

**НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ НОВИХ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ
СТВОРЕННЯ БІОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЗАГОТІВЛІ СИЛОСОВАНИХ КОРМІВ***Даниленко С. Г., д.т.н., с.н.с.**зав. відділу біотехнології*

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0003-4470-4643

*Тетеріна С. М., к.т.н., доцент,**кафедри біотехнології і мікробіології*

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0002-6258-1010

Хоньків М. О., магістрант,

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

пров. фах. відділу біотехнології

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0003-3875-3289

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-14-08>

В країнах з вологим кліматом та суворими зимами, впродовж яких або неможливо одержати зелені корми, або складно зберігати висушені корми, такі як сіно, потреба у забезпеченні поживними речовинами та енергією тварин задовольняється здійсненням заготівлі силосу. До таких регіонів відносять Європу (зокрема Україну), Північну Америку та тропічні регіони (зокрема, Бразилію). Ринок сучасних біопрепаратів для силосування характеризується переважним використанням багатоконпонентних бактеріальних складів. Проте, попри розвиток біотехнології, і наявний досвід в області силосування, досі залишається актуальним питання раціонального вибору складу комбінованих бактеріальних препаратів від необхідного профілю бродіння в сировині. Метою роботи було визначити основні передумови, та фактори, від яких залежить вибір складу біопрепарату для силосування, а також охарактеризувати основну мікробіоту, що використовується для створення бактеріальних композицій та описати механізми їх консервувального впливу. В ході дослідження використовувалися такі загальнонаукові методи дослідження, як аналіз, синтез, узагальнення, індукція та дедукція. Для відображення процесу формування знань в питанні бактеріальних препаратів використовувався історичний метод. Для висвітлення впливу вмісту сухих речовин на хімічні показники силосу було застосовано графічний метод. Джерелом літературних матеріалів були загальнодоступні науково-інформаційні ресурси: бази даних, наукові журнали та періодичні видання. В ході дослідження було охарактеризовано основну рослинну сировину, для одержання силосу і визначено найбільш універсальну рослинну культуру. Визначено основні параметри, що впливають на хімічний та мікробіологічний склад готового силосу. Наведено склад мікробіоти препаратів залежно від типу метаболізму, описано їх консервувальні властивості тощо. Результати направлені на застосування наведених у статті характеристик сировини та властивостей біологічних агентів в якості теоретичної основи для експериментальних досліджень при розробці біопрепаратів для силосування, та рекомендацій щодо раціонального вибору ефективних комерційних силосних препаратів в розрізі технології заготівлі кормів для тваринництва.

Ключові слова: силос, бактеріальний склад, біопрепарати, консервування зелених кормів

SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF NEW TECHNOLOGICAL METHODS OF DEVELOPMENT OF BIOPREPARATIONS FOR PRODUCTION OF ENSILAGE

*Danylenko Svitlana, D-r of Sciences, Technics, Senior Research
Head of Department of Biotechnology*

Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: 0000-0003-4470-4643

Teterina Svitlana, pHD, Technics, associate professor

Department of Biotechnology and Microbiology,

National University of Food Technologies Kyiv, Ukraine

ORCID ID 0000-0002-6258-1010

Khonkiv Miroslav, postgraduate student,

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Leading specialist of Department of Biotechnology

Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: 0000-0003-3875-3289

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-14-08>

In countries with humid climates and harsh winters during which it is either impossible to obtain green feed, or it is difficult to store dried feed, such as hay, the need to provide nutrients and animal energy is satisfied by the implementation of silage. Such regions include Europe (in particular Ukraine), North America and tropical regions (in particular, Brazil). The market of modern biological preparations for silage is characterized by the predominant use of multicomponent bacterial compositions. However, despite the development of biotechnology, and the available experience in the field of ensilage, the question of the rational choice of the composition of combined inoculants from the necessary profile of fermentation in raw materials remains relevant. The work aimed to determine the main prerequisites and factors on which the choice of the composition of the biological product for silage depends, as well as to characterize the main microbiota used to create bacterial compositions and describe the mechanisms of their preserving effects. The study used such general scientific research methods as analysis, synthesis, generalization, induction, and deduction. To display the process of knowledge formation on the issue of bacterial preparations, the historical method was used. To illuminate the effect of dry matter on the chemical characteristics of the silo, a graphical method was used. The source of literary materials was publicly available scientific and informational resources: databases, scientific journals, and periodicals. During the study, the main plant material for silage was characterized and the most universal plant crop was determined. The main parameters that affect the chemical and microbiological composition of the finished silo are determined. The classification of silage microbiota depending on the type of metabolism is given and their preservative properties are described. The results are aimed at using the characteristics of raw materials and properties of biological agents presented in the article as a theoretical basis for experimental studies in the development of biologics for silage and recommendations for the rational selection of effective commercial silage inoculants in the context of animal feed procurement technology.

