

**ПИТАНИЕ**

УДК 636.085.7

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.1.79-90

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСТОЧНИКИ САХАРА, АММИАКА И МАСЛЯНОЙ  
КИСЛОТЫ ПРИ ПРОВАЯЛИВАНИИ, СЕНАЖИРОВАНИИ И СИЛОСОВАНИИ ЛЮЦЕРНЫ**

Победнов Ю.А., Мамаев А.А., Широкомяд М.С., Осипян Б.А.

*ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса, Луговая Московкой обл., Российская Федерация*

Ценность люцерны в кормопроизводстве для крупного рогатого скота заключается в высоком содержании сырого протеина и структурированности клетчатки, но при подготовке сенажа и силоса из люцерны необходимо учитывать особенности биохимических процессов, протекающих в провяленной зелёной массе этой культуры. Цель работы – выявить источники образования сахара, аммиака и масляной кислоты при провяливание люцерны в прокосах и определить особенности этих процессов при силосовании люцерны с различным содержанием сухого вещества. Установили, что обезвоживание люцерны в прокосах на солнце приводит к повышению содержания сахара в СВ, которое достигает максимальных значений при провяливание на сенаж. Это происходит вследствие замедления оттока образовавшегося при фотосинтезе сахара в другие органы растений, которые прекращают рост вследствие обезвоживания. Одновременно в люцерне возрастает накопление яблочной и лимонной кислот, указывающее на перестройку дыхательного аппарата растений для функционирования в условиях прогрессирующей гипоксии, что обеспечивает поддержание фотосинтеза и приводит к мобилизации запасных питательных веществ. В результате в первые 2 суток сенажирования и силосования в СВ провяленной массы наблюдается дальнейшее увеличение содержания сахара, связанное с гидролизом гемицеллюлоз растительными ферментами. При глубоком обезвоживании из-за гипоксии и связанного с ней нарушения жирового обмена в СВ люцерны образуется 0,03-0,04% масляной кислоты, содержание которой в начале сенажирования возрастает до 0,14-0,15%, а затем стабилизируется и остаётся постоянным в течение всего срока хранения корма. При слабом провяливание люцерны ( $\leq 33\%$  СВ) масляная кислота в зелёной массе не образуется, а её высокое содержание в корме связано с жизнедеятельностью клостридий на фоне слабого подкисления. Накопление масляной кислоты тем выше, чем в меньшей степени проявлена люцерна. При провяливание, вследствие дезаминирования образовавшихся при протеолизе аминокислот, в СВ люцерны образуется и 0,02-0,04% аммиака, дальнейшее накопление которого при её консервировании зависит от степени обезвоживания растений. При сенажировании, накопление аммиака в СВ люцерны в количестве 0,06-0,08% происходит лишь в течение первой недели, и оно обусловлено, в основном, активностью растительных энзимов. При силосовании слабо провяленной люцерны интенсивность протеолиза аналогична той, что отмечается и в сенажируемой массе. С возникновением в корме маслянокислого брожения, накопление аммиака возрастает в 4,1-5,5 раза, обуславливая получение нестабильного при хранении силоса. При силосовании свежескошенной люцерны интенсивность протеолиза возрастает в 2,6-3,5 раза, при этом активное развитие нежелательной микрофлоры обуславливает порчу корма.

*Ключевые слова: люцерна, степень провяливание, протеолиз, аммиак, фотосинтез, органические кислоты, ферменты, сахар*

*Проблемы биологии продуктивных животных, 2020, 1: 79-90*

**Введение**

Особенности образования сахара и аммиака при провяливание и силосовании кормовых трав начали изучать ещё в 30-х годах прошлого столетия. Было сделано заключение, что причиной новообразования сахара служит гидролиз содержащегося в растениях крахмала, а накопления аммиака – расщепление белка с последующим дезаминированием образовавшихся аминокислот (Зубрилин, 1938). В отличие от крахмала, который, в соответствии с общепринятым в нашей стране

представлением, расщепляется под влиянием содержащихся в растениях ферментов, протеолиз может осуществляться под действием растительных энзимов и нежелательных микроорганизмов с образованием аминокислот и их последующим дезаминированием. Энзимы, как правило, проявляют свою активность лишь в начальной фазе силосования, когда рН корма ещё находится на высоком уровне. Продолжительность этой фазы неодинакова у разных растений и во многом определяется их биологическими особенностями и способностью к подкислению, при этом величина рН, соответствующая инактивации протеолитических ферментов, неодинакова у разных растений. Так, значения рН для инактивирования протеазы люцерны находятся ниже 2,9, тогда как для протеазы клевера лугового оно варьирует в пределах 3,6-3,8 (Зубрилин, Николаева, 1940; McKersie, 1983). Из этого можно заключить, что быстрое подкисление люцерны, например при использовании жидких органических кислот или препаратов молочнокислых бактерий, может не только не ослабить, а, наоборот, даже усилить процесс протеолиза. Чтобы не допустить этого, ускорять подкисление люцерны указанными препаратами рекомендуют после её провяливания до содержания сухого вещества  $\geq 40,0\%$ .

Согласно имеющимся данным (Moran, Owen, 1996), если при обычном силосовании люцерны с содержанием сухого вещества (СВ) 22,6; 38,1 и 41,1% доля азота аммиака от общего содержания азота корма снижается с 17,2 до 12,7 и 11,2%, то с молочнокислой закваской *Ecosyl* – с 14,5 до 9,4 и 7,6%. По мнению болгарских исследователей, повышение содержания СВ в силосуемой люцерне и ускорение её подкисления в большей степени ограничивают дезаминирование аминокислот до аммиака, нежели протеолиз, как таковой (Dimitrova, 1977). Повышение содержания СВ до указанного предела важно и потому, что позволяет получить стабильный при хранении корм уже при рН около 4,75 (Вайсбах, 2012). Для люцерны, которая из-за очень высокой буферности медленно подкисляется даже под влиянием препаратов молочнокислых бактерий (Победнов и др., 2018), это имеет принципиальное значение. Разумеется, что это справедливо лишь в том случае, если развитие клостридий является основным источником накопления масляной кислоты в корме. В то же время полученные в последние годы данные указывают на то, что при силосовании люцерны, провяленной до содержания СВ около 40%, с молочнокислыми заквасками основное количество масляной кислоты накапливается в тот период, когда корм уже подкисляется до рН, исключающего развитие клостридий (Победнов и др., 2019), а её образование не сопровождается увеличением содержания аммиака в корме. Это свидетельствует о том, что в образовании масляной кислоты, в основном, участвуют сахаролитические виды бактерий, которые не используют содержащийся в массе белок, а значит, не способствуют появлению в корме вредных для животных соединений. Данное положение уже нашло экспериментальное подтверждение (Йылдырым, 2017).

Следует прояснить и механизм образования масляной кислоты при сенажировании глубоко провяленной массы люцерны. Согласно имеющимся данным, основное количество масляной кислоты накапливается в первые 2-3 суток хранения корма без доступа воздуха, что не может быть объяснено активностью нежелательной микрофлоры (Победнов и др., 2019).

