

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ
ТА АГРОПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

**УДОСКОНАЛЕНА ТЕХНОЛОГІЯ
СТВОРЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ СИЛОСНОЇ
ЗАКВАСКИ НА ОСНОВІ ПЕРСПЕКТИВНИХ
ШТАМІВ *BACILLUS SUBTILIS*
І *LACTOBACILLUS PLANTARUM*
(НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ)**

Чернівці
2025

УДК 636.084/087.579.64:363.085.7
УЗ1

УЗ1 **Удосконалена** технологія створення комплексної силосної закваски на основі перспективних штамів *Bacillus subtilis* і *Lactobacillus plantarum* (науково-практичні рекомендації) / Укладачі: Н. О. Кравченко, О. В. Тертична, О. М. Дмитрук, О. В. Крапивний, Т. І. Кошова, Н. М. Фурс, С. Ф. Примаченко. Чернігів : видавець Агесв В. О., 2025. 20 с.

ISBN 978-617-95517-9-6

Рекомендації базуються на результатах наукових досліджень, проведених у межах виконання завдання 08.00.04.02.П Удосконалити технологію виробництва комплексної силосної закваски на основі перспективних штамів *Bacillus subtilis* та *Lactobacillus* sp. (ПНД НААН 8 «Сільськогосподарська мікробіологія»).

Розраховані на наукових працівників, зооветспеціалістів господарств, фермерів.

УДК 636.084/087.579.64:363.085.7

Рецензенти:

Решотько Л. М. — кандидат біологічних наук

Цигура Г. О. — кандидат сільськогосподарських наук

Рекомендовано до друку вченою радою Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (протокол № 13 від 17.11.2025 р.) і координаційно-методичною радою Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН — головної установи з виконання ПНД НААН 8 «Сільськогосподарська мікробіологія» (протокол № 3 від 26.11.2025 р.).

© Національна академія аграрних наук України

© Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва, 2025

ISBN 978-617-95517-9-6

ВСТУП

В основі природного консервування (силосування) зелених кормів, низки відходів промислового виробництва перебуває складний процес переважно молочнокислого бродіння (Квасников Е. И., 1975). Суть силосування полягає у перетворенні частини поживних речовин рослинної сировини в нові сполуки (переважно низькомолекулярні органічні кислоти), за рахунок яких відбувається збереження поживності корму, наближеної до вихідної сировини. Бажаним типом молочнокислого бродіння є гомоферментативне, яке дає найбільший вихід молочної кислоти з найменшими втратами енергії. У процесі бродіння молекула цукру розкладається на дві молекули молочної кислоти, при цьому за сприятливих умов кожна клітина молочнокислої бактерії за 1 годину утворює молочної кислоти у 3 рази більше за вагу самої клітини (McDonald P. et al., 1991).

Епіфітна молочнокисла мікрофлора зеленої маси рослин малочисельна (не перевищує 10^2 колонієутворювальних одиниць у грамі сировини (КУО/г), а вже при закладанні може зрости до 10^4 – 10^5 КУО/г) та представлена здебільшого формами, які зумовлюють гетероферментативне молочнокисле бродіння (Ben-Dov et al., 2006). Сумарно втрати поживних речовин у разі гетероферментативного бродіння доходять до 22 %, а енергії — 16–17 %, що у 3,0–3,3 рази більше, ніж за гомоферментативного бродіння, за якого втрати поживних речовин практично дорівнюють нулю, а енергії — не більше ніж 5 %. Це невідворотні біологічні втрати (угар).

На якість молочнокислого бродіння та процесу силосування негативно впливає низка мікроорганізмів, що циркулюють на вегетативних частинах рослин. До таких належать анаеробні спороутворювальні палички роду *Clostridium*, аеробні бактерії роду *Bacillus*, колиформні форми, зокрема *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., а також бактерії родів *Listeria*, *Salmonella*, *Enterococcus* (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. avi-*

um). Мікроскопічні гриби також спричиняють псування консервованих кормів (O'Brien et al., 2007).

Дуже небезпечною групою мікроорганізмів за силосування є спороутворювальні облигатно анаеробні маслянокислі бактерії роду *Clostridium*.