Key words: *silage, bacterial composition, combined biopreparation, canning green forages*

Постановка проблеми. Практика використання біопрепаратів для збереження рослинних кормів має численну кількість прикладів, що свідчать про велику розбіжність у принципах вибору їх ефективного складу залежно від умов їх застосування. Проте, мають значення не тільки обрані компоненти, а й те наскільки вони адаптовані до умов застосування. Саме від того, наскільки мікроорганізми здатні проявляти свої функції за різних умов залежить ефективність технології. До таких умов можна віднести властивості

рослинної сировини – хімічний склад, вологість, та конкуруюча епіфітна мікробіота. Саме тому, різноманіття сировини та її хімічного складу є найголовнішою причиною великої кількості варіацій біопрепаратів, що використовують в своєму складі культури з різним типом метаболізму задля забезпечення необхідного ефекту. Нині бракує експериментальних даних, що стосувалася б практики поєднання гомо- та гетероферментативного типів бродіння у комбінованих заквашувальних препаратах в залежності від обраної сировини. Більшість наявних досліджень стосуються лише кінцевих характеристик силосів, які одержані з використанням бактеріальних препаратів. Деякі з таких досліджень розглядають позитивні ефекти біопрепаратів. Наприклад, є повідомлення, що поєднання одного з трьох штамів – *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* або *L. plantarum* в комбінації з *L. buchneri*, забезпечує аеробну стійкість силосу до враження дріжджами і грибами близько 500 годин (майже 21 день), тоді як цей показник у необробленого силосу становить всього 180 годин (близько 8 днів) [1]. Іншим прикладом такого позитивного результату є препарат на основі *L. buchneri*, *L. plantarum* і *L. casei*, застосування якого супроводжується швидким зниженням рН ячмінного силосу і досягнення оптимального значення вже за перші 5 днів бродіння [2].

Однак, існує значний масив опублікованих досліджень, що суперечать розглянутим вище твердженням [3], а взаємодія штамів у таких бактеріальних композиціях досі недостатньо вивчена, і механізм їх стабільного позитивного ефекту залишається невідомим [4]. Досить небагато вчених займаються комплексними дослідженнями з узагальненням силосної мікробіоти, складу бактеріальних препаратів на їх основі, та параметрів, що впливають на їх вибір. Автором більшості сучасних робіт, присвячених цьому питанню, є Kung [5]. З огляду на представлену інформацію, можна констатувати, що підбір біологічних агентів в складі силосних препаратів досі залишається актуальним.

Метою роботи було визначити основні передумови, та фактори, від яких залежить вибір складу біопрепарату для силосування, а також охарактеризувати основні види мікроорганізмів, що використовуються для створення бактеріальних композицій та описати механізм їх впливу на перебіг консервування.

Методологія проведення. В ході дослідження використовувалися такі загальнонаукові методи дослідження, як аналіз, синтез, узагальнення, індукція та дедукція. Для відображення процесу формування знань в питанні бактеріальних препаратів використовувався історичний метод. Для висвітлення впливу вмісту сухих речовин на хімічні показники силосу було застосовано графічний метод. Джерелом матеріалів досліджень були загальнодоступні науково-інформаційні ресурси: бази даних, наукові журнали та періодичні видання.

Результати дослідження. Вибір рослинної сировини для різних регіонів, в свою чергу, залежить від доступності різних типів рослин. Зокрема, силос з кукурудзи є основним кормом у Європі та Північній Америці [6]. Склад мікробної спільноти в такому силосі детально описали Tennant та ін. [7]. Згідно з проведеним ними метагеномним дослідженням, основна мікробіота кукурудзяного силосу представлена видами роду *Lactobacillus*. На їхню частку припадає 24% складу мікробіоти силосу. Зважаючи на домінування представників лактобацил, їх біотехнологічні властивості використовують для силосування. Інколи застосовують представників роду *Propionibacterium*, що кількісно складають 3% силосної мікробіоти [8].

Зважаючи на те, що для силосування використовуються молочнокислі бактерії, то основними ростовими субстратами для них в складі сировини є природні цукри – в основному це глюкоза та фруктоза, що містяться в клітинному соку рослин. Залежно від доступності та вмісту цих водорозчинних вуглеводів і залежить потенціал їх зброжування до органічних кислот. Зокрема, внаслідок накопичення молочної кислоти, в силосі збільшується концентрація іонів водню до рівня, при якому небажана мікробіота (в основному гнилісні та маслянокислі бактерії) гальмується в розвитку. Значення рН при якому пригнічуються ріст основних представників, що псують силос, а саме бактерій роду *Clostridium* та *Enterococcus* залежить від вмісту вологи та температури. Чим нижча вологість, тим більш критичним є вплив рН. Для анаеробної стабільності силосу при вмісті сухих

речовин 150, 250, 350 та 450 г/кг рослинної сировини необхідний рівень рН для забезпечення стабільності процесу становить 4,10, 4,35, 4,60 і 4,85 відповідно [9]. Проте, чим більший вміст водорозчинних вуглеводів в сировині тим більша ймовірність зараження силосу дріжджами і грибами, для пригнічення росту яких, молочна кислота і низький рівень рН не дієві.

