органического остатка весовым методом.

- Сырой жир по ГОСТ 32905-2014. Определение содержания сырого жира (метод Сокслета); Сущность метода заключается в экстракции сырого жира из анализируемой пробы петролейным эфиром, удалении растворителя путем отгонки и сушки, взвешивании полученного остатка.

- Сырую золу по ГОСТу 32933-2014. Рассчитывали по разности навесок, которые сжигали в муфельной печи;

- Сахар по методу Бертрана;

- Буферная ёмкость была определена методом, который разработал Ф.Вайсбах;

- Содержание органических кислот определяли с помощью капиллярного электрофореза;

- Активная кислотность определялась при помощи потенциометра рН-150 М [62].

Статистическую обработку проводили с использованием  $t$  – критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при  $P \leq 0,05$ . Более подробно методика проведения опытов описана в соответствующих разделах [65].



## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Зависимость сбраживаемости люцерны от скорости ее провяливания

Проведенные лабораторные исследования показали (табл. 1), что сохранность сахара, скопление аммиака в обезвоженной массе люцерны, а в результате, и ее сбраживаемость во многом формируется интенсивностью провяливания растений. Повышение сбраживаемости люцерны, то есть увеличение ее сахаро-буферного отношения, наблюдается лишь при кратковременном сроке провяливания растений до «сенажной» влажности. Это обусловлено заметным увеличением содержания сахара в сухом веществе провяленной люцерны и отсутствием накопления в ней аммиака, увеличивающего буферную емкость растений [65]. Некоторая тенденция увеличения рН в провяленной массе в данном случае объясняется увеличением сухого вещества, которое через 4 часа провяливания уже достигло значения 40,18%. Следствием этого является закрытие устьиц растений. А, поскольку рН клеточного сока зависит от количества, растворенного в нем углекислого газа, который поступает в растения через устьицы [98], то, естественно, что начавшееся углекислотное голодание приводит к некоторому увеличению рН растительного сока [72, 65]. При увеличении продолжительности провяливания люцерны до одних суток содержание сахара в сухом веществе растений снижается примерно на 5% по сравнению с его содержанием в свежескошенной массе, что приводит к некоторому снижению сахаро-буферного отношения в растениях (с 1,0 до 0,8). Но сколько-нибудь заметного увеличения накопления аммиака в сухом веществе люцерны и в этом случае не наблюдается. Особо следует подчеркнуть то, что невысокие потери сахара и отсутствие образования дополнительного количества аммиака при суточном обезвоживании люцерны отмечается лишь тогда, когда через 4 часа провяливания содержание сухого вещества в растениях уже достигает 36% и более [72].

**Таблица 1 – Изменение сахара, аммиака и рН в зависимости от содержания сухого вещества. Определение сахаро-буферного отношения в массе люцерны (1)**

| Показатели      |               | Содержание сухого в-ва, % | Содержание в сухом в-ве, % |        |                           |      |
|-----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|--------|---------------------------|------|
|                 |               |                           | Сахар                      | Аммиак | Сахаро-буферное отношение | рН   |
| Срок проявления | Зелёная масса | 24,84                     | 4,51                       | 0,03   | 1                         | 5,73 |
|                 | 4 часа        | 40,18                     | 4,95                       | 0,02   | -                         | 5,81 |
|                 | 8 часов       | 47,55                     | 5,19                       | 0,02   | 1,1                       | 5,97 |
|                 | 24 часа       | -                         | -                          | -      | -                         | -    |
|                 | 48 часов      | -                         | -                          | -      | -                         | -    |

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем\*, разность достоверна при \* -  $P < 0,05$

**Таблица 1.1 – Изменение сахара, аммиака и рН в зависимости от содержание сухого вещества. Определение сахаро-буферного отношения в массе люцерны (2)**

| Показатели      |               | Содержание сухого в-ва, % | Содержание в сухом в-ве, % |        |                            |      |
|-----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|--------|----------------------------|------|
|                 |               |                           | Сахар                      | Аммиак | Сахарно-буферное отношение | рН   |
| Срок проявления | Зелёная масса | 25,76                     | 4,15                       | 0,02   | 1                          | 5,77 |
|                 | 4 часа        | 36,18                     | 4,67                       | 0,02   | -                          | 5,86 |
|                 | 8 часов       | 37,76                     | 5,01                       | 0,02   | -                          | 5,79 |
|                 | 24 часа       | 49,11                     | 3,91                       | 0,02   | 0,8                        | 5,92 |
|                 | 48 часов      | -                         | -                          | -      | -                          | -    |

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем\*, разность достоверна при \* -  $P < 0,05$

**Таблица 1.2 – Изменение сахара, аммиака и pH в зависимости от содержания сухого вещества. Определение сахаро-буферного отношения в массе люцерны (3)**

| Показатели      |               | Содержание сухого в-ва, % | Содержание в сухом в-ве, % |        |                            |      |
|-----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|--------|----------------------------|------|
|                 |               |                           | Сахар                      | Аммиак | Сахарно-буферное отношение | pH   |
| Срок проявления | Зелёная масса | 20,75                     | 6,17                       | 0,02   | 1,5                        | 5,65 |
|                 | 4 часа        | 24,59                     | 5,45                       | 0,02   | -                          | 5,75 |
|                 | 8 часов       | 26,52                     | 5,77                       | 0,02   | -                          | 5,62 |
|                 | 24 часа       | 33,89                     | 5,90                       | 0,03   | -                          | 5,94 |
|                 | 48 часов      | 51,30                     | 4,48                       | 0,03   | 1                          | 6,05 |

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем, \*разность достоверна при \* -  $P < 0,05$

**Таблица 1.3 – Изменение сахара, аммиака и pH в зависимости от содержания сухого вещества. Определение сахаро-буферного отношения в массе люцерны (3)**

| Показатели      |               | Содержание сухого в-ва, % | Содержание в сухом в-ве, % |        |                            |      |
|-----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|--------|----------------------------|------|
|                 |               |                           | Сахар                      | Аммиак | Сахарно-буферное отношение | pH   |
| Срок проявления | Зелёная масса | 22,03                     | 1,59                       | 0,03   | 0,3                        | 6,16 |
|                 | 4 часа        | 26,60                     | 2,26                       | 0,03   | -                          | 6,03 |
|                 | 8 часов       | 25,08                     | 2,19                       | 0,03   | -                          | 6,03 |
|                 | 24 часа       | 28,65                     | 1,47                       | 0,04   | -                          | 6,23 |
|                 | 48 часов      | 40,96                     | 1,51                       | 0,05   | 0,2                        | 6,20 |

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем\*, разность достоверна при \* -  $P < 0,05$

Аналогичные данные были получены Г.А. Богдановым и О.Е. Привало [6]. По их данным при проявлении люцерны около пяти часов в прокосах, при достижении в ней сухого вещества 38,92%, содержание сахара возросло с 7,33 до 8,32%, то есть на 13,5% [73]. При 20-ти часовом проявлении люцерны находящийся сахар в ее сухом веществе практически не изменился и составил

8,73%, однако при еще большем сроке провяливания растений сахар снижался до 5,97%.

Исходя из полученных нами данных, можно заключить, что при интенсивном обезвоживании люцерны крайним сроком ее провяливания до «сенажной» влажности, при котором еще не происходит сколько-нибудь значительного ухудшения технологических свойств зеленой массы, являются одни сутки. Если оставить люцерну провяливаться до 2-х суток, даже при условии, что содержание сухого вещества в ней в конечном счете составляет 51,30%, сбраживаемость растений ухудшается. С одной стороны, это объясняется высокими потерями сахара, содержание которого из-за высокой интенсивности дыхания растений в условиях медленного повышения содержания сухого вещества начинает уменьшаться с самого начала провяливания люцерны и через 2-е суток уже снижается почти на 38%. А с другой – накоплением в провяленной массе большого количества аммиака, содержание которого возрастает в 1,5 раз по сравнению с исходной зеленой массой. Последнее приводит к заметному подщелачиванию провяленной массы, рН которой увеличивается по сравнению со свежескошенной массой уже на 0,4 единицы в то время, как при интенсивном провяливании люцерны в течении 8-24 часов, на 0,24-0,15 единицы. Еще больше аммиака накапливается и, следовательно, в большей степени подщелачивается масса тогда, когда из-за медленного обезвоживания она не достигает «сенажной» влажности даже через 2-е суток провяливания. Выявлены случаи [75] влияния плохих погодных условий на достижения определенного показателя сухого вещества. Например, при провяливании скошенного козлятника восточного, который также богат сырым протеином, в плохих погодных условиях влажность 50% обеспечивалась только спустя трое суток. В таком состоянии показатель рН был зафиксирован на отметке 7,0, а запах аммиака четко определялся в провяленной массе. Если не обеспечивать полученный корм нужным подкислением, даже в условиях хорошего провяливания зеленой массы, корм портится. Показатели масляной кислоты в полученном корме превышали 3% [72].

Небольшое количество аммиака содержится даже в свежескошенной люцерне, что объясняется тем, что в процесс дезаминирования включаются и аминокислоты, на фоне недостатка сахара [91, 65].

Дальнейшее накопление аммиака говорит о том, что в скошенной люцерне замедляются процессы синтеза аспарагина и происходит дальнейшее накопление аммиака [25, 72], то есть при медленном и продолжительном проявлении растений их жизнедеятельность начинает постепенно угасать.

### **3.2. Биологические показатели сахара, аммиака и масляной кислоты при проявлении, сенажировании и силосовании люцерны**

Как было установлено в предыдущем разделе, интенсивное обезвоживание люцерны на солнце в прокосах в течении 4-8 часов до «сенажной влажности» приводит к увеличению содержания сахара [73] в такой массе, то есть к улучшению ее сбраживаемости. Это явление многие авторы [25, 23, 10] связывают с гидролизом содержащегося в растениях крахмала. В тоже время сами сторонники данной точки зрения отмечают [27], что при проявлении трав в них во всех без исключения случаях образуется не мальтоза, а сахароза, которая, как известно, является основным продуктом фотосинтеза. Очевидно, не желая отходить от общепринятой точки зрения, авторы объясняют это тем, что при распаде крахмала, сахароза образуется не первичным, а вторичным путем, то есть в результате синтеза ее из глюкозы и фруктозы. Иными словами, как утверждают ученые, мальтоза гидролизуется на две молекулы глюкозы, часть которой превращается в растениях во фруктозу. Из глюкозы и фруктозы затем синтезируется сахароза. Тем не менее, важно отметить, что и при таком объяснении исследователи все же признают возможность образование сахарозы в проявленной массе именно в результате возникновения синтетических процессов.

Не совсем верное толкование данного вопроса сложилось, по-видимому, на основе имеющихся к тому времени теоретических представлений. Так, было установлено [98], что фотосинтез замедляется уже при утрате растениями влаги

свыше 15-20%, тогда как дыхание интенсивно протекает и при более высокой степени проявляемости растений. В связи с этим мы предполагаем, что небыстрый фотосинтез на фоне усиленного дыхания не может привести к столь значительному образованию сахара. Дальнейшие исследования показали [36], что при обезвоживании в первую очередь прекращается рост растений, затем угнетается фотосинтез и, в последнюю очередь, подавляется дыхание растительных клеток. Прекращение роста приводит к удержанию оттока образовавшегося при фотосинтезе сахара в иные органы растений, прежде всего, в их корневую систему, которая у скошенных растений уже отторгнута от вегетативной массы, что визуально и проявляется увеличением содержания сахара в последней. Данное явление является защитным и имеет важное значение при возделывании трав в условиях засухи. В этом примере, несмотря на прекращение роста вегетативной массы, корневая система растений, и прежде всего их ростовая зона располагается в сравнительно благоприятных условиях и берет в использование образовавшийся в результате фотосинтеза в листьях сахар на свой усиленный рост, позволяющий растениям освоить глубокие, и, стало быть, и более обводненные участки почвы.

Для экспериментальной проверки данного предположения нами был проведен опыт, в котором зеленую массу люцерны проявляли в течении 7-ми часов чтобы достигнуть содержания сухого вещества 47,12%. Было установлено, что, наряду с образованием сахара, в сухом веществе проявленной массы отмечалось и заметное увеличение органических кислот, а именно, яблочной [62] и лимонной. В некотором количестве была выявлена и масляная кислота. Ощутительное увеличение содержания в проявленной массе яблочной и лимонной кислот указывают на перестройку дыхательного аппарата растений для работы в условиях обезвоживания, сопровождающегося прогрессирующей гипоксией. В этом случае двойной путь утилизации малата с помощью малатдегидраз и малик-энзимов значительно снижает зависимость растений от гликолиза при образовании энергии и синтезе углеводов [54], позволяя получать лимонную кислоту непосредственно из яблочной.

**Таблица 2 - Результаты биохимических исследований свежескошенной и провяленной люцерны**

| Результаты             | Содержание сухого вещества, % | Аммиак | Сахар             | Органические кислоты |          |                   |                   |                   | pH                |
|------------------------|-------------------------------|--------|-------------------|----------------------|----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                        |                               |        |                   | Молочная             | Уксусная | Масляная          | Яблочная          | Лимонная          |                   |
| Свежескошенная люцерна | 23,91±                        | 0,02±  | 3,64±             | 0,05±                | 0,00±    | 0,00±             | 0,46±             | 0,05±             | 5,67±             |
|                        | 0,23                          | 0,00   | 0,07              | 0,01                 | 0,00     | 0,00              | 0,08              | 0,01              | 0,01              |
| Провяленная люцерна    | 47,12±                        | 0,02±  | 4,66±             | 0,07±                | 0,01±    | 0,03±             | 0,96±             | 0,19±             | 5,97±             |
|                        | 0,21 <sup>1</sup>             | 0,01   | 0,02 <sup>1</sup> | 0,03                 | 0,01     | 0,01 <sup>1</sup> | 0,13 <sup>1</sup> | 0,02 <sup>1</sup> | 0,01 <sup>1</sup> |

Примечание: <sup>1</sup>разница достоверна по отношению к свежескошенной массе; <sup>2</sup>других органических кислот не обнаружено

Иными словами, в этих условиях цикл Кребса работает по укороченному пути, что обеспечивает нормальное функционирование растений в условиях недостатка кислорода. О том, что именно указанные выше изменения приводят к увеличению содержания сахара при провяливании растений в прокосах на солнце, свидетельствует то, что при провяливании люцерны в темноте не увеличение содержания сахара, ни увеличение накопления в сухом веществе яблочной и лимонной кислот уже не наблюдается [56]. Причина этого кроется в том, что яблочная кислота или малат образуется при гликолитическом распаде крахмала, который на свету очень быстро синтезируется из сахарозы, образующейся при фотосинтезе, и откладывается в хлоропластах листьев [91]. Это так называемый ассимиляционный или транзиторный крахмал, который быстро расходуется растениями для дыхания и биосинтеза других соединений [12]. Таким образом, непременным условием увеличения содержания сахара при провяливании люцерны является сохранение жизнедеятельности ее фотосинтезирующих клеток, которые обеспечиваются за счет адаптации растений к условиям обезвоживания. Следует, однако, отметить, что провяленная до содержания сухого вещества 47,12% люцерна, несмотря на относительно высокую жизнедеятельность, все же

уже начинает страдать от гипоксии. Об этом свидетельствует наличие в ней масляной кислоты, которая, хотя и в малом количестве, но все же уже присутствует в провяленной массе. В отличие от спиртового или молочнокислого брожения, которые при дефиците кислорода могут в той или иной степени протекать в живых растениях, способность растений осуществлять маслянокислое брожение экспериментально не доказано [80]. В тоже время хорошо известно, что дыхание является связующим элементом в процессе обмена жиров и углеводов. Причем именно жир является источником энергии при фотосинтезе клеток, он не транспортируется в другие органы растений [91], поэтому и является основанием факта появления масляной кислоты в бескислородных условиях при его окислении.

К настоящему времени негативная сторона окисления жирных кислот в условиях прогрессирующей гипоксии достаточно хорошо изучена не на растительных, а на животных организмах. Установлено [45], что она связана со значительным нарастанием уровня НАДН в митохондриях, тормозящего окисление НАД-зависимых субстратов. В результате отмечается избыточное накопление ацетил-КоА продукта В-окисления жирных кислот, дальнейшее окисление которого затруднено по причине того, что прирост НАДН вызывает быстрое восстановление оксалоацетата до малата. В итоге ацетил – КоА остается без партнера, необходимого для входа в цикл трикарбоновых кислот. Это приводит к тому, что вместо полного окисления ацетил-КоА становится источником кетоновых тел, жирных кислот и холестерина.

При осуществлении процесса провяливания люцерны важным вопросом служит исключение накопления большого количества аммиака, так как это приводит к увеличению буферной емкости силосуемой массы и, как следствие, к ухудшению ее сбраживаемости. Из данных, представленных в Таблице 3, следует, что при 7-ми часовом провяливании люцерны до сенажной влажности содержание аммиака в ее сухом веществе остается практически на одном уровне.

Это также свидетельствует о нормальной жизнедеятельности растительной массы, обуславливающей возникновение в ней синтетических процессов, при



течении которых аммиак, образовавшийся при дезаминировании аминокислот, расходуется на синтез амидов.

Изучение процессов, происходящих в самом начале сенажирования люцерны, показало, что они имеют некоторые сходства с процессами, возникающими при обезвоживании растений в прокосах. В первые двое суток сенажирования проявленной до содержания сухого вещества 47,12% массы, отмечалось дальнейшее увеличение содержания сахара и яблочной кислоты ( $P \leq 0,05$ ). Последнее указывает на то, что и после изоляции проявленной массы от воздуха в ней отмечалась дальнейшая активизация малатдегидрогеназной системы, обуславливающей как сохранение дыхания растительных клеток в экстремальных условиях, так и мобилизацию запасных питательных веществ растений, обеспечивающих этот процесс питательными субстратами. Данное положение согласуется с результатами исследований других авторов. По мнению украинских исследователей, [22] люцерна, проявленная до содержания сухого вещества 40% и более, после помещения в хранилище сохраняет способность осуществлять дыхание в течении первых 2-3 суток. На создание в сенажируемой массе люцерны анаэробных условий указывает и появление в корме спустя 2-7 суток хранения янтарной кислоты.

Для того, чтобы исключить возможность образование этого соединения в результате брожения сенажируемой массы, последнюю, наряду с обычным сенажированием, в лабораторных условиях, мы закладывали в сосуды и с добавкой толуола. Последний, как известно [28], подавляет микробиологические процессы, не оказывая отрицательного влияния на работу ферментов. Результаты показали, что образование янтарной кислоты в сходных количествах наблюдалось как при обычном сенажировании люцерны, так и с внесением толуола. Роль янтарной кислоты заключается, прежде всего, в том, что энергетическая мощность образования АТФ при ее окислении в сотни раз превосходит все другие системы энергообразования организма [82].

**Таблица 3 – Динамика биохимических показателей люцерны сенажной влажности по срокам хранения/сутки**

| Срок силосо-<br>вания,<br>суток | Содержание в сухом веществе без добавок, % |                            |                            |                            |                            |                            |                            |                            |                            |
|---------------------------------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                 | рН   | Аммиак                     | Сахар                      | Органические кислоты       |                            |                            |                            |                            |                            |
|                                 |  |                            |                            | Молочная                   | Уксусная                   | Масляная                   | Янтарная                   | Яблочная                   | Лимонная                   |
| 0                               | 5,97±<br>0,01                              | 0,02±<br>0,00              | 4,66±<br>0,02              | 0,07±<br>0,03              | 0,01±<br>0,01              | 0,03±<br>0,01              | 0,00±<br>0,00              | 0,96±<br>0,13              | 0,19±<br>0,02              |
| 2                               | 5,95±<br>0,01                              | 0,04±<br>0,01 <sup>1</sup> | 5,26±<br>0,07 <sup>1</sup> | 0,37±<br>0,05 <sup>1</sup> | 0,12±<br>0,02 <sup>1</sup> | 0,14±<br>0,02 <sup>1</sup> | 0,10±<br>0,01 <sup>1</sup> | 2,72±<br>0,06 <sup>1</sup> | 0,44±<br>0,03 <sup>1</sup> |
| 7                               | 5,46±<br>0,03 <sup>2</sup>                 | 0,06±<br>0,02 <sup>2</sup> | 5,52±<br>0,05 <sup>2</sup> | 1,59±<br>0,10 <sup>2</sup> | 0,15±<br>0,01 <sup>2</sup> | 0,13±<br>0,01              | 0,13±<br>0,01 <sup>2</sup> | 1,59±<br>0,06 <sup>2</sup> | 0,38±<br>0,02 <sup>2</sup> |
| 14                              | 4,56±<br>0,01 <sup>3</sup>                 | 0,08±<br>0,01 <sup>3</sup> | 2,40±<br>0,08 <sup>3</sup> | 5,64±<br>0,14 <sup>3</sup> | 0,21±<br>0,01 <sup>3</sup> | 0,14±<br>0,02              | 0,16±<br>0,01              | 1,59±<br>0,07 <sup>3</sup> | 0,17±<br>0,01 <sup>3</sup> |
| 30                              | 4,60±<br>0,02                              | 0,07±<br>0,01              | -                          | 5,70±<br>0,09 <sup>4</sup> | 0,26±<br>0,01 <sup>4</sup> | 0,10±<br>0,00              | 0,17±<br>0,00              | 1,46±<br>0,04              | 0,15±<br>0,01              |
| Срок силосо-<br>вания,<br>суток | Содержание в сухом веществе с толуолом, %  |                            |                            |                            |                            |                            |                            |                            |                            |
|                                 | рН   | Аммиак                     | Сахар                      | Органические кислоты       |                            |                            |                            |                            |                            |
|                                 |  |                            |                            | Молочная                   | Уксусная                   | Масляная                   | Янтарная                   | Яблочная                   | Лимонная                   |
| 0                               | 5,94±<br>0,01                              | 0,02±<br>0,00              | 4,66±<br>0,02              | 0,07±<br>0,03              | 0,01±<br>0,01              | 0,03±<br>0,01              | 0,00±<br>0,00              | 0,96±<br>0,13              | 0,19±<br>0,02              |
| 2                               | 5,75±<br>0,02                              | 0,04±<br>0,01 <sup>1</sup> | 5,19±<br>0,05 <sup>1</sup> | 0,07±<br>0,01              | 0,00±<br>0,00              | 0,15±<br>0,01 <sup>1</sup> | 0,00±<br>0,00              | 3,28±<br>0,08 <sup>1</sup> | 0,63±<br>0,02 <sup>1</sup> |
| 7                               | 5,67±<br>0,01 <sup>2</sup>                 | 0,06±<br>0,01 <sup>2</sup> | 5,46±<br>0,03 <sup>2</sup> | 0,05±<br>0,00 <sup>2</sup> | 0,08±<br>0,02 <sup>2</sup> | 0,13±<br>0,01              | 0,09±<br>0,02 <sup>2</sup> | 2,43±<br>0,16 <sup>2</sup> | 0,40±<br>0,02 <sup>2</sup> |
| 14                              | 5,70±<br>0,02                              | 0,06±<br>0,01 <sup>3</sup> | 4,56±<br>0,01 <sup>3</sup> | 0,14±<br>0,02 <sup>3</sup> | 0,07±<br>0,01              | 0,10±<br>0,01              | 0,08±<br>0,01 <sup>3</sup> | 1,83±<br>0,11 <sup>3</sup> | 0,44±<br>0,03              |
| 30                              | 5,63±<br>0,01                              | 0,06±<br>0,01              | 4,60±<br>0,02 <sup>4</sup> | 0,31±<br>0,01 <sup>4</sup> | 0,08±<br>0,01              | 0,15±<br>0,02              | 0,08±<br>0,01              | 2,12±<br>0,14              | 0,34±<br>0,02              |

Примечание: <sup>1</sup>Разница достоверна по отношению к зеленой массе.  $p \leq 0,05$ . <sup>2</sup>Разница достоверна по отношению к массе 2-х суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>3</sup>Разница достоверна по отношению к массе 7-ми суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>4</sup>Разница достоверна по отношению к массе 14-ти суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>5</sup>Других кислот не обнаружено

Однако, главной особенностью данного соединения является то, что в условиях аноксии дыхательная цепь митохондрий уже не может принять на себя водород ни от какого-либо другого соединения, кроме янтарной кислоты. То есть, как и при глубоком проявлении люцерны, в данном случае, дальнейшую активизацию получает адаптационный механизм, работающий на последних

этапах цикла трикарбоновых кислот. Но, для его функционирования при прогрессирующем анаэробнозе уже требуется субстрат, который с одной стороны обеспечивал бы растения кислородом, а с другой стороны являлся бы источником образования янтарной кислоты. Таким субстратом и служит яблочная кислота, накопление которой по мере ухудшения снабжения проявленной массы люцерны (при сильном обезвоживании и в начале сенажирования) кислородом значительно увеличивается. В данном случае при обратном течении цикла трикарбоновых кислот из яблочной кислоты сначала образуется фумарат, который восстанавливается до сукцината. Важнейшее значение имеет то, что восстановление фумарата в сукцинат сопровождается образованием АТФ. Это означает, что реакция обращения в системе малат-фумарат-сукцинат обеспечивает окислительное фосфорилирование даже в условиях анаэробноза [84, 89]. Однако, указанные реакции приводят к истощению организма, а, следовательно, не могут протекать в течение продолжительного времени. Выявленный нами факт наличия в сухом веществе сенажируемой люцерны с внесением толуола люцерне 0,09% янтарной кислоты уже свидетельствует о выходе ее из митохондрий и служит показателем создания в корме глубокого анаэробноза, ведущего к гибели организма. При нормальном дыхании растений отмечающимся в процессе проявлявания люцерны на сенаж, янтарную кислоту не обнаруживали. Это объясняется тем, что в данном случае она образуется только в митохондриях, где моментально и сгорает. Выше уже отмечалось, что в начале сенажирования люцерны вследствие мобилизации запасных питательных веществ заметно возрастает содержание сахара в ее сухом веществе. Однако природа данного явления основанная, как уже отмечалось, на возможности гидролиза, содержащегося в растениях крахмала, кажется уже недостаточно обоснованной. Дело в том, что люцерна, убранная в ранней фазе вегетации, не содержит запасного крахмала [46], а образующийся при фотосинтезе транзиторный крахмал очень быстро расходуется на синтез малата и обеспечения дыхания растений. Между тем, люцерна, как и другие кормовые травы, содержит много гемицеллюлозы, которая, с одной стороны, является материалом для образования клеточных стенок, а с

другой - служит запасными питательными веществами [77]. На то, что именно гемицеллюлозы, а не крахмал, в данном случае являются основным источником образования сахара, указывают и уже имеющиеся к настоящему времени экспериментальные данные. В частности, было установлено [6], что при силосовании провяленной до содержания сухого вещества 30-37% трав обычным способом и с внесением добавки толуола в их сухом веществе отмечается некоторое увеличение содержания сахара (с 7,79 до 8,10 и 8,15%, при силосовании клевера, и с 3,65 до 4,10, 4,14% при силосовании крапивы). Однако в гораздо большей степени образование сахара отмечается тогда, когда повышение содержания сухого вещества достигалось не в результате провяливания растений, а за счет силосования их в смеси с соломой [5]. Согласно имеющимся данным [23], солома не имеет даже следов крахмала, зато характеризуется наличием очень большого количества гемицеллюлоз. Значение гемицеллюлоз в образовании сахара в провяленной до содержания сухого вещества 28,9% люцерне экспериментально было доказано японскими исследователями [125]. По их мнению, активный гидролиз гемицеллюлоз происходит лишь в первые пять суток силосования, когда активная кислотность корма изменяется незначительно. Данное положение полностью согласуется и с результатами наших исследований, в которых достоверно ( $P \leq 0,05$ ) увеличение содержания сахара в сухом веществе обычного и приготовленного с толуолом сенажа отмечалось лишь в первую неделю ферментации корма, когда его рН находился на уровне 5,46-5,67.

