

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И КАДРОВ

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

Учреждение образования
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления ветеринарии
Комитета по сельскому хозяйству
и продовольствию Витебского облисполкома

С.В. Бобоед
« 30 » 12 2019 г.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ЛАКТОФЛОР-ФЕРМЕНТ» – БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНСЕРВАНТА СОЧНЫХ КОРМОВ

*Рекомендации производству
для врачей ветеринарной медицины, зооветеринарных специалистов,
фермеров, работников АПК, руководителей и специалистов птицеводческих
организаций, научных сотрудников, аспирантов и магистрантов,
преподавателей и студентов ветеринарных учебных заведений, слушателей
факультетов повышения квалификации высших учебных аграрных заведений*

Горки
БГСХА
2020

УДК 636.087.7(083.13)
ББК 45.45я73
Б63

*Рекомендовано Научно-техническим советом БГСХА.
Протокол № 2 от 3 февраля 2020 г.*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры кормления
сельскохозяйственных животных им. профессора В. Ф. Лемеша
УО ВГАВМ *М. А. Гласкович*;
ассистент кафедры высшей математики и физики УО БГСХА *М. И. Папсуева*;
аспирант кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ
С. А. Гласкович;
кандидат ветеринарных наук, доцент, старший научный сотрудник
НИИПВМиБ УО ВГАВМ *И. Н. Дубина*

Рецензент:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры кормления
сельскохозяйственных животных им. профессора В. Ф. Лемеша
УО ВГАВМ *В. В. Карелин*

**Биотестирование кормовой добавки «Лактофлор-фермент» –
Б63 биологического консерванта сочных кормов : рекомендации произ-
водству / М. А. Гласкович [и др.]. – Горки : БГСХА, 2020. – 12 с.
ISBN 978-985-7231-05-8.**

Приведены результаты испытаний биологического консерванта «Лактофлор-фермент», показывающие эффективность и целесообразность применения его как консерванта силосуемого растительного сырья.

Для врачей ветеринарной медицины, зооветеринарных специалистов, фермеров, работников АПК, руководителей и специалистов птицеводческих организаций, научных сотрудников, аспирантов и магистрантов, преподавателей и студентов ветеринарных учебных заведений, слушателей факультетов повышения квалификации высших учебных аграрных заведений.

УДК 636.087.7(083.13)
ББК 45.45я73

ISBN 978-985-7231-05-8

© УО «Белорусская государственная
сельскохозяйственная академия», 2020

ВВЕДЕНИЕ

Введение консервантов в корма и кормовое сырье связано с необходимостью максимально обеспечить их сохранность. Консерванты предотвращают процессы самосогревания кормов, развития грибов, плесени. Кроме того, они решают задачу сохранения питательных веществ и энергии корма различными путями: препятствуют развитию анаэробных процессов ферментации нежелательной микрофлорой (энтеробактерии, клостридии и т. п.), снижают интенсивность аэробной порчи во время выемки и скармливания корма.

В последние годы возрос интерес к применению молочнокислых микроорганизмов для консервирования растительной массы. Данные бактериальные культуры применяют для стимулирования молочнокислого брожения в силосной массе. Внесение в силосуемое сырье штаммов молочнокислых бактерий считается одним из способов обеспечения правильного регулирования изменений, происходящих в корме. Под их влиянием в первые часы созревания силоса начинается молочнокислое брожение, в результате которого происходит быстрое подкисление корма и подавляется жизнедеятельность бактерий рода *Clostridium*, вызывающих распад белка с образованием масляной кислоты и ядовитых биогенных аминов – триптамина, гистамина, путресцина и кадаверина.

