

УДК 636.085.52:579.64:577.2

<https://doi.org/10.31279/2949-4796-2025-15-3-51-65>

Анализ микробного сообщества кормов из провяленной массы злаково-бобовой травосмеси при использовании биологического и химического консервантов

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Лариса Александровна Ильина
E-mail: ilina@biotrof.ru

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Ильина Л.А., Клименко В.П., Абрамян А.С., Маляренко С.А., Миоц З.К. Анализ микробного сообщества кормов из провяленной массы злаково-бобовой травосмеси при использовании биологического и химического консервантов. *Аграрный вестник Северного Кавказа*. 2025;15(3):51-65. <https://doi.org/10.31279/2949-4796-2025-15-3-51-65> EDN YJMZHJ

ПОСТУПИЛА: 24.05.2025

ДОРАБОТАНА: 03.09.2025

ПРИНЯТА: 05.09.2025

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Работа выполнялась в рамках Госзадания НИР по теме FGGW-2022-0009: «Изучить факторы, определяющие аэробную стабильность силоса из кукурузы и провяленных трав; разработать способы ее повышения за счет использования препаратов, созданных на основе гомо- и гетероферментативных штаммов молочнокислых бактерий».

COPYRIGHT: © 2025 Ильина Л.А., Клименко В.П., Абрамян А.С., Маляренко С.А., Миоц З.К.



Л.А. Ильина ^{1,2}, В.П. Клименко ³, А.С. Абрамян ³, С.А. Маляренко ³, З.К. Миоц ³

¹ ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса, г. Лобня, Московская обл., Россия

АННОТАЦИЯ

ВВЕДЕНИЕ. Приготовление консервированных кормов (силос, сенаж, силаж) является основным способом заготовки влажных кормовых культур, который основан на процессах естественной микробной ферментации в анаэробных условиях. Необходимым условием получения качественного корма с высокими показателями питательности и отсутствием нежелательных микроорганизмов, вызывающих порчу и являющихся источником инфекции животных и человека, является применение препаратов, способных оптимизировать процессы ферментации и регулировать численность и состав микробного сообщества консервируемой растительной массы.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние консервантов различной природы на микробиоту силоса из слабопровяленной злаково-бобовой травосмеси при ферментации и аэрации при использовании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Объектом исследований служили образцы силоса из злаково-бобовой травосмеси, провяленной до влажности 73,4 %. Для заготовки кормов использовали биологический консервант Биотроф АС (ООО «БИОТРОФ») и новый химический консервант ВИК ЗЦ (патентообладатель ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса»). Опытные варианты травосмеси консервировали в чистом виде и с добавлением почвы для создания модели «полевых» условий контаминации при заготовке кормов. Биохимические показатели питательности, количество бактерий и дрожжей определяли после 30 суток ферментации растительной массы, а также после 7 суток аэрации готового силоса.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Установлено позитивное влияние применения консервантов на микробиоту силоса, в том числе на фоне контаминации почвой и при длительной аэрации. Основным эффектом химического препарата ВИК ЗЦ связан с подавлением численности практически всех исследуемых микроорганизмов в силосуемой массе, а биопрепарата Биотроф АС – со стимуляцией развития лактобацилл, улучшающих силосуемость растений и ингибирующих рост нежелательной микробиоты. Оба препарата оказывали положительное влияние на накопление молочной кислоты в корме, уровень его подкисления, что способствовало снижению потерь питательных веществ в период ферментации и при длительном хранении в условиях доступа кислорода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. На основании результатов исследования микробиоты силоса из слабопровяленной злаково-бобовой травосмеси можно заключить, что биологический и химический консерванты улучшают ферментацию, сохранность питательных веществ и аэробную стабильность корма после вскрытия хранилищ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: злаково-бобовая травосмесь, силос, биологические и химические консерванты, аэробная стабильность

<https://doi.org/10.31279/2949-4796-2025-15-3-51-65>

Analysis of the Microbial Community in Forage from Wilted Grass-Legume Mixture Silage Treated with Biological and Chemical Preservatives

CORRESPONDENCE:

Larisa A. Ilina

E-mail: ilina@biotrof.ru

FOR CITATION:

Ilina L.A., Klimenko V.P., Abramyan A.S., Malyarenko S.A., Miyuts Z.K. Analysis of the Microbial Community of Feed From Dried Mass of Cereal-Legume Grass Mixture Using Biological and Chemical Preservatives. *Agrarian Bulletin of the North Caucasus*. 2025;15(3):51-65. <https://doi.org/10.31279/2949-4796-2025-15-3-51-65> EDN YJMZHJ

RECEIVED: 24.05.2025

REVISED: 03.09.2025

ACCEPTED: 05.09.2025

DECLARATION OF COMPETING INTEREST:

none declared.

FUNDING:

This study was implemented in the framework of the state task (project FGGW-2022-0009): «To investigate the factors, that determine aerobic stability of corn and wilted grass silage; to develop the approaches of it's increasing with application the biological preservatives on the base of homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria strains».

COPYRIGHT: © 2025 Ilina L.A., Klimenko V.P., Abramyan A.S., Malyarenko S.A., Miyuts Z.K.



Larisa A. Ilina   ^{1,2}, Vladimir P. Klimenko  ³, Anton S. Abramyan ³, Svetlana A. Malyarenko  ³, Zoya K. Miyuts ³

¹ LLC «BIOTROF», Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Russia

³ Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Lobnya, Moscow region, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. The production of preserved feeds (silage, haylage) represents the primary method for conserving high-moisture forage crops, based on natural microbial fermentation processes under anaerobic conditions. The use of specialized additives capable of optimizing fermentation processes and regulating the microbial community composition in preserved plant material is essential for obtaining high-quality feed with optimal nutritional value and absence of undesirable microorganisms that cause spoilage and may serve as sources of infection for both animals and humans.

AIM. To study the effect of biological and chemical preservatives on silage microbiota from wilted cereal-legume grass mixture during fermentation and aerobic storage.

MATERIALS AND METHODS. The study utilized silage samples prepared from grass-legume mixtures wilted to 73.4 % moisture content. A biological preservative Biotrof AC and a novel chemical preservative VIK 3C were employed. Experimental variants of the grass mixture were preserved in pure form and with the addition of soil to create a model of «field» contamination conditions during forage preparation. Biochemical nutritional parameters, the number of bacteria and yeast were determined in the silage after 30 days of fermentation, as well as after 7 days of forage aeration.

RESULTS. A positive effect of the use of preservatives on the silage microbiota was established, including against the background of contamination and during long-term aeration. The main effect of the chemical preparation VIK 3C was associated with the suppression of the number of almost all microorganisms in silage. The biological preparation Biotrof AS was associated with the stimulation of *Lactobacillus* sp., which improve the silageability of plant and inhibit the growth of spoilage microbiota. Both preparations were contributed of lactic acid accumulation and the level of acidification in the feed. This led to a decrease in nutrient losses during the fermentation period and long-term storage with oxygen access.

CONCLUSIONS. The results of the study were shown positive effects of biological and chemical preservatives to improve fermentation, preservation of nutrients and aerobic stability feed.

KEYWORDS: cereal-legume grass mixture, silage, biological and chemical preservatives, aerobic stability

ВВЕДЕНИЕ

Основным условием приготовления высококачественных ферментируемых кормов для животных является обеспечение максимальной сохранности питательной ценности исходной растительной массы, что в значительной степени зависит от применяемой технологии ее консервирования [1–5]. Для объективной оценки и регулирования процессов ферментации при заготовке объемистых кормов необходимо изучать состав микробных сообществ разных видов растительного сырья и изменения, происходящие в зависимости от степени провяливания растений, срока и способа консервирования, контаминации массы в процессе уборки и загрузки в хранилища, применяемых биологических и химических консервантов [6–10].