Развивающаяся гипоксия, заканчивающаяся в корме созданием анаэробных условий, обусловила и дальнейшее накопление в ней масляной кислоты, содержание которой в сухом веществе сенажа спустя двое суток его хранения в сосудах достигло значения 0,14-0,15%.

После гибели растений ее содержание стабилизировалось и оставалось постоянным в течение всего последующего срока хранения. О вероятной причине накопления масляной кислоты в сухом веществе еще живых растений в условиях недостатка кислорода мы уже говорили выше. На чисто биохимический процесс

образования масляной кислоты указывает и одинаковая ее динамика в обычном и в приготовленном с добавкой толуола сенаже в динамике по срокам хранения.

Накопление аммиака в сухом веществе сенажа в количестве 0,06% отмечалось лишь в течение первых семи дней хранения без доступа воздуха [62]. После чего, его содержание также стабилизировалось и оставалось постоянным в течение всего срока хранения корма. Одинаковая динамика аммиака при сенажировании люцерны обычным способом и с добавлением толуола позволяет заключить, что главной причиной его образования служит протеолиз. Следует, однако, отметить, что согласно общепринятому представлению [25], в условиях анаэробного афтолиза при отсутствии микробиологических процессов, гидролиз белка ограничивается образованием аминокислот, поскольку биохимическое дезаминирование последних в таких условиях ранее считалось невозможным. Однако, В. Л. Критович [36] вполне допускает возможность и биохимического дезаминирования образовавшихся при гидролизе белка аминокислот. По его мнению, у высших растений основным путем дезаминирования является окислительное дезаминирование, при котором аминокислоты, окисляясь, образуют соответствующую кетокислоту и аммиак. Отнятый от аминокислоты водород затем окисляется кислородом воздуха до воды. Очевидно, по такому пути происходит накопление аммиака при провяливание растений и в самом начале их сенажирования, когда растительная масса еще не утратила способность дышать. Возможность накопления некоторого количества аммиака под влиянием растительных ферментов экспериментально доказал и сам А. А. Зубрилин [25]. Для этого он провел опыт по силосованию клевера лугового с добавлением толуола. Корм хранился в анаэробных условиях 18 суток. Было установлено, что при добавке толуола, при помощи которого исключалось развитие всех бактерий, произошло уменьшение количества белкового азота с 80,19 до 69,70% и соответственно возросло количество азота аминогруппы (с 18,74 до 25,43%) и аммиака (с 0,87 до 4,87%).

Зарубежные исследователи также считают, что распад белка в силосуемом корме протекает по двум основным путям [102]. Растительные протеазы

доминируют в первую фазу силосования, обуславливая распад белка, главным образом, до полипептидов и свободных аминокислот. Тогда как микробные ферменты играют основную роль в дезаминировании аминокислот с образованием аммиака. Кроме того, признается, что микробные ферменты могут вызывать дальнейший гидролиз белка в течении всего срока силосования массы. Возвращаясь к данным Таблицы 3 можно заключить, что при сенажировании проявленной до содержания сухого вещества 47,12% люцерны, основной причиной накопления аммиака в корме служит гидролиз белка с последующим дезаминированием образовавшихся аминокислот с образованием небольшого количества аммиака. В то время как влияние микробов на этот процесс весьма ограничено.

Несколько иная картина наблюдается при силосовании люцерны с содержанием сухого вещества 33,19% [62] (табл. 4).

**Таблица 4 – Динамика биохимических показателей люцерны, проявленной на силос, показатель СВ 33,19%**

| Срок силосования, | Содержание в сухом веществе без добавок, % |                            |                            |                            |                            |                            |                             |                            |                            |
|-------------------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                   | рН   | Аммиак                     | Сахар                      | Органические кислоты       |                            |                            |                             |                            |                            |
|                   |  |                            |                            | Молочная                   | Уксусная                   | Масляная                   | Янтарная                    | Яблочная                   | Лимонная                   |
| 0                 | 5,90±<br>0,03                              | 0,04±<br>0,00              | 2,43±<br>0,06              | 0,08±<br>0,01              | 0,00±<br>0,00              | 0,00±<br>0,00              | 0,00±<br>0,00               | 2,50±<br>0,18              | 0,49±<br>0,04              |
| 2                 | 5,97±<br>0,02                              | 0,06±<br>0,00 <sup>1</sup> | 3,84±<br>0,03 <sup>1</sup> | 0,09±<br>0,01              | 0,00±<br>0,00              | 0,00±<br>0,00              | 0,00±<br>0,00               | 2,42±<br>0,10              | 0,39±<br>0,05              |
| 7                 | 5,78±<br>0,02 <sup>2</sup>                 | 0,08±<br>0,00 <sup>2</sup> | 3,05±<br>0,10 <sup>2</sup> | 2,85±<br>0,30 <sup>2</sup> | 0,49±<br>0,04 <sup>2</sup> | 0,00±<br>0,00              | 0,00±<br>0,00               | 1,61±<br>0,13 <sup>2</sup> | 0,45±<br>0,05 <sup>2</sup> |
| 14                | 5,09±<br>0,03 <sup>3</sup>                 | 0,19±<br>0,01 <sup>3</sup> | 0,19±<br>0,03 <sup>3</sup> | 7,33±<br>0,30 <sup>3</sup> | 1,13±<br>0,05 <sup>3</sup> | 0,13±<br>0,03 <sup>3</sup> | 0,57±<br>0,02 <sup>3</sup>  | 1,83±<br>0,11 <sup>3</sup> | 0,12±<br>0,01 <sup>3</sup> |
| 30                | 5,04±<br>0,03                              | 0,33±<br>0,01 <sup>4</sup> | 0,10±<br>0,00 <sup>4</sup> | 8,67±<br>0,12 <sup>4</sup> | 1,59±<br>0,14 <sup>4</sup> | 0,25±<br>0,02 <sup>4</sup> | 30,84±<br>0,05 <sup>4</sup> | 2,26±<br>0,02              | 0,12±<br>0,01              |

Примечание: <sup>1</sup>Разница достоверна по отношению к зеленой массе,  $P \leq 0,05$ . <sup>2</sup>Разница достоверна по отношению к массе 2-х суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>3</sup>Разница достоверна по отношению к массе 7-ми суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>4</sup>Разница достоверна по отношению к массе 14 –ти суточной ферментации,  $P \leq 0,05$ . <sup>5</sup>Других кислот не обнаружено

Как и при сенажировании, при силосовании проявленной до указанного содержания сухого вещества люцерны также отмечалось достоверное ( $P \leq 0,05$ )

увеличение содержания сахара в сухом веществе растений спустя 2-е суток силосования, то есть в период, когда в массе еще не происходило никакого брожения, а ее рН находился на уровне 5,90-5,97. Однако, в отличие от сенажирования, это уже протекало при неизменяющемся содержании яблочной кислоты в силосуемой массе. Не исключено, что это обусловлено и без того уже очень высоким содержанием яблочной кислоты в провяленной массе, что обеспечивало ее нормальным снабжением кислородом. Об этом, в частности, свидетельствует отсутствие какого-либо количества масляной кислоты в провяленной массе. Отсутствие увеличения содержания в сухом веществе корма яблочной кислоты в начале силосования, которая, как уже отмечалось в случае с сенажированием, может быть результатом восстановления оксалоацетата, не вызывало накопления какого-либо количества масляной кислоты в течение всей первой недели силосования. Отметим, что, несмотря на относительно невысокое содержание сухого вещества в силосуемой массе люцерны, процесс брожения в ней в этот период протекал очень вяло. Накопление масляной кислоты началось лишь на 14 сутки силосования и было связано с развитием в корме протеолитических клостридий. Об этом свидетельствует и накопление аммиака в сухом веществе силоса, которое, по сути, стало возрастать одновременно с началом образования в корме масляной кислоты. При этом, как показало сенажирование указанной массы с толуолом, аммиак в количестве 0,04-0,06% в сухом веществе образовывался лишь в первые двое суток силосования. После чего на указанном уровне оставался в течение всего срока сенажирования. Сравнивая результаты, полученные при обычном силосовании провяленной до содержания сухого вещества 33,19% люцерны с ее сенажированием с толуолом, можно заключить, что, в этом случае уже лишь пятая часть образовавшегося в корме аммиака является следствием гидролиза белка. Остальное же его количество – результат жизнедеятельности нежелательных при силосовании бактерий. По этой причине обычное силосование, провяленной до указанного содержания сухого вещества люцерны уже не приводит к получению корма, стабильного при хранении. Несмотря на имеющее место образования сахара, даже его возросшего количества уже не хватает для

обеспечения нужного подкисления корма, в результате его рН обычно не снижается ниже 5,0. Виной тому является значительное накопление в корме аммиака, которое возрастает почти в пять раз, по сравнению с его содержанием в сенаже из провяленной до содержания сухого вещества 47,12% люцерны. В то же время, медленное развитие микробиологических процессов в силосе из провяленной люцерны, обуславливающих начало порчи корма лишь спустя две недели после закладки его на хранение, создает предпосылки для эффективного применения препаратов молочнокислых бактерий. Целесообразность применения последних связана с возможностью быстрого подкисления корма до предела, исключающего развитие нежелательных при силосовании бактерий, и, следовательно, обеспечение стабильности корма при хранении.

Совершенно недопустимым является силосование люцерны в свежескошенном виде. Из данных таблицы 5 отчетливо следует то, что в этом случае в корме неизбежно возникает процесс гниения, обуславливающий его полную порчу. К такому выводу можно прийти на основе сравнения результатов, полученных при обычном силосовании люцерны с содержанием сухого вещества 18,59% и ее силосованием с толуолом.

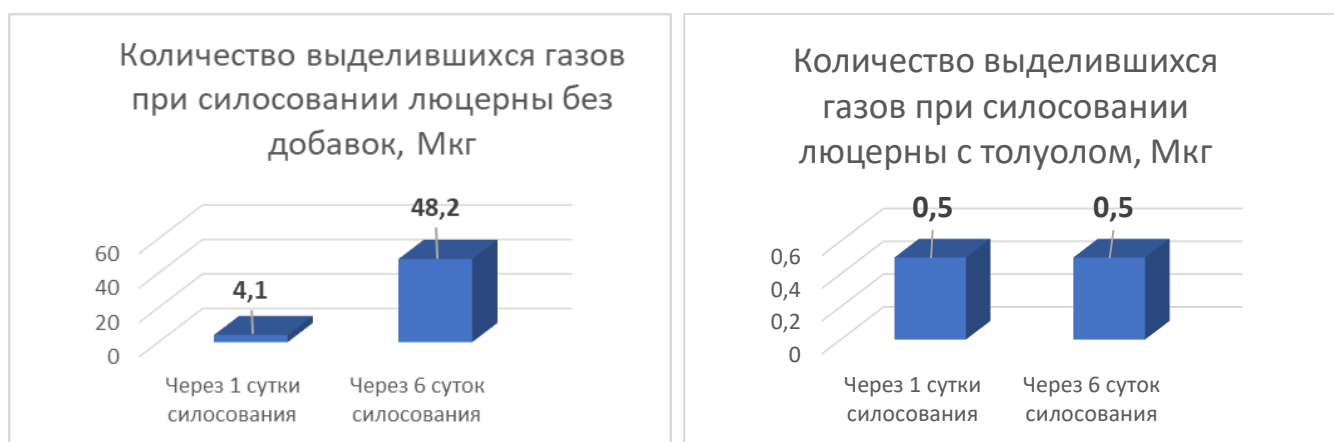
**Таблица 5 - Биохимические показатели силоса из люцерны с содержанием СВ 18,59% в сравнении с ее силосованием, с применением толуола**

| Содержание в сухом веществе силоса, % |             |                        |                        |                        |                        |                        |
|---------------------------------------|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Показатели                            |             | Аммиак                 | Сахар                  | Органические кислоты   |                        |                        |
|                                       |             |                        |                        | Молочная               | Уксусная               | Масляная               |
| Варианты силосования                  | Без добавок | 1,12±0,01              | 0,23±0,06              | 1,38±0,30              | 4,88±0,09              | 3,62±0,30              |
|                                       | С толуолом  | 0,21±0,01 <sup>1</sup> | 4,58±0,01 <sup>1</sup> | 0,23±0,04 <sup>1</sup> | 0,05±0,00 <sup>1</sup> | 0,00±0,00 <sup>1</sup> |

Примечание: <sup>1</sup>Разница достоверна по отношению к обычному силосованию, P≤0,05



Также, полученные данные показывают, что при полном подавлении микробиологических процессов толуолом объем выделившихся при силосовании газов сокращается более чем в 8 раз, по сравнению с обычным силосованием непровяленной люцерны (рис. 2). После прекращения дыхания растений выделение газов в силосе с толуолом полностью прекращалось, в то время как в обычном силосе, где активно развивалась нежелательная микрофлора, она достигала очень большого объема



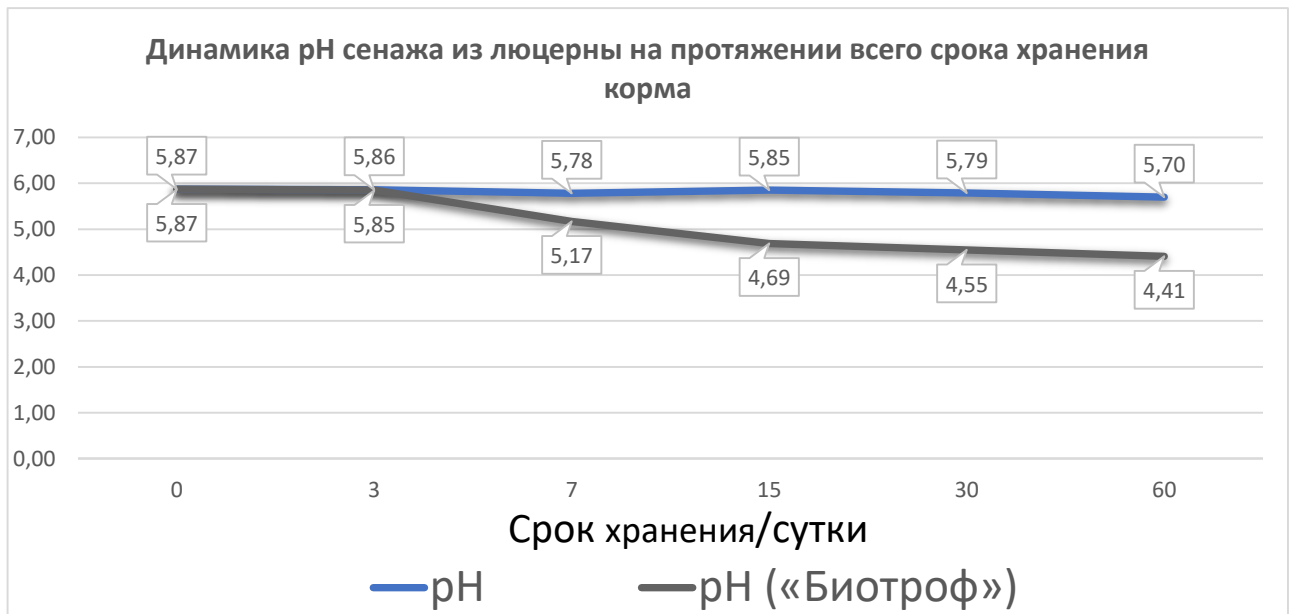
**Рисунок 2 – Количество выделившихся при силосовании газов**

С учетом биохимических показателей обычного силоса можно заключить, что основным видом его порчи послужил процесс гниения, вызванный активным развитием протеолитических клостридий и гнилостных бактерий. На это указывает не только очень высокое содержание в корме аммиака и масляной кислоты, но и его отвратительный запах, свидетельствующий о активном декарбонировании аминокислот с образованием аминов. Важно отметить и возросшее количество аммиака, образовавшееся при гидролизе белка. Об этом дает представление разница в его содержании в сухом веществе обычного и приготовленного с толуолом люцернового силоса. Оно возросло в 3,5 раза по сравнению с образованием аммиака из-за аналогичного процесса в сенаже и силосе из провяленной люцерны. Это указывает на то, что содержание сухого вещества играет ведущую роль в обеспечении снижения распада белка до аммиака.

### **3.3. Эффективность сенажирования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф»**

Считается [50], что при повышенном осмотическом давлении микроорганизмы не выживают, соответственно, процесс развития микрофлоры при сенажировании люцерны на корм падает. Поэтому, ускорение подкисления такой массы признается нецелесообразным. Для того чтобы подтвердить результат экспериментально, мы выявили график изменения следующих составляющих: сахара, аммиака, молочной и масляной кислот при приготовлении сенажа до получения сухого вещества в корме 52,5% (Приложение В). Корм готовили двумя способами: обычным и с добавлением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф». В результате обработки данных выявлено, что применение добавки «Биотроф» не вызывало увеличение активной кислотности корма в течение первых 3-х суток. Значение рН в обоих вариантах корма отличаются незначительно друг от друга. Также заметим и низкое содержание молочной кислоты в обоих случаях.

Но, однако, уже через 7 суток сенажирования корма с применением добавки «Биотроф» штаммы молочнокислых бактерий показывают значительный рост. Высокое осмотическое давление в данном случае не оказывает сдерживающего эффекта для развития лактата. Однако, разница в рН остается незначительной на протяжении всего времени проведения эксперимента (рис. 3).



**Рисунок 3 – Динамика pH при обычном сенажировании и сенажировании, с применением добавки «Биотроф»**

Мы полагаем, что низкое содержание активных веществ в воде (Ав) в ферментируемом корме, при содержании сухого вещества 52,5% позволяет нам нейтрализовать нежелательные бактерии. Это подтверждает и определенное опытным путем и содержание аммиака в полученном корме.

**Таблица 6 – Динамика аммиака в люцерне, провяленной до содержания сухого вещества 52,5%, с применением добавки «Биотроф» и без добавок**

| Срок хранения/сутки                    |            |                         |                         |                         |            |
|--|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| Содержания аммиака в люцерне, СВ 52,5% |            |                         |                         |                         |            |
|  | 3 суток    | 7 суток                 | 15 суток                | 30 суток                | 60 суток   |
| Исходная провяленная масса 0,02±0,00   |            |                         |                         |                         |            |
| Без добавок                            | 0,07±0,01* | 0,08±0,00*              | 0,07± 0,01*             | 0,09±0,01*              | 0,09±0,01* |
| С Биотроф                              | 0,08±0,00* | 0,06±0,00* <sup>o</sup> | 0,11±0,01* <sup>o</sup> | 0,11±0,01* <sup>o</sup> | 0,09±0,00* |
| Разница                                | - 0,01     | 0,02                    | - 0,04                  | - 0,02                  | 0,00       |

\*Разница достоверна по отношению к исходной массе силосу без добавок:  $p \leq 0,05$ ;  
<sup>o</sup>Разница достоверна по отношению к силосу без добавок:  $P \leq 0,05$

Содержание аммиака в сенаже приготовленным обычным способом и с применением добавки «Биотроф» отличается незначительно. Заметим, что значительное увеличение показателей аммиака происходит только в первые трое суток сенажирования люцерны. Относительно недолгим является и период

протеолиза в такой массе. Далее, содержание аммиака стабилизируется, и остается постоянным в течение всего временного периода его хранения.

Также заметим, что масляная кислота при сенажировании люцерны определяется в первые трое суток консервирования корма в обоих случаях: без добавления «Биотроф» и с применением данной добавки.

**Таблица 6.1 – Динамика масляной и молочной кислоты в люцерне, проявленной до содержания сухого вещества 52,5%, с применением добавки «Биотроф» и без добавок**

|  |             | Срок хранения/сутки     |                         |                          |                          |                          |
|--|-------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|  |             | 3 суток                 | 7 суток                 | 15 суток                 | 30 суток                 | 60 суток                 |
| Исходная проявленная масса - 0,06±0,00 |             |                         |                         |                          |                          |                          |
| Масляная кислота                       | Без добавок | 0,10±0,01*              | 0,12±0,01*              | 0,22±0,01*               | 0,14±0,01*               | 0,10± 0,01*              |
|  | С Биотроф   | 0,11±0,01*              | 0,15±0,01*              | 0,15±0,01* <sup>o</sup>  | 0,14± 0,02*              | 0,21±0,01* <sup>o</sup>  |
|  | Разница     | - 0,01                  | - 0,03                  | 0,07                     | 0,00                     | - 0,11                   |
| Исходная проявленная масса 0,17±0,04   |             |                         |                         |                          |                          |                          |
| Молочная кислота                       | Без добавок | 0,44±0,03*              | 0,54±0,01*              | 0,69± 0,03*              | 0,29±0,02*               | 0,68± 0,03*              |
|  | С Биотроф   | 0,75±0,06* <sup>o</sup> | 9,62±0,23* <sup>o</sup> | 10,25±0,15* <sup>o</sup> | 12,91±0,32* <sup>o</sup> | 15,80±0,21* <sup>o</sup> |
|  | Разница     | - 0,31                  | - 9,08                  | -9,56                    | - 12,62                  | - 15,12                  |

\*Разница достоверна по отношению к исходной массе силосу без добавок:  $p \leq 0,05$ ;

<sup>o</sup>Разница достоверна по отношению к силосу без добавок:  $P \leq 0,05$

Анализируя масляную кислоту в проявленном корме до содержания сухого вещества 52,5%, видим, что ее содержание доходит до 0,14-0,15%. Это объясняется нехваткой кислорода в ферментируемом корме, и, как следствие, нарушением липидного обмена. Известно, что нехватка воды снижает силу дыхания растений. Поэтому в проявленной массе расход кислорода снижен, соответственно, падает количество выделяемой углекислоты [62].

В особо сложных условиях оптимальной дыхательной средой для растений является жир. Известно, что жирные кислоты, входящие в состав растений, имеют четное количество углеродных атомов.

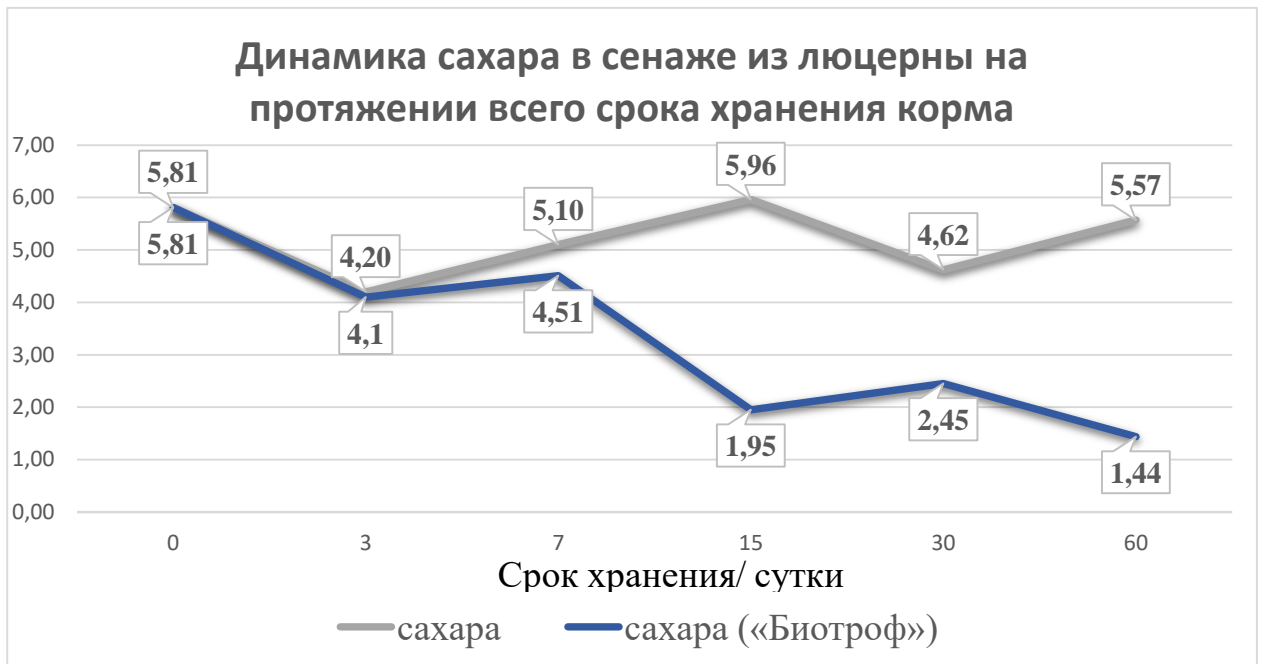
Значит, каждая жирная кислота, от которой отделяется по два углеродных атома, когда-нибудь проходит процесс молочной кислоты [80, 62]. Замечено, что показатель яблочной кислоты вырос в 3,4 раза в течение двух суток

консервирования люцерны с добавлением толуола. Он изменился с показателя 0,96 до 3,28 (табл. 3).

