

И. А. РАТНИКОВА, К. БАЯКЫШОВА, Н. Н. ГАВРИЛОВА, А. К. САДАНОВ,
З. Ж. ТУРЛЫБАЕВА, С. Д. БЫБЫШЕВА, А. Ж. АЛЬБАЕВА

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Республика Казахстан)

ПОВЫШЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОТОБРАННЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ ЗЕЛЕНОЙ МАССЫ ЛЮЦЕРНЫ И ДОННИКА В КОРМОВЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ЖИВОТНОВОДСТВА

Аннотация. Получены варианты молочнокислых бактерий с высокими показателями накопления биомассы, повышенной кислотообразующей активностью. Подобраны способы хранения бактерий, обеспечивающие полное сохранение их производственно-ценных свойств. По органолептическим и биохимическим показателям лучший силос из зеленой массы люцерны и донника получен с использованием штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н.

Ключевые слова: молочнокислый, зеленая масса, люцерна, донник, силос, активность.

Тірек сөздер: сүтқышқылы, көк балауса масса, беде, түйе жоңышқа, сүрлем, белсенділік.

Keywords: milk, green mass, lucerne, clover, silage, activity.

Огромные территории естественных пастбищных угодий являются одним из основных природных богатств Приаральского региона. Низкая производительность пастбищ региона не способствует интенсивному развитию животноводства, главным сдерживающим фактором которого является отсутствие кормовой базы. Для решения этой проблемы необходимы эффективные технологии переработки зеленой и сухой биомассы сельскохозяйственных культур и трудно-силосуемых растительных остатков (соломы, риса, твердых стеблей донника и других пожнивных остатков растениеводства) в кормовые продукты для животноводства.

Среди растительных кормов важное значение имеют бобовые растения (люцерна, клевер, эспарцет, донник, вика и др.), так как они богаты протеином, витаминами и минеральными веществами, особенно кальцием, дают высокие урожаи и обогащают почву азотом. Особое внимание следует обратить на донник, который дает хорошие урожаи в засушливых районах и на засоленных почвах. Возделывание донника повышает биологическую активность засоленных почв, улучшает структуру почвы. Корневые и пожнивные остатки донника накапливают в верхнем слое до 5-6 т/га сухой массы и 115-148 кг/га «биологического» азота». Под влиянием корневых выделений фитомелиоранта активизируется деятельность почвенных микроорганизмов, происходит накопление органических веществ, что, в конечном счете, способствует повышению плодородия почв. Донник характеризуется высокой питательностью и хорошей поедаемостью уже в первый год пользования.

Одним из важнейших условий повышения продуктивности скота является максимальное приближение зимнего типа кормления к летнему, что можно достичь благодаря силосованию растительных кормов. Силосованный корм делает рацион более разнообразным и полноценным, поддерживает на высоком уровне диетику питания животных, укрепляет их здоровье, способствует развитию молочной и мясной продуктивности, улучшает качество молока и мяса, обогащая эти продукты витаминами. Силосование не только сохраняет ценные свойства зелёных растений, но во многих случаях улучшает их кормовое достоинство, делает многие виды трав съедобными и даже безвредными для здоровья животных.

Вместе с тем, бобовые являются трудносилосуемыми растениями, поэтому их следует силосовать с использованием специальных заквасок, способных сбраживать не только простые, но и сложные углеводы растительного сырья с образованием достаточного количества органических кислот, преимущественно молочной, консервирующих корм.

Использование заквасок на основе микроорганизмов, направляющих процесс силосования в нужном направлении, позволяет получить качественных кормовой продукт с повышенной питательной и кормовой ценностью [1-3].

В связи с изложенным, целью наших исследований являлось повышение активности ранее отобранных штаммов молочнокислых бактерий для биоконверсии зеленой массы люцерны и донника в кормовые продукты для животноводства.

Материалы и методы

Объектами исследования служили молочнокислые бактерии, выделенные ранее для силосования зеленой и сухой массы растений. Для культивирования бактерий использовали травяной отвар с мелом и среду MRS. Кислотообразующую активность молочнокислых бактерий определяли по Тернеру и выражали в °Т, значение pH среды измеряли на потенциометре. Состав и количество органических кислот определяли по методу Вигнера. Амилолитическую активность определяли по величине бесцветных зон вокруг колоний, выращенных на твердых питательных средах с крахмалом, проявляющихся после обработки 1% раствором Люголя [4].

