

Кассіч Володимир Юрійович

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-9859-8036
volodymyr.kassich@snau.edu.ua

Нечипоренко Олександр Леонідович

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-9030-9719
oleksandr.nechyporenko@snau.edu.ua

В статті викладені результати дослідження щодо використання пробіотика на основі штамів спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* для молодняку великої рогатої худоби. Застосування пробіотиків у молочному господарстві сприяє підвищенню резистентності організму, відновленню мікробіоценозу кишечника і зниження ризику інфекційних захворювань тварин, профілактика та лікування дисбактеріозу. Важливе значення мікробної популяції в перетворенні кормів і процесах бродіння рубця, щоб збільшити показники продуктивності тварин і зменшити виникнення ацидозу рубця. Введення пробіотиків покращує стан здоров'я тварини, конкуруючи за використання поживних речовин патогенними мікробами, надаючи позитивний вплив на мікрофлору кишечника. Крім того, їх антипатогенна активність може зменшити стрес у тварин. Метою роботи було визначити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на мікрофлору шлунково-кишкового тракту у телят. Дослідження проводили в умовах господарства ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашивка Сумського району Сумської області, в якому утримується велика рогата худоба різних технологічних груп. Використання пробіотичних штамів спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* впливало на результати бродіння рубця, таких як кількість летких жирних кислот, концентрація аміаку рубця та pH рубця.

Ключові слова: пробіотичні препарати, телята, мікрофлора шлунково-кишкового тракту, травлення, рубець.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.2.1>

Вступ. На сьогодні неможлива промислова технологія вирощування сільськогосподарських тварин без ефективних стимуляторів росту та ветеринарних засобів профілактики бактеріальних інфекцій. В умовах промислового тваринництва значно посилюється техногенне і антигенне навантаження на організм тварин, і як наслідок порушуються процеси саморегуляції між основними представниками кишкової мікробіоти, розвивається множинна антибіотико і хіміотерапевтична стійкість препаратів і зростає кількість патогенної мікрофлори (кишкової палички, ентерококів та ін.). Серед основних причин, які призводять до загибелі молодняку займають хвороби системи травлення, збудниками яких є умовно-патогенна мікрофлора, що викликає інтоксикацію та дисбактеріоз.

Мікрофлора шлунково-кишкового тракту відіграє важливу роль у процесі травлення, і є все більше доказів більш широкої ролі у розвитку імунітету та інших захисних функцій, що підтримують здоров'я та продуктивність молодняку великої рогатої худоби. Порушення розвитку нормального мікробіому може призвести до розладів процесів травлення, а отже, знизити ефективність росту та збільшити ризик захворювань.

Отже, для підтримання здоров'я та продуктивності жуйних тварин зростає потреба у розробці пробіотичних препаратів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Пробиотичні препарати - це одиночні або змішані штами культури живих мікроорганізмів, які дозволяють поліпшити екологічний баланс корисної мікрофлори. Пробиотики широко використовуються у тваринництві для зменшення ризику виникнення діареї та стресу відлучення, а також для підвищення ефективності годівлі та зростання продуктивності. Дослі-

дження потенціалу пробіотиків у раціоні жуйних збільшуються, але основна увага приділяється попередньо відлученим тваринам. У незрілих жуйних тварин пробіотики можуть сприяти розвитку рубця, зменшувати частоту діареї, і збільшувати споживання сухої речовини та щоденний приріст ваги (Liu et al. 2019).

Пробиотики відносяться до групи порівняно нових препаратів. У тваринництві раніше використовували різні мікробні кормові добавки, пробіотичні препарати ж містять живі мікроорганізми, такі як лактобацили, біфідобактерії, стрептококи. Принцип використання пробіотиків заснований на примусовому заселенні кишкового тракту штамми бактерій - пробіотів, які здійснюють неспецифічний контроль за чисельністю умовно-патогенної мікрофлори шляхом витиснення її зі складу кишкової мікробіоти, а також затримання розвитку у цих мікроорганізмів патогенних факторів.

Великого значення набула технологія вирощування молодняку великої рогатої худоби разом з матір'ю та окремо в профілакторіях (Shkromada, O., et al., 2019). У телят мікробіота рубця починає формуватись відразу після народження, потрапляючи з навколишнього середовища. Повноцінне нормальне функціонування рубця телят починається через шість тижнів (Kong et al., 2019; Liu et al., 2019).

Мікробіота шлунково-кишкового тракту має переваги завдяки своїм кінцевим продуктам ферментації. Такі продукти ферментації можуть змінювати метаболічні процеси в організмі тварин, наприклад, регулюючи секрецію та активність метаболічних гормонів.