Цель данной работы – выявить источники образования сахара, аммиака и масляной кислоты при провяливания люцерны в прокосах и определить особенности этих процессов при силосовании люцерны с различным содержанием сухого вещества.

### **Материал и методы**

Сырьём для силосования и сенажирования служила люцерна изменчивая - *Medicago sativa L. nothosubsp. varia* (Martyn) Arcang, сорт Таисия, убранная в фазу бутонизации. Опыты проводили на базе ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса». Для изучения происходящих при обезвоживании процессов, люцерну в течение 7 ч провяливали в прокосах до содержания СВ 47,12%, затем свежескошенную и провяленную массу анализировали на содержание аммиака, сахара, органических кислот (молочной, уксусной, масляной, муравьиной, пропионовой, янтарной, яблочной, лимонной, винной и щавелевой), а также регистрировали рН. Динамику рН, аммиака, сахара и кислот брожения изучали при консервировании люцерны, провяленной до содержания СВ 47,12 и 33,19% в 0,5 л лабораторных сосудах обычным способом и с внесением толуола, который устраняет микробиологические процессы, не влияя отрицательно на активность ферментов (Зубрилин и др., 1934). Чтобы убедиться в том, что толуол устраняет все микробиологические процессы, свежескошенную люцерну силосовали обычным

способом и с добавкой толуола в сосудах, оснащённых устройствами для учёта выделившихся при силосовании газов. О подавлении активности бактерий судили по отсутствию выделения газов в течение всего срока хранения корма в анаэробных условиях. Сенаж и силос из проявленной массы люцерны анализировали через 0,2,7,14 и 30 сут. хранения. Содержание СВ в зелёной массе и полученном корме определяли путём высушивания навесок при температуре 105<sup>0</sup>С до постоянного веса, сахара – по Бертрану, аммиака – по Лонги, рН – с помощью потенциометра И-500, органических кислот – методом капиллярного электрофореза.

### Результаты и обсуждения

Проявление люцерны в течение 7 ч в прокосах до содержания СВ 47,12% способствовало заметному увеличению содержания сахара и органических кислот в сухом веществе зелёной массы, прежде всего - яблочной и лимонной (P<0,05) (табл. 1). В проявленной массе в небольшом количестве появлялась и масляная кислота.

Таблица 1. Биохимические показатели свежескошенной и проявленной люцерны (M±m, n=3)

Показатели	Люцерна	
	свежескошенная	проявленная
Содержание сухого вещества, %	23,91±0,23	47,12±0,21*
Содержание в сухом веществе, %		
аммиака	0,02±0,00	0,02±0,01
сахара	3,64±0,07	4,66±0,02*
органических кислот <sup>+</sup> :		
молочной	0,05±0,01	0,07±0,03
укусной	0,00±0,00	0,01±0,01
масляной	0,00±0,00	0,03±0,01*
яблочной	0,46±0,08	0,96±0,13*
лимонной	0,05±0,01	0,19±0,02*
рН	5,67±0,01	5,97±0,01*

Примечание: \*P<0,05 по t-критерию при сравнении со свежескошенной массой; + других органических кислот не обнаружено.

Значительное (в 1,3 раза) увеличение содержания сахара в СВ проявленной люцерны имеет важное практическое значение, так как способствует улучшению её сбраживаемости. Как уже отмечалось, многие отечественные исследователи до сих пор считают это результатом гидролиза содержащегося в растениях крахмала. Однако против такого утверждения свидетельствует уже то, что увеличение содержания сахара отмечается при обезвоживании трав в прокосах, то есть в условиях инсоляции, и не наблюдается при проявлении растений в валках, куда солнечный свет не проникает (Мак-Дональд, 1985). Из этого можно заключить, что причиной увеличения содержания сахара является фотосинтез, продолжающийся и в скошенной массе при её кратковременном проявлении на солнце. На вероятность этого процесса уже давно указывается в справочной литературе (Зафрен С.Я. Технология приготовления кормов. М.: Колос, 1977; Нэш М. Дж. Консервирование и хранение сельскохозяйственных продуктов. М.: Колос, 1981).

В то же время физиологи растений утверждают, что дыхание растений в значительно большей степени устойчиво к обезвоживанию, чем фотосинтез. Если последний замедляется уже при увеличении водного дефицита в травах свыше 15-20% (Якушкина и др., 2004), то дыхание осуществляется на довольно высоком уровне и при проявлении трав до «сенажной» влажности (Жолкевич, 1968). На основании этого они считают маловероятным, что замедленный фотосинтез на фоне интенсивного дыхания может привести к столь заметному увеличению содержания сахара в проявленной массе. Было установлено, что при обезвоживании последовательность нарушения основных процессов, определяющих баланс веществ у растений, такова: ростовые процессы → фотосинтез → дыхание (Куперман, Хитрово, 1977). То есть, потеря растениями влаги в первую очередь подавляет ростовые процессы. Это приводит к тому, что зелёная масса бывает не в состоянии освоить образующиеся при фотосинтезе углеводы. В данном случае «предложение превышает спрос», что обусловлено, прежде

всего, задержкой оттока образовавшегося при фотосинтезе сахара из листьев в другие органы растений, прекратившие рост.

Данное явление носит исключительно защитный характер и имеет важнейшее значение при выращивании растений в условиях засухи. В этом случае, несмотря на усиливающуюся напряжённость в обеспечении растений водой, корневая система, в первую очередь, её растущие зоны, ещё находится в относительно благоприятных условиях и использует избыток углеводов, образовавшихся в зелёной массе, на усиленный рост, приводящий к освоению более глубоких, а, следовательно, и более обводнённых пластов почвы.

В данном эксперименте, наряду с сахаром, в СВ проявленной люцерны существенно возросло накопление яблочной (малата) и лимонной (цитрата) кислот, что свидетельствует о перестройке дыхательного аппарата растений для работы в условиях обезвоживания. Двойной путь утилизации малата с помощью малатдегидраз и малик-энзимов существенно уменьшает зависимость растительного организма от гликолиза при образовании энергии и синтезе углеводов (Пкнейру, 1991; Епринцев, 1995; Епринцев, Федорина, 2007), позволяя получать лимонную кислоту непосредственно из малата. Иными словами, в этих условиях цикл Кребса работает по укороченному пути, что обеспечивает его нормальное функционирование в условиях гипоксии. Малат образуется в результате гликолитического распада крахмала, который на свету очень быстро синтезируется из сахарозы, образующейся при фотосинтезе, и откладывается в хлоропластах листьев (Хелдт, 2014). Это, так называемый, ассимиляционный или транзитный крахмал, который быстро расходуется растениями для дыхания и биосинтеза других соединений (Бухарина И.Л., Любимова О.В. Биохимия растений: уч. пособие. Ижевск: ВПО Ижевская ГСХА, 2009).