Опыты по силосованию растений проводили в лабораторных условиях. Растения измельчали до размера 3-4 см. Степень плотности массы контролировали путем взвешивания на весах. Измельченную растительную массу впрессовывали в банки вместимостью 1 л, закрывали пергаментной бумагой и заливали смесью Менделеева, состоящей из парафина и сургуча. Банки с силосной массой хранили при температуре 35°C с различными сроками созревания. В качестве силосной закваски были использованы культуры молочнокислых бактерий, выделенные из эпифитной микрофлоры. Ассоциации молочнокислых бактерий вносили в опытные варианты в количестве от 10 до 20 тыс. КОЕ на 1г силосной массы. В контрольный вариант ассоциации не добавляли. Силос вскрывали через 3 месяца и определяли численность микроорганизмов, количества органических кислот, pH и наличие амиака [5]. Влажность скошенных трав для силоса определяли на аппарате ВЗМ. Повторность опытов 3-х кратная.

Результаты и обсуждение

Ранее для силосования зеленой массы люцерны и донника была подобрана ассоциация №1, состоящая из двух штаммов *Lactobacillus plantarum* 18 и 12, для сухой массы - ассоциация №3, состоящая из трех штаммов: *Lactobacillus plantarum* 18, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*-8 и *Propionibacterium shermanii*-15.

С целью повышения активности разработанных штаммов микроорганизмы были подвержены воздействию высоких температур. В результате теплового воздействия получены варианты, характеризующиеся повышенной активностью накопления биомассы, высокой кислотообразующей способностью при сбраживании углеводов растительного сырья и повышенной антагонистической активностью по отношению к гнилостным микроорганизмам. Так, вариант *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*-18н, полученный под воздействием высоких температур, превосходил исходный штамм *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* - 8 по накоплению биомассы в 2,2 раза и по образованию молочной кислоты в 1,5 раза. Варианты *Lactobacillus plantarum* 12/7, 18/8 и 3/8 превосходили исходные штаммы 12 и 18 по накоплению биомассы клеток в 3-3,5 раза, по образованию органических кислот более, чем в 2 раза. Установлено, что полученные варианты характеризуются повышенной антагонистической активностью по отношению к гнилостным микроорганизмам, наличие свободной масляной кислоты у них не выявлено.

С целью изучения условий сохранения производственно-ценных свойств у отобранных штаммов микроорганизмов, культуры бактерий были заложены на хранение различными способами: периодических пересевов, хранение под слоем минерального масла, методом лиофильного высушивания с использованием защитных компонентов (сахароза в сочетании с желатином). Наблюдения проводили в течение 7 месяцев.

В процессе хранения у молочнокислых бактерий определяли изменение титра клеток путем высеива из соответствующего разведения культуры на чашки Петри с агаризованной питательной средой MRS, кислотообразующую способность, амилолитическую активность.

Установлено, что метод периодических пересевов вполне приемлем для указанных микроорганизмов. При этом отмечено полное сохранение производственно-ценных свойств у молочнокислых бактерий.

Показано, что при хранении под слоем минерального масла при температуре +4 -+5°C в течение 7 месяцев в культурах существенно понижается титр клеток (до 50%) и отмечается снижение кислотообразующей амилолитической активности.

Выявлено, что наиболее надежным методом является хранение бактерий в сублимационно высушенном состоянии. При этом способе хранения в течение наблюдаемого периода не произошло снижения производственно-ценных показателей у исследуемых культур микроорганизмов.

Проведена закладка опытов по биологическому консервированию зеленой массы донника и люцерны с использованием штаммов молочнокислых бактерий, прошедших повторную селекцию по способности к утилизации сложных углеводов растений.

Для силосования использовали жидкие культуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н, *Lactobacillus plantarum* 3/8, 12/7 и 18/8 из расчета 2 мл на 1 кг силосуемой массы с содержанием жизнеспособных клеток 1 млрд. КОЕ/мл. В контрольные варианты закваски не добавляли. Анализ качества силоса проводился через 3 месяца хранения по органолептическим и биохимическим показателям (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Органолептические показатели из люцерны и донника с разными штаммами молочнокислых бактерий

Варианты опыта	Запах	Цвет	Консистенция
Люцерна (контроль)	не бродившего сырья	хаки, темный	структура сохранена, но смягченная
Люцерна (3/8)	моченых яблок	темно-зеленый	структура сохранена
Люцерна (12/7)	квашеных овощей	темно-зеленый	структура сохранена
Люцерна (18н)	квашеных овощей	зеленый с желтоватым оттенком	структура сохранена
Донник (контроль)	резкий, лекарственный	хаки	структура сохранена
Донник (3/8)	квашеных огурцов	светло-зеленый	структура сохранена
Донник (12/7)	квашеных огурцов	болотно-зеленый	структура сохранена
Донник (18н)	квашеной зелени	светло-болотный, ближе к зеленому	структура сохранена
Донник (18/8)	квашеных овощей	хаки	структура сохранена

