

Биотроф-111: Все возможное делает сразу

Елена ЫЛДЫРЫМ, доктор биологических наук
Дарья ТЮРИНА, кандидат экономических наук



Падение уровня молочной продуктивности и сокращение срока хозяйственного использования коров часто обусловлены отсутствием передовых технологий консервирования кормов. За последние десятилетия во многих европейских странах резко снизилось финансирование исследований по кормопроизводству. Ряд институтов с хорошей международной репутацией были закрыты.

Цель — удержать рубежи

Отечественные ученые при создании заквасок традиционно ориентируются на потребности распространенных в России крупных промышленных животноводческих комплексов. Ведь при таком масштабе ферм, как в нашей стране, крайне актуальна проблема высокой обсемененности кормов и кормового сырья патогенами и токсинами, а также циркуляции возбудителей инфекций на предприятиях. В европейских государствах разработчики препаратов для силосования ориентируются на другую реальность: семейные фермы, где в среднем содержат не более 18 голов скота. Кроме того, в Европе неукоснительно соблюдают технологию заготовки кормов, поэтому проблема их загрязнения микотоксинами и патогенами гораздо менее значима. Это определило стратегию селекции штаммов бактерий, используемых в составе заквасок. В таких условиях вполне достаточно работать исключительно над повышением титра бактерий. Но применяемые на российских фермах штаммы должны обладать целым комплексом свойств. Несоответствие предлагаемых европейскими поставщиками продуктов потребностям отечественных хозяйств привело к серьезным проблемам качества и гигиены силоса в нашей стране.

Силос — это среда, для которой характерны крайне низкий уровень кис-

лотности и высокое осмотическое давление. Выживать и размножаться в такой агрессивной среде могут только высококонкурентные штаммы. Ведь местные эпифитные микроорганизмы, как правило, превосходят бактерии, входящие в состав заквасок, по скорости роста и приспособленности к условиям обитания.

Использование возможностей отечественной компании «БИОТРОФ» для проведения молекулярно-биологических исследований повысило результативность селекции и изучения механизмов действия штаммов бактерий в составе заквасок. Был разработан ряд инновационных биоконсервантов, на каждый из которых собрано масштабное научное досье, обосновывающее его эффективность как инстру-

мента дифференцированного управления микробными популяциями в силосе и подтверждающее другие полезные свойства препарата.

Отличный пример — жидкая закваска Биотроф-111 на основе штамма бактерии *Bacillus subtilis* 111. Для подробного изучения всех его свойств был применен новаторский метод полногеномного секвенирования, что позволило оценить функцию каждого гена в составе генома и описать все механизмы действия препарата и его биологический потенциал на молекулярном уровне. Этого не может предложить ни одна компания, реализующая закваски в России.

Оказалось, что значительную долю в геноме бактерии *B. subtilis* 111 занимают гены, связанные с повышенной устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды. Расшифровка генома с использованием базы данных RAST предсказала активацию 106 генов, отвечающих за адаптацию к внешним воздействиям, в том числе к высокому осмотическому давлению, окислительному и токсическому

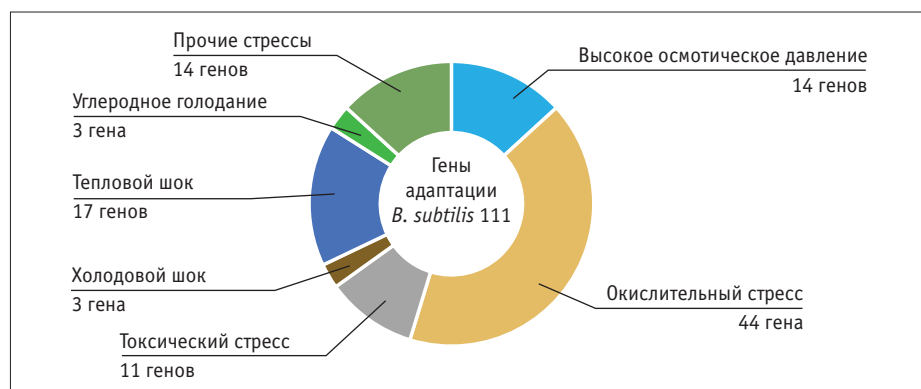


Рис. 1. Гены *B. subtilis* 111, связанные с адаптацией к неблагоприятным факторам внешней среды