Злаково-бобовая многолетняя травосмесь на текущий момент сравнительно мало изучена в качестве сырья для объемистых кормов. Сложность оценки пригодности массы для консервирования и прогноз его результатов обусловлены как особенностями химического состава трав различных семейств, так и многообразием их эпифитной микрофлоры [11–14]. Не случайно анализу микробиоценоза силосованных кормов постоянно уделяется большое внимание в работах отечественных и зарубежных исследователей [13–17]. Использование современных методов молекулярно-генетического анализа, таких как T-RFLP-анализ (terminal restriction fragment length polymorphism), количественная ПЦР (polymerase chain reaction), открывает большие возможности для оценки на уровне ДНК отдельных микроорганизмов в составе исходного сырья и готовых кормов [18–20].

Цель настоящих исследований заключалась в изучении изменений в микробиоте злаково-бобовой травосмеси при провяливании, ферментации и аэробном хранении полученного силоса при использовании консервантов различной природы.

В рамках исследований проведен анализ биохимических показателей качества корма и изменений в количестве различных видов бактерий и дрожжей на 30-е сутки хранения после начала ферментации при консервировании с биологическим препаратом Биотроф АС и химическим – ВИК ЗЦ. Установлено влияние препаратов на качество ферментированных кормов и их аэробную стабильность, а также на состав микробиоты при контаминации почвой исходной растительной массы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в Испытательном центре по оценке качества и стандартизации кормов ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса» (лаборатория консервирования и хранения кормов) и в молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» (Россия).

Материалы

Объектом исследований служили образцы силоса из злаково-бобовой травосмеси первого укоса, подвяленной до влажности 73,4 % (тимopheевка луговая ВИК 9 – 27,2 %, овсяница луговая Славянская – 26,8 %, люцерна изменчивая Таисия – 34 %) и убранный в период бутонизации бобового компонента. Указанные виды трав выращены в 2023 году на опытных полях ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» (г. Лобня, Московская обл.).

Для заготовки силоса использовали биологический консервант Биотроф АС на основе бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 + *Lactobacillus buchneri* 600 (ООО «БИОТРОФ») и новый химический консервант в стадии испытания ВИК ЗЦ на основе муравьиной кислоты (разработчик ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса», патент RU № 2822747; применяемая доза внесения 4 л/т).

Методы

Опыты по консервированию кормов в лабораторных и научно-производственных условиях (учет газов брожения, наблюдения за ферментацией и аэробной порчей при выемке) проводили согласно методике по консервированию и хранению кормов [21]. Биохимический состав растительной массы и кормов из нее определяли в соответствии с «Физико-химическими методами анализа кормов» [22].

Количество сахаров определяли по методу Бертрона, аммиака – по Лонги, содержание органических кислот (молочной, уксусной, масляной, янтарной) – методом капиллярного электрофореза (КАПЕЛЬ – 105М «Льюмэкс», Россия), рН – с помощью потенциометра И – 500 500 («Аквилон», Россия).

Контроль степени контаминации растений почвой устанавливали в соответствии с «Методикой определения механических примесей и обсеменения микрофлорой в силосе и сенаже», ВИЖ, 2013 [23].

Продолжение

Анализ количества бактерий и дрожжей в образцах кормов проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (qPCR). Образцы кормов для исследований замораживали при -20 °С и транспортировали в лабораторию для дальнейшего анализа. Выделение тотальной ДНК из образцов кормов проводилось с использованием набора Genomic DNA Purification Kit («Thermo Fisher Scientific, Inc.», США) в соответствии с инструкциями производителя.

Количественную полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе ДТ Lite-4 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с применением набора реагентов «для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя EVA Green» (ЗАО «Синтол», Россия). Амплификацию проводили по следующему протоколу: начальная денатурация при 95 °С в течение 3 мин (1 цикл), затем 40 циклов, включающих денатурацию при 95 °С в течение 1 мин, отжиг при 57,6 °С в течение 1 мин и элонгацию при 72 °С в течение 1 мин, с завершающей элонгацией при 72 °С в течение 5 мин (1 цикл). Последовательности использованных праймеров (5'-3') для детекции бактерий и дрожжей представлены в таблице 1. Подбор праймеров осуществлялся с использованием базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Таблица 1
Последовательности праймеров для анализа микроорганизмов

Table 1
Primers for detection microorganisms

Микроорганизм	Последовательности олигонуклеотидов
Бактерии	
<i>Lactobacillus</i>	5'-AGCAGTAGGGAATCTCCA-3' 5'-CACCGCTACACATGGAG-3'
<i>Megasphaera, Veillonella u Dialister</i>	5'-GATGGGGACAACAGCTGGA-3' 5'-GACTCTGTTTTGGGG-3'
<i>Lachnobacterium u Clostridium</i>	5'-GTGAAATGCGTAGAGATTAGGAA-3' 5'-GATYYGCGATTACTAGYAATC-3'
<i>Prevotella u Porphyromonas</i>	5'-GAGTACGCCGCAACGGTGA-3' 5'-TCACCGTTCGCCGCTACTC-3'
<i>Peptostreptococcus</i>	5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' 5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3'
<i>Eubacterium</i>	5'-TCCCTTACTAGGCCCA-3' 5'-AGGGAAUGAUCGUGGGU-3'

Микроорганизм	Последовательности олигонуклеотидов
<i>Enterobacteriaceae</i>	5'-CATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGC -3' 5'-CTCTACGAGACTCAAGCTTGC-3'
Дрожжи	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5'-ATCGAATTTTTGAACGCACATTG-3' 5'-CGCAGAGAAACCTCTCTTTGGA-3'
<i>Hansenia sporauvarum</i>	5'-ATCGAATTTTTGAACGCACATTG-3' 5'-AACCTGAGTATCGCCACA-3'
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	5'-AGACACTTAAGTGGGCCAGC-3' 5'-GGGGTGGTGTGGAAGTAAGG-3'
<i>Cryptococcus neoformans</i>	5'-ATTGCGTCCAAGGTGTTGTTG-3' 5'-ATTGCGTCCATCCAACCGTTATC-3'
<i>Debaryomyces hansenii</i>	5'-TCCTTCTGGTTGGGTTCTCT-3' 5'-GGTCCAACAGCTATGCTCT-3'

Процедура исследования

Для приготовления силоса подвяленную до содержания сухого вещества 26,6 % и измельченную на отрезки до 15–20 мм злаково-бобовую травосмесь закладывали в герметичные стеклянные емкости на 500 см³, оборудованные устройством для сбора газов брожения, и закрывали для создания анаэробных условий. Опыт проводили в 3 повторностях: 1-й вариант (без консервантов); 2-й вариант (консервант Биотроф АС – 20 мл/т); 3-й вариант (консервант Биотроф АС – 20 мл/т, контаминация почвой); 4-й вариант (консервант ВИК 3Ц – 4 л/т); 5-й вариант (консервант ВИК 3Ц – 4 л/т, контаминация почвой). Почву вносили в травосмесь вручную в объеме 4 % по сухому веществу растительной массы, что соответствует 11–14 % сырой золы в СВ кормов [39, методика].

Образцы силоса хранили в течение 30 суток при комнатной температуре, после чего отбирали пробы на анализ биохимических и микробиологических показателей. Затем варианты 1, 2 и 4 подвергали аэрации в течение 7 суток на приборе ООО «Смарт-биосистемы», фиксирующем термодатчиками изменения температуры в корме в режиме постоянной записи с передачей на компьютер для определения аэробной стабильности готового корма. По истечении срока аэрации образцы повторно исследовали на биохимические и микробиологические показатели.

Анализ данных

Статистическая обработка проведена с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при P ≤ 0,05. Результаты исследований

в таблицах представлены в формате «среднее значение \pm стандартная ошибка среднего» (Mean \pm SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биохимические показатели качества готового силоса на 30-е сутки после хранения в анаэробных условиях и образцов спустя 7 суток аэрации представлены в таблице 2. Результаты показали, что применение обоих испытываемых препаратов для консервирования подвяленной злаково-бобовой смеси привело к улучшению качественных показателей корма по сравнению с контрольным вариантом без добавок.