Важливо відзначити, що ці бактерії не є епіфітними, їх присутність у силосі, переважно у вигляді спор, пояснюється забрудненням ґрунтом і фекаліями під час збору врожаю або опадами, що потрапляють у силосне середовище. Серед клостридій трапляються види, які трансформують або вуглеводи, або протеїн, або обидві речовини. Основним продуктом бродіння є масляна кислота. Небезпечність клостридій полягає у тому, що вони спричиняють розкладання вже утвореної молочної кислоти, внаслідок чого знову підвищується рН і починається процес псування корму через надмірний розвиток гнильних мікроорганізмів, зокрема родів *Pseudomonas* та *Alcaligene*.

Існує пряма кореляція між концентрацією клостридій і якістю силосу, причому їхня значна активність потенційно може призвести до зниження поживної цінності силосу до 50 %. Масляна кислота нешкідлива для організму тварин, але її наявність надає корму неприємного запаху й свідчить про небажане спрямування процесу силосування. Окрім заподіяння втрат, спори клостридій можуть забруднювати молоко, впливати на його смакові якості, перешкоджати процесу згортання при виробництві твердого сиру (McDonald P. et al., 1991).

У силосі з бурхливим розвитком маслянокислого бродіння та підвищенням рН створюються сприятливі умови для росту гнильних бактерій родів *Pseudomonas*, *Alcaligene*. Гнильні бактерії розмножуються як в аеробних, так і в анаеробних умовах. Вони інтенсивніше розвиваються за доступу повітря і їхня життєдіяльність припиняється за підкислення середовища до рН 4,5. Оптимальна

кислотність для розвитку гнильних процесів — у нейтральному та слабо лужному середовищі. Гнильні бактерії зброджують вуглеводи до вуглекислого газу й водню і невеликої кількості молочної та оцтової кислот, а білки за їхньої дії трансформуються в інші сполуки, в т. ч. аміаку, що зумовлює псування корму. Таким чином, гнильні бактерії є небезпечними лише у погано ферментованому силосі.

Зазвичай при силосуванні присутність ентеробактерій вважається небажаною, бо вони є конкурентами молочнокислих бактерій (МКБ) щодо поживних речовин та продуцентами ендотоксинів. Крім того, вони можуть сприяти утворенню аміаку через трансформацію білка та зменшення нітратів під час процесу силосування, що може підвищити буферну здатність і запобігти зниженню рН (Wrobel et al., 2023).

Негативно позначається на якості силосу розвиток мікроміцетів, перш за все родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* та *Monascus* (O'Brien et al., 2007). Вони витримують кисле середовище (рН 1,2–1,6) і розвиваються лише за наявності кисню на поверхні силосу. Наявність пліснявих грибів вказує на розпад поживних речовин (вуглеводів, протеїнів, молочної кислоти), утворення мікотоксинів (охратоксин, афлатоксин тощо), низьку якість або непридатність корму для згодовування тваринам та є індикатором доступу повітря до корму (недостатня щільність) (O'Brien et al., 2007).

Негативний вплив на процес силосування чинять дріжджі. В анаеробних умовах вони зброджують вуглеводи, а за наявності кисню дріжджі здатні перемикаєти обмін речовин на дихання, перетворюючи залишковий рослинний цукор у спирт. Дріжджі є кислотостійкими й можуть розмножуватися за рН 2,5–3,0 за оптимальної температури 25–30 °С. Дріжджі здатні використовувати органічні кислоти й можуть синтезувати мікотоксини, що вказує на небажаність їхньої присутності в силосі (Storm Ida ML Drejer et al., 2008;

Muck Richard E., 2010). Присутність дріжджів, що розкладають лактат, у концентрації 10^5 КУО на грам корму підвищує ймовірність псування силосу (Woolford M. K., 1990).

Одним зі способів урегулювання мікробіологічних процесів є використання консервантів. Механізм дії будь-якого консерванту полягає в активації бажаних мікробіологічних процесів, у тому числі у прискоренні молочнокислого бродіння та пригнічення небажаного, передусім маслянокислого бродіння. Для силосування використовують як хімічні, так і біологічні консерванти. Хімічні консерванти більш ефективні та передбачувані, проте вони дорогі й інколи небезпечні. Найбільшу популярність останніми роками набули біологічні консерванти на основі корисних мікроорганізмів — вони безпечні, більш дешеві й екологічні.

До складу сучасних біологічних консервантів входять здебільшого гомоферментативні МКБ, що синтезують переважно молочну кислоту. До багатокомпонентних препаратів можуть додаватися гетероферментативні МКБ, які, крім молочної кислоти, в результаті бродіння виділяють оцтову кислоту, спирт, вуглекислий газ тощо.

