

Современный подход к оценке качества силоса

Николай БУРЯКОВ, доктор биологических наук
Михаил МИРОНОВ
РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева
Елена ЫЛДЫРЫМ, биотехнолог
Лариса ИЛЬИНА, начальник
молекулярно-генетической лаборатории
ООО «БИОТРОФ»



Силосование — сложный технологический процесс, который требует строгого соблюдения определенных условий, обеспечивающих течение микробиологических превращений в консервируемой массе. Микрофлора и содержание в ней микотоксинов — важнейшие показатели качества. Вот почему изучение микробиологии процесса силосования — одна из приоритетных задач современной аграрной науки.

Молекулярно-генетические методы (ПЦР в реальном времени, T-RFLP-анализ, NGS-секвенирование) позволяют досконально изучить процесс силосования.

Целью исследования был анализ состава бактериального сообщества с использованием метода T-RFLP и определение содержания в пробах силоса основных групп микотоксинов.

Все лабораторные исследования проводились в ООО «БИОТРОФ». T-RFLP-анализ микрофлоры силоса включает выделение общей ДНК микроорганизмов, ПЦР-амплификацию фрагментов генов бактерий (16S рДНК) с флуоресцентно мечеными праймерами, ферментативную обработку амплификата с помощью эндонуклеаз рестрикции, разделение полученных в результате рестрикции фрагментов ДНК в полиакриламидном геле в секвенаторе вместе с флуоресцентно меченым ДНК-маркером известного размера.

Секвенатор снабжен компьютерной программой автоматического подсчета длины фрагментов, основанной на определении электрофоретической подвижности фрагментов пробы относительно заложенных в пробу стандартов длины.

Каждый пик в T-RFLP-граммах отражает вид микроорганизма, а интенсивность флуоресценции пика — его процентное содержание в микробном сообществе.

Определение филогенетической принадлежности микроорганизмов осуществляют с помощью программ и баз данных. Анализ микотоксинов в силосе проводили, применяя иммуоферментный метод (ГОСТ Р 8.563-2009), основанный на измерении содержания микотоксинов в пробах с помощью

прямого конкурентного твердофазного иммуоферментного анализа рабочих растворов экстрактов.

Результаты T-RFLP-анализа силоса отражены в таблице 1.

Установлено, что доминирующей микрофлорой в обоих образцах силоса были некультивируемые бактерии (48,51 и 27,21%). Эти микроорганизмы невозможно выявить и изучить при помощи одного из традиционных методов микробиологии — культивирования на питательных средах. Не ясна их роль и в процессе хранения силоса. Для точного установления влияния необходимо провести статистическую обработку (корреляционный анализ зависимости биохимических показателей качества силоса от количества каждого из фило-типов микроорганизмов).

Молочнокислые бактерии, играющие ключевую роль в силосовании, содержались в силосе в малом количестве (5,77 и 19,5%). Необходимо подчеркнуть, что лактобактерии обладают способностью продуцировать большое число органи-

Таблица 1
Содержание микроорганизмов в силосе, %

Микроорганизмы	Образцы силоса	
	первый	второй
Некультивируемые бактерии	48,51	27,21
<i>Микроорганизмы, положительно влияющие на процесс силосования</i>		
Лактобактерии	5,77	19,5
Бациллы	0,05	4,02
Бифидобактерии	—	0,5
<i>Нежелательная микрофлора</i>		
Кислот-утилизирующие бактерии	9,25	11,02
Актиномицеты	19,08	10,84
Энтеробактерии	1,56	7,91
Клостридии	0,45	0,54
Бактероиды	3,77	0,9
Псевдомонады	11,33	14,14
Ризобии	0,05	0,34
<i>Патогены</i>		
Стафилококки	0,18	0,7
Кампилобактерии	—	2,37