В то же время, проявленная на сенаж люцерны уже страдает от недостатка кислорода. На это указывает образование масляной кислоты, которая, хотя и в небольшом количестве, но образуется в сухом веществе растений. В отличие от процессов спиртового или молочнокислого брожения, которые при недостатке кислорода в той или иной степени могут протекать в живых растениях, способность растительных клеток осуществлять маслянокислое брожение экспериментально не доказана (Рубин, Ладыгина, 1974). В то же время известно, что дыхание представляет собой связующее звено в процессах обмена углеводов и жиров. Более того, именно жир, который, в отличие от углеводов, не предназначен для транспортировки в другие органы растений, а служит непосредственным источником энергии для фотосинтезирующих клеток (Хелдт, 2014) и может служить причиной образования масляной кислоты при его окислении в условиях дефицита кислорода. К сожалению, негативная сторона окисления жирных кислот в условиях прогрессирующей гипоксии к настоящему времени наиболее полно изучена не на растительных, а на животных организмах. Установлено, что она связана со значительным возрастанием уровня НАДН в митохондриях, тормозящего окисление НАД-зависимых субстратов (Маевский, Гришина, 2017). В результате происходит избыточное накопление ацетил-КоА (продукта  $\beta$ -окисления жирных кислот), дальнейшее окисление которого затруднено по причине того, что прирост НАДН вызывает быстрое восстановление оксалоацетата до малата. В результате ацетил-КоА остаётся без партнёра, необходимого для входа в цикл Кребса. Это и приводит к тому, что вместо полного окисления ацетил-КоА становится источником кетоновых тел, жирных кислот и холестерина.

При разработке режимов проявливания люцерны важным вопросом является предотвращение накопления большого количества аммиака, поскольку это, даже при связывании аммиака органическими кислотами, приводит к увеличению буферной ёмкости силосуемой массы, а следовательно, и к ухудшению её сбраживаемости. Проведенные исследования показали, что при 7 час. проявливании люцерны до «сенажной» влажности содержание аммиака в СВ практически не изменяется. Это также является показателем нормальной жизнедеятельности растений, т.е. свидетельствует о таком состоянии синтетических процессов, при котором аммиак, образовавшийся при дезаминировании аминокислот, расходуется на синтез амидов.

Изучение процессов, происходивших в самом начале сенажирования люцерны, показало, что они имеют некоторое сходство с процессами, возникающими при её проявливании в прокосах (табл. 2). Как и в последнем случае, в первые 2 сут. сенажирования люцерны, проявленной до содержания СВ 47,12%, отмечалось дальнейшее увеличение накопления сахара и яблочной кислоты ( $P < 0,05$ ).

Таблица 2. Биохимические показатели люцернового сенажа по срокам хранения  
(M±m, n=3)

Показатели	Сроки хранения корма, сут.				
	0	2	7	14	30
	Без добавок				
Содержание в СВ, %:					
аммиака	0,02±0,00	0,04±0,01 <sup>1</sup>	0,06±0,00 <sup>2</sup>	0,08±0,01 <sup>3</sup>	0,07±0,01
сахара	4,66±0,02	5,26±0,07 <sup>1</sup>	5,52±0,05 <sup>2</sup>	2,40±0,08 <sup>3</sup>	-
органических кислот <sup>5</sup> :					
молочной	0,07±0,03	0,37±0,05 <sup>1</sup>	1,59±0,10 <sup>2</sup>	5,64±0,14 <sup>3</sup>	5,70±0,09
уксусной	0,01±0,01	0,12±0,02 <sup>1</sup>	0,15±0,01	0,21±0,01 <sup>3</sup>	0,26±0,01 <sup>4</sup>
масляной	0,03±0,01	0,14±0,02 <sup>1</sup>	0,13±0,01	0,14±0,02	0,10±0,00
янтарной	0,00±0,00	0,10±0,01 <sup>1</sup>	0,13±0,01	0,16±0,01	0,17±0,00
яблочной	0,96±0,13	2,72±0,06 <sup>1</sup>	1,59±0,06 <sup>2</sup>	1,59±0,07	1,46±0,04
лимонной	0,19±0,02	0,44±0,03 <sup>1</sup>	0,38±0,02	0,17±0,01 <sup>3</sup>	0,15±0,01
pH	5,97±0,01	5,95±0,01	5,46±0,03 <sup>2</sup>	4,56±0,01	4,60±0,02
	С толуолом				
Содержание в СВ, %:					
аммиака	0,02±0,00	0,04±0,00 <sup>1</sup>	0,06±0,01 <sup>2</sup>	0,06±0,01	0,06±0,01
сахара	4,66±0,02	5,19±0,05 <sup>1</sup>	5,44±0,03 <sup>2</sup>	5,51±0,02	-
органических кислот <sup>5</sup> :					
молочной	0,07±0,03	0,07±0,01	0,05±0,00	0,14±0,02 <sup>3</sup>	0,31±0,01 <sup>4</sup>
уксусной	0,01±0,01	0,00±0,00	0,08±0,02 <sup>2</sup>	0,07±0,01	0,08±0,01
масляной	0,03±0,01	0,15±0,01 <sup>1</sup>	0,13±0,01	0,10±0,01	0,15±0,02
янтарной	0,00±0,00	0,00±0,00	0,09±0,00 <sup>2</sup>	0,08±0,01	0,08±0,01
яблочной	0,96±0,13	3,28±0,08 <sup>1</sup>	2,43±0,16 <sup>2</sup>	1,83±0,11 <sup>3</sup>	2,12±0,14
лимонной	0,19±0,02	0,63±0,02 <sup>1</sup>	0,40±0,02 <sup>2</sup>	0,44±0,03	0,34±0,02
pH	5,97±0,01	5,75±0,02	5,67±0,01 <sup>2</sup>	5,70±0,02	5,63±0,01

Примечания: <sup>1</sup> P≤0,05 по *t*-критерию при сравнении с показателями для зелёной массы, <sup>2</sup> то же по отношению к зелёной массе после ферментации в течение 2 сут. <sup>3</sup>..... в течение 7 сут.; <sup>4</sup>..... в течение 14 сут.; <sup>5</sup> других органических кислот не обнаружено.

Это является доказательством того, что после изолирования проявленной массы от воздуха в ней происходила дальнейшая активизация малатдегидрогеназной системы, ответственной как за сохранение дыхания растительных клеток, так и за мобилизацию запасных питательных веществ. На способность зелёной массы люцерны, проявленной до содержания СВ >40%, осуществлять дыхание в течение первых 2-3-х суток силосования указывают и украинские исследователи (Данченко, 2015).