Лактобацили — основні продуценти молочної кислоти, вони є частиною мікробіоти шлунково-кишкового тракту тварин. Зброджують легкорозчинні вуглеводи, що забезпечує швидке підкислення силосної маси.

Лактобацили є продуцентами антибактеріальних й антивірусних речовин. Створюючи кисле середовище, вони здатні пригнічувати розвиток багатьох бактерій, що є небажаними для силосування, наприклад маслянокислі бактерії роду *Clostridium*. Це дозволяє знизити втрати поживних речовин у силосах за тривалого зберігання на 8–10 %.

У багатьох силосних консервантах до складу входять бактерії *Lactobacillus buchneri*. Ці бактерії, крім ефективної ферментації,

покращують аеробну стабільність. Вони належать до гетероферментативних МКБ, що продукують не лише молочну, а й оцтову кислоту. Оцтова кислота має антифунгальні властивості, тобто пригнічує ріст плісень, дріжджів, за рахунок чого силос захищається від нагрівання та втрат поживних речовин після відкриття корму для згодовування тваринам.

Найбільш поширеним представником МКБ, що присутній у 70 % препаратів цього напрямку, є вид *Lactobacillus plantarum* (Квасніков, 1975; Gallasz, 1987). Він належить до гомоферментативних МКБ і, крім молочної кислоти, продукує низку антибактеріальних речовин, що пригнічувально діють на низку грамнегативних та грампозитивних бактерій, таких як *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* та навіть плісенивих грибів роду *Penicillium*. На завершальних етапах силосування *L. plantarum* пригнічується продуктом власного синтезу — молочною кислотою та є чутливою до продуктів обміну гнильних бактерій (індолу, скатолау, пропіонової, індолоцтової кислот).

Пропіоновокислі бактерії здатні до розвитку й розмноження в нейтральному середовищі й утворювати пропіонову кислоту, яка підкисляє силосну сировину з перших годин закладання до рН 5,2–5,5, виключаючи при цьому оцтовокисле бродіння та надаючи можливість швидкого росту МКБ. Метаболіт пропіоновокислих бактерій (пропіонова кислота) має антифунгальні властивості. Разом із МКБ пропіоновокислі бактерії гальмують розкладання білка в кормі.

Бактерії *Bacillus subtilis* також можуть бути додані до силосних консервантів для досягнення високої збереженості та якості силосу. Передумовою їх використання у складі біоконсервантів є їхня схильність до анаеробіозу з утворенням молочної кислоти, здатність до утворення ферменту амілази, низки антибіотичних та антифунгальних речовин. На відміну від анаеробних гнильних

бактерій, які гідролізують білок до аміаку, бактерії *Bacillus subtilis* білок лише пептонізують (Storm Ida ML Drejer, 2008; Davies David R., 2007).

У природі мікроорганізми тісно пов'язані між собою та існують у вигляді співтовариств зі створенням природніх асоціацій, що здійснюють кругообіг речовин у природі. Тому останніми роками розширюється застосування змішаних культур, оскільки у порівнянні з монокультурами вони мають низку переваг: здатність утилізувати складні субстрати, які найчастіше непридатні для монокультур, підвищені продуктивність і здатність до біотрансформації органічних речовин, стійкість до впливу навколишнього середовища тощо (Безуглий М. та ін., 2012).

Виробництво комплексних силосних заквасок ґрунтується зазвичай на роздільному культивуванні бактерій, що входять до їхнього складу, з подальшим поєднанням їх у певних співвідношеннях. Прикладом може бути консорціум штамів бактерій *Lactobacillus plantarum* БИМ В-404 Д, *Lactobacillus plantarum* БИМ В-405 Д, *Lactobacillus plantarum* БИМ В-551 Д, *Lactobacillus plantarum* БИМ В-552 Д, що використовується для силосування рослинної сировини (патент ВУ 17637 С1 2013.10.30), закваска «КАЗБІОСІЛ» для силосування рослинних кормів (патент КЗ 24804 А 4 2011.11.15), технологія виготовлення біоконсерванта на основі культур МКБ та пропіоновокислих бактерій (Карташов М. А. та ін., 2016). Усі ці біологічні консерванти не є монокомпонентними, технологія їх виробництва передбачає окреме культивування бактерій. Один з основних напрямів в удосконаленні технологічних процесів виготовлення силосних заквасок — це створення універсальних, більш дешевих, простих у виготовленні малокомпонентних живильних середовищ. Їхній інгредієнтний склад має відповідати ростовим вимогам певного штаму, виду й роду мікроорганізму. Проте доцільним також є пошук живильних середовищ для сумісного куль-

тивування бактерій, особливо, якщо вони належать до різних таксономічних груп, що дасть змогу підвищити ефективність технологічних підходів для отримання комплексних бактеріальних консервантів.