Запрет кормовых антибиотиков в Евросоюзе привел к существенному росту использования консервантов (в первую очередь органических кислот) в кормопроизводстве стран-участниц. По данным экспертов, потребность белорусского и российского животноводства в одних только химических консервантах достигает 200 тыс. тонн в год. Их реальное потребление во много раз меньше. Консерванты вводят лишь в каждую десятую тонну кормов для животных, причем химические консерванты составляют чуть более 10 % от этой десятой части, а остальное – биологические консерванты. Наиболее широко в Республике Беларусь консерванты используются для хранения силоса и сенажа; консервирование комбикормов пока не получило широкого распространения. В этой связи основным потребителем консервантов является скотоводство – отрасль белорусского и российского животноводства, находящаяся в сложном финансовом положении. Этим, по-видимому, объясняется недостаточное использование консервантов, особенно более дорогих химических.

1. КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ – БИОЛОГИЧЕСКИЕ КОНСЕРВАНТЫ

Использование консервантов признано эффективным способом заготовки сочных кормов, позволяющим в 2–3 раза уменьшить потери урожая кормовых культур (особенно в процессе сбора и силосования их в периоды с нетипичными погодно-климатическими условиями) и обеспечить высокое качество кормов. За счет использования консервантов достигается повышение выхода кормов в год до 15–20 % по сравнению с обычным силосованием. Один килограмм любого консерванта в среднем дополнительно обеспечивает сохранение в силосе около 10 корм. ед. и 1 кг протеина, за счет которых можно дополнительно получить 6–10 кг молока или 1,5–2,0 кг прироста живой массы животных. В практике кормопроизводства используют две основные группы консервантов: биологические и химические.

Биологические консерванты.

В основу закваски (биологического консерванта) входит одна или несколько живых культур молочнокислых бактерий, которые продуцируют молочную кислоту, подавляющую нежелательную анаэробную микрофлору. С целью предупреждения развития аэробной микрофлоры производители заквасок используют гетероферментативные молочнокислые бактерии, прежде всего *Lactobacillus buchneri*, а также пропионовокислые бактерии. Как первые, так и вторые способны синтезировать и накапливать в массе корма пропионовую кислоту и некоторые другие вещества, угнетающе действующие на дрожжи и плесени.

Кроме того, ряд заквасок содержит ферменты, способные расщеплять клетчатку растительных клеток до простых сахаров. Это позволяет успешно заквашивать трудносилосуемые корма и работать в сложных погодных условиях. Причина популярности биологических консервантов кроется в их меньшей стоимости по сравнению с химическими продуктами. Кроме того, они обладают более высокой технологичностью, абсолютно не коррозионны, не токсичны, почти не вызывают раздражения кожи и слизистых, не имеют резкого запаха.

Биологические консерванты производятся в двух формах – жидкой и сухой (лиофильно высушенные). Сухие консерванты имеют ряд преимуществ: срок хранения составляет год и более (у жидких – до 3 месяцев, при этом они более требовательны к условиям хранения), расход лиофильно высушенных консервантов меньше.

Биологические консерванты производятся двух видов, которые отличаются по способам внесения:

- прямое внесение консерванта в растительную массу непосредственно во время трамбовки в силосохранилище;
- внесение консерванта в растительную массу через дозаторы, установленные на кормоуборочных комбайнах.

Химические консерванты.

Преимущество химического консервирования перед другими способами состоит в том, что оно обладает универсальностью, т. е. позволяет сохранять любые виды кормовых культур, злаковых и бобовых. Наиболее эффективным считается применение химических консервантов, состоящих из нескольких компонентов (муравьиной, пропионовой кислот и их солей и т. д.). Подобные смеси активно воздействуют на разные группы бактерий, дрожжи, грибы, что позволяет получать силос высокого качества.

Для консервирования используются химические и биологические консерванты отечественного и зарубежного производства. При этом химические консерванты более эффективные, но они дорогостоящие и порой небезопасные. В последние годы наибольшей популярностью стали пользоваться биологические консерванты – они безопаснее, дешевле, экологичнее.