Принимая во внимания, что яблочная кислота, как и другие органические кислоты цикла трикарбоновых кислот, которые способны образовываться в растениях только в аэробных условиях, делаем вывод, что, сенажная масса в первые трое суток продолжает дышать.

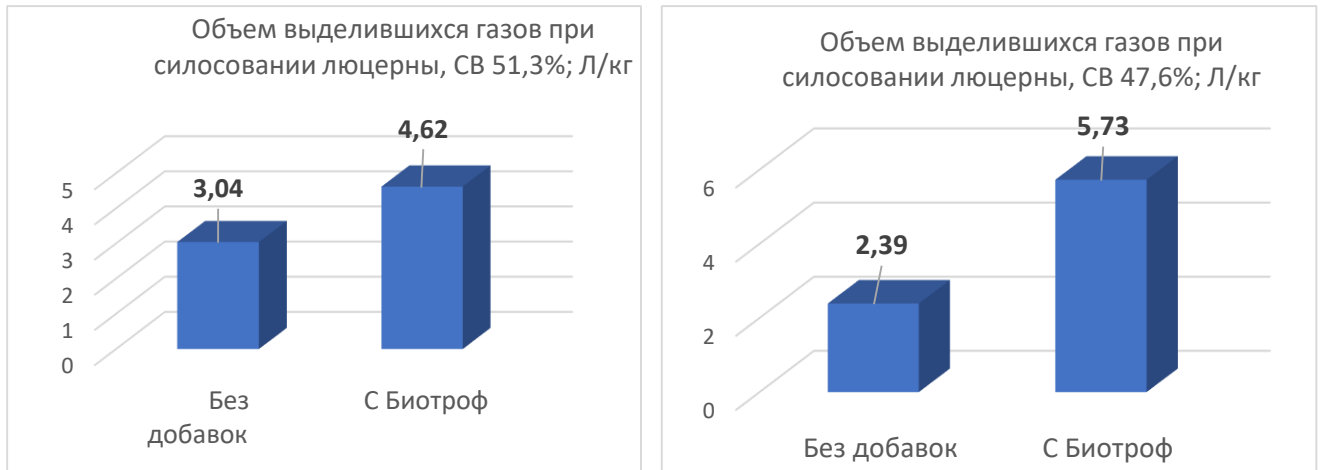
При анализе причин накопления масляной кислоты в сенажируемой массе люцерны мы можем отметить, что, и в этом случае не наблюдается явной закономерности в ее накоплении даже в отдельных образцах одного и того же корма. Так, например, если в подавляющих образцах содержание бутановой кислоты в сухом веществе сенажа на всех этапах его консервирования составляет 0,10-0,15%, то есть, сколько ее может образоваться в результате возникновения биохимических процессов в начале сенажирования растений, то в отдельных образцах ее содержание возрастает до 0,21-0,22%. Это указывает на то, что субстратом образования масляной кислоты и при сенажировании люцерны с содержанием сухого вещества 52,5% в ряде случаев может служить микрофлора. Любопытно отметить, что ускорение подкисления такой массы за счет использования «Биотроф» не только не снижает накопление масляной кислоты, но даже достоверно увеличивает ее содержание в сухом веществе полученного корма. При этом тот факт, что увеличение содержания масляной кислоты одновременно не сопровождается повышением содержания в корме аммиака, указывает на то, что в образовании бутановой кислоты участвуют исключительно сахаролитические бактерии [75]. Иными словами, в корме протекает очень благоприятный процесс брожения, не связанный с возникновением сколько-нибудь значительных потерь питательных веществ.

На это, в частности, указывает и очень высокая сохранность сахара в люцерне, сенажируемой обычным способом, тогда как в растениях, сенажируемых с добавкой молочнокислых бактерий, значительное количество сахара было сброжено (рис. 4).



**Рисунок 4 – Динамика сахара в сенаже из люцерны**

Исходя из благоприятного направления процесса брожения в сенажируемой люцерне, можно с уверенностью заключить, что применение добавки молочнокислых бактерий, усиливающих расход содержащегося в массе сахара, будет способствовать увеличению потерь питательных веществ при сенажировании люцерны. Чтобы убедиться в этом, мы провели еще один эксперимент. Готовили сенаж из провяленной люцерны с содержанием сухого вещества 47,6 и 51,3% обычным способом и с внесением кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф». Массу люцерны закладывали на хранение в лабораторные сосуды, оснащенные устройством для фиксирования выделившихся при консервировании газов, по объёму которых и судили о степени катаболизма питательных веществ до газообразных продуктов. Из данных, представленных в Таблице 7, следует, что внесение «Биотроф», стимулируя молочнокислое брожение, явно увеличивало распад питательных веществ до газообразных продуктов, объём которых увеличивался в 1,5-2,4 раза ( $P \leq 0,05$ , рис. 5).



**Рисунок 5 – Объем выделившихся газов при силосовании люцерны при разном содержании сухого вещества**

Произошло это, в основном за счет увеличения сбраживаемости сахара входящими в состав препарата штамма молочнокислых бактерий, содержание которого в сухом веществе корма сократилось в 3,1-3,7 раза ( $P \leq 0,05$ ). Одновременно, стимуляция молочнокислого брожения обусловила быстрое подкисление корма до предела, исключая развитие маслянокислых бактерий. В результате накопление масляной кислоты сократилось в 1,3-2,8 раза по сравнению с ее образованием в обычном сенаже и составило 0,11-0,15%, то есть столько, сколько ее может образовываться в результате возникновения биохимических процессов.

**Таблица 7 - Объём выделившихся газов и биохимические показатели обычного и приготовленного с кормовой добавкой «Биотроф» люцернового сенажа**

| Показатели          | Без добавок, СВ 47,6% | С «Биотроф» СВ 47,6% | Без добавок, СВ 51,3% | С «Биотроф», СВ 51,3% |
|---------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| рН корма            | 5,59±0,01             | 4,31±0,01*           | 5,45±0,09             | 4,25±0,01*            |
| Сахара              | 2,26±0,09             | 0,73±0,01*           | 4,63±0,26             | 1,25±0,04*            |
| Аммиака             | 0,23±0,01             | 0,27±0,01            | 0,17±0,01             | 0,14±0,02*            |
| Органических кислот |                       |                      |                       |                       |
| Молочной            | 0,30±0,04             | 15,48±0,32*          | 2,86±0,10             | 14,06±0,20*           |
| Масляной            | 0,20±0,01             | 0,15±0,01*           | 0,31±0,04             | 0,11±0,03*            |

\*Разница достоверна по отношению к контролю,  $P \leq 0,05$

В тоже время, ускорение подкисления сенажируемой массы люцерны, обусловленное внесением «Биотроф», не приводило к достоверному уменьшению

образования в корме аммиака. Это свидетельствует о том, что основным фактором, определяющим степень распада растительного белка до аммиака, при силосовании и сенажировании люцерны, является процентное содержание сухого вещества в консервируемой массе. Отечественные исследователи отмечали [90], что при увеличении содержания сухого вещества в консервируемой массе люцерны с 21,1 до 31,5; 41,5 и 52,0% накопление аммиачного азота по отношению к общему азоту корма снижается с 18,6 до 8,8; 4,5 и 4,9%. Складывается впечатление, что необходимость внесения препарата молочнокислых бактерий при сенажировании люцерны заключается лишь в улучшении биохимических показателей полученного корма, связанного с уменьшением содержания в нем масляной кислоты [65]. Но так ли это на самом деле?

Давно установлено, что люцерновый сенаж, как и сенаж, приготовленный из любого другого растительного сырья, восприимчив к аэробной порче, то есть он относительно быстро разлагается и плесневеет при выемке из траншеи [49]. В производственных опытах по сенажированию люцерны ученые установили, что при открытии траншеи с сенажом бутановую кислоту не обнаруживали. Но при поступлении воздуха в толщу корма наблюдались гнилостные процессы, которые способствовали большему образованию аммиака, показатели которого возросли с 1,5 до 4,0 раз. Последнее привело к повышению рН полученного сенажа, и как следствие, возникновению в нем вторичной ферментации, обусловившей накопление в натуральном корме 0,17% масляной кислоты.

Что касается влияния на маслянокислые бактерии низкой активности воды (Ав), то, как утверждает Е.А. Алешина [1], в отсутствии должного подкисления они могут развиваться даже на массе с содержанием сухого вещества 60-65%. И это мнение уже подтверждено. По имеющимся данным [13], активность воды (Ав) даже в проявленной до содержания сухого вещества 45-50% массе не снижается ниже 0,95, чего недостаточно для подавления развития клостридий.

Активная кислотность рН не нормируется лишь тогда, когда Ав в растительных продуктах составляет  $\leq 0,85$ , что значительно ниже, чем отмечается даже в проявленных до содержания сухого вещества 60-65 % травах [4]. Таким



образом, одним из условий успешного применения добавок молочнокислых бактерий при сенажировании люцерны является улучшение стабильности корма как при его анаэробном хранении, так и при выемке из хранилища. Способствуют этому как увеличение степени подкисления корма, так и сбраживание содержащегося в нем сахара под влиянием внесенных препаратов молочнокислых бактерий. Роль степени подкисления люцернового сенажа сводится к тому, что наибольшее отрицательное воздействие аммиака на сохранность и качество корма наблюдается при значительно высоком значении рН, что, как уже отмечалось выше, и приводит к быстрой порче этого вида корма при его аэробном хранении. Имеющиеся к этому времени экспериментальные данные показывают [27], что если при рН 4,26-4,46 для смещения рН в 100 граммах клеверного силоса в щелочную сторону на 0,2 единицы требуется 56 мг аммиака, то при рН 6, 40-6,60- всего 8 мг, то есть в 7 раз меньше. Значение сбраживания в большей части содержащегося в люцерновом сенаже сахара под влиянием внесенного препарата молочнокислых бактерий связано с необходимостью подавления развития дрожжей, которые вопреки существующему представлению могут активно развиваться и в люцерновом сенаже. Е.А. Йылдырым [34] установила, что даже в месячном сенаже численность дрожжей может превышать их критическое содержание  $10^5$  колоний (КОЕ) в 1 грамме корма, что обуславливает высокую предрасположенность корма к аэробной порче при доступе воздуха.

Важно отметить, что интенсивному подкислению люцернового сенажа под влиянием внесенных молочнокислых заквасок способствует не только усиление сбраживания сахара и снижение накопления аммиака в результате глубокого провяливания растений, но и сбраживание молочнокислыми бактериями образующихся при провяливании люцерны органических кислот, прежде всего яблочной, которая в большом количестве накапливается в провяленной на сенаж зеленой массе люцерны. Для того чтобы убедиться в этом мы изучили динамику яблочной, лимонной, янтарной кислоты при консервировании, провяленной на сенаж до содержания сухого вещества 52,5 % люцерны обычным способом и с внесением [62] кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф». В

результате мы видим (табл. 8), что при быстром проявлении люцерны до указанного содержания сухого вещества, в ней образовалось 3,94% оксиянтарной (яблочной) кислоты, содержание которой через 7 суток обычного сенажирования выросло до 5,43 %, то есть в 1,4 раза. Как уже отмечалось, это является доказательством того, что в начальный период сенажирования проявленные растения все еще продолжают дышать [62]. На наличие дыхания на фоне слабого процесса брожения указывает и заметное снижение содержания сахара в сухом веществе сенажируемой массы спустя 3 суток ферментации. В первые 3-е суток сенажирования из-за слабого молочнокислого брожения, отмечающегося как в обычном, так и в приготовленном с «Биотроф» сенаже, заметного сбавивания яблочной кислоты не наблюдалось. Однако, начиная с 7-ми суточного хранения, то есть после активизации молочнокислого брожения в инокулированной массе, стало достоверно отмечаться и снижение содержания в ней яблочной кислоты.

**Таблица 8 - Динамика яблочной, лимонной и янтарной кислоты при сенажировании люцерны спустя 3 и 7 суток хранения, (СВ 52,5%) обычным способом и с внесением кормовой добавки «Биотроф»**

| Содержание кислот в сухом веществе корма, % | Исходная проявленная масса |            | Через 3 суток сенажирования |             | Через 7 суток сенажирования |             |
|---|----------------------------|------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|
|   |                            |            | Без добавок                 | С «Биотроф» | Без добавок                 | С «Биотроф» |
|   | Яблочная                   | 3,94±0,20  | 4,77±0,22                   | 4,74±0,27   | 5,43±0,40*                  | 2,07±0,11*  |
| Лимонная                                    | 0,19±0,03                  | 0,18±0,02  | 0,11±0,02                   | 0,23±0,00   | 0,00±0,00*                  |             |
| Янтарная                                    | 0,00±0,00                  | 0,03±0,01* | 0,00±0,00                   | 0,00±0,00   | 0,00±0,00                   |             |

\*Разница достоверна по отношению к исходной массе силосу без добавок:  $P \leq 0,05$ ; Разница достоверна по отношению к силосу без добавок:  $P \leq 0,05$ .

**Таблица 8.1 - Динамика яблочной, лимонной и янтарной кислоты при сенажировании люцерны спустя 15, 30 и 60 суток хранения, (СВ 52,5%) обычным способом и с внесением кормовой добавки «Биотроф»**

| Содержание кислот в сухом веществе<br>корма, % | Кислоты        | Через 15 суток сенажирования |                | Через 30 суток сенажирования |                | Через 60 суток сенажирования |                |
|--|----------------|------------------------------|----------------|------------------------------|----------------|------------------------------|----------------|
|  |                | Без добавок                  | С «Биотроф»    | Без добавок                  | С «Биотроф»    | Без добавок                  | С «Биотроф»    |
|  | Яблочная       | 4,88±<br>0,12*               | 1,73±<br>0,04* | 4,50±<br>0,08                | 0,65±<br>0,05* | 4,43±<br>0,06                | 1,37±<br>0,07* |
| Лимонная                                       | 0,00±<br>0,00* | 0,00±<br>0,00*               | 0,29±<br>0,02  | 0,00±<br>0,00*               | 0,19±<br>0,03  | 0,20±<br>0,02                |                |
| Янтарная                                       | 0,00±<br>0,00  | 0,00±<br>0,00                | 0,13±<br>0,01* | 0,00±<br>0,00                | 0,16±<br>0,01  | 0,76±<br>0,04*               |                |

\*Разница достоверна по отношению к исходной массе силосу без добавок:  $P \leq 0,05$ ; Разница достоверна по отношению к силосу без добавок:  $P \leq 0,05$ .

Таким образом, основным условием сбраживания содержащейся в большом количестве проявленной массы люцерны яблочной кислоты является возникновение в ней интенсивного молочнокислого брожения. О возможности сбраживания яблочной кислоты молочнокислыми бактериями сообщают и другие исследователи [48]. В литературе имеются упоминания и о возможности сбраживания молочнокислыми бактериями лимонной кислоты [27], что также подтверждается полученными нами экспериментальными данными. Но при подкислении корма она не несет за собой такой важности, как яблочная кислота. Во-первых, при сбраживании лимонной кислоты даже гомоферментативные молочнокислые бактерии образуют лишь небольшое количество молочной кислоты, а в качестве основных продуктов брожения продуцируют уксусную, муравьиную кислоты и углекислый газ. Во-вторых, в проявленной люцерне, учитывая представленные в таблице 8 данные, лимонная кислота накапливается в несравненно меньшем количестве, чем яблочная кислота.

Еще меньшее значение имеет янтарная кислота, которая, в большинстве случаев вообще не определяется в проявленной массе. Ее присутствие в некоторых

образцах приготовленного корма, очевидно, является следствием жизнедеятельности дрожжей, которые могут активно развиваться на сенажируемой массе люцерны и обладают способностью продуцировать наряду с другими органическими кислотами янтарную кислоту [43].

Благоприятное направление процесса брожения было установлено и при сенажировании люцерны, провяленной до содержания сухого вещества 43,5%. Как известно, в отличие от мнения А.М. Михина [50], согласно которому сенаж готовится только из трав, провяленных до содержания сухого вещества  $\geq 45\%$ , в соответствии с требованием ГОСТ Р 55452-2021 Сено и сенаж. Общие технические условия [20] нижним пределом содержания сухого вещества в сенажируемой массе для первого и второго класса является 45%, для третьего класса – уже 40%. Как следует из представленных в Таблице 9 данных, и в случае провяливания растений до содержания сухого вещества 43,5 % динамика аммиака и масляной кислоты аналогична той, что наблюдается и при обычном сенажировании растений, провяленных до сухого вещества 52,5 %.

**Таблица 9 - Биохимические показатели сенажа из провяленной люцерны по срокам хранения, содержание СВ 43,5%**

| Показатели                 | Содержание в сухом в-ве, % |                   | Органических кислот |                   |                   |                   |                   |                   | pH                |
|----------------------------|----------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                            | Аммиак                     | Сахар             | Молочная            | Уксусная          | Масляная          | Янтарная          | Яблочная          | Лимонная          |                   |
| Срок хранения корма, сутки |                            |                   |                     |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| 0                          | 0,03                       | 4,52              | 0,09                | 0,05              | 0,08              | 0,09              | 3,72              | 0,48              | 6,18              |
| 4                          | 0,05 <sup>1</sup>          | 5,24 <sup>1</sup> | 0,76 <sup>1</sup>   | 0,35 <sup>1</sup> | 0,13 <sup>1</sup> | 0,15 <sup>1</sup> | 3,90              | 0,48              | 5,92 <sup>1</sup> |
| 7                          | 0,05                       | 4,01 <sup>1</sup> | 1,00                | 0,13 <sup>1</sup> | 0,13              | 0,15              | 3,19 <sup>1</sup> | 0,50              | 5,93              |
| 14                         | 0,09 <sup>1</sup>          | 5,55 <sup>1</sup> | 0,21 <sup>1</sup>   | 0,21 <sup>1</sup> | 0,14              | 0,20              | 3,89 <sup>1</sup> | 0,48              | 5,95              |
| 28                         | 0,08                       | 4,45 <sup>1</sup> | 0,61 <sup>1</sup>   | 0,19              | 0,11              | 0,19              | 3,12 <sup>1</sup> | 0,45              | 5,87 <sup>1</sup> |
| 60                         | 0,09                       | 2,28 <sup>1</sup> | 4,17 <sup>1</sup>   | 0,34 <sup>1</sup> | 0,11              | 0,24              | 2,05 <sup>1</sup> | 0,34              | 5,32 <sup>1</sup> |
| 90                         | 0,09                       | 1,25 <sup>1</sup> | 6,09 <sup>1</sup>   | 0,45 <sup>1</sup> | 0,1               | 0,34 <sup>1</sup> | 2,03              | 0,19 <sup>1</sup> | 4,93 <sup>1</sup> |

Примечание: 1 разница достоверна по отношению к предыдущему сроку вскрытия силоса или сенажа,  $P \leq 0,05$

При отсутствии активизации в корме молочнокислого брожения, то есть при обычном сенажировании массы, сбразивание содержащегося в ней сахара, яблочной и лимонной кислот, также начиналось лишь на поздних этапах ферментации, когда в сенаже уже заметно активизировалось молочнокислое брожение. Слабое молочнокислое брожение, отмечаемое на протяжении большого срока ферментации, проявленной до содержания сухого вещества 43,5 % зеленой массы, обусловило большой остаток сахара в готовом корме и значительное количество не сброженной яблочной (54,6%) и лимонной (39,6%) кислот. Для более четкого представления о ходе возникающих при спонтанном сенажировании люцерны микробиологических процессов, молекулярно - генетической лабораторией ООО «Биотроф» совместно с автором работы была определена динамика общей численности микробов и их видовая принадлежность при сенажировании проявленной до содержания сухого вещества 43,5% люцерны [62].

#### **3.4. Состав бактериального сообщества в сенаже из люцерны, проявленной до содержания сухого вещества 43,5%**

Для более детального изучения природы аммиака и масляной кислоты, образующихся при сенажировании люцерны были определены динамика общей численности и видовой состав микроорганизмов по срокам хранения корма.

Анализ общей численности микроорганизмов, проведённый с использованием метода количественной ПЦР, показал, что общее количество бактерий в сенаже в процессе хранения составило от  $1,5 \times 10^6 \pm 9,3 \times 10^5$  до  $2,0 \times 10^7 \pm 1,1 \times 10^6$  клеток/г (рис. 6).

То есть, люцерновый сенаж на всех этапах хранения имел довольно значительное микробное обсеменение, что указывает на достаточно активную микробиологическую ферментацию в сенаже и вступает в противоречие с данными исследователей [11, 12], которыми было высказано мнение, что в сенаже процессы микробного брожения не происходят.

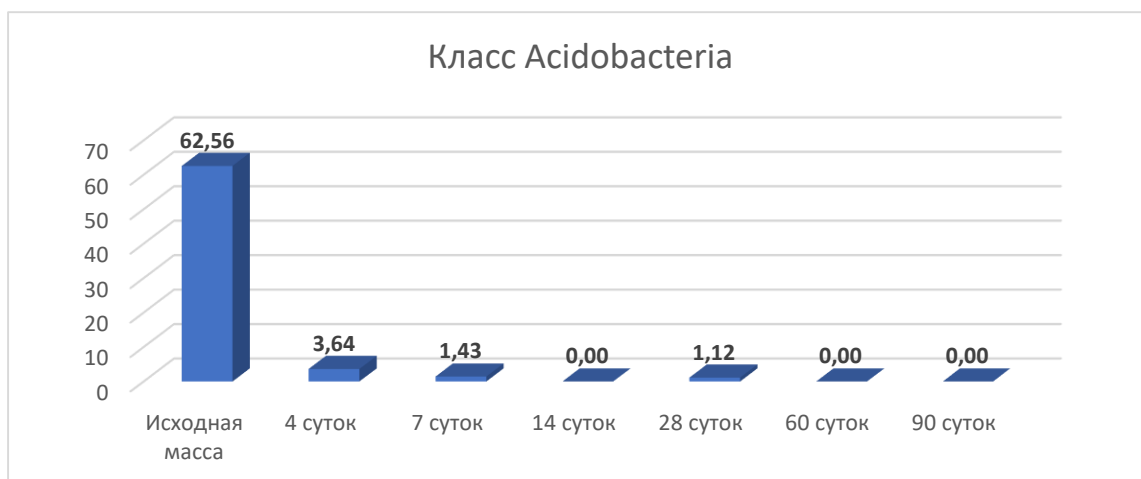


**Рисунок 6 – Общее количество бактерий в 1 грамме провяленной люцерны с содержанием сухого вещества 43,5%**

Что касается таксономического разнообразия микроорганизмов в сенаже в процессе хранения, полученного методом NGS-секвенирование, то состав микрофлоры сенажа резко отличался от состава эпифитных микроорганизмов исходной растительной массы люцерны и менялась в процессе сукцессионных изменений, происходящих во время хранения сенажа. Вероятно, эти изменения происходили в результате создания анаэробных условий и изменении биохимического состава корма.

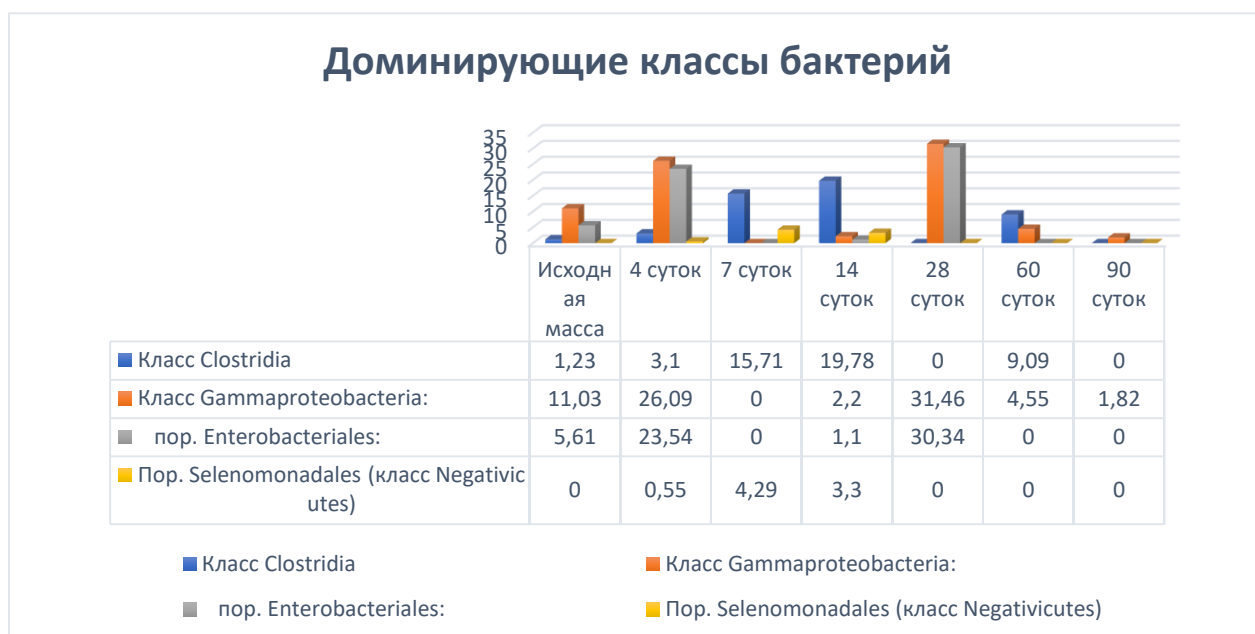
Так, состав микрофлоры сенажа был представлен 8 филумами микроорганизмов, тогда как структура эпифитной микрофлоры включала 18 филумов бактерий.

Доминирующими ( $62,56 \pm 3,4$  при  $P \leq 0,05$ ) микроорганизмами на скошенной растительной массе люцерны были типичные микроорганизмы филума *Acidobacteria* (рис. 7).