Пліснява в силосі представлена деякими видами родів *Fusarium* і *Alternaria*; *Aspergillus flavus* і *Aspergillus parasiticus*; формами, які є ендofітними симбіонтами в травах або злаках, такі як *Claviceps* і *Neotyphodium species*; формами, які розвиваються в силосі без контролювання його біохімічних показників, наприклад *Penicillium roqueforti* та *Penicillium paneum*, *Aspergillus fumigatus*, *Monascus ruber*, *Byssoschlamys nivea*, *Rhizopus nigricans* і *Chrysonilia sitophila* [7]. Остання група найчастіше зустрічається під час зберігання силосу, і зазвичай виникає внаслідок його аеробного псування [7]. Тож вибір характеру бродіння в сировині, обирається, перш за все, зважаючи на хімічні показники рослинної сировини, що піддають силосуванню. Будь-який тривалий контакт силосної маси з повітрям, призводить до того, що дріжджі (наприклад *Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Pichia*) розщеплюють молочну кислоту на вуглекислий газ і воду, продукуючи надмірну кількість тепла (процес зігрівання силосу), призводить до втрати поживних речовин тощо [8]). Деградація молочної кислоти також підвищує рН силосу до рівня, який дозволяє опортуністичним бактеріям (наприклад, *Bacillus*) і плісені (наприклад, *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium*) активно розвиватися і у подальшому погіршувати якість силосу.

Поживна цінність кукурудзяного силосу залежить від гібриду, щільності розташування рослин, умов вирощування, ступеня зрілості та вологості врожаю при збиранні [8]. Серед рослинних культур, що використовуються для силосування, кукурудза різко відрізняється найвищим, серед них, вмістом розчинних вуглеводів (280–510 г/кг сухих речовин [10]). Фізичні характеристики, такі як середній розмір частинок і щільність, безпосередньо пов'язані з характером бродіння та його поширенням в силосі, а аеробна стійкість є головним фактором, який визначатиме якість корму. Виробництво силосу з низькою щільністю, через великий середній розмір частинок, призводить до підвищення пористості та інфільтрації повітря через силос, тобто до активізації та розвитку аеробних мікроорганізмів, внаслідок чого значно знижуються кормові властивості [11].

В огляді Kung [5], показано, що значення рН для кукурудзяного силосу варіюється в межах від 3.9 од. до 5.4 од., при чому, простежується Що ж стосується інших параметрів, закономірність росту кислотності за збільшення вмісту сухих речовин в зразках кукурудзяного силосу від 25 до 80% (рис.1), то вміст органічних кислот також зменшується відносно концентрації сухих речовин (рис. 2.).

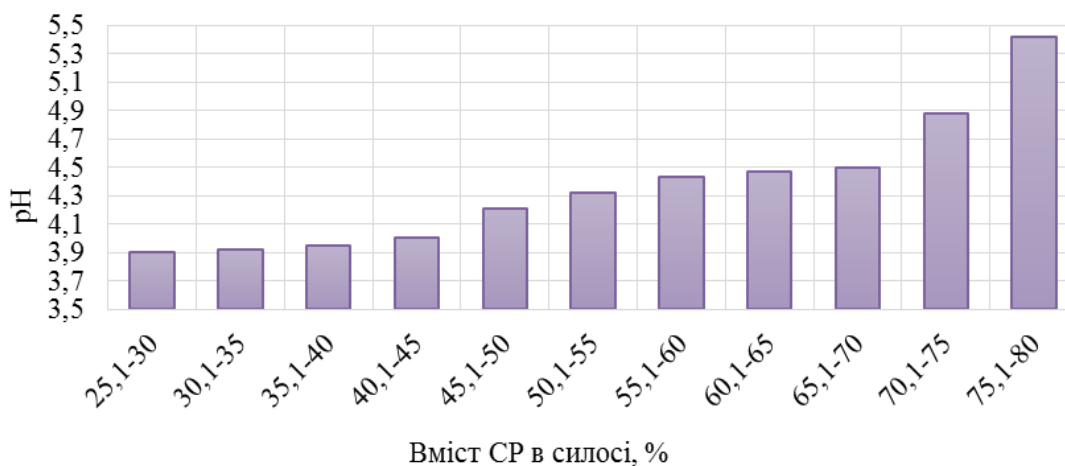


Рис. 1. Рівень рН для кукурудзяного силосу з різним вмістом сухих речовин [5]

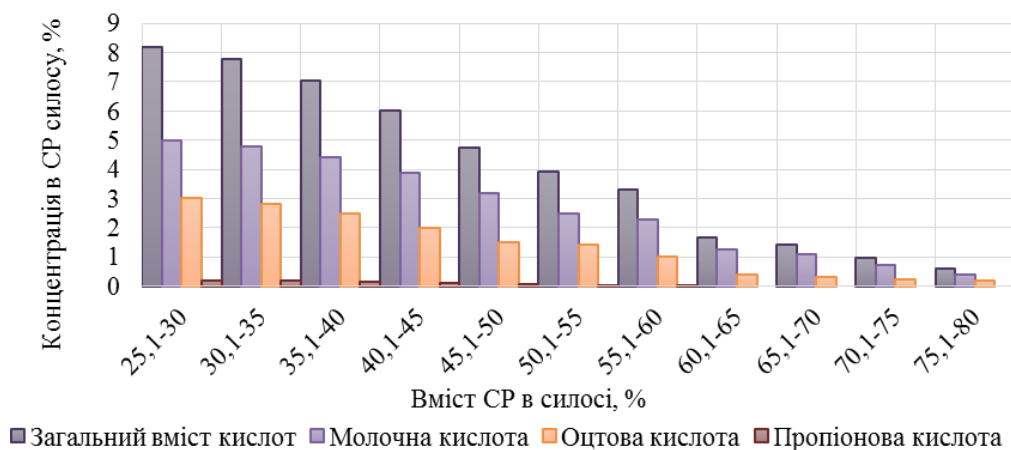


Рис.2. Рівні накопичення продуктів бродіння в кукурудзяному силосі з різним вмістом сухих речовин [5]

Люцерна – це кормова культура, багата білками. Однак з неї складно одержати силос гарної якості через низький вміст вуглеводів, що зброджуються (4-20 г/кг сухих речовин [12]), високу буферну здатність та трубчасте порожнисте стебло, що гальмує повне видалення повітря під час силосування [11].