Мировая практика и передовой опыт свидетельствуют о том, что стимулирование молочнокислого брожения в силосованной массе с помощью биологических консервантов является эффективным и безопасным способом направленного регулирования микробиологических и биохимических процессов, а обеспечение направленной ферментации позволяет получить силос более высокого качества. Корм, заготовленный с использованием биологических консервантов, не поражается грибами, не загнивает, сочный, хорошо поедается животными. Также при использовании биологических консервантов улучшается состав органических кислот, уменьшаются потери сухого вещества. Отмечено уменьшение угара в верхнем слое и увеличение сохранности кормовых единиц.

В сложившейся ситуации для кардинального решения проблемы необходимы более эффективные консерванты, которые не только должны устранить недостатки, присущие применяемым препаратам, но и на порядок выше быть эффективнее при обеспечении сохранности питательной ценности исходного сырья. Именно таким требованиям, по оценкам мировой науки и практики, отвечают биологические консерванты широкого спектра действия в сухом виде.

На белорусском и российском рынке консервантов присутствует целый ряд отечественных и зарубежных производителей. Ключевыми зарубежными поставщиками консервантов являются страны ЕС, в первую очередь Швеция, Финляндия, Великобритания и Бельгия.

Рынок консервантов обладает четко выраженной сезонностью поставок. Поскольку заготовка силосных кормов на территории Республики Беларусь начинается, как правило, не раньше мая, пик поставок приходится на апрель – июнь. Довольно большие объемы поставок сохраняются на протяжении летних месяцев, а затем снижаются практически до нуля к концу года.

2. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНСЕРВАНТА «КОРМОВАЯ ДОБАВКА «ЛАКТОФЛОР-ФЕРМЕНТ»

2.1. Биотестирование биологических консервантов

Биотестирование – это процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов. Это прием, в котором о качестве среды, о факторах, воздействующих на эту среду, судят по выживаемости, продуктивности, поведению, а также по различным физиологическим параметрам живых организмов. Биотестирование подразумевает использование живых организмов, специально помещаемых в данную среду, а биоиндикация – использование живых организмов, естественным образом обитающих в данной среде.

Благодаря простоте, оперативности и доступности биотестирование получило широкое признание во всем мире и его все чаще используют наряду с методами аналитической химии.

В последние 5–10 лет особое внимание уделяется методам биологического мониторинга, которые основаны на использовании живых организмов, особенно чувствительных к конкретным химическим веществам. Использование этих методов не требует больших экономических затрат, а также позволяет оценить качество среды в случаях, когда количественное содержание загрязнителя может быть определено каким-либо методом, но отсутствуют сведения о биологической активности загрязнителя.

Процесс биотестирования начинается с перевода исследуемого образца в состояние, удобное для проведения эксперимента, т. е. получение

ния действующей формы, после чего осуществляют ее контакт с тест-системой. Таким образом, биотесты – это выполняемые по определенной схеме и в определенных условиях испытания действия того или иного вещества (или смеси веществ) на организмы путем регистрации одного или нескольких биологических или физиолого-биологических показателей состояния тест-объекта. К биотестированию предъявляют определенные требования, например, дифференциальное применение (в зависимости от характера и концентрации загрязняющих веществ), использование простых биотестов, сочетание их с химико-аналитическими методами и применение аппаратного контроля за процессом биотестирования.

Приведем некоторые методы биотестирования.

Светящиеся бактерии. Тест-система люминесцентных бактерий реагирует на токсичные соединения разнообразной химической природы – металлы, фенолы, углеводороды, пестициды, микотоксины и др. – с порогом определения порядка 0,01 мг/л и предназначена для контроля токсичности воды и водных вытяжек различных объектов окружающей среды.

Культура инфузорий тетрахимена пириформис. Авторами метода была выявлена высокая чувствительность инфузорий к неблагоприятным факторам внешней среды и химическим веществам – тяжелым металлам, канцерогенам, гербицидам и др.