**Рисунок 7 – Доминирующие бактерии на исходной растительной массе, в 1 грамме провяленной люцерны с содержанием сухого вещества 43,5%**

Несмотря на их широкую представленность в окружающей среде, знания о метаболизме данных бактерий рудиментарны, в связи с практически полной невозможностью их культивирования на питательных средах. Сведения об их присутствии в составе эпифитной микрофлоры растений появились только после возможности изучения микроорганизмов при помощи методик анализа последовательностей генов 16S рНК.



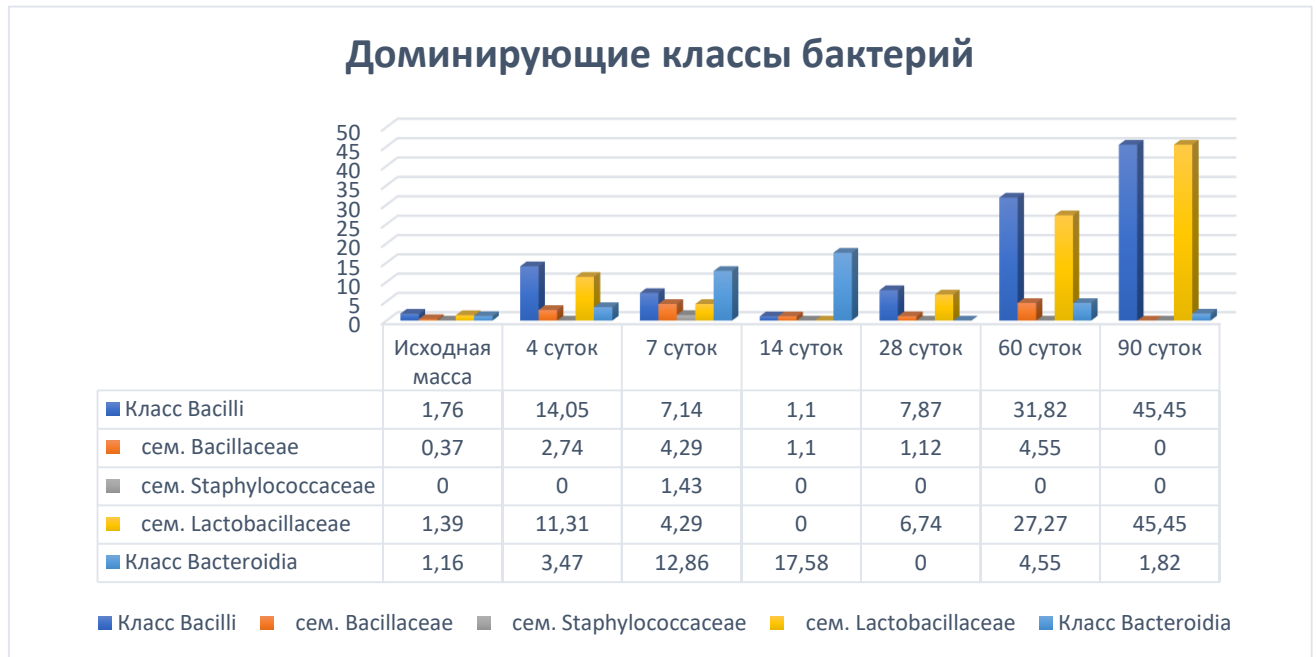
**Рисунок 8 – Доминирующие бактерии на протяжении всего срока хранения сенажа**

Содержание бактерий филума *Acidobacteria* резко падало (до  $3,64 \pm 0,21$  при  $P \leq 0,05$ ) уже на 4 сутки хранения сенажа, после 28 суток хранения данные бактерии практически полностью элиминировались. Эти данные закономерны, поскольку бактерии филума *Acidobacteria* олиготрофны [30] и, вероятно, богатая питательными веществами экосистема хранящегося корма для них не благоприятна.

В тоже время доминирующими бактериями на протяжении хранения сенажа были: Класс Бациллы: сем. Бациллы; сем. Лактобациллы; Класс Бактероиды; Класс Клостридии; Класс Гамма-протеобактерии: пор. Энтеробактерии: Пор. Селеномонады (класс *Negativicutes*).

Тем не менее, даже через 3 месяца хранения лишь около половины содержащихся в корме микроорганизмов были представлены молочнокислыми бактериями семейства *Lactobacillaceae* (Приложение В) филума *Firmicutes*, традиционными обитателями микрофлоры силоса [31]. Вероятно, условия среды, характерные для сенажа (уровень pH, содержание сухого вещества и пр.) были не так благоприятны для жизнедеятельности данных микроорганизмов. Известно, что лактобактерии играют определяющую роль в процессах микробного брожения консервированных кормов.





**Рисунок 8.1 – Доминирующие бактерии на протяжении всего срока хранения сенажа**

В качестве особенностей ферментации люцернового сенажа следует отметить отсутствие взаимосвязи между накоплением масляной кислоты и численностью клостридий (класса *Clostridia*) в провяленной массе люцерны ( $P \geq 0,05$ ). Так, если максимальное количество масляной кислоты в сухом веществе корма образовывалось уже через 4 суток ферментации (табл. 9), то наибольшая численность клостридий отмечалась лишь спустя 14 суток хранения. Это указывает на то, что значительная часть масляной кислоты, появляющейся в самом начале сенажирования люцерны, очевидно, имеет биохимическое происхождение. Не выявили связи между накоплением масляной кислоты с численностью клостридий и И.И. Филатов с соавторами [33]. Высокую численность маслянокислых бактерий (около  $2,0 \times 10^5$  КОЕ) в 1 г сенажа из провяленной (47,5% СВ) люцерны авторы отмечали в течение всего 90-дневного срока хранения корма. Тем не менее, полученный корм был свободен от накопления масляной кислоты. Это указывает на то, что в сенаже из люцерны споры клостридий в большинстве случаев остаются в неактивном состоянии в течение всего срока хранения корма. В настоящее время такого мнения придерживаются и зарубежные исследователи [10]. Однако это, очевидно, наблюдается не всегда. Указанные выше исследователи в накоплении

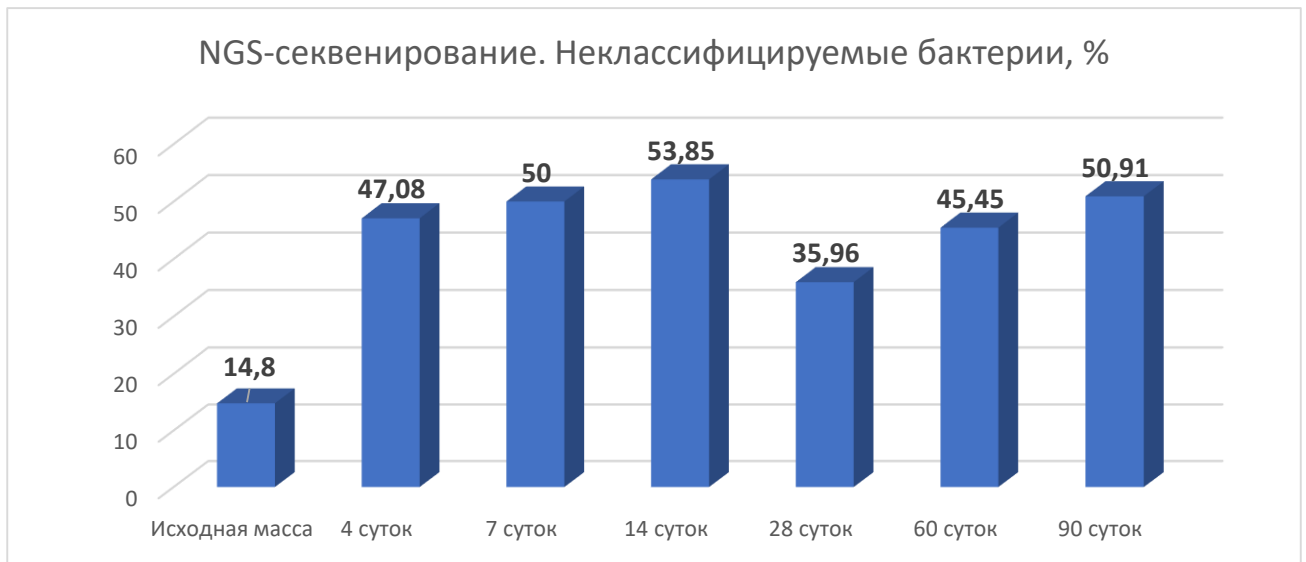
масляной кислоты связывают с сортовыми особенностями люцерны, степенью проявлявания растений, от которой, по их мнению, во многом зависит клостридиальное сообщество, а, следовательно, время возникновения и интенсивность маслянокислого брожения и с другими факторами.

Действительно, некоторые представители класса *Clostridia*, относящиеся к семейству *Clostridiaceae*, образуют в процессе ферментации, в том числе, в консервированных кормах, масляную кислоту.

На 4 и 28 сутки хранения в сенаже резко возросло содержание нежелательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* – до  $23,5 \pm 1,2$  и  $30,3 \pm 1,11\%$  соответственно (при  $P \leq 0,05$ ). Они нежелательны для процесса ферментации кормов, потому что источником их жизнедеятельности являются моносахара, что делает их прямыми конкурентами лактобактериям [32].

Можно сказать, что, хранящийся сенаж, закладка которого проходила с нарушением технологических приемов, может стать одним из источников инфицирования сельскохозяйственных животных и человека патогенными формами, что определяет необходимость применения биопрепаратов с антимикробной активностью для его консервирования.

Было показано, что значительный процент микроорганизмов остался не идентифицированным. Количество не идентифицированных бактерий составляло от  $35,9 \pm 1,9$  до  $50,9 \pm 3,9\%$  (рис. 9). Эти бактерии принадлежат к рангу объектов, для культивирования которых на сегодняшний день не существует питательных сред, поэтому о них стало известно лишь с развитием молекулярно-биологических методов [42].



**Рисунок 9 – Количество не идентифицированных бактерий в сенаже из люцерны**

Высокая доля не классифицируемых микроорганизмов, отмечаемая в сенаже на протяжении всего срока хранения, также не приводит к сколько-нибудь значительному увеличению потерь питательных веществ и ухудшению биохимических показателей полученного корма.

Содержание микроорганизмов в сенаже, с содержанием сухого вещества 43,5%, которое составило от 0,02 до 0,15%, приведены в Приложении В.

### **3.5. Эффективность силосования проявленной люцерны с препаратом молочнокислых бактерий «Биотроф»**

Основой сохранения качественного силоса является быстрое помещение зеленой массы люцерны в анаэробную среду. Нам необходимо, чтобы молочнокислые бактерии смогли продуцировать достаточное количество одноименной кислоты, а также, под влиянием внесенной добавки «Биотроф» рН полученного силоса должен быть 4,0-4,5 (McDonald, 1991, гл. 1). Процесс силосования включает в себя несколько фаз, первой из которых является аэробная. Аэробная фаза силосования начинается при скашивании люцерны и продолжается до тех пор, пока растения не поместят в анаэробные условия. В процессе

консервирования люцерны растительные ферменты, а также аэробные микроорганизмы могут быть ингибированы. Также, качественному силосу предшествует содержание сухого вещества в силосуемых растениях, от чего зависит благоприятное направление брожения. Оптимальный уровень сухого вещества при силосовании люцерны зависит от условий окружающей среды. Ишлер В.А. в своих научных трудах рекомендует проявлять люцерну до содержания сухого вещества от 30-35%, от 35 до 40% и от 45-60%, при использовании траншеи, башни или иной системы хранения с ограничением поступления в нее кислорода.

Мы начали исследования с определения оптимальной степени проявлявания люцерны, при которой под влиянием внесенной кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» мы получаем корм с достаточно хорошими биохимическими показателями. Из проделанных нами лабораторных опытов по силосованию проявленной люцерны с содержанием сухого вещества равного показателям: 35,1%; 38,06%; 39,9%; 40,7%; 43,9%; обычным способом и с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф», можно сделать следующее заключение, что, накопление аммиака, который наряду с масляной кислотой, является нежелательным элементом при любом консервировании трав, в значительной степени зависит от степени проявлявания люцерны.

Содержание аммиака в готовом корме снижается по мере увеличения степени проявлявания, при достижении сухого вещества в массе примерно 40% [62]. При этом, показатель активной кислотности (рН) наоборот возрастает, с увеличением уровня проявлявания люцерны, однако, опытным путем было выявлено, что, если использовать добавку «Биотроф», активная кислотность корма минимально зависит от степени проявлявания растений. Данный случай объясняется влиянием работы молочнокислых бактерий, входящих в состав добавки «Биотроф», которые способствуют быстрому подкислению зеленой массы люцерны при условии, что содержание сухого вещества в такой массе будет равно около 40%. Можно отметить, что входящие в состав добавки «Биотроф» осмоотолерантные штаммы

молочнокислых бактерий хорошо развиваются как на свежескошенной, так и на провяленной массе растений [62].

Именно высокая физиологическая активность входящих в состав «Биотроф» штаммов молочнокислых бактерий на фоне заметного повышения сбраживаемости провяленной до содержания сухого вещества 40-45% люцерны и резкого ограничения образования в ней аммиака обуславливает максимальную степень подкисления корма, рН которого достигает значения 4.4 и ниже [62]. Также, можно заключить, что при содержании сухого вещества в консервируемой массе люцерны более 45%, добавка молочнокислых бактерий «Биотроф» не оказывает существенного влияния, так как снижается активность осмоотолерантных штаммов бактерий из-за физиологической сухости такой массы.

В лаборатории хранения и консервирования кормов было проведено ряд исследований, направленных на доказательство эффективности применения добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» при содержании сухого вещества 40%. Мы определяли следующие показатели при силосовании люцерны: рН, аммиак, сахар, масляная кислота, молочная кислота. Данные были получены двумя способами: с применением добавки «Биотроф» и без добавок. Показатели снимали со следующих временных интервалов: сразу после скашивания, через 3-е суток, и спустя 7, 15, 30, 60 суток хранения. При этом, показатели зеленой массы люцерны составили: сахара –  $3,43 \pm 0,01$ ; молочной кислоты –  $0,45 \pm 0,01$ ; масляной кислоты –  $0,03 \pm 0,01$ .

**Таблица 10 - Изменения показателей активной кислотности (рН), аммиака, масляной и молочной кислот, при силосовании провяленной люцерны с использованием кормовой добавки «Биотроф» и без добавок. СВ 39,9%. Срок консервирования 3 – е суток**

| Корм                       |                  | Без добавок     | С «Биотроф»        | Разница |
|----------------------------|------------------|-----------------|--------------------|---------|
| рН                         |                  | $5,85 \pm 0,01$ | $4,63 \pm 0,01^*$  | 1,22    |
| Содержание в сухом в-ве, % | Сахар            | $4,15 \pm 0,02$ | $3,23 \pm 0,02^*$  | 0,92    |
|                            | Аммиак           | $0,05 \pm 0,01$ | $0,08 \pm 0,01$    | -0,03   |
|                            | Молочная кислота | $1,36 \pm 0,03$ | $13,22 \pm 0,10^*$ | -11,86  |
|                            | Масляная кислота | $0,04 \pm 0,01$ | $0,05 \pm 0,01$    | -0,01   |

Примечание: разница достоверна по отношению к силосу без добавок \* -  $P \leq 0,001$ ; \*\* -  $P \leq 0,05$

По результатам (табл. 10), можно сделать вывод, что в силосовании провяленной люцерны до показателя сухого вещества 39,9%, использование добавки «Биотроф» форсировало подкисление массы. Разница рН силоса «Без добавок» и с «Биотроф» после указанного срока консервирования равнялась показателю 1,22. Молочная кислота в силосе «Биотроф» выросла, и равнялась показателю 13,22 по сравнению с 1,36. Выше мы уже говорили о том, что в качественном силосе первостепенной должна быть именно молочная кислота. Также, важным показателем является значение аммиака в готовом корме, но через трое суток силосования этот показатель практически не отличался между собой и равнялся 0,05 против 0,08 в силосе с «Биотроф» ( $P > 0,05$ ).

Динамика аммиака спустя 7 суток консервирования корма выросла в два раза в обоих видах корма, и составила 0,13 «Без добавок» и 0,11 с «Биотроф». Но существенной разницы ( $P \geq 0,05$ ) не замечено. Отсюда следует вывод, что процесс протеолиза с дальнейшим доминированием аминокислот до аммиака спустя 7 дней консервирования люцерны не зависит от применения добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» (табл. 10.1).

**Таблица 10.1 - Изменения показателей активной кислотности (рН), аммиака, масляной и молочной кислот, при силосовании провяленной люцерны с использованием кормовой добавки «Биотроф» и без. СВ 39,9%. Срок консервирования 7 суток**

| Корм                       |                  | Без добавок | С «Биотроф»   | Разница |
|----------------------------|------------------|-------------|---------------|---------|
| рН                         |                  | 5,54 ± 0,03 | 4,45 ± 0,03*  | 1,09    |
| Содержание в сухом в-ве, % | Сахар            | 3,05 ± 0,03 | 0,71 ± 0,02*  | 2,34    |
|                            | Аммиак           | 0,13 ± 0,01 | 0,11 ± 0,01   | 0,02    |
|                            | Молочная кислота | 5,87 ± 0,29 | 14,38 ± 0,22* | -8,51   |
|                            | Масляная кислота | 0,05 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01   | -0,05   |

Примечание: разница достоверна по отношению к силосу без добавок \* -  $P \leq 0,001$ ; \*\* -  $P \leq 0,05$

Существенная разница ( $P \leq 0,05$ ) показателя аммиака в случае приготовления с добавкой «Биотроф» и обычного корма, выявилась после 15 суток прохождения процесса ферментации (табл. 10.2).

**Таблица 10.2 - Изменения показателей активной кислотности (рН), аммиака, масляной и молочной кислот, при силосовании провяленной люцерны с использованием кормовой добавки «Биотроф» и без. СВ 39,9%. Срок консервирования 15 суток**

| Корм                             |                  | Без добавок | С «Биотроф»   | Разница |
|----------------------------------|------------------|-------------|---------------|---------|
| рН                               |                  | 5,17 ± 0,02 | 4,31 ± 0,01*  | 0,86    |
| Содержание<br>в сухом в-ве,<br>% | Сахар            | 3,00 ± 0,02 | 0,65 ± 0,01*  | 2,35    |
|                                  | Аммиак           | 0,17 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01** | 0,07    |
|                                  | Молочная кислота | 8,80 ± 0,12 | 13,89 ± 0,12* | -5,09   |
|                                  | Масляная кислота | 0,16 ± 0,02 | 0,16 ± 0,01   | 0,00    |

Примечание: разница достоверна по отношению к силосу без добавок \* -  $P \leq 0,001$ ; \*\* -  $P \leq 0,05$

Это объясняется тем, что после прохождения 7-ми суточной фазы силосования корма, обработанного «Биотроф», показатели аммиака в нем пришли в устойчивое положение, что мы и можем наблюдать, исходя из данных, представленных в Приложении Б. Содержание аммиака не меняется во всем остальном временном промежутке.

Это доказывает, что в инокулированной молочнокислыми бактериями массе к концу первой недели брожения не только прекратился ферментативный распад белка, вызываемый растительными энзимами, но и, вследствие быстрого подкисления массы, был исключен дальнейший распад белка под влиянием нежелательной силосной микрофлоры. Также заметим, что, содержание аммиака в силосе, приготовленном с «Биотроф», стабилизируется через неделю, несмотря на продолжающиеся накопления в нем масляной кислоты, содержание которой к шестидесятому дню силосования возросло в 4 раза после 7 суток консервации (рис. 10).



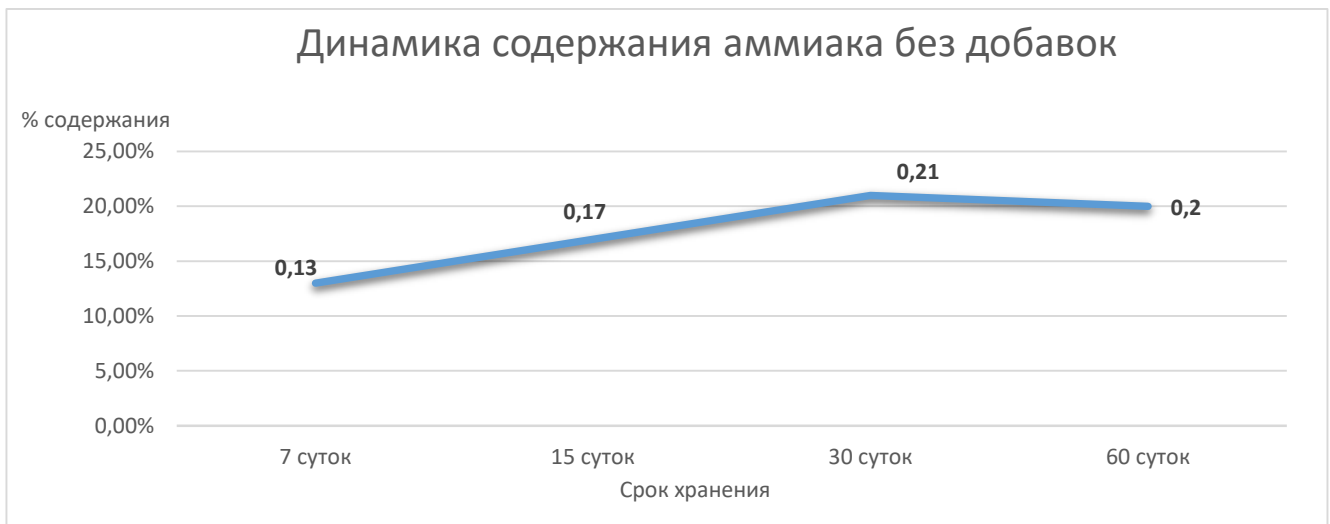
**Рисунок 10 - Динамика изменений показателей содержания масляной кислоты с 7 суток по 60 сутки силосования люцерны с применением добавки «Биотроф»**

Такое накопление масляной кислоты на первый взгляд, кажется невероятным, поскольку, согласно существующим представлениям [13], люцерна, с содержанием сухого вещества 39,9% обладает высокой активной кислотностью ( $pH = 4.36-4.23$ ), при таком показателе  $pH$  маслянокислые бактерии останавливаются в развитии. Однако, ученым Е.А. Ёылдырым [31], в лабораторных условиях в обычном сенаже из люцерны 30-ти дневной консервации выявлено присутствие бактерий, таких как *Bacteroidetes* и *Seimonades*. Эти бактерии, как известно, способствуют выработке масляной кислоты, так как относятся к сахаролитическим, которые способны сбразивать углеводы, в том числе сахар, до конечного результата - масляной кислоты. Причем рост показателей аммиака в данном процессе не происходит (рис. 11).





**Рисунок 11 - Динамика изменений показателей содержания аммиака с 7 суток по 60 сутки силосования люцерны с применением добавки «Биотроф»**



**Рисунок 11.1 - Динамика изменений показателей содержания аммиака с 7 суток по 60 сутки силосования люцерны без добавок**

Через 30 суток силосования содержание аммиака в обычном корме уже вдвое превышало его содержание в силосе, приготовленном с «Биотроф». В то же время необходимо отметить и то, что при медленном подкислении обычного силоса из провяленной до содержания сухого вещества 39,9% люцерны [62], содержащийся в ней сахар преимущественно сбразживался молочнокислыми бактериями. Это в принципе отличает силосование провяленной люцерны от силосования провяленных злаковых трав [65], силосования которых обычно сопровождается

активным развитием энтеробактерий, а сам процесс, вследствие этого, заметным увеличением потерь питательных веществ [59]. В результате ускорения подкисления провяленной массы люцерны, обуславливая сокращения накопления в корме аммиака (в 2,0 раза) и масляной кислоты, не способствует заметному сокращению потерь питательных веществ, что негативно сказывается на эффективности использования препаратов молочнокислых бактерий при силосовании такой массы.

Для того, чтобы подтвердить сформулированное утверждение опытным путем, мы, в провяленной до содержания сухого вещества 38,06% люцерне, оцениваем изменение показателей сахара, аммиака, рН, масляной и молочной кислоты с кормовой добавкой «Биотроф» [75]. Параллельно, полученные результаты сопровождалось данными микробиологических анализов. Из данных, представленных в таблице 11, следует, что, как и в вышеописанном опыте, рН массы через четверо суток силосования под влиянием «Биотроф», снизился на 1,29 единицы и практически уже достиг значения критического для маслянокислых бактерий при данном содержании сухого вещества в корме [57].

**Таблица 11 - Биохимические показатели силоса, приготовленного с кормовой добавкой «Биотроф» из провяленной (38.06% СВ) люцерны по срокам хранения**

| Показатели          |    | Содержание в сухом в-ве, % |           | Органических кислот** |              |              |              |              |              | рН    |
|---------------------|----|----------------------------|-----------|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------|
|                     |    | Амм<br>иак                 | Саха<br>р | Моло<br>чная          | Уксу<br>сная | Масл<br>яная | Янта<br>рная | Ябло<br>чная | Лимо<br>нная |       |
| Срок хранения/сутки | 0  | 0,05                       | 4,18      | 0,85                  | 0,04         | 0,06         | 0,08         | 3,46         | 0,41         | 6,00  |
|                     | 4  | 0,06*                      | 2,51*     | 10,94*                | 0,65*        | 0,11         | 0,37*        | 2,13*        | 0,00*        | 4,71* |
|                     | 7  | 0,08*                      | 0,52*     | 12,71*                | 0,67         | 0,14*        | 0,42         | 2,30         | 0,00         | 4,42  |
|                     | 14 | 0,10*                      | 0,17*     | 12,37*                | 0,78         | -            | 0,56         | 2,46         | 0,00         | 4,40  |
|                     | 28 | 0,09                       | 0,12      | 12,76*                | 0,78         | 0,12         | 0,53         | 2,22         | 0,00         | 4,31  |
|                     | 60 | 0,08                       | 0,17      | 12,41                 | 0,66         | 0,14         | 0,44         | 1,79         | 0,00         | 4,27  |
|                     | 90 | 0,09                       | 0,10      | 10,84                 | 0,43*        | 0,13         | 0,25*        | 1,11*        | 0,00         | 4,23  |

Примечание: <sup>1</sup> — разница достоверна по отношению к показателю корма предыдущего срока выемки; <sup>2</sup> — других органических кислот не обнаружено

При этом к этому сроку в массе было сброжено лишь около половины содержащегося сахара. Правда не исключено, что в результате интенсивного развития молочнокислых бактерий, процесс молочнокислого брожения наряду с сахаром, уже вовлекалась и яблочная кислота, содержание которой сократилось в 1,6 раза, а также лимонная кислота [57].