У м'ясному скотарстві, вівчарстві молодняк тварин, як правило, утримують до часу відлучення у віці 3-9 місяців. Однак на інтенсивних молочних фермах телят відокремлю-

ють протягом доби після народження і відлучають набагато раніше, ніж м'ясну худобу. Стрес через відлучення та присутність патогенних мікроорганізмів у новому середовищі може збільшити ризик захворювань у телят. Хвороби у попередньо відлучених телят мають значний вплив на показники у молочній промисловості через збільшення смертності телят та клінічне лікування та має наслідки для продуктивності протягом усього життя.

Дорослим жуйним тваринам пробіотики рекомендуються в ситуаціях, коли існує мікробний дисбаланс, наприклад у перехідний період, коли відбувається зміна типу годівлі та концентрації кормів. Концентрати швидко ферментуються в рубці, і вони призводять до швидкого накопичення летких жирних кислот, які сприяють зниженню рН в рубці, якщо буферні системи рубця не в змозі протидіяти їх впливу. Низький рН рубця протягом тривалого періоду може негативно впливати на споживання корму, мікробному обміну та погіршення поживних речовин, а також призводить до ацидозу, запалення, ламініту, діареї та додатково зменшує вміст целюлолітичних мікроорганізмів в рубці. Високий рівень кислоти додатково знижує рухливість рубця та ефективність змішування вмісту, що сприяє зниженню рівня летких жирних кислот стінки рубця. Коли рН жуйних нижче 6,0, активність целюлолітичних бактерій та кількість найпростіших зменшується. Серед мікробних змін, пов'язаних з низьким рН жуйних тварин, є збільшення кількості бактерій, які мають низьку рН-толерантність, утворення та споживання лактату (Mingmongkolchai, 2018).

Пробіотики можуть покращити швидкість розвитку рубця у молодих жуйних тварин. Дослідниками встановлено, що пробіотичні препарати на основі штамів спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus subtilis*, що згодуються попередньо відлученим молочним телятам, збільшує щільність і довжину сосочків рубця. Відповідно до зміни розвитку рубця, телят, яким задавали пробіотики на основі штамів *Bacillus subtilis*, відлучали на тиждень раніше, ніж контрольних телят (Fijan, 2014).

Основні та часто досліджувані бактеріальні мікроорганізми, що використовуються як пробіотики у процесі вирощування жуйних тварин, включають *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium species*, *Propionibacterium*, *E.coli* Nissle. Штами бактеріальних пробіотиків можна класифікувати як продукти, що продукують молочну кислоту, та бактерії, що використовують молочну кислоту. Утворення та використання молочної кислоти в рубці пов'язане з ефективністю корму та здоров'ям тварин (Seoet al., 2010). Дріжджі та грибові пробіотики, такі як *Saccharomyces* and *Asperillus*, відповідно дали кращі результати у дорослих жуйних тварин (Fuller, 1999; Seoet al., 2010).

Ендогенна група мікроорганізмів постійно присутня в різних відділах травного тракту в різних кількостях, а екзогенна регулярно надходить в травний тракт із зовнішнього середовища (наприклад: з кормом), вона діє на макроорганізм переважно в період надходження, і може бути присутньою в різних відділах кишечника у відносно невеликих кількостях, або відсутня зовсім. До типових представників нормальної екзогенної мікрофлори тварин відносять бактерії роду *Bacillus*, які, маючи широке поширення в навколишньому середовищі, постійно знаходяться в контакт з живим організмом. Разом з вважається, що шлунково-кишковому

тракті тварин зазвичай є два різних типи бактеріальних популяцій: перша існує в тісному зв'язку з епітелієм кишечника, друга - зустрічається вільно у кишковому вмісті. Дослідники відзначають, що нормальна мікрофлора має елементи саморегуляції і, в певних межах, здатна протистояти впливу шкідливих умов, зберігаючи чисельність мікробних популяцій.

Мета роботи визначення впливу пробіотичних препаратів на основі спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* на мікробіоту шлунково-кишкового тракту та стан природної резистентності телят.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження були залучені дві дослідні групи телят по п'ять тварин у кожній, яким випоювали пробіотичні штами *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis*. 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. Телята контрольної групи залишалися інтактними. Телята першої дослідної групи отримували 0,5 мл препарату всередину на одну тварину 1 раз на добу протягом 7 днів. Телята другої дослідної групи отримували в дозі 1 мл на голову на добу протягом 7 днів. Перед введенням пробіотик розбавляли 10 мл 40%-го розчину глюкози. Кров для досліджень відбирали у телят в добовому, 9, 18 та 30-денному віці.

