

УДК 636.085.52:576.8

## ДИНАМИКА АКТИВНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПРИ СОЗРЕВАНИИ КУКУРУЗНОГО СИЛОСА

Е. Н. МАКСИМОВА, Е. С. ВАСИЛЕНКО, Г. И. ПЕРЕВЕРЗЕВА  
(Кафедра микробиологии)

Еще в 30-е годы Н. Г. Холодный предложил использовать «стекла обрастания» для изучения микробных пейзажей почв. При работе по этому методу в почву закладывают предметные стекла и оставляют на определенный срок. Поверхность стекла обра-

стает микрофлорой, характерной для данной почвы.

А. В. Рыбалкина и Е. В. Кононенко, модифицируя метод Холодного, предложили наносить на стекло тонкий слой осветленного крахмало-аммиачного агара [1].

Мы использовали методику Н. Г. Холодного в модификации А. В. Рыбалкиной и Е. В. Кононенко для изучения активной микрофлоры<sup>1</sup> силосов, в частности для определения динамики развития микроорганизмов при созревании силоса из кукурузы, выращенной на безазотном фоне (контроль), и при внесении N<sub>360</sub>. Сроки ферментации — 1, 7, 15, 30 суток.

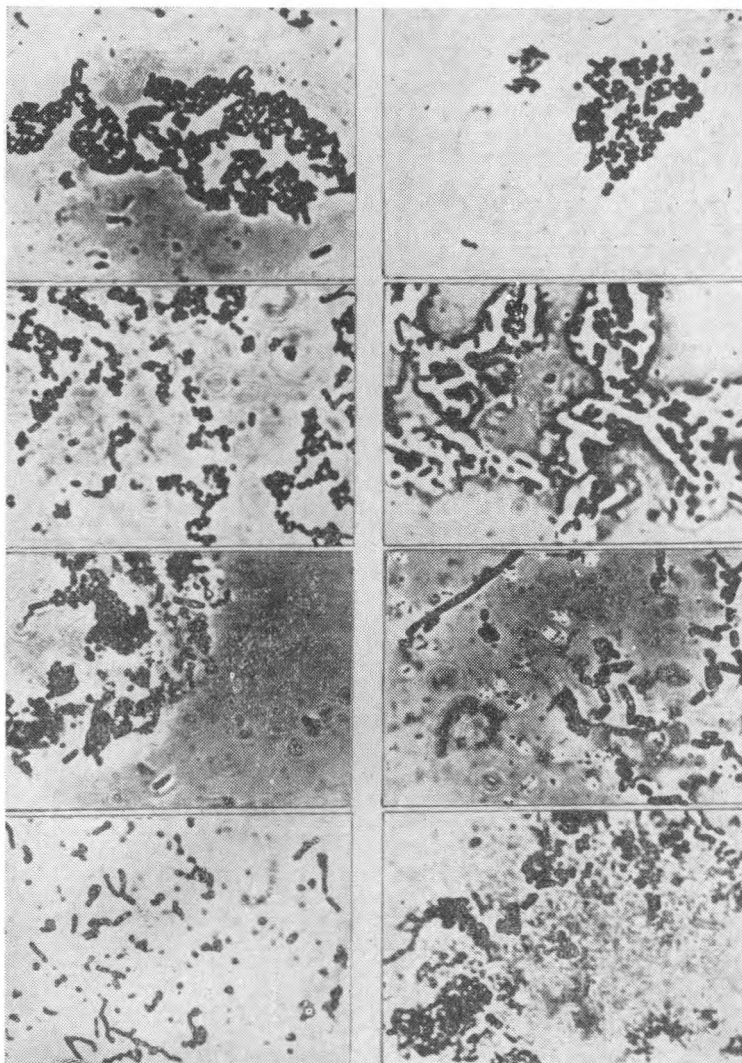
Мелко нарезанную кукурузную массу плотно укладывали в 200 мл стеклянную

банку. После этого широким ножом делали отверстие по всей длине банки и туда осторожно вставляли стерильно залитое средой стекло, которое потом плотно прижимали со стороны стенки банки. Затем добавляли еще некоторое количество массы для необходимого уплотнения содержимого банки. Последние закрывали резиновыми пробками.

По истечении каждого срока банки (по 2 шт.) разбивали и стекло осторожно вынимали, подсушивали на воздухе и окрашивали эритрозином.

На 1-е и 3-и сутки силосования обрастание стеклом было средним и неравномерным. На стекле видны разнообразные бактериальные формы: кокковые, палочковидные (споровые и неспоровые). Редко встречались дрожжи. Клетки разнообразных размеров располагались и поодиночке, и целыми ко-

<sup>1</sup> По А. В. Рыбалкиной, активной микрофлорой называют комплекс микроорганизмов, который развивается в почве при конкретных условиях, изменение которых вызывает изменение состава активной микрофлоры [3].



