

Видається з 1996 року

Засновник і видавець
Сумський національний аграрний
університет

Реєстраційне свідоцтво
КВ № 23689-13529 Р від 21.11.2018 р.

Редакційна колегія серії

Шкромада О. І., доктор ветеринарних наук, доцент, редактор, Сумський національний аграрний університет (Україна)

Березовський А. В., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Євстаф'єва В. О., доктор ветеринарних наук, професор, Полтавська державна аграрна академія (Україна)

Камбур М. Д., доктор ветеринарних наук, професор, Сумський національний аграрний університет (Україна)

Кассіч В. Ю., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Касяненко О. І., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Нагорна Л. В., доктор ветеринарних наук, доцент Сумський національний аграрний університет (Україна)

Палій А. П., доктор ветеринарних наук, професор, ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (Україна)

Петров Р. В., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Пеца-Кіліб Ева, кандидат ветеринарних наук,

Вроцлавський університет наук про довкілля та життя (Польща)

Ребенко Г. І., кандидат ветеринарних наук, доцент Сумський національний аграрний університет (Україна)

Саторов Носирджон, доктор біологічних наук, доцент, Таджикська академія сільськогосподарських наук (Таджикістан)

Скляр О. І., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Сурай П. Ф., доктор біологічних наук, професор (Великобританія);

Улько Л. Г., доктор ветеринарних наук, професор Сумський національний аграрний університет (Україна)

Фотіна Г. А., доктор ветеринарних наук, професор, Сумський національний аграрний університет (Україна)

Фотіна Т. І., доктор ветеринарних наук, професор, Сумський національний аграрний університет (Україна)

ВІСНИК СУМСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ
Виходить 4 рази на рік.

Серія "Ветеринарна медицина"
Випуск 1 (48), 2020

Шкромада О. І., Дудченко Ю. А., Удовенко Я. С. Вплив пробіотиків на мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту телят	3
Левицька В. А., Мушинський А. Б., Двужник Дорота, Міжеєвська Ева-Юлія, Байєр Анна Порівняння трьох методів ізоляції ДНК із іксодових кліщів	9
Зон І. Г., Зон Г. А., Івановська Л. Б., Труба О. О. Контамінація фекалій дрібних домашніх тварин <i>Yersinia enterocolitica</i> в містах України	16
Краєвський А. Й., Допа В. О., Чекан О. М., Мусієнко Ю. В. Вікова структура запліднення телиць та її вплив на частоту ускладненого перебігу отелення у корів-первісток і їх вибраковування з маточного стада	23
Кісіль Д. О., Фотіна Т. І. Визначення ефективності лікувально-профілактичних заходів проти збудників інфекційних хвороб бджіл при встановленні в гніздо бджолоїної сім'ї контаміновану розплідну рамку збудником американського гнильцю (<i>Bacillus larvae</i>)	32
Петров Р. В., Кутах О. А., Матвієвська Т. П., Петров В. В. Контроль за абіотичними факторами ставків Сумської області	37
Лівощенко Л. П., Лівощенко Є. М. Оцінка опірності до інфекційних захворювань у птиці ліній селекціонованих на стійкість до неоплазм	44
Кассіч В. Ю., Нечипоренко О. Л. Пробиотичні мікроорганізми в рубці телят	51

Серію «Ветеринарна медицина»
наукового журналу «Вісник
Сумського національного
аграрного університету»
визнано фаховим виданням
(наказ МОН України
від 16.05.2016 р. № 515)

Науковий журнал «Вісник Сумського
національного аграрного
університету» індексується в
Міжнародних наукометричних базах
Index Copernicus, PИHЦ

Матеріали журналу знаходяться у
вільному доступі на сайті
<https://snau.edu.ua>

Усі статті проходять процедуру
таємного рецензування. До публікації
в журналі не допускаються
матеріали, якщо є достатньо підстав
вважати, що вони є плагіатом.

Відповідальність за точність
наведених даних і цитат
покладається на авторів.

Матеріали друкуються українською
та англійською мовами.

У разі цитування посилання на
«Вісник Сумського національного
аграрного університету» обов'язкове

Друкується згідно з рішенням
вченої ради
Сумського національного
аграрного університету
(Протокол №8 від 24.02.2020 р.)

Адреса видавця та виготовлювача:
40021, м. Суми,
вул. Г. Кондратьєва, 160
Телефон: (0542)70-10-42
E-mail: visnyk.snau@gmail.com
<https://snau.edu.ua>

Тираж 300 пр.
Зам. №6

© Сумський національний
аграрний університет, 2020

ВПЛИВ ПРОБІОТИКІВ НА МІКРОБІОЦЕНОЗ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ТЕЛЯТ

Шкромата Оксана Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0003-1751-7009
oshkromada@gmail.com

Дудченко Юлія Андріївна

аспірант кафедри терапії, фармакології, клінічної діагностики та хімії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID:0000-0001-9243-8621
dudchenko.yulia@ukr.net

Удовенко Яна Сергіївна

асистент кафедри терапії, фармакології, клінічної діагностики та хімії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID:0000-0001-7260-3140,
f_vet@ukr.net

В роботі викладені результати дослідження про використання пробіотичних штамів мікроорганізмів для телят від народження до місяця. Пробиотики застосовуються у молочному господарстві для підвищення імунітету новонароджених телят та профілактики шлунково-кишкових розладів, збільшенню середньодобових приростів, зменшенню виробничих стресів, нормалізації мікробіоти. Метою роботи було визначити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на мікробіоту шлунково-кишкового тракту телят. Дослідження проводили в умовах господарства ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області, в якому утримується велика рогата худоба різних технологічних груп. При вибірковому експерименті формували п'ять дослідних груп по п'ять тварин у кожній та одна - контрольна. Телятам дослідних груп випоювали разом з заміником молозива пробіотичні штами мікроорганізмів по 5 г на кожну тварину: *Bacillus coagulans*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciense*.

B. coagulans не сприяв росту лактобактерій - 7×10^4 , однак добре зменшував кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* 10^1 , порівняно з контрольною групою телят без пробіотика 3×10^1 . *B. mucilaginosus* сприяв розмноженню *Lactobacillus* sp. до 8×10^6 , порівняно до контрольної групи 1×10^5 . Також пробіотик пригнічував ріст умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* нижче 10^1 . При випоюванні телятам *B. mucilaginosus* був відсутній ріст *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність та зменшення загальної кількості *Escherichia coli* до 2×10^4 . *B. megaterium* позитивно впливає на ріст *Lactobacillus* sp. 5×10^6 , на жаль при цьому збільшується кількість *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 , порівняно з контрольною групою 3×10^1 - 3×10^4 відповідно. *B. pumilus* сприяє росту та розмноженню лактобактерій 7×10^5 , порівняно до контролю - 1×10^5 . Пробиотик не значно пригнічує ріст *Clostridium* та *Enterobacteriaceae*. Не знищує кишкову паличку з гемолітичною активністю. *B. amyloliquefaciense* не є антагоністом для *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciense* знищує гемолітичну кишкову паличку, однак при цьому збільшується ріст дріжджоподібних грибів до 1×10^2 , стафілококів до 2×10^4 порівняно з контрольною групою 7×10^1 та 6×10^3 відповідно.

Бактерії родів *Salmonella*, *Pseudomonas* не були виявлені в фекальних масах телят дослідних та контрольних груп, що вказує на благополуччя господарства стосовно шлунково-кишкових захворювань бактеріального походження. Кількість біфідобактерій у всіх дослідних та контрольній групі було виявлено до 10^5 . Проведені дослідження використання спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для телят доводять часткову ефективність кожного з них і дають підставу для створення комплексного пробіотичного засобу із залученням декількох штамів для отримання максимального ефекту.

Ключові слова: пробіотичні спороутворюючі штами *Bacillus* spp., телята, шлунково-кишкова мікрофлора, жуйка, травлення

DOI:<https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.1>

Вступ. Інтенсифікація виробництва молочної промисловості призвела до збільшення вживання вуглеводистих кормів жуйними тваринами, що викликало збільшення випадків метаболічних розладів у вигляді ацидозу рубця. На фоні цих процесів відбувається зниження рН в рубці, порушення мікробіоти, і дисфункція травлення. Інтоксикація організму пов'язана із зменшення продукування органічних кислот рубцевими мікроорганізмами, такими як *Streptococcus bovis*. Однак вплив кількості вуглеводів на мікроорганізми рубця не повністю вивчений.

Раніше вважалось що ацидоз рубця можна профілактикувати лише збалансованим раціоном. Штучним шляхом зменшували відсоток зерна, додаючи при цьому грубі корми до раціону. Однак одразу виникали проблеми, пов'язані з втраченою продуктивністю. Більшість технологій утримання передбачає використання декількох типів адаптаційних раціонів, які містять суміш зерна та кормові рослини у різних співвідношеннях. Такий механізм регулювання раціонів є доволі ефективним при контролюванні ацидозу, але він є трудомістким, витратним та повільним.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Заборона

у тваринництві на використання гормонів та антибіотиків для стимуляції росту призвела до необхідності використання безпечних кормових добавок у вигляді про біотичних штамів мікроорганізмів (Cheng et al., 2014). Складання раціону для телят має важливе завдання забезпечити фізіологічно необхідними поживними речовинами. При цьому враховують вік тварин та технологію утримання. Одночасно з цим виникли ризики інфекційних захворювань у тварин (Hao et al., 2014).

Регуляція мікрофлори в рубці є необхідним елементом харчування для жуйних тварин. Експериментально доведено, що мікробіодоз шлунково-кишкового тракту великої рогатої худоби безпосередньо впливає на нормальне функціонування всіх систем організму (Basso et al., 2014; Tan et al., 2014).

Високотехнологічний сучасний спосіб утримання жуйних тварин зменшує їх контакт землею та водоймами, які є джерелами корисної мікрофлори. Велике значення має технологія вирощування телят: разом з матір'ю та окремо в профілакторіях (Shkromada, O., et al., 2019). Мікробіота рубця починає формуватись у телят одразу після народження, потрапляючи з навколишнього середовища. Нормальне повноцінне функціонування рубця у молодняка великої рогатої худоби стартує через шість тижнів (Kong et al., 2019; Liu et al., 2019.)

Через місяць використання ферментно-пробіотичної добавки на основі споруотворюючих *Bacillus* spp. телятам чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 94,3%; інфузорій – на 40,5%; ентодіноморфів – на 26,%, порівняно до контролю (* $P < 0,001$). Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин- D» прискорюють заселення мікрофлорою та розвитку рубцевого травлення у телят у 2,5 рази, порівняно із телятами контрольної групи. Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні впливу ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин- D» на показники рубцевої ферментації телят (Rybachuk et al., 2020).

Зараз використовують обмежену кількість пробіотиків у харчовій, медичній промисловості та тваринництві: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis* та ін. Лактобактерії та Біфідобактерії наразі є популярними у використанні пробіотичні засоби. Недоліком цих штамів є слабка термостабільність, чутливість до зміни рН, впливу травних ферментів та жовчних кислот (Ruiz et al., 2011).

Існують також технічні проблеми із зберіганням, використанням та механізмом їх доставки. Також *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* не утворюють спор, які можна піддавати ліофільній сушці, що зменшує термін придатності про біотичних порошкоподібних засоби. (Govender et al., 2014)

В даний час використовуються в якості пробіотиків та дієтичних добавок кілька штамів *Bacillus* sp. (Mingmongkolchai et al., 2018)

Різні види *Bacillus* spp. все більше використовуються у міжнародній сільськогосподарській промисловості через властивість утворювати спори. За використання сучасних технологій можна виробляти спори пробіотиків для використання на виробництві, змішуючи їх з денним раціоном кормів для тварин. Наразі фармацевтичні компанії виробляють спори *Bacillus* sp., які витримують нагрівання до 80 °C, слаболужне та слабокисле рН шлунково-кишкового тракту і не потребують спеціальних умов зберігання. (Kapse et al., 2018).

Кожний штам *Bacillus* spp. має свої властивості та

специфічну дію на організм телят. Тому в цій роботі були проведено аналіз результатів використання *Bacillus coagulans* (Fijan, 2014), *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* (Wu et al., 2014), *Bacillus amyloliquefaciense* (EFSA, 2014) для новонароджених телят.

Ферменти, такі як протеаза, пробіотичних штамів роду *Bacillus* мають властивості подібні до антимікробних засобів. Доведено, що *Bacillus amyloliquefaciense* (EFSA, 2014) може продукувати ферменти і антибіотики широкого спектру дії, які пригнічують ріст умовно-патогенної бактеріальної мікрофлори та мікроспоридіїв. Ізольовані протеази здатні лізувати живі клітини *Aphylococcus aureus* та *Candida albicans*.

Bacillus coagulans (*B. coagulans*) - факультативний грампозитивний споруотворюючий анаеробний, який виробляє молочну кислоту. Його називають королем пробіотиків через стійкість у шлунково-кишковому тракті до ферментів та відсутність токсичності. Але фармакологічний вплив на організм тварин є недостатньо вивченим.

B. coagulans термостійкий; оптимальна температура для росту для *B. coagulans* становить від 35 до 50 °C, а оптимальна рН 5,5 - 6,5. Спори *B. coagulans* стійкі, стабільні, активуються в слабкокислом середовищі шлунку, а потім проростають і розмножуються в кишечнику. *Bacillus coagulans* у шлунково-кишковому тракті з відіграє роль молочнокислих бактерій (LAB) (Zhou et al., 2020).

Мета роботи. Метою роботи було визначити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на мікробіоту шлунково-кишкового тракту телят.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження були залучені п'ять дослідних груп телят по п'ять тварин у кожній, яким випоювали пробіотичні штами *Bacillus* spp. В контрольній групі пробіотики не задавали. Дослід проводили протягом одного місяця. Експеримент проводили в умовах ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області, в якому вирощують велику рогату худобу різних технологічних груп. Телятам дослідних груп одразу після народження випоювали разом з заміном молока пробіотики *Bacillus* spp. з розрахунку 5 грам на тварину. Всім телятам був забезпечений вільний доступ до якісного сіна та води. Від телят після завершення дослідів були відібрані зразки фекалій.

З метою встановлення мікробіоценозу кишечника у телят бактеріологічними методами проводили дослідів на наявність патогенних колоній мікроорганізмів, лактобактерій, бактерій групи кишкової палички, сальмонел, сульфитредуючих клостридій, стафілококів, псевдомонад, біфідобактерій, дріжджоподібних грибів, та інших бактерій з родини *Enterobacteriaceae*. Виявляли в фекальних масах мікроорганізми, які мають фактори патогенності, такі як ліцитіназу, гемолізини та плазмокоагулазу. Проводили десятикратне розведення проб матеріалу та посів на селективні середовища. Після культивування мікроорганізмів підраховували кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

Для виділення сальмонел та псевдомонад додатково робили висіви на середовища для накопичення даних мікроорганізмів, зокрема Магнієве середовище (для сальмонел) та середовище №8 (для псевдомонад), виробництва ФБУН ГНЦ та ТОВ «Фармактив». Видову належність ізольованих культур мікроорганізмів визначали за тестами, що рекомендовані у «Bergey's Manual of Systematics Bacteriology», застосовували МПБ з феноловим червоним (Phenol Red

Broth Base), для диференціальної діагностики мікроорганізмів диски та смужки виробництва «Himedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія). Суху цитратну плазму кролика використовували для визначення плазмокоагулази (виробництво ПАТ «Фармстандарт-Біолік» (Україна), гемолізінів – 5% кров'яний агар, лецитовітелази (лецитинази) – жовтково-сольовий агар.

Результати досліджень. Підтримка нормальної мікрофлори в рубці телят є дуже складним та важливим завданням у тваринництві. В перший місяць після народження у телят формується імунітет та мікрофлора шлунково-кишкового

тракту. Важливим є ефективна робота елементів резистентності, де значну роль відіграє мікробіота шлунково-кишкового тракту тварини. Зменшення технологічного стресу, жорстке дотримання санітарних умов та якісна годівля сприяє у досягненні максимальних приростів та міцному здоров'ю тварин. Слід також зазначити, що у дослідному господарстві епізоотична ситуація благополучна стосовно інфекцій, які уражують шлунково-кишковий тракт молодняка великої рогатої худоби. Однак у тварин спостерігали періодичні випадки діареї. Використання пробіотиків для телят повинно сприяти вирішенню проблем пов'язаних з формуванням імунітету та формуванню мікробіоти шлунково-кишкового тракту (табл.).

Таблиця

Результати визначення мікробіоценозу кишечника у телят

№	Показники, в 1 см ³	Телята					Контроль
		<i>B. coagulans</i>	<i>B. mucilaginosus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. amyloliquefaciense</i>	
1	Лактобактерії (<i>Lactobacillus</i> sp.)	7x10 ⁴	8x10 ⁶	5x10 ⁶	7x10 ⁵	1x10 ⁶	1x10 ⁵
2	Біфідобактерії (<i>Bifidobacterium</i>)	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
3	Бактерії роду <i>Clostridium</i>	Нижче 10 ¹	Нижче 10 ¹	2x10 ²	1x10 ¹	2x10 ²	3x10 ¹
4	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ²	2x10 ⁴	6x10 ⁴	9x10 ⁴	6x10 ⁴	3x10 ⁴
5	<i>Escherichia coli</i> , які мають гемолітичну активність	+	немає	немає	+	немає	+
6	Умовно патогенні м/о з родини <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>)	Нижче 10 ¹	2x10 ²	Нижче 10 ¹	4x10 ²	2x10 ²	6x10 ²
7	<i>Salmonella</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
8	<i>Pseudomonas</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
9	Дріжджоподібні гриби	3x10 ¹	3x10 ²	4x10 ²	3x10 ²	1x10 ²	7x10 ¹
10	Стафілококи	8x10 ³	1x10 ⁴	4x10 ⁴	3x10 ⁴	2x10 ⁴	6x10 ³
11	Стафілококи, які мають гемолітичні властивості	немає	немає	немає	немає	немає	немає
12	Стафілококи, які мають лецитиназу активність	немає	немає	немає	немає	немає	+
13	Стафілококи, які мають плазмокоагулазну активність	немає	немає	немає	немає	немає	немає

Результати, отримані в ході експерименту, доводять, що випоювання телятам дослідної групи *B. coagulans* не сприяє росту лактобактерій - 7x10⁴. Однак *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* 10¹, порівняно з контрольною групою телят без пробіотика 3x10¹. Проте, *B. coagulans* не знищували бактерії *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність. Кишкова паличка з гемолітичною активністю за умов низької кількості біфідо- і лактобактерій може бути причиною шлунково-кишкових розладів. Крім того може набувати біоагресивності, долати захисні бар'єри господаря та спричиняти системні захворювання. Кількість *Escherichia coli* складала 1x10², порівняно до контрольної групи 3x10⁴. Умовно патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans* було на рівні 10¹, що значно нижче, ніж у контролі – 6x10². Стафілококи, які мають гемолітичні властивості, лецитиназу та плазмокоагулазну активність, також не були виявлені в пробах фекалій отриманих від дослідних тварин. Дріжджоподібні гриби були виявлені в кількості 3x10¹, порівняно до контрольної групи – 7x10¹.

При проведенні експерименту клінічні показники телят: пульс, температура, частота дихання та скорочення рубця були в межах фізіологічної норми (Izuddin et al., 2020),

тварини мали добрий апетит.

B. mucilaginosus сприяв розмноженню *Lactobacillus* spp. до 8x10⁶, порівняно до контрольної групи 1x10⁵. Також пробіотик пригнічував ріст умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* нижче 10¹. При випоювання телятам *B. mucilaginosus* був відсутній ріст штамів *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність, та зменшення загальної кількості *Escherichia coli* до 2x10⁴. Дріжджоподібні гриби були виявлені в кількості 3x10², що більше, ніж в контролі - 7x10¹. *B. mucilaginosus* не пригнічував ріст стафілококів 1x10⁴. Кількість умовно патогенних мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans*, була на рівні 2x10², що з нижче, ніж у контролі – 6x10².

B. megaterium позитивно впливає на ріст *Lactobacillus* spp., збільшуючи їх число до 5x10⁶. Нажаль, при цьому збільшується кількість бактерій роду *Clostridium* до 2x10² та *Escherichia coli* - 6x10⁴, порівняно з контрольною групою 3x10¹ та 3x10⁴ відповідно. *B. megaterium* не зменшує ріст дріжджоподібних грибів 4x10² та стафілококів 4x10⁴. Пробиотичний штам здатний знищувати кишкову паличку з гемолітичними властивостями. Кількість мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) при застосуванні *B. megaterium* зменшилось до 10¹, що значно

нижче, ніж у контролі – 6×10^2 .

B. pumilus сприяє росту та розмноженню лактобактерій 7×10^5 , порівняно до контролю – 1×10^5 . Не значно пригнічує ріст *Clostridium* та *Enterobacteriaceae*. Не знищує кишкову паличку з гемолітичною активністю. Збільшується ріст кишкової палички, стафілококів та дріжджоподібних грибів, порівняно з контролем.

B. amyloliquefaciense створював сприятливі умови для росту *Lactobacillus* sp. 1×10^6 . Пробиотик не є для антагоністом для *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciense* знищує гемолітичну кишкову паличку, однак при цьому збільшується ріст дріжджоподібних грибів до 1×10^2 , стафілококів до 2×10^4 порівняно з контрольною групою 7×10^1 та 6×10^3 відповідно.

Бактерій *Salmonella*, *Pseudomonas* не були виявлені в фекальних масах телят дослідних та контрольних груп, що вказує на благополуччя господарства стосовно шлунково-кишкових захворювань бактеріального походження. Кількість біфідобактерій у всіх дослідних та контрольній групі було виявлено до 10^5 .

Обговорення. У рубці великої рогатої худоби створені оптимальні умови для існування мікрофлори – це рН та постійна температура тіла. Мікробіота шлунково-кишкового тракту бере участь у метаболізмі вуглеводів, ліпідів, жирів та білків, які містяться потрапляють з кормом (Silva et al., 2016; Soares et al., 2017).

Дисбаланс кислотності або зміна температурного балансу може призвести до зменшення або загибелі значної частини мікрофлори шлунково-кишкового тракту жуйних (Fan et al., 2015). Основою раціону жуйних тварин є корма рослинного походження і тому целюлозні бактерії мають значну роль у травленні (Aikman et al., 2010; Stover et al., 2017). Крохмаль є важливим джерелом енергії у кормах телят. Використання концентрованих зернових кормів у раціоні дуже ефективно для стимуляції росту та розвитку тварин, але вони можуть порушувати метаболізм.

Порушення мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту телят веде до порушення процесів абсорбції, запалення слизової оболонки кишечника. На фоні виникнення інтоксикації організму виникають ентерит, діарея порушення водно-солевого балансу організму. Одним з шляхів подолання цієї проблеми можуть бути пробіотичні мікроорганізми.

Дослідники намагалися реалізувати замість адапційних кормів та інших складних схем раціонів застосовувати пробіотичні штами спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus* spp. Бацилюси зменшують утворення молочної кислоти в рубці за рахунок пригнічення мікроорганізмів *Streptococcus bovis* і *Lactobacillus* spp.

Безпосереднє введення пробіотичних мікроорганізмів для регуляції мікробіоти шлунково-кишкового тракту та підвищення продуктивності тварин набуло максимального поширення протягом останніх 10 років. Існують два основних шляхи введення мікроорганізмів, які можливі для використання в молочному скотарстві для контролю мікробіоти шлунково-кишкового тракту та рН рубця: перший – застосування мікроорганізмів, які виробляють молочну кислоту, і другий – використання пробіотичних штамів бактерій, здатних використовувати молочну кислоту.

В першому випадку, використання таких видів мікроорганізмів як *Enterococcus*, призводить до збільшення молоч-

ної кислоти в рубці. Поступово відбувається адаптація мікробіоти шлунково-кишкового тракту. Однак ці заходи не забезпечують надійного контролю ацидозу та не запобігають пригніченню умовно-патогенної мікрофлори.

З іншого боку, ефективним є додавання безпосередньо специфічних видів пробіотичних штамів спороутворюючих мікроорганізмів таких як *Bacillus* spp, які здатні до використання молочної кислоти для свого метаболізму і тим самим знижують її вміст у рубці (Diao et al., 2017; Sun et al., 2010).

Дослідниками доведено, що *B. coagulans* може виробляти бактеріцид, який має назву коагулін. Також треба вказати, що вказаний штам не здатний закріплюватись на епітелії кишечника і повністю виводиться з організму через чотири-п'ять діб, якщо його періодично не вводити в організм. Тому *B. coagulans* необхідно тривалий термін застосовувати для того щоб отримати максимальний пробіотичний ефект (Shinde et al., 2019).

Треба відмітити, що *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* найкраще спрацювали в якості пробіотиків для телят у даному дослідному господарстві. Всі дослідження проводили у порівнянні із контрольними тваринами без застосування будь яких засобів, які б могли вплинути на формування їх мікрофлори. Однак треба зазначити, що *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* виступали як слабкі антагоністи стосовно стафілококів та *Escherichia coli*, порівняно із іншими *Bacillus* spp. За даними багатьох науковців та практикуючих лікарів з'ясовано, що в кожному окремому господарстві циркулює своя мікрофлора і підбір пробіотиків необхідно проводити індивідуальним способом з урахуванням специфіки кожного господарства.

Пробиотичний штам *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium*, *Escherichia coli* та дріжджоподібних грибів. Також потрібно уточнити, що пробіотичні штами *Bacillus* spp. пригнічують умовно патогенну мікрофлору, не впливаючи на іншу. Таким чином знищуючи наприклад колонії *Escherichia coli*, ми провокуємо збільшення колоній дріжджоподібних грибів.

B. pumilus та *B. amyloliquefaciense* не проявили достатньої ефективності для пригнічення умовно-патогенної мікрофлори у шлунково-кишковому тракті телят. Дещо збільшилась кількість лактобактерій, але також збільшився ріст кишкової палички, стафілококів та дріжджоподібних грибів, порівняно з контролем.

Тому, на основі проведеного експерименту, треба зазначити, що використання в господарстві одного пробіотичного штаму *Bacillus* spp. буде помилковим. Необхідно визначитись із комплексом пробіотичних штамів, які будуть доповнювати один одного. Перспектива подальшого дослідження: формування комплексу спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для використання у господарствах з вирощування молодняка великої рогатої худоби.

Висновки.

1. За результатами бактеріологічних досліджень вмісту кишечника у телят було виявлено кількість лактобактерій у межах від 7×10^4 до 2×10^7 ; рівень біфідобактерій у межах 10^5 ; наявність кишкових паличок з гемолітичними властивостями у телят контрольної групи та дослідних із застосуванням *B. coagulans* та *B. pumilus*.

2. Використання спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для телят доводять часткову ефективність кожного з них і дають підставу для створення комплексного

References:

1. Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L. and Yuan, Z. (2014) Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front Microbiol* 5, 69– 83. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00217>
2. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., & Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in microbiology*, 5, 288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00288>.
3. Basso, F.C., Adesogan, A.T., Lara E.C., Rabelo, C. H. S., Berchielli, T. T., Teixeira, I. A. M. A., Siqueira, G. R., Reis, R. A. (2014). Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. *J Anim Sci*. 92(12),5640-5650. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8258>
4. Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A.N., Mackay, C.R., Macia, L. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 121, 91–119.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
5. Shkromada, O., Pali, A., Pali, A., Skliar, O., Dudchenko, Y., & Necherya, T. (2019). Improvement of milk quality for micro-climate formation on cattle farms. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (4 (47), 43-49. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.4.7>
6. Kong, L., Yang, C., Dong, L., Diao, Q., Si, B., Ma, J., & Tu, Y. (2019). Rumen Fermentation Characteristics in Pre- and Post-Weaning Calves upon Feeding with Mulberry Leaf Flavonoids and *Candida tropicalis* Individually or in Combination as a Supplement. *Animals : an open access journal from MDPI*, 9(11), 990. doi.org/10.3390/ani9110990
7. Liu, X., Zhao, W., Yu, D., Cheng, J. G., Luo, Y., Wang, Y., Yang, Z. X., Yao, X. P., Wu, S. S., Wang, W. Y., Yang, W., Li, D. Q., & Wu, Y. M. (2019). Effects of compound probiotics on the weight, immunity performance and fecal microbiota of forest musk deer. *Scientific reports*, 9(1), 19146. doi.org/10.1038/s41598-019-55731-5
8. Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & Dudchenko, Y. (2020). Influence of probiotics “Immunobacterin-D” on biocenoses and development of the gastrointestinal tract of calves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 22-27. <https://doi.org/10.32718/nvvet9804>
9. Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Margolles, A., & Sánchez, B. (2011). How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. *Genes & nutrition*, 6(3), 307–318. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0207-5>
10. Govender, M., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., van Vuuren, S., & Pillay, V. (2014). A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs. non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 29–43. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-0027-1>
11. Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of applied microbiology*, 124(6), 1334–1346. <https://doi.org/10.1111/jam.13690>
12. Kapse, N. G., Engineer, A. S., Gowdaman, V., Wagh, S., & Dhakephalkar, P. K. (2019). Functional annotation of the genome unravels probiotic potential of *Bacillus coagulans* HS243. *Genomics*, 111(4), 921–929. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.05.022>
13. Fijan S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745–4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
14. Wu, H.J., Sun, L.B., Li, C.B., Li, Z.Z., Zhang, Z., Wen, X.B., Hu, Z., Zhang, Y.L. (2014) Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish Shellfish Immunol* 41, 156– 162. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.027>
15. EFSA (2014) Guidance on the assessment of the toxigenic potential of *Bacillus* species used in animal nutrition. *EFSA J* 12, 3665. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3665>
16. Zhou, Y., Zeng, Z., Xu, Y., Ying, J., Wang, B., Majeed, M., Majeed, S., Pande, A., & Li, W. (2020). Application of *Bacillus coagulans* in Animal Husbandry and Its Underlying Mechanisms. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(3), 454. <https://doi.org/10.3390/ani10030454>
17. Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary Postbiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 250. doi.org/10.3390/antiox9030250
18. Silva, L.D.D., Pereira, O.G., Silva, T.C.D., Valadares Filho, S.C., Ribeiro, K.G. (2016) Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. *Anim Feed Sci Technol*. 220, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008>.
19. Soares, M.S., Oliveira, P.S., Debom, G.N., DaSilveira, M.B., Polachini, C.R., Baldissarelli, J., et al. (2017). Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. *Amino Acids*. 49(1), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2340-y>.
20. Fan, P., Li, L., Rezaei, A., Eslamfam, S., Che, D., Ma, X. (2015). Metabolites of dietary protein and peptides by intestinal microbes and their impacts on the gut. *Curr Protein Pept Sci*. 16, 646–654. <https://doi.org/10.2174/1389203716666150630133657>.
21. Aikman, P.C., Henning, P.H., Humphries, D.J., Horn, C.H. (2010). Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. *J. Dairy Sci*. 94, 2840–2849. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3783>
22. Stover, P.J., Durga, J., Field, M.S. (2017). Folate nutrition and blood–brain barrier dysfunction. *Curr Opin Biotechnol*. 44,

146–152. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.006>.

24. Diao, Q., Zhang, R., Tu, Y. (2017). Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. *J. Integr.* 16, 2805–2814. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61767-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61767-2)

25. Sun, P., Wang, J.Q., Zhang, H.T. (2010). Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. *J Dairy Sci.* 93(12), 5851–5855. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3263>

26. Shinde, T., Vemuri, R., Shastri, M.D., Perera, A.P., Tristram, S., Stanley, R., Eri, R. (2019). Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. *J. Funct. Foods*, 52, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.031>.

O.I. Shkromada, Dr. Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Yu.A. Dudchenko, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Ya. S. Udovenko, Assistant Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Probiotic effect on a gastrointestinal microbiocenosis of calves

The article presents studies about probiotic strains for calves from birth to one month of age. Probiotics are used in dairy farming to increase the immunity of newborn calves and prevent gastrointestinal disorders, increase average daily gain, reduce production stress, normalize the microbiota. The aim of the study was to determine the effect of probiotic strains of calves gastrointestinal microbiota. The research was carried out in the farm «Hlibodar» (village Golovashivka of Sumy district, Sumy region) with different technological groups of cattle management. In an experiment were formed five experimental groups of five animals each and one control group. Experimental groups were fed 5 grams of probiotic strains in the following composition per animal: *Bacillus coagulans*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciense*.

B. coagulans did not promote the growth of lactobacilli 7×10^4 (volumetric datum), but well reduces the number of opportunistic pathogens of the genus *Clostridium* 10^1 , compared with the control group of calves without probiotic 3×10^1 .

B. mucilaginosus contributed to the reproduction of *Lactobacillus* sp. up to 8×10^6 , compared to the control group 1×10^5 . The probiotic inhibited the growth of the genus *Clostridium* below the average 10^1 . Feeding of *B. mucilaginosus* reduced the amount of *Escherichia coli* to 2×10^4 .

B. megaterium has a positive effect on the growth of *Lactobacillus* sp. 5×10^6 , but increases the amount of *Clostridium* 2×10^2 and *Escherichia coli* 6×10^4 , compared with the control group 3×10^1 and 3×10^4 respectively.

B. pumilus promotes the growth and reproduction of lactobacilli 7×10^5 , compared to the control - 1×10^5 . The probiotic does not significantly inhibit the growth of *Clostridium* and *Enterobacteriaceae*. The probiotic does not destroy *Escherichia coli* with hemolytic activity.

B. amyloliquefaciense is not an antagonist for *Clostridium* 2×10^2 and *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciense* destroys hemolytic *Escherichia coli*, but increases the growth of yeasts to 1×10^2 , staphylococci to 2×10^4 compared with the control group 7×10^1 and 6×10^3 , respectively.

Bacteria *Salmonella* and *Pseudomonas* were not detected in the calves fecal masses of the experimental and control groups, it indicates the well-being of the farm as regards bacterial gastrointestinal diseases. The number of bifidobacteria in all experimental and control groups were detected up to 10^5 . Studies of *Bacillus* sp. probiotic strains prove the partial effectiveness of each of them and give grounds for the creation of a complex probiotic to have an optimum effect for calves.

Key words: probiotic spore-forming strains of *Bacillus* sp., calves, gastrointestinal microflora, cut-chewing, digestion.

Дата надходження до редакції: 20.12.2019 р.

ПОРІВНЯННЯ ТРЬОХ МЕТОДІВ ІЗОЛЯЦІЇ ДНК ІЗ ІКСОДОВИХ КЛІЩІВ

Левицька Вікторія Андріївнакандидат ветеринарних наук, асистент кафедри інфекційних та інвазійних хвороб
Подільський державний аграрно-технічний університет, (м Кам'янець-Подільський, Україна)

ORCID: 0000-0003-3100-009X

levytska28@gmail.com**Мушинський Андрій Броніславович,**кандидат біологічних наук, доцент кафедри інфекційних та інвазійних хвороб
Подільський державний аграрно-технічний університет, (м Кам'янець-Подільський, Україна)

ORCID: 0000-0003-2850-2355

Двужник Дорота,

магістр біологічних наук, кафедра екоепідеміології паразитарних хвороб

Інститут біології розвитку та біомедичних наук

біологічний факультет Варшавського університету (м.Варшава, Польща)

ORCID: 0000-0002-4432-3712

Міжесвська Ева-Юлія,

кандидат біологічних наук, кафедра екоепідеміології паразитарних хвороб

Інститут біології розвитку та біомедичних наук,

біологічний факультет Варшавського університету (м.Варшава, Польща)

ORCID: 0000-0002-1334-6110

Байєр Анна

доктор біологічних наук, кафедра екоепідеміології паразитарних хвороб

Інститут біології розвитку та біомедичних наук

біологічний факультет Варшавського університету (м.Варшава, Польща)

ORCID: 0000-0002-9631-0761

Іксодові кліщі – це членистоногі ектопаразити тварин і людини, які переносять велике різноманіття патогенних мікроорганізмів. Кліщі можуть спричиняти патологічні стани, такі як паралічі, лихоманки, токсикози та алергії, а також велику кількість інфекційних та інвазійних захворювань. Метою нашого дослідження було порівняння трьох методів ізоляції ДНК, перевірка їх ефективності та практичності у отриманні матеріалу з кліщів і визначення їх впливу на результативність ПЛР-досліджень. Протягом 2018 року кліщі були зібрані з рослинності методом «на прапор», а також від тварин в Хмельницькій та Чернівецькій областях. Для ізоляції ДНК використовували три різні методи: подрібнення кліщів ножицями та лізис в гідроксиді амонію, подрібнення ножицями з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором Genomic Mini AX Tissue Spin (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), гомогенізація кліщів за допомогою програмованого криогенного гомогенізатора SPEX Sample Prep Freezer Mill 6875 з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором Genomic Mini AX Tissue Spin.