УДОСКОНАЛЕНА ТЕХНОЛОГІЯ СТВОРЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ СИЛОСНОЇ ЗАКВАСКИ НА ОСНОВІ ПЕРСПЕКТИВНИХ ШТАМІВ *BACILLUS SUBTILIS* І *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Технологія виробництва двокомпонентної силосної закваски БПС-Л, розробленої Інститутом сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва (ІСМАВ НААН), також передбачає окремий спосіб культивування бактерій із наступним поєднанням бактеріальної маси. Особливістю закваски є те, що вона у своєму складі містить штами пробіотичних мікроорганізмів *B. subtilis* та *L. plantarum*, що належать до різних таксономічних груп (патенти України № 115938, 10.01.2018 та № 61176, 17.11.2003). Бактерії штаму *B. subtilis* 44-р належать до групи факультативних аеробів, тому швидко поглинають кисень у силосній масі, створюючи сприятливі умови для розвитку МКБ. Маючи схильність до анаеробіозу, вони зброджують рослинні цукри за гомоферментативним типом молочнокислого бродіння. На відміну від МКБ, бактерії штаму *B. subtilis* 44-р утворюють екзофермент амілазу, за рахунок дії якої утворюються додаткові органічні кислоти. Бактерії штаму *B. subtilis* 44-р володіють антагоністичною активністю до низки патогенних та умовно-патогенних бактерій (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*), а також мікроміцетів (родів *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Gliocladium*, *Mucor*) та є толерантними до вмісту 10 % натрію хлориду.

Штам *L. plantarum* КТ-Л18/1 розщеплює рослинні цукри за переважно гомоферментативним типом молочнокислого бродіння, проявляє антагоністичну активність до умовно-патогенних бакте-

пій (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*) і виражену антифунгальну активність до мікроміцетів роду *Penicillium*. Антагонізм цього штаму МКБ до мікроміцетів, найімовірніше, пов'язаний із синтезом бактеріоцинів, таких як лактолін, оскільки молочнокислі бактерії виду *L. plantarum* синтезують переважно молочну кислоту, яка не має антифунгальної дії, є осмотолерантними: добре ростуть у присутності 6,5 % натрію хлориду.

В ІСМАВ НААН проведено дослідження щодо удосконалення технології виробництва двокомпонентної силосної закваски. Дослідження були спрямовані на розробку та випробування живильного середовища для сумісного культивування *B. subtilis*, штам 44-р та *L. plantarum*, штам КТ-L18/1, підбору оптимальних режимів культивування. Складне живильне середовище, що було розроблено, містило екстракт висівок (10,0 г/л), дріжджовий екстракт (6,0 г/л), мелясу (20,0 г/л), аскорбінову кислоту (0,5 г/л), сольовий розчин (5,0 г/л), твін-80 (6,0 г/л), крейду (5,0 г/л), рН 6,2–6,6. Були встановлені оптимальні умови росту за сумісного культивування: температурний режим коливався у межах 35–37 °С, показник рН — 7,0–7,5. Інокуляцію культур мікроорганізмів вносили в концентрації 5 % від об'єму середовища з концентрацією мікробних клітин 10^7 КУО/мл. У дослідних варіантах для сумісного культивування штамами *L. plantarum* КТ-L18/1 і *B. subtilis* 44-р вносили у співвідношеннях 3 : 1 та 7 : 1. У контрольних варіантах проводили культивування монокультур.