Для посушливих та напівсухих кліматичних регіонів є важливим кормове сорго, що добре адаптується до навколишнього середовища з обмеженими опадами, високими температурами та низькою родючістю ґрунту. Кормове сорго використовує воду набагато ефективніше, ніж кукурудза, має більш високий вихід біомаси під час впливу посухи і дає прийнятні обсяги силосу [13]. Вміст розчинних вуглеводів для солодкого кормового сорго складає 180-250 г/кг сухих [12], а для зернового – 56-132 г/кг сухих речовин [12].

Наступною за популярністю сировиною є райграс. Використання райграсу для силосування здійснюють у переважній більшості Європейських країн і у північній частині Африки. Вміст розчинних вуглеводів, залежно від умов вирощування, дуже неоднорідний і варіює в межах 5-220 г/кг [12].

Трави теплої пори року, наприклад слонова трава, мають низькі концентрації розчинних вуглеводів та високу буферну здатність. Як наслідок, процес бродіння відбувається малоефективно, що знижує ймовірність одержання високоякісного силосу [15].

Таким чином, вибір характеру бродіння в сировині здійснюють, насамперед, зважаючи на хімічні показники рослинної сировини, що піддають силосуванню [15].

Отже, найбільш універсальною сировиною для силосування є кукурудза, яка має вищий вміст водорозчинних вуглеводів, буферну здатність та кормову цінність. Це в свою чергу спрямовує ринок біопрепаратів на їх застосування для одержання високоякісного кукурудзяного силосу.

В розробці комбінованих препаратів для силосування можна виділити два підходи.

Бактеріальні біопрепарати. Дослідження комбінованих препаратів першого типу почалися з роботи нідерландських вчених Driehuis та ін. [16], в якій повідомляється, що внаслідок використання комбінації гомоферментативних культур *Pediococcus pentosaceus* і *Lactobacillus plantarum* з гетероферментативною культурою *L. buchneri*, збільшується аеробна стабільність силосу, вміст молочної кислоти, та значно зменшується рН, разом з втратами сухих речовин порівняно з монокультурами.

В Україні, як і за кордоном, всі препарати є гетерогенними за складом і властивостями. Наявна велика кількість досліджень присвячених дослідженню якості силосу, отриманих з застосуванням комбінованих бактеріальних препаратів, проте їх ефективність постійно доповнюється новими даними [17-20]. Зокрема, на ринку є вітчизняні біопрепарати «Сінсил-ТІММ», та «Сеносіл», розроблені відділом біотехнології Інституту продовольчих ресурсів

НААН, на основі гомо- і гетероферментативних молочнокислих і пропіоновокислих бактерій – *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* ssp. *paracasei*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. Використання цих комбінованих біопрепаратів є ефективним, забезпечуючи покращення хімічних та мікробіологічних показників кукурудзяного силосу [21, 22].

Бактеріально-ферментні біопрепарати. Цей підхід має на меті розщеплення складних полімерних вуглеводів, таких як целюлоза, геміцелюлоза, лігнін на мономерні складові завдяки каталізу амілолітичних ферментів, внаслідок чого спостерігається підвищення доступності субстрату для бродіння бактеріальною складовою препарату. В Україні препаратом такого типу є «Літосил-плюс», до складу якого входять культури *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius* та *L. casei*, а також ферментний комплекс (целюлоза, пектиназа, бета-глюканаза, ксиланазу). В дослідженнях Сироватко [23] і Курнаєва [24] застосування цього препарату на силосі з люцерни показало ефективність в збереженні сухих речовин та протеїну за одночасного зниження вмісту клітковини, та покращеного співвідношення органічних кислот. Закордонний досвід представлений препаратами Lactacel L, що містить штами *L. plantarum* С ККР/788/р, *L. plantarum* К ККР/593/р, *L. brevis* ККР 839, *L. buchnerii* ККР/907/р та комплекс кормових ферментів (переважно глюकोамілазу), Feedtech F18 (*L. plantarum* (NCIB 30083, 30084), *Pediococcus acidilactici* (NCIB 30085, 30086), целюлаза), Josilac (*L. plantarum* (DSM No 11672), *P. acidilactici* (DSM No 11673), целюлаза), які також забезпечують необхідну якість силосу [17, 18].