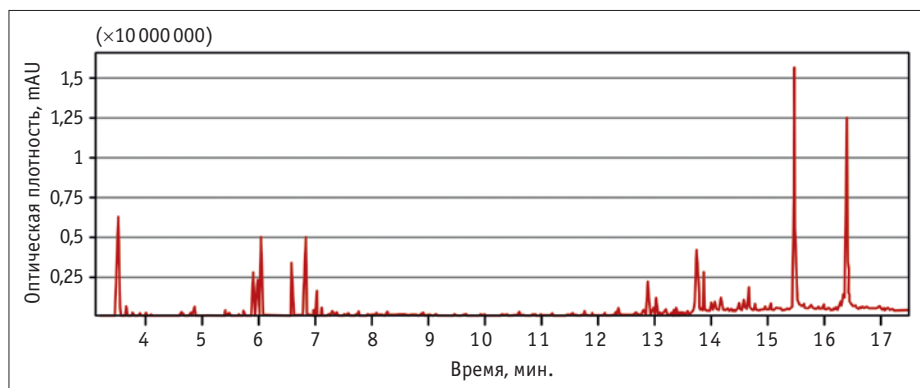


Рис. 2. Хроматограмма антимикробных компонентов штамма бактерии *B. subtilis* 111, полученная методом ГЖХ-МС

стрессу, холодовому шоку, снижению содержания питательных веществ в силосе (рис. 1).

Лактат — не панацея от всех бед

Изучение микробиологических процессов, протекающих при ферментации силоса, с помощью молекулярно-генетических методов позволило обнаружить большое количество некультивируемых бактерий. Такое название вовсе не означает, что их невозможно культивировать. Правильнее понимать, что пока эти микроорганизмы не пытались выращивать на питательных средах. Поскольку разнообразие питательных сред и условий для культивирования невелико, обнаружение таких бактерий не вызывает удивления.

Установлено, что до 60% микроорганизмов силоса могут составлять бактериоиды. Они используют сахара, конкурируя с лактобактериями за питательные вещества и препятствуя подкислению, а также разлагают крахмал, что приводит к снижению питательности корма. Эти бактерии крайне кислото-

устойчивы, в частности, проявляют толерантность к высоким концентрациям молочной кислоты, хорошо растут при pH ниже 4. Кроме того, бактериоиды анаэробны. Поэтому сдерживать их развитие в силосе не помогает ни создание бескислородных условий, ни использование продуцентов исключительно молочной кислоты. Ограничить рост бактериоидов можно только с помощью заквасок на основе бактерий, синтезирующих особые натуральные антимикробные вещества — бактериоцины.

При проведении полногеномного секвенирования оказалось, что геном штамма *B. subtilis* 111, входящего в состав закваски Биотроф-111, содержит массив групп генов, которые отвечают за производство бактериоцинов с выраженной антимикробной активностью. Широкий спектр антибактериального действия (в отношении бактериоидов, клостридий, энтеробактерий, фузобактерий) объясняется синтезом бактериоцинов диффицидина, бициллина, макролактина, бацилизина, бациллибактина.