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. Кількість целюлолітичних та протеолітичних мікроорганізмів визначали шляхом висіву розведеного до 10^6 вмісту рубця на елективне середовище за P. Y. Provos, R. N. Dotsch, по R. F. Hungate, та за R. S. Fulganum W. E. Moore.

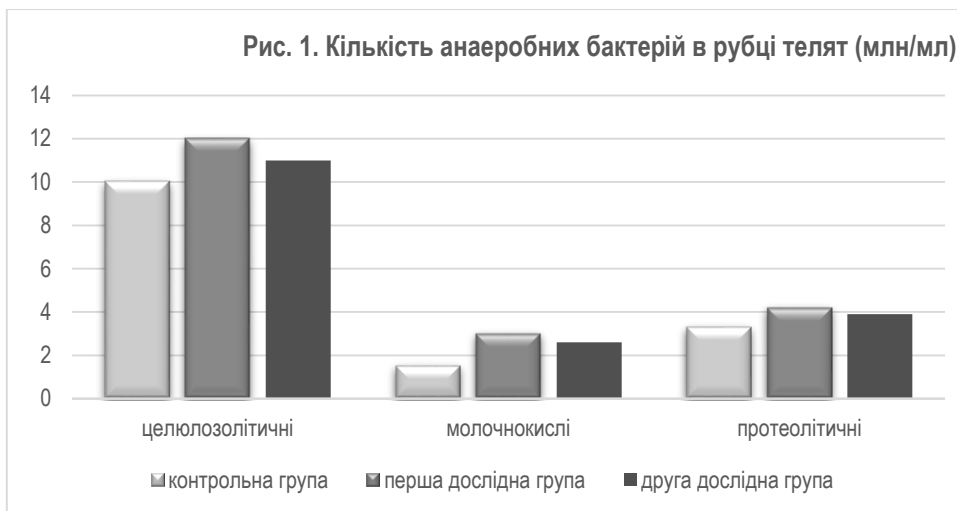
Аналітична частина роботи виконувалася на основі вивчення та систематизації літературних даних, збору інформаційних та статистичних матеріалів та звітів, опублікованих у вітчизняних та зарубіжних наукових виданнях, в офіційних збірниках Міжнародної програми ВООЗ щодо контролю та нагляду за зоонозами 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. Встановлено, що пробіотики позитивно впливають на процеси травлення жуйних тварин, покращують їх продуктивність та здоров'я. Пробіотики на основі спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* поліпшують показники мікрофлори рубця.

Встановлений позитивний вплив на обмін азоту в рубці, що сприяє зниженню концентрації молочної кислоти, стимулює зростання анаеробних бактерій рубця, зокрема целюлолітичних, молочнокислих і протеолітичних бактерій, що призводить до посилення травних процесів, руйнування проміжних продуктів обміну речовин і в результаті до підвищення продуктивності тварин (рис. 1).

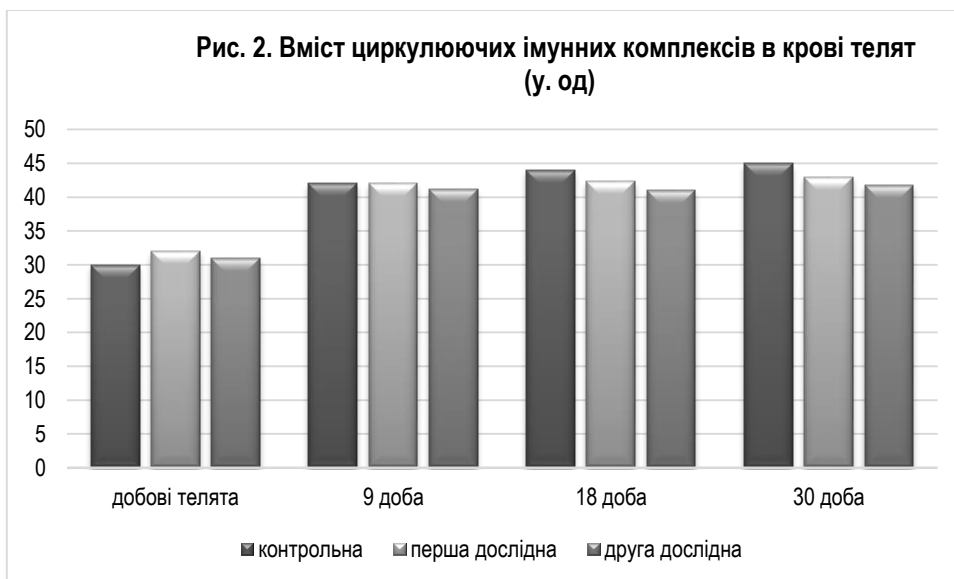
Вміст целюлозолітичних мікроорганізмів в рубці телят дослідних груп був в 1,2 рази більше, ніж у тварин контрольної групи. Подібна динаміка збільшення кількості анаеробних бактерій спостерігалась і у інших видів груп мікроор-

ганізмів рубця телят. Так, вміст молочнокислих бактерій був в 1,8 рази більше у телят дослідних груп в порівнянні з контрольними. Протеолітичних мікроорганізмів виявилось в 1,5 рази вище у телят дослідних груп в порівнянні з контролем.