Последним шагом в обеспечении жизнедеятельности растений в анаэробных условиях послужило накопление янтарной кислоты, содержание которой в СВ люцерны через 7 сут. её сенажирования с толуолом достигло 0,09%. Значение янтарной кислоты заключается не только в том, что энергетическая мощность АТФ, образующейся при её окислении, в сотни раз превосходит все другие системы энергообразования организма (Евглевский и др., 2013), но и в том, что в условиях аноксии дыхательная цепь митохондрий уже не может принять на себя водород ни от какого-либо другого субстрата, кроме янтарной кислоты (сукцината). В данном случае дальнейшую активизацию получает адаптационный механизм, работающий на последних этапах цикла Кребса. Но для его успешной работы в условиях дефицита кислорода требуется субстрат, который с одной стороны служит источником образования янтарной кислоты, а с другой – обеспечивает снабжение растительных клеток кислородом. Таким субстратом и является яблочная кислота, содержание которой по мере ухудшения снабжения растений кислородом (при глубоком проявлении и в самом начале сенажирования) значительно возрастает. В этом случае при обратном течении реакций цикла Кребса из неё сначала образуется фумарат, который восстанавливается до сукцината.

Принципиальное значение имеет то, что восстановление фумарата в сукцинат сопровождается образованием АТФ. Иными словами, обращение реакций в системе «малат – фумарат - сукцинат»

способно обеспечивать окислительное фосфорилирование даже при полном отсутствии кислорода (Слепнева, Хмылова, 2013; Тихонова и др., 2016). В то же время эти реакции приводят к истощению организма, а значит, не могут осуществляться в течение длительного времени. Отмеченный факт определения в СВ люцерны, сенажируемой с толуолом, заметного количества янтарной кислоты, свидетельствует о выходе её из митохондрий, что является показателем создания в сенажируемой массе тяжёлого анаэробноза, ведущего к гибели растений. При нормальном дыхании, отмечающемся при проявлении люцерны и в первые 2 сут. сенажирования, янтарную кислоту мы не обнаруживали. Объясняется это тем, что в этих случаях она образуется исключительно только в митохондриях, в которых моментально и сгорает. Более раннее и более высокое накопление янтарной кислоты, наблюдающееся при обычном сенажировании люцерны, является следствием начавшихся микробиологических процессов.

Как уже отмечалось, в начале сенажирования, вследствие мобилизации запасных питательных веществ, происходит заметное увеличение содержания сахара в СВ люцерны. В то же время трактовка этого явления как следствия гидролиза содержащегося в люцерне крахмала, представляется не убедительной. Прежде всего, это вытекает из того, что люцерна, убранная в ранние фазы вегетации, не содержит запасного крахмала (Мак-Дональд и др., 1970), а транзитный крахмал, как уже отмечалось, быстро расходуется на дыхание и синтез малата. В то же время люцерна, как и большинство других трав, содержит много гемицеллюлоз, которые не только являются материалом для построения клеточных стенок, но и служат запасными питательными веществами (Попов, 1930). На то, что именно гемицеллюлозы, а не крахмал, служат источником новообразования сахара при сенажировании и силосовании проявленных трав, косвенно указывает уже имеющийся экспериментальный материал. Так, в опытах по силосованию трав, свежескошенных и проявленных до содержания СВ 30-37% обычным способом и с добавкой толуола, наблюдали в последнем случае некоторую прибавку содержания сахара в СВ корма (с 7,79 до 8,10 и 8,15 % в силосе из клевера лугового и с 3,65 до 4,10 и 4,14% в силосе из крапивы) (Березовский, Егорова, 1951). Но в ещё большей степени увеличение содержания сахара наблюдали тогда, когда повышение СВ, например в картофельной ботве, достигали не за счёт проявления, а за счёт добавки соломы (Березовский, 1949), которая не имеет даже следов крахмала, зато очень много содержит гемицеллюлоз (Зафрен, 1977). Роль последних в новообразовании сахара при силосовании люцерны, проявленной до содержания СВ 28,9%, окончательно была доказана японскими исследователями (Yahaya et al., 2001), причём активный гидролиз последних отмечался лишь в первые 5 сут. силосования, когда величина рН корма была ещё на высоком уровне. Это же наблюдалось и в наших опытах по сенажированию люцерны обычным способом и с добавкой толуола, когда из-за слабой скорости подкисления существенное ( $P < 0,05$ ) увеличение сахара в СВ сенажа отмечалось лишь в течение первых 7 сут. его хранения в анаэробных условиях.

Прогрессирующая гипоксия, заканчивающаяся созданием анаэробных условий, наблюдающаяся в первые 2 сут. сенажирования люцерны, обусловила и дальнейшее накопление масляной кислоты, содержание которой в СВ массы возросло до 0,14-0,15%. После отмирания растений её содержание стабилизировалось и оставалось постоянным в течение всего последующего срока хранения корма. На то, что образование масляной кислоты в данном случае – это чисто биохимический процесс, а не следствие развития нежелательной микрофлоры, указывает одинаковая её динамика и в сенаже, приготовленном с толуолом. Что касается аммиака, то его накопление в СВ сенажа в количестве 0,06% наблюдалось лишь в первую неделю хранения без доступа воздуха, после чего его содержание стабилизировалось и оставалось постоянным в течение всего срока хранения. Одинаковая динамика аммиака при сенажировании люцерны обычным способом и с внесением толуолом даёт основание для вывода, что основной причиной его образования является протеолиз с дезаминированием образовавшихся аминокислот, тогда как сколько-нибудь значительная роль микрофлоры в этом процессе отчётливо не прослеживается.

При силосовании проявленной до содержания сухого вещества 33,19% люцерны также отмечалось существенное ( $P < 0,05$ ) увеличение содержания сахара в СВ зелёной массы через 2 сут. силосования (табл. 3), что, как и в случае с сенажированием, происходило на фоне высокого значения рН, хотя, в отличие от сенажирования, и на фоне одинакового с исходной проявленной массой люцерны содержания яблочной кислоты.

Таблица 3. Биохимические показатели силоса из провяленной (до 33,2% СВ) люцерны (M±m, n=3)

Показатели	Сроки силосования, сут.				
	0	2	7	14	30
Содержание в СВ, %:					
аммиака	0,04±0,00	0,06±0,003 <sup>1</sup>	0,08±0,00 <sup>2</sup>	0,19±0,01 <sup>3</sup>	0,33±0,01 <sup>4</sup>
сахара	2,43±0,06	3,84±0,03 <sup>1</sup>	3,05±0,10 <sup>2</sup>	0,19±0,00 <sup>3</sup>	0,10±0,00 <sup>4</sup>
органических кислот <sup>5</sup> :					
молочной	0,08±0,01	0,09±0,01	2,85±0,30 <sup>2</sup>	7,33±0,30 <sup>3</sup>	8,67±0,12 <sup>4</sup>
уксусной	0,00±0,00	0,00±0,00	0,49±0,04 <sup>2</sup>	1,13±0,05 <sup>3</sup>	1,59±0,14
масляной	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,13±0,00 <sup>3</sup>	0,25±0,02 <sup>4</sup>
янтарной	0,00±0,00	-	0,00±0,00	0,57±0,02 <sup>3</sup>	0,84±0,05 <sup>4</sup>
яблочной	2,50±0,18	2,42±0,10	1,61±0,13 <sup>2</sup>	1,83±0,11	2,26±0,02
лимонной	0,49±0,04	0,39±0,05	0,45±0,05	0,12±0,01 <sup>3</sup>	0,12±0,01
pH	5,90±0,03	5,97±0,02	5,78±0,02 <sup>2</sup>	5,09±0,03 <sup>3</sup>	5,04±0,03

Примечания: <sup>1</sup> P≤0,05 по t-критерию при сравнении с показателями для зелёной массы, <sup>2</sup> то же по отношению к зелёной массе после ферментации в течение 2 сут. <sup>3</sup> ... в течение 7 сут.; <sup>4</sup> ... в течение 14 сут.; <sup>5</sup> других органических кислот не обнаружено.