Процесс сохранения питательных веществ и энергии при консервировании кормов (силос, силаж) основывается на быстром снижении pH в ходе ферментации. Нами отмечено, что использова-

ние препаратов на 30-е сутки хранения в анаэробных условиях приводило к снижению уровня pH до 4,01–4,02 против 6,13 в корме без добавок ($P \leq 0,05$). При обработке растительной массы биологическим консервантом Биотроф АС в готовом силосе наблюдалось достоверно более высокое количество молочной кислоты – в 11,8 раза ($P \leq 0,05$), при использовании химического консерванта ВИК ЗЦ – в 8,8 раза ($P \leq 0,05$) больше по сравнению с контрольным вариантом без препаратов. Наблюдаемое усиление синтеза молочной кислоты в силосе под влиянием препаратов способствовало заметному ускорению подкисления растительной массы, на что указывает достоверное снижение выхода аммиака и газообразных продуктов. Сокращение распада питательных веществ до газообразных продуктов было достоверно ниже по сравнению с контролем – в 4,9 раза ($P \leq 0,05$) и 5,9 раза ($P \leq 0,05$), образование аммиака – в 5,5 раза ($P \leq 0,05$) и 3,8 раза

Таблица 2

Биохимические показатели качества силоса разных вариантов консервирования

Table 2

Biochemical parameters of the silage with different variants of preservation

Вариант	Кол-во выделенных газов, л/кг СВ	pH	Содержание в сухом веществе, %					
			Сахар	Аммиак	Органические кислоты			
					Молочная	Уксусная	Масляная	Янтарная
Спустя месяц после ферментации в анаэробных условиях								
Без добавок	41,24 \pm 0,57	6,13 \pm 0,06	0,73 \pm 0,08	0,83 \pm 0,04	1,68 \pm 0,10	1,69 \pm 0,09	4,32 \pm 0,13	2,67 \pm 0,30
С Биотроф АС	8,45 \pm 0,84 ^a	4,02 \pm 0,02 ^a	1,68 \pm 0,04 ^a	0,15 \pm 0,03 ^a	19,87 \pm 1,29 ^a	1,44 \pm 0,14	0,01 \pm 0,02	0,46 \pm 0,04 ^a
С Биотроф АС + почва	15,59 \pm 1,30 ^{ac}	4,14 \pm 0,02 ^a	0,59 \pm 0,01 ^{ac}	0,23 \pm 0,02 ^a	16,96 \pm 1,58 ^a	1,34 \pm 0,13	0,38 \pm 0,08 ^a	0,63 \pm 0,08 ^a
С ВИК ЗЦ	6,95 \pm 0,96 ^a	4,01 \pm 0,01 ^a	2,31 \pm 0,03 ^{ad}	0,22 \pm 0,06 ^a	14,86 \pm 1,19 ^a	1,41 \pm 0,20	0,14 \pm 0,06 ^a	0,18 \pm 0,09 ^{ad}
С ВИК ЗЦ + почва	10,49 \pm 4,49 ^a	4,35 \pm 0,12 ^a	1,38 \pm 0,03 ^{acd}	0,21 \pm 0,01 ^a	13,45 \pm 0,74 ^a	1,16 \pm 0,11 ^a	0,41 \pm 0,03 ^{ac}	0,44 \pm 0,03 ^a
Спустя 7 суток аэрации								
Без добавок	–	5,87 \pm 0,01 ^b	0,36 \pm 0,05 ^b	0,97 \pm 0,02	–	2,39 \pm 0,08 ^b	3,75 \pm 0,19	2,87 \pm 0,06
С Биотроф АС	–	4,09 \pm 0,02 ^a	0,39 \pm 0,01 ^b	0,19 \pm 0,02	13,18 \pm 1,33 ^b	2,01 \pm 0,12	0,28 \pm 0,04	0,34 \pm 0,05 ^a
С ВИК ЗЦ	–	4,03 \pm 0,01 ^a	1,91 \pm 0,07 ^{bd}	0,23 \pm 0,03	13,84 \pm 0,63	1,14 \pm 0,05 ^d	–	0,27 \pm 0,01 ^a

Примечание:

^a – разница достоверна по отношению к контролю в пределах указанной даты эксперимента, $P \leq 0,05$.

^b – разница достоверна по отношению к аналогичному варианту на 30-е сутки ферментации в анаэробных условиях, $P \leq 0,05$.

^c – разница достоверна по отношению к образцу без контаминации, $P \leq 0,05$.

^d – разница достоверна по отношению к образцу Биотроф АС, $P \leq 0,05$.

Note:

^a – the difference is significant in relation to the control within the specified date of the experiment, $P \leq 0,05$.

^b – the difference is significant in relation to a similar variant on the 30th day of fermentation under anaerobic conditions, $P \leq 0,05$.

^c – the difference is significant in relation to the sample without contamination, $P \leq 0,05$.

^d – the difference is significant in relation to the Biotrof AC sample, $P \leq 0,05$.

($P \leq 0,05$) при использовании биологического и химического консервантов соответственно.

Выявленное уменьшение потерь питательных веществ в опытных вариантах силоса под действием консервантов обеспечило повышение сохранности сахаров по сравнению с контролем. Количество сахаров достоверно превышало показатели контрольного варианта в 2,3 раза ($P \leq 0,05$) при использовании биологического консерванта и в 3,2 раза ($P \leq 0,05$) – с химическим консервантом.

Полученные данные свидетельствуют об оптимизации процессов брожения при консервировании корма под действием препаратов, связанных с образованием в силосе более высокого количества молочной кислоты при снижении количества других – уксусной, масляной и янтарной. Так, было выявлено, что при использовании биологического консерванта Биотроф АС масляная кислота не образовывалась, в варианте с добавлением химического препарата ВИК 3Ц ее доля была незначительной, тогда как в контрольном варианте ее количество достигало высоких значений $4,32 \pm 0,13$ %.

Контаминация растительной массы почвой оказывала отрицательное влияние на все изучаемые биохимические показатели качества корма. В частности, в опытных вариантах с применением консервантов, загрязненных почвой, значительно возрастало газовыделение, на 51–84 %, повышался уровень рН – на 0,1–0,3 ед., возрастал расход сахаров и накопление масляной кислоты. В целом, загрязнение растительной массы почвой приводило к снижению положительного влияния вносимых консервантов. В то же время следует отметить и некоторые особенности влияния контаминации на показатели качества готового корма в зависимости от используемого препарата. В частности, на фоне применения биологического консерванта Биотроф АС показатели уровня рН корма и содержания в нем молочной кислоты были близки к оптимальным по сравнению с силосом, заготовленным с химическим консервантом. Между тем в варианте с ВИК 3Ц на фоне контаминации почвой расход сахаров был менее заметным по сравнению с другим опытным вариантом.

Как было выявлено в ходе второго этапа опыта, направленного на изучение действия препаратов в течение 7-суточного хранения силоса при доступе воздуха, отмечена его высокая устойчивость к аэробной порче. Очевидно, оптимизация брожения за счет использования обоих консервантов

способствовала высокой аэробной устойчивости готового корма. В частности, по истечении 7 суток хранения при доступе воздуха в опытных вариантах силоса не определено существенных изменений в уровне рН и концентрации органических кислот, а также не установлено усиление газообразования и повышение количества аммиака. Уровень рН был в пределах 4,03 и 4,09 в опытных вариантах, тогда как в контроле достигал 5,87 ($P \leq 0,05$). При этом корм с использованием биологического консерванта содержал достоверно большее количество уксусной кислоты после аэрации ($P \leq 0,05$), нежели вариант с ВИК 3Ц.

В таблице 3 представлены результаты изменения количества различных бактерий и дрожжей через месяц ферментации и хранения силоса в анаэробных условиях, а также после 7-суточного хранения открытым на воздухе.

В результате исследования бактериального состава готового силоса через месяц после начала ферментации выявлен положительный эффект действия консервантов на количество и состав микробиоты. В образцах контрольного варианта и корма с био-консервантом Биотроф АС обнаружено высокое количество бактерий рода *Lactobacillus*, которые синтезируют молочную кислоту, обладающую консервирующим действием, тогда как в варианте с химическим консервантом ВИК 3Ц лактобактерии не выявлялись.