Таблица 2 – Биохимические показатели силоса из люцерны и донника с разными штаммами молочнокислых бактерий

Варианты опыта	Влажность, %	рН	Общая кислотность, °Т	NH ₃	Органические кислоты, %					Микроорганизмы, КОЭ/мл	
					свободные			связанные		общее кол-во микроорганизмов	молочно-кислые бактерии
					молочная	уксусная	масляная	уксусная	масляная		
Люцерна (контроль)	56,7	4,7	30,0	0,0	0,269	0,01	0,00	0,33	0,04	2,98·10 ⁷	3,13·10 ⁵
Люцерна (3/8)	61,6	4,5	30,0	0,024	0,265	0,015	0,00	0,215	0,00	1,9·10 ⁷	9,0·10 ⁵
Люцерна (12/7)	59,9	4,5	40,0	0,0	0,295	0,04	0,00	0,116	0,3	8·10 ⁷	2,3·10 ⁵
Люцерна (18н)	59,2	4,3	70,0	0,0	0,540	0,06	0,00	0,132	0,01	1,94·10 ⁷	1,06·10 ⁷
Донник (контроль)	72,7	4,6	70,0	0,068	0,990	0,05	0,00	0,18	0,00	15·10 ⁵	12·10 ⁵
Донник (3/8)	63,9	4,4	130,0	0,0	1,37	0,05	0,015	0,19	0,00	2,70·10 ⁵	4,80·10 ⁵
Донник (12/7)	66,7	4,4	120,0	0,07	0,925	0,18	0,18	0,118	0,01	6,1·10 ⁴	9,1·10 ⁴
Донник (18н)	63,5	4,3	140,0	0,03	1,80	0,10	0,00	0,130	0,05	7,0·10 ⁶	7,2·10 ⁶
Донник (18/8)	63,4	4,4	100,0	0,04	1,35	0,088	0,00	0,11	0,00	1,32·10 ⁵	7,5·10 ⁴

Установлено, что в контрольном варианте силос из люцерны по органолептическим показателям не был достаточно консервирован. По запаху и цвету силос не соответствовал стандарту, хотя структура силосуемых растений сохранилась. Силосуемая масса имела довольно высокое значение pH - 4,7 и низкую общую кислотность, содержание в ней связанной уксусной кислоты было больше, чем свободной молочной кислоты (0,33 и 0,269, соответственно).

В опытных образцах силоса наличие аммиака выявлено лишь в варианте с культурой *Lactobacillus plantarum* 12/7 в количестве 0,024%, этот вариант был более темным по цвету. По органолептическим и биохимическим показателям лучшим был вариант силоса с культурой *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н. Силос, заложенный с этим штаммом, имел приятный запах квашеных овощей, зеленовато-оливковый цвет, хорошо сохраненную структуру силосуемых растений, общую кислотность 70,0°Т и значение pH 4,3. В силосе отсутствовал аммиак, содержание молочной кислоты было выше (0,54%), чем в варианте со штаммом 3/8 (0,265 %) и со штаммом 12/7 (0,295%). Можно предположить, что сравнительно невысокое накопление органических кислот связано с низкой влажностью силосуемой массы, которая составляла 59-60%.

Силос из донника в опытных вариантах имел влажность 63-66%. По накоплению органических кислот он превосходил силос из люцерны. Так, в контрольном варианте силоса из донника содержание молочной кислоты равнялось 0,99%, а в вариантах со штаммами 3/8, 12/7, 18н и 18/8 - 1,37, 0,925, 1,80 и 1,35%, соответственно. Присутствие масляной кислоты в небольшом количестве (0,18%) наблюдалось в варианте со штаммом 12/7. По органолептическим и биохимическим показателям лучший силос из донника получен с использованием штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н.

В результате проведенных исследований сделаны следующие выводы:

1. Повышена активность штаммов молочнокислых бактерий для биоконверсии растительного сырья в кормовые продукты для животноводства. Так, вариант *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* - 18н по накоплению биомассы превосходил исходную культуру в 2,2 раза, по образованию молочной кислоты - в 1,5 раза. Варианты *Lactobacillus plantarum* 3/8, 12/7 и 18/8 превосходили исходные культуры по накоплению биомассы в 3-3,5 раза, по образованию органических кислот более чем в 2 раза. Установлено, что полученные варианты характеризуются повышенной антагонистической активностью по отношению к гнилостным микроорганизмам.