Всього за допомогою ПЛР було досліджено 72 кліщі (60 *D. reticulatus* і 12 *I. ricinus*) з рослинності на наявність збудників *Babesia* spp, *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. Отже, при першому способі виділення ДНК було виявлено 4,2 % кліщів позитивних на *Babesia* spp.. При дослідженні на *Rickettsia* spp. було виявлено три позитивних кліща (12,5%), на *Borrelia* spp – 8 кліщів (33,3%). При другому способі виділення ДНК було встановлено, що позитивними на *Babesia* spp. є 4,2 % кліщів. Що стосується *Rickettsia* spp. було виявлено 13 позитивних кліщів, що становило 54,2%. При дослідженні на *Borrelia* spp було виявлено 33,3% кліщів з ДНК збудника. При третьому способі досліджень також було виявлено 4,2% кліщів з ДНК *Babesia* spp.. ДНК рикетсії було виявлено у 7 кліщів *D. reticulatus* та 2 кліщів *I. ricinus*, що разом становило 37,5%. ДНК *Borrelia* spp. були виявлені також серед 37,5% кліщів. Таким чином, комбінований метод механічної гомогенізації кліщів в комбінації з комерційним набором для ізоляції ДНК, пропонує максимальну ефективність з точки зору швидкості, кількості та розміру зразків, що підлягають дослідженню.

Ключові слова: кліщі, ізоляція ДНК, *Babesia* spp, *Rickettsia* spp, *Borrelia* sppDOI:<https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.2>

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Трансмісивні хвороби становлять понад 17% усіх інфекційних захворювань зареєстрованих у світі і спричиняють понад 700 000 смертей щороку (WHO, 2020). Іксодові кліщі – це членистоногі ектопаразити тварин і людини, які переносять велике різноманіття трансмісивних захворювань. Вони

можуть передавати різні патогени, починаючи від вірусів та бактерій до найпростіших. Хвороби, спричинені бактеріальними патогенами, можуть спричинити інфекції, які несуть потенційну загрозу для життя, такі як рикетсіози, анаплазмози, до потенційно хронічних інфекцій, таких як хвороба Лайма. Кліщі беруть участь у передачі численних зоонозів, оскільки

один і той же кліщ може житись на різних видах тварин на різних етапах свого життєвого циклу. Крім того, вони можуть спричиняти патологічні стани, такі як паралічі, лихоманки, токсікози та алергії (Elston, 2010; Briciu et al., 2011; Pangrácová et al., 2013; Levytska & Mushinsky, 2019). Їх значення як переносників патогенів людини вимагає досліджень, які передбачають успішне виділення генетичного матеріалу, необхідного для досліджень як самого переносника, так і широкого кола патогенів, які вони переносять.

Dermacentor reticulatus один із найпоширеніших кліщів в Україні та Європі. Під час досліджень було виявлено, що він є переносником ДНК 40 мікроорганізмів (*Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp., *Borrelia* spp., *Coxiella* spp., *Francisella* spp., *Bartonella* spp., *Gordonia sputi*, *Microbacterium floriorum*, *Arthrobacter oxydans*, *Arthrobacter oxydans*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Salmonella typhimurium*, *Hepatozoon canis*, *Toxoplasma gondii*, *Nosema slovaca* та ряду вірусів), хоча для деяких з них не встановлена його роль як вектора. Слід зазначити, що молекулярні методи досліджень мають слабкі сторони, включаючи неможливість ідентифікувати живих мікроорганізмів від неживих, і існує ризик забруднення або ПЛР-артефактів з різних джерел. Тому для кліщів виду *D. reticulatus* також важливо встановити здатність до передачі цих патогенних мікроорганізмів (Földvári et al., 2016).

Молекулярне виявлення патогенних мікроорганізмів у кліщах в основному базується на ампліфікації ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Етап виділення ДНК кліща та патогенів, яких вони переносять часто є складним, оскільки іксодові кліщі мають хітиновий екзоскелет, який повинен бути зруйнований перед екстракцією. Крім того, як насичені, так і голодні кліщі містять інгібітори термостабільної ДНК-полімерази, а геномна ДНК дуже чутлива до деградації. Крім того, було встановлено, що полісахариди, спільно очищені з ДНК, обмежують використання екстрагованої ДНК (Sparagano et al., 1999). Дані фактори можуть також мати вплив на рівень інвазованості кліщів, про який повідомлялося в попередніх дослідженнях. Тому виникає необхідність у стандартизованих, ефективних та надійних методах ізоляції ДНК із кліщів (Hill & Gutierrez, 2003; Schrader et al., 2012).

Існують різноманітні методи ізоляції ДНК із кліщів та збудників, яких вони переносять. В даний час екстракція за допомогою гідроксиду амонію широко використовується і описана у багатьох дослідженнях, оскільки вона має такі переваги як простота, швидкість і є недорогим методом. Цей метод часто використовують для дослідження кліщів зібраних з рослинності, але цей спосіб може привести до хибних результатів ПЛР, якщо кліщі були зібрані із тварин (Rauter & Hartung, 2005). Інші методи вимагають попередніх етапів перед екстракцією ДНК, оскільки вони включають подрібнення кліщів, заморожування та розщеплення ферментних білків. Наприклад, метод із фенол-хлороформом використовують для будь-якої стадії розвитку та походження кліщів, але він передбачає дорогі та працеємкі дії, а також використання потенційно небезпечних для здоров'я хімічних речовин (Halos et al., 2004). Комерційні методи простіші у виконанні, безпечніші та швидші, хоча існують незначні відмінності у їх практичному використанні, але вони часто є високовартісними (Mahittikorn et al., 2005).

Хоча ізоляція ДНК із кліщів як для виділення патогенів, так і для генетичних та геномних досліджень кліщів проводиться регулярно дослідниками, єдиної думки щодо найбільш ефективного методу виділення ДНК з будь-якого виду кліща немає. Було проведено ряд досліджень та оглядів, однак вони обмежені декількома методами екстракції, а також бракує кількісних даних про концентрацію ДНК (Sparagano et al., 1999; Hill & Gutierrez, 2003; Halos et al., Mtambo et al., 2006; 2004; Crowder et al., 2010).

Мета дослідження – порівняння трьох методів ізоляції ДНК, перевірка їх ефективності та практичності у отриманні матеріалу з кліщів і визначення їх впливу на результати ПЛР-досліджень. **Завдання дослідження:** провести збори іксодових кліщів, виділити ДНК для ПЛР-досліджень трьома різними методами, провести ПЛР-дослідження на *Babesia* spp, *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. та проаналізувати одержані результати.

Матеріали і методи дослідження. Протягом 2018 року кліщі були зібрані з рослинності методом «на прапор», а також від тварин в Хмельницькій області. Після цього кліщів зберігали у 70% етанолі при температурі 4 ° С до подальших досліджень. Кліщів ідентифікували за видом, статтю, стадією розвитку на кафедрі інфекційних та інвазійних хвороб Подільського ДАТУ. Подальші дослідження з виділення ДНК та ПЛР проводили на базі кафедри паразитології Варшавського університету (Польща).

Кожного кліща перед початком досліджень промивали тричі стерильною водою, а потім сушили на повітрі і поміщали у стерильні мікропробірки. Для ізоляції ДНК використовували три різні методи: подрібнення кліщів ножицями та лізис в гідроксиді амонію (Guy & Stanek, 1991), подрібнення ножицями з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором Genomic Mini AX Tissue Spin (A&A Biotechnology, Польща), гомогенізація кліщів за допомогою програмованого криогенного гомогенізатора SPEX Sample Prep Freezer Mill 6875 з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором Genomic Mini AX Tissue Spin (A&A Biotechnology, Польща).

Перший метод. Кліщів занурювали кожного окремо в 150 мкл 0,7 М гідроксиду амонію і подрібнювали ножицями. Суспензію нагрівали при 100° С протягом 15-20 хв у термостаті в герметично закритих пробірках Епендорфа. Потім нагрівання продовжували приблизно ще 50 хв з відкритими ковпачками для видалення аміаку і додавали 100 мкл стерильної води. Зразки ДНК зберігали при – 20°С до подальших досліджень.

Другий метод. Кліщів подрібноли ножицями, кожного окремо, в пробірках Епендорфа. Додавали 400 мкл буферного розчину (LSU) і 20 мкл протеїнази К, змішували у приладі вортексі, потім центрифугували і поміщали в термостат при 50° С на 1,5 години. Після цього зразки кілька разів перемішували у вортексі, потім центрифугували протягом 5 хв при 8000 об/хв. Наносили супернатант на колонки Mini AX Spin, розміщені всередині пробірок об'ємом 2 мл. Центрифугували протягом 30-60 с при 8000 об/хв. Колонки Mini AX Spin переносили в нові пробірки об'ємом 2 мл. Додавали 600 мкл W1 розчину для першого промивання. Центрифугували протягом 30-60 с при 8000 об/хв. Колонки Mini AX Spin переносили в нові пробірки об'ємом 2 мл. Додавали 500 мкл другого розчину W2 для промивання. Центрифугували протягом 30-60 с при 8000 об/хв. Підготували 1,5 мл пробірки для елюції ДНК

та додавали 5 мкл нейтралізуючого буфера на дно кожної пробірки. Колонки Mini AX Spin переносили в підготовлені пробірки для елюції. Елюювали ДНК, додаючи 75 мкл буфера для елюції на колонки Mini AX Spin і чекали 2 хв. Центрифугували протягом 30-60 с при 8000 об/хв. Ще раз додавали 75 мкл буфера для елюції. Ще раз центрифугували протягом 30-60 с при 8000 об/хв. Видаляли колонки Mini AX Spin і отримували пробірки з очищеною ДНК. Зразки ДНК зберігали при -20°C до подальших досліджень.

Третій метод. Кліщів заморожували рідким азотом і подрібнювали за допомогою програмованого криогенного гомогенізатора SPEX SamplePrep з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором Genomic Mini AX Tissue Spin як описано вище.

ПЛР-дослідження проводили на наявність *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. Ампліфікацію проводили за допомогою термоциклера C1000 (BioRad, США). Кожну реакцію ПЛР проводили в 20 мкл об'єму, що містив 2 мкл Thermo Scientific 10x DreamTaq Green Buffer (Thermo Scientific, Литва), 1 мкл кожного праймера, 0,4 мкл dNTP, 0,1 мкл полімерази, 2 мкл матричної ДНК (зразок) та 14 мкл стерильної води для PCR Master Mix. У кожній ПЛР як позитивні контролю використовували попередньо досліджені зразки ДНК. В якості негативного контролю використовували стерильну воду.

Для молекулярного виявлення *Rickettsia* spp. використовували праймери CS409, Rp1258 [12]. Реакції проводили в наступних умовах: початкова денатурація при 95 ° С протягом 5 хвилин, потім 40 циклів з денатурацією при 95 ° С протягом 45 секунд, відпал при 59 ° С протягом 45 секунд, подовження при 65 ° С протягом 60 секунд, і остаточне подовження при 72 ° С протягом 7 хвилин.

Для молекулярного виявлення *Babesia* spp. використовували наступні праймери BcCOX1R, BcCOX1F [13]. Реакції проводили за таких умов: початкова денатурація при 94 ° С протягом 5 хвилин, потім 40 циклів з денатурацією при 94 ° С протягом 20 секунд, відпал при 57 ° С протягом 30 секунд, подовження при 68 ° С протягом 45 секунд, і остаточне подовження при 72 ° С протягом 7 хвилин.

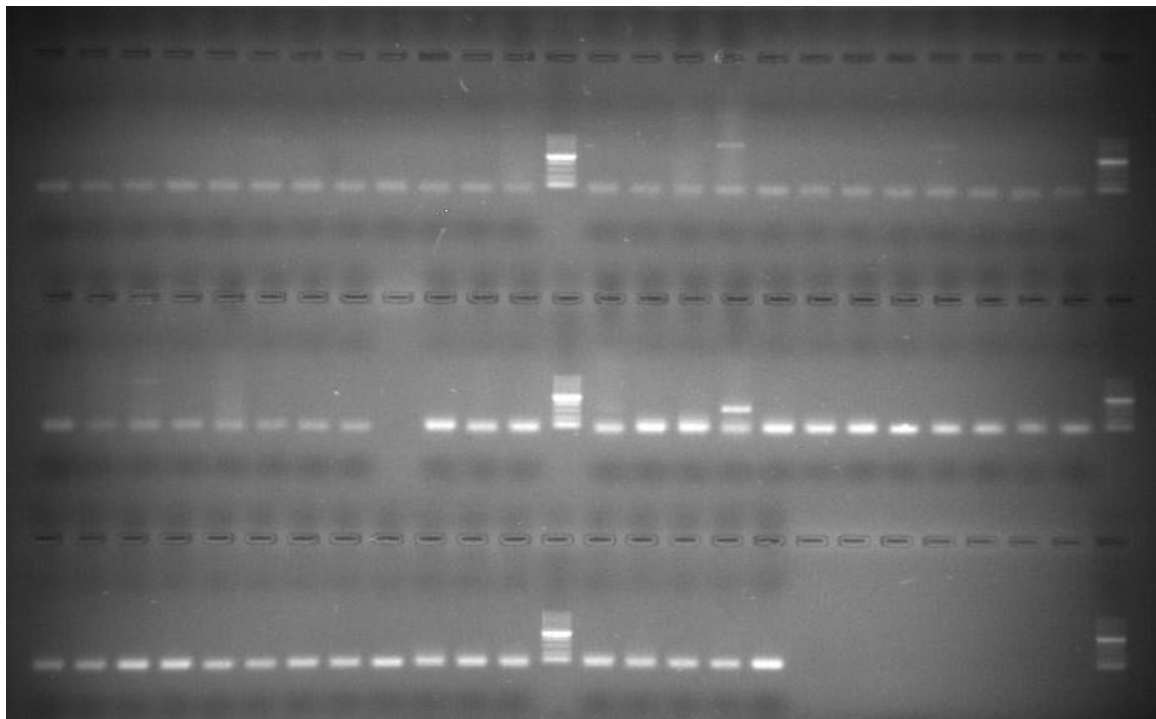
Для молекулярного виявлення *Borrelia* spp. використовували праймери SC1F, SC1R (Marconi & Garon, 1992). Реакції проводили в наступних умовах: початкова денатурація при 94 ° С протягом 4 хвилин, потім 40 циклів з денатурацією при 94 ° С протягом 30 секунд, відпал при 50 ° С протягом 30 секунд, подовження при 72 ° С протягом 30 секунд, і остаточне подовження при 72 ° С протягом 3 хвилин.

Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофору у 1,5% агарозному гелі, забарвленому Midori Green Advance DNA Stain (Nippon Genetics Europe GmbH, Німеччина) та візуалізували ультрафіолетовим світлом.

Результати дослідження та обговорення. Всього за допомогою ПЛР було досліджено 72 кліщі (60 *D. reticulatus* і 12 *I. ricinus*) з рослинності на наявність збудників *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp.

Отже, при лізисі кліщів в гідроксиді амонію для виділення ДНК було виявлено одного кліща *D. reticulatus* позитивного на *Babesia* spp., що становило 4,2 %. При дослідженні на *Rickettsia* spp. було виявлено три позитивних кліща (12,5%), на *Borrelia* spp. – 8 кліщів (33,3%) (Мал. 1).

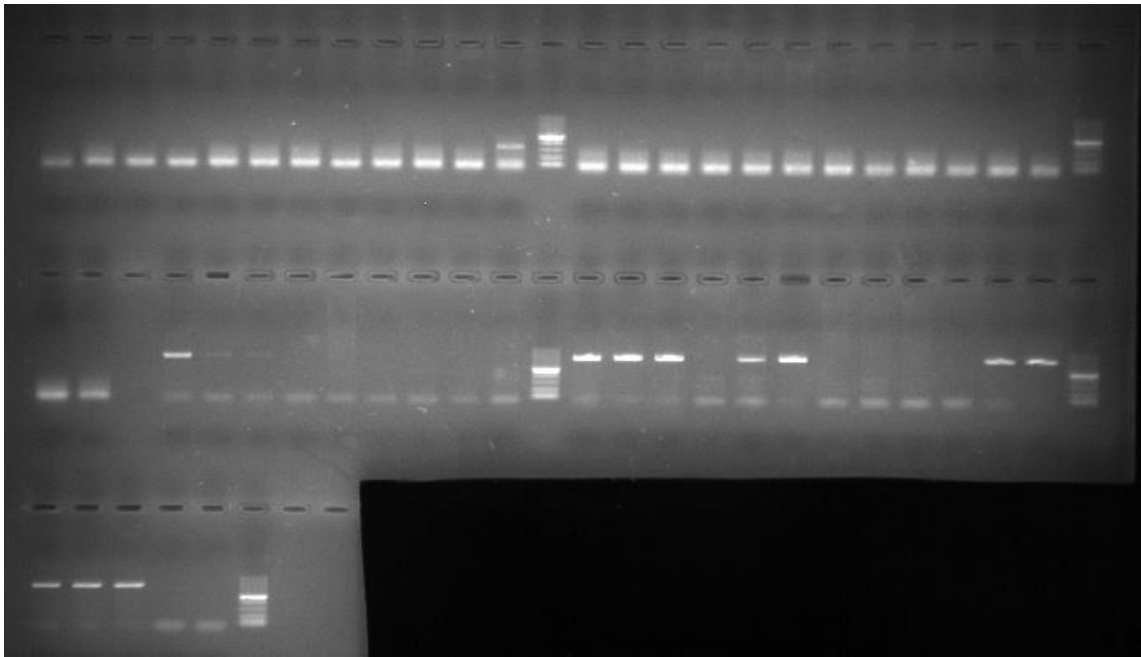
При другому способі виділення ДНК було встановлено, що один кліщ *D. reticulatus* позитивний на *Babesia* spp., що становило 4,2 %. Що стосується *Rickettsia* spp. було виявлено позитивних 13 кліщів, що становило 54,2%. При дослідженні на *Borrelia* spp. було виявлено 33,3% кліщів з ДНК збудника. Серед кліщів *I. ricinus* жодного з досліджених ДНК збудників виявлено не було (Мал. 2).



Мал. 1. Електрофорез продуктів ПЛР у 1,5% агарозному гелі із застосуванням праймерів *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. при подрібнення кліщів ножицями та лізисі в гідроксиді амонію

При другому способі виділення ДНК було встановлено, що один кліщ *D. reticulatus* позитивний на *Babesia* spp., що становило 4,2 %. Що стосується *Rickettsia* spp. було вия-

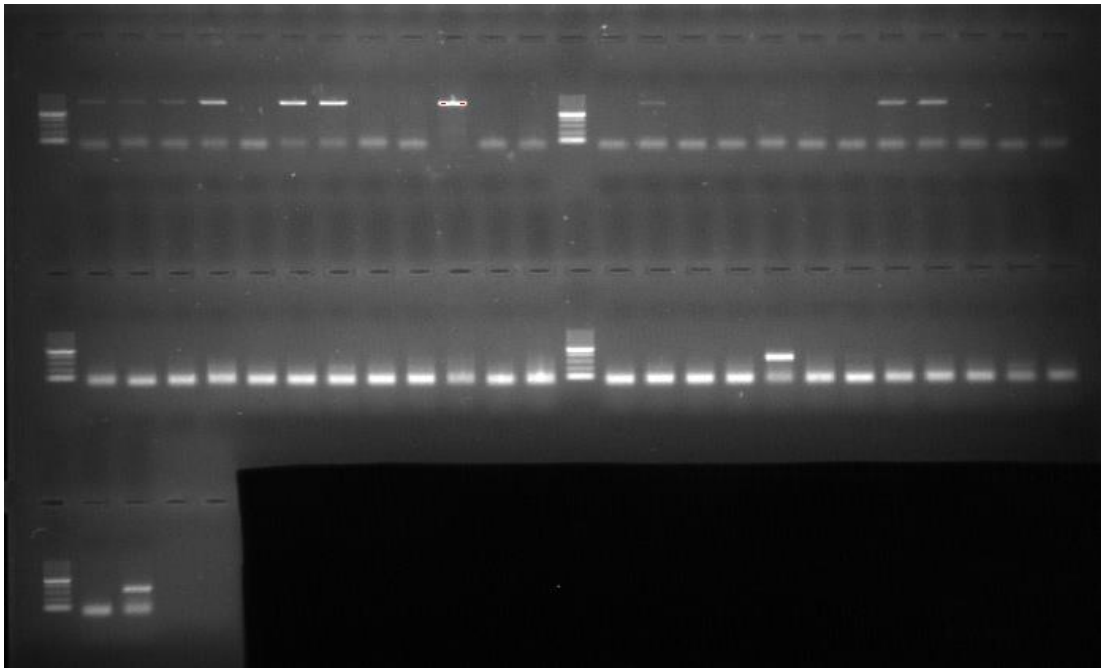
влено позитивних 13 кліщів, що становило 54,2%. При дослідженні на *Borrelia* spp. було виявлено 33,3% кліщів з ДНК збудника. Серед кліщів *I. ricinus* жодного з досліджених ДНК збудників виявлено не було (Мал. 2).



Мал. 2. Електрофорез продуктів ПЛР у 1,5% агарозному гелі із застосуванням праймерів *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. при подрібненні кліщів ножицями з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором

При механічній гомогенізації кліщів з подальшим використанням комерційного набору також було виявлено 4,2% кліщів з ДНК *Babesia* spp., а саме – одного кліща *D. reticulatus*.

ДНК рикетсій було виявлено у 7 кліщів *D. reticulatus* та 2 кліщів *I. ricinus*, що разом становило 37,5%. ДНК *Borrelia* spp. були виявлені серед 37,5% кліщів (Мал. 3).



Мал. 3 Електрофорез продуктів ПЛР у 1,5% агарозному гелі із застосуванням праймерів *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. при криогенній гомогенізації кліщів з подальшою екстракцією ДНК з комерційним набором

Мікст-інвазія при першому способі складала 3,3 %, при другому – 16,7%, третьому – 20,8%.

Аналізуючи одержані результати, варто відзначити, що при першому способі візуалізація продуктів ПЛР була найгіршою і інтерпретація результатів складала труднощі, що може бути пояснено найнижчою якістю отриманого ДНК-матеріалу. При другому і третьому способі даної проблеми не спостерігалось.

В результаті цього дослідження можна зробити висновок, що машинна криогенна гомогенізація кліщів з подальшою ізоляцією ДНК за допомогою комерційних наборів є ефективним методом, який сприяє найкращому виявленню генетичного матеріалу збудників в кліщах.

Якісна ізоляція ДНК з іксодових кліщів є важливою як для генетичних, так і для геномних досліджень самих кліщів, а також для досліджень, спрямованих на виявлення присут-

ності патогенів у кліщах. У нашому дослідженні було проведено визначення та порівняння найбільш надійного та ефективного методу, залежно від бюджету, часу, патогену та мети дослідження.

Промивання кліщів є першим кроком для отримання якісного зразка нуклеїнової кислоти, в зв'язку з тим, що ДНК, отримана від нецільових організмів, що знаходяться на поверхах кліщів, може вступати в реакції з деякими праймерами, що спричинює забруднення і помилково позитивний результат ПЛР. Для цього можна використовувати йод, гіпохлорит натрію або перекис водню (Sparagano et al., 1999). При використанні методів екстракції нуклеїнової кислоти, за яких проводять ферментативне розщеплення білків необхідне попереднє подрібнення кліща з метою механічного руйнування полісахаридних ланцюгів хітину екзоскелету (Halos et al., 2004).

Нами було досліджено методи виділення ДНК, які поєднували механічне подрібнення з протеїновим розщепленням та використанням комерційних наборів, що дозволило ізолювати ДНК із 100% ефективністю від кліщів.

У минулому для гомогенізації кліщів використовували ступку та пестик, але цей метод є дуже копітким. Крім того, він вимагає ще одного етапу ферментативного лізису клітин, який є повільним і може бути неефективним для дослідження мікроорганізмів, що важко лізуються. Застосування механічних гомогенізаторів забезпечує дуже швидке подрібнення кліщів і може призвести до отримання більш якісних нуклеїнових кислот, ніж ті, що отримують при використанні тривалої ферментативної інкубації, за якої нуклеази можуть розкласти нуклеїнові кислоти.

Метод екстракції з гідроксидом амонію є недорогим альтернативним комерційним набором і дає можливість досліджувати дорослих самок, хоча виділення ДНК, як правило, є нижчим, ніж у комерційних наборів (Ammazzalorso et al., 2015), що і було підтверджено у нашому дослідженні. Крім того, окремі автори вказують що цей метод є неефективним при виділенні ДНК з німф кліщів, незважаючи на часте вико-

ристання цього методу для дослідження німф *I. ricinus* у Європі (Guy & Stanek, 1991, Mierzejewska et al., 2020).

Порівняно з другим методом та іншими ефективними вже описаними методиками, третій метод особливо зручний для використання при великій кількості досліджуваних зразків, а також для зразків невеликого розміру, таких як німфи, а також личинки кліщів (Mtambo et al., 2006; Rodríguez et al., 2014).

Ферментативна руйнація білка перед екстракцією ДНК є недостатньою для максимальної ізоляції ДНК. Ймовірно це пов'язано з початковим етапом подрібнення кліщів і вказує на необхідність механічного руйнування полісахаридних ланцюгів хітину екзоскелету кліща (Mtambo et al., 2006; Crowder et al., 2010). Подрібнення ножицями кліщів в комбінації з комерційним набором є ефективним методом ізоляції ДНК кліща, однак це працеємкий спосіб і його важко застосовувати до невеликих зразків, на зразок німф. Механічне машинне криогенне подрібнення кліщів забезпечує найкращі та найнадійніші результати при подальшому дослідженні іксодових кліщів як імагінальних, так і преімагінальних стадій.

Після подрібнення кліщів та білкового розщеплення можна використовувати різні методи екстракції ДНК, включаючи комерційні набори. Наші результати підтверджують, що якість отриманої ДНК відрізняється залежно від різних наборів і методів екстракції, що може мати важливий вплив на успіх досліджень на основі ПЛР (Crowder et al., 2010; Mahittikorn et al., 2005). Таким чином, комбінований метод механічної криогенної гомогенізації кліщів в комбінації з комерційним набором для ізоляції ДНК, пропонує максимальну ефективність з точки зору швидкості, кількості та розміру зразків, що підлягають дослідженню.

Висновки

1. Лізис кліщів за допомогою гідроксиду амонію є працеємким методом і не рекомендований для ізоляції ДНК.
2. Механічна криогенна гомогенізація кліщів рекомендована для використання при великій кількості досліджуваних зразків, а також для зразків невеликого розміру (німфи, личинки кліщів).

References:

1. Ammazalorso, A. D., Zolnik, C. P., Daniels, T. J., & Kolokotronis, S. O. (2015). To beat or not to beat a tick: comparison of DNA extraction methods for ticks (*Ixodes scapularis*). *PeerJ*, 3, e1147. <https://doi.org/10.7717/peerj.1147>
2. Briciu, V. T., Titilincu, A., Tăulescu, D. F., Cârșina, D., Lefkaditis, M., & Mihalca, A. D. (2011). First survey on hard ticks (*Ixodidae*) collected from humans in Romania: possible risks for tick-borne diseases. *Experimental & applied acarology*, 54(2), 199–204. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9418-0>
3. Crowder, C. D., Rounds, M. A., Phillipson, C. A., Picuri, J. M., Matthews, H. E., Halverson, J., Schutzer, S. E., Ecker, D. J., & Eshoo, M. W. (2010). Extraction of total nucleic acids from ticks for the detection of bacterial and viral pathogens. *Journal of medical entomology*, 47(1), 89–94. <https://doi.org/10.1603/033.047.0112>
4. Elston D. M. (2010). Tick bites and skin rashes. *Current opinion in infectious diseases*, 23(2), 132–138. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328335b09b>
5. Földvári, G., Široký, P., Szekeres, S., Majoros, G., & Sprong, H. (2016). *Dermacentor reticulatus*: a vector on the rise. *Parasites & vectors*, 9(1), 314. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1599-x>
6. Guy, E. C., & Stanek, G. (1991). Detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme disease by the polymerase chain reaction. *Journal of clinical pathology*, 44(7), 610–611. <https://doi.org/10.1136/jcp.44.7.610>
7. Halos, L., Jamal, T., Vial, L., Maillard, R., Suau, A., Le Menach, A., Boulouis, H. J., & Vayssier-Taussat, M. (2004). Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Veterinary research*, 35(6), 709–713. <https://doi.org/10.1051/vetres:2004038>
8. Hill, C. A., & Gutierrez, J. A. (2003). A method for extraction and analysis of high quality genomic DNA from ixodid ticks. *Medical and veterinary entomology*, 17(2), 224–227. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00425.x>
9. Hubbard, M. J., Cann, K. J., & Wright, D. J. (1995). Validation and rapid extraction of nucleic acids from alcohol-preserved ticks. *Experimental & applied acarology*, 19(8), 473–478. <https://doi.org/10.1007/BF00048266>

10. Levytska, V.A., & Mushinsky, A.B. (2019). Monitoring of vector-borne diseases in the west part of Ukraine. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 21(96), 14–18. doi: 10.32718/nvlvet9603 [In Ukrainian]
11. Mahittikorn, A., Wickert, H., & Sukthana, Y. (2005). Comparison of five DNA extraction methods and optimization of a b1 gene nested PCR (nPCR) for detection of *Toxoplasma gondii* tissue cyst in mouse brain. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 36(6), 1377–1382.
12. Mahittikorn, A., Wickert, H., & Sukthana, Y. (2005). Comparison of five DNA extraction methods and optimization of a b1 gene nested PCR (nPCR) for detection of *Toxoplasma gondii* tissue cyst in mouse brain. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 36(6), 1377–1382.
13. Marconi, R. T., & Garon, C. F. (1992). Development of polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. *Journal of clinical microbiology*, 30(11), 2830–2834. <https://doi.org/10.1128/JCM.30.11.2830-2834.1992>
14. Mierzejewska, E. J., Dwuznik, D., Koczwarska, J., Stańczak, Ł., Opalińska, P., Krokowska-Paluszak, M., Wierzbicka, A., Górecki, G., Bajer, A. (2020) The red fox (*Vulpes vulpes*), a possible reservoir of *Babesia vulpes*, *B. canis* and *Hepatozoon canis* and its association with the tick *Dermacentor reticulatus* occurrence, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 101551, ISSN 1877-959X, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101551>.
15. Mtambo, J., Van Bortel, W., Madder, M., Roelants, P., & Backeljau, T. (2006). Comparison of preservation methods of *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) for reliable DNA amplification by PCR. *Experimental & applied acarology*, 38(2-3), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s10493-006-0004-4>
16. Pangráčová, L., Derdáková, M., Pekárik, L., Hviščová, I., Vichová, B., Stanko, M., Hlavatá, H., & Peňko, B. (2013). Ixodes ricinus abundance and its infection with the tick-borne pathogens in urban and suburban areas of Eastern Slovakia. *Parasites & vectors*, 6(1), 238. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-238>
17. Rauter, C., & Hartung, T. (2005). Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. *Applied and environmental microbiology*, 71(11), 7203–7216. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7203-7216.2005>
18. Rodríguez, I., Fraga, J., Noda, A. A., Mayet, M., Duarte, Y., Echevarria, E., & Fernández, C.. (2014). An Alternative and Rapid Method for the Extraction of Nucleic Acids from Ixodid Ticks by Potassium Acetate Procedure. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(4), 542–547. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402005>
19. Roux, V., Rydkina, E., Ereemeeva, M., & Raoult, D. (1997). Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *International journal of systematic bacteriology*, 47(2), 252–261. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-252>
20. Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & John, R. (2012). PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *Journal of applied microbiology*, 113(5), 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
21. Sparagano, O. A., Allsopp, M. T., Mank, R. A., Rijpkema, S. G., Figueroa, J. V., & Jongejan, F. (1999). Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review. *Experimental & applied acarology*, 23(12), 929–960. <https://doi.org/10.1023/a:1006313803979>
22. WHO, 2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>

Viktoriya Levytska, State Agrarian and Engineering University in Podilya (Kamianets-Podilskyi, Ukraine)

Andriy Mushinsky, State Agrarian and Engineering University in Podilya (Kamianets-Podilskyi, Ukraine)

Dorota Dwuznik Department of Eco-Epidemiology of Parasitic Diseases, Institute of Developmental Biology and Biomedical Sciences, Faculty of Biology, University of Warsaw (Warsaw, Poland)

Ewa J. Mierzejewska, Department of Eco-Epidemiology of Parasitic Diseases, Institute of Developmental Biology and Biomedical Sciences, Faculty of Biology, University of Warsaw (Warsaw, Poland)

Anna Bajer, Department of Eco-Epidemiology of Parasitic Diseases, Institute of Developmental Biology and Biomedical Sciences, Faculty of Biology, University of Warsaw (Warsaw, Poland)

Comparison of methods of DNA extraction from ixodid ticks

Ixodid ticks are ectoparasites of animals and humans that carry a wide variety of pathogenic microorganisms. Ticks can cause pathological conditions such as paralysis, fever, toxicosis and allergies, as well as a large number of infectious and invasive diseases. The aim of our study was to compare three methods of DNA extraction, to test their effectiveness and practicality in obtaining material from ticks and to determine their effect on the results of PCR-based studies. During 2018, questing ticks were collected from vegetation in Khmelnytsky region. Three different methods were used for DNA extraction: crushing of ticks with scissors and lysis in ammonium hydroxide, crushing with scissors followed by DNA extraction with a commercial kit Genomic Mini AX Tissue Spin (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), homogenization of ticks with programmable cryogenic grinder SPEX Sample Prep Freezer Mill 6875 followed by extraction of DNA with Genomic Mini AX Tissue Spin.

*A total of 72 ticks (60 *D. reticulatus* and 12 *I. ricinus*) from vegetation were examined by PCR for the presence of pathogens from genera/complex *Babesia*, *Rickettsia* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.).*

*Following the first method of DNA extraction, 4.2% of ticks tested positive for *Babesia* spp., and DNA of *Rickettsia* spp. and *Borrelia burgdorferi* s.l. was detected in 12.5% and 33.3% of ticks, respectively. Following the second method of DNA extraction, 4.2% of ticks tested positive for *Babesia* spp., and DNA of *Rickettsia* spp. and *Borrelia burgdorferi* s.l. was detected in 54.2% (13 positive specimens) and 33.3% of ticks, respectively. The third method also revealed 4.2% of ticks positive for DNA of *Babesia* spp. *Rickettsia**

DNA was detected in 7 D. reticulatus and 2 I. ricinus ticks, (37.5%). DNA of Borrelia spp. was identified in 37.5% of ticks. Thus, the combined method of mechanical homogenization of ticks in combination with a commercial kit for DNA isolation, offers maximum efficiency in terms of speed, number and size of samples to be studied.

Key words: ticks, DNA extraction, Babesia spp, Rickettsia spp, Borrelia spp

Дата надходження до редакції: 20.01.2020 р.