У таблиці 1 наведені показники росту штамів за їх сумісного культивування на оптимізованому живильному середовищі (ОЖС). Визначення титрів росту штамів *B. subtilis* 44-р та *L. plantarum* КТ-L18/1 на ОЖС проводили загальновідомими мікробіологічними методами: суспензії молочнокислих бактерій висівали на середо-

Таблиця 1 — Показники росту штамів *B. subtilis* 44-р і *L. plantarum* КТ-L18/1 на ОЖС у монокультурі та за їх сумісного культивування, n = 3

Штам(и)	рН	оптична густина, (од.)	титрована кислотність (Т°)	титр <i>L. plantarum</i> КТ-L18/1		титр <i>B. subtilis</i> 44-р	
				КУО/мл	Ig КУО/мл	КУО/мл	Ig КУО/мл
<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 (контроль)	4,0 ± 0,00	4,8 ± 0,16	40,9 ± 0,2	(4,6 ± 0,3) × 10 ⁹	9,60 ± 0,03	—	—
<i>Bacillus subtilis</i> 44-р (контроль)	4,2 ± 0,00	20,2 ± 0,09	14,8 ± 0,2	—	—	(6,3 ± 0,2) × 10 ⁹	9,70 ± 0,01
Сумісне культивування	4,3 ± 0,03	5,5 ± 0,02	31,6 ± 0,4	(3,6 ± 0,3) × 10 ⁹	9,50 ± 0,20	(2,4 ± 0,2) × 10 ⁹	9,37 ± 0,03
Сумісне культивування	4,2 ± 0,03	5,7 ± 0,02	43,0 ± 0,3	(6,6 ± 0,8) × 10 ⁹	9,80 ± 0,05	(1,4 ± 0,05) × 10 ⁹	9,14 ± 0,01

вище MRS, а суспензії бактерій *B. subtilis* на середовище МПА з подальшим підрахунком за формулою. Мікробіологічні показники титру переведені в десятичні логарифми.

На ОЖС ріст штамів у монокультурах як *L. plantarum* КТ-L18/1, так і *B. subtilis* 44-р відзначався на рівні $9,6 \pm 0,03$ та $9,7 \pm 0,01$ lg КУО/мл. При сумісному культивуванні на цьому середовищі титр МКБ у варіанті із співвідношенням 3 : 1 був у 1,5 раза більшим, ніж титр *B. subtilis* 44-р, а за співвідношенням 7 : 1 титр *L. plantarum* КТ-L18/1 переважав титр *B. subtilis* 44-р вже у 6,6 раза. Проте, якщо врахувати, що доза інокуляції молочнокислих бактерій у монокультурі була більшою, то можна сказати про стимуляцію росту *L. plantarum* КТ-L18/1 культурою *B. subtilis* 44-р (зростання чисельності життєздатних клітин молочнокислих бактерій у монокультурі відбулося у 9 разів, а у змішаній — у 15 разів).

У таблиці 2 показано динаміку зростання життєздатних клітин бактерій *B. subtilis* 44-р та *L. plantarum* КТ-L18/1 на ОЖС у монокультурі й за сумісного культивування на 24-ту та 48-му годину культивування. Швидкість накопичення бактерій *B. subtilis* 44-р на ОЖС у монокультурах як на 24-ту, так і на 48-му годину була в 1,2 та 1,4 раза вищою, ніж *L. plantarum* КТ-L18/1. За сумісного культивування при співвідношенні бактерій та бацил 3 : 6 швидкість накопичення *B. subtilis* 44-р на 24-ту годину була у 2,5 раза вищою від *L. plantarum* КТ-L18/1, а вже на 48-му годину швидкість накопичення молочнокислих бактерій переважала бацили у 1,5 раза. При співвідношенні 7 : 1 на 24-ту годину ситуація була подібною, проте швидкість накопичення бактерій *L. plantarum* КТ-L18/1 на 48-му годину була вищою від *B. subtilis* 44-р вже практично у 5 разів. Отже, за сумісного культивування, особливо за збільшення співвідношення молочнокислих бактерій до *B. subtilis* 44-р, активізується ріст *L. plantarum* КТ-L18/1, що дає можливість отримати змішані культури на цьому середовищі. Показник кислотоутво-

Таблиця 2 — Динаміка росту штамів *B. subtilis* 44-р і *L. plantarum* КТ-L18/1 на ОЖС у монокультурі та за сумісного культивування, п = 3