Таблица 2

Содержание микотоксинов в силосе (5 месяцев хранения), мг/кг СВ

Группа микотоксинов	Действие на организм животных	Образец				Средний уровень превышения ПДК	ПДК
		первый		второй			
		мг/кг	отнош. к ПДК	мг/кг	отнош. к ПДК		
Афлатоксины	Снижение молочной продуктивности, поражение печени, накопление жира в печени, почках, сердце, энцефалопатия, отеки	0,0104	> в 2,6 раза	0,013	> в 3,3 раза	2,8	0,004
Охратоксин А	Тератогенное действие на эмбрионы, гастроэнтериты, поражение почек, печени, легких	< п.д.о.	Не превышает ПДК	< п.д.о.	Не превышает ПДК	11,2	0,005
Т-2 токсин	Гастроэнтериты, некроз кишечника, поражения ЖКТ, вплоть до летального исхода животных и др.	0,2065	> в 3,4 раза	0,077	> в 1,3 раза	2,6	0,06
Зеараленон	Проблемы воспроизводства	0,1582	> в 1,6 раза	0,2924	> в 2,9 раза	2	0,1
Фумонизин	Поражение печени и почек у телят, снижение удоев у коров	< п.д.о.	—	< п.д.о.	—	Среднее содержание — 0,15 мг/кг	Не нормируется
ДОН	Снижение удоев и жирности молока, снижение потребления корма	0,32	Не превышает ПДК	0,88	Не превышает ПДК	1,9	1

Примечание. < п.д.о. — ниже предела достоверного определения.

ческих кислот и быстро снижать рН силоса. Это приводит к подавлению роста гнилостных бактерий и патогенов.

В обоих образцах силоса в значительном количестве присутствовали нежелательные псевдомонады, актиномицеты и кислот-утилизирующие бактерии. Псевдомонады в процессе консервирования активно разлагают белок, что может привести к снижению его содержания, разогреванию и гниению силосной массы. Актиномицеты, ухудшающие биохимические показатели качества силоса, являются условными патогенами. Кислот-утилизирующие бактерии способны разлагать органические кислоты в силосе, что способствует повышению рН и созданию благоприятной среды для развития гнилостных бактерий и патогенов.

Кроме этого, в первом образце силоса было достаточно высокое содержание бактериоидов (3,77%), во втором — энтеробактерий (7,91%). Бактериоиды снижают биохимические показатели качества силоса, а энтеробактерии, являясь условными патогенами, редуцируют нитраты в нитриты и способствуют разложению протеина и моносахаров с образованием уксусной и молочной кислот, этилового спирта, водорода, диоксида углерода.

В силосе были найдены патогенные кампилобактерии и стафилококки — возбудители заболеваний животных и человека.

Результаты исследования основных групп микотоксинов в силосе представлены в **таблице 2**. Значения предельно допустимой концентрации (ПДК) сравнивали с показателями, опубликованными на официальном сайте Таможенного союза.

Таким образом, в ходе исследований доказано, что в образцах силоса содержание афлатоксинов, Т-2 токсина и зеараленона превысило уровень предельно допустимой концентрации для дойных коров в 1,3–3,4 раза. Показатели уровня превышения ПДК афлатоксинов, Т-2 токсина и зеараленона в пробах силоса Республики Якутии совпадают со средними значениями уровня превышения ПДК этих микотоксинов в образцах силоса Ленинградской области.

Содержание ДОН в образцах силоса Республики Якутии не превышало ПДК. Уровень ПДК ДОН в образцах силоса, взятых из траншей животноводческих хозяйств Ленинградской области, был больше средних показателей в 1,9 раза.

Фумонизин и охратоксин А в образцах силоса Республики Якутии не обнаружен. При этом средний уровень превысил ПДК охратоксина А в образцах силоса из траншей животноводческих хозяйств Ленинградской области в 11,2 раза, а среднее количество фумонизина в пробах составило 0,15 мг/кг.

ЖР

**Сворачивать рекламу,
чтобы сберечь деньги,
все равно что останавливать часы,
чтобы сберечь время.**

Американский писатель
Э. Маккензи, «14 000 фраз»