КОНТАМІНАЦІЯ ФЕКАЛІЙ ДРІБНИХ ДОМАШНІХ ТВАРИН *YERSINIA ENTEROCOLITICA* В МІСТАХ УКРАЇНИ**Зон Ілля Григорович**

аспірант

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-9969-3465

zonillya@hotmail.com**Зон Григорій Анатолійович**

кандидат ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-8205-4149

zon_g@ukr.net**Івановська Людмила Борисівна**

кандидат ветеринарних наук, доцент

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-7406-0696

lusj0951@gmail.com**Труба Ольга Олексіївна**

аспірантка

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-5544-5902

olga.tryba93@gmail.com

В роботі представлені матеріали щодо результатів дослідження фекалій собак і котів на контамінацію збудником кишкового ієрсиніозу. Лабораторні дослідження проводили за загальною визнаною методикою. Використані бактеріологічні, бактеріоскопічні, серологічні та біохімічні методи досліджень з метою ідентифікації ізолятів. Показано, що *Yersinia enterocolitica* ізолюється в межах від 10 до 26,6% з фекалій собак та від 6,7 до 14,3% з фекалій котів, які відібрані з прибудинкових територій міст України. Культури *Yersinia enterocolitica* були представлені кількома біоварами, серед яких домінував біовар 1. Підняті питання біобезпеки людини та дрібних домашніх тварин щодо розповсюдження збудника кишкового ієрсиніозу та формування локальних урбаністичних осередків інфекції. Домінуючим сероваріантом *Y. enterocolitica*, що контамінує собак і котів в Україні є O:9, менша частка припадає на O:6.30, і виявляються поодинокі випадки контамінації сероваром O:3.

Ключові слова: контамінація *Yersinia enterocolitica*, feces, дрібні домашні тварини.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.3>

Вступ. Джерелом кишкового ієрсиніозу, спричиненого *Y. enterocolitica*, можуть бути хворі та бактеріоносії сільськогосподарські, свійські і дикі тварини, в тому числі синантропні птахи та гризуни (Скрипник В.Г., 1999). Саме процес здійснення паразитичної фази існування ієрсинії пов'язаний з проникненням в організм теплокровної тварини і людини. Сапрофітна фаза існування ієрсинії здійснюється в зовнішньому середовищі. Вплив на ці дві фази різноманітних факторів за останні роки призводить до обмеження або поширення *Y. enterocolitica*. Багато в чому цьому процесу сприяє існування збудника за низьких температур (до -12°C), що навіть стимулює в подальшому його активність та розмноження. Тому накопичення *Y. enterocolitica* в фекаліях в зимовий період навесні дає поштовх до спалаху спонтанного кишкового ієрсиніозу (Каврук Л.С., 2006). Звичайно цей факт не може не турбувати з приводу того, що після зими (переважно на фоні глобальної зміни рівня негативних температур в бік потепління) в містах, де досі не впорядковано вигульні майданчики для дрібних домашніх тварин, а там, де вони існують, не проводиться регулярне прибирання фекалій та санація території. Проте ізоляція збудника кишкового ієрсиніозу з feces со-

бак і котів можлива в будь-яку пору року. Враховуючи ці факти, постає питання про утворення і підживлення урбаністичних осередків збудника кишкового ієрсиніозу та існування різновекторного механізму його передачі до людини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Сапрофіти – провідні представники численної частини екологічного об'єднання живих тварин – істот-деструкторів. Разом з тим, вони можуть бути нормальними мешканцями кишечника тварин. Існують сапрофіти, здатні розмножуватись у придатних системах чи локальних умовах всередині організму або в його некротизованих тканинах, зумовлюючи токсичними продуктами свого метаболізму специфічні хвороби – сапронози. Серед сапрофітів існує численна група патогенних бактерій (Зуев В.С., 2004).

Сапронози – загальне визначення для інфекцій і мікозів, що спричинюються сапрофітами, збудники яких не є паразитами і ведуть сапрофітний спосіб життя в ґрунтових та водних видах суспільства (Пушкарева В.И., 1994). У такому разі наслідки зараження обмежуються рівнем інфекційного процесу, тобто взаємодією збудник + сприйнятливий організм, естафетна передача збудника не відбувається і не утворюється паразитарна система з міждіючим рівнем

взаємодії (за винятком хвороб, що зумовлюють розвиток сепсису). У цьому випадку епізоотичний ланцюг для більшості сапронозів обмежується елементарною коміркою епізоотичного процесу (збудник – механізм передачі – сприйнятливий організм), і в такому разі прийнято говорити про біологічний тупик збудника. Тому, хоча для сапронозів захворюваність може бути високою, типовими будуть *спорадія, ензоотичність, природна вогнищевість*. Поряд із сапрофітними властивостями цей мікроорганізм проявляє і паразитичні. Ієрсинії є типовими сапрофітами, а захворювання, що вони спричиняють, називають сапронозами. Ієрсиніози розглядаються як типові представники сапронозних інфекцій і тому мають усі ланцюги епізоотичного процесу, що притаманні для цієї групи хвороб, які є також зоонозами (Макаров В.В., 2004).

Збудник може закономірно змінювати фазу паразитизму на фазу сапрофітизму. Джерелами збудника інфекції можуть бути як дикі і сільськогосподарські тварини, так і абіотичні фактори зовнішнього середовища (грунт, вода, рослини тощо) (Корнієнко Л.Є., Недосєков В.В., Бусол В.О. та ін., 2009). Зважаючи на це, дослідників кишкового ієрсиніозу все більше цікавлять екологічні аспекти циркуляції збудника хвороби (Кортняк Б.М., 2006), з'ясування екологічних закономірностей існування патогенних ієрсиній в екосистемах ґрунту (Бренева Н.В., Марамович А.С., Климов В.Т., 2005), біоценотичні основи природної вогнищевості сапронозів (Литвин В.Ю., Пушкарєва В.І., Емельяненко Е.Н., 2004), пристосування збудника до сучасних умов існування (Сомов Г.П., Бузалева Л.С., 2002, 2004).



Рис. 1. Контейнери та хладоген для транспортування зразків фекалій

Бактеріологічним дослідженням було піддано 351 пробу фекалій собак і котів. Ізоляцію ієрсиній проводили відповідно до методу «холодового збагачення» з попереднім накопиченням в фосфатно-буферному розчині (рН 7,2-7,4) в умовах холодильника при +4°C. Метод базується на здібності *Y. enterocolitica* добре розмножуватись і накопичуватись на середовищах за низької температури, в той час, коли інші мікроорганізми в цих умовах не здатні рости або ростуть дуже повільно. Крім того, використання як середовища накопичення, фосфатно-буферного розчину, створює деякі переваги росту ієрсиній порівняно з іншими видами бактерій, тому що *Y. enterocolitica* не примхлива до умов існування (Бабкін А.Ф., Івановська Л.Б., 2005).

Для дослідження по 1 г фекалій додавали в кожну з пробірок, що вміщували по 10 мл розчину, і які, розміщували в холодильнику та утримували впродовж тижня, періодично

Продовжується робота з удосконалення лабораторної діагностики кишкового ієрсиніозу (Зікін Л.Ф., Хапцев З.Ю., 2001; Каврук Л.С., 2006) та визначення впливу збудника на різні системи організму (Ленченко Е.М., 2003). Приділяється увага взаємодії збудника в змішаних культурах на щільних середовищах за різних температур (Кузнецов В.Г., Тимченко Н.Ф., 2002). Все це покращує сучасний стан вивчення шляхів розповсюдження ієрсиніозної інфекції (Frederiksson-Ahoma M., Korte T., & Korkeala H., 2001) та прояву хвороби у тварин (Шумилов К.В., Мельниченко Л.П., Селиверстов В.В, 1998) та людини (Mu, Y.J, Zhao, J.Y., & Guo, Q.S., et al., 2011) за спорадичного перебігу (Frederiksson-Ahoma M., Hallanvuori S., Korte T, Siitonen A., & Korkeala H., 2001).

Мета роботи. Метою наших досліджень було з'ясувати рівень контамінації фекалій собак/котів з місць їх вигулів в містах України. Робота виконувалася в рамках НДР кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ «Удосконалення методів ранньої діагностики і лікувально-профілактичних заходів для запобігання емерджентних та економічно значущих хвороб тварин» (№ державної реєстрації 0118U100371) з 2018 по 2020 роки.

Матеріали і методи досліджень. Свіжі фекалії з місць вигулів дрібних домашніх тварин відбирали як самостійно, так і за допомогою лікарів ветеринарної медицини клінік ветеринарної медицини різних міст України, розміщували в стандартні пластикові контейнери і разом з хладогеном транспортували до лабораторії, де проводили бактеріологічні дослідження з метою ізоляції та ідентифікації ієрсиній.

проводячи висіви на середовище Ендо та «Ієрсиніозне середовище» (ТУ У 24.4 – 37219230-001:2011 виробництва ТОВ «Фармактив» м. Київ). Перед висівом, з метою деконтамінації від лугонестійких бактерій, матеріал обробляли 0,5% розчином гідроксиду калію на 0,5% розчині натрію хлориду в лунках полістеролових пластинок, попередньо оброблених 70° етанолом. В кожну лунку вносили 0,2 мл 0,5% розчину гідроксиду калію і додавали по 1 краплі досліджуваного матеріалу, використовуючи стерильні піпетки Пастера. Суміш витримували протягом 2-3 хвилин при температурі +18-20°C, після чого висівали за допомогою бактеріологічної петлі на диференційно-діагностичні середовища переривчастим штрихом. Інкубацію посівів проводили в термостаті за температури +25°C протягом двох діб. З поверхні середовища Ендо знімали від 3 до 5 лактозонегативних дрібних, прозорих з

ніжним блакитним відтінком колоній через 18-24 годин інкубування, а також колоній середніх розмірів з рожево-червоним центром і блакитно-сірою облямівкою через 36-48 годин. В якості контролю використовували референтний штам *Y. enterocolitica*, отриманий з Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупіка МОЗ України.

З середовища Ендо підозрілі колонії пересівали на слаболужний агар (МПА або Хотінгера) в чашках Петрі, які інкубували впродовж 18-24 годин при +25°C. Вивчали морфологію бактерій в мазках, що забарвлювали за Грамом.

Біохімічні дослідження ізолятів були спрямовані на встановлення ферментації вуглеводів і спиртів з розщепленням сахарози, мальтози, глюкози, маніту та утворенням кислоти без газу, повної утилізації сечовини, за відсутності розщеплення рамнози і лактози. Для визначення біовару у культур *Y. enterocolitica* проводили комплекс біохімічних тестів – на трегалозу, ксилозу, індол, ескулін, саліцин, лецитіназу відповідно до таблиці 1.

Таблиця 1. Диференціація біоварів *Y. enterocolitica* за біохімічними властивостями

Біовар	Трегалоза	d-ксилоза	Індол	лецитіназа	Саліцин або ескулін
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-
3	+	+	-	-	-
4	+	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-

Для визначення сероваріанту виділених культур використовували в РА на склі стандартні ієрсиніозні О-сироватки (О:3, О:6.30, О:9), виготовлені лабораторією вивчення бруцельозу ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Результати досліджень. В результаті досліджень 180 проб фекалій собак було ізольовано 33 культури

(18,3%) *Y. enterocolitica*, з яких було віднесено до біовару 1 – 18 (54,6%) культур, до біовару 2 – 11 (33,4%) культур, до біовару 3 – 2 (6%) культури, до біовару 4 – 2 (6%) культур і ні жодної до біовару 5 (таблиця 2). Кількість ізолятів ієрсиній з проб фекалій, отриманих з різних міст коливалась в межах від 10 до 26,6 %.

Таблиця 2. Результати ізоляції ієрсиній з фекалій собак

Місто	Кількість проб	Кількість позитивні / негативні	% позитивних	Ізоляти ієрсиній	
				серовар	Культура / № біовару
Суми	25	6/19	24,0	<i>Y. enterocolitica</i>	3/1;2/2;1/4
Харків	20	5/15	25,0	<i>Y. enterocolitica</i>	4/1;1/2
Чернігів	20	3/17	15,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1;2/2
Полтава	12	3/9	25,0	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1;1/3
Київ	15	4/11	26,6	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1;1/2;1/4
Житомир	10	2/8	20,0	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1
Одеса	16	3/13	18,7	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1;1/3
Дніпро	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/2
Запоріжжя	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1
Львів	12	2/8	16,6	<i>Y. enterocolitica</i>	2/2
Рівне	10	2/8	20,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1;1/2
Луцьк	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/2

Результати скринінгових досліджень щодо ізоляції ієрсиній показали, що з 171-ї збірної проби фекалій котів вдалось ізольовати 15 культур *Y. enterocolitica* (8,8%), які було віднесено до кількох біоварів. Так, 8 ізолятів (53,3%) культур було віднесено до біовару 1, 5 (33,3%) культур - до біовару 2

і 2 культури (13,4%) до біовару 3 (таблиця 3). Кількість ізолятів ієрсиній з проб фекалій котів, отриманих з різних міст коливалась в межах від 6,7 до 14,3 %. Проте в двох випадках, з матеріалів отриманих з міст Дніпро та Рівне, не вдалось виділити жодної культури *Y. enterocolitica*.

Таблиця 3. Результати ізоляції ієрсиній з фекалій котів

Місто	Кількість проб	Кількість позитивні / негативні	% позитивних	Ізоляти ієрсиній	
				вид	культура / № біовару
Суми	25	2/23	8,0	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1
Харків	20	2/18	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1;1/2
Чернігів	20	2/18	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1;1/2
Полтава	15	1/14	6,7	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1
Київ	15	2/13	13,3	<i>Y. enterocolitica</i>	2/1
Житомир	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/2
Одеса	14	2/12	14,3	<i>Y. enterocolitica</i>	1/2;1/3
Дніпро	10	-	-		
Запоріжжя	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/3
Львів	12	1/11	8,3	<i>Y. enterocolitica</i>	1/1
Рівне	10	-	-		
Луцьк	10	1/9	10,0	<i>Y. enterocolitica</i>	1/2

При визначенні сероваріанту ізолятів *Y. enterocolitica*

від собак в РА з різними ієрсиніозними сироватками було визначено наступне (табл.4). Самостійно з сироваткою O:9 виявили найбільше позитивних реакцій - 23 (69,8%), крім того в двох випадках позитивна реакція була виявлена одночасно з

сироватками O:9 та O:6.30 (6,0%), а також дві позитивні проби (6,0%) з сироваткою O:3 та 6 - з сироваткою O:6.30 (18,2 %).

Таблиця 4. Результати визначення сероваріанту виділених з фекалій собак ізолятів *Y.enterocolitica*

Місто	Кількість проб	Кількість ізолятів	Ізоляти ієрсинії	
			вид	кількість/ серовар
Суми	25	6	<i>Y.enterocolitica</i>	4-0:9; 2 - 0:6.30
Харків	20	5	<i>Y.enterocolitica</i>	4-0:9; 1- 0:6.30
Чернігів	20	3	<i>Y.enterocolitica</i>	3-0:9
Полтава	12	3	<i>Y.enterocolitica</i>	2-0:9; 1-0:6.30
Київ	15	4	<i>Y.enterocolitica</i>	4-0:9
Житомир	10	2	<i>Y.enterocolitica</i>	1 - 0:9; 1-0:9; +0:6.30
Одеса	16	3	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:3; 2 - 0:9
Дніпро	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1- 0:9
Запоріжжя	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:9; +0:6.30
Львів	12	2	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:3; 1-0:9
Рівне	10	2	<i>Y.enterocolitica</i>	1--0:9; 1-0:6.30
Луцьк	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1- 0:6.30

При визначенні сероваріанту *Y.enterocolitica* ізолюваних з фекалій котів (табл.5) з сироваткою O:9 також виявили найбільше позитивних реакцій - 9 (60,0%), крім того в одному випадку позитивна реакція була виявлена одночасно

до сироваток O:9 та O:6.30 (6,7%), а також дві позитивно реагуючі проби (13,3%) з сироваткою O:3 та 3 проби з сироваткою O:6.30 (20,0 %).

Таблиця 5. Результати визначення сероваріанту виділених з фекалій котів ізолятів *Y.enterocolitica*

Місто	Кількість проб	Кількість ізолятів	Ізоляти ієрсинії	
			вид	кількість/ серовар
Суми	25	2	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:9; 1-0:6.30
Харків	20	2	<i>Y.enterocolitica</i>	2-0:9
Чернігів	20	2	<i>Y.enterocolitica</i>	2-0:9
Полтава	15	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:9
Київ	15	2	<i>Y.enterocolitica</i>	2-0:9
Житомир	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:6.30
Одеса	14	2	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:3; 1- 0:9
Дніпро	10	--	-	-
Запоріжжя	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:9 +0:6.30
Львів	12	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1-0:3
Рівне	10	-	-	-
Луцьк	10	1	<i>Y.enterocolitica</i>	1- 0:6.30

При дослідженні ізолятів встановлено, що в рідкому поживному середовищі культури росли утворюючи осад у вигляді пластівців або спричиняли рівномірне каламучення середовища. На слаболужному МПА в чашках Петрі ієрсинії росли у вигляді гладких, прозорих, помірно опуклих колоній з легким голубуватим відтінком 0,1-0,2 мм в діаметрі (рис.2а).

На середовищі Ендо ієрсинії мали вигляд лактозонегативних дрібних, прозорих з нижнім блакитним відтінком колоній (рис.2б). На «ієрсиніозному середовищі» підозра на ріст *Y.enterocolitica* була пов'язана з наявністю синьо-зелених колоній (рис.2в).

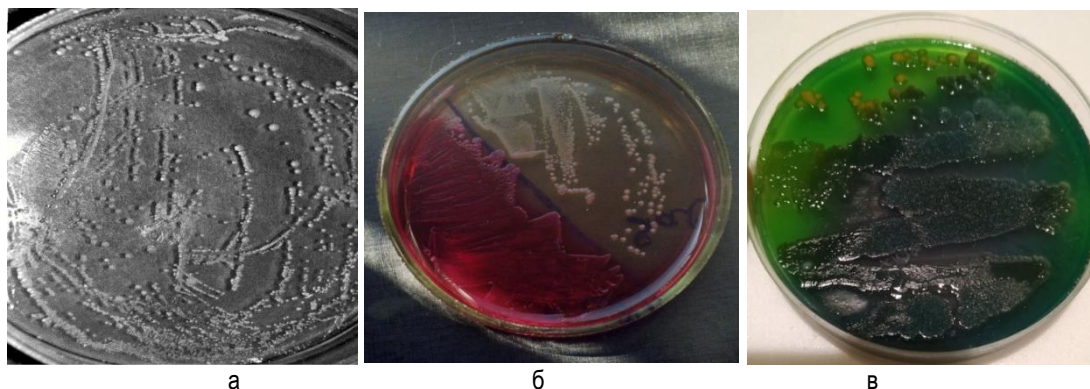


Рис. 2. Колонії *Yersinia enterocolitica* на МПА (а), середовищі Ендо (б) та «ієрсиніозному середовищі» (в)

При вивченні морфології бактерій в мазках, що забарвлювали за Грамом, ієрсинії мали переважно паличкоподібну форму, із заокругленими кінцями завдовжки 0,8–1,2 і заширшки 0,5–0,8 мкм. В окремих мазках спостерігали і більш великі палички, розміром від 1,0 до 2,7 мкм завдовжки та 0,4–1 мкм заширшки (рис.3).



Рис. 3. Забарвлена за Грамом культура ієрсиній, х400

При встановленні біохімічних властивостей у всіх культур ієрсиній виявляли ферментацію вуглеводів і спиртів з розщепленням сахарози, мальтози, глюкози, маніту та утворенням кислоти без газу, з повною утилізацією сечовини, за відсутності розщеплення рамнози і лактози, за виключенням деяких біоварів редукували нітрати, були каталазопозитивними та оксидазо негативними.

Визначення біохімічних властивостей ізолятів ієрсиній проводили шляхом висівів на середовища Гіса з цукрами. Для цього матеріал ізольованих бактерій бактеріологічною петлею вносили уколком в напіврідкі середовища з цукрами і інкубували протягом 1-2 діб за температури +25°C. На середовищах Гіса усі культури не утворювали сірководень, проте утворювали індол, ферментували сечовину (уреазопозитивні) і з утворенням кислоти без газу – сахарозу, мальтозу, глюкозу, сорбіт і маніт та не ферментували лактозу і рамнозу. Результати визначення ферментативних властивостей 12-ти ізолятів *Y. enterocolitica*, отриманих з біоматеріалів собак з міст Північно-Східної України представлені в таблиці 6.

Таблиця 6. Результати визначення ферментативних властивостей окремих ізолятів *Y. enterocolitica* з фекалій собак, n =12

№ з/п	Код культури	Показники									
		уреаза	індол	H ₂ S	сахароза	мальтоза	рамноза	сорбіт	лактоза	глюкоза	маніт
1	Y. e. S ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
2	Y. e. S ₂	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
3	Y. e. S ₃	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
4	Y. e. Ch ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
5	Y. e. Ch ₂	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
6	Y. e. K ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
7	Y. e. L ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
8	Y. e. Kh ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
9	Y. e. Kh ₂	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
10	Y. e. Kh ₃	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
11	Y. e. Kr ₁	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
12	Y. e. Kr ₂	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+

Обговорення. Узагальнюючи результати скринінгових досліджень щодо ізоляції ієрсиній зі збірних проб фекалій собак, можна констатувати те що, з досліджених 180 проб було ізольовано 33 культури *Y. enterocolitica*, що становило 18,3%. Проте ці культури були представлені чотирма біоварами, з яких переважав бровар 1 (54,6% випадків). Дослідження щодо ізоляції ієрсиній з фекалій котів показали, що з 171-ї вдалось виділити та ідентифікувати 15 культур *Y. enterocolitica* (8,8%), які було віднесено до кількох біоварів, з яких 53,3% культур було віднесено до біовару 1. Проведена робота свідчить проте, що контамінація фекалій дрібних домашніх тварин в різних містах країни не однакова. Контакт між собаками та котами та їх власниками помітно змінився протягом останніх років в більшості постіндустріальних країн (Zheng, H., Sun, Y., Lin, S., Mao, Z., & Jiang, B. 2008; Boqvist, S, Pettersson, H, Svensson, A, & Andersson, Y., 2009; Wang, X., Cui, Z., Wang, H., Tang, L., & Yang, J. et al., 2010). Через на багато тисніші контакти людини з тваринами – компаньйонами полегшується передача мікроорганізмів між ними (Fenwick, S.G., Madie, P, & Wilks, C.R., 1994). Собаки здатні легко інфікуватися через їжу контаміновану *Y. enterocolitica*, контакти з іншими тваринами, можуть бути носіями збудника і виділяти його понад три тижні (Fredriksson-Ahomaa, M, Korte, T, & Korkeala, H., 2001; Stamm, I., Hailer, M., Depner, B., Kopp,

P.A., & Rau J., 2013). Зрозуміло, що при проведенні широкомасштабних досліджень кількісні показники щодо ізоляцій збудника кишкового ієрсиніозу можуть дещо змінитися. Але, навіть враховуючи певну статистичну похибку можна свідчити про достатньо високий рівень контамінації дрібних домашніх тварин *Y. enterocolitica*, що активно впливає на формування локальних урбаністичних осередків інфекції та створює небезпеку спалахів ієрсиніозних спорадій і навіть ензоотій (ендемій), тому що ієрсиніоз є типовими представниками сапронозних інфекцій і мають усі ланцюги епізоотичного(епідемічного) процесу.

Висновки.

1. Кількість ізолятів ієрсиній з проб фекалій собак, отриманих з різних міст коливалась в межах від 10 до 26.6 %, а з проб фекалій котів - в межах від 6,7 до 14,3 %.

2. За морфологічними, тінкторіальними та основними біохімічними властивостями більшість ізолятів *Y. enterocolitica* були схожі між собою.

3. Серед ізолятів *Y. enterocolitica* отриманих з фекалій собак і котів домінують біовари 1 та 2.

Напрямами подальших досліджень буде визначення патогенних властивостей ізолятів ієрсиній.

References:

1. Babkin, A.F., Ivanovska, L.B. (2005). Metodichni rekomendatsii z yersiniozu tvaryn (diahnostyka, dyferentsiina diahnostyka nespetsyfichnykh reaktsii z brutseloznymy diahnostykumamy. Sumy: SNAU. 29 s. [in Ukrainian].
2. Breneva, N.V., Maramovych, A.S., & Klymov, V.T. (2005). Ekolohycheskye zakonomernosti sushchestvovaniya patohennykh yersyniy v pochvennykh ekosystemakh. [Ecological regularities of the existence of pathogenic Yersinia in soil ecosystems]. *Journal of microbiol., Epidemiol. and Immunobiol.* 6. 82–88 [in Russian].
3. Dovbysh, V.S. (2003). Krytery dyferentsyatsyy yersyniy ot taksonomychesky blyzkykh y skhodnykh vydiv bakteriy. [Criteria for the differentiation of Yersinia from taxonomically close and similar bacterial species]. *Veterinary pathology: Actual problems of diseases of young animals in modern conditions.* M.: *Veterinary Consultant.* Ch.2. 60–61 [in Russian].
4. Zuev, V.S. (2004). Saprophytyzm patohennykh bakteriy. [Saprophytism of pathogenic bacteria]. *Veterinary pathology.* 11–16 [in Russian].
5. Zyky, L.F., & Khaptsev, Z.Iu. (2001). Usovershenstvovanye laboratornoi dyahnostyky kyshechnoho yersynioza y psevdotuberkuleza. [Improvement of laboratory diagnostics of intestinal yersiniosis and pseudotuberculosis]. *Veterinary medicine.* 5. 22 – 23 [in Russian].
6. Kavruk, L.S., Shumilov, K.V., & Melnichenko, L.P. et al. (2006). Metodicheskye ukazaniya po laboratornoi dyahnostyke yersynioza zhyvotnykh y obnaruzheniyu vzbudytelia bolezny v miasnom syre, moloke y rastytelnykh kormakh. [Methodological guidelines for laboratory diagnosis of animal yersiniosis and detection of the causative agent in raw meat, milk and plant feed]. *Veterynarnyi konsultant.* - 13 (128). 14 s. [in Russian].
7. Kavruk, L.S. (2006). Ekolohycheskye aspekty tsyrukulyatsyy vzbudytelia kyshechnoho yersynioza. [Ecological aspects of the circulation of the causative agent of intestinal yersiniosis]. *Veterinary of agricultural animals.* 11.10–11 [in Russian].
8. Kononenko, A.B., Svetlichkin, V.V., Svetlichkin, O. V., et al. (2006). Metodicheskye ukazaniya po yndykatsyy Yersinia enterocolitica metodom polymeraznoi tsepoi reaktsyy. *Veterynarnyi konsultant.* [Guidelines for the indication of Yersinia enterocolitica by polymerase chain reaction]. 23. 19–20 [in Russian].
9. Kuznetsov, V.H., & Tymchenko, N.F. (2002). Vzaymodeistviye vzbudyteli nekotorykh sapronozov v smeshannykh kulturakh na plotnoi srede pry raznykh temperaturakh. [Interaction of causative agents of some sapronoses in mixed cultures on a dense medium at different temperatures]. *Journal of Microbiology, Epidemiol. and Immunobiol.* 1. 11–16 [in Russian].
10. Lenchenko, E.M. (2003). Morfolohiya tonkoho otdela kyshechnykh pry eksperymentalnom yersynioze [Morphology of the small intestine in experimental yersiniosis]. *Veterinary pathology: Actual problems of diseases of young animals in modern conditions.* M., Ch. 2. 97–98 [in Russian].
11. Lytyyn, V.Iu., Pushkareva, V.Y., & Emelianenko, E.N. (2004). Byotsenoticheskye osnovy pryrodnoi ochahovosti sapronozov (ytoh 15 – letnykh nabliudenyi) [Biocenotic foundations of natural foci of sapronoses (results of 15– year observations)]. *Journal of Microbiology, Epidemiol. and Immunobiol.* 4. 102–108 [in Russian].
12. Makarov, V.V. (2004). Zoonozy. *Veterynarnaia patolohiya.* 3 (10). 7–9 [in Russian].
13. Petrenko Y.D. (2004). Klynyko-epyzootolohycheskye y patoloho-anatomycheskye pokazaniya dlia provedeniya serolohycheskoi y bakteriolohycheskoi dyahnostyky na yersynioz y kamylobakterioz zhyvotnykh. [Clinical and epizootic and pathological and anatomical indications for serological and bacteriological diagnostics for yersiniosis and campylobacteriosis in animals]. *Veterinary medicine: interdepartmental topic. science. collection.* 84. 565–567 [in Russian].
14. Pushkareva V.Y. (1994). Patohennyye bakteryy v pochvennykh y vodnykh soobshchestvakh (eksperymentalno-ekolohycheskoe yssledovanye): dys. d-ra byl. nauk. [Pathogenic bacteria in soil and water communities (experimental ecological study): dis. Dr. Biol. sciences]. M., 34 s. [in Russian].
15. Svarval, A.V., Tseneva, H.Ia., & Shenderovych, O.A. (2006). Lypopolysakharyd yersyniy y eho byolohycheskaia aktyvnost [Lipopolysaccharide Yersinia and its biological activity]. *Journal of Microbiol., Epidemiol. and Immunobiol.* 3. 100–104 [in Russian].
16. Skrypnyk, V.H. (1999). Kyshechnyye yersyniozy zhyvotnykh [Intestinal yersiniosis of animals]. *Library of veterinary medicine.* – K.: 4. 48 s. [in Russian].
17. Somov, H.P., & Buzoleva, L.S. (2002) Nekotorye aspekty ekolohyy vzbudyteli sapronozov. [Some aspects of the ecology of causative agents of sapronosis]. *Epidemiol. infectious bol.* 1. 8 -11 [in Russian].
18. Somov, H.P., & Buzoleva, L.S. (2004). Adaptatsiya patohennykh bakteriy k abyotycheskym faktorom okruzhaiushchei sredy. [Adaptation of pathogenic bacteria to abiotic environmental factors]. *Vladyvostok*, 127 s. [in Russian].
19. Shumylov, K.V., Melnychenko, L.P., & Selyverstov, V.V. (1998). Sovremennyye dannyye ob yersynioze zhyvotnykh [Modern data on animal yersiniosis]. *Veterinary medicine.* 7–13 [in Russian].
20. Boqvist, S., Pettersson, H., Svensson, A., & Andersson, Y. (2009). Sources of sporadic Yersinia enterocolitica infection in children in Sweden, 2004: a case control study. *Epidemiol. Infect.* 137:897–905.
21. Fenwick, S.G., Madie, P., Wilks, C.R. 1994. Duration of carriage and transmission of Yersinia enterocolitica biotype 4, serotype O:3 in dogs. *Epidemiol. Infect.* 113:471–477.
22. Fredriksson-Ahomaa, M, Korte, T, & Korkeala, H. (2001). Transmission of Yersinia enterocolitica 4/O:3 to pets via contaminated pork. *Lett Appl Microbiol., Jun; 32(6): 375-8.* DOI: 10.1046/j.1472-765x.2001.00922.x. PMID: 11412346.
23. Fredriksson-Ahomaa, M., Hallanvuori, S., Korte, T, Siitonen, A., & Korkeala, H. (2001). Correspondence of genotypes of sporadic Yersinia enterocolitica bioserotype 4/O:3 strains from human and porcine sources. *Epidemiol. Infect., Aug; 127(1):3747.* DOI:

10.1017/s0950268801005611. PMID: 11561973; PMCID: PMC2869727

24. Mu, Y.J., Zhao, J.Y., Guo, Q.S., Guo, X.C., Jing, H.Q., & Xia, S.L. (2013). [Investigation on distribution of *Yersinia enterocolitica* in Henan province between 2005 and 2011]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. Jul;47(7):612-5. Chinese.* PMID: 24304953.

25. Stamm, I., Hailer, M., Depner, B., Kopp, P.A., & Rau J. (2013). *Yersinia enterocolitica* in Diagnostic Fecal Samples from European Dogs and Cats: Identification by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol. 2013 Vfr.51(3): 887-893.* DOI: 10.1128/JCM.02506-12

26. Wang, X., Cui, Z., Wang, H., Tang, L., & Yang, J. et al. (2010). Pathogenic strains of *Yersinia enterocolitica* isolated from domestic dogs (*Canis familiaris*) belonging to farmers are of the same subtype as pathogenic *Y. enterocolitica* strains isolated from humans and may be a source of human infection in Jiangsu province, China. *J. Clin. Microbiol. 48:1604–1610.*

27. Zheng, H., Sun, Y., Lin, S., Mao, Z., & Jiang, B. (2008). *Yersinia enterocolitica* infection in diarrheal patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 27:741–752.*

Zon I.G., PhD student, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Zon G.A., Cand. of Vet. Science, Professor, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Ivanovska L.B., Cand. of Vet. Science, assistant professor, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Truba O.O., PhD student, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Contamination of feces of small domestic animals *Yersinia enterocolitica* in cities of Ukraine

The paper presents materials on the results of the study of canine and feline feces for contamination by the causative agent of intestinal yersiniosis *Yersinia enterocolitica*. *Yersinia* are considered typical saprophytes, and intestinal yersiniosis is a typical representative such infections, and therefore has all the stages of the epizootic process that are inherent in this group of diseases. In addition, intestinal yersiniosis is a zoonosis. From these positions, the paper considers the contamination of environmental objects with *Yersinia enterocolitica*. Laboratory tests were performed utilizing generally accepted methods. Bacteriological, bacterioscopic, serological and biochemical research methods were used to identify isolates. The study shows that *Yersinia enterocolitica* can be isolated from canine and feline feces sample 10 to 26.6% and 6.7 to 14.3% respectively, which were selected from territories, adjacent to Ukrainian cities. *Yersinia enterocolitica* cultures were represented by several biovars, among which the biovar 1 dominated. As a result of studies of 180 samples of dog feces, 33 cultures (18.3%) of *Y. enterocolitica* were isolated, of which 18 (54.6%) cultures were classified as biovar 1, 11 (33.4%) cultures as biovar 2, biovar 3 - 2 (6%) culture, to biovar 4 - 2 (6%) culture and none to biovar 5. From 171 collective feline samples, 15 cultures of *Y. enterocolitica* (8,8%) were isolated, which were attributed to several biovars. Thus, 8 isolates (53.3%) were assigned to biovar 1, 5 (33.3%) cultures to biovar 2 and 2 cultures (13.4%) to biovar 3. The dominant *Y. enterocolitica* serovar in cats and dogs in Ukraine are O: 9, a smaller share belongs to O: 6.30, and there are isolated cases of O:3 serovar contamination. Issues of human and small domestic animal biosafety regarding the spread of the causative agent of intestinal yersiniosis and the formation of local urban foci of infection have been raised.

Key words: *Yersinia enterocolitica* contamination, feces, small pets

Дата надходження до редакції: 27.01.2020 р.

ВІКОВА СТРУКТУРА ЗАПЛІДНЕННЯ ТЕЛИЦЬ ТА ЇЇ ВПЛИВ НА ЧАСТОТУ УСКЛАДНЕНОГО ПЕРЕБІГУ ОТЕЛЕННЯ У КОРІВ-ПЕРВІСТОК І ЇХ ВИБРАКОВУВАННЯ З МАТОЧНОГО СТАДА

Краєвський Аполлінарій Йосипович

доктор ветеринарних наук, професор кафедри акушерства та хірургії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0003-2836-8686
kay57@ukr.net

Доба Вячеслав Олександрович

аспірант кафедри акушерства та хірургії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0003-2410-5846
vaceslavdoba@gmail.com

Чекан Олександр Миколайович

кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства та хірургії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-5676-1947
achekanne@gmail.com

Мусієнко Юрій Володимирович

кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства та хірургії
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-9735-4758
musik_ne@ukr.net

Під час аналізу віку телиць, в якому вони стали тільними встановили, що 28,5 % тварин запліднилось до 14-и місячного віку. Водночас 45,2 % телиць запліднилось у віці від 14-и до 17-и місяців. У віці від 17-и до 20-и місяців стали тільними 23,6 % телиць. Найменше 2,7 % телиць запліднилось після досягнення ними віку більше 20-и місяців. Аналіз частоти ускладненого перебігу отелення у первісток залежно від віку телиць під час запліднення засвідчив, що його відмічали у третини телиць запліднених до 14-и місячного віку і групи від 17-и до 20-и місяців. У корів-первісток, що запліднились у віці телиць від 14-и до 17-и місяців частота ускладненого отелення була меншою на 7,9 %, ніж у телиць першої і третьої груп. У первісток запліднених після 20-и місячного віку ускладнене отелення реєстрували у 50,0 % випадків. Аналіз поширеності ускладненого перебігу отелення у корів різних вікових груп залежно від кількості попередніх родів показав, що його відзначали у 24,7 % корів від усіх тварин, що отелилися. Найбільша їх питома вага була в первісток 16,3 %. У корів при другому отеленні ускладнений його перебіг відмічали у 4,9 рази меншого відсотка тварин, а у корів третього отелення частка його ускладнень зменшилась у 12,5 рази відносно первісток. У тварин з четвертим і наступними отеленнями кількість їх ускладнень була меншою від групи первісток у 4,3 рази ($p < 0,001$). Частота вибракування корів по стаду склала 23,7 %. Аналіз структури поголів'я вибракуваних корів залежно від віку та періоду лактації показав, що впродовж 90 днів лактації вибуло 57,5 % корів. Кожна четверта корова вибувала в кінці лактації. Найчастіше вибракували первісток 47,2 % від усіх вибракуваних корів. Тварин другої лактації вибуло у 1,55 рази ($p < 0,01$) менше, ніж первісток, а корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло у 2,8 – 2,6 рази ($p < 0,01$) менше, ніж корів другої лактації. Найбільше первісток 24,2 % було вибракувано впродовж 90 днів лактації, корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло у 3,6 і 3,3 рази ($p < 0,05$) менше. У кінці лактації вибуло 15,3 % первісток, що на 9,7 % більше, ніж корів другої лактації і на 12,9 % більше, ніж корів третьої та четвертої і більше лактацій.