Штам(и)	титр <i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 на 24-ту годину		титр <i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 на 48-му годину		титр <i>B. subtilis</i> 44-р на 24-ту годину		титр <i>B. subtilis</i> 44-р на 48-му годину			
	КУО/мл	lg КУО/мл	КУО/мл	lg КУО/мл	КУО/мл	lg КУО/мл	КУО/мл	lg КУО/мл		
<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 (контроль)	$(6,2 \pm 0,3) \times 10^8$	8,79 ± 0,01	$(4,6 \pm 0,3) \times 10^9$	9,6 ± 0,03	н/д	н/д	н/д	н/д		
<i>Bacillus subtilis</i> 44-р (контроль)	н/д	н/д	н/д	н/д	$(7,2 \pm 0,2) \times 10^8$	8,8 ± 0,01	$(6,3 \pm 0,2) \times 10^9$	9,7 ± 0,01		
Сумісне культивування	<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 : <i>Bacillus subtilis</i> 44-р (співвідношення 3 : 1)		$(2,4 \pm 0,4) \times 10^8$	8,3 ± 0,06	$(3,6 \pm 0,3) \times 10^9$	9,5 ± 0,20	$(6,2 \pm 0,1) \times 10^8$	8,7 ± 0,01	$(2,4 \pm 0,2) \times 10^9$	9,7 ± 0,06
	<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 : <i>Bacillus subtilis</i> 44-р (співвідношення 7 : 1)		$(2,4 \pm 0,4) \times 10^8$	8,7 ± 0,06	$(6,6 \pm 0,8) \times 10^9$	9,8 ± 0,05	$(5,3 \pm 0,2) \times 10^8$	8,7 ± 0,01	$(1,4 \pm 0,05) \times 10^9$	9,1 ± 0,01

рення змішаної культури, вирощеної на ОЖС, за визначенням по Тернеру, становив $29,3 \pm 3,0$ Т° проти кислотоутворювальної здатності монокультур *L. plantarum* КТ-L18/1 і *B. subtilis* 44-р відповідно $40,1 \pm 2,0$ Т° та $14,2 \pm 2,0$ Т°. У таблиці 3 представлені результати досліджень антагоністичної активності (АА) штамів до умовно патогенних мікроорганізмів (УПМ) у порівняльному аспекті за культивування на елективних для досліджуваних штамів мікроорганізмів середовищах (МПБ, МРС) та ОЖС. АА бактерій визначали дифузним методом агарових блоків. За культивування на ОЖС штами *B. subtilis* 44-р та *L. plantarum* КТ-L18/1 залежно від виду УПМ проявили від помірної до сильної АА (зони затримки росту УПМ становили в межах від 11 мм до 21 мм).

Таблиця 3 — Показники АА штамів *B. subtilis* 44-р і *L. plantarum* КТ-L18/1 монокультур та за їх сумісного культивування на ОЖС

Тест-штами УПМ	Зона затримки росту тест-штамів, мм				
	<i>B. subtilis</i> 44-р		<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1		Сумісна культура
	МПБ	ОЖС	МРС	ОЖС	ОЖС
<i>S. typhimurium</i> , № 89	$16,0 \pm 3,0$	$21,5 \pm 0,3$	$11,3 \pm 1,8$	$14,3 \pm 1,5$	$21,0 \pm 3,0$
<i>Pr. mirabilis</i> , № 31773	$8,0 \pm 1,4$	$32,2 \pm 0,2$	$19,6 \pm 1,2$	$14,6 \pm 0,9$	$19,0 \pm 2,0$
<i>Pr. vulgaris</i> , № 13	$9,1 \pm 2,5$	$15,0 \pm 2,2$	$13,0 \pm 2,0$	$22,6 \pm 0,4$	$11,0 \pm 0,8$
<i>Ps. aeruginosa</i> , АТСС-27853	$5,4 \pm 0,9$	$21,3 \pm 0,5$	$17,2 \pm 0,6$	$16,3 \pm 1,4$	$21,0 \pm 2,6$
<i>St. aureus</i> , № 906	$14,0 \pm 2,0$	$19,6 \pm 0,3$	$11,0 \pm 0,5$	$18,3 \pm 0,3$	$20,6 \pm 3,4$

Ефективність застосування двокомпонентної силосної закваски, виготовленої за технологією сумісного культивування МКБ і

бацил, для силосування рослин випробовували в лабораторних дослідах. Зелена маса кукурудзи з фермерського господарства була зібрана у фазі фізіологічної стиглості, подрібнена й розкладена тонким шаром на поверхні. Інокуляцію бактеріальних суспензій проводили із розрахунку 1×10^5 КУО на 1 г сировини. Зелену масу кукурудзи вологістю до 72 % закладали для силосування у поліетиленові пакети із застіркою Zip-Lock по 0,5 кг зі створенням оптимальних анаеробних умов.