По мере увеличения срока хранения силоса до 90 дней его рН снизился с 4,71 до 4,23, то есть всего на 0,48 единицы. Произошло это [57] как за счет уже практически полного сбраживания молочнокислыми бактериями содержащегося в растениях сахара, так и сбраживания значительной части яблочной кислоты и полного сбраживания лимонной кислоты. Е.И. Квасников [34] утверждает, что непременным условием для сбраживания молочнокислыми бактериями яблочной кислоты, является быстрое снижение рН корма до значения 4,7 и ниже.

При силосовании проявленного до содержания сухого вещества 38,06% люцерны с «Биотроф» динамика аммиака и масляной кислоты была аналогична той, что наблюдалась при ее сенажировании в проявленном до содержания сухого вещества 52,5% виде. Для того чтобы оценить характер протекающих в такой массе микробиологических процессов, наряду с динамикой биохимических показателей, определяли изменения численности и видового состава микроорганизмов по срокам хранения силоса, исследования также выполнялись с использованием метода T-RFLP в молекулярно-генетической лаборатории ООО «Биотроф». Выполненные анализы показали, что общая обсемененность 1 грамма проявленной массы люцерны микробными организмами составляла  $4,5 \times 10^8$  и возрастала до  $4,0 \times 10^8 - 1,7 \times 10^9$ /г по мере увеличения срока ее силосования. Процентное соотношение видов микроорганизмов при разных сроках хранения силоса приведено в Таблице 12. Из данных, представленных в Таблице 12 следует, что внесение кормовой добавки «Биотроф» привело к доминированию молочнокислых бактерий с самого начала силосования проявленной массы люцерны [57]. Доля лактобацилл в общем количестве микроорганизмов через 4 суток силосования уже составляла 63,3%, а спустя неделю достигала значения 73,2%. Это и

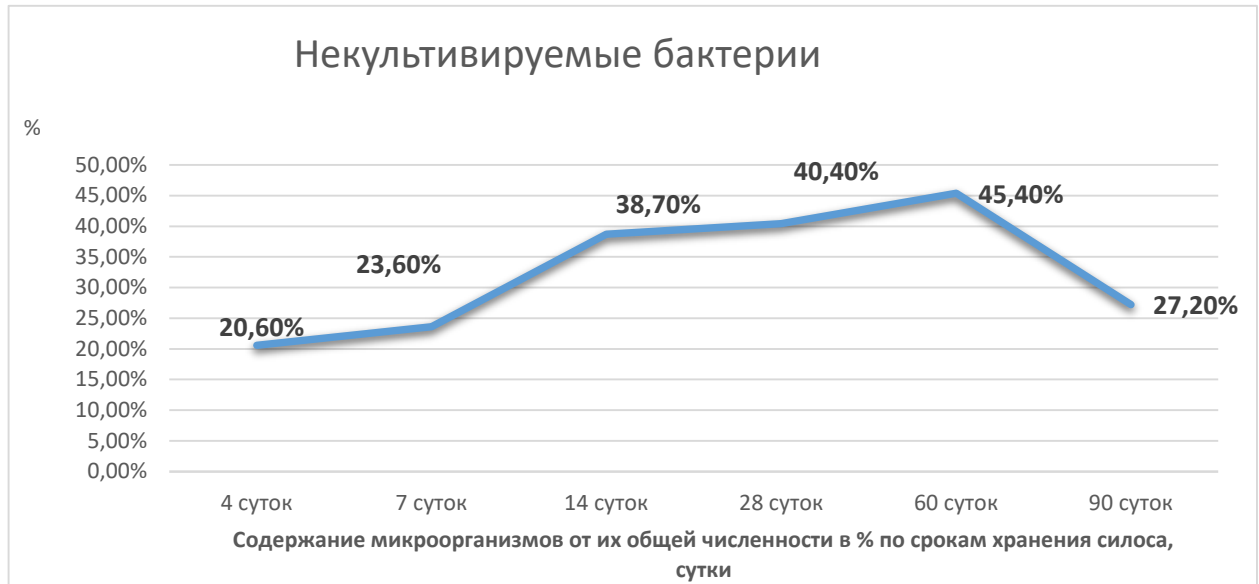
способствовало интенсивному накоплению в корме молочной кислоты и быстрому созданию в нем высокой активной кислотности [57].

**Таблица 12 - Состав микроорганизмов в силосе из провяленной с 38,06% СВ люцерны, приготовленной с внесением кормовой добавки «Биотроф», по срокам хранения**

| Микроорганизмы       | Содержание микроорганизмов от их общей численности в %<br>по срокам хранения силоса, сутки |      |      |      |      |      |
|----------------------|--|------|------|------|------|------|
|                      | 4  | 7    | 14   | 28   | 60   | 90   |
| Актиномицеты         | 5,7  | 0,4  | 0,8  | 14,0 | 11,6 | 7,8  |
| Лактат-утилизирующие | 1,7  | 0,0  | 0,5  | 3,5  | 1,7  | 1,9  |
| Клостридии           | 0,0  | 0,0  | 0,0  | 0,4  | 0,0  | 0,0  |
| Псевдомонады         | 5,4  | 2,0  | 1,4  | 0,6  | 1,4  | 2,1  |
| Бациллы              | 2,5  | 0,0  | 1,0  | 3,2  | 5,2  | 2,5  |
| Энтеробактерии       | 0,3  | 0,6  | 1,1  | 1,5  | 2,2  | 1,6  |
| Бактериды            | 0,5  | 0,2  | 1,7  | 0,8  | 3,2  | 0,9  |
| Лактобациллы         | 63,3   | 73,2 | 54,8 | 35,6 | 29,3 | 56,0 |

Клостридии в очень ограниченном объеме были выявлены только в фазе 28-ми суток хранения силоса из люцерны. Из этого можно заключить, что клостридии не играют значительной роли в образовании масляной кислоты с использованием «Биотроф» при силосовании люцерны. В тоже время необходимо указать на увеличение доли актиномицетов, которые достигли максимума на 28 день хранения (14,0) при увеличении степени подкисления корма до рН 4,31 и ниже. Эта группа микробов считается нежелательной при силосовании [31], так как, наряду с углеводами, активно сбрасываются образовавшиеся в силосе кислоты брожения, способствуя снижению активной кислотности силоса [57].

Особое внимание следует обратить на наличие в силосе из провяленной люцерны большого количества некультивируемых бактерий, которые, как уже говорилось, не растут на обычных питательных средах и являются недостаточно изученными к настоящему времени [57] (рис. 12).



**Рисунок 12 – Количество некультивируемых бактерий в силосе на протяжении всего срока хранения корма**

Доля этих бактерий на отдельных этапах силосования значительно превышает долю молочнокислых бактерий даже при условии применения одноименных препаратов. Особенно следует подчеркнуть то, что подкисление силоса до рН 4,3 и ниже, не оказывает неблагоприятного воздействия на развитие этой группы микроорганизмов.

Опыты по изучению влияния кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» на степень распада питательных веществ до газообразных продуктов и динамику изменения биохимических показателей в новом корме ставили при силосовании люцерны, провяленной до содержания сухого вещества 40,7 и 43,9%. В одном случае использовали добавку «Биотроф», а в другом – выполняли силосование обычным способом. Результаты эксперимента отражены в таблице 13.

**Таблица 13 - Объем выделившихся газов и биохимические показатели  
силоса из провяленной люцерны, приготовленной обычным способом и с  
внесением кормовой добавки «Биотроф»**

| Варианты<br>силосования           | Объем<br>выделившихся<br>при<br>силосовании<br>газов, л/кг | рН              | Содержание в сухом веществе корма, % |                     |                |              |
|-----------------------------------|--|-----------------|--------------------------------------|---------------------|----------------|--------------|
|                                   |  |                 | Аммиака                              | Органических кислот |                | Сахар        |
|                                   |  |                 |                                      | Молочной            | Масляной       |              |
| Из люцерны с содержанием СВ 40,7% |  |                 |                                      |                     |                |              |
| Без добавок                       | 4,6 ± 0,15   | 6,62 ±<br>0,01  | 0,18 ±<br>0,00                       | 3,59 ± 0,03         | 0,00 ±<br>0,00 | 4,35 ± 0,10  |
| С<br>«Биотроф»                    | 9,7 ± 0,32*  | 4,62 ±<br>0,02* | 0,19 ±<br>0,00*                      | 10,59 ±<br>0,51*    | 0,00 ±<br>0,00 | 0,35 ± 0,04* |
| Из люцерны с содержанием СВ 43,9% |  |                 |                                      |                     |                |              |
| Без добавок                       | 3,8 ± 0,35   | 5,65 ±<br>0,01  | 0,11 ±<br>0,00                       | 0,64 ± 0,01         | 0,26 ±<br>0,01 | 7,96 ± 0,07  |
| С<br>«Биотроф»                    | 6,1 ± 0,00*  | 4,17 ±<br>0,00* | 0,10 ±<br>0,01                       | 18,26 ±<br>0,51     | 0,27 ±<br>0,03 | 5,53 ± 0,10* |

Примечание: \*разница достоверна по отношению к силосу без добавок, P≤0,05

Из данных, представленных в таблице 13, видим, что заметно увеличивается объем выделившихся газов, в случае добавления «Биотроф», по сравнению с силосованием обычным способом (в 1,6 раза больше при показателях сухого вещества 43,9%, и в 2,1 раза больше при сухом веществе 40,7%). Это подтверждает и изменение показателей сахара при использовании добавки «Биотроф», что говорит о более полном сбраживании сахара. Следовательно, увеличен распад питательных веществ до газообразных продуктов. В то же время, как и следовало ожидать из ранее полученных результатов, интенсификация молочнокислого брожения и внесения добавки «Биотроф» для усиления подкисления силосной массы не вызывает уменьшение показателей содержания аммиака и масляной кислоты в данной массе. Такой результат объясняется отсутствием развития нежелательных микробов при силосовании люцерны, провяленной до показателя сухого вещества примерно 40%. В результате, и при силосовании указанной массы с препаратом молочнокислых бактерий аммиак преимущественно образуется в результате протеолиза.

Что касается накопления масляной кислоты, то, как следует из данных в таблице 13, она образуется не всегда. Есть основание полагать, что накопление масляной кислоты трудно избежать в том случае, когда процесс ее накопления начинается уже при провяливание и активизируется в начале силосования провяленной массы. В этом случае масляная кислота образуется чисто биохимическим путем, на процесс течения которого степень подкисления массы не оказывает решающего влияния. Однако и в этом случае часть масляной кислоты может образоваться в результате жизнедеятельности нежелательной микрофлоры. При этом, тот факт, что масляная кислота способна образовываться в корме и в случае быстрого его подкисления до рН, исключающего развитие клостридий, указывает на то, что причиной ее накопления являются иные микроорганизмы, очевидно, уже из числа некультивируемых бактерий, которые, как уже отмечалось, очень хорошо адаптированы к условиям брожения в среде с высокой активной кислотностью. Не исключено, что состав и активность этой группы бактерий значительно изменяются в зависимости от интенсивности провяливания и степени подкисления силосуемой люцерны, чем и объясняются заметные колебания в биохимических показателях полученного силоса.

При силосовании люцерны с содержанием сухого вещества около 35% роль ускорения подкисления массы значительно возрастает, приводя к достоверному снижению содержания в корме аммиака и масляной кислоты.

**Таблица 14 - Объем выделившихся газов и биохимические показатели силоса из провяленной (СВ 35,1%) люцерны, приготовленной с кормовой добавкой «Биотроф» и без добавок**

| Варианты силосования                           |                  | Без добавок  | С «Биотроф»              |
|--|------------------|--------------|--------------------------|
| Объем выделившихся при силосовании газов, л/кг |                  | 4,8 ± 0,43   | 4,4 ± 0,64               |
| рН   |                  | 4,62 ± 0,01  | 4,39 ± 0,00 <sup>1</sup> |
| Содержание в сухом веществе силоса, %          | Аммиака          | 0,26 ± 0,00  | 0,14 ± 0,00 <sup>1</sup> |
|  | Молочная кислота | 13,45 ± 0,51 | 14,49 ± 0,29             |
|  | Масляная кислота | 0,47 ± 0,01  | 0,36 ± 0,01              |
|  | Сахара           | 0,08 ± 0,01  | 0,10 ± 0,01              |

Примечание 1: разница достоверна по отношению к силосу без добавок,  $P \leq 0,05$

Это указывает на некоторую активизацию нежелательных микробиологических процессов при обычном силосовании такой массы, которая заметно подавляется в результате ускорения ее подкисления за счет внесения добавки «Биотроф». Следует отметить, что даже в этом случае процесс брожения массы протекает довольно благоприятно, в результате чего, несмотря на некоторую задержку молочнокислого брожения в начале обычного силосования, основная часть сахара все же достается молочнокислым бактериям. Об этом свидетельствует практически одинаковый расход сахара в обычном и приготовленном с добавкой «Биотроф» силосе, одинаковое накопление в них молочной кислоты и равный распад питательных веществ до газообразных продуктов. Последнее является доказательством того, что в отличие от силосования в провяленном виде злаковых трав, где в образовании потерь значительную роль играют нежелательные бактерии, объем выделившихся при силосовании газов при силосовании провяленной люцерны целиком зависит от интенсивности сбраживания содержащегося в растениях сахара молочнокислыми бактериями. Несмотря на кажущуюся эффективность использование при силосовании провяленной до содержания сухого вещества 35% люцерны препаратом молочнокислых бактерий, на что указывают и зарубежные исследователи [13], важно отметить следующее. Прежде всего, по мере уменьшения содержания сухого вещества в силосуемой люцерне с 40-45 до 30-35% заметно возрастает содержание аммиака в готовом корме, в том числе и приготовленного с препаратом молочнокислых бактерий, что заметно повышает буферную емкость силосуемой массы. Во-вторых, как было уже показано в Таблице 1, образование сахара при интенсивном провяливании прямо пропорционально содержанию сухого вещества в люцерне. Наконец, чем меньше содержание сухого вещества в силосуемой массе, тем ниже значение рН, ограничивающее развитие в корме маслянокислых бактерий.

Так, если при содержании сухого вещества в растениях 40% и 45%, значение рН, ограничивающее развитие в корме клостридий, составляет соответственно 4,75 и 4,85, то при содержании сухого вещества в силосуемой массе 35% - уже 4,60 [13].



Понятно, что с учетом этого и исходя из ухудшения сбраживаемости проявленной до содержания сухого вещества 35% люцерны, по сравнению с растениями, проявленными до содержания сухого вещества 40-45%, становится трудным рассчитывать на быстрое создание необходимой активной кислотности, даже при внесении препаратов молочнокислых бактерий. Это означает, что по мере уменьшения содержания сухого вещества в силосуемой люцерне ниже 40%, внесение последних становится все более ненадежным, обуславливая все большую вероятность порчи корма в процессе его анаэробного хранения.

### **3.6. Результаты физиологических опытов по изучению эффективности проявленной массы с препаратом молочнокислых бактерий «Биотроф»**

В настоящее время об эффективности силосования проявленной массы люцерны с препаратами молочнокислых бактерий уже сообщают многие отечественные исследователи [68; 16]. Как правило, полученные данные свидетельствуют о невысокой эффективности молочнокислых заквасок в повышении сохранности и качества полученного корма. Указывается лишь на улучшение биохимических показателей силоса под влиянием, внесенных в проявленную массу люцерны препаратов молочнокислых бактерий [124].

Для подтверждения приведенных данных нами были проведены опыты, в которых проявленную до содержания сухого вещества около 40% люцерну силосовали в герметичных двухслойных полиэтиленовых мешках обычным способом и с внесением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф». Масса контрольного и опытного корма составляла 200 кг. В сухом веществе исходной проявленной массы люцерны содержание сырого протеина составляло 20.79%, сырого жира – 3.29%, сырой клетчатки – 29,99%, сырой золы – 11.20% и сырых БЭВ – 34.73%. В таблице 15 приведены биохимические показатели обычного и приготовленного с добавкой «Биотроф» силоса из проявленной люцерны спустя 2 месяца хранения в анаэробных условиях.

**Таблица 15 - Биохимические показатели обычного и приготовленного с кормовой добавкой «Биотроф» силоса из провяленной люцерны**

| Силос                                |                  | Без добавок | С «Биотроф»              |
|--------------------------------------|------------------|-------------|--------------------------|
| рН                                   |                  | 4,80 ±0,004 | 4,53 ±0,009 <sup>1</sup> |
| Содержание в сухом веществе корма, % | Аммиака          | 0,32 ±0,003 | 0,25 ±0,001 <sup>1</sup> |
|                                      | Молочная кислота | 15,92 ±0,09 | 16,21 ±0,24              |
|                                      | Уксусная кислота | 2,02 ±0,04  | 1,94 ±0,02               |
|                                      | Масляная кислота | 0,31± 0,005 | 0,18± 0,007 <sup>1</sup> |
|                                      | Сахара           | 0,78± 0,004 | 0,44± 0,008 <sup>1</sup> |

Примечание: 1 – разница достоверна по отношению к контролю  $P \leq 0.05$

Анализ полученных результатов показал, что применение добавки «Биотроф» не вызвало увеличения показателей молочной кислоты в готовом корме. Но, в корме с добавлением «Биотроф» существенно снижены показатели накопленного аммиака и масляной кислоты, в готовом корме, в сравнении с кормом, без ускорения подкисления. То есть, в обоих случаях, сахар, содержащийся в провяленной массе, в основном использовался молочнокислыми бактериями, что создавало оптимальные условия для процесса брожения.

То есть, быстрое повышение активной кислотности силоса способствовало жизнедеятельности нежелательной микрофлоры, что обуславливало снижение дезаминирования аминокислот под действием микробных ферментов [107] и активности маслянокислых бактерий.

Таким образом, наши исследования, выполненные в полупроизводственных условиях, также подтвердили положения о том, что молочнокислые закваски, участвующие в процессе силосования люцерны, провяливая ее до содержания сухого вещества примерно 40% приводит к значительному улучшению качества полученного корма, его биохимических показателей. Что подтверждается уменьшением накоплений аммиака и масляной кислоты в сухом веществе люцерны. Последнее проявляется прежде всего в достоверном сокращении образования аммиака и масляной кислоты в сухом веществе полученного корма [65]. Химический состав люцерны во многом зависит от даты сбора урожая, размера измельчения массы и сроков провяливания. Эти факторы влияют на

качественные характеристики люцерны, поскольку они напрямую определяют развитие маслянокислого брожения [104]. Что касается сохранности питательных веществ, наблюдаемой при обычном силосовании провяленной массы люцерны и с добавкой «Биотроф», то о ней косвенное представление дает химический состав контрольного и опытного силоса (табл. 16).

**Таблица 16 - Химический состав силоса из провяленной люцерны, приготовленного обычным способом и с внесением кормовой добавки «Биотроф»**

| Корм        | Содержание сухого вещества, % | Содержание в сухом веществе, % |                           |             |                           |              |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------|-------------|---------------------------|--------------|
|             |                               | Сырого протеина                | Сырой клетчатки           | Сырого жира | Сырых БЭВ                 | Сырой золы   |
| Без добавок | 39,38 ± 0,43                  | 19,07 ± 0,22                   | 29,82 ± 0,68              | 3,44 ± 0,15 | 36,38 ± 0,38              | 11,29 ± 0,06 |
| С «Биотроф» | 40,28 ± 0,31                  | 18,65 ± 0,13                   | 32,00 ± 0,22 <sup>1</sup> | 3,71 ± 0,24 | 33,86 ± 0,27 <sup>1</sup> | 11,78 ± 0,19 |

Примечание: 1 – разница достоверна по отношению к контролю  $P \leq 0.05$

На основании полученных данных можно с уверенностью заключить, что, в отличие от применения добавки «Биотроф» на провяленных злаковых травах, где под его влиянием наблюдается значительное сокращение потерь питательных веществ при силосовании [81] при заготовке силоса из провяленной люцерны он, наоборот, способствует даже некоторому увеличению потерь питательных веществ. К такому заключению мы пришли на основании лабораторных опытов, где под влиянием внесенного препарата «Биотроф», отмечалось достоверное увеличение распада питательных веществ до газообразных продуктов. Об этом же свидетельствует достоверное увеличение содержания сырой клетчатки и уменьшение сырых безазотистых экстрактивных веществ с (БЭВ) в сухом веществе опытного силоса. Снижение содержания БЭВ можно объяснить более полным сбраживанием содержащегося в растениях сахара при внесении добавки «Биотроф», на это указывают данные в таблице 16. Отсюда можно заключить, что улучшение биохимических показателей силоса из провяленной массы люцерны

достигается за счет более полного сбраживания содержащихся в ней питательных веществ, прежде всего углеводов.

При скармливании контрольного и опытного силоса валухам романовской породы в опыте по определению переваримости не было выявлено достоверной разницы в химическом составе кала животных (табл. 17).

**Таблица 17 - Химический состав кала валухов, потреблявших обычный и приготовленный с кормовой добавкой «Биотроф» силос из провяленной люцерны**

| Содержание сухого вещества, % |              | Содержание в сухом веществе, % |                 |             |              |              |
|-------------------------------|--------------|--------------------------------|-----------------|-------------|--------------|--------------|
|                               |              | Сырого протеина                | Сырой клетчатки | Сырого жира | Сырых БЭВ    | Сырой золы   |
| Без добавок                   | 45,77 ± 0,48 | 12,56 ± 0,08                   | 37,70 ± 0,70    | 3,10 ± 0,22 | 28,69 ± 1,31 | 17,95 ± 0,47 |
| С «Биотроф»                   | 49,07 ± 3,7  | 11,15 ± 0,30 <sup>1</sup>      | 39,01 ± 0,24    | 3,23 ± 0,10 | 29,16 ± 0,49 | 17,45 ± 0,40 |

Примечание: 1 – разница достоверна по отношению к контролю  $P \leq 0.05$

Можно лишь отметить достоверное уменьшение содержания сырого протеина в сухом веществе кала валухов, потреблявших силос из провяленной массы люцерны, приготовленного с препаратом, что может указывать на его лучшую переваримость опытными животными.

Результаты опытов по определению переваримости питательных веществ полученного корма показали, что добавка «Биотроф» не привела к достоверному повышению переваримости основных питательных веществ люцернового силоса.

**Таблица 18 - Переваримость питательных веществ и энергетическая питательность обычного и приготовленного с кормовой добавкой «Биотроф» силоса из провяленной люцерны**

| Силос            | Переваримость, % |                 |             |                 |             | Энергетическая питательность сухого вещества силоса МДЖ |
|------------------|------------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|---|
|                  | Сухого веществ а | Сырого протеина | Сырого жира | Сырой клетчатки | Сырых БЭВ   |   |
| Без добавок      | 59,4 ± 0,40      | 73,2 ± 0,20     | 63,5 ± 2,70 | 48,6 ± 1,37     | 68,0 ± 1,33 | 8,9 ± 0,05  |
| С «Биотроф»<br>1 | 59,4 ± 0,80      | 75,8 ± 0,73     | 64,6 ± 1,90 | 50,4 ± 2,49     | 65,8 ± 1,55 | 8,9 ± 0,22  |

Примечание: 1 – разница достоверна по отношению к силосу без добавок P>0.05

В результате энергетическая питательность сухого вещества обычного и приготовленного с «Биотроф» силоса из провяленной люцерны оказалось одинаковой и составила 8.9 МкДЖ ОЭ/кг. Таким образом, добавки, созданные на основе гомоферментативных осмоотолерантных штаммов *Lactobacillus plantarum*, например «Биотроф», при силосовании провяленной до содержания сухого вещества около 40% люцерны способствует заметному улучшению биохимических показателей полученного корма, но не приводит к заметному повышению сохранности и энергетической питательности сухого вещества полученного корма [57, 73].

#### ГЛАВА 4. ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ПРЕПАРАТА «БИОТРОФ»

Производственный опыт по оценке эффективности использования кормовой добавки «Биотроф» проводили в животноводческом хозяйстве КФХ ИП Михайлиди в Р.Карачаево-Черкессия.

Направление деятельности данного хозяйства: «Разведение и содержание животных (КРС, МРС, лошадей, лосей, маралов)»; «Выращивание многолетних культур». На момент проведения производственного опыта в хозяйстве содержалось более 2 500 тысяч здоровой отары овец гиссарской и романовской пород. Общая площадь сельскохозяйственных угодий составляет 800 гектар.

Для проведения производственного опыта нами было заготовлено два вида корма: сенаж из провяленной люцерны, без внесения каких-либо добавок и силос из аналогичных растений, с внесением кормовой добавки «Биотроф».

Заготовка корма производилась в бетонные траншеи, объем каждой траншеи составлял 300 тонн. Мы использовали люцерну сорта «Пастбищная 88» 1-го укоса в стадии бутонизации. Урожайность люцерны была 13т/га. Содержание сухого вещества и состав питательных веществ в зеленой массе консервируемого корма приведены в Таблице 19.

Растения скашивали в прокос косилкой роторной, навесной КРН-2.1, с трактором МТЗ-82,1 и оставляли в поле для провяливания до содержания сенажной влажности и на силос. Высота среза составляла 4-6 см. Продолжительность провяливания люцерны на силос составила 4 часа, на сенаж 6 часов. При достижении у массы сухого вещества равном 53,02% на сенаж и 38,02% на силос, массу сгребали в валок и подбирали с одновременным измельчением кормоуборочным комбайном ДОН 680-М и погрузкой в транспортное средство. Закладку силоса и сенажа из провяленной массы люцерны проводили в бетонных наземных траншеях. В одной траншее готовили сенаж из провяленной массы люцерны, в другой силос с кормовой добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф», который вносили с помощью специального насоса дозатора НВУ - 3, смонтированного на шасси кормоуборочного комбайна, в дозе, рекомендуемой

заводом изготовителем, а именно, 1 литр добавки «Биотроф» используется для обработки 75 тонн зеленой массы. Срок загрузки каждой траншеи не превышал двое суток. Заложенную в траншеи массу после тщательного уплотнения герметизировали пологом из полиэтиленовой пленки с прижатием его по всей поверхностью грузом (отработанные автопокрышки). В Таблице 19 приведены данные о содержании сухого вещества и питательных веществ в силосуемой массе.