Силосна мікробіота представлена декількома типами бродильного метаболізму. Зокрема, за анаеробних умов в цій мікробній спільноті переважають процеси молочнокислого та пропіоновокислого бродіння. Метаболіти, що утворюються, мають високу антибактеріальну та антигрибкову активність та забезпечують необхідне консервування силосу. За використання комбінованих бактеріальних препаратів в силосуванні, як і у ході природного процесу, характерним є взаємодія бактеріальних культур в сировині, що і визначає її кінцеву якість. Для опису цієї взаємодії спочатку необхідно розуміти основні властивості різних представників окремо. В залежності від профілю бродіння бактерії, що використовуються, поділяють на молочнокислі бактерії, з облігатно гомоферментативним, облігатно або факультативно гетероферментативним типом бродильного метаболізму, а також на пропіоновокислі бактерії.

Гомоферментативні молочнокислі бактерії. Довгий час до того, як було встановлено різницю в метаболізмі між групами облігатно гомоферментативних та факультативно гетероферментативних молочнокислих бактерій їх об'єднували просто під назвою гомоферментативних [25]. Найбільше описані, та найчастіше використовуються лише декілька їх представників – *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium*, *P. acidilactici*, *P. pentacaceus*. Всі перелічені представники характеризуються як найкращі кислотоутворювачі. Це пояснюється швидким продукуванням переважно одного метаболіту в навколишнє середовище, а саме молочної кислоти. В умовах конкуренції за легкодоступні вуглеводи в гетерогенній спільноті силосу, збільшення вмісту молочної кислоти спричиняє зниження рН середовища, що дає перевагу в домінуванні гомоферментативних бактерій. Проте, за постійного зниження рН, активність домінуючих бактерій також поступово знижується, і за значень близько 4,0-4,2 од. ферментативні реакції зупиняються. Однак в межах своєї групи, ці представники відрізняються і за швидкістю росту – *Enterococcus* > *Pediococcus* > *Lactobacillus*. З іншого боку, педіококи мають ширший діапазон оптимальної температури та рН для росту [26].

Окрім консервуючого впливу молочної кислоти, гомоферментативні бактерії мають ряд інших метаболітів, які проявляють антагонізм проти небажаної мікробіоти. Зокрема, останнім часом дослідники знаходять активні штами-продуцентів бактеріоцинів. Починаючи з 2000 року з різної сировини виділялися штами *L. plantarum* зі здатністю до синтезу антигрибкових речовин. Першими в своїй роботі Lavermicossa та ін. [27] виявили в хлібній

заквасці штам *L. plantarum* 21В з високою антигрибковою активністю. Зокрема, при сумісному культивуванні штам успішно інгібував багатьох представників грибів родів *Eurotium*, *Penicillium*, *Endomyces*, *Aspergillus*, *Monilia* та *Fusarium*. При хімічному аналізі культуральної рідини було виявлено високу концентрацію фенілактату. В наступному дослідженні Strom та ін. [28], з трав'яного силосу виділили та ізолювали штам *L. plantarum* MiLAB 393. Характерним для цього штаму є синтез окрім 3-феніллактату, циклічних дипептидів з антигрибковою активністю, таких як цикло(L-фенілаланін–L-пролін) та цикло(L-фенілаланін-транс-4-ОН–L-пролін). Найбільша чутливість до цих сполук була у грибів *Fusarium sporotrichioides*, *Aspergillus fumigatus* і дріжджів *Kluveromyces marxianus*. З досліджень Dieuleveux та співавт. [29-31] можна оцінити і антибактеріальну активність 3-феніллактату, зокрема в ньому показано інгібування ряду як грамозитивних бактерій – *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, так і грамнегативних, таких як *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella oxytoca*.

Наявність подібних сполук є важливим в забезпеченні активної боротьби з сторонньою мікробіотою як в анаеробних так і в аеробних умовах, проте знайти і виділити з природніх умов штами зі здатністю продукувати бактеріоцини в достатніх концентраціях дуже складно. Так, в деяких дослідженнях [32, 33] повідомляється про зниження аеробної стійкості за використання гомоферментативних молочнокислих бактерій. Вчені пов'язують цей ефект з малими концентраціями оцтової кислоти, яка є сильним антигрибковим агентом, та високими концентраціями молочної кислоти, яка в аеробних умовах є гарним ростовим субстратом для дріжджів.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії. Наступна група молочнокислих бактерій представлена облигатно гетероферментативними бактеріями. В літературі серед представників цієї групи переважно можна знайти *L. buchneri*, дещо рідше *L. brevis*, *L. diolivorans*, *L. hilgardii*, *L. kefirii*, *L. parafarraginis*. Відмінність облигатно- від факультативно-гетероферментативних в тому, що оцтова кислота утворюється не лише в фосфокетотлазному шляху, а і при додатковому окисненні лактату в анаеробних умовах. Додатково лактат окислюється до 1,2-пропандіолу. До подальшого перетворення 1,2-пропандіолу здатні види *L. diolivorans* та *L. reuteri*, зокрема, перший метаболізує його до 1-пропанолу та пропіонової кислоти, а другий до пропіональдегіду та пропіонової кислоти [34]. Всі наведені вище сполуки включаючи оцтову кислоту та 1,2-пропандіол володіють широким спектром бактерицидної та фунгіцидної активності. Використанням цієї особливості характеризується застосування гетероферментативних видів для підвищення стійкості силосу за аеробних умов. Найкраще описано вплив гетероферментативного метаболізму *L. buchneri* на бродіння сировини за мета-аналізу проведеного Kleinschmit і Kung [35]. В цьому дослідженні аналізувалися 43 експерименти з цією культурою в силосі з кукурудзи та трави. Одержані результати показали, що обробка *L. buchneri* в порівнянні з необробленим кукурудзяним силосом призводить до підвищення рН, за рахунок зміни співвідношення молочної та оцтової кислот 3:1 в необробленому силосі до близько 2,3:1 та 1,3:1 для низької та високої дози інокуляції відповідно. Щодо трав'яного силосу, то співвідношення від 5,3:1 для необробленого силосу знизилася до 0,8:1 та 0,6:1 для тих самих доз. Щодо споживання водорозчинних вуглеводів, то для кукурудзяного силосу їх вміст в необробленому силосі, та обробленому низькою і високою дозою *L. buchneri* в середньому зменшується на 3,8 та 14,8% відповідно. Для силосу з трав ці втрати є більшими, і становлять 34,6 та 53,8%. Такі втрати пояснюються окрім продукування молочної кислоти додатково оцтової, 1,2-пропандіолу та виділення значної кількості CO₂. Проте, попри втрати за анаеробних умов, в цьому дослідженні встановлено, що інокуляція *L. buchneri* значно зменшує вміст дріжджів та тим самим підвищує аеробну стійкість силосу. Було встановлено що значення аеробної стійкості інокульованого кукурудзяного силосу зросло порівняно з необробленим від 25 до 503 год, а для трав'яного – з 206 до 245 год. Ці результати знову підтверджують думку, що для кожної сировини необхідно підбирати свій оптимальний склад