Возможно, это было связано с тем, что провяленная до указанного содержания СВ люцерна и без того уже содержала большое количество яблочной кислоты, что обусловило нормальное снабжение её кислородом. На это, в частности, указывает отсутствие накопления какого-либо количества масляной кислоты в провяленной до указанного содержания СВ люцерне. Не было установлено существенной разницы и по содержанию яблочной кислоты в СВ массы после 2 сут. её силосования с толуолом. Отсутствие накопления яблочной кислоты в начале силосования, которая, как уже отмечалось, может быть следствием восстановления оксалоацетата, не приводило и к образованию масляной кислоты в течение первой недели хранения корма без доступа воздуха. Накопление масляной кислоты началось лишь на 14-е сутки силосования, и оно было обусловлено развитием в корме протеолитических клостридий. На это указывает и накопление аммиака в СВ корма, которое также начало увеличиваться одновременно с началом образования масляной кислоты и продолжалось в течение всего последующего срока его хранения. В этом случае лишь пятая часть аммиака, образовавшегося в корме, являлась следствием гидролиза белка под влиянием протеолитических растительных ферментов. Остальное же его количество образовалось в результате жизнедеятельности нежелательных при силосовании микробов. Об этом свидетельствует то, что при силосовании провяленной люцерны с добавкой толуола аммиак в количестве 0,06% в СВ, накапливался лишь в первые 2 сут. силосования, после чего его содержание стабилизировалось и оставалось постоянным в течение всего срока хранения корма.

На основании полученных данных можно заключить, что, в отличие от сенажирования, обычное силосование люцерны с содержанием СВ 33,2% не приводит к получению стабильного при хранении корма. Несмотря на образование дополнительного количества сахара, его, вследствие высокого содержания аммиака, уже не хватает для образования кислот брожения в количестве, необходимом для создания необходимой активной кислотности. Из-за слабого подкисления массы и накапливающаяся в большом количестве при её провяливании яблочная кислота практически не сбраживается молочнокислыми бактериями и, следовательно, не участвует в подкислении корма. Согласно имеющимся данным (Квасников, 1960), оптимальное значение pH для сбраживания яблочной кислоты и её солей молочнокислыми бактериями находится в пределах 4,2-4,5 (Квасников, 1960). При более высоком значении pH яблочно-молочнокислое брожение замедляется тем в большей степени, чем выше pH силосуемой массы.

Имеющий место гидролиз гемицеллюлоз, отмечающийся в начале сенажирования и силосования провяленной люцерны, приводящий к довольно заметному увеличению сахара в консервируемой массе, даёт основание и для ещё одного важного практического вывода, касающегося эффективности использования ферментных препаратов при консервировании этого вида растений. Высокая активность растительных гидролитических ферментов в первые дни сенажирования и силосования провяленной люцерны, когда pH корма ещё находится на уровне 5,95-5,46, казалось бы, не должна способствовать получению сколько-нибудь заметного эффекта от внесения подобных препаратов. Однако этот приём

рядом исследователей считается эффективным и при заготовке сенажа и силоса из провяленной люцерны (Анисимов, 2006; Бондарев и др., 2016). Правда, в противовес этому мнению, в литературе встречаются и другие сообщения, свидетельствующие о слабой эффективности ферментных препаратов, применяемых при заготовке силоса из провяленной люцерны, как в чистом виде, так и комбинации с молочнокислыми заквасками (Победнов и др., 2018; Jaster et al., 1988; Kung et al., 1991; Kozelov et al., 2008; Lynch et al., 2014). Основной причиной низкой эффективности ферментных препаратов считается то, что высокое содержание СВ в силосуемой люцерне способствует накоплению продуктов, ингибирующих действие вносимых ферментов (Van Vuuren et al., 1989). По-видимому, в этом случае авторы имеют ввиду основной продукт гидролиза гемицеллюлоз - сахар, накопление которого инактивирует работу ферментных препаратов (субстратное торможение).

Совершенно недопустимо силосовать люцерну в свежескошенном виде (18,6% СВ). Как следует из данных, представленных в табл. 4, это неизбежно приводит к возникновению в корме процесса гниения и его полной порчи. Причиной этого является интенсивное развитие нежелательной микрофлоры, которое начинается сразу после герметизации силосуемой массы. На это указывают результаты силосования свежескошенной люцерны с толуолом (при полном подавлении микробиологических процессов), когда уже за первые сутки объем выделившихся газов сократился более чем в 8 раз по сравнению с обычным силосованием. Выделение газов в силосе с толуолом после прекращения дыхания растительных клеток полностью прекращалось, тогда как в обычном силосе, где активно развивались нежелательные бактерии, оно продолжало нарастать и к концу срока хранения силоса достигало большого объема.

Таблица 4. Биохимические показатели силоса из свежескошенной люцерны (M±m, n=3)

Показатели	Варианты силосования	
	без добавок	с толуолом
Количество выделившихся газов, л/кг СВ массы		
через 1 сут. силосования	4,1±0,09	0,5±0,01 <sup>1</sup>
через 36 сут. силосования (всего за опыт)	48,2±0,38	0,5±0,01 <sup>1</sup>
Содержание в СВ силоса, %:		
аммиака	1,12±0,01	0,21±0,01 <sup>1</sup>
сахара	0,23±0,06	4,58±0,00 <sup>1</sup>
органических кислот <sup>2</sup> :		
молочной	1,38±0,30	0,23±0,04 <sup>1</sup>
уксусной	4,88±0,09	0,05±0,00 <sup>1</sup>
масляной	3,62±0,30	0,00±0,00 <sup>1</sup>
яблочной	0,00±0,00	1,09±0,02 <sup>1</sup>
лимонной	0,00±0,00	0,65±0,08 <sup>1</sup>
янтарной	3,85±0,17	0,05±0,00 <sup>1</sup>
pH	5,99±0,02	5,54±0,01 <sup>1</sup>

Примечание: <sup>1</sup> P≤0,05 по *t*-критерию при сравнении с показателями для обычного силосования; <sup>2</sup> других органических кислот не обнаружено.

Исходя из биохимических показателей обычного силоса, можно заключить, что основным видом его порчи являются гнилостные процессы, обусловленные развитием протеолитических клостридий и анаэробных гнилостных бактерий. На это указывает не только очень высокое содержание в корме масляной кислоты и аммиака, но и его крайне неприятный запах, указывающий на активное декарбоксилирование аминокислот с образованием аминов. Следует отметить и возросшее количество аммиака, образовавшегося в результате гидролиза белка растительными ферментами и последующего дезаминирования аминокислот, увеличившегося в 3,5 раза, по сравнению с его накоплением вследствие указанного процесса в сенаже и силосе из провяленной люцерны.