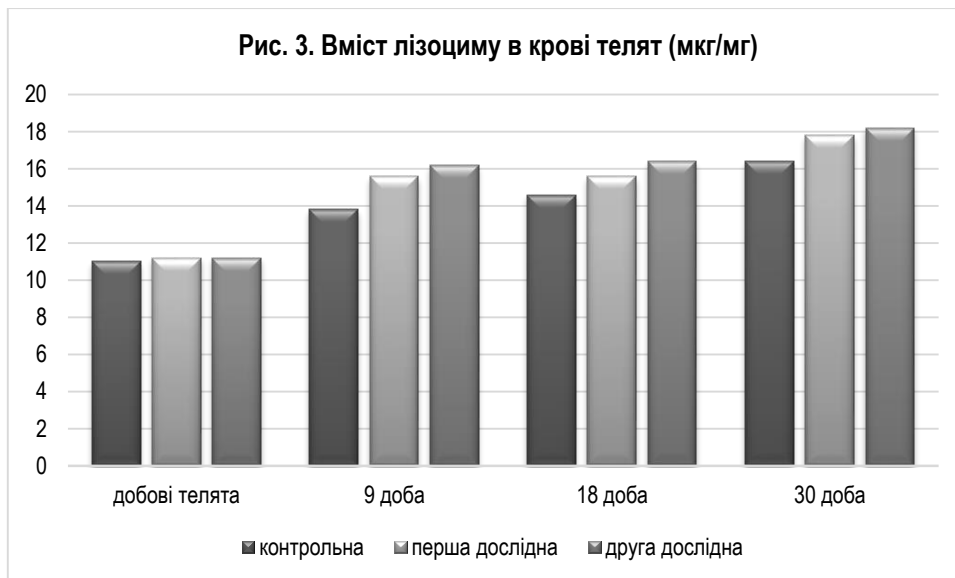
Результати отриманих досліджень свідчать, що використання пробіотику на основі штамів спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* впливало на показники гуморальних факторів природної резистентності організму телят. У місячному віці максимальні значення кількості ЦІК в крові були зафіксовані у тварин контрольної групи, що на 4,28 ($p < 0,05$) і 5,81% ($p < 0,01$) більше,

ніж у телят дослідних груп. (рис. 2). Встановлено, що під час використання пробіотику спостерігалось зниження кількості циркулюючих імунних комплексів на 9-й день досліді. У цей період у телят першої дослідної групи кількість ЦІК було менше контрольних значень на 5,75 % ($p < 0,05$), у телят другої дослідної групи - на 5,41. У 18-денному віці ця різниця склала 5,28% ($p < 0,05$).



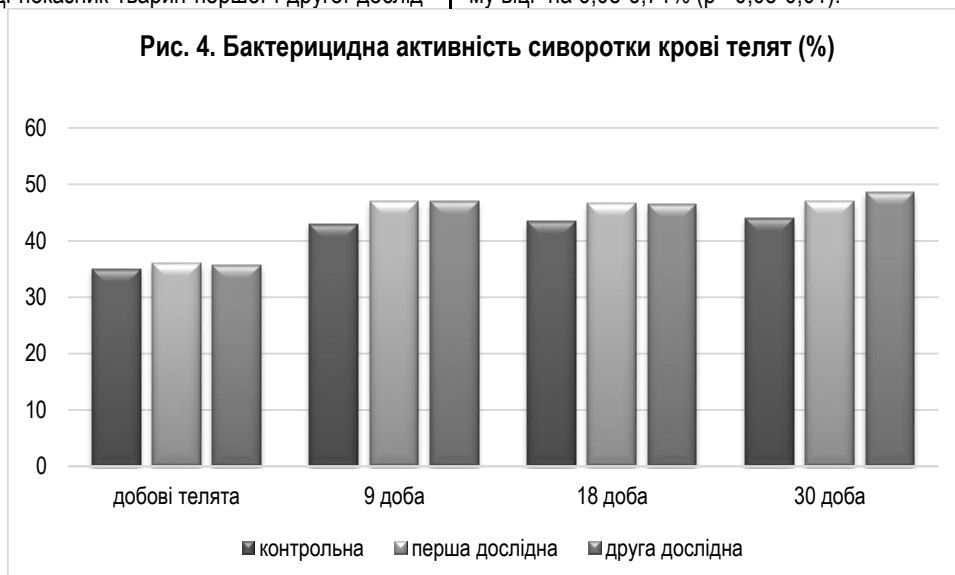
Пробіотик на основі штамів спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* також мав стимулюючу дію на лізоциму активність сироватки крові телят (рис. 3.). Так, в 9-денному віці у першої дослідної групи спостерігалось збільшення кількості лізоциму в сироватки крові на 14,02% ($p < 0,01$), а у телят другої дослідної групи - на 15,21% ($p < 0,01$). У наступні періоди досліджень