препаратів для силосування та дози складових, які не будуть зменшувати поживну цінність певного силосу.

Як і гомоферментативні лактобацили, гетероферментативні види також знатні до синтезу бактеріоцинів. Так є декілька досліджень в яких *L. hilgardii* і *L. diolivorans* здатні до синтезу пептидів з протигрибковою активністю. Згідно з дослідженням Valerio та ін. [36] *L. hilgardii* здатен до синтезу фенілактату та 4-гідроксифенілактату.

Варто додати, що через невисоку швидкість росту та кислотоутворення гетероферментативні молочнокислі бактерії в силосі мають переваги за умов, коли активність всієї мікробіоти, включаючи гомоферментативних молочнокислих бактерій знижується, адже за рахунок свого метаболізму гетероферментативні лактобацили мають механізми стійкості до високої кислотності в анаеробних умовах.

Пропіоновокислі бактерії. Для покращення стійкості до аеробної деградації силосу використовуються і види *Propionibacterium*. Як і в випадку з багатьма видами гетероферментативних молочнокислих бактерій, механізм захисту пропіоновокислих бактерій полягає в синтезі пропіонової та оцтової кислот. Представники цього роду здатні ферментувати глюкозу та лактат [37]. Проте для них, порівняно з лактобактеріями, пропіонова кислота є основним метаболітом, саме тому їх використовують замість додавання екзогенної пропіонової кислоти [38]. Найпоширенішими представниками, що застосовувалися, є *P. acidipropionici* та *P. shermanii*. Зазначається [16], що пропіоновокислі бактерії погано переносять умови з низьким рівнем рН і мають повільний ріст. Згідно з цим, очікувати ефект від їх додавання можна лише на перших стадіях, коли рН силосу тільки починає спадати, і пропіонова кислота необхідна для ефективної боротьби з дріжджами та плісінню, до того часу, поки не встановляться повністю анаеробні умови.

Найбільш вдалі композиції створюються на основі поєднання декількох з наведених типів метаболізму. Зокрема, щоб визначити які бактеріальні види мають входити до препарату, перш за все мають бути визначені хімічні показники сировини та природня мікробіота силосу. В разі підвищених концентрацій збудників бактеріального псування сировини, найбільш ефективно розробляти склад на основі активних кислотоутворюючів, тоді ж як дріжджове та грибкове забруднення потребує широкого спектру метаболітів з сильними антимікробними властивостями. Високий вміст водорозчинних вуглеводів разом з високою буферною ємністю силосу потребують використання гетероферментативного молочнокислого або/та пропіоновокислого профілю бродіння. Розвиток представників цих метаболізмів призводить до збільшення споживання вуглеводів в процесі силосування, проте на відміну від гомоферментативних молочнокислих бактерій, одночасно дозволяє використати штами менше залежних від рівню рН та більш ефективних механізмів пригнічення сторонньої мікробіоти силосу.

Висновок. Підсумовуючи, варто зазначити, що вибір складу біопрепарату залежить, перш за все, від характеристики сировини – вологості, вмісту водорозчинних вуглеводів, буферної ємності, а також регіону вирощування. Після аналізу сировини бактеріальна композиція підбирається в залежності від бажаного профілю бродіння, яка забезпечить необхідну якість силосу. Більшість з комерційних біопрепаратів для силосування, що представлені на ринку, дуже часто невдало обирають за своїми властивостями до умов застосування, внаслідок чого їх ефективність значно знижується. Вибір правильної комбінації особливостей біологічних агентів спрямовано на збереження цінних поживних речовин як в анаеробних умовах, так і в аеробних, здійснюючи головним чином пригнічення сторонньої мікробіоти, внаслідок чого силос зберігається тривалий термін.