**Таблица 19 - Содержание сухого вещества и химический состав силосуемой и сенажируемой массы**

| № образцов                    | Содержание сухого вещества, % | Содержание в сухом веществе, % |                 |             |            |            |
|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------|-------------|------------|------------|
|                               |                               | Сырого протеина                | Сырой клетчатки | Сырого жира | Сырой золы | Сырых БЭВ  |
| Сенажируемая масса            |                               |                                |                 |             |            |            |
| 1                             | 52,32                         | 23,35                          | 23,08           | 3,02        | 8,55       | 42,00      |
| 2                             | 53,40                         | 23,06                          | 23,29           | 3,07        | 8,89       | 41,69      |
| 3                             | 53,35                         | 23,43                          | 22,92           | 3,04        | 8,68       | 41,93      |
| В среднем                     | 53,02±1,78                    | 23,28±0,56                     | 23,1±0,55       | 3,04±0,24   | 8,71±0,19  | 41,87±0,81 |
| Масса, силосуемая с «Биотроф» |                               |                                |                 |             |            |            |
| 1                             | 38,55                         | 23,1                           | 23,03           | 2,95        | 8,78       | 42,14      |
| 2                             | 38,23                         | 24,77                          | 24,85           | 3,02        | 9,10       | 38,26      |
| 3                             | 38,08                         | 25,06                          | 23,64           | 2,81        | 8,72       | 39,77      |
| В среднем                     | 38,29±1,08                    | 24,31±0,61                     | 23,84±0,59      | 2,93±0,33   | 8,87±0,18  | 40,06±1,64 |

Примечание: разность достоверна при  $P < 0,05$

Как следует из данных таблицы 19, содержание сухого вещества в люцерне, силосуемой с «Биотроф», находится в пределах, обеспечивающих эффективное применение указанного препарата. По своему химическому составу проявленная масса люцерны на силос и на сенаж, достоверно не отличалась.

Спустя четыре месяца хранения траншеи с люцерновым силосом и сенажом были вскрыты, и была проведена их органолептическая оценка. Тот и другой корм имели сохранившуюся структуру, характеризовались слабокислым запахом и темно-зеленым цветом. В силосе и сенаже отсутствовали участки гнили, плесени и другие признаки поверхностной порчи. Перед скармливанием отбирались пробы для проведения биохимической оценки. Биохимические показатели полученного силоса и сенажа из проявленной люцерны приведены в таблице 20.

**Таблица 20 - Биохимические показатели сенажа и силоса из провяленной люцерны, приготовленной с кормовой добавкой «Биотроф»**

| Корм                           |                  | Сенаж без добавок | Силос с внесением «Биотроф» |
|--------------------------------|------------------|-------------------|-----------------------------|
| pH                             |                  | 4,94±0,003        | 4,24±0,02*                  |
| Содержание сухого вещества, %  |                  | 51,31±2,0         | 36,82±0,18*                 |
| Содержание в сухом веществе, % | Аммиак           | 0,17±0,00         | 0,13±0,01*                  |
|                                | Молочная кислота | 5,36±0,004        | 13,75±0,36*                 |
|                                | Уксусная кислота | 1,2±0,07          | 1,6±0,08*                   |
|                                | Масляная кислота | 0,10±0,03         | 0,12±0,03*                  |
|                                | Янтарная кислота | 0,18±0,02         | 0,00±0,00*                  |

Примечание: \*Разница достоверна по отношению к сенажу,  $P < 0,05$

Как следует из представленных в таблице 20 данных, люцерновый силос имеет достаточную степень подкисления (pH 4,24), но, несмотря на это, в корме накопилось 0,12% масляной кислоты. Теперь мы знаем, что около 0,10-0,15% масляной кислоты может образовываться в сухом веществе сенажа чисто биохимическим путем, в результате быстрого провяливания растений, и в самом начале их сенажирования, вследствие прогрессирующей гипоксии. Однако, примерно такое же количество масляной кислоты может образовываться и в результате микробиологических процессов, что мы и наблюдали в образце силоса с применением добавки «Биотроф» в количестве 0,12%. По нашему мнению, это объясняется медленным подкислением корма (до pH 4,24) вследствие нехватки простых углеводов. На это также указывает повышенное количество аммиака (0,13%). Кроме того, [32] Е.А. Ёылдырым установила наличие в месячном сенаже из люцерны критическое значение дрожжей  $\geq 10^5$  КОЕ на 1гр *Candida* sp, с чем, по нашему мнению, связано наличие в сенаже заметного количества янтарной кислоты. По имеющимся данным, дрожжи среди прочих органических кислот, способны продуцировать янтарную кислоту [43]. Стимуляция молочнокислого брожения в силосе из провяленной люцерны за счет внесения кормовой добавки «Биотроф» привела к быстрому использованию содержащегося в растениях сахара, что сделало невозможным активное развитие дрожжей. Очевидно, этим и объясняется отсутствие янтарной кислоты в силосе из провяленной люцерны, приготовленной с добавкой «Биотроф». В сенаже из люцерны снизилось



содержание молочной кислоты ( $P < 0,05$ ), что свидетельствует об ограничении в нем молочнокислого брожения. Тем не менее, это заметно не ухудшило гомоферментативность молочнокислого брожения, по сравнению с силосом из провяленной люцерны, приготовленным с добавкой «Биотроф». Доля уксусной кислоты в сумме молочной и уксусной кислот в сухом веществе сенажа и силоса из провяленной люцерны составила соответственно 18,3 и 10,4%. Доля молочной кислоты в силосе из люцерны от суммы всех кислот составила 89%.

Решающее значение приобретает содержание сухого вещества в силосуемой массе люцерне, которое и при использовании добавки молочнокислых бактерий должно находиться в пределах 40%. Единственный путь к получению качественного силоса лежит через строгое соблюдение технологии, включающей в себя своевременное скашивание, подвяливание, измельчение зеленой массы, уплотнение ее в хранилище, использование эффективного микробиологического консерванта и быструю изоляцию от воздуха [40].

#### **4.1. Научно-хозяйственный опыт**

Для проведения научно хозяйственного опыта было подобрано по принципу аналогов две группы овец гиссарской мясосальной породы (по 16 голов в каждой группе). Возраст 3 месяца, со средней живой массой 23,9 кг. Уравнительный период опыта длился 30 дней, все животные содержались на хозяйственном рационе, включающим в себя сено, комбикорм, пастбищную траву, воду. Состав комбикорма представлен в таблице 21. Заготовку сена производили в горной местности, сено включает в себя такие культуры, как: тимофеевка луговая, клевер, тысячелетник, вьюн, одуванчик.

Состав рациона животных учетного периода представлен в таблице 22.

**Таблица 21 – Состав комбикорма из расчета на 1 кг**

| Состав                                 | Количество на 1кг комбикорма |
|--|------------------------------|
| Кукуруза                               | 0,39                         |
| Пшеница                                | 0,12                         |
| Ячмень                                 | 0,10                         |
| Жмых соевый                            | 0,16                         |
| Шрот подсолнечный                      | 0,08                         |
| Премикс для молодняка                  | 0,01                         |
| БИО-Токс (адсорбент микотоксинов)      | 0,0015                       |
| Мел                                    | 0,01                         |
| Соль                                   | 0,005                        |
| Визан Лен                              | 0,1                          |
| Дигестааром Р.Е.Р. 1000 (ароматизатор) | 0,005                        |
| Какцидиостатик                         | 0,005                        |

**Таблица 22 - Рацион кормления овец в учетный период опыта**

| Группа животных         |                          | Опыт<br>01.12.2020-01.02.2021 | Контроль<br>01.12.2020-01.02.2021 |
|-------------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Состав<br>рациона       | Силос, кг                | 1,6                           | -                                 |
|                         | Сенаж, кг                | -                             | 1,4                               |
|                         | Сено, кг                 | 0,5                           | 0,4                               |
|                         | Комбикорм, кг            | 0,3                           | 0,3                               |
| Содержание в<br>рационе | Обменная энергия,<br>мДж | 12,88                         | 12,93                             |
|                         | Сухое в-во, кг           | 1,35                          | 1,36                              |
|                         | Сырой протеин, кг        | 0,236                         | 0,239                             |
|                         | Сырая клетчатка,<br>кг   | 0,328                         | 0,351                             |
|                         | Сырой жир, кг            | 0,041                         | 0,042                             |
|                         | Кальций, г               | 10,19                         | 10,63                             |
|                         | Фосфор, г                | 4,07                          | 4,15                              |
|                         | Магний, г                | 3,09                          | 3,16                              |
|                         | Натрий, г                | 1,85                          | 1,96                              |
|                         | Калий, г                 | 18,23                         | 18,81                             |
|                         | Каротин, мг              | 37                            | 39                                |
|                         | Витамин D, МЕ            | 413                           | 419                               |

Кормили овец два раза в сутки, в 7.00 утра и 18.00 вечера ежедневно, прием пищи состоял из половины суточного рациона. Каждую неделю производили взвешивание животных.

Из данных таблицы 22 следует, что по своей энергетической питательности и содержанию основных питательных веществ рационы кормления овец контрольной и опытной групп соответствуют нормам кормления,

рекомендованным для овец мясосальной породы, указанной возрастной группы [33].

В уравнительный период опыта среднесуточный прирост живой массы овец у животных контрольной и опытных групп, составляли соответственно 174 и 172 г.

**Таблица 23 - Живая масса и среднесуточный прирост овец контрольной и опытной групп учетный период за 60 дней**

| Показатели         |                     | Количество | Вес в начале<br>учетного<br>периода, кг | Вес в конце<br>учетного<br>периода, кг | Среднесуточный<br>прирост живой<br>массы за период<br>опыта 60 дней,<br>гр/сутки |
|--------------------|---------------------|------------|---|--|--|
| Группа<br>животных | Люцерновый<br>сенаж | 16         | 29,3±0,05                               | 41,3±0,12                              | 200,0±2,00   |
|                    | Люцерновый<br>силос | 16         | 29,4±0,10                               | 42,5±0,10*                             | 218,3±1,3*   |

Примечание: \*Разница достоверна по отношению к животным, потреблявшим сенаж

Из данных таблицы следует, что среднесуточный прирост живой массы овец, потреблявших рационный сенаж, и приготовленный с кормовой добавкой «Биотроф» силос из провяленной люцерны оказались очень близким и составляли 200,0 и 218,3. Однако, вследствие тщательного подбора опытных животных по возрасту и живой массе, даже разница в приросте живой массы 18,3гр оказалась статистически достоверной при  $P < 0,05$ . Полученные данные дают основание для вывода, что по своему продуктивному действию приготовленный с кормовой добавкой «Биотроф» силос из провяленной люцерны несколько не уступает продуктивному действию сенажа из люцерны с содержанием сухого вещества около 50% при условии быстрого проваливания массы в том и другом случае.

## ГЛАВА 5. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ «БИОТРОФ»

Экономическую эффективность сенажирования и силосования люцерны с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» проводили в республике Карачаево-Черкессии, в крестьянско-фермерском хозяйстве (КФХ) ИП Михайлиди. Масса корма для проведения производственного опыта составила – 300 тонн сенажа, и 300 тонн силоса из люцерны, с внесением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф».

Стоимость материальных средств, горючего материала и оплату труда работника определяли с учетом рыночных цен на момент 01.06.2020 года.

**Таблица 24 - Технологическая карта заготовки силоса и сенажа**

| Наименование работ         | Состав агрегата          |                                     | Затраты времени, ч | Расход горючего, кг | Затраты труда, чел/час |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
|                            | трактор, автомобиль      | машина сцепки                       |                    |                     |                        |
| Скашивание растений        | МТЗ-82,1                 | Косилка роторная, навесная КРН 2,1. | 24,0               | 817,0               | 24,0                   |
| Валкование массы           | МТЗ-82,1                 | Грабли роторные ГВР-6Р              | 10,0               | 113,0               | 10,0                   |
| Ворошение массы            | МТЗ-82,1                 | Грабли роторные ГВР-6Р              | 14                 | 155,0               | 14                     |
| Подбор и измельчение массы | ДОН 680-М                | -                                   | 12,0               | 408,0               | 12,0                   |
| Очистка траншеи            | МТЗ 82,1                 | 2ПТС-4                              | 5,0                | 21,0                | 20,0                   |
| Транспортировка массы      | КАМАЗ 55-102             | -                                   | 24,0               | 216,0               | 24,0                   |
| Разравнивание массы        | ДТ 75М                   | -                                   | 10,0               | 150,0               | 10,0                   |
| Внесение культуры          | Насос – дозатор НВУ - 3  | -                                   | 15,0               | 10,0                | 15,0                   |
| Уплотнение массы           | Трактор колесный Т 150 К | -                                   | 15,0               | 225,0               | 15,0                   |
| Укрытие массы пленкой      | вручную                  | -                                   | 6,0                | -                   | 6,0                    |
| Подвоз покрышек            | КАМАЗ 55-102             | -                                   | 2,0                | 18,0                | 2,0                    |
| Фиксация пленки покрышками | вручную                  | -                                   | 1,0                | -                   | 1,0                    |

В результате приведенный данных в таблице 24 мы произвели расчет затрат на заготовку сенажа и силоса из люцерны, с применением кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф».

**Таблица 25 - Прямые затраты на заготовку сенажа и силоса с внесением кормовой добавки «Биотроф»**

| Виды затрат                                   | Сенаж без добавок | Силос с внесением препарата «Биотроф» |
|---|-------------------|---------------------------------------|
| Расход горючего, кг                           | 2278,0            | 2133,0                                |
| Стоимость горючего ( 45 руб/кг)               | 102510,0          | 95985,0                               |
| Затраты машинного времени, ч:                 |                   |                                       |
| Косилка роторная, навесная КРН 2,5            | 24,0              | 24,0                                  |
| Стоимость работ (375 руб./ч)                  | 9000,0            | 9000,0                                |
| Грабли-валкообразователь роторные ГВР-6       | 10,0              | 10,0                                  |
| Стоимость работ (125 руб./ч)                  | 1250,0            | 1250,0                                |
| Комбайн ДОН 680-М                             | 12,0              | 12,0                                  |
| Стоимость работ (1100 руб./ч)                 | 13200,0           | 13200,0                               |
| Трактор МТЗ-82,1                              | 40,0              | 40,0                                  |
| Стоимость работ (240 руб./ч)                  | 9600,0            | 9600,0                                |
| Прицеп 2ПТС-4                                 | 5,0               | 5,0                                   |
| Стоимость работ (80 руб./ч)                   | 400,0             | 400,0                                 |
| КАМАЗ 55-102                                  | 26,0              | 26,0                                  |
| Стоимость работ (80 руб./ч)                   | 2080,0            | 2080,0                                |
| Трактор колесный Т150К                        | 25,0              | 25,0                                  |
| Стоимость работ (240 руб./ч)                  | 6000,0            | 6000,0                                |
| Насос-дозатор НВУ-3                           | -                 | 15,0                                  |
| Стоимость работ (120 руб./ч)                  | -                 | 1800,0                                |
| Расход препарата, л                           | -                 | 4,0                                   |
| Стоимость препарата (900 руб./л)              | -                 | 3600,0                                |
| Стоимость хранения силоса (50 руб./кубометр)  | 20000,0           | 20000,0                               |
| Расход полиэтиленовой плёнки (0,2 кг/т)       | 35,0              | 35,0                                  |
| Стоимость полиэтиленовой плёнки (120 руб./кг) | 4200,0            | 4200,0                                |
| Затраты труда механизаторов , чел/ч           | 124,0             | 139,0                                 |
| Зарплата механизаторов (120 руб./ч)           | 14880,0           | 16680,0                               |

|  |                 |                 |
|--|-----------------|-----------------|
| Затраты труда подсобных рабочих, чел/ч | 9,0             | 9,0             |
| Зарплата подсобных рабочих (60 руб./ч) | 540,0           | 540,0           |
| <b>ВСЕГО ЗАТРАТ, руб.</b>              | <b>183660,0</b> | <b>184335,0</b> |

Как видно из таблицы 25, стоимость заготовки силоса с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» была незначительно выше, чем приготовления сенажа, без применения данной добавки. Затраты с внесением «Биотроф» были выше на 675 рублей.

**Таблица 26 - Экономическая эффективность сенажирования и силосования люцерны с добавкой молочнокислых бактерий «Биотроф»**

| Показатели                  | Валовой прирост живой массы, кг | Цена реализации 1 кг прироста, руб. | Стоимость израсходованных кормов, руб. | Выручка от реализации прироста, руб. | Выручка с учетом расхода на корма, руб. | Дополнительная выручка, руб. |
|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------------------|---|------------------------------|
| Сенаж без добавок           | 12                              | 120                                 | 51,4                                   | 1440                                 | 1388,6                                  | -                            |
| Силос с внесением «Биотроф» | 13,1                            | 120                                 | 59                                     | 1572                                 | 1513                                    | 124,4                        |

## ГЛАВА 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из наиболее важных целей инокуляции силоса молочнокислыми бактериями является увеличение скорости подкисления массы во время начальной фазы брожения, а также, для предотвращения обширного протеолиза.

Проведенные нами лабораторные опыты дают основание полагать, что внесение добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» при содержании в люцерне СВ 39,9%, способствует подкислению корма (рН через 3 суток силосования 4,63 по сравнению с 5,85 без добавки; 4,23 и 4,57 без добавки, спустя 60 суток силосования). При этом, содержания аммиака в корме, приготовленном с «Биотроф» стабилизируется через 7 суток консервации и остается постоянным на протяжении всего срока хранения. Продолжающееся накопление масляной кислоты в инокулированной массе можно объяснить тем, что в корме продолжают нежелательные микробиологические процессы. Так, в провяленной люцерне до содержания сухого вещества 38,06%, с использованием метода T-RFLP, были выявлены *Actinomycetales*, бактерии, которые наиболее распространены в почве, а также являются нежелательными при силосовании кормовых трав, так как сбраживают и углеводы и образовавшиеся в силосе кислоты брожения. Особое внимание следует обратить на то, что, как в случае с сенажированием люцерны, так и при ее силосовании с применением добавки «Биотроф» было выявлено большое количество некультивируемых, а значит, недостаточно известных микроорганизмов на сегодняшний день.

Альтернативой силосованию люцерны в провяленном виде с добавкой «Биотроф» служит её сенажирование. Этот приём оказывает аналогичное влияние на сохранность питательных веществ и биохимические показатели корма. Однако и в этом случае не устраняется образование в корме повышенного содержания аммиака и накопления масляной кислоты, значения которой увеличиваются с каждым последующим днем хранения сенажа. Как показал производственный опыт, силос из провяленной массы люцерны, приготовленный с добавкой «Биотроф», обладает близким с люцерновым сенажом химическим составом и продуктивным действием. Среднесуточный прирост живой массы овец,

потреблявших рационный сенаж и силос, приготовленный с добавкой «Биотроф», оказались очень близкими и составляли 200,0 и 218,3 грамм.

### 6.1. Выводы

1. Эффективность применения добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» зависит от содержания сухого вещества в силосуемой массе. Рекомендовано проявлять люцерну до содержания сухого вещества в ней около 40%, так как содержания сахара в такой массе возрастает в 1,5-1,6 раза, а накопление аммиака в готовом силосе из люцерны сокращается в 2,6-5,2 раза.

2. Целесообразность проявлявания люцерны обусловлена и тем, что, наряду с сахаром происходит накопление до 3,0% яблочной кислоты, которая, также как и сахар, сбраживается молочнокислыми бактериями.

3. Консервирование люцерны, проявленной до содержания сухого вещества около 40% с добавкой «Биотроф» обеспечивает быстрое накопление молочной кислоты, а также, быстрое подкисление корма до рН, критического для маслянокислых бактерий, и способствует надежной сохранности корма.

4. При заготовке силоса из люцерны с меньшим содержанием сухого вещества 30-35% в нём накапливается большое количество аммиака (Таблица 4). Вследствии этого добавка «Биотроф» уже не способствует заметному ускорению подкисления силоса и улучшению его биохимических показателей.

5. Особенностью силоса, приготовленного из проявленной люцерны с добавкой «Биотроф», и сенажа, приготовленного обычным способом, является наличие в том и другом виде корма наличие некультивируемых, а, следовательно, и не относящихся ни к какому-либо определённом виду бактерий. По мере снижения рН с 4,71 до 4,27 доля этих бактерий возрастает с 20,6 до 45,4%.

6. При сенажировании люцерны с содержанием сухого вещества выше 45% добавка «Биотроф» не приводит к ускорению подкисления корма в течение первых 3 суток брожения, но усиливает подкисление готового корма (рН 4,41, против 5,70 в обычном сенаже), что повышает надёжность сенажирования,



особенно при широком диапазоне влажности сенажируемой массы, которая обычно бывает тем шире, чем выше степень проявлявания растений.

7. Особенностью люцернового сенажа является то, что в нём под влиянием кормовой добавки «Биотроф» уже не происходит заметного снижения содержания в корме аммиака и масляной кислоты. При сенажировании люцерны, аммиак, в основном, образуется в результате протеолиза, на интенсивность течения которого степень подкисления корма не оказывает решающего влияния. Масляная кислота образуется в результате биохимических процессов, возникающих в провяленной массе вследствие прогрессирующей гипоксии. Её накопление до 0,06% (в СВ) отмечается уже при проявлявании растений и возрастает до 0,14-0,15% в первые 2-4 суток сенажирования (Таблица 3).

8. При секвенировании продуценты масляной кислоты - бактерии семейства Clostridiaceae не обнаруживались. Тем не менее, среди бактерий класса Clostridia в сенаже в процессе хранения были выявлены бактерии семейств Eubacteriaceae, Lachnospiraceae, Peptostreptococcaceae и Ruminococcaceae. Была выявлена достоверная связь между возрастанием содержания бактерий рода Ruminococcus и увеличением количества яблочной кислоты. Обнаружена связь между возрастанием количества яблочной кислоты и увеличением численности бактерий филума Bacteroides, выявленных в сенаже.

9. На основании проведенных производственных и лабораторных опытов экономически обоснован способ консервирования провяленной люцерны с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф» в дозе 1 литр на 75 тонн зеленой массы люцерны (в 1000 мл содержится 100 000 000 000 КОЕ ( $10^{11}$ ) КОЕ).

10. При потреблении силоса из провяленной люцерны, заготовленной с применением добавки молочнокислых бактерий «Биотроф», в составе рациона овцам гиссарской породы, среднесуточные приросты живой массы были больше на 18,3 гр, по сравнению с группой животных, потреблявших сенаж. Полученные данные указывают на то, что по своему продуктивному действию приготовленный с кормовой добавкой «Биотроф» силос из провяленной люцерны ни сколько не

уступает продуктивному действию сенажа из люцерны с содержанием сухого вещества около 50% при условии быстрого провяливания массы в том и другом случае.

## **6.2. Предложения производству**

Для получения высококачественного корма из люцерны рекомендуется предварительное провяливание консервированной массы до содержания сухого вещества 38-40% и внесение кормовой добавки «Биотроф» в дозе 1 литр добавки на 75 тонн зеленой массы.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

МДж – мегаджоуль

СВ – сухое вещество

СВ<sub>мин</sub> – минимальное количество сухого вещества

С – сахар

БЁ – буферная емкость

Г – грамм

КГ – килограмм

Д – доза кислот

Ц – центнер

ОЭ - обменная энергия

рН - концентрация водородных ионов

СЖ - сырой жир

СК - сырая клетчатка

СП - сырой протеин

АМС - амилолитический молочный стрептококк

КОЕ - колониеобразующая единица

Ксб – коэффициент сбраживаемости

**Список использованной литературы**

1. Алешина, Е.А. Развитие протеолитических Clostridium, выделенных из силосов, при разных температурах, активности воды и рН среды / Е.А. Алешина // Известия МСХА. - 1983. - № 2. - С. 117-122.
2. Андреев, М.Г. Кормопроизводство с основами ботаники / М.Г. Андреев. - 2-е изд., испр. - М.: Сельхозгиз, 1954. - 392 с.
3. Анисимов, А.А. Разработка технологии силосования высокобелковых многолетних бобовых трав с использованием полиферментного препарата Феркон: Автореф. дис. ... канд.с.-х. наук: 06.02.02 / Анисимов Анатолий Анатольевич. - М., 2007. – 17 с.
4. Баранов, Б.А. Теоритические и прикладные аспекты показателя «активность воды» в технологии продуктов питания: Дис. ... доктора техн.наук: Баранов, Б.А. - СПб., 2000. – 240 с.
5. Березовский, А.Л. Силосование зеленых растений с добавлением крахмалистых кормов / А.Л. Березовский, М.Ф. Егорова // Вопросы кормодобывания. - М.: Гос.сельхозиздат., 1951. - С. 379-385.
6. Богданов, Г.А. Сенаж и силос / Г.А. Богданов, О.Е. Привало. - М.: Колос, 1983. - 319 с.
7. Бойко, И.И. Консервирование кормов / И.И. Бойко. - М.: 1980. - 174 с.
8. Болотин, Е.А. Силосование кормов / Е.А. Болотин, А.А. Зубрилин. -М.: Сельхозгиз, 1935. - 397с.
9. Бондарев, В.А. Приготовление силоса и сенажа с применением отечественных биологических препаратов / В.А. Бондарев, В.М. Косолапов, В.П. Клименко, А.Н. Кричевский. - М.: ФГБНУ ВНИИ кормов им В.Р. Вильямса, 2016. - 212с.
10. Бондарев, В.А. Технологии приготовления высококачественного энергетического силоса из высокобелковых бобовых трав / В.А. Бондарев, А.А. Панов, Н.И. Лошманова, Г.Г. Нефедов // Кормопроизводство. - 2004. - № 4. - С. 29-32.