Применение биологического препарата привело к сокращению количества микроорганизмов, ухудшающих качество готового корма за счет деструкции углеводов, протеина и других питательных веществ, в т. ч. эубактерий рода *Eubacterium*, в 39,5 раза ($P \leq 0,05$), энтеробактерий семейства *Enterobacteriaceae* – в 12,8 раза ($P \leq 0,05$), относительно их содержания в контрольном варианте. Бактерии рода *Peptostreptococcus* и клостридии родов *Clostridium* и *Lachnobacterium* при использовании консерванта Биотроф АС в силосе не выявлялись.

Использование химического препарата ВИК 3Ц при консервировании травосмеси оказало ингибирующее действие на жизнедеятельность микробиоты корма, которое выражалось в угнетении развития практически всех исследуемых микроорганизмов, в т. ч. лактобактерий, в сравнении с контрольным вариантом.

Таблица 3

Количество микроорганизмов в силосе по результатам количественной ПЦР (геномов/г)

Table 3

Number of microorganisms in silage using qPCR (genomes/g)

Микроорга- низмы	Через месяц ферментации в анаэробных условиях					Через 7 суток аэрации		
	Силос без добавок	Силос с Биотроф АС	Силос с Биотроф АС (конта- минация)	Силос с химпре- паратом ВИК ЗЦ	Силос с химпрепа- ратом ВИК ЗЦ (конта- минация)	Силос без добавок, 7 суток аэрации	Силос с Биотроф АС, 7 суток аэрации	Силос с химпрепара- том ВИК ЗЦ, 7 суток аэрации
Бактерии								
<i>Lactobacillus</i> sp.	7,9×10 ⁴ ± ±4,1×10 ³	7,8×10 ⁴ ± ±2,8×10 ³	3,2×10 ⁴ ± ±1,9×10 ^{3a}	-	5,0×10 ³ ± ±2,1×10 ^{3a}	-	6,0×10 ³ ± ±1,0×10 ^{3b}	5,0×10 ³ ± ±1,1×10 ³
<i>Peptostrepto- coccus</i> sp.	2,5×10 ³ ± ±1,5×10 ³	-	2,0×10 ³ ± ±1,0×10 ³	-	2,0×10 ³ ± ±1,1×10 ³	1,3×10 ³ ± ±1,0×10 ³	1,5×10 ³ ± ±1,1×10 ³	-
<i>Prevotella</i> sp. <i>Porphyro-monas</i> sp.	1,0×10 ³ ± ±1,0×10 ³	1,6×10 ³ ± ±1,2×10 ³	1,0×10 ³ ± ±1,3×10 ³	-	1,0×10 ³ ± ±1,0×10 ³	-	-	-
<i>Eubacterium</i> sp.	7,9×10 ⁴ ± ±4,0×10 ³	2,0×10 ³ ± ±1,5×10 ^{3a}	1,6×10 ⁴ ± ±7,3×10 ^{3a}	-	5,0×10 ³ ± ±2,2×10 ^{3a}	-	-	-
<i>Clostridium</i> sp., <i>Lachno-bacterium</i> sp.	2,5×10 ⁵ ± ±1,7×10 ⁴	-	1,6×10 ⁴ ± ±5,1×10 ^{3a}	-	6,3×10 ³ ± ±1,9×10 ^{3a}	-	-	-
<i>Megasphaera</i> sp., <i>Veillonella</i> sp., <i>Dialister</i> sp.	-	-	6,3×10 ⁴ ± ±3,1×10 ³	-	6,3×10 ³ ± ±1,7×10 ^{3a}	-	-	-
<i>Entero- bacteriaceae</i>	3,2×10 ⁶ ± ±6,5×10 ⁵	2,5×10 ⁵ ± ±8,9×10 ^{3a}	4,0×10 ⁶ ± ±6,7×10 ^{4c}	3,2×10 ⁴ ± ±2,2×10 ^{3ad}	4,0×10 ⁶ ± ±1,6×10 ^{5c}	5,0×10 ⁴ ± ±2,2×10 ³	5,1×10 ⁴ ± ±4,8×10 ^{3b}	2,5×10 ⁵ ± ±1,5×10 ^{4abd}
Дрожжи								
<i>Candida</i> sp.	1,3×10 ⁴ ± ±3,7×10 ³	4,3×10 ³ ± ±1,8×10 ³	6,0×10 ³ ± ±2,1×10 ³	3,2×10 ³ ± ±1,1×10 ³	7,9×10 ³ ± ±4,1×10 ³	5,0×10 ³ ± ±3,5×10 ^{3b}	4,2×10 ³ ± ±1,4×10 ³	-
<i>Debaryomyces hansenii</i>	2,3×10 ⁴ ± ±5,1×10 ³	1,1×10 ³ ± ±1,0×10 ^{3a}	-	-	-	3,1×10 ⁴ ± ±7,1×10 ³	-	-
<i>Cryptococcusne- oformans</i>	2,9×10 ⁴ ± ±5,5×10 ³	1,9×10 ⁴ ± ±6,2×10 ³	2,3×10 ³ ± ±1,3×10 ^{3a}	-	2,7×10 ⁴ ± ±6,1×10 ³	6,3×10 ⁴ ± ±2,9×10 ³	-	1,3×10 ⁴ ± ±7,2×10 ³
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,1×10 ⁴ ± ±7,2×10 ³	1,4×10 ⁴ ± ±1,9×10 ³	1,7×10 ⁴ ± ±3,9×10 ³	3,9×10 ⁴ ± ±7,1×10 ³	4,1×10 ³ ± ±1,4×10 ^{3ac}	4,9×10 ³ ± ±1,1×10 ³	5,0×10 ³ ± ±1,2×10 ^{3b}	2,1×10 ⁴ ± ±1,9×10 ^{3a}
<i>Hansenia sporauvarum</i>	2,7×10 ³ ± ±1,1×10 ³	1,7×10 ³ ± ±1,5×10 ³	1,0×± ±1,2×10 ³	1,1×10 ³ ± ±1,0×10 ³	3,1×10 ⁴ ± ±1,3×10 ^{4a}	1,9×10 ³ ± ±1,1×10 ³	2,9×10 ³ ± ±1,4×10 ³	-
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1,7×10 ⁴ ± ±6,6×10 ³	1,8×10 ⁴ ± ±5,7×10 ³	1,6×10 ⁴ ± ±9,1×10 ³	3,0×10 ⁴ ± ±1,4×10 ⁴	2,1×10 ⁴ ± ±6,1×10 ³	1,8×10 ⁴ ± ±8,1×10 ³	1,2×10 ⁴ ± ±1,8×10 ³	2,1×10 ⁴ ± ±5,5×10 ³

Примечание:

^a – разница достоверна по отношению к контролю в пределах указанной даты эксперимента, P≤0,05.

^b – разница достоверна по отношению к аналогичному варианту на 30-е сутки ферментации в анаэробных условиях, P≤0,05.

^c – разница достоверна по отношению к образцу без контаминации, P≤0,05.

^d – разница достоверна по отношению к образцу Биотроф АС, P≤0,05.

Note:

^a – the difference is significant in relation to the control within the specified date of the experiment, P≤0,05.

^b – the difference is significant in relation to a similar variant on the 30th day of fermentation under anaerobic conditions, P≤0,05.

^c – the difference is significant in relation to the sample without contamination, P≤0,05.

^d – the difference is significant in relation to the Biotrof AC sample, P≤0,05.

Положительное действие консервантов при контаминации растительной массы почвой было связано с отсутствием активного роста численности нежелательных микроорганизмов в готовых кормах. Доминирующими представителями микробиоты силоса при использовании биологического препарата Биотроф АС были лактобактерии, тогда как количество нежелательных микроорганизмов, снижающих питательные качества корма, родов *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Eubacterium* ($P \leq 0,05$), *Clostridium* ($P \leq 0,05$), *Lachnobacterium*, было существенно ниже. В силосе, приготовленном с химическим консервантом ВИК ЗЦ, при контаминации почвой обнаружено количество лактобактерий, сопоставимое с другими микроорганизмами. Контаминация растительной массы привела к накоплению в кормах энтеробактерий, доля которых в опытных вариантах не превышала аналогичные показатели в контроле (без применения консервантов).