Бібліографія

1. Reich L. J., Kung L. Jr. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2010. Vol. 159, №3-4. P. 105-109.

2. Addah W., Baah J., Okine E. K., McAllister T. A. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 90, № 5. P. 1541-1552.
3. Thomas M. E., Foster J. L., McCuiston K. C., et.al. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 96, № 11. P. 7120-7131.
4. Rabelo C. H. S., Härter C. J., Ávila C. L. S., Reis R. A. Metaanalysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassl. Sci.* 2019. Vol. 65, № 1. P. 3-12.
5. Kung Jr L., 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. Vol. 101, № 5. P. 4020-4033.
6. Borreani G., Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science.* 2010. Vol. 93, № 6. P. 2620-2629.
7. Tennant R. K., Sambles C. M., Diffey G. E., et.al. Metagenomic Analysis of Silage. *J. Vis. Exp.* 2017. №119. e54936. <https://doi.org/10.3791/54936>.
8. Satter L. D., Reis R. B. Milk production under confinement conditions. 2012. US. Dairy Forage Research Center, USDA-ARS and Dairy Science Department. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA.
9. Jonsson A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1991. Vol. 54, № 4. P. 557-568.
10. Sebata A. An Insight into Current and Future Production of Forage Crops in Zimbabwe. *New Perspectives in Forage Crops.* 2018. P. 89-104.
11. Silva M. S. J. D., Jobim C. C., Poppi E. C., et.al. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2015. Vol. 44, № 9. P. 303-313.
12. Maasdorp B. V. Titterton M. The use of planted trees for fodder. *Proceedings of workshop on Livestock Production Research in the Semi-Arid Tropics, held by Department for International Development (DFID), Matopos, Zimbabwe. February 1999. Smith, T. (Ed.). 2000.*
13. Amer S., Seguin P., Mustafa A. F. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science.* 2012. Vol. 95, № 2. P. 859-863.
14. Rodrigues A. L. P. et al. In situ dry matter degradation of tropical forages harvested at different ages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2004. Vol.56, № 5. P. 658-664.
15. Yitbarek M. B., Tamir B. Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences.* 2014. Vol.4, № 5. P. 258-274. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.
16. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wikselaar P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science.* 2001. Vol. 56, № 4. P. 330-343.
17. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science.* 2016. Vol. 71, № 3. P. 458-471.
18. Wrobel B., Zielinska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering.* 2017. Vol. 62, № 4. P. 205-210.
19. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology.* 2015. Vol. 197. P. 393-403.

20. Markovic J., Blagojevic M., Kostic I., et.al. Effect of bacterial inoculants application and seeding rate on common vetch-oat silage quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2019. Vol. 34, № 2. P. 251-257.
21. Даниленко. С. Г., Хоньків М. О., Іскра К. О. Лактобактерії для силосування рослинної сировини. *Аграрна наука та харчові технології*. 2019. Вип. 108, №5, т.1. С.3-12.
22. Сычевский Н. П., Копылова К. В., Даниленко С. Г. Эффективность препарата «Сеносил» для консервирования силоса. *Зернові продукти і комбікорми*. 2016. Вип. 63, № 3. С.16-21.
23. Сироватко К. М. Вплив біологічного консерванту на якість та продуктивну дію сінажу. *Аграрна наука та харчові технології*. Вінниця, 2017. Вип.1, № 95. С. 90-96.
24. Курнаєв О. Якість та енергетична поживність люцернового силосу при застосуванні бактеріально-ферментного препарату. *Тваринництво України*. 2015. № 4. С. 40-42.
25. Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., et.al. *Microbiology of ensiling. Silage science and technology*. 2003. Vol. 42. P. 31-93.
26. Kung Jr. A Review on Silage Additives and Enzymes. Department of Animal and Food Sciences University of Delaware. Newark. 2003.
27. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., et.al. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, № 9. P. 4084-4090.
28. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. Vol. 68, № 9. P. 4322-4327.
29. Dieuleveux V., Gueguen M. Antimicrobial effects of D-3- phenyllactic acid on *Listeria monocytogenes* in TSB-YE medium, milk, and cheese. *J. Food Prot.* 1998. Vol. 61. P. 1281-1285.
30. Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M. Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 40. P. 177-183.
31. Dieuleveux V., Van Der Pyl D., Chataud J., Gueguen M. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 800-803.
32. Weinberg Z. G., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 75. P. 512-518.
33. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. P. 562-567.
34. Zielinska K., Fabiszewska A., Swiątek M., Szymanowska-Powalowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 2017. Vol. 26. P. 60-63.
35. Kleinschmit D. H., Kung Jr. L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of dairy Science*. 2006. Vol. 89, № 10. P. 4005-4013.
36. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS microbiology letters*. 2004. Vol. 233, № 2. P. 289-295.
37. Moon N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.* 1983. Vol. 55. P. 454-460.
38. Arriola K. G., Kim S. C., Adesogan A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of dairy science*. 2011. Vol. 94, № 3. P. 1511-1516.