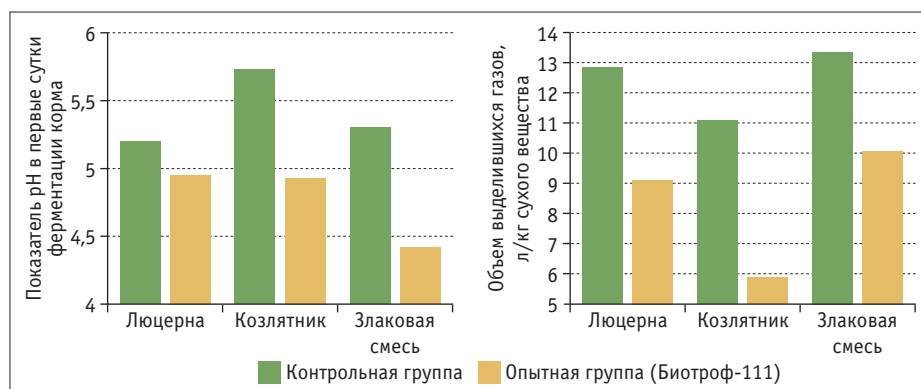


Рис. 3. Эффективность применения закваски Биотроф-111 при силосовании подвяленных трав

Активность штамма в отношении плесневых грибов — продуцентов микотоксинов — обусловлена главным образом синтезом вещества фенгицина.

Интересно, что полученные результаты были подтверждены методом газожидкостной хромато-масс-спектрометрии (ГЖХ-МС). Для этого использовали хроматограф газовый GCMS-QP2010 Plus (Япония, сер. № С 705045760116/С11344400850) с капиллярной колонкой Ultra-2 (25 м \times 0,25 мм).

Результаты показали, что экстракт культуральной жидкости штамма бактерии *B. subtilis* 111 содержал 62 различных биологических активных вещества, обладающих антимикробными свойствами (рис. 2).

Быстрый старт

Скорость снижения уровня pH силоса — тоже один из важнейших критериев оценки эффективности консерванта. В первые сутки силосования протекает аэробная фаза брожения — критический период в становлении микробиоты силоса. В это время происходит бурное развитие аэробных микроорганизмов, прежде всего дрожжей, вызывающих аэробную порчу кормов при выемке, и плесневых токсинопродуцирующих грибов, снижающих питательность.

В ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса» Ю.А. Победнов проводил многочисленные эксперименты по применению силосной закваски Биотроф-111 для оценки ее эффективности. На рисунке 3 отражены результаты одного из сравнительных исследований, направленного на определение скорости подкисления кормовых культур различного уровня силосуемости, подвяленных до содержания сухого вещества 29,4–40,2%. Силос консервировали без использования добавок, а также с применением препарата Биотроф-111.

Быстрое подкисление корма уже в первые сутки ферментации подтвердило эффективность препарата Биотроф-111 при консервировании всех исследованных культур, даже трудносилосуемой люцерны. От скорости подкисления растительной массы напрямую зависит качество консервирования корма. Применение закваски Биотроф-111 помогло сократить количество аммиака в силосе и свести к минимуму риск образования масляной

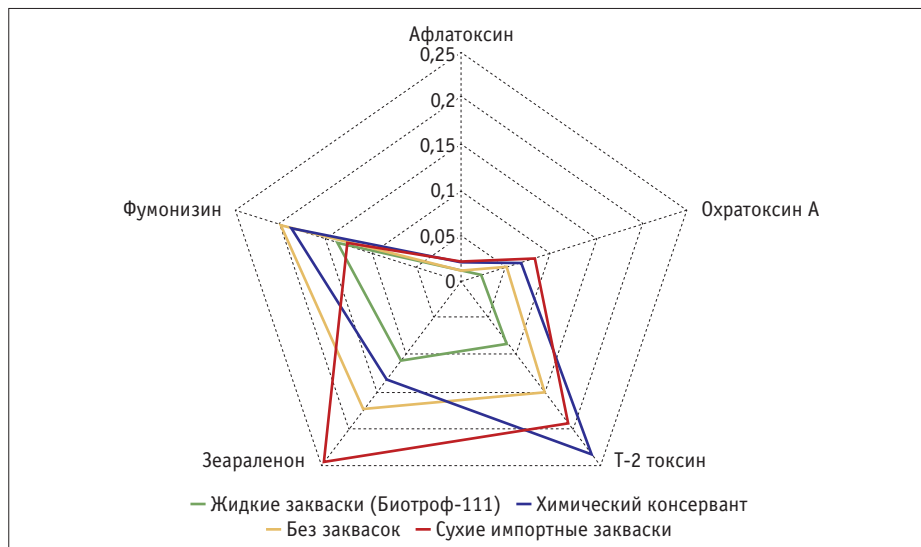


Рис. 4. Содержание микотоксинов в силосе, заложенном на хранение с добавлением различных консервантов, мг/кг