2. Изучены условия сохранения производственно-ценных свойств отобранных штаммов молочнокислых бактерий. Установлено, что наиболее надежным является метод хранения культур в сублимационно высушенному состоянии. Отмечено, что при хранении культур этим методом не происходит снижения производственно-ценных показателей.

3. Проведены опыты по силосованию трудносилосуемого растительного сырья (донник и люцерна). Показано, что корм, полученный из донника и люцерны с использованием штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н, по органолептическим и биохимическим показателям соответствует силосу хорошего качества.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Зубрилин А.А., Мищустин Е.Н. Силосование кормов. – М.: Колос, 1958. – 228 с.
- 2 Шамис Д.Л., Ильина К.А. Роль бактериальных заквасок в регулировании процесса кислотообразования в силосе // Тр. Ин-та микробиологии и вирусологии. АН КазССР. – 1961. – Т. 5. – С. 51-57.
- 3 Утеуш Ю.А. Новые перспективные кормовые культуры. – Киев: Наукова Думка, 1991. – 145 с.
- 4 Квасников Е.И., Нестеренко О.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования. – М.: Изд-во Наука, 1975. – 390 с.
- 5 Ермаков А.И., Арасимович В.В. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Колос, 1976. – 456 с.

REFERENCES

- 1 Zubrilin A.A., Mishustin E.N. Silosovanie kormov. M.: Kolos, 1958. 228 s.
- 2 Shamis D.L., Il'ina K.A. Rol' bakterial'nyh zakvasok v regulirovaniyu processa kislotoobrazovaniya v silose. Tr. In-ta mikrobiologii i virusologii. AN KazSSR. 1961. T. 5. S. 51-57.
- 3 Uteush Ju.A. Novye perspektivnye kormovye kul'tury. Kiev: Naukova Dumka, 1991. 145 s.
- 4 Kvasnikov E.I., Nesterenko O.I. Molochnokislye bakterii i puti ih ispol'zovaniya. M.: Izd-vo Nauka, 1975. 390 s.
- 5 Ermakov A.I., Arasimovich V.V. Metody biohimicheskogo issledovaniya rastenij. L.: Kolos, 1976. 456 s.

Резюме

И. А. Ратникова, К. Баяқышова, Н. Н. Гаврилова, А. К. Саданов, З. Ж. Тұрлыбаева, А. Ж. Алыбаева

(КР БжFM FK «Микробиология және вирусология институты» РМК , Алматы, Қазақстан Республикасы)

**МАЛ ШАРУАШЫЛЫҒЫНДА АЗЫҚТЫҚ ӨНІМ РЕТИНДЕ
КӨК БАЛАУСА МАССАНЫ БИОКОНВЕРСИЯЛАУ ҮШІН СҮТ ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫң
ІРІКТЕЛІНІП АЛЫНГАН ШТАМДАРЫНЫң БЕЛСЕНДІЛІГІН АРТТАРУ**

Мал шаруашылығында азықтық өнім ретінде көк балауса массаны биоконверсиялау үшін сүт қышқылы бактерияларының іріктелініп алынған штамдарының белсенділігін арттыру бойынша зерттеулер жүргізілді, олардың өндірістік-құнды қасиеттерін сактауға жағдайлар таңдалып алынды. Органолептикалық және биохимиялық көрсеткіштері бойынша беде мен түйе жонышқаның көк балауса массасына *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н штамын қосқанда, ен жақсы сүрлем алынды.

Тірек сөздер: сүтқышқылы, көк балауса масса, беде, түйе жонышқа, сүрлем, белсенділік.

Summary

I. A. Ratnikova, K. Bayakyshova, N. N. Gavrilova, A. K. Sadanov, Z. Zh. Turlybaeva, S. D. Ibysheva, A. Zh. Alybaeva

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

**INCREASE OF ACTIVITY OF THE SELECTED STRAINS OF LACTIC BACTERIA
FOR BIOCONVERSION OF GREEN MATERIAL OF LUCERNE AND
THE TRIBUTARY IN FODDER PRODUCTS FOR ANIMAL HUSBANDRY**

Obtained variants of lactic acid bacteria with high biomass accumulation, high acid-forming activity. Selected methods for storage of bacteria, ensuring the full preservation of their production and valuable properties. According to organoleptic and biochemical parameters of the best silage of green mass of lucerne and tributary obtained using a strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 18н.

Keywords: milk, green mass, lucerne, clover, silage, activity.