## Заключение

Установлено, что в результате кратковременного (7 ч) проявлявания люцерны до «сенажной» влажности содержания сахара в СВ возрастает в 1,3 раза в результате перестройки дыхательного аппарата растений для функционирования в условиях обезвоживания, что обеспечивает течение фотосинтеза в скошенной массе, а также вследствие прекращения оттока образовавшегося при фотосинтезе сахара из листьев в другие органы растений, прекратившие свой рост. При этом в массе не наблюдается сколько-нибудь заметного накопления аммиака, поскольку аммиак, образовавшийся при дезаминировании образовавшихся в процессе протеолиза аминокислот, используется на синтез амидов.

При силосовании свежескошенной люцерны в корме сразу же возникает процесс гниения, заканчивающийся его полной порчей.

При глубоком проявлявании (47,1% СВ), из-за нарушения жирового обмена вследствие недостатка кислорода, в СВ люцерны образуется масляная кислота, содержание которой в первые 2 сут. сенажирования (при прогрессирующей аноксии) возрастает до 0,14-0,15%, затем её содержание стабилизируется и остаётся постоянным в течение всего срока хранения корма. Активизация защитных механизмов растений приводит к мобилизации содержащихся в них запасных питательных веществ, что обуславливает дальнейшее увеличение содержания сахара в первые 2 сут. сенажирования, источником которого служит гидролиз гемицеллюлоз растительными ферментами.

Накопление аммиака в СВ люцерны (до 0,06-0,08%) при сенажировании происходит лишь в течение первой недели, и оно является результатом дезаминирования образовавшихся при протеолизе аминокислот. При проявлявании люцерны до содержания СВ 33,2% и её последующем силосовании из-за накопления большого количества аммиака и возросшей буферной ёмкости содержащегося в массе сахара уже не хватает для обеспечения её подкисления до предела, исключая развитие маслянокислых бактерий. В результате, начиная с 14 сут., в корме начинает накапливаться масляная кислота, обуславливая получение корма, нестабильного при выемке.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов А.А. Эффективность технологии силосования люцерны с новым биологическим препаратом Феркон // Ваш сельский консультант. – 2006. – № 4. – С. 28-30.
2. Березовский А.А. Силосование трудносилосующихся и несилосующихся растений в смеси с гуменными кормами. – Вопросы кормодобывания. – М.: Гос. изд. с.- х. литературы, 1949. – Вып.2. - С. 189-191.
3. Березовский А.А., Егорова М.Ф. Силосование зелёных растений с добавлением крахмалистых кормов. – Вопросы кормодобывания – М.: Гос. изд. с.- х. литературы, 1951. – Вып. 3. – С. 189-191.
4. Бондарев В.А., Косолапов В.М., Клименко В.П., Кричевский А.Н. Приготовление силоса и сенажа с применением отечественных биологических препаратов. – М.: ВНИИ кормов, 2016. – 212 с.
5. Вайсбах Ф. Будущее консервирования кормов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2012. – № 2. – С. 49-70.
6. Данченко Д. Люцерна. Сенаж или силос? // Тваринництво сьогодні. – 2015. – № 5. – С. 2-5.
7. Евглевский А.А., Рыжкова Г.Ф., Евглевская Е.П., Ванина Н.В., Михайлова И.И., Денисова А.В., Ерыженская Н.Ф. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 9. – С. 67-69.
8. Епринцев А.Т. Малатдегидрогеназная и аконитазная ферментные системы высших растений: физиолого-биохимическая характеристика, регуляция и роль в адаптации к факторам внешней среды: автореф. дисс...д.б.н. – Воронеж: ВГУ, 1991. – 52 с.
9. Епринцев А.Т., Федорина О.С. Функционирование малатдегидрогеназной системы в мезофилле и обкладке листьев кукурузы в условиях солевого стресса // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – № 6. – С. 820-827.
10. Жолкевич В.Н. Энергетика дыхания высших растений в условиях водного дефицита. – М.: Наука, 1968. – 230 с.
11. Зубрилин А.А. Консервирование зелёных кормов. – М.: Сельхозгиз, 1938. – 200 с.
12. Зубрилин А.А., Николаева Л.И. О потерях белка при силосовании кормов // Вестник сельскохозяйственной науки. Кормодобывание. – 1940. – Вып. 1. – С. 95-102.
13. Зубрилин А.А., Субботин Я.Е., Герасимова П.А., Болотин Е.А., Михин А.М., Фледермаус Л.Я., Лебедев В.В. Технология кормов. – М.: Сельхозгиз, 1934. – 320 с.
14. Ыылдырым Е.А. Особенности процессов ферментации при технологическом производстве сенажа // Вестник мясного скотоводства. – 2017. – № 3. – С. 160-165.
15. Квасников Е.И. Биология молочнокислых бактерий. – Ташкент: изд. АН Узб.ССР, 1960. – 351 с.