кислоты. Косвенный показатель более эффективного протекания процесса брожения в силосе, законсервированном с закваской Биотроф-111, — очевидное снижение распада питательных веществ до газообразных продуктов, о чем свидетельствовало уменьшение объема выделявшихся газов.

В то же время на отечественном рынке получили широкое распространение закваски на основе высушенных штаммов лактобактерий. Лиофильное высушивание — стресс для молочнокислых бактерий, которые не образуют эндоспоры, позволяющие микроорганизму сохранять жизнеспособность при воздействии неблагоприятных факторов. Штаммы, входящие в состав подобных препаратов, медленно восстанавливаются после внесения в силос, а гены, отвечающие за синтез молочной кислоты, не активируются вовсе. Это позволяет конкурентной микрофлоре быстро вытеснить такие бактерии из силоса, несмотря на их высокие титры в препарате.

Жидкая закваска Биотроф-111, содержащая штаммы в активном состоянии, не обладает отсроченным действием, подавляя рост нежелательной микрофлоры уже в первые часы после внесения в силосуемую массу.

Предотвратить отравление

В предыдущих публикациях мы подробно рассматривали проблему распространения микотоксинов в силосе на российских предприятиях. Напомним, что проблема оказалась очень

острой для всех регионов нашей страны. Например, содержание охратоксина А в силосе на некоторых фермах Северо-Западного региона превышало предельно допустимую концентрацию в 54,4 раза.

Именно поэтому штамм бактерии *B. subtilis* 111, входящий в состав закваски Биотроф-111, селекционировали по способности к биодеструкции микотоксинов.

Мы сравнили количество микотоксинов в пробах злаково-бобового силоса, заложенного на хранение в животноводческих хозяйствах нашей страны. Силос был заготовлен с применением жидкой закваски Биотроф-111 (40 образцов), высушенных консервантов зарубежного производства (16 образцов), химического консерванта (17 образцов), а также без использования добавок (142 образца).

В связи с тем, что сложные комбинации токсических грибковых метаболитов формируются уже в поле на вегетирующих растениях, микотоксины были обнаружены во всех пробах (рис. 4). Однако их содержание в образцах силоса, заготовленного с использованием жидкой закваски Биотроф-111, оказалось меньше, чем в образцах силоса, заложенного на хранение без внесения заквасок, а также с добавлением химических и высушенных биологических консервантов.

Причины неудач при использовании биологических заквасок на основе высушенных штаммов лактобактерий описаны в предыдущем разделе.

Что касается применения химических консервантов, оно может давать нежелательные результаты из-за агрессивного действия органических кислот, входящих в состав таких препаратов. Их наличие становится стрессовым фактором, вследствие которого плесневые грибы активируют синтез микотоксинов.

До финала без потерь

Один из важнейших показателей качества заготовленного корма — его аэробная стабильность (АС), обуславливающая сохранность питательных веществ и отсутствие патогенов после открытия хранилища. Доступ кислорода в консервированную массу в первую очередь инициирует размножение дрожжей. Их развитие приводит к потерям питательных веществ и разогреванию субстрата. Это связано с тем, что при контакте с кислородом спиртовое брожение сводится к минимуму и почти весь сахар тратится на синтез биомассы дрожжей, выделяющей значительное количество тепла.

АС корма оценивают по времени, в течение которого его качество и температура остаются неизменными при доступе воздуха. Метод определения АС заключается в измерении температуры в образцах и установлении момента, когда она превысит температуру окружающей среды на несколько градусов.