Судя по результатам микробиологического анализа, аэробная стабильность готового силоса была высокой. В частности, по истечении срока аэрации в опытных вариантах выявлены лактобактерии при практически полном отсутствии микроорганизмов, ухудшающих питательность корма за счет деструкции питательных веществ. В то же время в период аэробного хранения отмечено некоторое возрастание численности энтеробактерий в силосе, для заготовки которого применяли химический консервант.

Из приведенных в таблице 3 данных следует, что в процессе анаэробного хранения силоса численность некоторых исследуемых видов дрожжей снизилась под влиянием препаратов по сравнению с их содержанием в контрольном варианте. Внесение биологического консерванта Биотроф АС приводило к сокращению содержания дрожжей рода *Candida* – в 3, *Debaryomyces hansenii* – в 21 ($P \leq 0,05$), *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Hansenia sporauvarum* – в 1,5–1,6 раза. Использование химического консерванта на фоне силосования без добавок способствовало снижению представленности рода *Candida* – в 4, *Debaryomyces hansenii* – в 24,5 раза, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus neoformans* – до уровня ниже предела достоверного определения численности методом ПЦР, а количество дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Hansenia sporauvarum*, напротив, несколько возросло. При этом содержание дрожжей в силосе, приготовленном с консервантами, на фоне контамина-

ции растительной массы почвой, а также в ходе аэробного хранения практически не повышалось, что указывает на высокую стабильность готового корма и, вероятно, обусловлено процессами ферментации, обеспечивающими быстрое подкисление за счет образования большого количества молочной кислоты. Так, в период аэробного хранения силоса из злаково-бобовой массы препарат Биотроф АС способствовал снижению численности дрожжей родов *D. hansenii*, *C. gattii*, ВИК ЗЦ – родов *Candida*, *D. hansenii* и *H. uvarum* ($P \leq 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наших исследований показали, что применение препаратов Биотроф АС и ВИК ЗЦ для консервирования подвяленной злаково-бобовой травосмеси обеспечивает получение высококачественного силоса, в том числе на фоне искусственной контаминации почвой, а также при длительном аэробном воздействии. Бактериальный и химический препараты способствовали улучшению молочнокислого брожения, усилению подкисления растительной массы, что создавало условия для сокращения газообразования, а также накопления в кормах аммиака.

Количество масляной кислоты в силосе с консервантами было достоверно ниже по сравнению с кормом без добавления препаратов. Известно, что потребление высоких концентраций масляной кислоты (более 50–100 г/сут) может стать причиной кетоза у дойных коров. Корма с высокой концентрацией данного компонента преимущественно имеют низкую энергетическую ценность, что негативно влияет на продуктивность животных [24]. Тем не менее сообщалось, что консервированные корма с наличием масляной кислоты более стабильны при контакте с воздухом, поскольку она активно подавляет микромицеты и дрожжи [25].

Основными продуцентами масляной кислоты в консервированных кормах являются представители родов *Clostridium*, *Lachnobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Megasphaera*, *Veillonella*, *Dialister*. Присутствие в корме клостридий вызывает серьезные опасения у специалистов в связи с проблемой развития у животных инфекций, обусловленных микроорганизмами *C. perfringens*, *C. botulinum*, *C. chauvoei*, *C. septicum*, *C. oedematiens*, *C. tetani*, *C. sordellii*, которые синтезируют ряд опасных токсинов, вызывающих интоксикацию организма, нередко с летальным ис-

ходом [26]. Также крупный рогатый скот считается важным резервуаром патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, в т. ч. кишечной палочки серотипа O157, которые могут бессимптомно присутствовать в желудочно-кишечном тракте и периодически выделяться с фекалиями [27], впоследствии обсеменяя сельскохозяйственные культуры. Следовательно, консервированные корма для скота могут быть источником возбудителей инфекций на ферме [25; 26]. При этом клостридии и энтеробактерии являются инициаторами вторичной ферментации корма, а дрожжи вызывают его разогревание при открытии траншей.

В нашем исследовании представленность клостридий, энтеробактерий и других видов, приводящих к порче кормов, существенно снижалась при использовании консервантов как в анаэробных, так и в аэробных условиях, что, вероятно, можно объяснить оптимизацией процессов брожения под воздействием биопрепаратов. В частности, применение закваски Биотроф АС приводило к накоплению лактобактерий, которые являются продуцентами молочной кислоты, обладающей высоким консервирующим эффектом. Также известно, что некоторые виды лактобацилл способны синтезировать антимикробные пептиды с высоким антимикробным эффектом против различных бактерий, грибов, паразитов, вирусов и даже против естественных резистентных структур, таких, как бактериальные биопленки [28]. Механизм действия бактериоцинов зависит от их первичной структуры. Некоторые из них могут воздействовать на цитоплазматическую мембрану, высвобождая соединения, жизненно важные для восприимчивых бактерий (лизис клеток), другие могут проникать в цитоплазму и влиять на экспрессию генов и синтез белка [29].

Антимикробные свойства препарата ВИК 3Ц обусловлены, прежде всего, муравьиной кислотой, содержащейся в его составе. Ранее было показано, что муравьиная кислота использовалась в качестве ингибитора ферментации благодаря своей способности быстро снижать рН растительной массы и подавлять развитие нежелательной микробиоты, вызывающей порчу (энтеробактерии, бактериоиды). Это создает оптимальные условия для ускоренного роста молочнокислых бактерий и повышения сохранности силоса [30]. Цзян с соавторами обнаружили, что обработка цельных растений кукурузы муравьиной, уксусной кислотами и сорбатом калия в соотношении 7:1:2 (6 л/т) приводила к повышению в силосе количества молочной кислоты и сни-

жению численности нежелательных микроорганизмов, в т. ч. бактерий родов *Klebsiella*, *Paenibacillus* и *Enterobacter* [31].

Оценивая потенциальные механизмы антимикробного воздействия препаратов, которые были использованы в нашем исследовании, следует отметить некоторые различия в действии биологического и химического консервантов. По мнению МакДоналда, препараты для заготовки кормов можно в целом разделить на препараты, стимулирующие и ингибирующие ферментацию [32]. В нашем случае использование препарата ВИК 3Ц приводило к подавлению численности практически всех исследуемых микроорганизмов, тогда как биологический препарат Биотроф АС стимулировал размножение лактобактерий, ингибируя развитие нежелательных видов. Вместе с тем наш эксперимент показал, что применение обоих препаратов привело к снижению численности некоторых видов бактерий и дрожжей, вызывающих порчу консервированных кормов как в процессе ферментации, так и при последующей аэрации на протяжении 7 суток. Это свидетельствует о том, что оба препарата могут быть использованы для получения качественных кормов из подвяленной злаково-бобовой травосмеси, для повышения их питательной ценности и защиты от аэробной порчи.

В проведенном исследовании были выявлены особенности влияния исследуемых препаратов на некоторые виды дрожжей при ферментации силоса и при его аэрации. Так, отмечено активное увеличение численности дрожжей видов *D. hansenii*, *S. cerevisiae*, *C. stellata* и *C. gattii* при контаминации растительной массы почвой. Как правило, на практике контаминация происходит при низком скашивании травостоев (менее 6 см) и подборе скошенной массы из валков. Сообщалось, что корма обычно заражаются патогенами при внесении на поля навоза в качестве удобрения или вследствие переноса через почву во время сбора урожая [33]. Тем не менее информация о присутствии дрожжей в консервированных кормах из различных культур является недостаточной, фрагментарной и неоднозначной.

Так, ранее дрожжи вида *C. gattii* выявлялись в таких объектах, как разлагающиеся растительные материалы, помет птиц [34]. Известно, что благодаря меланину, синтезируемому в клетках данных микроорганизмов, указанные виды способны выживать при неблагоприятных условиях [35]. Для дрожжей

вида *D. hansenii* также показана способность к экстремальному выживанию, например, при обработке NaCl 10 %-ной концентрации [36]. Некоторые виды дрожжей, в частности рода *Candida* и вида *D. Hansenii*, способные использовать молочную кислоту и синтезировать аммиак, также служат инициаторами аэробной порчи кормов [37].