11. Бут, А. Современная микробиология. Прокариоты / А. Бут, М. Гудфуллоу, А. Демейн [и др.]. - Пер. с англ. - Т. 2. - М., 2005. – 496 с.
12. Бухарина, И.Л. Биохимия растений / И.Л. Бухарина, О.В. Любимова. – Ижевск: Ижевская ГСХА, 2009. – 50 с.
13. Вайсбах, Ф. Будущее консервирования кормов / Ф. Вайсбах // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2012. - № 2. - С. 49-70.
14. Вайсбах, Ф. Метод предотвращения нежелательного процесса при силосовании, основанный на химическом составе зеленых кормов / Ф. Вайсбах, Л. Шмидт, Е. Хайн // Сб. материалов 12 Международного конгресса по луговодству (11-20.06.1974г.). Т. 2. - М.: Колос, 1974. - С. 235-237.
15. Васин, В.Г. Производство кормов для молочных комплексов / В.Г. Васин, В.И. Зотиков, А.А. Васина. - Орел: ГНУ ВНИИЗБК, 2012. - 248 с.
16. Вафин, Ф.Р. Биологические препараты в консервировании зеленой массы растений / Ф.Р. Вафин, И.Т. Бикчантаев, Ш.К. Макаров, Ф.К. Ахметзянова // Вестник технологического университета. – 2017. - Т. 20. - № 8. - С. 131-133.
17. Вафин, Ф.Р. Влияние скармливания сенажа, заготовленного с биологическим консервантом, на рубцовое пищеварение коров / Ф.Р. Вафин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины. – 2018. – Т. 235. – С. 18-22.
18. Вирина, Дж. Некоторые факторы, влияющие на брожение силоса. Новое в улучшении и использовании сенокосов и пастбищ / Дж. Вирина // В сб.: Материалы 8-го Международного лугопастбищного конгресса (11-21 июня 1960 г., г. Реддинг, Англия). - Пер. с англ. – М., 1963. – С. 334-343.
19. ГОСТ Р 55452-2021 Сено и сенаж. Общие технические условия.- Национальный стандарт Российской Федерации. - 2021. – 12 с.
20. ГОСТ Р 55986-2014 Силос из кормовых растений. Общие технические условия. - Национальный стандарт Российской Федерации. - 2014. – 14 с.
21. ГОСТ 26180-84 Корма. Методы определения аммиачного азота и активной кислотности (рН) – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1984. - 6 с.

22. ГОСТ 13496.2-91 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения сырой клетчатки. – М.: Изд-во стандартов, 2002. - С. 19-24.
23. ГОСТ 13496.4-93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. – М.: Стандартиформ, 2011. - 15 с.
24. ГОСТ 31640-2012. Корма. Методы определения содержания сухого вещества. - М: Стандартиформ, 2012. - 12 с.
25. ГОСТ 13496.15-2016 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли сырого жира. – М.: Стандартиформ, 2016. - 10 с.
26. ГОСТ 32933-2014 Корма, комбикорма. Метод определения содержания сырой золы. – М.: Стандартиформ, 2016. - 10 с.
27. Грабов, М. Люцерна: Высокое содержание сырого протеина и повышенная поедаемость корма / М. Грабов // Ценовик. – 2016. - № 5. - С. 43.
28. Григорьев, Н. Г. Методические рекомендации по оценке кормов на основе их переваримости / Н.Г. Григорьев, Е.С. Воробьев, А.И. Фицев [и др.]. - М., 1989. - 44 с.
29. Данченко, Д. Люцерна. Сенаж или силос? / Д. Данченко // Тваринництво сьогодні. – 2015. – № 5. – С. 2-5.
30. Евглевский, А.А. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты / А.А. Евглевский, Г.Ф. Рыжкова, Е.П. Евглевская, Н.В. Ванина [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. - № 9. – С. 67-69.
31. Епринцев, А.Т. Малатдегидрогеназная и аконитазная ферментные системы высших растений: физиолого-биохимическая характеристика, регуляция и роль в адаптации к факторам внешней среды: Автореф. Дисс. ... д-ра биол. наук. - Воронеж: ВГУ, 1991.
32. Зафрен, С.Я. Технология кормов / С.Я. Зафрен. - М., Колос, 1977. – 240 с.

33. Зубрилин, А.А. Новое в консервировании сочных кормов / А.А. Зубрилин. - М., 1937. – 41 с.
34. Зубрилин, А.А. Консервирование зеленых кормов / А.А. Зубрилин. -М., 1938. – 200 с.
35. Зубрилин, А.А. Научные основы консервирования кормов / А.А. Зубрилин. - М.: Сельхозгиз, 1947. – 391 с.
36. Зубрилин, А.А. Силовование кормов / А.А. Зубрилин, Е.Н. Мишустин. - М.: Изд-во АН СССР, 1958. - 225 с.
37. Зубрилин, А.А. Технология кормов / А.А. Зубрилин, Я.Е. Субботин, П.А. Герасимова [и др.]. – М., 1934. – 320 с.
38. Ильина, Л.А. Изучение микрофлоры рубца крупного рогатого скота на
- о
- с
- н 39. Ёылдырым, Е.А. Изучение эпифитной микрофлоры как источника формирования микробиоценоза силоса методом NGS-секвенирования / Ё.А. Ёылдырым, Г.Ю. Лаптев, Л.А. Ильина, И.Н. Никонов // Сельскохозяйственная биология. - 2015. - Т. 50. - № 6. - С. 832-838.
40. Ёылдырым, Е.А. Особенности процессов ферментации при технологическом производстве сенажа / Е.А. Ёылдырым // Вестник мясного окотоводства. – 2017. - №3 (99). - С. 160-165.
- л 41. Ёылдырым, Е.А. Теоретические и экспериментальные основы микробиологической безопасности консервированных кормов для жвачных сельскохозяйственных животных: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – 2019. – 44 с.
- у 42. Калашников, А.П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справочное пособие / А.П. Калашников, В.И. Фисин, В.В. Щеглов [и др.]. - 3-е изд. - М.: Джангар, 2003. – 456 с.
- р 43. Квасников, Е.И. Биология молочнокислых бактерий / Е.И. Квасников. -Ташкент: издание АН Узб ССР, 1960. - 351 с.
- о
- 
- б
- и
- о

44. Косолапов, В.М. Эффективность силосования бобовых с препаратом Феркон / В.М. Косолапов, В.П. Клименко // Молочное и мясное скотоводство. - 2008. - № 7. - С. 19-21.
45. Критович, В.Л. Биохимия растений / В.Л. Критович. - М.: Высшая школа, 1980. – 445 с.
46. Куперман, И.А. Дыхательный газообмен как элемент продукционного процесса растений / И.А. Куперман, Е.В. Хитрово. - Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1977. - 183 с.
47. Курнаєв, О.М. Вплив технології заготівлі сінажу на втрати сирого протеїну та його фракційний склад упродовж зберігання / О.М. Курнаєв // Корми І кормовиробництво. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. - Вінниця, 2010. - В. 66. - С. 274-280.
48. Лаптев, Г. Качественный силос с закваской «Биотроф» / Г. Лаптев, В. Дернов, О. Ройко // Ценовик. – 2003. - № 5.
49. Лаптев, Г.Ю. Устранение потерь при силосовании кормов / Г.Ю. Лаптев // Ваш сельский консультант. – 2006. - № 4. – С. 28-30.
50. Лукнер, М. Вторичный метаболизм у микроорганизмов, растений и животных/ М. Лукнер. – М.: Издательство Мир, 1979. - 550 с.
51. Люерс, Г. Химия пивоварения / Г. Люерс. - М.: Пищепромиздат, 1938. - 415 с.
52. Маевский, Е.И. Биохимические основы механизма действия fumarat-содержащих препаратов / Е.И. Маевский, Е.В. Гришина // Биомедицинский журнал. – 2017. - Т. 18. - № 2. – С. 50-80.
53. Мак-Дональд, П. Питание животных / П. Мак-Дональд, Р. Эдвардс, Дж. Гринхалдж. - Пер. с англ. - М.: Колос, 1970. - 503 с.
54. Мак-Дональд, П. Биохимия силоса / П. Мак-Дональд. - Пер. с англ. - М.: Агропромиздат, 1985. - 271 с.
55. Михеев, Г.Д. Технология приготовления сенажа из люцерны в условиях Туркменской ССР / Г.Д. Михеев // Технология производства, хранения и использования кормов. Науч. тр. ВАСХНИЛ. - М., 1978. - С. 70-73.



56. Михин, А.М. Силосование в засушливой зоне / А.М. Михин. - Сталинград: Сталинградская правда, 1937. – 123 с.
57. Мишуров, А.В. Сено из бобовых культур как источник повышения полноценности рационов для высокопродуктивных коров / А.В. Мишуров, В.М. Дуборезов, И.И. Бойко // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2015. - № 1. – С. 96-106.
58. Нугматжанов, К.Г. Микробиологические способы повышения качества кормов / К.Г. Нугматжанов. - Алма-Ата: Кайнар, 1984. - 119 с.
59. Оноприенко, Н.А. Приготовление сенажа из люцерны с использованием биологического консерванта «Битасил»: Рекомендации / Н.А. Оноприенко, Н.А. Мандрыкина. - Краснодар, 2011.
60. Петросян. В.А. Сравнительная эффективность силосования, химического консервирования и сенажирования зеленых кормов / В.А. Петросян, А.С. Абрамян // Сб.: Технология производства, хранения, и использования кормов. ВАСХНИИ. - М.: Колос, 1978. - С. 25-27.
61. Пкнейру, М.А. Малатдегидрогеназа высших растений: свойства, функции и регуляция: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Воронеж: ВОРОНЕЖСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ЛЕНИНСКОГО КОМСОМОЛА, 1991. - 24 с.
62. Победнов, Ю.А. Биологические особенности силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий / Ю.А. Победнов, М.С. Широкомяд, А.А. Мамаев // Кормопроизводство. - 2020. - № 3. - С. 43-48.
63. Победнов, Ю.А. Ферментационные процессы в сенаже из люцерны без добавок и с интродукцией штамма *Lactobacillus plantarum* / Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев, М.С. Широкомяд, Е.А. Йылдырым [и др.] // Сельскохозяйственная биология. - 2020. - № 6. – Т. 55. - С. 1268-1284.
64. Победнов, Ю.А. Биологические источники сахара, аммиака и масляной кислоты при провяливание, сенажировании и силосовании люцерны / Ю.А. Победнов, М.С. Широкомяд, А.А. Мамаев, Б.А. Осипян // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2020. - №1. - С. 79-90.

65. Победнов, Ю.А. Биологические основы силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий / Ю.А. Победнов, В.М. Косолапов // Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т. 53. - С. 258-269.

66. Победнов, Ю.А. Биологический способ консервирования люцерны/ Ю.А. Победнов, М.С. Иванова, А.А. Мамаев // Научное и творческое наследие академика ВАСХНИЛ Ивана Семеновича Попова в науке о кормлении животных. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 130-летию со дня рождения выдающегося ученого в области кормления животных, педагога и общественного деятеля, профессора, академика ВАСХНИЛ, лауреата Ленинской премии И.С. Попова. – М.: Издательство: ООО ПГ «АРС-ПРЕСС»,

67. Победнов, Ю.А. Динамика аммиака и масляной кислоты в зависимости от степени проявлявания и способа силосования люцерны / Ю.А. Победнов, М

68. Победнов, Ю.А. К вопросу сенажирования и силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий / Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев, М.С. Иванова // В сборнике: Продовольственная безопасность сельского хозяйства России в XXI веке. Жученковские чтения II. - 2016. - С. 180-188.

69. Победнов, Ю.А. Новые подходы к прогнозированию эффективности и оптимизации процессов силосования трав / Ю.А. Победнов // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2009. - № 3. – С. 89-100.

70. Победнов, Ю.А. Силосование люцерны с препаратами молочнокислых бактерий / Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев, М.С. Иванова, К.Е. Юртаева // Животноводство и кормопроизводство. - 2018. - № 1. – Т. 101. - С. 213-220.

71. Победнов, Ю.А. Теоретические предпосылки и способы консервирования кукурузы и трав / Ю.А. Победнов. – СПб: «Биотроф», 2017. – 52

72. Победнов, Ю.А. Является ли сенаж сенажом? / Ю.А. Победнов // Сельскохозяйственные вести. - 2017. - № 2. – С. 22-24.

М

а

М

73. Победнов, Ю.А. Препараты молочнокислых бактерий при силосовании: теория, проблемы и перспективы применения / Ю.А. Победнов, Б.А. Осипян // Адаптивное кормопроизводство. - 2013. - № 1. - С. 21-30.

74. 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. 258-269.

75. Победнов, Ю.А. О новообразовании сахара при провяливание трав / Ю.А. Победнов // Кормопроизводство. - 2012. - № 8. – С. 37-38.

76. Победнов, Ю.А. Препараты молочнокислых бактерий при силосовании: теория, проблемы и перспективы применения / Ю.А. Победнов, Б.А. Осипян // Адаптивное кормопроизводство. – 2013. - №1 (13). - С. 21-30.

77. Победнов, Ю.А. Причины порчи силоса и сенажа / Ю.А. Победнов // Сельскохозяйственные вести. – 2016. - № 3. - С. 46-47.

78. Победнов, Ю.А. Биологические особенности и принципы консервирования люцерны / Ю.А. Победнов, В.П. Клименко, А.А. Мамаев, К.Е. Юртаева, М.С. Иванова // Достижения науки и техники АПК. - 2018. - Т. 32. - № 2. - С. 44-47.

79. Победнов, Ю.А. Основы и способы силосования трав / Ю.А. Победнов. - СПб.: «Биотроф», 2010. - 192 с.

80. 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. Широкомяд // Проблем биологии продуктивных животных. - 2019. - №2. - С. 89-98.

81. Победнов, Ю.А. Силосование трав: эффективность применения молочнокислых бактерий / Ю.А. Победнов, В.В. Панкратов // Кормопроизводство. - 2010. - № 5.

82. Победнов, Ю.А. Силосуемость кормовых трав и пути ее улучшения / Ю.А. Победнов // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2008. - № 3. - С. 93-108.

83. Победнов, Ю.А. Современная теория силосования провяленных трав / Ю.А. Победнов // Сб.: Адаптивное кормопроизводство: проблемы и пути решения.

-

84. Победнов, Ю.А. Как приготовить качественный силос из трав / Ю.А. Победнов, Н.Н. Новикова // Кормопроизводство. - 2013. - № 4.- С. 35-37.

85. Попов, В.В. Силаж, силаж и ещё раз силаж / В.В. Попов // Молочное и мясное скотоводство. - 2013. - № 2. - С. 20 - 23.

86. Привало, О.Е. Витамины в кормлении сельскохозяйственных животных / О.Е. Привало, С.М. Паенок, Я.С. Гусак [и др.]. - Под ред. О.Е. Привало. - Киев: Урожай, 1983. -С. 160 .

0 87. Ребиндер, П.А. О формах связи воды с материалом в процессе сушки / П.А. Ребиндер // Сборник материалов всесоюзного совещания по интенсивности процессов и улучшению качества материалов при сушке в основных отраслях промышленности и сельского хозяйства. - М., 1958. - С. 14.

88. Рогожин, В.В. Биохимия животных / В.В. Рогожин. - М.: Гиорд. - 2009. – 553 с.

С 89. Рубин, Б.А. Физиология и биохимия дыхания растений / Б.А. Рубин, М.Е. Ладыгина. - М.: Изд-во МГУ, 1974. – 512 с.

90. Ручин, И.В. Эффективность сенажирования и силосования провяленных злаковых трав с препаратами молочнокислых бактерий: Дис. ... канд. б.-х. наук. - М.: ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. - 2017. – 128с.

6 91. Рыжикова, Г.Ф. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты / Г.Ф. Рыжикова, И.И. Михайлова, А.В. Денисова, И.Ф. Брыженская. - 2013. - № 9. - С. 67-69.

6 92. Сагиян, А.С. Энантимерно чистые небелковые аминокислоты: способы получения: [монография] / А.С. Сагиян. - Москва: Наука, 2010. – 340 с.

. 93. Слепнева, Л.В. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими растворами / Л.В. Слепнева, Г.А. Хмылова. - 2013. - Т. 14. - № 2. - С. 49-65.

94. Смирнов В.А. Пищевые кислоты (лимонная, молочная, винная) // В.А. Смирнов. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 264 с.
95. Стейниер, Р. Мир микробов / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм. - Т. 2. - 334 с.
96. Таранов, М.Т. Использование фитонцидных свойств некоторых растений при силосовании / М.Т. Таранов, М.А. Веротченко // Докл. Васхнил. - 1981. - № 7. - С. 37-38.
97. Таранов, М.Т. Оптимальное содержание химических консервантов для несилюющихся растений в зависимости от содержания в них сухого вещества / М.Т. Таранов., Л.И. Устина [и др.] // Вопросы рациональной заготовки и использования кормов. - 1984. - В. 76. - С. 30-33.
98. Тихонова, Е.О. Использование препаратов, содержащих сукцинат / Е.О. Тихонова, Е.П. Ляпина, А.А. Шульдяков, С.А. Сатарова // Терапевтический архив. - 2016. - № 4. - С. 121-127.
99. Филатов, И.И. Микробиологические и биохимические процессы при силосовании люцерны с разным уровнем сухого вещества / И.И. Филатов, Т.Т. Кузнецова, Л.Г. Сафронова [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 1978. - № 5. - С. 44-49.
100. Хелд, Г.В. Биохимия растений / Г.В. Хелд. - Пер. с нем. - М.: Бином, 2011. – 471 с.
101. Чуб, О. Выращивание и силосование люцерны / О. Чуб // Животноводство России. - 2015. - №10. - С. 55-56.
102. Чуканов, Н.К. Микробиология на службе кормопроизводства / Н.К. Чуканов. - Алма-Ата: Кайнар, 1975. – 142 с.
103. Шифер, К. Люцерна: привлекательность возделывания и возможности силосования / К. Шифер, О. Штайнхёфель, Б. Надь // Новое сельское хозяйство. - 2007. - № 4. - С. 74-78.
104. Шмидт, В. Производство силоса / В. Шмидт, Г. Веттерау. - Пер. с нем. - М.: Колос, 1975. – 352 с.

105. Шпаар, Д. Производство грубых кормов / Д. Шпаар, Х. Гибельхаузен, Х. Гинап [и др.]. – Книга 1. - Торжок: Вариант, 2002. – 360 с.

106. Шпаар, Д. Производство грубых кормов / Д. Шпаар, Х. Гибельхаузен, Якушкина, Н.И. Физиология растений / Н.И. Якушкина, Е.Ю. Бахтенко. - М.: ГИЦ Владос, 2004. – 463 с.

108. Buxton D.R., Richard E. Muck, Joseph H. Harrison. Silage Science and Technology, Madison: American Society of Agronomy, Incorporated, 2003 – 927 P.

109. Cacan E. Determination of yield and quality characteristics of some alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars in the East Anatolia Region of Turkey and correlation analysis between these properties / E. Cacan, R. Kokten, M. Kaplan // Applied Ecology and Environmental Research. — 2018. — No. 16 (2). — P.1185–1198.)

110. Davies D.R., Fychan R., Jones R. Aerobic deterioration of silage: causes and controls. Proc. Alltech's 23rd Annual Symposium «Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries». Nottingham, 2007: 227-238.

111. Dimitrova R. Einfluss einiger Konservierungsmethoden auf der Einweiss- und Aminosäuregehalt von Luzerne // International Grassland Congress (Leipzig, GDR, Mai 18-27, 1977). Leipzig, 1977. Pp. 179–186.

112. Dinakaran V., Shankar M., Jayashree S., Rathinavel A., Gunasekaran P., Rajendhran J. Genome sequence of *Staphylococcus arlettae* strain CVD059, isolated from the blood of a cardiovascular disease patient. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(23): 6615–6616 (doi:10.1128/JB.01732-12).

113. Ding W.R, Long R.G, cyuox s, effects of plant enzyme inactivation or sterilization on lipolysis and proteolysis in alfalfa silage. *Journal of dairy science* 2013, v.96, №4, p.2536-2543

114. Eikmeyer F.G., Köfinger P., Poschenel A., Jünemann S., Zakrzewski M., Heintl S., Mayrhuber E., Grabherr R., Pühler A., Schwab H., Schlüter A. Metagenome analyses reveal the influence of the inoculant *Lactobacillus buchneri* CD034 on the microbial community involved in grass ensiling, *Journal of Biotechnology*, 2013, 167(3): 334–343 (doi: 10.1016/j.jbiotec.2013.07.021).

115. Fehrmann E. Jaresverlauf des epiphytischen Mikrobenbesatzes auf einen Graslandstandort / E. Fehrmann, Th. Müller // *Das Wirtschaftseigene Futter*. — 1990. — Vol. 36. — No. 1. — P.66–78.
116. Fierer N., Bradford M. A., Jackson R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88:1354–1364 (doi: 10.1890/05-1839).
117. Gawęł E. Protein from lucerne in animals supplement diet / E. Gawęł, M. Grzelak // *Journal of Food Agriculture and Environment*. — 2014. — Vol. 12. — No. 2. — P.314–319.
118. Jung A., Metzner M., Ryll M.. Comparison of pathogenic and non-pathogenic *Enterococcus cecorum* strains from different animal species. *BMC Microbiology*, 2017, 17C.
119. Kielak A.M., Barreto C.C., Kowalchuk G.A., van Veen J.A., Kuramae E.E. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 744.
120. Kim M., Singh D., Lai-Hoe A., Go R., Abdul Rahim R., Ainuddin A.N., Chun J., Adams J.M. Distinctive phyllosphere bacterial communities in tropical trees. *Microbial Ecology*, 2012, 63(3):674-681.
121. Krantz A.M., Ratnaraj F., Velagapudi M., Krishnan M., Gujjula N.R., Foral P.A., Preheim L. *Streptococcus Gordonii* Empyema: A Case Report and Review of Empyema. *Cureus*, 2017, 9C.
122. Kung L.J., Taylor C.C., Lynch M.P., Neylon J.M. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *J. Dairy Sc.*, 2003, 86: 336-343C.
123. Kurtoglu V., Coskum B. Effect of bacterial adding alfalfa silage on milk yield and milk composition of dairy cattle. *Revue Mèd. Vèt.*, 2003, 154(12): 755-762.
124. Li X., Tian J., Zhang Q., Jiang Y., Wu Z., Yu Z. Effect of mixing red clover with alfalfa at different ration on dynamics of proteolysis and protease activities during ensiling. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101, 10: 8954-8964.
125. Mc Karsie B. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forade II *Agronomy gornal*, 1983, v.77, N1, p.81-86.

126. Mc Kersie B. Buchanah-Smith G. Changes in the levels of proteolytic enzymes in ensiled alfalfa forage. II Canadian journal of plant science, 1982, v.62, N1.,p.111-116.

127. McAllister T.A., Dunière L., Drouin P., Xu S., Wang Y., Munns K., Zaheer R. Silage review: Using molecular approaches to define the microbial ecology of silage. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 4060-4074.

128. McKersie B.D. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forage. Agronomy Journal, 1983, 77, 1: 81-86.

129. Mohammed R., Stevenson D.M., Beauchemin K.A., Muck R.E., Weimer P.J. Changes in ruminal bacterial community on following feeding of alfalfa silage inoculated with a commercial silage inoculant. Journal of Dairy Science, 2012, 95, 1: 328-339.

130. Moran J. P. Owen T.P. The effect of bacterial inoculant on the fermentation of lucerne silage. // Proceedings of the XI international conference 8-11 september, 1996, p. 1668-167.

131. Ni K., Minh T.T., Tu T.T., Tsuruta T., Pang H., Nishino N. Comparative microbiota assessment of wilted Italian ryegrass, whole crop corn, and wilted alfalfa silage using denaturing gradient gel electrophoresis and next-generation sequencing. A

132. Pahlow G., Weissbach F. New aspects of evaluation and application of silage additives // Landbauforschung Völkenrode. – 1999. – Sonderheft 206. – P. 141- 158

133. Pan Y., An H., Fu T., Zhao S., Zhang C., Xiao G., Zhang J., Zhao X., Hu G. Characterization of *Streptococcus pluranimalium* from a cattle with mastitis by whole genome sequencing and functional validation. BMC Microbiology, 2018, 18(1): 182.

134. Purwin C., Pysera B., Fijałkowska M., Antoszkiewicz Z., Piwczynski D., Wyzlic I., Lipinski K. The influence of ensiling method on the composition of nitrogen fractions in red clover, alfalfa and red fescue silage. Proc. XVI International Silage Conference. Hämeenlinna, 2012: 256-257.



135. Rigy E., Zsédely E., Tóth T., Schmidt J. Ensiling alfalfa with hydrolyzed corn meal additive and bacterial inoculant. *Acta Agronomica Óvariensis*, 2011, 53(2): 15-23.

136. Rodriguez-Castaño G.P., Dorris M.R., Liu X., Bolling B.W., Acosta-Gonzalez A., Rey F.E. *Bacteroides thetaiotaomicron* Starch Utilization Promotes Q  
u

137. Shelobolina E.S., Sullivan S.A., O'Neill K.R., Nevin K.P., Derek R. Isolation, Characterization, and U(VI)-Reducing Potential of a Facultatively Anaerobic, Acid-Resistant Bacterium from Low-pH, Nitrate- and U(VI)-Contaminated Subsurface Sediment and Description of *Salmonella subterranea* sp. Nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5) 2959-2965.

138. Silva V.P., Pereira O.G., Leandro E.S., Da Silva T.S., Ribeiro K.G., Mantovani H.C., Santos S.A. Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the fermentation profile and chemical composition of alfalfa silage in tropical conditions. *J. Dairy Sci.*, 2016, 99(3): 1895-1902.

139. Simu K., Hagstrom A. Oligotrophic bacterioplankton with a novel single-cell life strategy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 2445-2451.

140. Sovoie P, Shinnors R.J. Advances in silage harvesting// *Proce. XV sitehn conf.*, Madison, Wisconsin, USA, 2009, p.169-180.

141. Tabacco E., Borreani 2006, v.89, N12, p.4736-4746

142. Tao L., Guo X.S., Zhou H., Undersander D.J., Nandety A. Short communication: Characteristics of proteolytic activities of endo- and exopeptidases in alfalfa herbage and their implications for proteolysis in silage. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95, 8: 4591-4595.