16. Куперман И.А., Хитрово Е.В. Дыхательный газообмен как элемент продуктивного процесса растений. – Новосибирск: Наука, 1977. – 183 с.
17. Маевский Е.И., Гришина Е.В. Биохимические основы механизма действия фумарат-содержащих препаратов // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2017 – Т. 18. – № 2. – С. 50-80.
18. Мак-Дональд П. Биохимия силоса. – М.: Агропромиздат, 1985. – 271 с.
19. Мак-Дональд П., Эдвардс Р., Гринхалдж Дж. Питание животных. – М.: Колос, 1970, 503 с.
20. Пкнейру М.А. Малатгидрогеназа высших растений: свойства, функции и регуляция: автореф. дисс... к.б.н. – Воронеж: ВГУ, 1991. – 24 с.
21. Победнов Ю.А., Мамаев А.А., Иванова М.С., Юртаева К.Е. Силосование люцерны с препаратами молочнокислых бактерий // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – Т. 101. – № 1. – С. 213-220.
22. Победнов Ю.А., Иванова М.С., Мамаев А.А. Динамика аммиака и масляной кислоты в зависимости от степени проявлявания и способа консервирования люцерны // Кормопроизводство. – 2019. – № 4. – С. 41-46.
23. Рубин Б.А., Ладыгина М.Е. Физиология и биохимия дыхания растений. – М.: МГУ, 1974. – 512 с.
24. Слепнева Л.В., Хмылова Г.А. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумарат содержащими растворами // Трансфузиология. – 2013. – Т. 14. – № 2. – С. 49-65.
25. Тихонова Е.О., Ляпина Е.П., Шульдяков А.А., Сатарова С.А. Использование препаратов, содержащих сукцинат, в клинике инфекционных болезней // Терапевтический архив. – 2016. – № 11. – С. 121-127.
26. Хелдт Г. В. Биохимия растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 471 с.
27. Якушкина Н.И., Бахтенко Е.Ю. Физиология растений. – М.: Влада, 2004. – 464 с.
28. Dimitrova R. Einfluss einiger Konservierungsmethoden auf der Einweiss- und Aminosäuregehalt von Luzerne // X III International Grassland Congress. – Leipzig, Leipzig, 1977. – S. 179-186.
29. Jaster E.H., Moore K.J. Fermentation characteristics and feeding value of enzyme treated alfalfa haylage // J. Dairy Sci. – 1988. – Vol. 71. – P. 705-711.
30. Kozelov L.K., Iliev F., Hristov A.N., Zaman S., McAllister T.A. Effect of fibrolytic enzymes and an inoculant on in vitro degradability and gas production of low-dry matter alfalfa silage // J. Sci. Food Agr. – 2008. – Vol. 88. – № 14. – P. 2568-2575.
31. Kung J.L., Tung R.S., Maciorowski K.G., Buffum K., Knutser K., Aimutis W.R. Effect of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition // J. Dairy Sci.. – 1991. – Vol. 74. – P. 4284-4296.
32. Yahaya M.S., Kimura A., Harai J., Nguyen H.V., Kawai M., Takahashi J., Matsuoka S. Evaluation of structural carbohydrates losses and digestibility in alfalfa and orchard grass during ensiling // Asian – Austr. J. Anim. Sci. – 2001. – Vol. 14. – No. 12. – P. 1701-1704.
33. McKersie B.D. Effekt of pH on proteolysis in ensiled legume forage // Agron. J. – 1983. – Vol. 77. – No. 1. – P. 81-86.
34. Moran J.P., Owen T.R. The effect of a bacterial inoculant on the fermentation of lucerne silage // Proc. XI<sup>th</sup> Intern. Silage Conf. – Aberystwyth, 1996. – P. 166-167.
35. Lynch J.P., Jin L., Lara E.C., Baah J., Beauchemin K.A. The effect of exogenous fibrolytic enzymes and a ferulic acid esterase-producing inoculant on the fibre degradability, chemical composition and conservation characteristics of alfalfa silage // Anim. Feed Sci. Techn. – 2014. – Vol. 193. – P. 21-31.
36. Van Vuuren A.M., Bergsma K., Froe-Kramer F., Van Beers J.A. Effects of addition of cell wall degrading enzymes on the chemical composition and the in sacco degradation of grass silage // Grass Forage Science. – 1989. – Vol. 44. – P. 223-230.

#### REFERENCES

1. Anisimov A.A. [Effectiveness of alfalfa silage technology with the new biological preparation Fercon]. *Vash selskii konsultant – Your village consultant*. 2006, 4: 28-30.
2. Berezovsky A.A. [Silage fermentation of difficult-to-silage and non-silage plants mixed with gumen feed]. *Voprosi kormodobivaniya - Questions of forage production*. 1949, 2: 189-191.
3. Berezovsky A.A., Egorova M.F. [Silage of green plants with the addition of starchy feed]. *Voprosi kormodobivaniya - Questions of forage production*. 1951, 3: 189-191.
4. Bondarev V. A., Kosolapov V. M., Klimenko V. P., Krichevsky A. N. *Prigotovlenie silosa i senazha s primeneniem otechestvennykh biologicheskikh preparatov*. (Preparation of silage and haylage using Russian biological preparations). – Moscow: Williams Institute of Feeds, 2016, 212 p.
5. Danchenko D. [Haylage or silage?]. *Tvarinnictvo svogodni - Animal husbandry today*. 2015, 5: 2-5.
6. Dimitrova R. Einfluss einiger Konservierungsmethoden auf der Einweiss- und Aminosäuregehalt von Luzerne. *X III International Grassland Congress*. Leipzig, 1977, P. 179-186.