Вопросы сохранения качества ферментируемых кормов вызывают широкий интерес у специалистов. При доступе воздуха микроорганизмы, особенно некоторые виды дрожжей с высокой устойчивостью к низкому уровню pH, начинают активно размножаться в корме, что приводит к потерям питательных веществ, образованию токсинов и порче [38]. В наших экспериментах по истечении 7 суток аэрации корма выявлено, что применение как бактериального, так и химического консерванта приводило к сдерживанию роста нежелательных бактерий и дрожжей, очевидно, за счет высокого количества молочной кислоты. Интересно, что в силосе с химическим консервантом на фоне 7-суточной аэрации количество уксусной кислоты было достоверно ниже ($P \leq 0,05$), чем в других вариантах. Ранее сообщалось [39], что уксусная кислота обладает более высокой, чем у лактата, константой диссоциации (pK_a), благодаря чему имеет более выраженные консервирующие свойства. Сообщалось, что некоторые штаммы лактобактерий способны часть молочной кислоты преобразовывать в другие кислоты (например, пропионовую и уксусную). Это согласуется с полученными нами данными о более высокой устойчивости корма к воздействию дрожжей при аэрации (в частности, видов *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus neoformans*) в случае применения для силосования биологического препарата. Менее выраженный эффект химического консерванта в данном случае может быть связан с защитной реакцией некоторых микроорганизмов в ответ на агрессивное воздействие муравьиной кислоты. Так, ранее аналогичный эффект выявлен для микромицетов, активно продуцирующих микотоксины в ответ на химические соединения [40]. В результате нашей работы не подтвердилось мнение исследователей [41] об обеспечении более надежной аэробной стабильности силоса за счет использования химических консервантов по сравнению с биологическими. В наших опытах применение биологического препарата Биотроф АС способствовало высокой аэробной устойчивости полученного корма, о чем свидетельствуют показатели

питательности и результаты анализа методом количественной ПЦР численности некоторых видов бактерий и дрожжей.

Вместе с тем механизмы, предотвращающие аэробную порчу, изучены недостаточно глубоко. Поскольку в процессе консервирования растений задействовано множество микроорганизмов с меняющимся количественным и качественным составом [42], на следующих этапах для оценки закономерностей их развития представляется перспективным привлечение таких методов, как секвенирование нового поколения (NGS), что позволит получить детальную и целостную картину изменений, происходящих при ферментации растительной массы, хранении и использовании готовых ферментированных кормов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований отмечены положительные изменения в составе и численности бактериального сообщества кормов под действием консервантов растительной массы. Так, в образцах силоса с биопрепаратом Биотроф АС выявлено повышение количества лактобацилл, улучшающих консервируемость массы. Биологический препарат Биотроф АС и химический консервант ВИК 3Ц проявляли высокий антимикробный эффект в отношении нежелательных и патогенных видов бактерий в корме. Под действием консервантов в корме уровень бактерий родов *Peptostreptococcus*, *Clostridium* и *Lachnobacterium* существенно снижался – до п. д. о. (предела достоверного обнаружения 10^3 геномов/г). В силосе с биопрепаратом отмечено снижение количества зубактерий в 39,5, энтеробактерий – в 12,8, и грибов рода *Candida* – в 3 раза, по сравнению с образцом без внесения консервантов. При использовании химического консерванта ВИК 3Ц снижение данных показателей было более значительным: энтеробактерий – в 100, дрожжей – в 4 раза, зубактерий – до п. д. о. Количество вида *Debaryomyces hansenii* снизилось в диапазоне от 21 раза (с внесением Биотроф АС) до п. д. о. (с ВИК 3Ц).

На фоне контаминации корма почвой увеличивалось количество трех видов нежелательной и патогенной микрофлоры, особенно зубактерий, – с $7,9 \times 10^4$ до $1,0 \times 10^5$ геномов/г, при этом обнаружены конкуренты молочнокислых бактерий – лактат-утилизирующие бактерии родов *Megasphaera*, *Veillonella*,

Dialister. Добавление консервантов к контаминированной растительной массе обеспечило значительное снижение уровня нежелательной микрофлоры, но не оказало положительного влияния на общее количество дрожжей.

После 7 суток аэрации от момента вскрытия емкостей в силосе всех вариантов выявлено сниженное содержание представителей нормофлоры, нежелательной микрофлоры и патогенов (13 видов). Значительное снижение содержания наиболее встречаемых 6 видов дрожжей – с $1,1 \times 10^5$ до $6,8 \times 10^4$ геномов/г – произошло в варианте химического консервирования с ВИК ЗЦ. Если в силосе без добавок произошло увеличение дрожжей видов *Debaryomyces hansenii* и *Cryptococcus neoformans*, то с применением

консервантов в условиях аэрации количество этих видов дрожжей существенно снижалось, что привело к повышению аэробной стабильности корма при использовании.

В целом, результаты настоящего и ранее проведенных исследований показали эффективность биологического препарата Биотроф АС и нового химического консерванта ВИК ЗЦ в качестве консервирующих добавок для приготовления силоса из слабопроявленной злаково-бобовой травосмеси. Установлено положительное влияние препаратов на процессы ферментации, сохранность питательных веществ корма при хранении, а также аэробную стабильность после вскрытия хранилищ.

Вклад авторов

Л. А. Ильина: проведение исследования, программное обеспечение, создание рукописи и ее редактирование.

В. П. Клименко: концептуализация, методология, ресурсы, руководство исследованием, создание рукописи и ее редактирование.

А. С. Абрамян: методология, формальный анализ, создание черновика рукописи.

С. А. Маляренко: проведение исследования, верификация данных.

З. К. Миуц: проведение исследования, формальный анализ, визуализация.

Contributions

L. A. Ilyina: investigation, software, writing-review & editing.

V. P. Klimenko: conceptualization, methodology, resources, project administration, writing-review & editing.

A. S. Abramyan: methodology, formal analysis, writing-original draft.

S. A. Maliarenko: investigation, validation.

Z. K. Miyuts: investigation, formal analysis, visualization.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Абрамян А.С., Мишуров А.В. Влияние степени загрязнения силосуемой массы на ее биохимический и микробиологический состав. *Кормопроизводство*. 2009;(3):27-30.
Abramyan A.S., Mishurov A.V. Effect of the Degree of Contamination of the Silaged Mass on its Biochemical and Microbiological Composition. *Forage production*. 2009;(3):27-30. (In Russ.).
2. Маркман И.Л., Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А. Биоконсервант – рекордсмен Биотроф 2+. *Животноводство России*. 2019;(4):30-32.
Markman I.L., Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilyina L.A. Biopreservative – Record Holder Biotrof 2+. *Animal Husbandry of Russia*. 2019;(4):30-32. (In Russ.).
3. Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Биконя С.Н., Грудина Т.Н. Быстрый старт – залог успешного силосования. *Животноводство России*. 2016;(4):65.
Laptev G.Yu., Novikova N.I., Bikonya S.N., Grudinina T.N. Quick Start is the Key to Successful Ensilaging. *Animal Husbandry of Russia*. 2016;(4):65. (In Russ.).
4. Мусин Р.Р., Трemasова А.М., Скворцов Е.В. Влияние комбинации гомоферментативных и гетероферментативных молочнокислых бактерий на качество силоса люцерны. *Вест-*