Важливим фактором, що впливає на якість і збереженість силосу, є рівень рН, накопичення та співвідношення органічних кислот у кормі. У варіантах силосу з інокуляцією рН на 60-ту добу ферментації була нижчою, ніж у контролі без інокуляції (табл. 4). Водночас максимальна загальна кількість органічних кислот ($3,5 \pm 0,08$ %), збільшення на 10,2 % сухої речовини, як порівняти з контрольним варіантом, на 10 % вмісту молочної кислоти та на 3 % сухих речовин, як порівняти комплексною силосною закваскою, виготовленою за технологією роздільного культивування бактерій, була відзначена у варіанті з інокуляцією бактерій *L. plantarum* КТ-L18/1 і *B. subtilis* 44-р за їх сумісного культивування. Одержані результати були підтверджені у виробничих умовах в одному з господарств Чернігівської області.

Отже, виявлено активний ріст штамів *L. plantarum* КТ-L18/1 і *B. subtilis* 44-р на ОЖС, вивчені їхні ростові характеристики за сумісного культивування, встановлено збереженість кислотоутворювальної та антагоністичної активностей. Показана ефективність застосування двокомпонентної силосної закваски, виготовленої за технологією сумісного культивування МКБ та бацил, для силосування зеленої маси кукурудзи.

На основі одержаних результатів була розроблена удосконалена технологічна схема виготовлення двокомпонентної силосної закваски, яка складалася з кількох етапів.

Таблиця 4 — Рівень рН і вміст органічних кислот у кукурудзяному силосі (%)

Варіанти інюкуляції	Суша речовина	рН	Всього кислот	Вільні кислоти			Співвідношення		
				Молочна	Оцтова	Масляна	Молочна	Оцтова	Масляна
Без інюкуляції (контроль)	24,39 ± 0,06	4,31 ± 0,03	2,7 ± 0,03	1,87 ± 0,05	0,85 ± 0,03	0,010 ± 0,005	69,3 ± 1,2	31,2 ± 1,15	0,3 ± 0,2
<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 (контроль 1)	25,80 ± 0,03	4,16 ± 0,03	3,1 ± 0,03	2,24 ± 0,04	0,81 ± 0,01	0,00	73,1 ± 0,6	26,5 ± 0,77	0,00
<i>B. subtilis</i> 44-р (контроль 2)	25,95 ± 0,06	4,2 ± 0,02	3,2 ± 0,03	2,24 ± 0,02	0,94 ± 0,02	0,00	70,9 ± 0,95	28,4 ± 1,0	0,00
Змішана культура <i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 : <i>B. subtilis</i> 44-р (контроль 3)	26,10 ± 0,03	4,16 ± 0,03	3,2 ± 0,09	2,39 ± 0,05	0,78 ± 0,04	0,00	75,3 ± 0,8	24,5 ± 0,8	0,00
Культура сумісного культивування <i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 : <i>B. subtilis</i> 44-р	26,88 ± 0,08	3,9 ± 0,03	3,5 ± 0,08	2,64 ± 0,02	0,87 ± 0,02	0,00	75,1 ± 0,6	24,7 ± 0,6	0,00

Приготування живильних середовищ.

Для накопичення біомаси штаму мікроорганізмів *B. subtilis* 44-р використовують живильне середовище на основі кукурудзяного екстракту, меляси, крохмалю картопляного або кукурудзяного, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, K_2HPO_4 , MgSO_4 , за рН 7,0–7,2, знезараження дробною стерилізацією 30 хв. при 1 кгс/см².

Для накопичення біомаси штаму мікроорганізмів *L. plantarum* КТ-L18/1 використовують живильне середовище на основі дріжджового екстракту, м'ясного екстракту, пептону, твіну-80, глюкози, натрію оцтовокислого, амонію лимоннокислого, K_2HPO_4 , MgSO_4 , MnSO_4 за рН 6,2–6,6. Живильне середовище стерилізують дробно 30 хв. при 1 кгс/см².

Підготовка посівного матеріалу.

Культуру *B. subtilis* 44-р вирощують у колбах ємністю 1000 см³, що містять 400 см³ у зазначеному вище синтетичному середовищі, за 37 °С у стаціонарних умовах 3–8 діб.

Культуру *L. plantarum* КТ-L18/1 вирощують у колбах ємністю 1000 см³, що містять 400 см³ середовища МРС, за 37 °С у стаціонарних умовах 3–8 діб.