Ключові слова: запліднення, вибракування, лактація, корови-первістки.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.4>

Вступ. Ефективність молочного скотарства залежить від рівня молочної продуктивності корів і стану їх репродуктивної функції. Водночас молочна продуктивність корів залежить від періоду лактації, тому забезпечення регулярного щорічного отелення корів є економічною необхідністю для отримання високих надой (Khmelnychy L. M. & Loboda V. P., 2014).

На даний час молочне скотарство нашої країни переживає не найкращі часи свого розвитку. Для забезпечення його високої рентабельності необхідно приділяти належну

увагу вирощуванню ремонтного молодняка і створювати комфортні умови для існування маточного стада. Вважається, що отримувати від однієї корови одне теля впродовж кожного року фізіологічно та економічно виправдано, що дає можливість вчасно оновлювати стадо і проводити відповідну селекційну та племінну роботу (Fedorovych V. V., 2015).

Формування цілей статті. Селекційна і племінна робота на сьогодні направлена на використання корів з високою молочною продуктивністю, що в свою чергу потребує забезпечення високоякісної годівлі, комфортних умов утримання і

досконалої технології доїння цих тварин. Проте, у виробничих умовах такі вимоги не завжди можна забезпечити, що призводить до недостатньої адаптації організму корів, особливо під час перехідного періоду та приводить до його існування на межі фізіологічної норми і патології. Через це у корів з високою молочною продуктивністю дуже часто виникають різні патологічні процеси, що призводять до завчасного їх вибуття із маточного стада. На таких фермах вибуває від 30 до 35 % корів, в окремих випадках цей показник сягає 45 %. Тому для поповнення поголів'я молочних корів на кожній фермі, необхідно щорічно вирощувати та переводити в основне стадо не меншу кількість нетелей ніж вибуває корів. Саме тому вирощування ремонтного молодняка має бути направлене на забезпечення високих адаптаційних властивостей їх організму до кліматичних особливостей місцевості, умов годівлі, утримання та експлуатації. При цьому вони мають забезпечити реалізацію високого генетичного потенціалу щодо молочної продуктивності, зберігаючи свою плодючість впродовж тривалого періоду використання в умовах конкретного господарства. Як показує досвід і практика багатьох сучасних господарств технологія вирощування ремонтного молодняка не завжди забезпечує його довготривале ефективне господарське використання. Адже відомо, що саме первістки (Travetskyu M. O. & Kraevsky A. Y., 2016) частіше всього вибувають із маточного стада ще на початку лактації. Тому визначення етіологічних факторів такого стану у первісток і його аналіз в умовах конкретного господарства є підґрунтям для розроблення і впровадження ефективних профілактичних заходів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Загально-визнано, що під час перехідного періоду молочні корови найбільш сприйнятливі до розвитку різноманітних патологічних процесів, які можуть виникати перед, під час і після отелення (Abuelo A., 2015; Wankhade P. R., 2017). До патологічних станів перехідного періоду відносять: гіпокальціємію (Venjakob P. L., 2017; Goff J. P., 2008), гіпомагнемію (Goff J. P., 2008), кетоз (Wankhade, P. R., 2017) і інші захворювання, які призводять до ускладненого перебігу отелення та післяродового періоду. Одним із найпоширеніших патологічних станів корів можуть бути ускладнення, що виникають під час отелення (Singh Madhumeet, 2019), які в подальшому впливають на відтворну функцію та молочну продуктивність корів, особливо у первісток. У таких корів післяродовий період, як правило, ускладнюється розвитком запальних процесів у матці (Singh Madhumeet, 2019) та молочній залозі (Juozaitienė Vida та ін., 2017; Chegini Arash та ін., 2016). Патологія матки та молочної залози призводить до тривалої неплідності (Singh Madhumeet, 2019) та/або значного зниження молочної (Chegini Arash та ін., 2016) продуктивності або втрати відтворної функції (Yohannes G. та ін., 2018) та/або атрофії молочної залози (Winter, P. та ін., 2004) або окремих її часток, що спонукає тваринників до завчасного вибраковування таких корів із маточного стада (Yohannes G. та ін., 2018, Winter, P. та ін., 2004).

В багатьох випадках ускладнення, що виникають під час отелення можуть призвести до передчасного вибраковування тварин ще на початку лактації, особливо корів-первісток (Yohannes G. та ін., 2018). Зниження відтворної функції та молочної продуктивності, а також передчасне вибраковування тварин внаслідок ускладнень, які виникають під час отелення завдає господарствам значних економічних збитків

(Singh Madhumeet, 2019), що відображається на рентабельності молочної галузі загалом.

Відносно віку корів-первісток під час отелення у літературі не існує єдиної думки, одні автори вважають за оптимальний вік 22 - 25 місяців (Steele M., 2020), інші 23 - 25 місяці, і вказують, що це фізіологічно та економічно виправдано (Wathes D. та ін., 2014). Проте, в умовах виробництва не завжди вдається дотримуватись вказаних параметрів. За даними багатьох вітчизняних дослідників вік першого отелення у корів може складати від 25 до 29 місяців (Shuliar A. L., 2019; Karlova L. V. та ін., 2018; Shkurko T. P., 2009), а в умовах окремих господарств може сягати і більше від 30 до 32,5 місяців (Dymchuk A. V., 2016). Тому існує необхідність подальшого вивчення впливу віку корів-первісток під час отелення на частоту його ускладненого перебігу та в порівняльному аспекті з дорослими коровами, а також частоти вибраковування корів з різних вікових груп під час окремих періодів лактації або після її закінчення.

Мета роботи – визначити вікову структуру запліднення телиць і виявити її зв'язок з частотою ускладненого перебігу отелення, провести порівняльний аналіз частоти виникнення ускладнених родів залежно від кількості лактацій, а також зробити аналіз структури вибракуваних корів в різні періоди лактації залежно від їх віку.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом для проведення аналізу та досліджень були телиці, корови-первістки і корови наступних лактацій, що належали ТОВ «Молоко Вітчизни» Конотопського району, Сумської області. У господарстві утримують корів голштинської породи, середня річна молочна продуктивність яких становить близько 11500 кг на одну дійну корову.

Під час проведення досліджень визначали вік телиць у 1240 гол., при якому вони ставали тільними, кількість корів-первісток 652 гол. і дорослих корів 572 гол., в яких під час отелення реєстрували його ускладнений перебіг, а також кількість тварин 339 гол. різних вікових груп, що вибули з маточного стада. Статистичні дані брали з комп'ютерної програми «Юніформ-Агрі» обліку фізіологічного стану корів і телиць, які регулярно заносяться після проведення всіх технологічних, діагностичних, лікувальних і профілактичних робіт: осіменіння та сонографічна діагностика тільності у тварин, а також результати діагностики патологічних станів, лікування та вибраковування корів і телиць.

На першому етапі досліджень проводили аналіз статистичних даних щодо віку телиць під час настання вагітності, а також визначали після якого осіменіння за підсумком вони ставали тільними. Залежно від віку телиць під час їх запліднення, вони були умовно розподілені на чотири групи. До першої групи віднесли телиць, які запліднились до досягнення ними 14-и місячного віку. Другу групу склали телиці, що запліднились у віці старше 14-и місяців до досягнення ними 17-и місячного віку. У третю групу ввійшли телиці старші 17-и місяців до досягнення ними 20-и місячного віку. Четверту групу склали телиці, що запліднились у віці більше 20-и місяців. Крім того, під час аналізу віку кожної телиці, в якому вона запліднилась, враховували після скількох осіменінь вона ставала тільною. Кількість тільних телиць в будь-якій групі та після кожного осіменіння виражали у відсотках до їх загальної кількості.

Під час другого етапу досліджень проводили аналіз частоти прояву виникнення ускладненого перебігу отелення

у корів-первісток залежно від віку кожної групи тварин, який виражали у відсотках, крім того, визначали середній його показник по всьому стаду корів-первісток. Під час аналізу враховували ускладнення отелення у корів-первісток, що реєструвались упродовж усіх стадій родового акту.

На наступному етапі досліджень проводили порівняльний аналіз поширеності ускладнених отелень у корів-первісток і різних вікових груп дорослих корів. Показники виражали у відсотках від загальної кількості тварин маточного стада. Вікові групи дорослих корів формували залежно від кількості отелень: корови-первістки, другі, треті, четверті і наступні роди. Відсоток ускладнених отелень у корів-первісток і всіх інших груп дорослих корів визначали як складову частину середнього показника по маточному стаду.

На заключному етапі досліджень проводили порівняльний аналіз частоти вибуття із маточного стада корів-первісток і різних вікових груп дорослих корів. Даний показник виражали у відсотках від загальної кількості вибракуваних тварин. Вікові групи дорослих корів формували залежно від кількості лактацій: корови-первістки, друга, третя, четверта і наступні лактації. Відсоток корів-первісток і корів усіх інших груп залежно від кількості лактацій, що вибули з маточного стада, визначали від загальної кількості вибракуваних тварин.

Під час аналізу показників, що характеризують стан

репродуктивної функції корів і телиць та поширеність їх вибракування отримували цифрові дані, які обробляли методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми на основі MS Excel «Statistika» з визначенням середньої арифметичної (M) і статистичної похибки (m), вірогідності різниці (P) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (t) з використанням таблиці Стюдента. Результати вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$ – *, $p < 0,01$ – **, $p < 0,001$ – *** (Lakyn, H. F., 1990).

Дослідження на телицях, коровах-первістках і дорослих тваринах проводили з дотриманням біоетичних вимог щодо дослідних тварин, згідно із законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. (Tatsii V. Ya., 2017) та правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes CETS, Страсбург, 13.11.1987 р.).

Результати досліджень. Під час аналізу віку телиць в якому вони стали тільними встановили, що 28,5 % тварин запліднилось до досягнення ними 14-и місячного віку. В тому числі під час першого осіменіння запліднилось 18,7 % цих телиць, решта 9,8 % під час наступних осіменінь (рис. 1.).

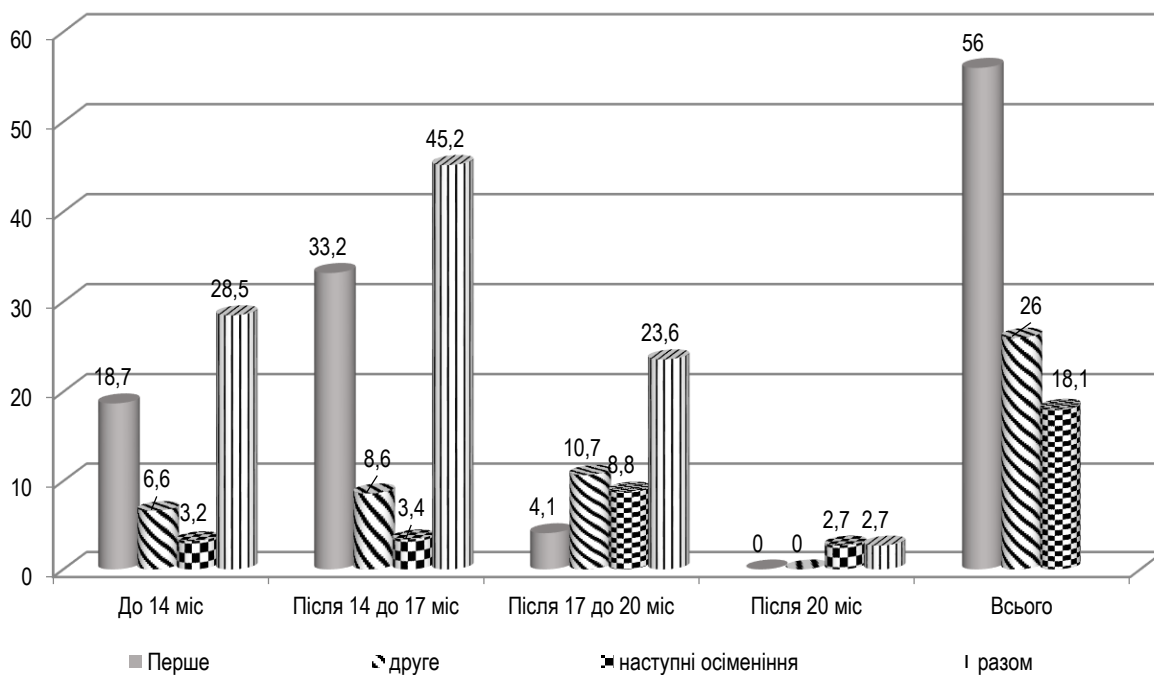


Рис. 1. Структура стада телиць залежно від віку їх запліднення та кількості осіменінь

Водночас 45,2 % телиць запліднилось упродовж наступних трьох місяців, після досягнення ними віку від 14-и до 17-и місяців, що на 16,7 % ($p < 0,001$) більше ніж у першій групі телиць. Поді

бну ситуацію відмічали під час першого осіменіння телиць цієї групи. Серед них стали тільними 33,2 %, що у 1,8 рази ($p < 0,001$) більше ніж у першій групі телиць. Решта 12,0 % тварин стали тільними під час наступних декількох осіменінь, що у 2,8 рази ($p < 0,001$) менше порівняно з першим осіменінням.

У віці від 17-и до 20-и місяців стали тільними 23,6 %

телиць, що вірогідно не відрізнялося від першої групи тварин, але було менше ніж у другій групі телиць на 21,6 % ($p < 0,001$). Слід відмітити, що лише 4,1 % тварин даної групи запліднились під час першого осіменіння, що у 4,6 рази ($p < 0,001$) менше порівняно з першою групою телиць і у 8,1 рази ($p < 0,001$) відносно тварин другої групи. Решта 19,5 % телиць стали тільними під час декількох наступних осіменінь, що більше на 9,7 % ($p < 0,01$) відносно першої групи тварин і на 7,5 % ($p < 0,05$) телиць другої групи.

Найменше 2,7 % телиць запліднилось після досягнення ними віку більше 20-и місяців, всі вони стали тільними

після трьох, чотирьох осіменінь. Чисельність цієї групи була вірогідно меншою у 16,5 – 8,6 разів ($p < 0,001$) від чисельності усіх інших груп телиць.

Отже, більшість телиць, що запліднилися після 17-и місячного віку та всі телиці запліднені у віці більше 20-и місяців, ставали тільними після декількох (три, чотири) осіменінь, що вказує на порушення відтворної функції в цих групах тварин.

Таким чином, загалом 56,0 % телиць запліднилось після першого осіменіння, 26,0 % телиць – після другого осіменіння у першій, другій і третій вікових групах, решта 18,0 % телиць – після трьох, чотирьох осіменінь в усіх групах телиць. У віковій структурі стада тільних телиць найбільш чисельною була друга вікова група, що стали тільними у віці від 14 до 17

місяців, їх питома вага становила 45,2 %.

Такий стан показників, що характеризують відтворну функцію телиць вказує на їх досить непогану підготовку до осіменіння через дотримання технології вирощування ремонтного молодняка за виключенням 11,5 % тварин, що запліднилися з третього, четвертого разу після 17-и місячного віку.

На наступному етапі досліджень проводили аналіз частоти виникнення ускладненого перебігу отелення у корів-первісток залежно від віку телиць під час запліднення. З приведених на рис. 2 даних видно, що ускладнене отелення відмічалось у третини телиць запліднених до 14-и місячного віку і старшої вікової групи від 17-и до 20-и місяців.

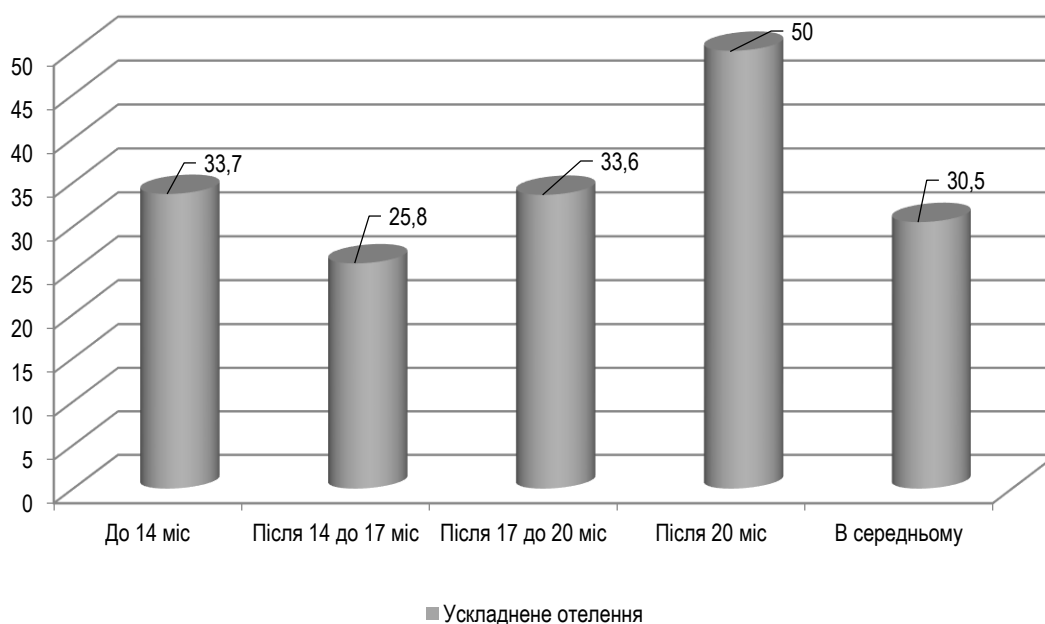


Рис. 2. Частота ускладненого перебігу отелення у корів-первісток залежно від віку телиць під час запліднення

У корів-первісток, що були запліднені у віці телиць від 14-и до 17-и місяців частота ускладненого перебігу отелення була меншою на 7,9 % ніж у телиць першої і третьої груп. Проте, у корів-первісток запліднених після 20-и місячного віку ускладнення під час отелення реєстрували у 50,0 % випадків, що майже у два рази більше, ніж у групі тварин запліднених після 14-и до 17-и місяців і на 16,3 та 16,4 % більше від інших вікових груп корів-первісток. Середній показник ускладненого перебігу отелення серед корів-первісток склав 30,5 %.

Отже, найменша частота ускладненого перебігу отелення відмічалась у корів-первісток, які запліднилися у віці

телиць від 14-и до 17-и місяців, її показник склав 25,8 %, найвища його частота реєструвалась у корів-первісток, які під час запліднення були телицями більше 20-и місячного віку, її відмічали у половині тварин під час отелення, що на 19,5 % вище середнього показника.

На наступному етапі досліджень аналізували поширеність ускладненого перебігу отелення у корів різних вікових груп залежно від кількості попередніх родових актів. Встановили, що ускладнений перебіг отелення відмічали у 24,7 % корів від усіх тварин маточного стада, що отелилися (рис. 3).

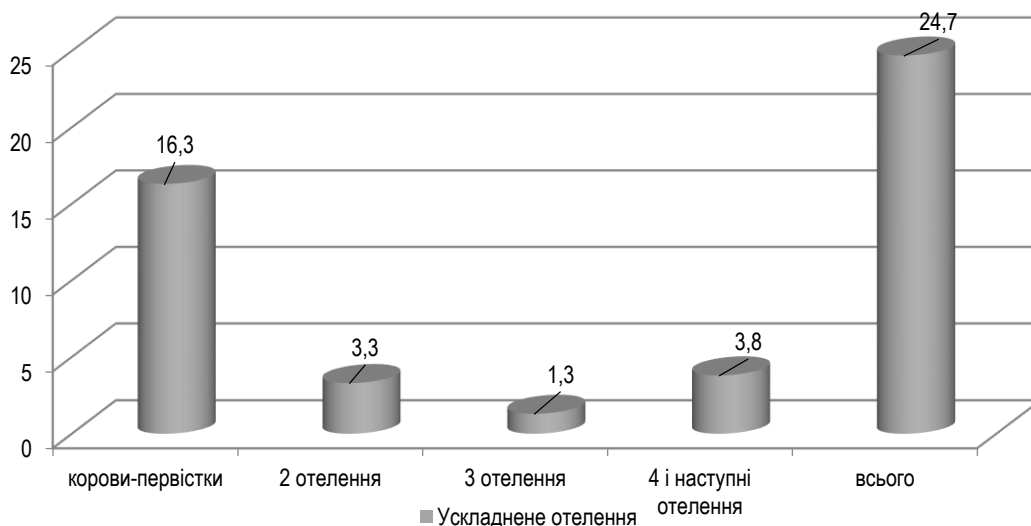


Рис. 3. Частота ускладненого перебігу отелення залежно від кількості попередніх родових актів

Найбільша питома вага ускладнених отелень була в корів-первісток, яка склала 16,3 %. У корів під час другого отелення ускладнений його перебіг відмічали у 4,9 рази ($p < 0,001$) меншого відсотка тварин, ніж у корів-первісток. У тварин під час третього отелення кількість його ускладненого перебігу зменшилась у 12,5 рази ($p < 0,001$) відносно первісток і у 2,5 рази корів з другими родами. У тварин старшого віку четверте і наступні отелення кількість його ускладнень знову зростала майже у три рази але залишалася меншою

від групи первісток у 4,3 рази ($p < 0,001$).

Таким чином, найчастіше ускладнення під час отелення реєструють у корів-первісток і тварин четвертого і наступних отелень, тобто корів старшого віку.

На заключному етапі досліджень аналізували в порівняльному аспекті структуру вибракуваних корів залежно від віку та періоду лактації (рис. 4).

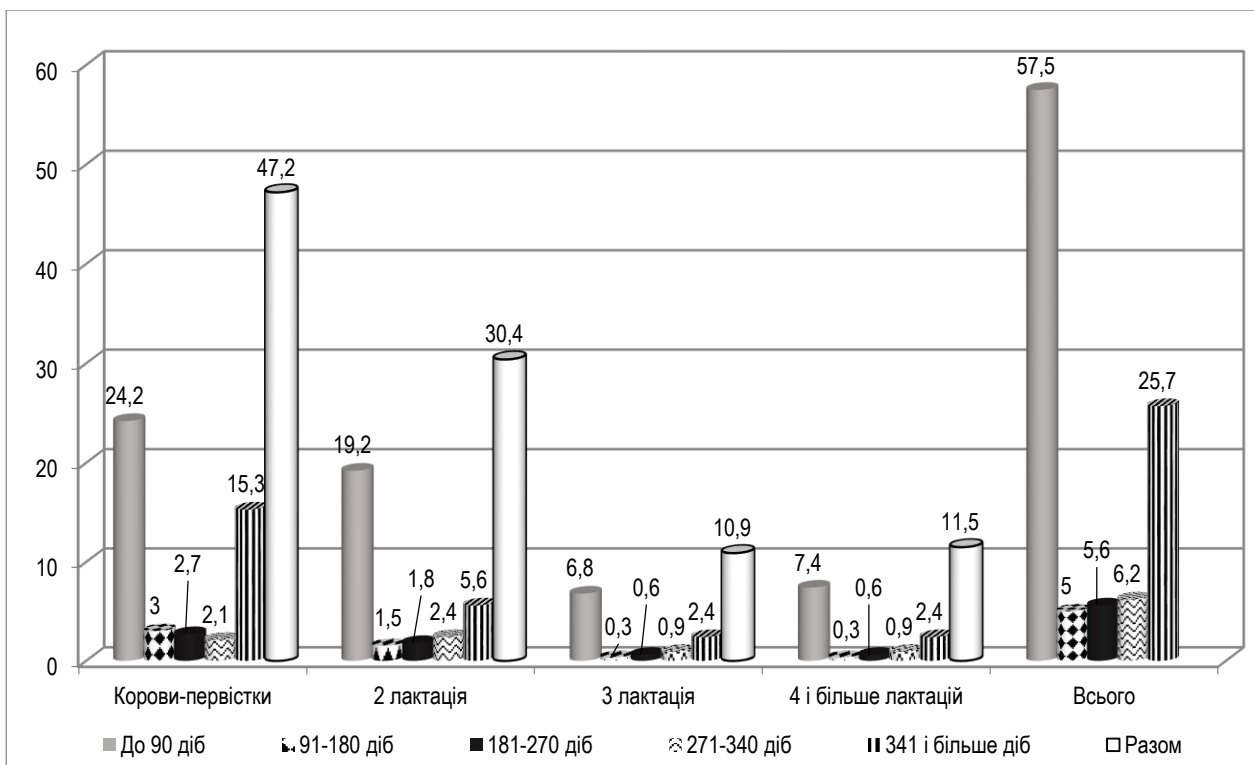


Рис. 4. Частота вибракування корів залежно від кількості лактацій та її періоду

Частота вибракування корів по стаду склала 23,7 %. Серед усіх вибракуваних корів найбільше їх вибуло впродовж перших 90 дів лактації, що склало 57,5 %. Кожна четверта вибракувана корова вибувала в кінці лактації або після її за-

вершення внаслідок неплідності, низької молочної продуктивності або атрофії молочної залози через захворювання маститом, що було 2,2 рази ($p < 0,001$) рідше ніж відразу після отелення. В усі інші періоди лактації частка вибракуваних корів коливалася від 5,0 до 6,2 % через різні термінові випадки,

що було менше, ніж на початку і під час закінчення лактації, відповідно на 52,5 і 51,3 % ($p < 0,001$) і 20,7 – 19,5 % ($p < 0,01$).

Залежно від віку тварин, найчастіше вибракували корів-первісток, що склало 47,2 % від усіх вибракуваних корів. Тварин другої лактації вибуло у 1,55 рази ($p < 0,01$) менше, ніж корів-первісток, а корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло у 2,8 – 2,6 рази ($p < 0,01$) менше, ніж корів другої лактації.

Найбільше корів-первісток було вибракувано впродовж перших 90 днів лактації, що склало 24,2 % від усіх вибракуваних тварин. Упродовж цього періоду корів другої лактації серед вибракуваних було менше, ніж корів-первісток але відмінність вірогідно не відрізнялась, а корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло відповідно у 3,6 і 3,3 рази ($p < 0,05$) менше. Корови, що були вибракувані в усі інші періоди лактації складали незначний відсоток від 0,3 % тварин третьої і четвертої лактації у другій її половині до 3,0 % корів-первісток у першій половині лактації.

Серед вибракуваних корів значна кількість припадала на неплідних тварин і низькопродуктивних в кінці лактації. Зокрема, корови-первістки серед вибракуваних тварин склали 15,3 %, що на 9,7 % більше, ніж корів другої лактації і на 12,9 % більше, ніж корів третьої та четвертої і більше лактацій.

Таким чином, серед вибракуваних тварин найбільший відсоток склали молоді корови першої та другої лактації 77,6 %, в тому числі 43,4 % цих тварин були вибракувані впродовж 90 днів лактації, ще 20,9 % корів вибракували через неплідність в кінці лактації, решта 13,3 % під час інших її періодів.

Обговорення.

За оптимальний вік корів-первісток під час отелення одні дослідники визначають 22 - 25 (De Vries et al., 2013) інші 23 - 25 місяців (Honchar A. O., 2013) відповідно в першому випадку запліднення телиць має відбуватись у віці 13 - 16 місяців, у другому – 14 – 16 місяців. В умовах молочних господарств України вік першого отелення у корів може складати від 25 до 29 місяців (Shuliag A. L., 2019; Karlova L. V. та ін., 2018; Shkurko T. P., 2009) і навіть 30-32,5 місяців (Dymchuk A. V., 2016).

Проте, на сьогодні в Україні багато молочних господарств переходять на технологію вирощування ремонтного молодняка, яка передбачає осіменіння телиць у ранньому віці. Під час моніторингу та аналізу відтворної функції такого стада телиць, встановили, що 28,5 % тварин запліднилось до досягнення ними 14-и місячного віку. Майже дві третини телиць стали тільними після першого осіменіння, решта більше однієї третини під час наступних осіменінь, що вказує на високу заплідненість телиць цього віку. Про високу заплідненість телиць до 14-и місячного віку повідомляють ряд зарубіжних дослідників (Kuzebnyi S. V., 2018).

Однак, найвища заплідненість телиць після першого осіменіння відмічалась за досягнення ними віку від 14-и до 17-и місяців і становила майже три четверті цієї групи тварин, що є непрямим фізіологічним свідченням оптимального віку для парування телиць. Подібну точку зору висловлюють ряд дослідників (Wathes D., 2014; Kuzebnyi S. V., 2018).

У віці після 17-и до 20-и місяців тільки 17,4 % телиць стали тільними під час першого осіменіння, решта запліднились після другого і наступних осіменінь, що свідчить про утворення цієї вікової групи з телиць, які з певних причин не запліднились раніше. Про повторні прояви статевої циклічно-

сті у телиць і їх запліднення в більш старшому віці повідомляють інші дослідники (Wathes D., 2014; Kuzebnyi S. V., 2018).

Усі телиці, що стали тільними після досягнення ними віку 20-и місяців і більше, осіменялись декілька разів, тобто цю групу склали тварини з різними порушеннями відтворної функції, на що вказують ряд інших дослідників (Wathes D., 2014; Kruhliak O.V., 2018).

За результатами аналізу віку телиць, коли вони стали тільними можна стверджувати, що тварини від 14-и до 17-и місячного віку мають найвищу заплідненість після першого осіменіння, що свідчить про їх фізіологічну зрілість, а запліднення телиць більш старшого віку відбувається в основному після декількох осіменінь, що зумовлено не настанням вагітності після перших осіменінь через певні етіологічні чинники, які викликають розлад відтворної функції. Подальший аналіз поширеності родових ускладнень у вікових групах вже корів-первісток підтвердив наше припущення, щодо оптимального віку телиць для їх парування.

Зокрема, частота виникнення ускладненого перебігу отелення у корів-первісток залежно від їх віку, склала відповідно 33,7 і 33,6 % у тварин запліднених до 14-місячного віку і старшої вікової групи від 17-и до 20-и місяців, що вказує на підвищений її рівень відносно корів-первісток, що були запліднені у віці телиць від 14-и до 17-и місяців майже на 8,0 %. Подібна тенденція щодо ускладненого перебігу отелення відмічається у роботах інших дослідників (Nilforooshan M. A., & Edriss M. A., 2004; Kamal M. M., та ін., 2014).

У телиць запліднених після 20 місячного віку під час родів ускладнене отелення відмічали у 50,0 % випадків, що підтверджує дані інших дослідників про залежність перебігу отелення від віку корів-первісток під час перших родів (Juozaitienė Vida та ін., 2017; Yohannes G. та ін., 2018).

Ускладнений перебіг отелення відмічали у 24,7 % корів, який визначали від усіх тварин маточного стада, що отелилися, в тому числі у 16,3% корів-первісток і 3,8% корів з четвертим і більшою кількістю отелень, що вказує на залежність перебігу родового акту у корів від віку. Про частіший ускладнений перебіг отелення у корів-первісток і корів старшого віку після четвертої і подальших лактацій вказує ряд дослідників (Juozaitienė Vida та ін., 2017; Yohannes G. та ін., 2018; Honchar A. O., 2013).

Моніторинг та аналіз впливу віку корів-первісток під час отелення на його перебіг та порівняльний розгляд частоти ускладненого перебігу родів залежно від їх почергової кількості показав їх залежність у першому випадку від віку корів-первісток під час родів, у другому – збільшення частоти патологічних родів у первісток і корів четвертого і наступних отелень.

Порівняно з показниками частоти вибракування корів приведених у різних літературних джерелах (Zubchenko V. V., 2014; Nabaev M. S., 2013) по даному стаду вона була (23,7 %) не дуже високою, що співпадає з даними інших дослідників (Orpin P. G. & Esslemont R. J., 2010). Про високий відсоток вибракування корів на початку лактації вказують ряд дослідників (Ansari-Lari M. та ін., 2012; Rilanto, T., 2020). В умовах даного господарства їх вибуло найбільше впродовж перших 90 днів лактації (57,5 %). Добре відомо, що значний відсоток корів вибуває з маточного стада через втрату відтворної функції та за патології молочної залози (Orpin, P. G. & Esslemont, R. J., 2010) у даному стаді кожна четверта вибракувана корова вибувала внаслідок неплідності або патології молочної

залози.

В усі інші періоди лактації частка вибракуваних корів коливалася від 5,0 до 6,2 % через різні термінові випадки, подібні дані приводять інші дослідники (Macalovych, Yu. С. та ін., 2018).

Про передчасне вибракування корів під час першої лактації повідомляють багато дослідників (E. Strandberg & U. Emanuelson, 2016), що відмічалось у маточному стаді тварин даного господарства. Так, найчастіше вибракували корів-первісток, що склало 47,2 % від усіх вибракуваних корів.

Частота вибракування корів другої лактації була у 1,55 рази менша, ніж первісток, а корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло у 2,8 – 2,6 рази менше, ніж корів другої лактації, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів (Macalovych, Yu. С. та ін., 2018).

Відомо, що високий відсоток корів вибракуваних на початку першої лактації завдає найбільший збиток молочному скотарству (Strandberg E. & Emanuelson U., 2016). Саме така ситуація відмічалась на фермах господарства, найбільше корів під час першої лактації було вибракувано впродовж перших 90 днів, що складало 24,2 %.

Упродовж 90 днів після отелення корів другої лактації серед вибракуваних було у 1,3 рази менше, ніж корів-первісток, а корів третьої та четвертої і більше лактацій вибуло відповідно у 3,6 – 3,3 рази менше, що вказує на зменшення вибування старших вікових груп тварин, на яке вказують ряд дослідників (Strandberg E. & Emanuelson U., 2016).

Вибракувані корови під час інших періодів лактації складають незначний відсоток, що узгоджується з результатами досліджень багатьох авторів (Macalovych, Yu. С. та ін., 2018).

Серед вибракуваних корів значна кількість припадала на неплідних тварин в кінці лактації. Зокрема, корови-первістки серед вибракуваних тварин склали 15,3 %, що у 2,7 рази більше, ніж корів другої лактації і у 6,4 рази, ніж корів третьої та четвертої і більше лактацій.

Таким чином, серед вибракуваних тварин найбільший відсоток склали молоді корови першої та другої лактації 77,6 %, в тому числі 43,4 % цих тварин були вибракувані впродовж 90 днів лактації, ще 20,9 % корів вибракували через неплідність в кінці лактації.

Висновки.

1. Загалом після першого осіменіння стали тільними 56,0 % телиць, після другого – 26,0 %, решта 18,0 % телиць запліднились після наступних осіменень. У більшості телиць, що ставали тільними після 17-и місячного віку та всі телиці запліднені у віці 20-и місяців і більше, запліднення відбувалося після декількох осіменень, що вказує на порушення відтворної функції в цих тварин.

2. Найменша частота ускладненого перебігу отелення відмічалась у корів-первісток, які запліднились у віці телиць від 14-и до 17-и місяців і склала 25,8 %, найвища – у телиць 20-и місячного віку під час запліднення і склала 50,0 %, що на 19,5 % вище середнього показника. Найчастіше ускладнене отелення реєструється у корів-первісток і дорослих корів під час четвертого і наступних отелень.