- ник Алтайского государственного аграрного университета. 2022;(1):89-94. <https://doi.org/10.53083/1996-4277-2022-207-1-89-94>
- Musin R.R., Tremasova A.M., Skvortsov E.V. Influence of a combination of Homofermentative and Heterofermentative Lactic Acid Bacteria on the Quality of Alfalfa Silage. *Bulletin of the Altai State Agrarian University*. 2022;(1):89-94. (In Russ.).
5. Гурдова Б.Ю. Бактериальная микрофлора при силосовании. *Проблемы современных интеграционных процессов и пути их решения : сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции*. Тюмень, 4 декабря 2021 года. Стерлитамак : Общество с ограниченной ответственностью «Агентство международных исследований»; 2021;9-13.
Gurdova B.Yu. Bacterial Microflora During Ensiling. *Problems of Modern Integration Processes and Ways to Solve Them : a Collection of Articles Following the Results of the International Scientific and Practical Conference*. Tyumen, December 4, 2021. Sterlitamak : Limited Liability Company «Agency for International Research»; 2021;9-13. (In Russ.).
6. Бондарев В.А., Клименко В.П. Перспективные направления исследований по разработке эффективных технологий приготовления высококачественных объемистых кормов. *Адаптивное кормопроизводство*. 2010;(1):35-42.
Bondarev V.A., Klimenko V.P. Promising Research Areas for the Development of Efficient Technologies for the Preparation of High-Quality Bulk Feed. *Adaptive Forage Production*. 2010;(1):35-42. (In Russ.).
7. Буряков Н.П., Миронов М.М. Эффективность использования силоса, приготовленного с применением биоконсервантов. *Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство*. 2018;(4):38-53.
Buryakov N.P., Mironov M.M. Efficiency of Using Silage Prepared with the use of Biopreservatives. *Feeding of Farm Animals and Forage Production*. 2018;(4):38-53. (In Russ.).
8. Косолапов В.М., Косолапова В.Г. Использование биоконсервантов при заготовке кормов с торфяных почв. *Региональные и проблемы природопользования : сборник трудов конференции*. Кирово-Чепецк : Кирово-Чепецкая типография; 1998;152-153.
Kosolapov V.M., Kosolapova V.G. Use of Biopreservatives in Harvesting Forage from Peat Soils. *Regional and Environmental Issues : conference proceedings*. Kirovo-Chepetsk : Kirovo-Chepetsk Printing House; 1998;152-153. (In Russ.).
9. Кучин Н.Н., Мансуров А.П. Технологические особенности силосования многолетних бобовых трав. *Кормопроизводство*. 2017;(7):33-37.
Kuchin N.N., Mansurov A.P. Technological Features of Ensiling Perennial Legumes. *Forage Production*. 2017;(7):33-37. (In Russ.).
10. Маслова О.А., Жужин М.С., Кучин Н.Н., Жирнов В.А. Технология заготовки сенажа в рулонах с использованием биологических и химических консервантов. *Аграрный научный журнал*. 2023;(4):130-136. <https://doi.org/10.28983/asj.y2023i4>
Maslova O.A., Zhuzhin M.S., Kuchin N.N., Zhirnov V.A. Technology of Harvesting Silage in Rolls Using Biological and Chemical Preservatives. *Agrarian scientific journal*. 2023;(4):130-136. (In Russ.). <https://doi.org/10.28983/asj.y2023i4>
11. Марченко А.Ю., Быченко Н.В., Забашта Н.Н., Головки Е.Н. Биологические консерванты для заготовки объемистых кормов : *сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии*. 2020;9(2);101-105. <https://doi.org/10.34617/gny1-8z25>
Marchenko A.Yu., Bychenko N.V., Zhabashta N.N., Golovko E.N. Biological Preservatives for Harvesting Bulk Forages. *Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine*. 2020;9(2);101-105. (In Russ.). <https://doi.org/10.34617/gny1-8z25>
12. Зафрен С.Я. Значение антибактериальных свойств сырья при силосовании кормов. *Микробиология кормов : труды совещания по микробиологии кормов*. Алма-Ата – 8–11 декабря 1959 г. Алма-Ата; 1961;38-49.
Zafren S.Ya. The Importance of Antibacterial Properties of Raw Materials in Ensiling of Forages. *Microbiology of forages : Proceedings of the conference on microbiology of forages*. Alma-Ata. December 8–11, 1959. Alma-Ata; 1961;38-49. (In Russ.).
13. Hooker K., Forwood D.L., Caro E., Huo Y., Holman D.B., Chaves A.V., Meale S.J. Microbial Characterization and Fermentative Characteristics of Crop Maize Ensiled with Unsalable Vegetables. *Scientific Reports*. 2019;(9):13183. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49608-w>

14. Siezen R.J., van Hylckama Vlieg J.E. Genomic Diversity and Versatility of *Lactobacillus Plantarum*, a Natural Metabolic Engineer. *Microbial Cell Factories*. 2011;10(1):S3 <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-s1-3>
15. Абрамян А.С., Миуц З.К. Влияние контаминации исходной злаково-бобовой массы на качественные показатели готовых кормов. *Сборник статей по итогам XIV Международной конференции «Племенное животноводство, кормопроизводство и механизация сельского хозяйства в РФ»*. Тверь, Тверская ГСХА – 6 июня 2023 года. Тверь : Тверская ГСХА; 2023;216-218. Abramyana A.S., Miyuts Z.K. Effect of Contamination of the Initial Cereal-Legume Mass on the Quality Indicators of Finished Feed. *Collection of articles based on the results of the XIV International Conference «Breeding Livestock, Forage Production and Mechanization of Agriculture in the Russian Federation»*. Tver : Tver State Agricultural Academy, June 6, 2023. Tver : Tver State Agricultural Academy; 2023;216-218. (In Russ.).
16. Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Солдатова В.В., Никонов И.Н., Филиппова В.А., Бражник Е.А., Соколова О.Н. Динамика накопления микотоксинов в силосе на разных этапах хранения. *Сельскохозяйственная биология*. 2014;49(6):123-130. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2014.6.123>
Laptev G.Yu. Novikova N.I., Ilyina L.A. et al. Dynamics of Mycotoxin Accumulation in Silage at Different Stages of Storage. *Agricultural Biology*. 2014;49(6):123-130. (In Russ.) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2014.6.123>
17. Ерохина А.В., Сазонова И.А., Черных Т.Н. Оценка процесса брожения при силосовании кукурузы с применением биоконсервантов. *Орошаемое земледелие*. 2021;(3):35-37. <https://doi.org/10.35809/2618-8279-2021-3-6>
Erokhina A.V., Sazonova I.A., Chernykh T.N. Evaluation of the Fermentation Process During Corn Ensiling Using Biopreservatives. *Irrigated Agriculture*. 2021;(3):35-37. (In Russ.). <https://doi.org/10.35809/2618-8279-2021-3-6>
18. Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А. Закваска Промилк обеспечит качество силоса и зерносенажа. *Животноводство России*. 2023;(4):50-54. <https://doi.org/10.25701/ZZR.2023.04.04.007>
Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilyina L.A. Promilk Starter Culture Will Ensure the Quality of Silage and Grain Haylage. *Animal Husbandry of Russia*. 2023;(4):50-54. (In Russ.). <https://doi.org/10.25701/ZZR.2023.04.04.007>
19. Йылдырым, Е.А., Ильина Л.А. Динамика микробиоценоза в процессе силосования с использованием методов T-RFLP и количественной ПЦР. *Аграрный вестник Верхневолжья*. 2017;4(21):65-71. Yildirim, E.A., Ilyina L.A. Dynamics of Microbiocenosis During Silage Making Using T-RFLP and Quantitative PCR Methods. *Agrarian Bulletin of the Upper Volga Region*. 2017;4(21):65-71. (In Russ.)
20. Guo X.S., Ke W., Ding W. et al. Profiling of Metabolome and Bacterial Community Dynamics in Ensiled *Medicago Sativa* Inoculated Without or with *Lactobacillus Plantarum* or *Lactobacillus Buchneri*. *Scientific Reports*. 2018;8(357):1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18348-0>
21. Бондарев В.А., Косолапов В.М., Победнов Ю.А., Клименко В.П. и др. Методические рекомендации по проведению опытов по консервированию и хранению объемистых кормов. Москва : ФГУ РЦСК; 2008:67.
Bondarev V.A., Kosolapov V.M., Pobednov Yu.A., Klimenko V.P. et al. Methodical Recommendations for Conducting Experiments on the Preservation and Storage of Bulk Feed. Moscow : FGU RCSC; 2008:67. (In Russ.).
22. Косолапов В.М., Чуйков В.А., Худякова Х.К., Косолапова В.Г. *Физико-химические методы анализа кормов*. Москва : Типография Россельхозакадемии; 2014:344.
Kosolapov V.M., Chuikov V.A., Khudyakova H.K., Kosolapova V.G. *Physicochemical Methods for Feed Analysis*. Moscow : Printing house of the Russian Agricultural Academy; 2014:344. (In Russ.).
23. Абрамян А.С., Дуборезов В.М., Артемьева О.А., Мишуров А.В., Павлюченкова О.В. *Методика определения механических примесей и обсеменения микрофлорой в силосе и сенаже*. Дубровицы : ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии; 2013:24.
Abramyana A.S., Duborezov V.M., Artemyeva O.A., Mishurov A.V., Pavlyuchenkova O.V. *Methodology for Determining Mechanical Impurities and Microflora Contamination in Silage and Haylage*. Dubrovitsy : GNU VIZh of the Russian Agricultural Academy; 2013:24. (In Russ.).
24. Vicente F., Rodríguez M.L., Martínez-Fernández A., Soldado A., Argamentería A., Peláez M., de la Roza-Delgado B. Subclinical Ketosis on Dairy Cows in Transition Period in Farms with Contrasting Butyric Acid Contents in Silages. *Scientific World Journal*. 2014;(2014):279-614. <https://doi.org/10.1155/2014/279614>