Динамика развития микроорганизмов в процессе созревания силоса из кукурузы.

*Слева — контроль; справа — кукуруза, выращенная на фоне N<sub>360</sub>; сверху вниз — 1, 7, 15 и 30-е сутки ферментации.*

лониями. Эти пейзажи соответствовали фазе смешанной микрофлоры.

Установление строго анаэробных условий и снижение pH до 4,85 в безазотном варианте до 4,40 в варианте N<sub>360</sub> наблюдались на 7-е сутки. Характер пейзажей при этом менялся, особенно в последнем случае. Появилось много клеток, покрытых капсулами. Иногда такие клетки располагались большими скоплениями в общих капсулах. Помимо кокковидных и палочковидных молочнокислых бактерий, капсулы встречались и у спорных бактерий. В контроле клеток, защищенных слизью, было немного, и они располагались в основном в нижней части стекла. В варианте N<sub>360</sub> многие клетки имели утолщенную, раздутую форму. По-видимому, и капсулирование, и утолщение клеток — ответная реакция на неблагоприятные условия обитания: низкую кислотность и присутствие нитратов и продуктов их разложения.

На 15-е сутки силосования мы наблюдали лизис отдельных клеток и целых колоний в обоих вариантах, однако в опытном варианте N<sub>360</sub> этот процесс протекал активнее.

К 30-м суткам лизис клеток продолжался. На стеклах были видны клетки с искривленной конфигурацией и пустые их оболочки, встречались раздутые и изуродованные экземпляры. В это время можно было наблюдать скопления клеток, сходных с молочнокислыми палочками.

Наряду с основным опытом нами был поставлен дополнительный опыт с целью сравнительного изучения микробных пейзажей в процессе созревания силоса методом Холодного и в его модификации Рыбалкиной и Кононенко. В последнем случае наряду с крахмало-аммиачным агаром использовали

сусло-агар. Для этого в растительную массу вставляли чистые предметные стекла и стекла с крахмало-аммиачным агаром и сусло-агаром. Сроки ферментации были теми же. Покрывающие стекла среды не оказывали селективного влияния на микрофлору, что объясняется ничтожно малыми количествами питательных веществ, содержащихся в них (аналогичные результаты получили авторы модификации на почве [2]). Однако на чистых стеклах размер клеток был несколько меньше, а обрастание в 1-е сутки менее плотным, чем на залитых стеклах.

Таким образом, «стекла обрастания» позволяют изучать морфологию микробных клеток, характер и плотность роста, взаимоотношение между микроорганизмами непосредственно в силосе без нарушения силосной массы. Изменения условий обитания микроорганизмов в закладываемом корме в процессе ферментации сказались на соотношении клеток и их состоянии. Следовательно, характер активной микрофлоры силоса отражал фазы брожения. Кроме того, изменение качественного состава самой растительной массы (разные дозы азотных удобрений при выращивании силосовых растений) влияло на состояние микрофлоры.

Для наблюдения за динамикой микробных пейзажей силоса можно успешно применять как метод «стекла обрастания» Холодного, так и его модификацию Рыбалкиной и Кононенко. Однако для исследований динамики микроорганизмов в силосе удобнее использовать модификацию метода не только потому, что в этом случае получают более крупные клетки, но в основном из-за того, что стекла со средой позволяют в ранние сроки ферментации точнее выявить фазу развития смешанной микрофлоры и ее продолжительность.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Рыбалкина А. А., Кононенко Е. В. Непосредственное наблюдение микрофлоры в почве модифицированным методом Холодного. — *Микробиология*, 1953, т. 22, вып. 4, с. 439—444. — 2. Рыбалкина А. В., Кононенко Е. В. Активная микрофлора почв. — *Докл. VI междунар. конгр. почвоведов. Биология почв. М.: Изд-во АН СССР*, 1956, с. 17—23. — 3. Рыбалкина А. В., Кононенко Е. В., Василенко Е. С. Активная микрофлора и ее роль в почвенных процессах. — *Докл. VIII междунар. конгр. почвоведов. Физика, химия, биология и минералогия почв СССР. М.: Изд-во АН СССР*, 1964, с. 257—265.

*Статья поступила 30 ноября 1979 г.*

## SUMMARY

It is shown that Kholodny's method modified by Rybalkina and Kononenko can be used in studying microbial associations in silage. The medium (wort agar and starch-ammonia agar) put on the glass does not influence the composition and the ratio of microorganisms. Dynamics of the development of active microflora in the process of silage ripening has been found. There is difference in the condition of active microflora in the check (N<sub>0</sub>) and in the experimental silage (N<sub>360</sub>).