3. Серед вибракуваних тварин найбільший відсоток склали молоді корови першої та другої лактації 77,6 %, в тому числі 43,4 % цих тварин були вибракувані впродовж 90 днів лактації, ще 20,9 % корів вибракували через неплідність в кінці лактації.

References:

1. Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J.L., & Castillo, C. (2015). The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99(6), 1003–1016. doi: 10.1111/jpn.12273.
2. Ansari-Lari, M., Mohebbi-Fani, M., & Rowshan-Ghasrodashti, A. (2012). Causes of culling in dairy cows and its relation to age at culling and interval from calving in Shiraz, Southern Iran. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 3(4), 233–237. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313041/>
3. Chegini, Arash & Ghavi, Hossein-Zadeh, Navid & Hosseini, Moghaddam, Seyed Hossein & Shadparvar, Abdol Ahad. (2016). Factors affecting clinical mastitis and effects of clinical mastitis on reproductive performance of Holstein cows. *Revue de médecine vétérinaire*. 167. 145-153. URL: https://www.researchgate.net/publication/303508815_Factors_affecting_clinical_mastitis_and_effects_of_clinical_mastitis_on_reproductive_performance_of_Holstein_cows
4. Dymchuk, A.V. (2016). Pokaznyky vidtvoriuvanoi zdatnosti ta yikh vplyv na nadii koriv. [The reproductive ability indicators and their influence on the cows' milk yield]. *Zbirnyk naukovykh prats Podil'skoho derzhavnogo ahramo-tekhnichnoho universytetu. Tekhnichni nauky. [Collection of scientific works of Podolsk State Agrarian and Technical University. Technical Sciences]*, 24(2), 73-79. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ZnpPdatut_2016_24\(2\)_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/ZnpPdatut_2016_24(2)_12). [in Ukrainian].
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes CETS No.: 123 // *Official site of Council of Europe*. URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?NT=123&CM=8&DF=23/03/2013&CL=ENG>
6. Fedorovych, V. V. (2015). Seleksiino-henetychni ta biolohichni osoblyvosti tvaryn zavodskykh ta lokalnykh molochnykh ta molochno-miasnykh porid khudoby v umovakh zakhidnoho rehionu Ukrainy [Selection-genetic and biological features of animals of factory and local dairy and dairy-meat breeds of cattle in the conditions of the western region of Ukraine]. *Dysertacija doktora sil'skogospodars'kyh nauk: 06.02.01 [The dissertation of the doctor of agricultural sciences]*, Kyiv, 455 [in Ukrainian].
7. Fedorovych, V.V., Babik, N.P. (2015). Zalezhnist molochnoi produktyvnosti koriv airshyrskoi porody vid pokaznykiv vidtvoriuvanoi zdatnosti [Dependence of milk productivity of Ayrshire cows on reproductive performance]. *Tekhnolohiia vyrobnytstva i pererobky produktiv tvarynnystva [Technology of production and processing of livestock products]*, 1, 79-84 [in Ukrainian].
8. Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 176(1), 50–57. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.020
9. Habaev, M.S., Batoryova, O. A., Hukezhev, V. M. (2013). Effektivnost raznykh varyantov otbora korov [Effectiveness of different cow selection options]. *Zootekhnika [Zootechnics]*, 5, 6-7. [in Russian].

10. De Vries, A. (2013) Cow longevity economics – the cost benefit of keeping the cow in the herd. *Cow Longevity Conference 2013 that took place at Hamra farm, Sweden in August 2013*. URL: <http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Management/Cow-longevity-economics-The-cost-benefit-of-keeping-the-cow-in-the-herd/>
11. Honchar, A.O. (2013). Dystotsiia ta symptomatychne bezpliddia u vysoko-produktyvnykh koriv za intensyvnoi tekhnologiiiekspluatatsii [Dystocia and symptomatic infertility in high-yielding cows with intensive technology]. *Naukovyi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy. Ser.: Tekhnologiiie vyrobnytstva i pererobky produktsii tvarynnystva [Scientific Bulletin of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Technology of production and processing of livestock products]*, 190. 352-360. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2013_190_63 [in Ukrainian].
12. Juozaitienė, Vida & Juozaitis, Arunas & Kardisauskas, Arvydas & Zymantiene, Judita & Zilaitis, Vytuolis & Antanaitis, Ramunas & Ruzauskas, Modestas. (2017). Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. *Acta Veterinaria Brno*. 86. 345-352. doi: 10.2754/avb201786040345.
13. Kamal, M. M., Van Eetvelde, M., Depreester, E., Hostens, M., Vandaele, L., & Opsomer, G. (2014). Age at calving in heifers and level of milk production during gestation in cows are associated with the birth size of Holstein calves. *Journal of dairy science*, 97(9), 5448–5458. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7898>
14. Karlova, L. V., Lesnovska, O. V., Pryshedko, V. M. ta in. (2018). Vplyv viku pershoho osimeninnia koriv riznykh porid na yikh produktyvni yakosti [Influence of the age of the first insemination of cows of different breeds on their productive qualities]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn [Scientific and technical bulletin of the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives and the Institute of Animal Biology]*, Lviv, 19, 1. 286–292. URL: <http://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/1324> [in Ukrainian].
15. Khmelnychiy, L.M. Loboda, V.P. (2014). Produktyvnist koriv ukrainskoi chervono, riaboi molochnoi porody zalezho vid pokaznykiv vidtvornoj zdatnosti [Productivity of cows of the Ukrainian red, speckled dairy breed depending on indicators of reproductive ability]. *Rozvedennia i henetyka tvaryn [Breeding and genetics of animals]*, Kyiv, 48. 143-150 [in Ukrainian].
16. Kraevsky, A. Y., Travetsky M. O. (2016). Poshyrenist' hinekolohichnoyi patolohiyi u vysokoproduktyvnykh koriv [Prevalence of gynecological pathology in highly productive cows]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn [Scientific and technical bulletin of the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives and the Institute of Animal Biology]*, Lviv, 17, 1. 239–245. [in Ukrainian].
17. Kruhliak, O.V. (2018). Formuvannia vysokoproduktyvnykh molochnykh stad yak chynnyk pidvyshchennia efektyvnosti vyrobnytstva moloka [Formation of highly productive dairy herds as a factor in increasing the efficiency of milk production]. *Ekonomika APK: mizhnarodnyi naukovo-vyrobnychiy zhurnal [Economics of agro-industrial complex: international scientific and production journal]*, K, 3. 24–31. ISSN 2221-1055 (Shyfr E1/2018/3). - ISSN 2221-1055 [in Ukrainian].
18. Kuzebnyi, S.V. Sharapa, H.S., Demchuk, S.Yu., et al., (2018). Metody pidvyshchennia reproduktyvnoi zdatnosti molochnykh koriv [Methods of increasing the reproductive capacity of dairy cows]. *Rekomendatsii, Chubynske [Recommendations, Chubynske]*, 24. [in Ukrainian].
19. Lakyn, H.F. (1990). Biometriya: Uchebnoye posobiye dlya biologicheskikh spetsial'nostey Vuzov [Biometrics: Textbook for Biological Specialties of Universities]. *Vysshaya Shkola [Graduate School]*, M, 352 [in Russian].
20. Macalovych, Yu. C.; Valchuk, O.A; Liubetskyi, V.Y. (2018). Peredchasne vybuttia koriv z produktyvnoho stada [Premature departure of cows from a productive herd]. *Ukrainskyi chasopys veterynarykh nauk [Ukrainian Journal of Veterinary Sciences]*, 265, 270-278. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Veterenarna/article/view/10689> [in Ukrainian].
21. Nilforooshan, M. A., & Edriss, M. A. (2004). Effect of age at first calving on some productive and longevity traits in Iranian Holsteins of the Isfahan province. *Journal of dairy science*, 87(7), 2130–2135. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70032-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70032-6)
22. Orpin, P. G. & Esslemont, R. J. (2010) Culling and wastage in dairy herds: an update on incidence and economic impact in dairy herds in the UK. *British Cattle Veterinary Association, Frampton-on-Severn, UK, Cattle Practice*, 18, 3, 163-172.
23. Rilanto, T., Reimus, K., Orro, T., Emanuelson, U., Viltrop, A., & Mötus, K. (2020). Culling reasons and risk factors in Estonian dairy cows. *BMC veterinary research*, 16(1), 173. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02384-6>
24. Shkurko, T.P. (2009). Produktyvne vykorystannia koriv molochnykh porid [Productive use of dairy cows]. *Ima-Pres [Ima-Pres]*, D, 201-236. ISBN 978-966-331-255-2 [in Ukrainian].
25. Shuliar, A.L. (2019). Vplyv viku pershoho osimeninnia ta pershoho oteleennia koriv na yikh molochnu produktyvnist [Influence of the age of the first insemination and the first calving of cows on their milk productivity]. *Tavriyskyi naukovyi visnyk, Siiskohospodarski nauky [Taurian Scientific Bulletin, Agricultural Sciences]*, Kherson, 109, 2, 155–163. URL: <http://hdl.handle.net/123456789/2140> [in Ukrainian].
26. Singh, Madhumeet & Sharma, Akshay & Kumar, Pravesh. (2019). Bovine dystocia -An overview. *J Veterinary Science and Zoology*, 1. doi: 10.31579/JVSZ/2019.
27. Steele, M. (2020). Age at first calving in dairy cows: which months do you aim for to maximise productivity? *Verbum Et Ecclesia*, 5.
28. Strandberg, E. & Emanuelson, U. (2016). Herd-level factors associated with longevity in Swedish dairy cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*, 66:2, 92-98, doi: 10.1080/09064702.2016.1221986
29. Tatsii, V.Ya. (2017). Zhorstoke povodzhennia z tvarynamy [Animal cruelty]. *Velyka ukrainska yurydychna entsyklopediia. Kryminalne pravo [Great Ukrainian legal encyclopedia. Criminal Law]*, U20t, T.17. 200. ISBN 978-966-937-261-1 [in Ukrainian].
30. Venjakob, P.L., Borchardt, S., & Heuwieser, W. (2017). Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of dairy science*, 100(11), 9258–9266. doi: 10.3168/jds.2016-12494

31. Wankhade, P. R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K. P., Sejian, V., Rajendran, D., & Varghese, M. R. (2017). Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Veterinary world*, 10(11), 1367–1377. doi: 10.14202/vetworld.2017.1367-1377
32. Wathes, D., Pollott, G.E., Johnson, K.F., Richardson, H., & Cooke, J. (2014). Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 8 Suppl 1, 91-104.
33. Winter, P., Schilcher, F., Bagò, Z., Schoder, D., Egerbacher, M., Baumgartner, W., & Wagner, M. (2004). Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 51(4), 176–179. doi: 10.1111/j.1439-0450.2004.00751.x
34. Yohannes, G, Tesfay, A, Tesfay, A. (2018). Retrospective study of dystocia in dairy cows in Saesie Tsaeda–Emba district, Eastern Tigray, Ethiopia. *Int J Avian & Wildlife Biol*, 3(4), 293-296. doi: 10.15406/ijawb.2018.03.00103
35. Zubchenko, V. V. (2014). Osoblyvosti orhanizatsii vidtvorennia molochnoho stada u silskohospodarskykh pidpriemstvakh [Features of the organization of reproduction of a young herd in the agricultural enterprises]. *Ekonomika ta upravlinnia APK [Economics and management of agro-industrial complex]*, 2, 57–62. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ecupapk_2014_2_14 [in Ukrainian].

A. Kraevskiy, Dr. of Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

V. Dopa, graduate student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

A. Chekan, PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Y. Musiienko, PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Age structure of fertilization of heifers and its influence on the frequency of complication of calving in first-calf cow and their culling from the herd

During the analysis of the age of heifers, in which they became pregnant, it was found that 28.5% of animals were fertilized before 14 months of age. However, 45.2% of heifers became pregnant from 14 till 17 months. At the age from 17 till 20 months, 23.6% of heifers became pregnant. At least 2.7% of heifers were inseminated after reaching the age of more than 20 months. A frequency analysis of calving complicated course firstborn depending on age heifers during fertilization showed that it has noted and a third of fertilized heifers under 14 months of age and a group of 17 and up to 20-months. The frequency of complicated calving was lower by 7.9% in first-born cows that were fertilized at the age of heifers from 14 to 17 months., Than heifers first and third groups. In firstborn fertilized after 20 months of age and complications is calving were recorded in 50.0% of cases. Analysis of spread of Art and complicated course calving cows of different age groups depending on the number of previous families showed that it observed in 24.7% of all cows animals that calved. The largest of the share was 16.3% firstborn. Cows at the second calving or impeded his progress noted a 4.9 times fewer animals and in cows third calving share its complications decreased 12.5 times relatively firstborn. Animals of the fourth and subsequent calving we are number of complications was smaller group of first fruits of 4.3 times ($p < 0,001$). The frequency of culling cows in the herd was 23.7%. And the analysis of the structure of culled cows depending on the age and period of lactation showed that during 90 days of lactation 57.5% of cows dropped out. Every fourth cow dropped out at the end of lactation. First-born 47.2% of all culled cows were most often culled of all cows rejected. Animal second lactation dropped to 1.55 times ($p < 0,01$) less or the same first-born, and cows third and fourth lactations or more dropped to 2.8 - 2.6 times ($p < 0,01$) less than cows of the second lactation. Most first-born 24.2% were culled during 90 days of lactation, cows of the third and fourth and more lactations dropped out 3.6 and 3.3 times ($p < 0.05$) less. At the end of lactation, 15.3% of first-born cows dropped out, which is 9.7% more than cows of the second lactation and 12.9% more than cows of the third and fourth and more lactations.

Key words: fertilization, culling, lactation, first-born cows.

Дата надходження до редакції: 13.01.2020 р.

**ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ
ПРОТИ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ БДЖІЛ ПРИ ВСТАНОВЛЕННІ В ГНІЗДО БДЖОЛИНОЇ СІМ'І
КОНТАМІНОВАНУ РОЗПЛІДНУ РАМКУ ЗБУДНИКОМ АМЕРИКАНСЬОГО ГНИЛЬЦЮ (*BACILLUS LARVAE*)**

Кісіль Дмитро Олександрович
аспірант

Сумський Національний Аграрний Університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0003-3088-951X
dima_kisill@meta.ua

Фотіна Тетяна Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-5079-2390
tif_ua@meta.ua

У статті наведені дані по проведеним нами дослідження профілактичних заходів проти Американського гнильцю методом підставлення контамінованої розплідної рамки збудником хвороби в здорову сім'ю та водночас застосування діючого препарату «Аніхелс» для лікувально – профілактичної дії. Даний експеримент проводили на пасіках господарств Сумської області. Попередні дані показали, що даний препарат добре себе зарекомендував в застосуванні проти варроатозу бджіл в осінній та весняний періоди. Тому, нами було прийняте рішення щодо проведення визначеності ефективності в профілактичних методах дії препарату «Аніхелс» проти американського гнильцю бджіл методом підставлення контамінованої соторамки американським гнильцем та одночасно застосування профілактичного препарату.

Ключові слова: бджолина сім'я, американський гнилець, контамінація, епізоотологічне ситуація, *Bacillus larvae*, бджола, мед, «Аніхелс».

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.5>

Постановка проблеми у загальному вигляді. Ще за допомогою попередніх досліджень вчених нам відомо, що гнилець (інша назва гнилобой) - інфекційне бактеріальне захворювання личинок бджіл, що викликає їх гниття. В наш час відомо, що найбільш поширені: європейський (*Melissococcus plutonius* або *M. pluton*, *Bacillus Y*, *B. pluton*, *Streptococcus pluton*), та американський гнилець (*Paenibacillus larvae* або *Bacillus larvae*, *P. larvae / pulvifaciens*), що відрізняються за симптомами, та специфікацією враження личинок (Руденко Є.В., 2012, с. 521-526; Гробов О.Ф., 2012, с. 333-341).

З історію дослідження гнильцевих хвороб бджіл нами відомо, що до 1906 року американський гнилець не відрізнявся від європейського гнилизна, і цей стан захворюваності називали просто гнильцем. Після цього для розрізнення хвороб використовувалися терміни європейський і американський. Однак відзначимо, що позначення відносяться не до географічного поширення хвороби, а до областей, де вони були вперше досліджені з наукової точки зору. У 1907 році, виконавши постулати Коха, було остаточно продемонстровано, що бактерія *Bacillus larvae* була причиною американського Гнильця. Географічне походження AFB невідомо, але зустрічається майже у всьому світі (Москалюк І. В., Сакун М. М., Хамід К. О., 2018, с. 10-13).

При очищенні інфікованих комірок, бджоли, розносять спори по всій колонії. Хвороба швидко поширюється по вулику, так як бджоли, намагаючись видалити заражених спорамі мертвих личинок, заражають корм для розплоду. Нектар, що зберігається в заражених комірках, де буде містити спори, і незабаром комірки для розплоду заповняться зараженим медом. У міру того як цей мед переміщується в надставки зі стільниками, весь вулик заражається спорами. Коли колонія слабшає через зараження AFB, бджоли-грабжники

можуть проникнути і забрати заражений мед назад в свої вулики, тим самим поширюючи хвороба на інші сім'ї та пасіки. Бджолярі також можуть поширювати хвороби, переміщаючи інвентар - це рами або надставки зі стільниками з заражених вуликів переміщені в здорові сім'ї. Споры американського гнильцю надзвичайно стійкі до висихання і можуть залишатися життєздатними більше 40 років в меді і обладнанні для бджільництва. Також, мед з невідомого джерела ніколи не повинен використовуватися в якості корму для бджіл, а використане бджільницьке обладнання вважається зараженим, якщо не відомо інше (Руденко Є.В., 2003, с. 93-97; Березовський А.В., 2012, с. 22-24).

Закон Європейського Союзу вимагає знищення всіх інфікованих вуликів і обладнання. У США багато державних інспекторів пасік вимагають, щоб хворий вулик AFB був повністю спалений. Споры можуть зберігатися до 40 років і їх важко знищити. Менш радикальний метод стримування поширення хвороби - це спалювання тільки рамок і гребнів (язиків стільника), а також ретельне опалювання полум'ям внутрішньої частини корпусу вулика, днища, стінок вулика та кришок. Занурення частин вулика в гарячий парафін або 3% розчин гіпохлориту натрію (відбілювач) також робить спори AFB нешкідливими. Також можна стерилізувати інфікований вулик, не пошкоджуючи ні структуру вулика, ні запаси меду і пилку, які він містить, шляхом досить тривалого впливу атмосфери етиленоксиду, як в закритій камері, як в лікарнях при стерилізації обладнання, які не витримують стерилізації паром.

Збудники чутливі до багатьох антибіотиків тетрациклінової групи, стрептоміцину, еритроміцину та інших сульфаніламідних препаратів (крім *M. plutonius*), нітрофуранам і ін. Антибіотики в разі нестійких штамів збудника можуть запобігти вегетативний стан бактерій. Медикаментозне лікування

для запобігання успішного проростання і розмноження спор американського гнильцю можливо з використанням гідрохлориду окситетрацикліну (террамицину). В наш час досить ефективним в застосуванні є антибіотикотерапія, та в той же час вони є заборонені в застосуванні в бджільницькій галузі, тому як залишки антибіотику можуть знаходитись в продуктах бджільництва, що в свою чергу можуть нашкодити здоров'ю людини. Тому нами був розроблений препарат «Апіхелс», яких в попередніх дослідженнях добре себе зарекомендував в застосуванні проти варроатозу бджіл в весняний період. Цей препарат показав себе як не тільки ефективний в застосуванні, а також досить безпечний як для бджіл, так і для людей, цьому є підстава попереднім нашим дослідженням щодо токсичності продуктів бджільництва під час застосування препарату, за рахунок компонентів свого складу. Всі компоненти є рослинного походження, що не входить до компонентів заборонених та шкідливих для бджіл та людини. Таким чином, ми вирішили випробувати даний засіб на ефективність в профілактичних методах проти американського гнильцю бджіл (Neumann P., Patti J., 2004, с. 229-247; Кісіль Д. О., Фотіна Т. І., 2018, с. 381-384).

Зв'язок з важливими науковими і практичними завданнями. Матеріали відображені в даній статті є науковим дослідженням кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету за тематичним планом науково-дослідної роботи університету "Впровадження більш досконалих методів діагностики, лікування і профілактики різних хвороб тварин", № держреєстрації 0198U001290 (реєстр. № 41/1).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для лікування всіх бджолиних сімей пасіки застосовують залежно від чутливості виділених у ветлабораторії штамів мікроорганізмів антибіотики або сульфаніламідні препарати. Як лікувальна

підгодівля хворих (умовно здорових) бджолиних сімей використовується цукровий сироп. (Мусієнко О. В., Кистерна О. С., 2017, с. 90–95). Профілактика Американського гнильцю ґрунтується на суворому дотриманні карантинних правил: купувати бджіл з неураженої хворобою місцевості, під час 30-денного карантину перевірити бджіл на інфекційні захворювання, ізолювати хворі родини та ретельно перевіряти придбаних на стороні бджіл і маток. Під час кочівлі бджіл бджоляр не повинен допускати контактів своїх бджіл із зараженими (Ковальська Л. М., Федорук Р. С., Ковальчук І. І., Романів Л. І., 2016, с. 40-45; Березовський А. В., 2011, с. 34-36).

Мета роботи. Полягає на визначеності ефективності в профілактичних методах дії препарату «Апіхелс» проти американського гнильцю бджіл методом підставлення контамінованої соторамки американським гнильцем та одночасно застосування профілактичного препарату.

Матеріали і методи досліджень. Експериментальні дослідження препарату для профілактики американського гнильцю - «Апіхелс» були проведені в умовах Сумського НАУ в лабораторії бджільництва та в бджолярських господарствах Сумської області. Бджолині сім'ї, які були включені до експерименту, були підібрані після ретельного весняного огляду під час якого ми визначили показники, які характеризували розвиток сімей, а саме: силу бджолиної сім'ї, кількість меду та пилку в бджолиних гніздах, кількість відкритого та запечатаного розплоду в бджолиних сім'ях. Та за характеристиками бджолиної матки – це, порода бджіл, вік, лінія селекції, покоління і т.і. Нами було відібрано 6 бджолиних сімей подібними за показниками. Бджолині сім'ї, які ми відбирали для дослідження були розміщені у в 10-ти-рамкових, стандартних «Дадановських» вуликах. Розмір рамки якої становить - 435X300мм. Відбір бджолиних сімей проводили з 20.04.20 по 7.05.20. Відібрані бджолині сім'ї схематично зображені в таблиці 1.

Таблиця 1.

Схематичне відображення відібраних дослідних бджолиних сімей у господарствах Охтирського району, Сумської області

№	Дата дослідження	Порода	Сила сім'ї	Лінія селекції	Місце обстеження
1.	20.04.2020р.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	7 соторамок (6 вуличок)	Єгошин Л.Р. №153/126, «F1»	с. В'язове
2.	20.04.2020р.	Українська степова(<i>Apis mellifera sossimai</i>)	7 соторамок (6 вуличок)	Єгошин Л.Р. №148/121, «F1»	с. В'язове
3.	3.05.2020р.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	8 соторамок (7 вуличок)	Troiseck 1075 (Perner), №ua-2-31-1922-19, «F1»	с. Комиші
4.	4.05.2020р.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	8 соторамок (7 вуличок)	Troiseck 1075 (Perner), №ua-2-34-1682-14, «F1»	с. Комиші
5.	7.05.2020р.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	10 соторамок (9 вуличок)	Томас Руппель В417, «F1»	с. Чернетчина
6.	6.05.2020р.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	10 соторамок (9 вуличок)	Томас Руппель В307, «F2»	с. Чернетчина

В цей період стрімко розцвітали квітучі садки (вишні, яблуні, абрикоси), що в свою чергу відігравали важливу роль своєрідної ранньої медової бази для стимулювання природним шляхом бджолиних сімей. Що стосовно загального стану дослідних бджолиних сімей були цілком в відмінному стані, за виключенням породи Української степової, причиною цьому була відбирання бджолиних пакетів великої кількості, що і призвело до ослаблення сім'ї, та нажаль слабка медова база не дала змоги добре нароститись до зимового періоду.

Та в загалі бджола добре перезимувала. Та до періоду відбору для дослідження сім'ї досить добре набрали силу. Під час огляду захворюваності не відмічалось, сім'ї облетілися, виповнили добре весняну очистку, після якої бджолярів майже не прийшлося проводити очистку та санітарні заходи під час ревізії. Кількість бджіл які обсідали соторамки, були в достатній кількості для початку весняних робіт бджіл. Тобто, сім'ї після зимівлі до огляду були досить сильні, тому нами було вирішено відібрати близькі за показниками для подаль-

шого випробування. Для кращого відображення випробування ми відбирали бджолині сім'ї з різних «точків» (пасік). Кожній із досліджуваної бджолосім'ї ми присвоїли свій порядковий номер для зручності проводити реєстрацію та обробку статистичних даних досліджуваної сім'ї. Таким чином, ми поділили між собою дослідні сім'ї, відповідно на дослідну та контрольну групи. До дослідної групи ми відібрали за номерами: «1,3,5»; та до контрольної групи: «2,4,6».

Наступним нашим етапом було виявити хворих бджолосімей американським гнильцем за загальними признаками. Де й нами було виявлено дві бджолині сім'ї уражені збудником американського гнильцю. За характеристиками ці сім'ї були середньої сили (5-6 соторамок), Української степової та Карніка порід, F2 покоління, вік маток складав два роки. Таким чином ми вилучили з уражених сімей всі розплідні рамки та розмістили їх в сім'ях дослідної та контрольної групи. Уражені соторамки розміщали центральними рамками в розплідному гнізді, таким чином, щоб бджоли вичищали заражені комірки, після чого матка засівала нові яєчка. Так, ми зможемо відстежити розповсюдження збудника, уже в новій бджолині сім'ї, а також віддати пат матеріал (шматочки ураженого стільника) в ветеринарну лабораторію для встановлення остаточного результату. Далі після встановлення контамінованих соторамок ми витримали сім'ї 18 діб, так як нам відомо, що збудник американського гнильцю уражає личинок 5-6 леного закритого розплоду. Тобто, з біологічного циклу розвитку бджоли: 3 дні – яєчко, 6 діб – відкритий розплід, та посліуючі 12 діб закритого розплоду - личинок та лялечок, за якими нам і потрібно проводити своєчасний моніторинг.

Після чого нами було встановлено дослідний препарат «Апіхелс», встановлювали згідно розробленою нами раніше інструкцією: препарат в контейнерах поміщали на верхньому бруску соторамок, залишаючи між поверхнею контейнера і кришкою вулика 0,5-1 см вільного простору або, видаляючи з труби 4-6 доріжок, рівномірно наносячи гель на лист офісного або пергаментного паперу формату А4. Лист або ко-

нтейнер з препаратом розташовують зверху на рамках у центрі вулика. Після двох недінь видаляли залишки препарату, та вносили повторно дозу препарату до повного випорожнення бджолою. Таким чином, після чотирьох недінь застосування препарату, робили апробацію результатів статистичних даних щодо застосування.

Результати досліджень та їх обговорення. Таким чином, після 15 денної витримки контамінованих соторамок в гніздах бджолиних сімей, ми спостерігаємо таку епізоотичну картину: в контрольній групі в двох бджолиних сім'ях, в Українська степова (*Apis mellifera sossimai*) Єгошин Л.Р. №148/121, «F1» та Бакфаст (*Apis mellifera Buckfast*) Томас Руппель В307, «F2», наявності збудника поки що не спостерігалось, та це може свідчити про те, що період наявної епізоотії ще не настав, тобто захворюваність перебуває в латентному періоді, при умовах що відбулася контамінація нового розплоду. Що стосовно бджолиної сім'ї під номером 4 - Карніка (*Apis mellifera carnica*) Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-34-1682-14, «F1» відсоток ураженості реєструвався на рівні 7 % відсотків від усієї площі стільника. Враховуючи що засів яєчок маткою відбувався фактично по всій площі стільника.

В бджолиних сім'ях дослідної групи, спостерігається така епізоотична картина: в сім'ї під номером 3, породи Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-31-1922-19, «F1» відібрана 4.05.2020р. в с. Комиші встановлений нами ураження на рівні 10 %. Та сім'я під номером 6, породи Бакфаст - Томас Руппель В307, «F2» відібрана 6.05.2020р. в с. Чернетчина Охтирського району, Сумської області ознак інвазії не спостерігалось по тій же причині що і в контрольній групі. В бджолиній сім'ї під № 2, породи Українська степова – Єгошин Л.Р. №148/121, «F1» відібрана 20.04.2020р. в с. В'язове спостерігалась ураження розплоду на початковій стадії, за замірами уражених ділянок на соторамокці та загальної площі стільника, ми підраховували відсоток ураженості, який складав близько 18 % від усієї площі стільника. Схематичне відображення стану бджолиних сімей зображене в таблиці 2.

Таблиця 2.

Схематичне відображення загального стану бджолиних сімей після 15 денної витримки контамінованої соторамки

№	Порода	Лінія	Група	% ураженості
1.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №153/126, «F1»	Дослідна	18
2.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №148/121, «F1»	Контрольна	0
3.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-31-1922-19, «F1»	Дослідна	10
4.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-34-1682-14, «F1»	Контрольна	7
5.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В417, «F1»	Дослідна	0
6.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В307, «F2»	Контрольна	0

Наступним нашим етапом було встановлення контейнерів препарату «Апіхелс» згідно попередньо розробленою нами інструкцією вкладишем по застосуванню даного засобу, що в свою чергу спираючись на попередні наші дослідження – «ефективності препарату проти варроатозу» дало своєрідний високий рівень ефекту. Моніторинг бджолосімей проводили раз в 3 дні, після встановлених доз - контейнерів по 50 г на бджолину сім'ю та першого огляду розплідних соторамок, ми, спостерігали таку картину: в бджолосім'ї дослідної групи під номером 3 де на початку досліджуваної нами було встановлено 10% ураженості ми бачили, що комірки з гнійною масою почали очищати внутрішньогніздові бджоли «санітари». На даному етапі дослідження ми бачимо значимий результат,

але не мали достатньої впевненості що це саме дія ефективності досліджуваного препарату, тому ми продовжували витримувати контейнери з препаратом згідно дієвої інструкції. При огляді бджолиної сім'ї під номером 1, де спочатку встановлена ураженість становила в 12%, значимих змін фактично не відмічались, поодинокі комірки були розпечатані бджолами та були на стадії очищення, що могло свідчити про особливості породи та її лінії селекції. Що стосовно контрольної групи, ми спостерігали таку епізоотичну картину: в бджолосім'ї під номером 7, де на початку реєструвалось 7% ураженості площа ураженості закритого розплоду збільшилася до 15%, з урахуванням виходу старшого розплоду. В сім'ях під номерами 2 і 6 відповідно спостерігалась тенденція зростання ураженості, строкатості комірок печатного розплоду на

рівнях 5 та 7% від загальної площі розміщених комірок. Після другого огляду ми зробили повторні підрахунки ураженості

розплоду та врахували їх до статистичних даних, відповідно дані другого огляду бджолосімей відображені в таблиці 3.

Таблиця 3.

Схематичне відображення загального стану бджолиних сімей після перших змін в бджолиних сім'ях дослідної та контрольної груп

№	Порода	Лінія	Група	% ураженості
1.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №153/126, «F1»	Дослідна	15
2.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №148/121, «F1»	Контрольна	5
3.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-31-1922-19, «F1»	Дослідна	4
4.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-34-1682-14, «F1»	Контрольна	15
5.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В417, «F1»	Дослідна	0
6.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В307, «F2»	Контрольна	7

Після другого огляду, ми виявили що в дослідній групі вийшла частина молодої бджоли, при візуальному огляді наявності захворюваності американським гнильцем не спостерігалось. Ми вилучили контейнер з частками препарату, та встановили повторно новий контейнер до повного випорожнення бджолами. Бджолині сім'ї в яких реєструвалась ураженість збудником американського гнильцю зрівнялась нулю, частина молодих бджіл вийшла з комірок, після чого бджоли які доглядають за розплодом до його запечаткування, приступили до очистки опорожнених від молодняка комірок. При огляді контрольної групи, нами було виявлено, що контамінації печатного нового розплоду піддалися сім'ї навіть ті в яких попередньо не було виявлено ураженості розплоду. При підрахунках ураженості в сім'ях контрольної групи, ми отримали такі цифри: в сім'ї під номером 2 відсоток ураженості становив 7%, під номером 4 – 13%, під номером 6 – 11%. Підрахунки проводили з урахуванням виходу молодої бджоли з комірок за якими вели моніторинг з початку дослідження, вихід молодняка якого становив в середньому 70% з однієї сім'ї. Таким чином ми бачимо тенденцію розвитку американського гнильцю в бджолиних сім'ях контрольної групи де досліджувані нами препарат «Апіхелс» не застосовувався. На даному етапі ми вже спостерігали чітко виражений значимий результат, в сім'ях дослідної та контрольної груп, що в свою чергу

свідчило про те, що для запобігання розповсюдження збудника американського гнильцю достатньо застосувати фактично лише один контейнер 50г на одну бджолину сім'ю препарату «Апіхелс» для ефективного запобігання захворюваності розплоду бджіл. Але ми дотримувались регламенту по застосуванню дослідного препарату. Про послідуочому огляді ми спостерігали як і раніше тенденцію зростання захворюваності в контрольній групі, де в сім'ї під номером 4 реєструвалась захворюваність на рівні 54%, після чого нами було прийняте рішення застосувати ветеринарно-санітарні заходи щодо регламенту при виявленні збудника американського гнильцю, та зняти дослідну сім'ю з дослідження для запобігання розповсюдження захворюваності до сусідніх пасік. В сім'ях під номером 2 та 6 рівень захворюваності становив 10 та 12% з урахування виходу частини молодої бджоли. Наприкінці дослідження нами було вилучено майже порожні контейнери з препаратом з дослідної та контрольної груп. При огляді дослідної групи ураженості розплоду як і раніше не виявлялось. Що стосовно контрольної групи, друга та шоста сім'я мали ураженість нового печатного розплоду на рівнях 8 та 12%, четверта сім'я за нашої ініціативи знята за досліді та піддана утилізації та обробці згідно ветеринарно-санітарним вимогам на пасіках при виявленні збудника американського гнильцю. Кінцеві результати моніторингу бджолиних сімей в дослідній та контрольній групах висвітлені в таблиці 4.

Таблиця 4

Схематичне відображення загального стану бджолиних сімей наприкінці дослідного періоду в бджолиних сім'ях дослідної та контрольної груп

№	Порода	Лінія	Група	% ураженості
1.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №153/126, «F1»	Дослідна	0
2.	Українська степова (<i>Apis mellifera sossimai</i>)	Єгошин Л.Р. №148/121, «F1»	Контрольна	8
3.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-31-1922-19, «F1»	Дослідна	0
4.	Карніка (<i>Apis mellifera carnica</i>)	Troiseck 1075 (Perner), Neua-2-34-1682-14, «F1»	Контрольна	54 (Знята з досліді)
5.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В417, «F1»	Дослідна	0
6.	Бакфаст (<i>Apis mellifera Buckfast</i>)	Томас Руппель В307, «F2»	Контрольна	12

Для переконання відсутності збудника американського гнильцю в дослідній групі, ми відбирали частини стільників розмірами 10X15 см, з максимальною строкатістю (що підлягали підозрі на захворюваність), для дослідження в регіональній ветеринарній лабораторії на наявність збудника американського гнильцю. Після отримання результатів лабораторного дослідження на наявність збудника, ми впевнилися в відсутності захворюваності американським гнильцем в дослідній групі.

Висновки. За статистичними даними нашого дослідження, було доведено що препарат «Апіхелс» є ефективний не тільки проти кліща *Varroa destructor*, а також і при ураженні збудником американського гнильцю (*bacillus larvae*), результати експериментального досліді були помітні як візуально так і після результатів лабораторного дослідження. Таким чином підтвердили діючу ефективність дослідного препарату «Апіхелс».