2.2. Биотестирование и оценка токсичности кормовой добавки «Лактофлор-фермент»

Биологический консервант сочных кормов **«Кормовая добавка «Лактофлор-фермент»** представляет собой жидкость светло-коричневого цвета с осадком, разбивающимся при встряхивании. «Лактофлор-фермент» – кормовая добавка, жидкий биологический препарат чистой культуры молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum*, штамм PP 500/600, содержащий в 1 см³ не менее 1 000 000 КОЕ лактобактерий и фермент ксилазу.

Биологический консервант «Лактофлор-фермент» применяется для консервации силосуемого растительного сырья.

Для проведения биотестирования и оценки токсичности на лабораторных животных использовался образец биологического консерванта «Лактофлор-фермент», изготовленный 13.02.2018. Предприятие-изготовитель – ООО «Микробиотики» (Республика Беларусь).

Биотестирование биологического консерванта сочных кормов «Лактофлор-фермент» осуществляли по ГОСТ 13496.7-97 с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*.

Оценку токсичности биологического консерванта «Лактофлор-фермент» проводили на клинически здоровых нелинейных лабораторных мышах в соответствии с Методическими указаниями по токсикологической оценке новых лекарственных препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных (Воронеж, 1987 г.) и Методическими указаниями по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии (Минск, 2007 г.).

При проведении биотестирования биологического консерванта «Лактофлор-фермент» консервант после подготовки в соответствии с инструкцией по применению был внесен в зерновую массу из расчета 1000 мл на 1000 г зерновой массы.

При проведении оценки токсичности на лабораторных мышах зерновая масса с внесенным биологическим консервантом «Лактофлор-фермент» была задана лабораторным мышам методом свободного скармливания, за животными вели наблюдение в течение 7 дней.

Также были созданы три группы клинически здоровых лабораторных мышей – две опытные и одна контрольная, по десять особей обоего пола массой 18–20 г.

Мышам первой опытной группы задали внутрь 0,5 мл биологического консерванта, что соответствует 25 000,0 мг/кг массы животного.

Мышам второй опытной группы задали внутрь 0,4 мл биологического консерванта, что соответствует 20 000,0 мг/кг массы животного.

Мышам третьей (контрольной) группы задали внутрь 1,0 мл воды дистиллированной.

Биологический консервант и воду дистиллированную задавали через зонд в желудок. Наблюдение за подопытными животными вели в течение 14 дней.

Результаты биотестирования биологического консерванта сочных кормов «Кормовая добавка «Лактофлор-фермент» с использованием простейших приведены в таблице.

В ходе выполнения биотестирования биологического консерванта «Лактофлор-фермент» изменения формы простейших, характера их движения, численности установлено не было, по истечении 24 часов было заметно увеличение численности тест-объекта, что подтверждает отсутствие токсических свойств в исследуемом образце.

**Результаты биотестирования биологического консерванта «Лактофлор-фермент»
с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis***

Исследование	30 мин	60 мин	Заключение
Биотестирование	Инфузории подвижные, мертвых нет	Коэффициент выживаемости – более 90 %	Не токсичен

При свободном скармливании лабораторным мышам зерновой массы, обработанной биологическим консервантом «Лактофлор-фермент», не установлено каких-либо отклонений в их поведении и клиническом состоянии. Мыши охотно поедали корм, были активны.

После введения биологического консерванта «Лактофлор-фермент» лабораторным мышам в желудок общее состояние животных было удовлетворительным. Животные всех групп охотно принимали корм и воду, хорошо реагировали на внешние раздражители. В течение 2-недельного периода наблюдения побочных явлений у подопытных животных не выявлено.

Также признаков каннибализма и самопогрызания у лабораторных животных не установлено.

Выводы.

1. При биотестировании биологического консерванта сочных кормов «Кормовая добавка «Лактофлор-фермент» с использованием инфузорий *Tetrahymena pyriformis* установлен коэффициент выживаемости последних не ниже 90 %, что свидетельствует об отсутствии токсичности оцениваемой кормовой добавки.