Сумісне культивування робочих культур. Накопичення біомаси культур *B. subtilis* 44-р та *L. plantarum* КТ-L18/1, що входять до складу двокомпонентної силосної закваски, проводять за сумісного культивування на ОЖС на основі екстракту висівку, дріжджового екстракту, меляси, аскорбінової кислоти, MgSO_4 , MnSO_4 , FeSO_4 , твіну-80, крейди. Технологія передбачає внесення у ферментер із ОЖС двох культур — *L. plantarum* КТ-L18/1 і *B. subtilis* 44-р — у співвідношенні 7 : 1 із розрахунку 5,0 % до об'єму середовища. Термін культивування — 2 доби.

Контроль якості. Контроль якості проводять за такими показниками, як чистота посівного матеріалу, кількості життєздатних клітин мікроорганізмів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. Москва : Наука, 1975. 389 с.
2. McDonald P., Henderson A. R., Heron S. J. E. The biochemistry of silage. London : Chalcombe Publications, 1991. P. 340.
3. Ben-Dov E., Shapiro O. H., Siboni N., Kushmaro A. Advantage of using inosine at the 3' termini of 16S rRNA gene universal primers for the study of microbial diversity. *Appl Environ Microbiol.* 2006. Vol. 72. P. 6902–6906. <https://doi.org/10.1128/AEM.00849-06>
4. O'Brien M., O'Kiely P., Forristal P. D., Fuller H. T. Quantification and identification of fungal propagules in well-managed baled grass silage and in normal on-farm produced bales. *Anim Feed Sci Technol.* 2007. Vol. 132. P. 283–297. <https://doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.04.013>
5. Wróbel M., Śliwakowski W., Kowalczyk P., Kramkowski K., Dobrzyński J. Bioremediation of Heavy Metals by the Genus Bacillus. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 2023. Vol. 20, № 6. 4964. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064964>
6. Storm Ida ML Drejer, Sørensen Jens Laurids, Rasmussen Rie Romme. Nielsen Kristian Fog and Thrane Ulf. Mycotoxins in silage. *Stewart Postharvest Review.* 2008. Vol. 6, № 4. P. 1–11.
7. Muck Richard E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia.* (supl. Especial). 2010. Vol. 39. P. 183–191.
8. Woolford M. K. The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* 1990. Vol. 68. P. 101–116.
9. Gallasz E. Liefficacite des agents conservateurs d'ensilage. *Terre romandi.* 1987. An. 21, № 17. P. 29–31.
10. Davies David R., Fychan Rhun, Jones Raymond. Aerobic deterioration of silage: causes and controls. Nutritional biotechnology in the

feed and food industries: Proceedings of Alltech's 23rd Annual Symposium. The new energy crisis: food, feed or fuel. 2007. P. 227–238.

11. Карташов М. А., Воинова Т. М., Сергеева А. В., Стацюк Н. В., Роговский С. В., Гребенева Я. О., Дурникин Д. А. Разработка сухого бактериального препарата для силосования с оптимальным соотношением молочнокислых и пропионовокислых культур. *Біологічний вісник МДПУ ім. Богдана Хмельницького.* 2016. Т. 6, № 3. С. 219–228. <https://dx.doi.org/10.15421/201689>

12. Безуглий М., Головка В., Бісюк І. Ветеринарна біотехнологія: підручник. Харків : Гімназія, 2012. 464 с.

Наукове видання

Удосконалена технологія створення комплексної
силосної закваски на основі перспективних штамів
Bacillus subtilis і *Lactobacillus plantarum*

(науково-практичні рекомендації)

Н. О. Кравченко О. В. Крапивний
О. В. Тертична Т. І. Кошова
О. М. Дмитрук Н. М. Фурс
С. Ф. Примаченко

Комп'ютерна верстка та макетування *В. О. Агєєв*
Коректура *О. В. Ільчук*

Підписано до друку 19.12.2025 р. Формат 60×84/16.
Папір офсетний. Друк цифровий. Гарнітура Times.
Умовн. друк. арк. 1,16. Обл.-вид. арк. 0,69.
Зам. № 25283-08. Наклад 50 прим.

Видавець та виготовлювач: ФОП Агєєв В. О.
Свід. про внесення до держ. реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія ДК, № 8282 від 02.05.2025.
Запис в єдиному держ. реєстрі № 201035000000182294 від 01.08.2022.
Україна, 14005, м. Чернігів, вул. В'ячеслава Чорновола, 4, к. 15.
<http://siver-druk.com.ua> e-mail: siverdruk11@gmail.com