Важно помнить, что время сохранения АС корма напрямую зависит от длительности его ферментации. Так, даже на 30-е сутки силосования, когда процесс брожения считается законченным и корм готов к употреблению животными, его АС поддерживается не более 1–2 суток. Длительность этого периода возрастает в разы с увеличением срока хранения корма.

Мы провели исследования по оценке эффективности использования химического консерванта и биологической закваски Биотроф-111 для увеличения продолжительности сохранения АС корма. Было принято решение создать жесткие условия для применения препаратов и поставить эксперимент на «молодом» (незрелом) зерносеняже с начала ферментации которого прошло лишь 15 суток. Оказалось, что использование закваски Биотроф-111 позволило увеличить продолжительность поддержания АС зерносеняжа на 30% (рис. 5). Это связано с тем, что

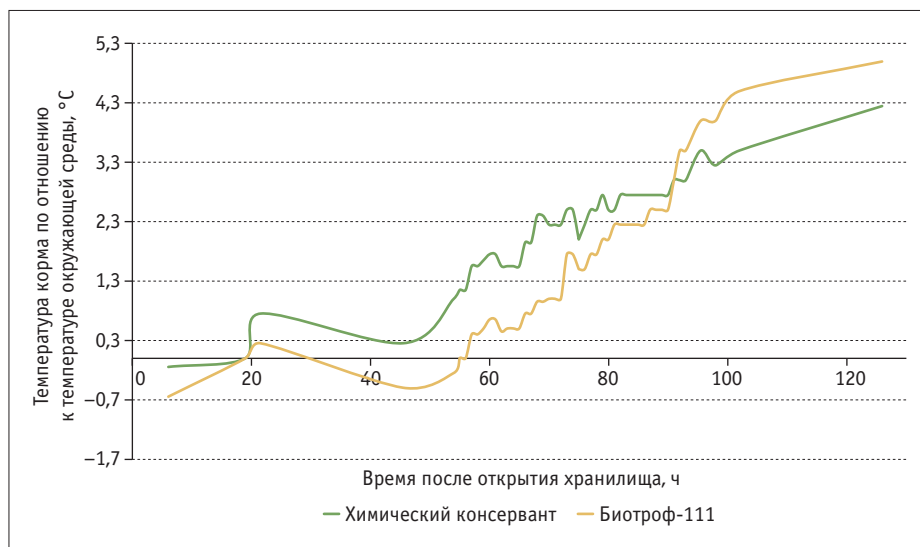


Рис. 5. Влияние консервантов на показатели аэробной стабильности «молодого» зерносенажа (15 суток хранения)

бактерии, входящие в его состав, были отселектированы прежде всего по способности подавлять развитие дрожжей и плесневых грибов. Внесение химического консерванта увеличивало период сохранения АС корма лишь на 16,3%.

Таким образом, штамм бактерий *B. subtilis* 111, входящий в состав за-

кваски Биотроф-111, обладает высокой конкурентоспособностью и антимикробной активностью при внесении в силос, что подтверждено на молекулярном уровне методом полногеномного секвенирования. Жидкая форма био-консерванта гарантирует немедленное увеличение численности полезных ви-

дов бактерий в силосе (без задержки, как при использовании сухих заквасок), что обеспечивает быстрое подкисление корма уже в первые сутки силосования. Результаты независимых исследований, проведенных в ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса», подтвердили, что корма, заготовленные с применением закваски Биотроф-111, могут храниться в течение длительного времени без потери питательных веществ и риска возникновения вторичной ферментации. Выявлена способность штамма *B. subtilis* 111 к биодеструкции микотоксинов, что обусловлено синтезом ряда биологически активных веществ. Использование биопрепарата позволяет решить многие проблемы кормопроизводства, в том числе продлить период сохранения аэробной стабильности силоса. **ЖР**

ООО «БИОТРОФ»

192288, Санкт-Петербург, а/я 183

Тел.: +7 (812) 448-08-68

Факс: +7 (812) 322-85-50

E-mail: biotrof@biotrof.ru

www.biotrof.ru