7. Evglevskii A.A., Ryzhkova G.F., Evglevskaya E.P., Vanina N.V., Mikhailova I.I., Denisova A.V., Eryzhenskaya N.F. [Biological role and metabolic activity of succinic acid]. *Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi selskohozyaistvennoi akademii - Bulletin of Kursk State Agricultural Academy*. 2013, 9: 67-69.
8. Eprintsev A.T. *Malatdegidrogenaznaya i akonitaznaya fermentnye sistemy vysshikh rastenii: fiziologo-biokhimicheskaya kharakteristika, regulyatsiya i rol' v adaptatsii k faktoram vneshnei sredy* (Malate dehydrogenase and aconitase enzyme systems of higher plants: physiological and biochemical characteristics, regulation and role in adaptation to environmental factors). Extended Abstract of Diss. Dr. Sci. Biol., Voronezh, 1991, 52 p.
9. Eprintsev A.T., Fedorina O.S. [The functioning of malate dehydrogenase system in the mesophyll and lining of corn leaves under conditions of salt stress]. *Fiziologiya rastenii - Plant physiology*. 2007, 54(6): 820-827.
10. Heldt G.-V. *Biokhimiya rastenii* (Biochemistry of plants). Moscow: BINOM Publ., 2014, 471 p.
11. Jaster E.H., Moore K.J. Fermentation characteristics and feeding value of enzyme treated alfalfa haylage. *J. Dairy Sci.* 1988, 71: 705-711.
12. Iyldyrym E.A. [Features of fermentation processes in the technological production of haylage]. *Vestnik myasnogo skotovodstva - Bulletin of Meat Cattle Breeding*. 2017, 3: 160-165.
13. Kozelov L.K., Iliev F., Hristov A.N., Zaman S., McAllister T.A. Effect of fibrolytic enzymes and an inoculant on in vitro degradability and gas production of low-dry matter alfalfa silage. *J. Sci. Food & Agricult.* 2008, 88(14): 2568-2575.
14. Kung J.L., Tung R.S., Maciorowski K.G., Buffum K., Knutser K., Aimutis W.R. Effect of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition. *J. Dairy Sci.* 1991, 74: 4284-4296.
15. Kuperman I.A., Khitrovo E.V. *Dykhatel'nyi gazoobmen kak element produktivnogo protsesssa rastenii* (Respiratory gas exchange as an element of the productive process of plants). Novosibirsk: Nauka Publ., 1977, 183 p.
16. Kvasnikov E.I. *Biologiya molochnokislykh bakterii* (Biology of lactic acid bacteria). Tashkent: Uzbek SSR Publ., 1960, 351 p.
17. Lynch J.P., Jin L., Lara E.C., Baah J., Beauchemin K.A. The effect of exogenous fibrolytic enzymes and a ferulic acid esterase-producing inoculant on the fibre degradability, chemical composition and conservation characteristics of alfalfa silage. *Anim. Feed Sci. Techn.* 2014, 193: 21-31.
18. Maevskii E.I., Grishina E.V. [Biochemical basis of the mechanism of action of fumarate-containing drugs]. *Biomeditsinskii zhurnal Medline.ru - Biomedical journal Medline.ru*. 2017, 18(2): 50-80.
19. Mak-Donald P. *Biokhimiya silosa* (Biochemistry of silage). Moscow: Agropromizdat Publ., 1985, 271 p.
20. Mak-Donald P., Edwards R., Grinkhaldzh Dzh. *Pitanie zivotnykh* (Animal nutrition). Moscow: Kolos Publ., 1970, 503 p.
21. McKersie B.D. Effekt of pH on proteolysis in ensiled legume forage. *Agronomy J.* 1983, 77(1): 81-86.
22. Moran J.P., Owen T.R. The effect of a bacterial inoculant on the fermentation of lucerne silage. *Proc. XI<sup>th</sup> Intern. Silage Conf.* Aberystwyth, 1996, P. 166-167.
23. Pkneiru M.A. *Malatgidronaza vysshikh rastenii: svoistva, funktsii i regulyatsiya* (Malate dehydrogenase of higher plants: properties, functions and regulation). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Biol., Voronezh, 1991, 24 p.
24. Pobednov Yu.A., Ivanova M.S., Mamaev A.A. [Dynamics of ammonia and butyric acid depending on the degree of drying and the method of preserving alfalfa]. *Kormoproizvodstvo - Fodder production*. 2019, 4: 41-46.
25. Pobednov Yu.A., Mamaev A.A., Ivanova M.S., Yurtayeva K.E. [Silage of alfalfa with preparations of lactic acid bacteria]. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo - Animal Husbandry & Fodder Production*. 2018, 101(1): 213-220.
26. Rubin B.A., Ladygina M.E. *Fiziologiya i biokhimiya dykhaniya rastenii* (Physiology and biochemistry of plant respiration). Moscow: MGU Publ., 1974, 512 p.
27. Slepneva L.V., Khmylova G.A. [Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумарат содержащими растворами]. *Transfuziologiya - Transfusiology*. 2013, 14(2): 49-65.
28. Tikhonova E.O., Lyapina E.P., Shuldyakov A.A., Sattarova S.A. [The use of drugs containing succinate in the clinic of infectious diseases]. *Terapevticheskii arkhiv - Therapeutic archive*. 2016, 11: 121-127.
29. Van Vuuren A.M., Bergsma K., Froe-Kramer F., Van Beers J.A. Effects of addition of cell wall degrading enzymes on the chemical composition and the in sacco degradation of grass silage. *Grass Forage Science*. 1989, 44: 223-230.
30. Weissbach F. [The future of feed preservation]. *Problemy biologii produktivnykh zivotnykh - Problems of productive animal biology*. – 2012, 2: 49-70.
31. Yahaya M.S., Kimura A., Harai J., Nguyen H.V., Kawai M., Takahashi J., Matsuoka S. Evaluation of structural carbohydrates losses and digestibility in alfalfa and orchard grass during ensiling. *Asian – Austral. J. Anim. Sci.* 2001, 14(12): 1701-1704.
32. Yakushkina N.I. Bakhtenko E.Y. *Fiziologiya rastenii* (Plant physiology). Moscow: Vlad Publ., 2004, 464 p.
33. Zholkevich V.N. *Energetika dykhaniya vysshikh rastenii v usloviyakh vodnogo defitsita* (Energetics of respiration of higher plants in conditions of water deficit). Moscow: Nauka Publ., 1968, 230 p.
34. Zubrilin A.A. *Konservirovanie zelenykh kormov* (Conservation of green fodder). Moscow: Sel'khozgiz Publ., 1938, 200 p.

35. Zubrilin A.A., Nikolaeva L.I. [About protein loss during feed silage]. *Vestnik selskohozyaistvennoi nauki. Kormodobivanie - Bulletin of agricultural science. Foraging*. 1940, 1: 95-102.
36. Zubrilin A.A., Subbotin I.E., Gerasimov P.A., Bolotin E.A., Mikhin A.M., Fleidermaus L.Ya., Lebedev V.V. *Tehnologiya kormov* (Technology of forages). Moscow: Sel'khozgiz Publ., 1934, 320 p.

**Biological sources of sugar, ammonia and butyric acid  
while wilting and ensiling alfalfa**

Pobednov Yu. A., Mamaev A.A., Shirokorad M.S., Osipyanyan B.A.

*Williams Federal Science Center for Feed Production and Agroecology, Lobnya,  
Moscow oblast, 141055, Russian Federation*

**ABSTRACT.** The increase in sugar in the dry matter of the mass occurs when alfalfa withers in the sun and it reaches a maximum when harvesting haylage from plants. The reason for this is the slowing of the outflow of sugar formed during photosynthesis to other plant organs, which, due to dehydration, stop growing. At the same time, the accumulation of malic and citric acids in alfalfa grows, indicating the restructuring of the respiratory apparatus of plants for functioning in conditions of progressive hypoxia, which ensures the course of photosynthesis and leads to the mobilization of spare nutrients. As a result, in the first 2 days of fermentation in the dry matter of the wilted mass, a further increase in the sugar content (1.1-1.6 times) is observed, associated with the hydrolysis of hemicelluloses by vegetable enzymes. Under deep dehydration from-for hypoxia and associated with it violations fat exchange in dry substance alfalfa reprisal 0.03-0.04% butyric acid, content which gradually increases until 0.14-0.15%. After that, the content of butyric acid is stabilized and remains constant throughout the entire shelf life of the feed. Butyric acid is not formed in the green mass of alfalfa at a content of  $\leq 33\%$  dry matter, and its high content in the feed is associated with the vital activity of *Clostridium* on the background of weak acidification. The accumulation of butyric acid is the higher, the less wilted alfalfa. When wilting in the dry matter of alfalfa due to deamination, 0.2-0.4% ammonia is formed due to proteolysis of amino acids, the further accumulation of which depends on the degree of dehydration of alfalfa. In the haylage, the accumulation of ammonia in the amount of 0.6-0.8% in the dry matter of alfalfa occurs only during the first week and is mainly the result of the activity of plant enzymes. When siloing alfalfa in a slightly dried form, the intensity of proteolysis is similar to that observed in the haylage mass. With the emergence of oily fermentation in the feed, the accumulation of ammonia increases by 4.1-5.5 times, causing the production of unstable silage during storage. During silage of freshly mown alfalfa, the intensity of proteolysis increases by 2.6-3.5 times. At the same time, the active development of undesirable microflora causes damage to the feed.

*Keywords: alfalfa, wilting, proteolysis, ammonia, photosynthesis, organic acids, enzymes, sugar*

**Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2020, 1: 79-90**

Поступило в редакцию: 22.11.2019

Получено после доработки: 10.12.2019

**Победнов Юрий Андреевич**, д.с.-х.н., зав. лаб., тел.: 8-967-031-70-33, yurypobednow@yandex.ru;

**Мамаев Антон Александрович**, к.с.-х.н., с.н.с., тел.: 8-916-451-60-20, anton.mamaev@inbox.ru;

**Широкоряд Маргарита Сергеевна**, асп., тел.: 8-925-354-90-51;

**Осипян Белла Альбертовна**, к.с.-х.н., с.н.с., тел.: 8-918-039-36-35, bellaosipyanyan@mail.ru