References

1. Reich L. J., Kung L. Jr. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2010. Vol. 159, №3-4. P. 105-109.
2. Addah W., Baah J., Okine E. K., McAllister T. A. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 90, № 5. P. 1541-1552.
3. Thomas M. E., Foster J. L., McCuiston K. C., et.al. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 96, № 11. P. 7120-7131.
4. Rabelo C. H. S., Härter C. J., Ávila C. L. S., Reis R. A. Metaanalysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassl. Sci.* 2019. Vol. 65, № 1. P. 3-12.
5. Kung Jr L., 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. Vol. 101, № 5. P. 4020-4033.
6. Borreani G., Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science.* 2010. Vol. 93, № 6. P. 2620-2629.
7. Tennant R. K., Sambles C. M., Diffey G. E., et.al. Metagenomic Analysis of Silage. *J. Vis. Exp.* 2017. №119. e54936. <https://doi.org/10.3791/54936>.
8. Satter L. D., Reis R. B. Milk production under confinement conditions. 2012. US. Dairy Forage Research Center, USDA-ARS and Dairy Science Department. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA.
9. Jonsson A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1991. Vol. 54, № 4. P. 557-568.
10. Sebata A. An Insight into Current and Future Production of Forage Crops in Zimbabwe. *New Perspectives in Forage Crops.* 2018. P. 89-104.
11. Silva M. S. J. D., Jobim C. C., Poppi E. C., et.al. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2015. Vol. 44, № 9. P. 303-313.
12. Maasdorp B. V. Titterton M. The use of planted trees for fodder. *Proceedings of workshop on Livestock Production Research in the Semi-Arid Tropics, held by Department for International Development (DFID), Matopos, Zimbabwe. February 1999. Smith, T. (Ed.). 2000.*
13. Amer S., Seguin P., Mustafa A. F. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science.* 2012. Vol. 95, № 2. P. 859-863.
14. Rodrigues A. L. P. et al. In situ dry matter degradation of tropical forages harvested at different ages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2004. Vol.56, № 5. P. 658-664.
15. Yitbarek M. B., Tamir B. Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences.* 2014. Vol.4, № 5. P. 258-274. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.
16. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wikselaar P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science.* 2001. Vol. 56, № 4. P. 330-343.
17. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science.* 2016. Vol. 71, № 3. P. 458-471.

18. Wrobel B., Zielinska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2017. Vol. 62, № 4. P. 205-210.
19. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 197. P. 393-403.
20. Markovic J., Blagojevic M., Kostic I., et.al. Effect of bacterial inoculants application and seeding rate on common vetch-oat silage quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2019. Vol. 34, № 2. P. 251-257.
21. Danylenko. S. G., Khonkiv M. O., Iskra K. O. Laktobakterii dlia sylosuvannia roslynnoi syrovyny. *Ahrarna nauka ta kharchovi tekhnolohii*. [Lactobacilli for ensilage vegetable raw materials. *Agricultural science and food technology*] 2019. Vol. 108, №5. P. 3-12.
22. Sychevskij N. P., Kopylova K. V., Danylenko S. G. Effektivnost' preparata «Senosil» dlia konservovaniya silosa. *Zernovi produkty i kombikormy*. [The effectiveness of the drug "Senosil" to preserve the silage. *Cereal products and compound feeds*] 2016. Vol. 63, № 3. P.16-21.
23. Syrovatko K. M. Vplyv biolohichnoho konservantu na yakist ta produktyvnu diiu sinazhu. *Ahrarna nauka ta kharchovi tekhnolohii*. [Biological effect of preservative on the quality and productive action of silage. *Agricultural science and food technology*] 2017. Vol. 1, № 95. P. 90-96.
24. Kurnaiev O. Yakist ta enerhetychna pozhyvnist liutsernovoho sylosu pry zastosuvanni bakterialno-fermentnoho preparatu. *Tvarynnytstvo Ukrainy*. [Quality and nutritional value of alfalfa silage energy when applying bacterial-enzyme preparation. *Ukraine Livestock*] 2015. № 4. P. 40-42.
25. Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., et.al. Microbiology of ensiling. *Silage science and technology*. 2003. Vol. 42. P. 31-93.
26. Kung Jr. A Review on Silage Additives and Enzymes. Department of Animal and Food Sciences University of Delaware. Newark. 2003.
27. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., et.al. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, № 9. P. 4084-4090.
28. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. Vol. 68, № 9. P. 4322-4327.
29. Dieuleveux V., Gueguen M. Antimicrobial effects of D-3- phenyllactic acid on *Listeria monocytogenes* in TSB-YE medium, milk, and cheese. *J. Food Prot.* 1998. Vol. 61. P. 1281-1285.
30. Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M. Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 40. P. 177-183.
31. Dieuleveux V., Van Der Pyl D., Chataud J., Gueguen M. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 800-803.
32. Weinberg Z. G., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 75. P. 512-518.
33. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. P. 562-567.
34. Zielinska K., Fabiszewska A., Swiątek M., Szymanowska-Powalowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 2017. Vol. 26. P. 60-63.
35. Kleinschmit D. H., Kung Jr. L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of dairy Science*. 2006. Vol. 89, № 10. P. 4005-4013.

36. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. FEMS microbiology letters. 2004. Vol. 233, № 2. P. 289-295.

37. Moon N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. J. Appl. Bacteriol. 1983. Vol. 55. P. 454-460.

38. Arriola K. G., Kim S. C., Adesogan A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. Journal of dairy science. 2011. Vol. 94, № 3. P. 1511-1516.