143. Weissbach F. Consequences of grassland de-intensification for ensilability and feeding value of herbage. *Landbauforschung Völkenrode*, 1999, 206(Sonderheft): 41-53.

144. Weissbach F., Honig H. Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensiven Anbau. // Landbauforschung Völkenrode. – 1996. – H. 1. – S. 10-17.

145. Weissbach, F. Bestimmung der Pufferkapazität / F. Weissbach. - Braunschweig, 1992. -3 s.

146. Weissbach, F. Methode und Tabellen zur Schätzung der Vergarbarkeit / F. Weissbach, L.Schmidt, G. Peters u.a.-Leipzig, 1975.-53s.

147. Yahaya M.S., Kimura A., Harai J., Nguyen H.V., Kawai M., Takahashi J., Matsuoka S. Evaluation of structural carbohydrates losses and digestibility in alfalfa and orchard grass during ensiling. Asian – Australasian Journal of animal's sciences, 2001, 14, 12: 1701-1704.

148. Yahaya M.S., Kimura A., Harai J., Nguyen H.V., Kawai M., Takahashi J., Matsuoka S. Evaluation of structural carbohydrates losses and digestibility in alfalfa and orchard grass during ensiling.||Asian-Australian Journal of animal's sciences, 2001, V. 14(12), p.1701-1704).

149. Zheng M., Niu D., Zuo S., Mao P., Meng L., Xu C. The effect of cultivar, wilting and storage period on fermentation and the clostridial community of alfalfa silage. Italian Journal of Animal Science, 2018, 17, 2: 336-346.

150. Short communication: Characteristics of proteolytic activities of endo- and exopeptidases in alfalfa herbage and their implications for proteolysis in silage / L. Tao, X. S. Guo, H. Zhou, D. J. Undersander, A. Nandety // Journal of Dairy Science. — 2012. — Vol. 95. — No. 8. — P.4591–4595.

151. Kurtoglu V. Effects of bacterial adding alfalfa silage on milk yield and milk composition of dairy cattle / V. Kurtoglu, B. Coskun // Revue Médecine. Vétérinaire. — 2003. — Vol. 154. — No. 12. — P.755–762.

152. Oldenburg E. Mycotoxins in conserved forage.// Landbauforschung Völkenrode. -1991. - Sonderheft123. - S.191 - 205

153. 141. Spoetra S.F., Courtin M.G., Beers J.A.C. Acetik acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage // J. of Agr. Sei - 1988, V - 111, № 1, s: 127 - 132.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение А – Динамика сахара, аммиака и рН в люцерне при разных сроках проявливания

| Показатели                     | Продолжительность проявливания, час |       |       |       |       |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                | 0                                   | 4     | 8     | 24    | 48    |
| <b>Опыт № 1</b>                |                                     |       |       |       |       |
| Содержание сухого вещества, %  | 24,84                               | 40,18 | 47,55 | -     | -     |
| Содержание в сухом веществе, % |                                     |       |       |       |       |
| сахара                         | 4,51                                | 4,95  | 5,19  | -     | -     |
| аммиака                        | 0,03                                | 0,02  | 0,02  | -     | -     |
| сахаро-буферное отношение      | 1,0                                 | -     | 1,1   | -     | -     |
| рН                             | 5,73                                | 5,81  | 5,97  | -     | -     |
| <b>Опыт № 2</b>                |                                     |       |       |       |       |
| Содержание сухого вещества, %  | 25,76                               | 36,18 | 37,76 | 49,11 | -     |
| Содержание в сухом веществе, % |                                     |       |       |       |       |
| сахара                         | 4,15                                | 4,67  | 5,01  | 3,91  | -     |
| аммиака                        | 0,02                                | 0,02  | 0,02  | 0,02  | -     |
| сахаро-буферное отношение      | 1,0                                 | -     | -     | 0,8   | -     |
| рН                             | 5,77                                | 5,86  | 5,79  | 5,92  | -     |
| <b>Опыт № 3</b>                |                                     |       |       |       |       |
| Содержание сухого вещества, %  | 20,75                               | 24,59 | 26,52 | 33,89 | 51,30 |
| Содержание в сухом веществе, % |                                     |       |       |       |       |
| сахара                         | 6,17                                | 5,45  | 5,77  | 5,90  | 4,48  |
| аммиака                        | 0,02                                | 0,02  | 0,02  | 0,03  | 0,03  |
| сахаро-буферное отношение      | 1,5                                 | -     | -     | -     | 1,0   |
| рН                             | 5,65                                | 5,75  | 5,62  | 5,94  | 6,05  |
| <b>Опыт № 4</b>                |                                     |       |       |       |       |
| Содержание сухого вещества, %  | 22,03                               | 26,60 | 25,08 | 28,65 | 40,96 |
| Содержание в сухом веществе, % |                                     |       |       |       |       |
| сахара                         | 1,59                                | 2,26  | 2,19  | 1,47  | 1,51  |
| аммиака                        | 0,03                                | 0,03  | 0,03  | 0,04  | 0,05  |
| сахаро-буферное отношение      | 0,3                                 | -     | -     | -     | 0,2   |
| рН                             | 6,16                                | 6,03  | 6,02  | 6,23  | 6,20  |

Примечание: достоверность разности показана в сравнении с контролем\*; разность достоверна при \* -

P<0,05

Приложение Б - Динамика сахара, аммиака и кислот брожения при обычном сенажировании провяленной до содержания сухого вещества 52,5% люцерны и с препаратом «Биотроф»

| Корм                         | рН                      | Содержание в сухом веществе, % |                         |                          |                         |
|------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|                              |                         | сахара                         | аммиака                 | органических кислот      |                         |
|                              |                         |                                |                         | молочной                 | масляной                |
| Исходная провяленная масса   |                         |                                |                         |                          |                         |
|                              | 5,87±0,01               | 5,81±0,06                      | 0,02±0,00               | 0,17±0,04                | 0,06±0,00               |
| Через 3 суток сенажирования  |                         |                                |                         |                          |                         |
| без добавок                  | 5,86±0,01               | 4,20±0,06*                     | 0,07±0,01*              | 0,44±0,03*               | 0,10±0,01*              |
| с «Биотроф»м                 | 5,85±0,01               | 4,10±0,01*                     | 0,08±0,00*              | 0,75±0,06* <sup>о</sup>  | 0,11±0,01*              |
| Δ                            | 0,01                    | 0,10                           | - 0,01                  | - 0,31                   | - 0,01                  |
| Через 7 суток сенажирования  |                         |                                |                         |                          |                         |
| без добавок                  | 5,78±0,01*              | 5,10±0,03*                     | 0,08±0,00*              | 0,54±0,01*               | 0,12±0,01*              |
| с «Биотроф»м                 | 5,17±0,01* <sup>о</sup> | 4,51±0,02* <sup>о</sup>        | 0,06±0,00* <sup>о</sup> | 9,62±0,23* <sup>о</sup>  | 0,15±0,01*              |
| Δ                            | 0,61                    | 0,59                           | 0,02                    | - 9,08                   | - 0,03                  |
| Через 15 суток сенажирования |                         |                                |                         |                          |                         |
| без добавок                  | 5,85±0,03               | 5,96±0,04                      | 0,07±0,01*              | 0,69±0,03*               | 0,22±0,01*              |
| с «Биотроф»м                 | 4,69±0,05* <sup>о</sup> | 1,95±0,02* <sup>о</sup>        | 0,11±0,01* <sup>о</sup> | 10,25±0,15* <sup>о</sup> | 0,15±0,01* <sup>о</sup> |
| Δ                            | 1,16                    | 4,01                           | - 0,04                  | -9,56                    | 0,07                    |
| Через 30 суток сенажирования |                         |                                |                         |                          |                         |
| без добавок                  | 5,79±0,01*              | 4,62±0,04*                     | 0,09±0,01*              | 0,29±0,02*               | 0,14±0,01*              |
| с «Биотроф»м                 | 4,55±0,01* <sup>о</sup> | 2,45±0,02* <sup>о</sup>        | 0,11±0,01* <sup>о</sup> | 12,91±0,32* <sup>о</sup> | 0,14±0,02*              |
| Δ                            | 1,24                    | 2,17                           | - 0,02                  | - 12,62                  | 0,00                    |
| Через 60 суток сенажирования |                         |                                |                         |                          |                         |
| без добавок                  | 5,70±0,02*              | 5,57±0,08                      | 0,09±0,01*              | 0,68±0,03*               | 0,10±0,01*              |
| с «Биотроф»м                 | 4,41±0,02* <sup>о</sup> | 1,44±0,10* <sup>о</sup>        | 0,09±0,00*              | 15,80±0,21* <sup>о</sup> | 0,21±0,01* <sup>о</sup> |
| Δ                            | 1,29                    | 4,13                           | 0,00                    | - 15,12                  | - 0,11                  |

\*Разница достоверна по отношению к исходной массе силосу без добавок:  $p \leq 0,05$

о Разница достоверна по отношению к силосу без добавок:  $P \leq 0,05$

Приложение В – Состав бактерий в сенаже из провяленной до сухого вещества 43,5 % люцерны по срокам хранения, %.

| Состав микроорганизмов в сенаже люцерны изменчивой <i>Medicago sativa</i> L. nothosubsp. <i>varia</i> (Martyn) Arcang сорта Пастбищная 88 (содержание сухого вещества 43,5 %) при хранении от 4 до 90 сут ( $M \pm SEM$ , $n=3$ , лабораторный опыт) |                                       |   |   |                                       |  |   |  |
|--|---------------------------------------|---|---|---------------------------------------|--|---|--|
| Таксон   | Исходная растительная масса           | Срок хранения сенажа, сут               |   |                                       |  |   |  |
|  |                                       | 4                                       | 7                                       | 14                                    | 28                                       | 60                                      | 90                                       |
| Количественная ПЦР, клеток/г   |                                       |   |   |                                       |  |   |  |
| Общее число бактерий   | $3,3 \times 10^8 \pm 1,4 \times 10^7$ | $2,0 \times 10^7 \pm 1,1 \times 10^6^*$ | $9,0 \times 10^6 \pm 2,1 \times 10^5^*$ | $4,2 \times 10^6 \pm 5,6 \times 10^5$ | $1,15 \times 10^7 \pm 9,9 \times 10^5^*$ | $1,5 \times 10^6 \pm 9,3 \times 10^5^*$ | $1,15 \times 10^7 \pm 8,9 \times 10^5^*$ |
| NGS-секвенирование, %  |                                       |   |   |                                       |  |   |  |
| Не классифицируемые бактерии   | 14,80±0,790                           | 47,08±2,600*                            | 50,00±3,100                             | 53,85±3,500                           | 35,96±1,900*                             | 45,45±2,300*                            | 50,91±3,900                              |
| Класс <i>Acidobacteria</i>   | 62,56±3,400                           | 3,64±0,210*                             | 1,43±0,073*                             | 0                                     | 1,12±0,059*                              | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Actinobacteria</i>  | 1,29±0,070                            | 0,73±0,050*                             | 4,29±0,340*                             | 1,10±0,054*                           | 0  | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Aiphaproteobacteria</i>   | 2,76±0,150                            | 0,73±0,048*                             | 1,43±0,062                              | 0                                     | 23,60±1,700*                             | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Anaerolineae</i>  | 0,02±0,001                            | 0                                       | 0                                       | 0                                     | 0  | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Aquificae</i>   | 0,02±0,002                            | 0                                       | 0                                       | 0                                     | 0  | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Armatimonadia</i>   | 0,02±0,002                            | 0                                       | 0                                       | 0                                     | 0  | 0                                       | 0  |
| Класс <i>Bacilli</i> :   | 1,76±0,080                            | 14,05±0,720*                            | 7,14±0,360*                             | 1,10±0,052*                           | 7,87±0,420*                              | 31,82±1,750*                            | 45,45±2,600*                             |
| сем. <i>Bacillaceae</i>  | 0,37±0,020                            | 2,74±0,150*                             | 4,29±0,29*                              | 1,10±0,049*                           | 1,12±0,059                               | 4,55±0,310*                             | 0  |
| сем. <i>Staphylococcaceae</i>  | 0                                     | 0                                       | 1,43±0,081*                             | 0                                     | 0  | 0                                       | 0  |
| сем. <i>Lactobacillaceae</i>   | 1,39±0,078                            | 11,31±0,450*                            | 4,29±0,330*                             | 0                                     | 6,74±0,450*                              | 27,27±1,600*                            | 45,45±2,400*                             |
| Класс <i>Bacteroidia</i>   | 1,16±0,063                            | 3,47±0,190*                             | 12,86±0,520                             | 17,58±0,92*                           | 0  | 4,55±0,380*                             | 1,82±0,160*                              |

|   |             |              |              |             |              |             |             |
|---|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| Класс <i>Betaproteodacteria</i>                           | 1,45±0,081  | 0,18±0,009*  | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Caldilineae</i>                                  | 0,02±0,002  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Caldisericia</i>                                 | 0,06±0,003  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Chthonomonadetes</i>                             | 0,35±0,020  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Clostridia</i>                                   | 1,23±0,073  | 3,10±0,220*  | 15,71±0,800* | 19,78±0,99* | 0            | 9,09±0,560* | 0           |
| Класс <i>Cytophagia</i>                                   | 0,31±0,030  | 0,18±0,007*  | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Deinococci</i>                                   | 0,02±0,004  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Deltaproteobacteria</i>                          | 0,06±0,004  | 0            | 0            | 0           | 0            | 4,55±0,290* | 0           |
| Класс <i>Erysipelotrichia</i>                             | 0,02±0,002  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Flavobacteria</i>                                | 0,15±0,008  | 0,18±0,008   | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Gammaproteobacteria:</i>                         | 11,03±0,750 | 26,09±1,500* | 0            | 2,20±0,190* | 31,46±1,460* | 4,55±0,300* | 1,82±0,170* |
| пор. <i>Enterobacteriales:</i>                            | 5,61±0,290  | 23,54±1,200* | 0            | 1,10±0,150* | 30,34±1,110* | 0           | 0           |
| <i>Salmonella subterranea</i>                             | 0           | 0,36±0,019*  | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Mollicutes</i>                                   | 0,04±0,005  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Пор. <i>Selenomonadales</i> (класс <i>Negativicutes</i> ) | 0,10±0,005  | 0,55±0,030*  | 4,29±0,360*  | 3,30±0,220* | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Opitutae</i>                                     | 0,02±0,003  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Phycisphaerae</i>                                | 0,02±0,001  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Planctomycetia</i>                               | 0,04±0,004  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |
| Класс <i>Sphingobacteriia</i>                             | 0,50±0,150  | 0            | 0            | 0           | 0            | 0           | 0           |

|   |              |   |             |             |   |   |   |
|---|--------------|---|-------------|-------------|---|---|---|
| Класс <i>Spirochaetia</i>   | 0,04±0,006   | 0 | 0           | 0           | 0 | 0 | 0 |
| Класс <i>Synergistia</i>  | 0,020±0,0021 | 0 | 0           | 1,10±0,130* | 0 | 0 | 0 |
| Класс <i>Thermodesulfobacteria</i>  | 0,020±0,0026 | 0 | 0           | 0           | 0 | 0 | 0 |
| Класс <i>Thermomicrobia</i>   | 0,020±0,0015 | 0 | 0           | 0           | 0 | 0 | 0 |
| Класс <i>Verrucomicrobiae</i>   | 0,020±0,0023 | 0 | 1,43±0,160* | 0           | 0 | 0 | 0 |
| * Разница с показателем в предыдущий срок статистически значима при $p \leq 0,05$ . |              |   |             |             |   |   |   |

## Приложение Г – Свидетельство регистрации кормовой добавки «Биотроф»



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ  
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ**

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**  
О ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ  
КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Учетная серия 78-2-3.14-6161 Регистрационный № ПВР-2-3.14/03029

от 19 мая 2014 года бессрочно  
(дата) (дата)

Настоящее свидетельство выдано организации-производителю  
(заявитель)  
ООО «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург

о том, что в соответствии со статьей 3 Закона Российской Федерации  
«О ветеринарии»,

Биотроф®  
(полное название кормовой добавки для животных)

в виде жидкости  
(форма)

применяется для консервирования свежескошенных и провяленных трав, а  
также плющеного зерна

**ЗАРЕГИСТРИРОВАНА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Заместитель Руководителя  
Россельхознадзора  
(должность)



Е.А. Непоклонов  
(И.О. Фамилия)



## Приложение Д – Инструкция к применению кормовой добавки «Биотроф»



Утверждаю  
Заместитель Руководителя  
Россельхознадзора

А.А. НЕПОКЛОНОВ

19 МАЯ 2014

**ИНСТРУКЦИЯ**  
по применению Биотроф®  
для консервирования свежескошенных и провяленных трав, а также плющеного зерна.  
(организация-производитель ООО «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург)

### I ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Биотроф® – кормовая добавка для консервирования свежескошенных и провяленных трав, а также плющеного зерна.

2. Кормовая добавка Биотроф® содержит живые бактерии *Lactobacillus plantarum* штамм № 60 в среде культивирования.

В 1 см<sup>3</sup> кормовой добавки содержится не менее 1×10<sup>8</sup> КОЕ (колониеобразующих единиц) *Lactobacillus plantarum*.

Содержание вредных примесей не превышает предельно допустимых норм, действующих на территории Российской Федерации.

Не содержит генетически модифицированных продуктов и организмов.

3. Биотроф® представляет собой жидкость от светло-коричневого до темно-коричневого цвета с незначительным осадком.

4. Биотроф® расфасовывают по 1,0; 5,0; 10,0 дм<sup>3</sup> в полиэтиленовые бутылки или канистры из полиэтилена высокого давления с завинчивающимися крышками.

Каждую единицу фасовки маркируют с указанием: наименования организации-производителя, ее адреса и торговой марки; наименования кормовой добавки, ее кода; назначения, состава; гарантируемых показателей; количества добавки в упаковке (см<sup>3</sup>); номера партии; даты изготовления (число, месяц, год); условий и срока хранения; знака соответствия; манипуляционного знака – «Ограничение температуры»; надписи – «Для животных»; обозначения ТУ и снабжают инструкцией по применению.

Хранят кормовую добавку в упаковке производителя в сухом, чистом, защищенном от прямых солнечных лучей месте при температуре от 2° до 15°С.

Срок годности – 4 месяца с даты выпуска при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Кормовая добавка Биотроф® не должна применяться по истечении срока годности.

### II БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

5. Кормовая добавка Биотроф® обеспечивает быстрое подкисление силосуемой массы за счет накопления молочной кислоты, образуемой молочнокислыми бактериями, в результате чего происходит ингибирование роста гнилостных бактерий и грибов, сокращаются потери питательных веществ корма.

Использование кормовой добавки Биотроф® позволяет оптимизировать соотношение органических кислот в корме, улучшить его органолептические свойства, снизить потери питательных веществ в процессе созревания и хранения корма.

## Продолжение приложения Д

## III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

6. Биотроф® применяют для консервирования свежескошенных и провяленных трав, кукурузы и плющеного зерна.

7. Биотроф® вносят при загрузке массы в силосное сооружение из расчета 1 дм<sup>3</sup> закваски на 75 тонн зелёной массы, для чего 0,2 дм<sup>3</sup> добавки разводят в 60 дм<sup>3</sup> воды и расходуют на 1 т зелёной массы 4 дм<sup>3</sup> рабочего раствора. Рабочий раствор готовят на предполагаемый суточный объём закладки и используют в течение суток

Опрыскивание зелёной массы рабочим раствором кормовой добавки «Биотроф» производят после её равномерного распределения по траншее слоями не более 40 см высотой. По окончании трамбовки силосуемую массу укрывают сверху полиэтиленовой пленкой. Пленку особенно тщательно заделывают у стен траншеи и прижимают грузом по всей поверхности.

8. Побочных явлений после скармливания силоса, приготовленного с помощью Биотроф®, не наблюдается.

9. Противопоказаний к применению Биотроф® не установлено.

10. Продукцию животноводства после скармливания корма, приготовленного с использованием Биотроф®, реализуют без ограничений.

## IV МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

11. При работе кормовой добавкой Биотроф® следует соблюдать общие правила личной гигиены и технику безопасности, предусмотренные при работе с кормовыми добавками.

12. При работе с кормовой добавкой Биотроф® запрещается пить, курить и принимать пищу. После работы следует вымыть руки с мылом. При попадании на кожу и/или слизистые оболочки их рекомендуется промыть большим количеством водопроводной воды.

13. Кормовую добавку Биотроф® следует хранить в местах, недоступных для детей.

Инструкция разработана ООО «БИОТРОФ» (г. Санкт-Петербург)

Адрес организации–производителя: ООО «БИОТРОФ» (196602, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Малиновская, д.8, лит.А, пом. 7-Н)

С утверждением настоящей инструкции утрачивает действие Инструкция по применению, утвержденная заместителем Руководителя Россельхознадзора 15 мая 2009 г.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГБУ «ВГНКИ»

Регистрационный номер ПВР-2-3.14/03029

## Приложение Е - Паспорт качества кормовой добавки «Биотроф»



Общество с ограниченной ответственностью

**«БИОТРОФ»**

196602 г. Санкт-Петербург,  
г. Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н  
Адрес производства: 196650, г. Санкт-Петербург,  
г. Колпино, Ижорский завод, д. 45, лит. ДВ  
тел./факс (812) 322-85-50; тел. (812) 448-08-68  
[www.biotrof.ru](http://www.biotrof.ru) e-mail: [biotrof@biotrof.ru](mailto:biotrof@biotrof.ru)

**Паспорт качества № 05/32 от 21.05.2020г.**

1. Предприятие-изготовитель: ООО «БИОТРОФ».
2. Наименование препарата: **Закваска для силосования «Биотроф®»**
3. № партии/ контроля: 4/32
4. Объем партии: 30 л.
5. Объем одной единицы фасовки 1 л.
6. Дата изготовления: «21» мая 2020г.
7. Результаты анализа по показателям качества:

| Наименование показателя и единицы измерения  | Характеристика и норма  | Результат испытаний |
|--|---|---------------------|
| Внешний вид и цвет   | Жидкость от светло-коричневого до темно-коричневого цвета с небольшим осадком питательной среды | СООТВЕТСТВУЕТ       |
| Наличие механических примесей  | Не допускается  | СООТВЕТСТВУЕТ       |
| Количество жизнеспособных бактерий <i>Lactobacillus plantarum</i> , КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее | 1x10 <sup>8</sup>   | СООТВЕТСТВУЕТ       |
| Подлинность  | Должен содержать штамм <i>Lactobacillus plantarum</i> штамм, №60                                | СООТВЕТСТВУЕТ       |
| Микробиологическая чистота   | Должен быть бактериально чистым   | СООТВЕТСТВУЕТ       |
| Титруемая кислотность, °Т, не менее  | 30  | СООТВЕТСТВУЕТ       |

8. **Заключение:** закваска для силосования «Биотроф®» соответствует требованиям ТУ 9291-002-50932298-2014.  
Хранить в сухих чистых, хорошо вентилируемых помещениях при температуре от 2 °С до 15 °С в пределах срока годности.  
Срок годности: 4 месяца с даты изготовления.

Начальник отдела контроля качества



О.Н. Соколова

## Приложение Ж – Акт производственной проверки

«Утверждаю»

Директор ИП КФХ Михайлиди Г.Г.

Г.Г. Михайлиди

12 февраля 2021 года



Акт

Производственной проверки технологии сенажирования люцерны, и силосования люцерны, сорта «Пастбищная 88» с применением кормовой добавки молочнокислых бактерий «Биотроф», 1-го укоса.

Мы, нижеподписавшиеся, аспирант ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса Широкомяд М.С. с одной стороны и главный зоотехник «КФХ Михайлиди Г.Г.», К.Г. Михайлиди с другой стороны составили настоящий акт в том, что в период с 01 июня по 15 декабря 2020 года в животноводческом хозяйстве КФХ Михайлиди Г.Г., (Р.Карачаево-Черкессия) проводили производственную проверку эффективности силосования люцерны 1 укоса, сорта Пастбищная 88, с применением кормовой добавки молочнокислых бактерий Биотроф. В одной траншее, емкостью 300 тонн, массу закладывали на сенаж, без внесения каких-либо добавок и консервантов, в другую, также емкостью 300 тонн – делали силос, с использованием добавки «Биотроф», который вносили с помощью насоса-дозатора, из расчета 1 литр «Биотроф» для 75 тонн массы (В 1000 мл 100 000 000 000 КОЕ). Биохимическую оценку корма проводили спустя 4 месяца хранения, и она показала, что, тот и другой корм имели сохранившуюся структуру, характеризовались слабокислым запахом и темно-зеленым цветом. В силосе и сенаже отсутствовали участки гнили, плесени и другие признаки поверхностной порчи.

В научно-хозяйственном опыте по скармливаю овцам гиссарской породы в составе сбалансированного хозяйственного рациона, сенажа и силоса с внесением добавки «Биотроф», было



## Продолжение приложения Ж

установлено, что потребление животными опытного силоса обусловило их увеличение среднесуточного прироста живой массы. О чем и составили настоящий акт. Данные о приросте указаны в таблице.

| Показатели                          | Группа животных  |                  |
|-------------------------------------|------------------|------------------|
|                                     | Люцерновый сенаж | Люцерновый силос |
| Количество ,<br>животных/голов      | 16               | 16               |
| Вес в начале учетного<br>периода/кг | 29,3±0,05        | 29,4±0,10        |
| В конце учетного<br>периода         | 41,3±0,12        | 42,5±0,10*       |
| Прирост живой массы, гр/сутки       |                  |                  |
| За весь период<br>опыта/60 дней     | 200,0±2,00       | 218,3±1,3*       |

Аспирант ВНИЦ ВИК им. В.Р. Вильямса  
М.С. Ширококоряд

Гл. зоотехник КФХ Михайлиди Г.Г.  
К.Г. Михайлиди

## Приложение 3 - Прибор NGS-секвенирования



Приложение И – Люцерна в процессе провяливания



Приложение К – Процесс закладки в траншею





## Приложение Л – Силосные траншеи в хозяйстве КФХ ИП Михайлиди





## Приложение М – Содержание овец в уравнительный период опыта