25. McAllister T., 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):4060-4074. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13704>
26. Gurjar A.A., Hegde N.V., Love B.C., Jayarao B.M. Real-Time Multiplex PCR Assay for Rapid Detection and Toxotyping of *Clostridium perfringens* Toxin Producing Strains in Feces of Dairy Cattle. *Molecular and Cellular Probes*. 2007;22(2):90-95. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2007.08.001>
27. Russell J.B., Diez-Gonzalez F., Jarvis G.N. Potential Effects of Cattle Diets on the Transmission of Pathogenic *Escherichia coli* to Humans. *Microbes and Infectious Diseases*. 2000;2(10717540):45-53.
28. Hernández-González J.C., Martínez-Tapia A., Lazcano-Hernández G., García-Pérez B.E., Castrejón-Jiménez N.S. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. A Powerful Alternative as Antimicrobials, Probiotics, and Immunomodulators in Veterinary Medicine. *Animals* (Basel). 2021;11(4):979. <https://doi.org/10.3390/ani11040979>
29. Cotter P.D., Ross R.P., Hill C. Bacteriocins – A Viable Alternative to Antibiotics? *Nature Reviews Genetics*. 2013;11:95-105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
30. Yitbarek M.B., Tamir B. Silage Additives: Review. *Open Journal of Applied Sciences*. 2014;(4): 258-274. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>
31. Jiang F.G., Cheng H.J., Liu D., Wei C., An W.J., Wang Y.F., Sun H., Song E. Treatment of Whole-Plant Corn Silage with Lactic Acid Bacteria and Organic Acid Enhances Quality by Elevating Acid Content, Reducing pH, and Inhibiting Undesirable Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*. 2020;(11):593088. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.593088>
32. McDonald P., Henderson A.R., Heron, S.J.E. *The Biochemistry of Silage*. Marlow, UK : Chalcombe Publications; 1991.
33. Queiroz O.C.M., Ogunade I.M., Weinberg Z., Adesogan A.T. Silage review: Foodborne Pathogens in Silage and Their Mitigation by Silage Additives. *Journal of Dairy Science*. 2018;(101):4132-4142.
34. Leite D.P., Amadio J.V., Martins E.R., Simões S.A., Yamamoto A.C., Leal-Santos F.A., Takahara D.T., Hahn R.C. *Cryptococcus* spp. Isolated from Dust Microhabitat in Brazilian Libraries. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2012;8;7(1):11. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-7-11>
35. McDonald T., Wiesner D.L., Nielsen K. *Cryptococcus*. *Current Biology*. 2012;22(14):R554-5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.040>
36. Cosentino S., Fadda M.E., Deplano M., Mulargia A.F., Palmas F. Yeasts Associated with Sardinian Ewe's Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology*. 2001;19;69(1-2):53-58. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00572-4](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00572-4)
37. Gori, K., Mortensen H.D., Arneborg N., Jespersen L. Ammonia as a Mediator for Communication in Strains of *Debaryomyces hansenii* and Yeast Species. *Journal of Dairy Science*. 2007;90:5032-5041.
38. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic Acid Increases Stability of Silage Under Aerobic Conditions. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 2003;69(1):562-567. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.1.562-567.2003>
39. Kung L.Jr., Shaver R.D., Grant R.J., Schmidt R.J. Silage review: Interpretation of Chemical, Microbial, and Organoleptic Components of Silages. *Journal of Dairy Science*. 2018;101(5):4020-4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>
40. Gallo A., Giuberti G., Frisvad J.C., Bertuzzi T., Nielsen, K.F. Review on Mycotoxin Issues in Ruminants: Occurrence in Forages, Effects of Mycotoxin Ingestion on Health Status and Animal Performance and Practical Strategies to Counteract Their Negative Effects. *Toxins*. 2015;7(8):3057-3111. <https://doi.org/10.3390/toxins7083057>
41. Ran Q., Guan H., Li H., He W., Zhu R., Zhang L., Huang Y., Xu Y., Fan Y. Effect of Formic Acid and Inoculants on Microbial Community and Fermentation Profile of Wilted or Un-Wilted Italian Ryegrass Silages during Ensiling and Aerobic Exposure. *Fermentation*. 2022;8(12):755. <https://doi.org/10.3390/fermentation8120755>
42. McAllister T., 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):4060-4074.

Сведения об авторах

Ильина Лариса Александровна –

доктор биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ», профессор кафедры крупного животноводства, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия

<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

SPIN-код: 5826-7525

ilina@biotrof.ru

Клименко Владимир Павлович –

доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник лаборатории консервирования и хранения кормов, руководитель Испытательного центра по оценке качества и стандартизации кормов, Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса, Московская область, г. Лобня, Россия

<https://orcid.org/0000-0003-1556-7344>

SPIN-код: 1442-8143

v-klimenko1959@mail.ru

Абрамян Антон Сенекеримович –

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории консервирования и хранения кормов, Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса, Московская область, г. Лобня, Россия

SPIN-код: 4003-2170

prof.abramyan49@mail.ru

Маляренко Светлана Андреевна –

кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории консервирования и хранения кормов, Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса, Московская область, г. Лобня, Россия

<https://orcid.org/0000-0003-1776-3082>

SPIN-код: 9276-4462

malyar95@mail.ru

Миуц Зоя Константиновна –

аспирант, Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса, Московская область, г. Лобня, Россия

SPIN-код: 6065-8469

zoya_miiuts@mail.ru

About the authors

Iarisa A. Iilina –

Dr. Sci. (Biol.), Head Molecular Genetic Laboratory of «BIOTROF», Prof., Department of Large Livestock Breeding, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Russia

<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

ilina@biotrof.ru

Vladimir P. Klimenko –

Dr. Sci. (Agric.), Senior Research, Laboratory of Food Preservation and Storage, Head, Testing Center for Assessment of Feeds Quality and Standardization, Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Moscow region, Lobnya, Russia

<https://orcid.org/0000-0003-1556-7344>

v-klimenko1959@mail.ru

Anton S. Abramyan –

Dr. Sci. (Agric.), Prof., Senior Researcher, Laboratory of Feeds Preservation and Storage, Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Moscow region, Lobnya, Russia

prof.abramyan49@mail.ru

Svetlana A. Malyarenko –

Cand. Sci. (Agric.), Senior Researcher, Laboratory of Feeds Preservation and Storage, Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Moscow region, Lobnya, Russia

<https://orcid.org/0000-0003-1776-3082>

malyar95@mail.ru

Zoya K. Miyuts –

Postgraduate student, Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Moscow region, Lobnya, Russia

zoya_miiuts@mail.ru