References:

1. Musiyenko O. V., Kysterna O. S., (2017), Hnyl'tsevi khvoroby bdzhil, osoblyvosti diahnostryky ta borot'by [Putrefactive diseases of bees, features of diagnosis and control], *Visnyk Sums'koho natsional'noho ahrarnoho universytetu. Seriya : Veterynarna*

medytsyna [Bulletin of Sumy National Agrarian University. Series: Veterinary Medicine], 11(1), 90–95. doi: 10.36016/VM-2019-105-11.

2. Hrobov O.F., (2012), Bolezny y vrednyky medonosnykh [Diseases and pests of melliferous], *Ahropromyzdat [Ahropromyzdat]*, 28, 333.

3. Rudenko E.V., (2012), Opyt orhanizatsiyi veterynarnykh zakhodiv v krupnykh pchelovodcheskykh khozyaystvakh [Experience in organizing veterinary activities in large beekeeping farms], *Veterynarna medytsyna [Veterinary medicine]*, 4(34), 521-526.

4. Luchko M.A., (2012), Bolezny rasploda pchel [Diseases of brood bees], *Veterynariya [Veterinary medicine]*, 3(23), 9-14.

5. Moskalyuk I. V., Sakun M. M., Khamid K. O., (2018) Analiz stanu haluzi bdzhil'nytstva ukrayiny, osoblyvosti orhanizatsiyi okhorony pratsi ta udoskonalennya pravyl bezpeky z bdzholamy [Analysis of the state of the beekeeping industry of Ukraine, features of the organization of labor protection and improvement of safety rules with bees], *Sil's'kohospodars'ki nauky [Agricultural sciences]*, 4(45), 10-13. doi: 10.15587/2313-8416.2018.129317.

6. Neumann P., Patti J., (2004) The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species [The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species], *Apidologie [Apidologie]*, 35, 229-247. doi: 10.1051/apido:2004010.

7. Rudenko YE.V., (2003), Al'ternatyvnyy metod kontrolyu infektsiyi Khvoroby vyrodka bdzhil [Alternative method of control of infections bee's brood Diseases], *Apiakta [Apiakta]*, 23(1), 93-97.

8. Kisil D. O., Fotina T. I., (2018) Monitorynh epizootychnoyi sytuatsiyi shchodo zmishanykh infektsiynykh khvorob bdzhil u Pivnichno-Skhidnomu rehioni Ukrayiny [Monitoring of the epizootic situation regarding mixed infectious diseases of bees in the North-Eastern region of Ukraine], *Naukovyy visnyk L'vivs'koho natsional'noho universytetu veterynarnoyi medytsyny ta biotekhnolohiy imeni S.Z. Gzhyts'koho [Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after SZ Gzhytsky]*, 20(83), 381-384. doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet8375>.

9. Berezovs'kyy A. V., (2012), Nosematosis - as a problem illness of bee-eater [Nozematoz - yak problemna khvoroba bdzholosimey], *Ukrainian beekeeper [Ukrayins'kyy pasichnyk]*, 22-24.

10. Koval's'ka L. M., Fedoruk R. S., Koval'chuk I. I., Romaniv L. I., (2016), mineral'nyy i lipidnyy sklad produktsiyi bdzhil'nytstva ta yiyi yakist' za umov tradytsiyonoho y orhanichnoho vyrobnytstva vzoni polissya [mineral and lipid composition of beekeeping products and its quality under traditional and organic production outside polissya], *Biolohiya tvaryn [Animal biology]*, 18(1), 40-45. doi: <https://doi.org/10.15407/animbiol18.01.040>.

11. Berezovsky A. V., (2011), Medicines of the new generation for veterinary medicine [Likarski preparati novogo pokollnnya dlya veterinarnoyi meditsini], *Vetinorm [Vetinorm]*, 34-36.

D.O. Kisil, Postgraduate Student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

T.I. Fotina, Dr. of Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Definition of efficiency therapeutic and preventive measures against infectious diseases of bees when installing in a nest of bees contaminated rozplidnu frames pathogens amerikan foul brood (BACILLUS LARVAE)

European Union law requires the destruction of all infected hives and equipment. In the United States, many state apiary inspectors require that a diseased AFB hive be completely burned. Spores can persist for up to 40 years and are difficult to destroy. A less radical method of curbing the spread of the disease is to burn only the frames and ridges (honeycomb tongues), as well as careful flame heating of the inner part of the hive body, bottom, hive flaps and lids. Immersion of parts of the hive in hot paraffin or 3% sodium hypochlorite solution (bleach) also makes AFB spores harmless. It is also possible to sterilize an infected hive without damaging either the structure of the hive or the supplies of honey and pollen it contains, by prolonged exposure to an atmosphere of ethylene oxide, both in a closed chamber and in hospitals when sterilizing equipment. which do not withstand steam sterilization. Pathogens are sensitive to many antibiotics of the tetracycline group, streptomycin, erythromycin, and other sulfonamide drugs (except *M. plutonius*), nitrofurans, and others. Antibiotics in the case of unstable strains of the pathogen can prevent the vegetative state of bacteria. Drug treatment to prevent successful germination and reproduction of American rot spores is possible using oxytetracycline hydrochloride (terramycin). Nowadays, antibiotic therapy is quite effective in use, but at the same time they are banned in the beekeeping industry, so antibiotic residues can be found in bee products, which in turn can be harmful to human health. Therefore, we have developed the drug "Apichels", which in previous studies has proven itself in the use against varroasis of bees in the spring. This drug has proven to be not only effective in use, but also quite carefree for both bees and humans, this is the basis of our previous research on the toxicity of bee products during the use of the drug, due to the components of its composition. All components are of plant origin, which is not included in the components that are prohibited and harmful to bees and humans. Thus, we decided to test this tool for effectiveness in preventive methods against American bee rot.

Key words: honeybee, American rot, contamination, epizootological situation, *Bacillus larvae*, bee, honey, "Apichels".

Дата надходження до редакції: 12.01.2020 р.

КОНТРОЛЬ ЗА АБІОТИЧНИМИ ФАКТОРАМИ СТАВКІВ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Петров Роман Вікторович

доктор ветеринарних наук, професор
завідувач кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-6252-7965
romanpetrov1978@gmail.com

Кутах Олена Анатоліївна

аспірант
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0003-1166-0381
[lena.kutakh@icloud.com](mailto:lana.kutakh@icloud.com)

Матвієвська Тетяна Петрівна

аспірант
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-8281-8196
tatianamatvievska@gmail.com

Петров Володимир Вікторович

магістр
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-1594-1431
petrov8787@gmail.com

У статті проведено аналіз результатів досліджень абіотичних факторів водного середовища ставкових водойм Сумщини. Визначені показники водного середовища, хімічний склад води, що впливають на екологічні показники оточуючого середовища та гідробіонтів. Виконувалися щомісячні дослідження гідрохімічного стану ставів у вегетаційний період вирощування риби. Встановлено, що по хімічному складу вода досліджуваних водойм відноситься до гідрокарбонатного типу групи кальцію, що є характерним до групи Полісся. Основним катіоном у воді є кальцій (Ca^{2+} 35,0-79,4 мг/л), а основним аніоном є гідрокарбонат (HCO_3^- 127,5-198,2 мг/л). При дослідженні концентрації азоту амонійного, нітратного та нітритного – перевищення норми не було виявлено. Рівень гідрокарбонатів в воді с. Кононенково Сумського району в липні та серпні перевищував ГДК (до 200 мг/л) і становив відповідно 209,1 та 204,3 мг/л. Вміст мінерального фосфору склав від 0,01 до 0,261 мг Р/л. Вміст загального заліза в ставках становив 0,020–0,040 мг Fe/л. Біогенні елементи у воді містилися в незначних кількостях. Коливання інших гідрохімічних показників мало динамічний характер і не виходило за межі встановлених рибоводних норм, що в свою чергу сприяло вирощуванню риби.

Ключові слова: абіотичні фактори, аніони, катіони, хімічний склад води, якість, безпечність, риба.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.6>

Постановка проблеми в загальному вигляді. Одним з перспективних напрямків розвитку агропромислового комплексу України є рибництво. Історично на території північно-східного регіону України свій розвиток отримало ставкове рибництво. За статистичними даними в Сумській області налічується 2 водосховища загальним повним об'ємом 94,57 млн.м³ та 2192 ставків, які мають загальну площу поверхні 109,5 км² та загальним повним об'ємом води 125,97 млн.м³. Всі ці зазначені фактори створюють умови для розвитку розведення риби і отримання вітчизняної якісної і безпечної рибної продукції.

Антропогенний вплив та екологічний стан водойм суттєво впливають на фізіологічний, імунний стан гідробіонтів, контамінацію зовнішніх покривів мікрофлорою, їх показники якості і безпечності (Давидов О.Н. & Темниханов Ю.Д., 2003; Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007). Вище зазначені процеси постійно відбуваються в динаміці і потребують моніторингу зі сторони фахівців ветеринарної медицини. Ви-

никнення, перебіг і розповсюдження заразних хвороб прісноводних риб пов'язані з дією різних біотичних, абіотичних і антропогенних факторів. Серед багатьох факторів що впливають на виникнення заразних хвороб прісноводної риби дослідники виділяють: рН, кольоровість, мутність, перманганатна окиснюваність, жорсткість, сульфати, хлориди, нітрати, нітрити, амонійний азот, загальна мінералізація, окислювально-відновний потенціал, температура води, сірководень, важкі метали та токсиканти, радіоактивність, тощо (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007).

Зв'язок з важливими науковими і практичними завданнями

Робота виконувалась, як окремий розділ комплексних наукових досліджень кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни та безпеки та якості продуктів тваринництва та кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського національного аграрного університету за тематичним планом науково-дослідної роботи «Прогнозування ри-

зиків транскордонного заносу та поширення особливо небезпечних хвороб тварин та розробка науково обґрунтованих систем дезінфекції на основі інноваційних імпортно замінних високоєфективних засобів» (№ державної реєстрації 0115 U 001342, 2018-2023 pp.)

Аналіз останніх досліджень та публікацій

Одна з найважливіших умов успішного вирощування і утримання риб та отримання безпечної і якісної якісної продукції рибництва – це контроль за водним середовищем (Петров Р.В. та ін., 2019; Фотіна Т.І. та ін., 2017).

Усі фактори, які впливають на рибу і на якість рибопродуктів, поділяються на дві категорії – абіотичні та біотичні. Зміна хімічних абіотичних факторів (неживих), таких як гідрологічних, кліматичних та інших може призводити до порушень здоров'я риб. Біотичні фактори (живі), тобто птахи, водні рослини, інші риби, тварини та людина, можуть сприяти або перешкоджати поширенню різноманітних захворювань риби (Яценко І.В. та ін., 2017).

На сьогоднішній день постійно збільшується забруднення вод Світового океану і внутрішніх водойм країни промисловими та побутовими відходами, в яких містяться пестициди, фосфати, токсини, та ін. Риба та інші гідробіоти можуть сорбувати та накопичувати токсичні речовини, що містяться у воді (срібло, кадмій, свинець, хлороорганічні пестициди та ін.). Тому при оцінці якості продукції в наш час звертають увагу не тільки на зовнішній вигляд, колір, смак, запах, а також на результати фізико-хімічних, біологічних, паразитологічних, токсикологічних досліджень. Токсини спричинюють негативну дію на організм риби, у тому числі викликаючи утворення пухлин (Давидов О.Н. & Темниханов Ю.Д., 2003).

Разом із гідрохімічними дослідженнями потрібно проводити й бактеріологічні. Ці вельми чутливі методи дозволяють своєчасно виявити забруднення водойми господарськими та фекальними стоками й оцінити безпеку водойми з позицій санітарних вимог.

Серед багатьох факторів, що впливають на виникнення заразних хвороб прісноводної риби, дослідники виділяють: рН, кольоровість, мутність, перманганатна окиснюваність, жорсткість, сульфати, хлориди, нітрати, нітрити, амонійний азот, загальна мінералізація, окислювально-відновний потенціал, температура води, сірководень, важкі метали та токсиканти, радіоактивність, тощо (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007; Яценко І.В. та ін., 2017).

Розчинений кисень. Дослідники зазначають, що понад 90 % випадків загибелі риби в рибницьких господарствах України пояснювалися замором. У наш час ця проблема, як і раніше, залишається актуальною. Фізіологічні функції риб не пригнічуються за вмістом кисню до 4 см³/л води (Давидов О.Н. & Темниханов Ю.Д., 2003). До таких риб належить більшість із групи озерно-річкових риб, таких, як щука, плітка, в'язь, плоскирка, лящ, окунь, судак, йорж та інші. Тому вони ніколи не будуть траплятися у глибоководних ділянках озер та водосховищ. 3-поміж риб найвитривалішими є короп, лин, карась, в'юн тощо, які здатні витримувати умови зі зниженням вмісту кисню до 0,5 см³/л води. Зона фізіологічного комфорту для більшості видів риб – від 70 % до 100 % від нормального насичення. Якщо вміст кисню нижчий, риба гірше зростає, менш продуктивно використовує корми, знижується її фізіологічна активність. Падіння кисню нижче за допустимий рівень є сильним стресом, слідом за яким часто виникають ті

чи інші захворювання. Риба добре переносить підвищену концентрацію кисню, яка виникає у водоймі через розвиток фітопланктону. У літній час відносний вміст кисню може доходити до 150-180 % від нормального без будь-яких шкідливих наслідків. При перевезеннях риби рівень кисню іноді досягає 250-300 % насичення, проте «опіку» зябер не виникає. Недостатня кількість кисню у воді може викликати зниження активності, маси та зменшення резистентності до захворювань риби. Вміст кисню у воді нижчий ніж 2,5-3,0 мг/л призводить до масової загибелі риб.

Двоокис вуглецю та інші форми вугільної кислоти. Двоокис вуглецю потрапляє у воду з атмосфери, виділяється живими організмами, з'являється в результаті розкладання органічної речовини. Рослини в процесі дихання виділяють двоокис вуглецю, а в процесі фотосинтезу поглинають його. Розчинений у воді вуглекислий газ частково взаємодіє з водою, утворюючи вугільну кислоту, яка потім дисоціює на карбонатні і двокарбонатні іони. У прісноводних водоймах концентрація розчиненого двоокису вуглецю зазвичай не перевищує 20-30 мг/л, але може підвищуватися до 50 мг/л і більше. Двоокис вуглецю є регулятором дихальних рухів риб. Розчинений у крові, він впливає на спорідненість гемоглобіну з киснем (Яценко І.В. та ін., 2017).

Активна реакція води (рН). Більшість риб переносять рН в діапазоні від 5 до 9, однак, оцінюючи значення рН, потрібно враховувати вплив цього показника на речовини, токсичність яких залежить від рН (наприклад, з'єднання амонію та сірки). При інтенсивному «цвітінні» води рН зазвичай зсувається в лужну сторону, досягаючи 8-9 одиниць і вище. У цьому випадку небезпекою для риб є вільний аміак, у який переходять іони амонію при збільшенні рН. Зрушення рН в кислоту сторону підвищує токсичність сульфідів. При зниженні рН до 4 одиниць і нижче в риб виникає ослизнення шкіряних покривів і зябер. Дуже чутливі до кислої реакції середовища коропи. При рН нижчому ніж 5 у них розвивається кислотне захворювання, що виявляється в руйнуванні зябрових пелюсток. За даними дослідників О.М. Давидова та ін. (2003), для успішного рибництва кислотність води (рН) повинна становити 7,2-7,8.

Негативну дію неоптимального рН водного середовища та неорганічних токсикантів на організм риби дослідниками з НУБіП було підтверджено в експериментальних умовах.

Також рН впливає на розвиток збудників хвороб риби. Збільшення рН до показника 8,5-9,0 сприяє затримці розвитку збудника аеромонозу коропів та віспи коропів, а зменшення рН нижче ніж 6,4 сприятиме некрозу та відмиранню пелюсток зябер, що може спричинити загибель риби (Яценко І.В. та ін., 2017).

Нітрити (NO₂-). Нітрити утворюються в процесі окислення азотовмісних органічних речовин, і їхня наявність свідчить про свіже органічне забруднення водойми. Нітрити потрапляють у воду в результаті забруднення господарсько-побутовими стоками, змивами з полів, при внесенні добрив у ставки, а також можуть відновлюватися з нітратів в анаеробних умовах, наприклад у ґрунтах водойм. При підвищеному вмісті нітритів звичайно відзначають низький рівень розчиненого кисню. Нітрити є токсичними для риб. Вони порушують зв'язування кисню гемоглобіном. Гранично допустима концентрація (ГДК) становить щодо азоту нітритів 0,02 мг/л. Однак технологічні норми допускають у рибоводних ставках

вміст нітритів на рівні 0,2 мг/л, а допустима межа – 0,3 мг/л.

Нітрати (NO_3^-). Нітрати утворюються з нітритів в наслідок процесу нітрифікації або потрапляють у водойми в результаті змиву добрив із полів, з атмосферними опадами, різними стоками. Підвищений рівень нітратів свідчить про те, що у водоймі нещодавно відбулось органічне забруднення. Нітрати значно менше токсичні, ніж нітрити. У рибицьких ставках допустимий вміст нітратів до 3 мг/л, а норма – до 2 мг/л.

Фосфати. Фосфати – солі ортофосфорної кислоти. Сполуки фосфору це найважливіші біогенні елементи. Залежно від рН сполуки фосфору у воді наявні як HPO_4^{2-} або як PO_4^{3-} . Підвищений вміст фосфатів є ознакою органічного забруднення водойм. Зазвичай фосфати присутні в кількості декількох десятків мг на літр. Часто саме фосфати лімітують розвиток фітопланктону. Фосфати малотоксичні, у рибоводних ставках норма фосфатів – від 0,2 до 0,5 мг/л, допустима межа – 2 мг/л. За даними Державного агентства з водних ресурсів, щороку у водойми України потрапляє до 8 кубокілометрів стічних вод, із яких 1,5-2 кубокілометри забруднені.

Залізо. Залізо присутнє у воді у двох формах: закисної та окисної. З'єднання закисного заліза розчиняються у воді, проте вони не стійкі і при наявності кисню швидко окислюються. Окисне залізо малорозчинне й осідає на дно та різні поверхні (у деяких випадках і на зябрах риб). З'єднання заліза накопичується в ґрунтах, особливо якщо для водопостачання застосовують артезіанські води, багаті залізом. В анаеробних умовах окисне залізо відновлюється й утворюються закисні сполуки заліза, що розчиняються у воді. Закисне залізо небезпечно для молоді риб, оскільки при його наявності у воді на зябрах риб розвиваються залізобактерії (Давидов О.Н. & Темниханов Ю.Д., 2003).

Біохімічне визначення кисню (БВК). Біохімічне споживання кисню свідчить, скільки кисню в міліграмах потрібно для того, щоб за деякий проміжок часу окислити органічні речовини, що містяться у воді. Пробу води витримують або 5 діб (БВК 5), або 20 (БВК 20 або БВК повне), для коропових ставків нормою є БВК 5 4-9 мг/л, допустимі значення до 15 мг/л.

Аміак і солі амонію. Аміак з'являється у воді в результаті розкладання органічної речовини, потрапляння у водойму господарсько-фекальних стоків, добрив. Амонійний азот виділяється рибами у воду як кінцевий продукт метаболізму азотовмісних речовин. Іони амонію (NH_4^+) для риб менш токсичні, ніж вільний аміак (NH_3). ГДК NH_4^+ для рибогосподарських водойм дорівнює 0,5 мг/л, а для NH_3 - 0,05 мг/л. Між іонами амонію й вільним аміаком, розчиненим у воді, існує нестійка рівновага, що залежить від рН і температури води (Яценко І.В. та ін., 2017).

Найбільш небезпечно утримувати лососевих у воді з підвищеним вмістом аміаку (дозволяється не більше ніж 0,1 мг/л) (Давидов О.Н. & Темниханов Ю.Д., 2003).

Температура води. Більшість наших прісноводних риб можуть жити в межах значних температурних коливань, фізіологічні процеси у яких відбуваються при температурі води 10-25 °С. Висока та низька температура води може сприяти виникненню хвороб риби – вірусна геморагічна хвороба форелі виникає при відносно низькій температурі 10-12 °С, а бронхіомікоз коропів, аеромоноз коропів, – при відносно високій температурі 20-25 °С. Низька температура призупиняє або затримує фізіологічні процеси: порушується

діяльність кровоносної, нервової, дихальної систем (Яценко І.В. та ін., 2017).

Сірководень. Сірководень – отруйний газ, розчинний у воді, для багатьох риб він смертельний навіть у мінімальній концентрації, у водоймищах утворюється при розкладанні органічних сполук, а особливо при розкладанні промислових стоків підприємств. Вміст сірководню вищий ніж 1 мг/л зменшує частоту дихання та сприяє підвищенню проникливості кліткових мембран, що відповідно може сприяти проникненню хвороботворних агентів до організму риби. Проте багато риб на його присутність реагують неоднаково. Так, форель гине вже при вмісті у воді сірководню 0,86 мг/л, а короп витримує концентрацію 6,3 г/л. Ступінь дії сірководню на риб залежить від температури. Із підвищенням температури загибель риб настає швидше (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007).

Метан (CH_4 болотяний газ) сам по собі для риб не отруйний. У водоймищі він утворюється в результаті розкладання органічної речовини і свідчить лише про дефіцит кисню. Риби доводиться підніматись у верхні шари водойми та постійно рухатися, що може призвести до схуднення риби. Риба гине від відсутності кисню, а не від отруйної дії метану. Метан легко можна виявити у воді. Утворившись у ґрунті, він бульбашками піднімається до поверхні та з води поступає в атмосферу (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007).

Сульфати та хлориди мінерального та органічного походження при потрапленні у воду знижують вміст кисню, тим самим негативно впливають на життєздатність риби. Значне збільшення рівня сульфатів та хлоридів, вище за максимально-допустимі рівні, є небезпечним для гідробіонтів.

Важкі метали та інші токсиканти при потрапленні у воду негативно впливають на рибу, зумовлюють гострі та хронічні отруєння, деякі з них мають кумулятивний ефект. Одними із головних та небезпечних забруднювачів водного середовища є важкі метали. Вони порушують екологічну рівновагу, через токсичний стрес спричиняють різноманітні пошкодження функціонального стану гідробіонтів, погіршують товарні якості риби. Механізм дії іонів важких металів базується на їхній здатності утворювати в живих тканинах стійкі зв'язки із сіркомісткими лігандами, джерелами яких можуть бути білки та низькомолекулярні тіоли. Токсичність цих речовин залежить від температури води, кількості кисню, локалізації в органах і тканинах риб (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007).

Загибель значної кількості коропів старших вікових груп дослідники відмічали при кумулятивному токсикозі, ускладненому катаральним запаленням кишкового тракту. Риба накопичує важкі метали в основному за перші 4-5 років життя. У період статевого дозрівання, коли основні ресурси витрачаються на генеративні процеси, ослаблений після зимівлі організм риб не в змозі протидіяти хронічній інтоксикації. На фоні кумулятивного токсикозу, спричиненого комплексом токсикантів, які забруднюють водойми, порушується стабільність природних асоціацій мікробіоти риби та виникають бактеріальні ускладнення (Яценко І.В. та ін., 2017).

Радіоактивність є дуже важливим фактором при оцінюванні безпечності риби. Особливо він актуальний в Україні після катастрофи на Чорнобильській АЕС, коли велика кількість радіоактивних речовин потрапила у воду. У 2018 році прийнята як Закон України «Загальнодержавна

програма розвитку водного господарства». У ній підкреслюється загострення наслідків Чорнобильської катастрофи, зокрема зростання негативного впливу радіації на стан здоров'я населення у водозбірному басейні Дніпра. Зазначається, що тільки за рахунок водного фактору колективна доза опромінення в ньому протягом років після катастрофи зросла на 3-13 %. Це зумовлено тим, що відбувається постійне надходження в його води радіонуклідів із забруднених територій водозбірних площ басейнів Прип'яті та Дніпра, де зосереджено близько 450 тисяч кюрі ^{137}Cs та майже 70 тисяч кюрі ^{90}Sr . За рахунок поверхневого змивання за рік воно може збільшуватися на 1-2 % для ^{90}Sr і 0,1-0,3 % для ^{137}Cs . Дослідники відмічають підвищену кількість ^{137}Cs у м'язах хижих риб та підвищення загальної забрудненості ^{137}Cs в організмі всіх риб на весні, що пов'язують зі змивання радіоактивних речовин із полів.

Підвищена радіація викликає збільшення аномалій у риб: ураження системи відтворення, стерильні риби, асиметричне розташування очей, «мопсовидність» риби (Секретарюк К. В. & Сварчевський О.А., 2007).

Мета досліджень

Метою наших досліджень було зміни факторів водного середовища в різні сезони року щоб оцінити їх вплив на виживання гідробіонтів в водоймах.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проводили в період з травня по вересень 2020 року. Дослідження проводили на базі кафедри ветеринарної медицини, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості

продуктів тваринництва та кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського національного аграрного університету та в рибогосподарствах ТОВ «Ряснянське» (с. Рясне Краснопільського району); ТОВ «Бджола» (с. Кононенково Сумського району), «Лисиця» (с. Боромля Тростянецького району) Сумської області.

Проводили дослідження води, вивчали гідрохімічний склад води ставів в умовах Сумської області, виконувалися щомісячні дослідження гідрохімічного стану ставів у вегетаційний період вирощування риби. Аналіз води здійснювали стандартними методами, що прийняті в гідрохімічних лабораторіях (Алекин О.А.и др., 1973). Проби води відбирали за допомогою батометру згідно ГОСТу 24481-80 «Вода питьевая. Отбор проб». Визначали концентрацію основних іонів (HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ + K^+), біогенних елементів (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}), загальний вміст органічних речовин (перманганатна і біхроматна окиснюваність), активну реакцію води (рН), а також лужність і загальну твердість (Алекин О.А.и др., 1973; Привезинцев Ю.А., 1972; Строганов Н.С. & Бузинова Н.С., 1980). Іхтіопатологічні дослідження, дослідження якості та безпеки риби проводили за загальноприйнятими методиками (Яценко І.В. та ін., 2017).

Результати власних досліджень

Дані гідрохімічного складу води зразків води зі ставу ТОВ «Ряснянське» Краснопільського району Сумської області представлені в табл.1.

Таблиця 1

Гідрохімічні показники води ставу ТОВ «Ряснянське» (с. Рясне Краснопільського району Сумської області)

Показник	Час проведення відбору проб					ГДК ОСТ15.372-87
	травень	червень	липень	серпень	вересень	
$\text{Na}^+ + \text{K}^+$, мг/л	25,6	27,8	39,3	36,7	33,4	до 120
Ca^{2+} , мг/л	44,3	38,7	75,3	57,8	55,4	до 180
Mg^{2+} , мг/л	12,7	9,3	16,7	7,4	7,1	до 30
HCO_3^- , мг/л	129,9	147,2	196,3	171,4	152,4	60–200
Cl^- , мг/л	11,3	16,8	24,1	16,2	12,9	25–40
SO_4^{2-} , мг/л	92,3	127,3	138,4	117,4	118,3	до 1000
Сума загальної мінералізації, мг/л	321,0	386,2	498,6	474,3	355,2	300–1000
Fe заг., мг Fe/л	0,021	0,026	0,047	0,031	0,030	до 1,0
NH_4^+ , мг N/л	0,019	0,119	0,102	0,008	0,007	до 1,0
NO_2^- , мг N/л	0,060	0,003	0,002	0,020	0,001	до 0,1
NO_3^- , мг N/л	0,100	0,001	0,001	0,110	0,025	до 2,0
PO_4^{3-} , мг P/л	0,010	0,261	0,040	0,050	0,049	до 0,5
Заг. тверд., мг-екв/л	3,8	4,8	5,2	3,8	3,1	2,0–6,0
Лужність, мг-екв/л	2,20	2,64	3,41	3,24	3,07	1,8–3,5
Окиснюваність біхроматна, мг O/л	18,5	32,8	32,0	30,5	30,1	до 60
Окиснюваність перманганатна, мг O/л	8,4	13,7	12,8	12,3	11,5	до 15
рН	8,12	7,48	7,49	7,09	7,20	6,5–8,5

При проведенні аналізу встановлено, що вода в ставках ТОВ «Ряснянське» відноситься до середньомінералізованої. В залежності від місяця відбувалися коливання: від 321 мг/л в травні до 498,6 мг/л в липні, але зазначені показники не перевищували ГДК ОСТ15.372-87 (300-1000 мг/мл). За характером іонного складу вода ставів належить до гідрокарбонатного складу кальцієвої групи.

Змінювався також водневий показник (рН) води мав від слаболужної до лужної реакції і коливався від 7,09 до 8,12. Також змінювалась перманганатна і біхроматна окиснюваність води: з весни до червня підвищувалась, а

потім знижувалась до осені. Лужність води ставів була помірною і змінювалась від 2,20 (травень) до 3,41 мг-екв/л (липень).

При дослідженні концентрації азоту амонійного, нітратного та нітритного – перевищення норми не було виявлено. Вміст мінерального фосфору склав від 0,01 до 0,261 мг P/л. Вміст загального заліза в ставках становив 0,020–0,040 мг Fe/л. Біогенні елементи у воді містилися в незначних кількостях.

Результати досліджень гідрохімічних показників зразків води ставу «Бджола» наведені в таблиці 2.

Гідрохімічні показники води ставу ТОВ «Бджола» (с. Кононенково Сумського району Сумської області)

Показник	Час проведення відбору проб					ГДК ОСТ15.372-87
	травень	червень	липень	серпень	вересень	
Na ⁺ +K ⁺ , мг/л	23,6	47,5	53,3	44,3	31,4	до 120
Ca ²⁺ , мг/л	41,3	59,4	98,3	78,3	51,2	до 180
Mg ²⁺ , мг/л	14,9	19,1	23,4	18,1	16,1	до 30
HCO ₃ ⁻ , мг/л	139,1	179,1	209,1	204,3	193,3	60–200
Cl ⁻ , мг/л	35,3	38,3	39,9	35,3	35,1	25–40
SO ₄ ²⁻ , мг/л	157,4	198,3	209,4	152,3	131,9	до 1000
Сума загальної мінералізації, мг/л	385,3	398,4	893,3	785,4	522,3	300–1000
Fe заг., мг Fe/л	0,059	0,078	0,096	0,091	0,064	до 1,0
NH ₄ ⁺ , мг N/л	0,054	0,085	0,091	0,084	0,063	до 1,0
NO ₂ ⁻ , мг N/л	0,014	0,018	0,021	0,018	0,005	до 0,1
NO ₃ ⁻ , мг N/л	0,012	0,018	0,023	0,027	0,021	до 2,0
PO ₄ ³⁻ , мг P/л	0,052	0,124	0,156	0,104	0,067	до 0,5
Заг.тврд., мг-екв/л	4,1	5,2	5,7	5,2	4,3	2,0–6,0
Лужність, мг-екв/л	2,29	2,38	3,01	3,23	2,45	1,8–3,5
Окиснюваність біхроматна, мг О/л	35,3	48,3	55,4	41,3	32,5	до 60
Окиснюваність перманганатна, мг О/л	8,2	12,3	13,7	12,4	11,3	до 15
pH	7,22	7,74	7,88	7,16	7,10	6,5–8,5

Аналізуючи вищенаведену таблицю, можемо сказати, що вода досліджуваного ставу ТОВ «Бджола» (с. Кононенково Сумського району) середньомінералізована. Загальна мінералізація становила 385,3–893,3 мг/л, яке збільшувалось з травня до липня, а після того відмічали зменшення до вересня місяця. При дослідженні складу мінеральних елементів встановлено, що вода ставів належить до гідрокарбонатного складу кальцієвої групи.

Рівень гідрокарбонатів в воді в липні та серпні перевищував ГДК (до 200 мг/л) і становив відповідно 209,1 та 204,3 мг/л, а в інші місяці досліджуваного періоду цей показник не перевищував норму. Перманганатна та біхроматна окиснюваність води протягом досліджуваного періоду не змінювалися.

Результати досліджень гідрохімічних показників зразків води ставу «Лисиця» наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Гідрохімічні показники води ставу «Лисиця» (с. Боромля Тростянецького району Сумської області)

Показник	Час проведення відбору проб					ГДК ОСТ15.372-87
	травень	червень	липень	серпень	вересень	
Na ⁺ +K ⁺ , мг/л	26,5	38,5	49,3	39,7	31,4	до 120
Ca ²⁺ , мг/л	52,3	52,3	96,4	74,5	69,4	до 180
Mg ²⁺ , мг/л	15,9	20,4	23,5	20,2	12,3	до 30
HCO ₃ ⁻ , мг/л	149,3	173,1	182,3	192,3	178,1	60–200
Cl ⁻ , мг/л	32,1	33,2	38,3	35,7	32,3	25–40
SO ₄ ²⁻ , мг/л	115,7	194,3	191,3	181,3	142,4	до 1000
Сума загальної мінералізації, мг/л	344,1	347,2	433,5	483,4	381,2	300–1000
Fe заг., мг Fe/л	0,039	0,059	0,069	0,051	0,043	до 1,0
NH ₄ ⁺ , мг N/л	0,042	0,073	0,150	0,104	0,089	до 1,0
NO ₂ ⁻ , мг N/л	0,014	0,021	0,031	0,048	0,023	до 0,1
NO ₃ ⁻ , мг N/л	0,005	0,008	0,012	0,018	0,037	до 2,0
PO ₄ ³⁻ , мг P/л	0,021	0,147	0,174	0,144	0,047	до 0,5
Заг.тврд., мг-екв/л	4,5	5,7	5,9	5,1	4,7	2,0–6,0
Лужність, мг-екв/л	2,48	3,02	3,43	3,45	2,41	1,8–3,5
Окиснюваність біхроматна, мг О/л	29,1	42,3	46,1	41,3	37,4	до 60
Окиснюваність перманганатна, мг О/л	10,3	13,2	14,7	11,3	11,2	до 15
pH	7,14	7,73	7,76	7,53	7,14	6,5–8,5

При визначенні динаміки біогенних елементів встановлено невелике збільшення амонійного, нітратного та нітритного азоту у воді починаючи з травня місяця до липня місяця, а в подальшому спостерігався поступовий їх спад. Фосфати змінювалися протягом вегетативного періоду від 0,021 до 0,041 мг P/л. Найбільшого значення вони набували у червні місяці, а потім поступово знижувалися. Вода у ставках «Лисиця» виявилась помірно твердою (4,5–5,9 мг-екв/л). Лужність води максимального значення набула в липні та серпні місяці (3,43–3,45 мг-екв/л), цей показник досяг до гранично допустимих концентрацій згідно ОСТ 15.372-87. Вода в ставку характеризувалась невисокою біхроматною

окиснюваністю – 29,1–46,1 мг О/л та перманганатною окиснюваністю (10,3 до 14,7 мг О/л). Водневий показник відповідав слабо лужній реакції протягом усього періоду досліджень (7,06–7,59).

Висновки

1. Встановлено, що по хімічному складу вода досліджуваних водоемів відноситься до гідрокарбонатного типу групи кальцію, що є характерним до групи Полісся. Основним катіоном у воді є кальцій (Ca²⁺ 35,0–79,4 мг/л), а основним аніоном є гідрокарбонат (HCO₃⁻ 127,5–198,2 мг/л).

2. Рівень гідрокарбонатів в воді с. Кононенково Сумського району в липні та серпні перевищував ГДК (до 200

мг/л) і становив відповідно 209,1 та 204,3 мг/л.

3. Коливання інших гідрохімічних показників мало динамічний характер і не виходило за межі встановлених рибоводних норм, що в свою чергу сприяло вирощуванню риби.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується проводити моніторинг абіотичних та біотичних факторів водного середовища, що мають вплив якості та безпечності рибної продукції.