2. При свободном скармливании корма, обработанного биологическим консервантом сочных кормов «Кормовая добавка «Лактофлор-фермент», лабораторным мышам не установлено каких-либо отклонений в поведении мышей и их клиническом состоянии.

3. Среднесмертельная доза (LD_{50}) для лабораторных мышей биологического консерванта «Лактофлор-фермент» при оральном введении составляет свыше 5000,0 мг/кг, что, согласно ГОСТ 12.1.007-76, позволяет классифицировать биологический консервант сочных кормов «Лактофлор-фермент» как малотоксичный – IV класс токсичности.

ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ

Функциональность и качество биологического консерванта напрямую зависят от его чистоты и активности. «Лактофлор-фермент» имеет высокую активность и стабильность, что позволяет рекомендовать его в качестве безопасного биологического консерванта сочных кормов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главными преимуществами биологических консервантов (заквасок) являются их нетоксичность, простота внесения (нет необходимости соблюдать технику безопасности, нет жестких требований к концентрации и равномерности внесения), содержание в ряде из них ферментов, повышающих переваримость кормов, и особенно – низкая (по сравнению с химическими консервантами) цена.

В условиях роста конкуренции сельхозпроизводители вынуждены уделять первостепенное внимание вопросам сокращения потерь, в том числе и с помощью широкого использования консервантов кормов. Поэтому, несмотря на все трудности, можно прогнозировать дальнейший рост рынка силосных заквасок и химических консервантов.

Возрастание роли методов биотестирования в оценке качества и безопасности биологических консервантов (заквасок) требует, в свою очередь, повышения точности анализов, воспроизводимости результатов тестирования различными лабораториями, стандартизации методик анализа и разведения культур инфузорий. Очень важно охватить в исследованиях как можно более полный список токсикантов, с учетом их растворимости в различных растворителях и предельно допустимой концентрации. Давно назрела необходимость внедрения в практику токсикологических исследований единой схемы анализа кормов. В эту схему должны войти аттестованные, максимально стандартизированные, удобные в выполнении, доступные для широкого применения методики экспресс-анализа на инфузориях и основного арбитражного анализа на млекопитающих для всех видов кормов и кормовых добавок. Среди последних особое место занимают консерванты. Их эффективность в отношении токсигенных бактерий и грибов, с одной стороны, и безвредность для сельскохозяйственных животных и птиц, с другой, определяют продолжительность использования кормов, сохранение их питательности и безопасности.

Так как от результатов анализа биологических консервантов (заквасок) на общую токсичность в большинстве случаев зависит их стоимость и закупка хозяйствами, то разработка и внедрение универсальной схемы их биотестирования весьма актуальны.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Адсорбирующая активность и термостабильность «МаксиСорб» – кормовой добавки для профилактики микотоксикозов сельскохозяйственных животных : рекомендации производству / М. А. Гласкович [и др.]. – Горки : БГСХА, 2019. – 16 с.
2. Адсорбирующая эффективность кормовых добавок «Минезел Min-D-gel» и «Минезел Min-D-gelplus» для профилактики микотоксикозов сельскохозяйственных животных и птицы : рекомендации производству / М. А. Гласкович [и др.]. – Горки : БГСХА, 2019. – 16 с.
3. Свойства и токсичность кормового адсорбента микотоксинов «Сорбовит» для сельскохозяйственных животных и птицы : рекомендации производству / М. А. Гласкович [и др.]. – Горки : БГСХА, 2019. – 16 с.
4. Токсикологическая оценка и термостабильность биологического консерванта кормов «Био-Сил» : рекомендации производству / М. А. Гласкович [и др.]. – Горки : БГСХА, 2019. – 16 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
1. Кормовые добавки – биологические консерванты	4
2. Токсикологическая оценка биологического консерванта «Кормовая добавка «Лактофлор-фермент»	6
2.1. Биотестирование биологических консервантов	6
2.2. Биотестирование и оценка токсичности кормовой добавки «Лактофлор- фермент»	7
Предложение производству	9
Заключение	10
Библиографический список	11