References:

1. Alekyn, O.A., Semenov, A.D., & Skopyntsev, B.A. (1973). Rukovodstvo po khymycheskomu analyzu vod sush [Guide to chemical analysis of land waters]. 103 s.
2. Davidov, O.N. & Temnykhanov, Yu.D. (2003) Bolezny presnovodnikh rib [Diseases of freshwater fish]. 544 s.
3. Pryvezentsev, Yu.A. (1972) Hydrokhymia [Hydrochemistry]. 97 s.
4. Strohanov, N.S. & Buzynova, N.S. (1980) Praktycheskoe rukovodstvo po hydrokhymyy [A practical guide to hydrochemistry] 196 s.
5. Petrov, R., Nazarenko, S., Muravyov, F., Kutah, O., & Podlubny, O. (2019). Otsinka tovarnoi ryby, shcho realizuietsia v torhivelnii merezhi mista Sumy [Assessment of commodities fishing in the trade network of the city of Sumy]. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (3 (46)), 35-40. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.3.5>
6. Fotina, T.I., Petrov, R.V., Nazarenko S.M. et al. (2017). Osoblivosti rozpozvyudzhennya opistorhozu u prirodniy osередkah Sumskoyi oblasti [Features of the distribution of opisthorchiasis in natural centers of Sumy region]. *Veterinarna medycyna [Veterinary medicine]*, 103, 405-408.
7. Secretary, K.V. & Swarchevsky, O.A. (2007), Osnovi ekologichnoyi zooparazitologiyi [Fundamentals of ecological zooparasitology]. Lviv. 358 p.
8. Yatsenko, I.V., Bogatko, N.M., Bulgakova, N.V. et al. (2017), Gigiyena i ekspertiza harchovih gidrobiontiv ta produktiv yih pererobki. Chastina 1. Gigiyena i ekspertiza ribopromislovoyi produkciyi: *Pidruchnik* [Hygiene and expertise of food hydrobionts and their processing products. Part 1. Hygiene and expertise of fishery products: a textbook]. Kharkiv: Disa Plus. 680 p.
9. Yatsenko, I.V., Bogatko, N.M., Bulgakova, N.V. et al. (2017), Gigiyena i ekspertiza harchovih gidrobiontiv ta produktiv yih pererobki. Chastina 2. Gigiyena i ekspertiza vodnih ssavciy, bezhrebetnih gidrobiontiv, produkciyi z ribi: *pidruchnik* [Hygiene and expertise of food hydrobionts and their processing products. Part 2. Hygiene and expertise of aquatic mammals, invertebrates, fish products: A textbook]. Kharkiv: Disa Plus. 648 p.

R.V. Petrov, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

O.A. Kytah, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

T.P. Matvievskaia, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

V.V. Petrov, student Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Control of abiotic factors of pots of Sumy region

Introduction. Anthropogenic impact and ecological status of water bodies significantly affect the physiological, immune state of aquatic organisms, contamination of the outer coverings with microflora, their quality and safety indicators. The above processes are constantly occurring in dynamics and require monitoring by veterinary specialists. The occurrence, course and spread of infectious diseases of freshwater fish are associated with the action of various biotic, abiotic and anthropogenic factors. Among the many factors influencing the occurrence of infectious diseases of freshwater fish, researchers identify: pH, color, turbidity, permanganate oxidation, hardness, sulfates, chlorides, nitrates, nitrites, ammonium nitrogen, total mineralization, redox potential, temperature metals and toxicants, radioactivity, etc.

Materials and methods of research.

The study was conducted in the period from May to September 2020. The research was conducted on the basis of the Department of Veterinary Examination, Microbiology, Zoohygiene and Safety and Quality of Livestock Products and the Department of Virology, Pathoanatomy and Poultry Diseases of Sumy National Agrarian University and in fish farms of Ryasnyanske LLC (Ryasne village, Krasnopil district); LLC "Bee" (village Kononenkovo, Sumy region), "Fox" (village Boromlya, Trostyanets district), Sumy region.

Conducted water research, studied the hydrochemical composition of pond water in the Sumy region, performed monthly studies of the hydrochemical state of ponds during the growing season of fish farming. The analysis of water was carried out by standard methods adopted in hydrochemical laboratories. Water samples were taken using a bathometer according to GOST 24481-80 "Drinking water. Sampling. Determined the concentration of basic ions (HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ + K^+), nutrients (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}), the total content of organic matter (permanganate and dichromate oxidation), the active reaction of water (pH), as well as alkalinity and overall hardness. Ichthyopathological studies, studies of fish quality and safety were performed according to generally accepted methods.

Results of research and discussion.

During the analysis, it was found that the water in the ponds of LLC "Ryasnyanske" belongs to the average mineralized. Depending on the month, there were fluctuations: from 321 mg / l in May to 498.6 mg / l in July, but these figures did not exceed the MPC OST15.372-87 (300-1000 mg / ml). By the nature of the ionic composition of the pond water belongs to the hydrocarbonate composition of the calcium group.

The hydrogen index (pH) of the water also varied from slightly alkaline to alkaline reaction and ranged from 7.09 to 8.12. The permanganate and dichromate oxidation of water also changed: it increased from spring to June, and then decreased until autumn. The water alkalinity of the ponds was moderate and varied from 2.20 (May) to 3.41 mg-eq / l (July).

In the study of the concentration of ammonium, nitrate and nitrite nitrogen - no excess was detected. The content of mineral

phosphorus ranged from 0.01 to 0.261 mg R / l. The content of total iron in the ponds was 0.020–0.040 mg Fe / l. Nutrients in water were contained in small quantities.

The water of the studied pond of Bdzhol LLC (Kononenkovo village, Sumy district) is moderately mineralized. The total mineralization was 385.3–893.3 mg / l, which increased from May to July, and then decreased until September. When studying the composition of mineral elements, it was found that pond water belongs to the hydrocarbonate composition of the calcium group.

The level of hydrocarbons in the water in July and August exceeded the MPC (up to 200 mg / l) and amounted to 209.1 and 204.3 mg / l, respectively, and in other months of the study period, this figure did not exceed the norm. Permanganate and dichromate oxidation of water did not change during the study period.

When determining the dynamics of nutrients, a small increase in ammonium, nitrate and nitrite nitrogen in water was found from May to July, and then there was a gradual decline. Phosphates varied during the vegetative period from 0.021 to 0.041 mg R / l. They became most important in June, and then gradually decreased. The water in the Fox ponds turned out to be moderately hard (4.5–5.9 mg-eq / l). Alkalinity of water reached its maximum value in July and August (3.43-3.45 mg-eq / l), this figure reached the maximum allowable concentrations according to OST 15.372-87. The water in the pond was characterized by low dichromate oxidation - 29.1-46.1 mg O / l and permanganate oxidation (10.3 to 14.7 mg O / l). The hydrogen index corresponded to a weakly alkaline reaction throughout the study period (7.06–7.59).

Conclusions and prospects for further research.

1. It is established that the chemical composition of the water of the studied reservoirs belongs to the hydrocarbonate type of the calcium group, which is characteristic of the Polissya group. The main cation in water is calcium (Ca^{2+} + 35.0-79.4 mg / l), and the main anion is bicarbonate (HCO_3^- -127.5-198.2 mg / l).

2. The level of hydrocarbons in the water with Kononenkovo of Sumy district in July and August exceeded the maximum concentration limit (up to 200 mg / l) and amounted to 209.1 and 204.3 mg / l, respectively.

3. Fluctuations in other hydrochemical parameters were dynamic in nature and did not go beyond the established fish farming standards, which in turn contributed to fish farming

In the future it is planned to monitor abiotic and biotic factors of the aquatic environment that affect the quality and safety of fish products.

Key words: abiotic factors, anions, cations, chemical composition of water, quality, safety, fish.

Дата надходження до редакції: 09.01.2020 р.

ОЦІНКА ОПІРНОСТІ ДО ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ПТИЦІ ЛІНІЙ СЕЛЕКЦІОНОВАНИХ НА СТІЙКІСТЬ ДО НЕОПЛАЗМ

Лівощенко Людмила Павлівна

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-5826-4825
evglivosshenko@gmail.com

Лівощенко Євгенія Михайлівна

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-5826-4824
evglivosshenko@gmail.com

В результаті специфічної селекції за ХАО-тестом створено дві лінії курей з підвищеною стійкістю до інфікування збудниками хвороби Марека і лімфоїдного лейкозу: Д-2 - на базі породи леггорн, П-2 - полтавської глинястої. Індекс резистентності Д-2 становив - 50,5 %; П-2 79,3 % проти контролю, Д-4 - 11,0 % і П-37 - 58,8 %. Відбір за ХАО-тестом сприяв збільшенню стійкості птиці до лейкозу. При штучному зараженні вірусом лейкозу підгрупи А селекціоновані лінії були вірогідно (при $P < 0,01$) більше резистентні до захворювання лейкозом, порівняно з неселекціонованими. Аналогічна закономірність щодо стійкості до лейкозу відзначена і в умовах природного інфікування. Птиця лінії Д-2 виявилася більш резистентною до хвороби Марека: відсоток загиблених від цього захворювання у неї склав 7,0, в той час як по лінії Д-4 - 15,5 % від початкового поголів'я (не щеплена птиця). Після вакцинації кількість загиблених від хвороби Марека зменшилася до 0,11 % та 1,33 % відповідно названим лініям. У лінії П-2 не встановлено вірогідного підвищення стійкості до пухлин, викликаних вірусом хвороби Марека у порівнянні з контролем П-1.

Лінії П-2 і Д-2 в ході специфічної селекції не знизили своєї стійкості до найбільш поширених бактеріальних збудників (*E. coli*, *Sal. pullorum*), не відрізнялися від неселекціонованих ліній по чутливості імуноткомпетентних органів на вакцинацію (*La-sota*, *осповакцина*), а також на введення тимус - і бурсо залежних антигенів.

У більшості випадків як у міжпородних, так і міжлінійних гібридів відзначений проміжний характер успадкування стійкості до інфікування онкорнавирусами, тобто гібриди займали середнє положення між більш і менш резистентними вихідними лініями.

Гібридна птиця, отримана з використанням ліній, стійких до неоплазм, у віці 30 тижнів мала масу яєць 52-54 г, у річному віці - 6163 г, а середню за рік - 58-60 г. Яєчна маса в кращих поєднаннях становить 14-15 кг. Вік досягнення 50 %-ної несучості значно коливався в залежності від року дослідження, від якості вирощеного молодняка і часу переведення його в пташники. При оптимальних умовах 50 % несучості птиця досягала у віці 160-165 днів, однак маса яєць у цьому віці невисока - 47,9 - 48,6 г.

В результаті проведених випробувань найкращої несучості на початкову, так і середню несучку виявила комбінація В-7 х Д-2, від якої за 72 тижні життя отримано по 230 яєць на початкову і 244,2 яєць - на середню несучку при масі яєць у віці 30 тижнів 52,7 г і 52 тижні - 63,1 г. Однак збереження указаних гібридних курей виявилася нижчим на 2,3 %, в порівнянні з П-2хД-2. Зареєстрована загибель від неоплазми 0,9 % від початкового поголів'я проти 0,45% у П-2 х Д-2. У той же час від курей гібридної комбінації В-7хД-2 отримано на середньорічну несучку на 9,7 яєць більше, ніж від інших гібридів, що випробувалися в тому ж пташнику, в тих же умовах (250,2 яєця проти 240,5). Характерною особливістю випробовуваних поєднань є понижена їх сприйнятливості до захворювання неоплазмами, частота зареєстрованих неоплазм не перевищувала 1 %, в той час у решти курей цього пташника відхід від неоплазми склав 1,75 %, тобто в 2 рази більше.

Ключові слова: птиця, хвороба Марека, лімфоїдний лейкоз, резистентність, ХАО – тест, кури, гібриди, ембріони курей, неоплазми, сальмонельоз, колибактеріоз.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.7>

Вступ. З інтенсифікацією галузі птахівництва все більшого значення набуває охорона здоров'я птиці та підвищення її резистентності. Для вирішення цієї проблеми використовують ряд заходів, спрямованих на недопущення інфекції, лікування захворювань, застосування специфічних заходів профілактики. Незважаючи на це птиця не може успішно боротися з патогенними збудниками, що знаходяться в навколишньому середовищі, застосування медикаментозних препаратів, часто призводить до вироблення резистентності до ліків. Указані проблеми можуть бути вирішені шляхом підвищення специфічної та загальної резистентності, створенням стресостійких і генетично стійких до захворювань ліній і

кросів птиці, що добре пристосовуються до промислових умов.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Профілактика та боротьба з хворобою Марека (ХМ) базується на трьох основних засадах: здійсненні певних ветеринарно-санітарних, організаційно-господарських заходів; вакцинації; підвищенні генетичної стійкості птиці шляхом використання ліній і кросів з підвищеною резистентністю. Перші два принципи знайшли досить широке відображення в існуючих законодавчих документах (Engel AT, Selvaraj RK, Kamil JP, Osterrieder N, Kaufer BB, 2012, Leonard, J.P., Martin, P. & Roboz, G.J.,

2017). У 1970 році проти ХМ була представлена перша вакцина із герпесвірусу індиків (ВГІ - НВТ). Однак у 1980-х роках почалися спалахи ХМ у курчат, щеплених ВГІ. В подальшому була розроблена вакцина (НВТ + SB-1). У 1990-х роках спалахи ХМ на поголів'ї, щепленому вакциною НВТ + SB-1, сприяли щепленню курей новою вакциною із штаму CVI988 (Rispens) (Calnek BW, 1986; Read AF, Baigent SJ, Powers C, Kgosana LB, Blackwell L, Smith LP, Kennedy DA, Walkden-Brown SW, Nair VK, 2015; Swerdlow, S.H., Campo, E., Pileri, S.A., Harris, N.L., Stein, H., Siebert, R., Zelenetz, A.D., 2016).

Наведені літературні дані свідчать про те, що етіологічний збудник, вірус хвороби - Марека (ВХМ) еволюціонував до більшої вірулентності. Віттер оцінив за вірулентністю 35 штамів ВХМ (Witter RL, Solomon JJ, 1972). Класифікація патотипу, заснована на здатності ізолятів ВХМ переборювати вакцинний імунітет. Віруси оцінювалися від 0 до 100, 100 - найвища можлива вірулентність. Ізоляти ВХМ, виділені в 1960-х роках вважалися слабо вірулентними (vВХМ), ізоляти ВХМ, що реєструвалися в 1980-х роках, мали підвищену вірулентність або дуже високу вірулентність (vvВХМ), а ізоляти з 1990-х років мали найвищу вірулентність або дуже вірулентний плус - vv + ВХМ. Окрім порушення імунітету проти вакцин, ВХМ набув і інших властивостей. Віруси, що мали місце до 1960-х років середньої вірулентності (mВХМ), не змогли індукувати пухлини і лише здатні викликати помірне запалення. За ступенем збільшення вірулентності, як mВХМ переростав у vВХМ, віруси набували здатності індукувати пухлини (Calnek BW, 2001; Morrow C, Fehler F, 2004; Zerboni L, Sen N, Oliver SL, Arvin AM, 2014). Останньою особливістю вірусів є здатність викликати імуні-депресію, яка проявилася у vvВХМ і підвищилася до vv + ВХМ.

На підставі наведеної інформації можна зробити висновок, що використання вакцинації як засобу профілактики ХМ має велике значення у попередженні утворення пухлин в організмі птиці, але постійне підвищення вірулентності ВХМ примушує людство розробляти і застосовувати нові вакцини, що в свою чергу призводить до чергового витка у підвищенні вірулентності і агресивності ВХМ, зокрема, як імуні-депресивні властивості, тому необхідні і інші методи боротьби з ХМ.

В країнах з високорозвиненим птахівництвом селекційно-генетичні методи профілактики і боротьби з неоплазмами визнані перспективними. В даний час у ФРН, Фінляндії,

Нідерландах, Англії, США виводять лінії курей, стійкі одночасно до кількох інфекцій: лімфоїдного лейкозу, хвороби Марека, хвороб органів дихання (Gimeno IM, Cortes AL, Montiel ER, Lemiere S, Pandiri AK, 2011, Sukmansky O., Ulyzko S., 2020). Є повідомлення про отримання таких ліній в Індії. Методи створення стійких ліній маловідомі, а серед відомих не всі прийнятні для застосування в наших умовах. Зважаючи на це слід вишукувати більш вірогідні і прості тести прижиттєвого визначення індивідуальної стійкості птиці до неоплазм, вивчивши питання використання їх в селекції.

Проведена нами оцінка багатьох тестів довела, що найбільш точним і з можливістю використання в роботі селекціонерів – генетиків є метод визначення резистентності птиці за стійкістю її зародків - ХАО-тест. Іноді селекція птиці за однією ознакою призводить до погіршення інших показників. Це питання є важливим при використанні птиці в промислових умовах.

Мета роботи полягала в з'ясуванні збереження опірності до інфекційних захворювань у птиці ліній, де проводилася селекція на резистентність до утворення неоплазм.

Матеріали і методи. В роботі використовувалася птиця двох ліній курей, отриманих в результаті спрямованої селекції з використанням ХАО-тесту на підвищену стійкість до збудників ЛЛ і ХМ: Д-2 - на базі лінії Д-4 породи леггорн і П-2 - на основі лінії П-37, полтавської глинястої породної групи, а також лінія з підвищеною чутливістю до названих збудників (Д-1) - на базі лінії Д-4 та П-1 на основі полтавської глинястої лінії П-37. Контролем за ходом селекції служили лінії Д-4 та П-37.

Результати власних досліджень. При проведенні досліджень по створенню стійких до неоплазм ліній курей (Д-2, П-2) контролем за ходом селекції служили лінії Д-1 та П-1. У них не проводили оцінку і відбір птиці за ХАО-тестом. Селекція велася за продуктивністю і життєздатністю окремих осіб, сімей і родин. Однак, в лінії Д-1 проводили часткове прилиття крові від півнів, оцінених як чутливі, які відщеплювалися при оцінці птиці лінії Д-2.

Селекція птиці за ХАО-тестом з урахуванням захворюваності потомства окремих плідників на пухлинні хвороби, до яких відноситься ХМ і лімфоїдний лейкоз (ЛЛ), сприяла зменшуванню кількості випадків неоплазм серед птиці, що селекціонується на резистентність до утворення пухлин (рис. 1).

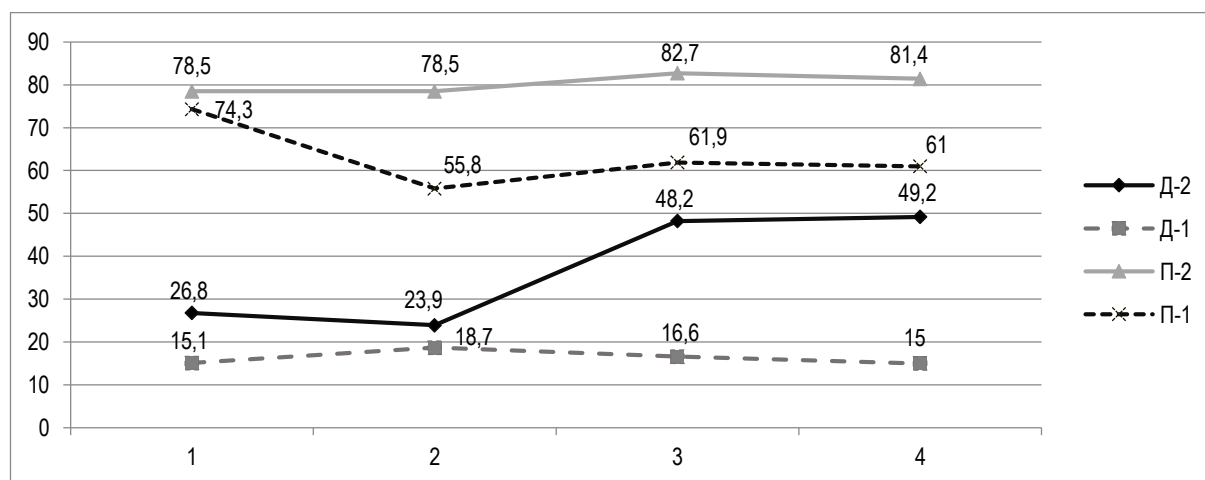


Рис.1. Показники ХАО-тесту по рокам дослідження в період проведення селекції

Установлено, що в перший рік дослідження серед вихідного поголів'я леггорнів неоплазми реєструвалися у 2,1 %, від поставленої на випробування птиці, то в результаті проведеної селекції за ХАО-тестом серед курей лінії Д-2 на третій рік дослідження випадків захворювання на неоплазмами у птиці цієї лінії не відмічено. По лінії Д-1 на початку проведення роботи загибель від лейкозу і саркоми складала 2,9 %, тоді як на кінець досліді знизилася до 0,3 %. Але різниця між лініями Д-1 і Д-2 виявилася невірогідною.

Подібна закономірність відзначена у курей лінії П-2 полтавської глинистої породної групи. На початку випробування загибель птиці від неоплазми складала 2,5 %, на кінець досліді - непластичні захворювання не виявлені. При дослідженні птиці лінії П-1 близько 1 % випробовуваного поголів'я мало клінічні і патологоанатомічні зміни, характерні для неоплазм. Різниця між лініями П-1 та П-2 вірогідна при $P < 0,01$.

В наступні роки селекції на стійкість до неоплазм

птиця лінії Д-2 і П-2 мала вірогідну перевагу над такими де селекційна робота не проводилася (вихідними лініями). По стійкості до інфікування індекс резистентності по лінії Д-2 складав 41,5 % проти 11,0 % по лінії Д-4. Лінія П-2 виявила значно вищі показники - 72,3 % проти 58,8 % у П-37. При дослідженні захворювання на ХМ і ЛЛ в процесі експлуатації дорослої птиці по лінії Д-2 чутливих виявилось вірогідно менше - 1,9 % в порівнянні з контролем лінією Д-1 - 3,4 %. У лінії П-2 також спостерігали підвищення стійкості до захворювання в порівнянні з П-1, але в меншій мірі, ніж у леггорнів., що не давало можливості чітко виявити розходження в стійкості П-2 та П-1.

Проведена оцінка опірності селекціонованих ліній птиці до неоплазм і інших інфекційних захворювань, зокрема, таких, як сальмонельоз і колибактеріоз, що значно поширених в птахівництві (табл.1).

Таблиця 1.

Оцінка опірності до інфекційних захворювань у птиці ліній селекціонованих проти неоплазм

Показники	лінії курей			
	Д-2	Д-1	П-2	П-1
1	2	3	4	5
Індекс стійкості в ХАО-тесті, %	50,5***	11,0***	79,3***	58,8***
стійкість до ВЛЛ, %				
підгрупа А	39,7*	29,4*	75,3**	60,3*
підгрупа А+В	8,0	12,0	31,0	27,0
загибель від ХМ, %				
- не щеплена птиця				
молодняк	6,1*	8,9*	4,6	4,0
доросла	7,0**	15,5**	9,6	8,1
- щеплена птиця				
молодняк	0	0	0	0
доросла	0,11*	0,13*	0,35	0,29
загибель від ЛЛ, %	1,9***	3,4***	0,13**	2,9**
Стійких до колибактеріозу, %	41,9	44,5	42,1	36,2
Стійких до сальмонельозу, %	31,9	32,6	34,5**	15,7**
Стан імункомпетентної системи:				
В – лімфоцитів	3,7	3,7	3,8	3,6
Т – лімфоцитів	4,1	4,2	3,2	3,6

Примітка: * - різниця вірогідна при $P < 0,05$;

** - різниця вірогідна при $P < 0,01$.

*** - різниця вірогідна при $P < 0,001$.

Лінія Д-2 виявилась більш стійкою до неоплазм, що викликані збудниками лейкозо-саркомного комплексу, так і тих, причиною яких були герпесвіруси, тобто до ХМ. При випробуванні цієї птиці в умовах господарства відсоток курей з неоплазмами по лінії Д-2 склав 7,0, по лінії - Д-4 - 15,5 від початкового поголів'я (не щеплена птиця проти ХМ). Після вакцинації число хворих зменшилось і склало 0,11 % та 1,33 % відповідно. У лінії П-2 не відзначено вірогідного підвищення стійкості до пухлин, викликаних герпесвірусами. Залишається припустити, що в лінії Д-2 при селекції за ХАО-тестом були залучені певні механізми, що відповідають за стійкість птиці до ХМ.

При випробуванні стійкості птиці ліній (Д-2, П-2) до найбільш поширених бактеріальних захворювань встановлено, що вони не знизили своїй стійкості до колибактеріозу.

За даними дворічних досліджень відмічено вірогідно вищу стійкість до сальмонельозу по лінії П-2, ніж в П-37; у лінії Д-2 у порівнянні з П-2 такої закономірності не встановлено. Селекціонуємі лінії порівняно з контролем не відрізнялися по своїй реакції на вакцину проти псевдочуми (La-sota) і віспи, а також відповідно на введення тимус- і бурсозалежних антигенів, що свідчить про те, що специфічна селекція не вплинула негативно на резистентність створених ліній, на стійкість до найбільш поширених бактеріальних захворювань і чутливість імункомпетентних органів.

Без застосування селекції за ХАО-тестом ознака стійкості до неоплазм підтримувалася протягом п'яти поколінь (рис. 2).

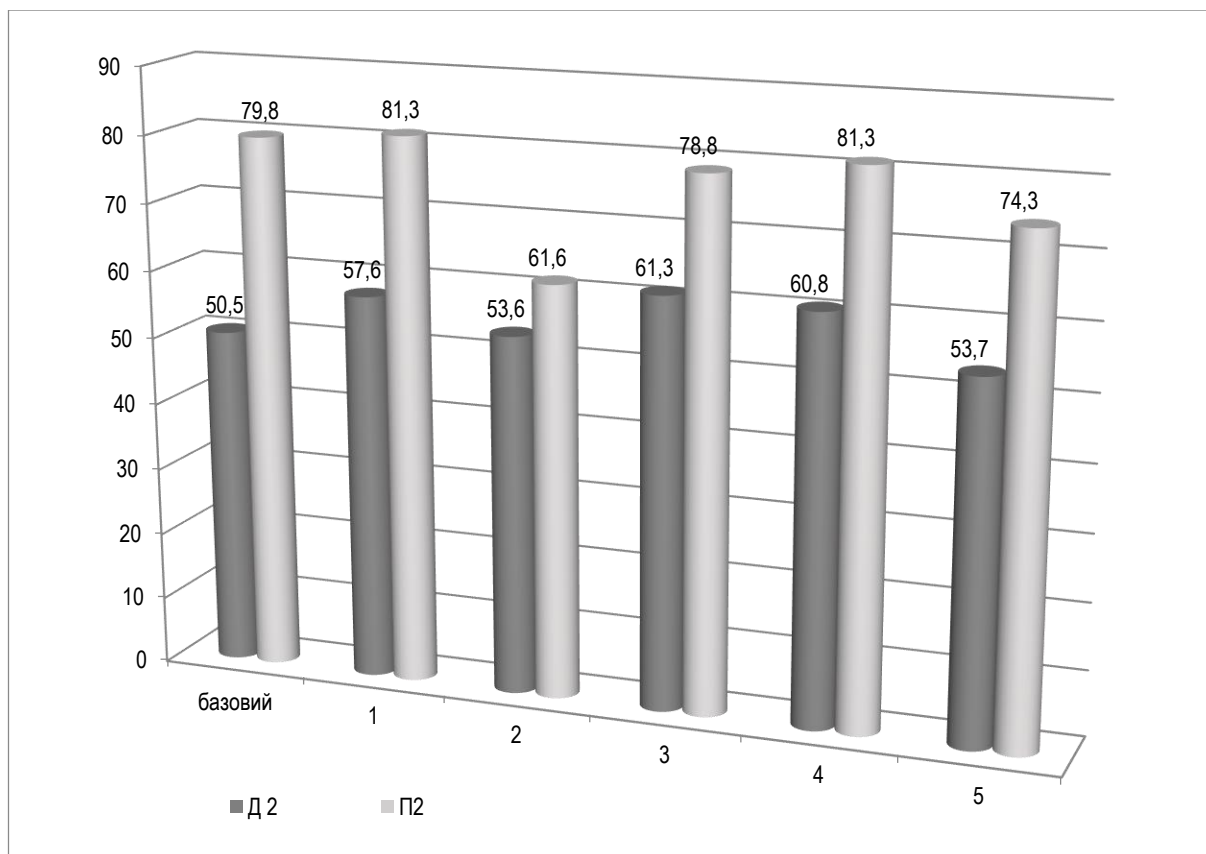


Рис.2. Період збереження показників ХАО-тесту без проведення селекції

В цей період проводили удосконалення птиці за продуктивними показниками (табл.2).

За наведеними результатами несучість сягала за 72 тижні життя в лінії Д-2 (12) - 243,8 шт. на початкову, 251 яйце

на середню несучку при масі яєць 62 г у 12-місячному віці і високій збереженості курей 93,8 % при практичній відсутності захворювання неоплазмами (0,22 %).

Таблиця 2.

Показники продуктивності лінії курей

Показники	Лінії курей			
	Д-2	Д-4 (конт-роль)	П-2	П-37 (конт-роль)
несучість на несучку за 72 тижні життя, штук				
середню	246	235	222	220
початкову	241	223	216	212
вік досягнення 50,0 % несучості, дні	161	164	169	165
маса яєць, г				
в 30 тижнів	53,1	52,9	51,3	55,5
в 52 тижні	62,0	63,9	59,7	60,1
заплідненість яєць, %	94,4	94,3	88,8	92,0
виводимість, %	88,9	86,6	83,9	82,0
збереженість дорослого стада, %	93,8	91,2	92,2	91,0

По лінії П-2 (14) несучість була на рівні 220-225,1 шт., маса яєць - 59,7 г, збереження 92,2-94,5 %, відходу практично не було. Заплідненість по Д-2 (12) склала 90,4-94,4 %, виводимість 86,9 - 88,9 %; у лінії П-2 (14) - відповідно 88,5-91,9 %; 86,1-87,1 %.

Таким чином, в результаті специфічної селекції за ХАО-тестом протягом 8 поколінь створено дві лінії курей з підвищеною стійкістю до інфікування збудниками лейкозо-саркомної групи: Д-2 - на базі породи леггорн, П-2 - полтавської глинястої породної групи. Індекс резистентності Д-2 становив - 50,5 %; П-2 79,3 % тоді, як в контролі по лінії Д-4 - 11,0 % і П-37 - 58,8 %. Відбір за ХАО-тестом сприяв збільшенню стійкості птиці до лейкозу і ХМ. При штучному зараженні вірусом

лейкозу підгрупи А селекціоновані лінії були вірогідно (при $P < 0,01$) більше резистентні до захворювання на неоплазми, порівняно з контролем. Аналогічна закономірність щодо стійкості до неоплазм відзначена і в умовах природного інфікування.

Без застосування селекції за ХАО-тестом ознака стійкості до інфікування онкорнавирусами підтримувався протягом п'яти поколінь (час спостережень). Птиця лінії Д-2 була більш резистентною до хвороби Марека: відсоток загиблих від цього захворювання у неї склав 7,0, в той час як в лінії Д-4 (базова, контроль) - 15,5 % від початкового поголів'я (без щеплення). Після вакцинації кількість загиблих від БМ змен-

шилася і склала 0,11 % та 1,33 % відповідно до названих ліній. У лінії П-2 не встановлено вірогідного підвищення стійкості до пухлин, викликаним ХМ у порівнянні з П-37.

Лінії П-2 і Д-2 в ході специфічної селекції не знизили своєї стійкості до найбільш поширених бактеріальних збудників (*E. coli*, *S. pullorum*), не відрізнялися від контрольних ліній за чутливістю головних імункомпетентних органів на вакцинацію (La-sota, осповакцина), а також на введення тимус - і бурсозалежних антигенів.

На підставі лейкозрезистентних ліній створюються кроси з підвищеною стійкістю до неоплазм. Створена чутлива лінія Д-1 відрізнялася низьким індексом резистентності, що визначаються у ХАО-тесті (15,0 %), і високою чутливістю до вірусу AMV (підгрупи А і В). Птиця цієї лінії накопичувала зазначений вірус у високих титрах, що давало можливість використовувати її в якості об'єкта для отримання ферменту зворотної транскриптази.

Наведені дані свідчать про можливість селекції на

створення специфічної стійкості і підвищення продуктивних якостей птиці. З метою перевірки можливості підвищення стійкості птиці до ретровірусної інфекції шляхом гібридизації і отримання на їх основі високопродуктивних гібридів проводили схрещування створених ліній між собою, а також з низкою перспективних без селекції на стійкість до неоплазм ліній породи леггорн (В-7, С - 2, А-36). При отриманні гібридного молодняку проводили оцінку на стійкість до інфікування онкорнавирусами із застосуванням ХАО - тесту. Від комбінації досліджували не менше 200 ембріонів. Молодняк вирощували при клітковому утриманні в пташнику на 20 тисяч голів. Загибаль враховували щодня з встановленням причини падежу.

У більшості випадків як у міжпородних, так і міжлінійних гібридів установлений проміжний характер успадкування стійкості до інфікування онкорнавирусами, тобто гібриди займали середнє положення між більш і менш резистентними вихідними лініями (табл. 3).

Таблиця 3.

Показники стійкості гібридного молодняку до інфікування онкорнавирусами

Поєднання, лінія	Рік дослідження					
	1		2		3	
	досліджено зародків, штук	стійких, %	досліджено зародків, штук	стійких, %	досліджено зародків, штук	стійких, %
Д-2хП-2	545	48,1	693	78,8	1036	73,0
С-2хД-2	295	44,7	382	38,7***	212	29,2*
В-2хД-2	470	37,2	291	60,1***	170	27,6*
П-2хД-2	822	59,6	789	65,1***	1127	63,5***
П-2хА-1	823	41,3	448	45,3***	-	-
П-2х36	-	-	543	50,3***	-	-
П-2	594	78,3	579	88,9	454	79,1
Д-2	522	39,3	480	53,8***	448	43,3***
В-7	-	-	66	42,4***	130	18,0*
С-2	-	-	83	22,8***	130	18,0*
А-1	-	-	89	17,9***	-	-
36	-	-	107	15,8***	110	9,0

Примітка: ** - різниця вірогідна при $P < 0,05$;
*** - різниця вірогідна при $P < 0,001$.

Більш значне підвищення стійкості у гібридів у порівнянні з контролем за цією ознакою зазначено при схрещуванні з лінією П-2 (на 27-34 % в поєднаннях П-2 х А-1, П-2 х 36), ніж з Д-2 (від 6 до 18 % в комбінаціях В-7 х Д-2, С-2 х Д-2). Перевага гібридів в усіх випадках вірогідна (при $P < 0,05$; $P < 0,001$).

Найвища резистентність установлена у гібридів Д-2 х П-2 (на рівні 73,0 – 78,0 %), тобто близька до показника самої стійкої лінії П-2. У зворотній комбінації П-2хД-2 указаний показник виявився нижчим, але досить високим – 63,0 – 70,0 %.

Отримані дані несучості гібридів показують, що в ряді комбінацій при оптимальних умовах утримання проявляється значний гетерозис: істинний по несучості на рівні 5-10% на

початкову несучку та 3-8% - середню, а зоотехнічний відповідно 6 і 10%.

У кращих комбінаціях (Д-2 х П-2, В-7 х Д-2) за 72 тижні життя отримано по 249-251 яєць на початкову та 257 штук на середню несучку при високому збереженні птиці – 90,0 – 94 % (за мінусом падежу і вимушеної вибраковки). Слід зазначити, що межпородні гібриди, отримані з використанням лінії П-2, в більшості випадків перевершували за збереженням на 1,2-6,5 % міжлінійних гібридів породи леггорн.

Загибель курей від неоплазм не перевищувала 1 % від числа несучок, посаджених на контроль (табл. 4). В цілому по всій дослідній птиці відхід від неоплазми склав 0,68 % від початкового поголів'я і 6,1 % від числа загиблої птиці.

Загибель гібридної птиці від неоплазм

Поєднання, лінія	Рік дослідження			
	1		2	
	початкове поголів'я, голів	неоплазм від початкового поголів'я, %	початкове поголів'я, голів	неоплазм від початкового поголів'я, %
Д-2хП-2	230	0,43	151	0,66
С-2хД-2	204	-	208	0,48
В-2хД-2	154	-	504	0,98
П-2хД-2	314	-	497	0,40
П-2хА-1	243	-	-	-
П-2х36	192	-	-	-
П-2	141	-	215	0,93
Д-2	18	0,52	182	0,54
загальна кількість птиці по досліді	1667	0,20*	1757	0,68***
загальна кількість птиці по пташнику	18776	0,60*	19512	1,75***

Примітка: * - різниця вірогідна при $P < 0,05$;

*** - різниця вірогідна при $P < 0,001$.

У загальній кількості птиці по пташнику (місткість пташника 19500 голів), що служила контролем, указаний показник виявився у 2,5-3,0 рази вище, тобто 1,75 % від початкового поголів'я і 18,2 % від загиблих. Різниця високо вірогідна ($P < 0,001$).

У попередні роки загибель від неоплазм зареєстрована нижчою, але різниця та ж - 0,2 % в досліді і 0,6 % в контролі (від початкового поголів'я).

Гібридна птиця, отримана з використанням ліній, стійких до неоплазм, у віці 30 тижнів мала масу яєць 52-54 г, у річному віці – 6163 г, а середню за рік - 58-60 г. Яєчна маса в кращих поєднаннях становить 14-15 кг. Вік досягнення 50 %-ної несучості значно коливався в залежності від року дослідження, від якості вирощеного молодняку і часу переведення його в пташники - "випробувачі". При оптимальних умовах 50 % несучості птиця досягала у віці 160-165 днів, однак маса яєць у цьому віці невисока - 47,9 - 48,6 г.

На підставі проведених випробувань різних гібридних комбінацій, отриманих з використанням лейкозрезистентних ліній, із них були вибрані 3 кращі і поставлені на виробничу перевірку. Кури поєднань-7 х Д-2, П-2 х Д-2 були посажені на випробування в пташники місткістю 20 тисяч голів. В указаному пташнику випробовувалася птиця ще 83 різних поєднань.

В результаті проведених випробувань найкращої несучості на початкову, так і середню несучку виявила комбінація В-7 х Д-2, від якої за 72 тижні життя отримано по 230 яєць на початкову і 244,2 яєць - на середню несучку при масі яєць у віці 30 тижнів 52,7 г і 52 тижні - 63,1 г. Однак збереження указаних гібридних курей виявилася нижчою на 2,3 %, в порівнянні з П-2хД-2. Зареєстрована загибель від неоплазми 0,9 % від початкового поголів'я проти 0,45% у П-2 х Д-2.

У той же час від курей гібридної комбінації В-7хД-2 отримано на середньорічну несучку на 9,7 яєць більше, ніж від інших гібридів, що випробувалися в тому ж пташнику, в

тих же умовах (250,2 яйця проти 240,5). Характерною особливістю випробовуваних поєднань є понижена їх сприйнятливості до захворювання неоплазмами, частота зареєстрованих неоплазм не перевищувала 1 %, в тоді як у решти курей цього пташника відхід від неоплазми склав 1,75 %, тобто в 2 рази більше.

Таким чином, у гібридів стійкість до інфікування вірусами непластичних захворювань носить проміжний характер, що є основою для підвищення резистентності птиці до неоплазм, тобто шляхом схрещування стійких і чутливих ліній курей.

Висновки

1. Неопластичні захворювання (ЛЛ, ХМ) значно поширені серед птиці країн з інтенсивним розвитком птахівництва і завдають значних економічних збитків галузі. Специфічна профілактика відсутня, як при ЛЛ чи недостатньо ефективна, наприклад, при ХМ, особливо з появою високовірулентних штамів вірусу цього збудника.

2. Підвищення генетичної стійкості птиці в комплексі з ветеринарно-санітарними заходами та специфічною профілактикою є одним із стратегічних напрямків збереження економічно оптимального рівня продуктивності птиці.

3. Досягнутий показник стійкості ембріонів в лініях зберігався без специфічної селекції за ХАО-тестом протягом п'яти поколінь (термін спостереження). Несучість курей за 500 днів життя склала 218-239 яєць на середню несучку, маса яєць у річному віці 57,2-58,6 г., збереження дорослої птиці 90,6-92,4 %. По лінії Д-4 стійкість в ХАО-тесті становила 9,8 %, загибель від лейкозу і саркоми - 4-14 % від числа загиблих. Несучість 211-233 яєць на середню несучку.

4. Спрямована селекція на резистентність до онкогенних вірусів не знизила стійкості птиці до колібактеріозу і сальмонельозу.

5. В виробничих умовах птиця лінії Д-2 і П-2 виявляла більш високу стійкість до захворювання лімфоїдним лейкозом і хворобою Марека порівняно з контролем Д-4 і П-37.

References:

1. Abdul-Careem, MF, Javaheri-Vayeghan, A, Shanmuganathan, S, Haghghi HR, Read LR, Haq K, Hunter DB, Schat KA, Heidari M, Sharif S (2009). Establishment of an aerosol-based Marek's disease virus infection model. Avian Dis 53:387-391.
2. Calnek, BW (1986). Marek's disease—a model for herpesvirus oncology. Crit Rev Microbiol 12:293-320.
3. Calnek BW (2001). Pathogenesis of Marek's disease virus infection. Curr Top Microbiol Immunol 255:25-55.
4. Engel, AT, Selvaraj, RK, Kamil, JP, Osterrieder, N, Kaufer, BB (2012). Marek's disease viral interleukin-8 promotes lymphoma formation through targeted recruitment of B cells and CD4+ CD25+ T cells. J Virol 86:8536-8545.

5. Gimeno, IM, Cortes, AL, Montiel, ER, Lemiere, S, Pandiri, AK (2011). Effect of diluting Marek's disease vaccines on the outcomes of Marek's disease virus infection when challenged with highly virulent Marek's disease viruses. *Avian Dis* 55:263–272
6. Leonard, J.P., Martin, P. & Roboz, G.J. (2017). Practical implications of the 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid and myeloid neoplasms and acute leukemia. *J. Clin. Oncol.* 35(23), 2708-2715. doi: [10.1200/JCO.2017.72.6745](https://doi.org/10.1200/JCO.2017.72.6745).
7. Neumann, U., Witte, R. L. (1979). Differential Diagnosis of Lymphoid Leukosis and Marek's Disease by Tumor-Associated Criteria I. Studies on Experimentally Infected Chickens. *Avian Diseases*. Vol. 23, No. 2, pp. 417-425.
8. Nitish Boodhoo, Angila Gurung, Shayan Sharif & Shahriar Behboudi (2016). Marek's disease in chickens: a review with focus on immunology. *Veterinary Research* volume 47, Article number: 119
9. Morrow C, Fehler F (2004). Marek's disease: an evolving problem. In: Davison F, Nair V (eds) *Marek's disease: a worldwide problem*. Elsevier Academic Press, London, pp 49–61.
10. Pomeroy B S, Paul P. Marek's disease and its implication for the prevention of lymphoma and leukemia. *Medicine (Baltimore)*. 1973 Jul;52(4):363-5. doi: [10.1097/00005792-197307000-00015](https://doi.org/10.1097/00005792-197307000-00015)
11. Read AF, Baigent SJ, Powers C, Kgosana LB, Blackwell L, Smith LP, Kennedy DA, Walkden-Brown SW, Nair VK (2015). Imperfect vaccination can enhance the transmission of highly virulent pathogens. *PLoS Biol* 13:e1002198.
12. Witter RL, Solomon JJ (1972). Experimental infection of turkeys and chickens with a herpesvirus of turkeys (HVT). *Avian Dis* 16:34–44
13. Sukmansky O., Ulyzko S. Modern classification of hematopoietic neoplasms (2020) *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*. Issue 97. DOI: [10.37000/abbsl.2020.97.06](https://doi.org/10.37000/abbsl.2020.97.06)
14. Swerdlow, S.H., Campo, E., Pileri, S.A., Harris, N.L., Stein, H., Siebert, R., Zelenetz, A.D. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, 127(20), 2375-2390. doi: [10.1182/blood.2016-01-643569](https://doi.org/10.1182/blood.2016-01-643569).
15. Zerboni L, Sen N, Oliver SL, Arvin AM (2014) Molecular mechanisms of varicella zoster virus pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 12:197–210.

L.P. Livoshenko, PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

E.M. Livoshenko, PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Assessment of resistance to infectious diseases in birds of line selected against neoplasms

As a result of specific selection by CAM-test, two lines of chickens with increased resistance to infection with pathogens of Marek's disease and lymphoid leukemia of the group were created: D-2 - on the basis of Leghorn breed, P-2 - Poltava clay. The D-2 resistance index was 50.5%; P-2 79.3% against control, D-4 - 11.0% and P-37 - 58.8%. Selection by CAM - test helped to increase the bird's resistance to leukemia. When artificially infected with the leukemia virus, subgroups A of the selected lines were probably (at $P < 0.01$) more resistant to leukemia than non-selected. A similar pattern of resistance to leukemia was observed in natural infections.

*The bird of line D-2 was more resistant to Marek's disease: the percentage of deaths from this disease in it was 7.0, while in line D-4 (initial, unselected) and 15.5% of the initial population (not vaccinated bird). After vaccination, the number of deaths from Marek's disease decreased to 0.11% and 1.33%, respectively, the named lines. Line P-2 did not show a probable increase in resistance to tumors caused by Marek's disease in comparison with control P-1. Lines P-2 and D-2 during specific selection did not reduce their resistance to the most common bacterial pathogens (*E. coli*, *S. pullorum*), did not differ from unselected lines on the sensitivity of the main immunocompetent organs to vaccination (*La-sota*, smallpox vaccine), as well as the introduction of thymus - and bursa-dependent antigens.*

In most cases, both interbreed and interlinear hybrids have an intermediate inheritance of resistance to infection by oncornaviruses, ie hybrids occupied the middle position between more or less resistant baselines.

The hybrid bird, obtained using lines resistant to neoplasms, at the age of 30 weeks had an egg weight of 52-54 g, at the age of 6163 g, and the average for the year - 58-60 g. The egg mass in the best combinations is 14-15 kg. The age of 50% egg production varied significantly depending on the year of the study, the quality of the young and the time of its transfer to poultry houses. Under optimal conditions, the bird reached 50% of egg production at the age of 160-165 days, but the weight of eggs at this age is low - 47.9 - 48.6 g.

As a result of tests of the best laying on the initial and middle laying hens revealed a combination of B-7 x D-2, from which for 72 weeks of life received 230 eggs per initial and 244.2 eggs - on the average laying hen at the weight of eggs at the age of 30 weeks 52.7 g and 52 weeks - 63.1 g. However, the preservation of these hybrid chickens was lower by 2.3%, compared with P-2xD-2. The registered death from neoplasm was 0.9% of the initial population against 0.45% in P-2 x D-2.

At the same time, chickens of the B-7xD-2 hybrid combination received 9.7 more eggs per average laying hen than other hybrids tested in the same poultry house under the same conditions (250.2 eggs vs. 240.5). A characteristic feature of the tested combinations is their reduced susceptibility to neoplasms, the frequency of registered neoplasms did not exceed 1%, while the rest of the chickens of this poultry departure from the neoplasm was 1.75%, ie 2 times more.

Key words: *bird, Marek 's disease, lymphoid leukemia, resistance, CAM – test (chorion allantoic membrane), chickens, chicken embryos, neoplasms, salmonellosis, colibacillosis.*

Дата надходження до редакції: 20.01.2020 р.

ПРОБІОТИЧНІ МІКРООРГАНІЗМИ В РУБЦІ ТЕЛЯТ

Кассіч Володимир Юрійович

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-9859-8036
kassich_v_u@ukr.net

Нечипоренко Олександр Леонідович

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-9030-9719
sa_ne@ukr.net

В статті викладені результати дослідження послідовного заселення різними видами мікробних популяцій в рубці телят. Першими бактеріями, які найбільш інтенсивно розвивалися в шлунку були кишкова паличка і стрептококи. Кількість кишкової палички була високою у одноденних телят і поступово знижувалась і досягала стабільного рівня протягом 6-8 тижнів. Кількість стрептококів була високою протягом 8 тижнів після народження і знижувалась у десятиденних телят. Кількість лактобактерій, яка була високою у одноденних телят, збільшувалась і у двотижневих телят, а потім залишилася незмінною. Аміполітичні бактерії присутні в надлишку у одноденних телят. Кількість, яка збільшилася у триденних тварин, і після цього залишалася незмінною. Кількість сульфат-редуючих бактерій, лактат, ксілан-ферментерів і пектин-ферментерів, які були низькими в одноденних телят, збільшилися протягом 3 днів після народження, а потім залишалися незмінними. Целюлозолітичні бактерії, які почали з'являтися у тварин у віці 3-5 днів, стали збільшуватися у телят віком 2-3 тижнів. Метаногенні бактерії, які були присутні у телят віком 1-2 тижнів стали численними коли тварини були приблизно у віці 3 тижнів. Склад анаеробної популяції бактерій в загальному обсязі у шлунку теляти змінився з віком після народження. Вміст домінуючих бактерій у шлунку теляти як у віці 1 дня, так і 10 тижнів був подібний до складу зрілої великої рогатої худоби. Склад летких жирних кислот (ЛЖК) у шлунку телят змінився з віком після народження. Заселення найпростішими спостерігалася у телят віком від 8 до 10 тижнів. Більшість складових кормів, що потрапляють в організм жуйних тварин не доступні безпосередньо їм. Корм розщеплюється на легкі жирні кислоти (ЛЖК), такі як оцтова, пропіонова і інші жирні кислоти під дією ферментативної активності мікроорганізмів присутніх у шлунку. Жирні кислоти поглинаються і окислюються тваринам для забезпечення його енергетичних потреб.

Ключові слова: телята, мікрофлора шлунково-кишкового тракту, травлення, рубець, легкі жирні кислоти

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.8>

Вступ. За останні роки для підвищення молочної продуктивності в багатьох молочних господарствах у корів збільшують частку перенасичених енергією концентрованих кормів в раціоні, що призводить до серйозних метаболічних розладів в організмі тварин (ацидоз, зниження перетравності поживних речовин, порушення синтезу ЛЖК і ін.). Ці патології безпосередньо пов'язані перш за все із збільшенням чисельності молочнокислих бактерій, які продукують лактат і зміщують рН рубця. При зростанні популяції цих мікроорганізмів зменшується кількість чутливих до зниження рН представників нормофлори рубця, здатних засвоювати лактат, а також скорочується вміст целюлозолітичних бактерій, що розщеплюють клітковину кормів. Такі умови є оптимальними для розвитку патогенів, особливо *F. necrophorum*, що використовують молочну кислоту в якості енергетичного субстрату.

Дослідження складу мікрофлори рубця здорових тварин і вибрактованих з різних причин (лактатний ацидоз, хвороби репродуктивної системи, ламініт), показало, що у хворих тварин формується особлива мікрофлора рубця. Склад мікроорганізмів присутніх у шлунку відіграє важливу роль в годівлі і фізіології тварин. Таким чином, дослідження щодо розвитку та колювання популяцій рубцевих мікроорганізмів довгий час проводилося багатьма дослідниками, однак більшість досліджень мікрофлори рубця була проведена серед

дорослих жуйних тварин. Дослідження по заселенню мікроорганізмів шлунку молодих телят важливі не тільки для отримання базової інформації для розвитку системи раннього відлучення телят, але і для аналізу мікробної популяції у шлунку.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У передшлунках жуйних в основному розвиваються анаеробні представники мікроорганізмів фауни і флори: найпростіші (інфузорії) і бактерії (коки, стрептококи, молочнокислі і ін.). Їх видовий склад залежить від того, який корм переважає в раціоні. Для мікрофлори рубця жуйних тварин характерні специфічні особливості, пов'язані з наявністю целюлозолітичних бактерій - розщеплювачів клітковини. Однак ці бактерії є симбіонтами не тільки жуйних, а також свиней і багатьох інших трав'яних тварин, у яких в сліпій кишці присутні такі бактерії як *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Bacteroides rumenicola* і мають величезну роль у розщепленні волокон целюлози і геміцелюлози. Целюлозолітичні бактерії з'являються у шлунку телят в кінці першого тижня життя, і їх чисельність аналогічна чисельності зрілої великої рогатої худоби на третьому тижні життя. Дослідники виявили, що целюлозні бактерії з'являються у шлунку ягнят на 4-7 день після народження, і їх чисельність зростає до постійного рівня в віці 1-2 тижнів. Ці спостереження вказують на те, що рубець новонароджених тварин, яким випоювали виключно молоком,

має сприятливі умови для заселення целюлозних бактерій. У дослідженнях на гнотобіотичних тваринах дослідники виявили, що целюлозні бактерії залежали від своїх потреб у годівлі від інших, нецелюлозних бактерій. Це відкриття було підкріплено справжнім дослідженням, що целюлозні бактерії утворилися у шлунку телят після заселення багатьох функціональних груп бактерій. Однак, результати отримані дослідниками показали, що чисельність целюлозних бактерій у шлунку телят досягла максимального рівня на 3 тижні після споживання грубого корму (Govender et. al., 2014; Liu et. al., 2019; Rybachuk et. al., 2020).

Симбіотні мікроорганізми нормофлори беруть активну участь в азотистому (білковому) перетворенні, при цьому в результаті складних біохімічних процесів, що протікають в шлунково-кишковому тракті тварини, мікроорганізми, засвоюючи надходять поживні речовини, розмножуються, ростуть і швидко збільшують свою біомасу, а відмираючи, вони перетравлюються і засвоюються організмом господаря, будучи джерелом білка. При цьому метаболізм (обмін речовин) білка у моногастричних і полігастричних тварин відбувається по-різному. У тварин з однокамерним шлунком взаємозв'язку між споживанням білка і подальшого всмоктування амінокислот здійснюються відносно просто. У жуйних тварин метаболізм білка зазнає більш складні перетворення: кормові білки, що надходять в травний тракт, розщеплюються під дією мікрофлори, задовольняють її потребу в азоті, одержуваний при цьому мікробний білок є білком вже не рослинним, а тваринам і служить джерелом більш повноцінного білка для організму жуйних. Симбіотичні відносини були з'ясовані в пробірці завдяки отриманню метаболітів, між метаногенними бактеріями та целюлозними мікроорганізмами. Сучасні експериментальні результати показали, що після колонізації целюлозних бактерій, метаногенні бактерії стали широко поширені у шлунку телят. Ці результати показують можливість існування симбіотичного зв'язку між ними у пробірці (Silva et. al., 2014).

Численною групою в рубці представлені амілолітичні бактерії (в основному стрептококи). Їх кількісний склад залежить від виду кормів, і він зростає при використанні в годівлі зернових, крохмалистих і цукристих кормів.

Найпростіші виконують важливу роль в рубцевому травленні. Вони піддають корм механічній обробці: розпушують, подрібнюють корм, він стає більш доступним для дії бактеріальних ферментів. Інфузорії переварюють білки, крохмаль, цукор і частково клітковину, накопичують в своєму тілі полісахариди, синтезований ними білок має високу біологічну цінність. Вони мало спостерігаються у шлунку телят протягом 6 тижнів після народження. Згодом, тільки Ентодиніум з'являється у шлунку телят у віці 8-10 тижнів. Спостерігається послідовне розвинення найпростіших, спочатку Ентодиніум, потім Діплодиніум, а потім Голотріхі. У цьому дослідженні передбачалося, що потенційними джерелами мікроорганізмів у шлунку телят були, головним чином, підстилка та корми забруднені вмістом рубця від інших жуйних тварин, а також аерозоль в приміщенні та робітники, які працюють з тваринами.

Мета роботи визначення складу мікрофлори рубця та концентрації летких жирних кислот у шлунку телят.

Матеріали і методи досліджень. Експеримент проводили в умовах ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області, в якому вирощують велику рогату худобу різних технологічних груп. Телята знаходилися з матір'ю протягом 24 годин після народження і їм згодовували

молозиво протягом 3 днів. Після цього одностенні телята були відокремлені від матері і вирощені в індивідуальних загонах. Телятам випоювали коров'яче молоко розділене на два рівних обсяги двічі в день до 4-х тижневого віку. На 10 день вони отримали брикет сіна. З 2-х тижневого віку вони отримали брикети сіна і гранульований концентрат. Під час проведення експерименту у тварин визначали клінічний стан. Температуру тіла телят досліджували ртутним медичним термометром, пульс визначали на середній хвостовій артерії методом пальпації, частоту дихання – стетоскопом, скорочення рубця методом балатуючої пальпації. Протягом експерименту у телят відбирали рубцеву рідину з 9 до 10 години ранку через зонд з метою визначення кількості та складу мікрофлори. Зразки вмісту рубця збиралися шлунковим зондом у віці 1, 3, 5 і 7 днів, а також 2, 3, 4, 6, 8 і 10 тижнів життя. Частина зразків була використана для підрахунку життєздатних бактерій шлунку. Інша частина була змішана з рівним об'ємом сольового розчину, що містить 20% формаліну для підрахунку найпростіших. Частина зразків що залишилася, зберігалася в холодильнику після окислення 24% метафосфорною кислотою в 5NH₂SO₄ для аналізу ЛЖК. Аналіз ЛЖК в зразках проводився методом газової хроматографії. Підрахунок кількості інфузорій проводили у камері Горяєва. Активність мікрофлори рубця визначали пробою з метиленовим синім за Діркенсом та Хофреком (Murphy & Boor, 2000).

Підрахунок аеробів і умовних анаеробів. У зразках взятих у телят виготовлялися в чашках Петрі на агарному середовищі для кишкової палички Татакі, агарового середовища для стрептококів і модифікованого агарового середовища для лактобацил 0,5 мл з кожного відповідного розведення зразків випадали на агарову пластинчасту середу. Перші два з цих щеплених агарових пластинчастих носіїв витримувалися в аеробному режимі протягом 1-2 днів при температурі 37°C. Решта витримувалися анаеробно в герметичних контейнерних банках протягом 2 діб при температурі 37 ° С.

В ході дослідження було встановлено, що в зразках взятих у двох телят двотижневого віку, життєздатні кількості стрептококів і лактобацил, отримані з використанням модифікованої середовища агару, були приблизно в 100-1000 разів вище, ніж в зразках, отриманих з використанням середовища агару Татакі і модифікованого середовища агару. Таким чином, підрахунки життєздатних стрептококів і лактобацил в зразках телят були проведені з використанням модифікованого середовища агару. Щеплені агарові пластинки витримувалися аеробно для підрахунку стрептококів і анаеробно для підрахунку лактобацил.

Після інкубації підраховувалися різні типи колоній, які з'являлися на кожній агарній платівці. П'ять представників кожного типу були підібрані і очищені. Отримані штами досліджували на грамову реакцію, морфологію і продукти ферментації з глюкози. Штами отримані з пластинок агару, досліджували на предмет їх зростання на пластинах тріптіказного соєвого агару аеробних шляхом.

Аналітична частина роботи виконувалася на основі вивчення та систематизації літературних даних, збору інформаційних та статистичних матеріалів та звітів, опублікованих у вітчизняних та зарубіжних наукових виданнях, в офіційних збірниках Міжнародної програми ВООЗ щодо контролю та нагляду за зоонозами в Європі, ESFA (Європейського Агентства з безпеки продуктів харчування), Центру контролю захворюваності в США та нормативно-правових документів, що

регламентують заходи контролю зоонозів птиці в Європейському Союзі.

Результати досліджень. Шлунково-кишковий тракт

був швидко заселений безліччю аеробними і анаеробними бактеріями після народження у 4 денних телят (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни вмісту домінуючих бактерій з віком у рубці телят

Бактерії	Вік (тиждень)					
	1	3	4	6	8	10
Лактобацили	3	3	15	20	1	2
Бактероїди	15	3	0	4	7	19
Пептострептококи	0	0	0	1	0	0
Грампозитивні палички	1	0	1	1	0	0
Анаеробні грамнегативні коки	0	2	0	0	0	0
Стрептококи	0	0	1	0	0	2
Бутиривібріо	2	1	0	0	1	2
Клостридій	1	0	0	0	0	1
Селеномонас	0	0	1	0	6	0
Вайлонелли	0	0	1	0	0	0
Біфідобактерії	0	0	1	0	0	0
Загальна кількість	22	9	20	26	13	26

Загальна кількість життєздатних анаеробних бактерій в рубці одноденних телят склала 10^9 і в подальшому залишалася незмінною протягом випробувального періоду.

Оптимальна кількість кишкової палички становила 10^7 у шлунку одноденних телят і почала знижуватися з сьомого дня життя і досягала рівня 10^3 у телят шеститижневого віку.

Кількість стрептококів склала 10^7 у шлунку одноденних телят і почала знижуватися з третього дня життя і досягла рівня 10^5 у телят віком 8 тижнів і зменшувалась до рівня 10^3 у телят віком 10 тижнів.

Достовірна кількість лактобактерій становила 10^3 у шлунку одноденних телят поступово збільшувалася до рівня 10^6 протягом 3 тижнів життя, а потім залишалася незмінною.

Амілолітичні бактерії стали швидко поширюватися в рубці після народження телят. Їх чисельність склала 10^7 в рубці одноденних телят, і досягала рівня 10^9 у триденних телят і надалі залишалася незмінною.

Кількість кіслан-ферментів, пектиноферментів, лактат і сульфатредукуючих бактерій становило 10^1 - 10^3 в рубці одноденних телят і надалі швидко збільшилася. Зокрема, кількість кіслан-ферментів і пектиноферментів досягло рівня 10^1 - 10^3 у триденних телят. А також кількість лактат і сульфатредукуючих бактерій зросла до рівня 10^5 телят у віці 3-х діб. Чисельність цих 4 функціональних груп бактерій залишилася незмінною і після третього дня життя.

Доведено, що зниження перетравності поживних речовин внаслідок загибелі целюлозолітичних мікроорганізмів і колонізації рубця патогенами тягнуть за собою безліч порушень, а саме проблеми відтворення, захворювання кінцівок,

вимені, органів травної системи. Целлюлолітичні бактерії з'являються у шлунку телят в ранні терміни. У 3-денних телят їх чисельність склала 10^2 та поступово збільшувалася до рівня 10^7 в тринадцятиденному віці і надалі залишалася незмінною.

Метаноутворюючі бактерії з'явилися у телят однотижневого віку. Їх чисельність поступово збільшувалася до рівня 10^6 віці 3 тижнів, на восьмому тижні життя досягла рівня 10^7 і надалі залишалася незмінною.

Зміни в складі анаеробних бактерій. Вивчено зміни в складі переважають анаеробних бактерій в рубці теляти по відношенню до віку життя. У життєздатної популяції бактерій в рубці телят віком 1 доби домінували бактерициди. У популяції телят віком 4 та 6 тижнів домінували Лактобацили. У популяції телят віком 8 тижнів домінували Бактероїди та Селеномонас. Бактеріальна популяція телят віком 10 тижнів знову домінували Бактероїди.

Не було виявлено жодних з інфузорій найпростіших у вмісті рубця телят від чотирьох до 6-тижневого віку. У двох телят 8-тижневого віку та чотирьох телят 10-тижневого віку були виявлені тільки ембріони Энтодиніуму.

Загальна концентрація летких жирних кислот у шлунку (табл. 1) склала близько 3 мМ у одноденних телят та поступово збільшувалася до рівня близько 22 мМ у телят віком 10 тижнів. Відповідно молярна частка ЛЖК у шлунку у одноденних телят склала 82 та 4,4% для оцтової та пропіонової кислот. Після цього молярна частка оцтової кислоти зменшилася, а пропіонової – збільшилася.

Таблиця 2

Зміни концентрації та складу ЛЖК з віком у шлунку телят

ЛЖК	Вік (тиждень)				
	2	3	4	6	10
Оцтова кислота	63,0±3,0	60,90±3,2	54,7±2,0	56,2±0,5	63,8±0,5
Пропіонова кислота	16,0±1,2	21,0±3,2	25,1±2,3	23,0±3,0	20,2±2,0
Ізовалеріанова кислота	1,7±0,5	1,4±1,6	1,0±3,0	2,5±1,0	0,5±0,3
Кротонінова кислота	7,3±1,5	8,5±1,3	10,0±1,0	11,6±1,3	11,1±0,1
Ізовалеріанова кислота	3,5±1,3	4,8±2,2	1,7±1,0	3,1±1,2	0,7±0,4
Валеріанова кислота	5,4±2,6	4,8±2,5	7,0±1,3	3,5±1,3	5,2±3,0

Мікрофлора рубця швидко розвинулася після народження. Першими бактеріями, які найбільш інтенсивно роз-

винулися у шлунку були кишкова паличка та стрептококи. Достовірна кількість кишкової палички та стрептококів перераховане з використанням агарових середовищ DHL та Татакі

відповідно було високим у одноденних телят та поступово знижувалася. Така кількість зазвичай зустрічається у зрілої великої рогатої худоби через 6-8 тижнів.

Кількість лактобактерій перерахована з використанням модифікованого агарового середовища LBS, була низькою у одноденних телят, але поступово збільшувалася протягом 3 тижнів, а потім залишалася постійною. У той час як достовірні підрахунки стрептококів та лактобацил перераховані з використанням BL агарового середовища були значно вище, ніж при використанні Татакі та модифікованого LBS агарового середовища. Результати показують, що лактобацили та стрептококи можуть відігравати більш важливу роль у шлунку молодих телят порівняно з тим, що прийнято вважати.

Спостерігався послідовний розвиток декількох функціональних груп бактерій у шлунку телят. В рамках цього дослідження, кілька функціональних груп бактерій були умовно розділені на чотири типи за закономірностям колонізації у шлунку новонароджених. Перший тип містить ампліолітичні бактерії. Другий тип включає ксілан (ферментер), пектин(ферментер), сульфатредукуючі бактерії та лактат-добрива. Третій тип містить целюлозні бактерії. Четвертий тип містить метаногенні бактерії. Сульфат-редуктори, ксілан-ферментери та пектин-ферментери були в достатку присутніми у шлунку триденних телят. Дані показують, що ці бактерії повинні бути в змозі розвиватися у шлунку перед вживанням твердого

корму. Як лактат-добрива, так і сульфат-редуктивні бактерії, які мали здатність до ферментації лактату збільшилися у шлунку телят через 2 дні після утворення ампліолітичних бактерій, в тому числі стрептококів.

Цей факт свідчить про те, що лактат отриманий ампліолітичними бактеріями може бути обмежуючим фактором для розвитку лактат-добрих. Результати показали, що як лактат-добрива, так і сульфатно-редукційні бактерії в достатку присутні у шлунку триденних телят. Обидві бактерії можуть мати важливу роль у підтримці сприятливих умов у шлунку за рахунок зниження рівня молочної кислоти отриманої іншими бактеріями шлунку.

Висновки.

1. Склад ЛЖК у шлунку телят змінювався з віком після народження. Молярна частка пропіонової кислоти у шлунку 4-тижневих телят була значно вище. Склад ЛЖК у шлунку безпосередньо впливає на годівлю та фізіологічні показники телят. В інтересах тваринництва важливо управляти популяціями мікроорганізмів у шлунку.

2. Новим спостереженням стала поява сульфат-редукторів, ксіланферментерів і пектинферментерів у триденних телят. Мікробні клітини, які розмножуються в процесі ферментації перетравлюються і всмоктуються в нижньому травному тракті тварини для задоволення його потреб в білках.

References:

1. Basso, F.C., Adesogan, A.T., Lara E.C., Rabelo, C. H. S., Berchielli, T. T., Teixeira, I. A. M. A., Siqueira, G. R., Reis, R. A. (2014). Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. *J Anim Sci.* 92(12),5640-5650. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8258>
2. Kong, L., Yang, C., Dong, L., Diao, Q., Si, B., Ma, J., & Tu, Y. (2019). Rumen Fermentation Characteristics in Pre- and Post-Weaning Calves upon Feeding with Mulberry Leaf Flavonoids and *Candida tropicalis* Individually or in Combination as a Supplement. *Animals : an open access journal from MDPI*, 9(11), 990. doi.org/10.3390/ani9110990
3. Shkromada, O., Pali, A., Pali, A., Skliar, O., Dudchenko, Y., & Necherya, T. (2019). Improvement of milk quality for microclimate formation on cattle farms. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (4 (47)), 43-49. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.4.7>
4. Liu, X., Zhao, W., Yu, D., Cheng, J. G., Luo, Y., Wang, Y., Yang, Z. X., Yao, X. P., Wu, S. S., Wang, W. Y., Yang, W., Li, D. Q., & Wu, Y. M. (2019). Effects of compound probiotics on the weight, immunity performance and fecal microbiota of forest musk deer. *Scientific reports*, 9(1), 19146. doi.org/10.1038/s41598-019-55731-5
5. Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & Dudchenko, Y. (2020). Influence of probiotics "Immunobacterin-D" on bioce-noses and development of the gastrointestinal tract of calves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 22-27. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9804>
6. Govender, M., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., van Vuuren, S., & Pillay, V. (2014). A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs. non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 29-43. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-0027-1>
7. Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of applied microbiology*, 124(6), 1334-1346. <https://doi.org/10.1111/jam.13690>
8. Kapse, N. G., Engineer, A. S., Gowdaman, V., Wagh, S., & Dhakephalkar, P. K. (2019). Functional annotation of the genome unravels probiotic potential of *Bacillus coagulans* HS243. *Genomics*, 111(4), 921-929. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.05.022>
9. Fijan S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745-4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
10. Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary Probiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 250. doi.org/10.3390/antiox9030250
11. Silva, L.D.D., Pereira, O.G., Silva, T.C.D., Valadares Filho, S.C., Ribeiro, K.G. (2016) Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. *Anim Feed Sci Technol.* 220, 22-33. <https://doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008>.

12. Aikman, P.C., Henning, P.H., Humphries, D.J., Horn, C.H. (2010). Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. *J. Dairy Sci.* 94, 2840–2849. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3783>
13. Stover, P.J., Durga, J., Field, M.S. (2017). Folate nutrition and blood–brain barrier dysfunction. *Curr Opin Biotechnol.* 44, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.006>.
14. Diao, Q., Zhang, R., Tu, Y. (2017). Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. *J. Integr.* 16, 2805–2814. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61767-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61767-2)
15. Sun, P., Wang, J.Q., Zhang, H.T. (2010). Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. *J Dairy Sci.* 93(12), 5851-5855. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3263>
16. Shinde, T., Vemuri, R., Shastri, M.D., Perera, A.P., Tristram, S., Stanley, R., Eri, R. (2019). Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. *J. Funct. Foods*, 52, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.031>.
17. Uyeno Y., Shigemori S., Shimosato T. (2015). Effect of Probiotics/ Prebiotics on Cattle Health and Productivity: Mini review. *Microbs. Environ.* 30 (2):126-132.
18. Seo J.K., Kim S., Kim M.H., Upadhaya S.D., Kam D.K., Ha J.K. (2010). Direct-fed Microbials for Ruminant Animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23 (12):1657-1667

V.Y. Kassich, Dr. of Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

O.L. Nechiporenko, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Probiotic Microorganisms In The Rumen Calves

The article presents the results of a study of the sequential population of different species of microbial populations in the rumen of calves. The first bacteria that developed most intensively in the stomach were Escherichia coli and streptococci. The number of Escherichia coli was high in one-day-old calves and gradually decreased and reached a stable level within 6-8 weeks. The number of streptococci was high for 8 weeks after birth and decreased in ten-week-old calves. The number of lactobacilli, which was high in one-day-old calves, increased in two-week-old calves, and then remained unchanged. Amylolytic bacteria are present in excess in day-old calves. The number, which increased in three-day-old animals, and then remained unchanged. The number of sulfate-reducing bacteria, lactate, xylan fermenters, and pectin fermenters, which were low in day-old calves, increased for 3 days after birth and then remained unchanged. Cellulosolytic bacteria, which began to appear in animals at the age of 3-5 days, began to increase in calves aged 2-3 weeks. The methanogenic bacteria that were present in calves aged 1-2 weeks became numerous when the animals were approximately 3 weeks old. The composition of the anaerobic bacterial population in the total stomach of the calf changed with age after birth. The content of dominant bacteria in the stomach of the calf at the age of 1 day and 10 weeks was similar to the composition of mature cattle. The composition of volatile fatty acids (LFA) in the stomach of calves changed with age after birth. The settlement of protozoa was observed in calves aged 8 to 10 weeks. Most of the components of feed entering the body of ruminants are not directly available to them. Food is broken down into volatile fatty acids (LFA), such as acetic, propionic and other fatty acids under the action of enzymatic activity of microorganisms present in the stomach. Fatty acids are absorbed and oxidized by animals to meet its energy needs.

Key words: calves, gastrointestinal microflora, digestion, rumen, volatile fatty acids

Дата надходження до редакції: 20.01.2020 р.