зберігалася аналогічна тенденція. У 18-денному віці досліджуваний показник гуморальних факторів природної резистентності у молодняка, які отримували пробіотик був вище контрольних значень на 5,65 ($p < 0,05$) і 11,42% ($p < 0,01$) відповідно. У 30-денному віці ця різниця склала 8,46-11,08% на користь тварин дослідних груп.



Бактерицидна активність сироватки крові телят дослідних груп також була вище, ніж у інтактних тварин (рис. 4). У 9-денному віці показник тварин першої і другої дослід-

них груп був більше, ніж у контрольної групи на 7,76-8,68% ($p < 0,001$), в 18-денному на 6,23-7,45% ($p < 0,05$), в місячному віці - на 6,08-6,71% ($p < 0,05-0,01$).



Застосування пробіотика основі штамів споруутворюючих мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* і *Bacillus subtilis* новонародженим телятам сприяло збільшенню в крові телят кількості Т-і В-лімфоцитів. У телят першої дослідної групи число Т-лімфоцитів перевищило контрольні значення в 9-денному віці на 20,54% ($p < 0,001$), в 18-денному - на 7,14% ($p < 0,05$), в 30-денному - на 6,72%. Аналогічні зміни встановлені при підрахунку Т-лімфоцитів в крові телят другої дослідної групи. Число В-лімфоцитів у телят першої та другої дослідних груп у віці 9 днів була більше, ніж у контрольних аналогів на 27,75 ($p < 0,05$) і 27,91% ($p < 0,05$), в 18-денному віці - на 40,15 ($p < 0,01$) і 35,34% ($p < 0,05$) і до кінця спостережень - 48,07 ($p < 0,01$) і 46,274% ($p < 0,01$). Під дією пробіотика у молодняка великої рогатої худоби спостерігалось посилення клітинних факторів природної резистентності.

Висновки.

1. Пробіотик активував лізоцимну активність сироватки крові телят. На дев'яту добу у першої дослідної групи спостерігалось збільшення кількості лізоциму в сироватці крові на 14,02%, а у телят другої дослідної групи становив 15,21%. На вісімнадцяту добу показник гуморальних факторів природної резистентності телят, які отримували пробіотик був вище контрольних значень в межах 5,65 - 11,42%. На тридцяту добу різниця коливалася від 8,46 до 11,08% на користь дослідних груп тварин.

2. Встановлений позитивний вплив пробіотика на кількість целюлозолітичних, молочнокислих та протеолітичних мікроорганізмів у рубці телят дослідних груп, яка підвищилась в 1,2 - 1,8 рази.

References

1. Basso, F.C., Adesogan, A.T., Lara E.C., Rabelo, C. H. S., Berchielli, T. T., Teixeira, I.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., Palii, A., Palii, 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 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/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 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
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.org/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, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Effect of probiotics on rumen microorganisms

*The article presents the results of a study on the use of probiotics based on strains of spore-forming microorganisms *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* for young cattle. The use of probiotics in dairy farming increases the body's resistance, restores the intestinal microbiocenosis and reduces the risk of infectious diseases of animals, prevention and treatment of dysbacteriosis. The importance of the microbial population in feed transformation and rumen fermentation processes to increase animal productivity and reduce the occurrence of rumen acidosis. The introduction of probiotics improves the health of the animal, competing for the use of nutrients by pathogenic microbes, having a positive effect on the intestinal microflora. In addition, their antipathogenic activity can reduce stress in animals. The aim of the study was to determine the effect of probiotic strains of microorganisms on the microflora of the gastrointestinal tract in calves. The research was carried out in the conditions of the farm of "Khlibodar", Sumy region, which keeps cattle of different technological groups. The use of probiotic strains of spore-forming microorganisms *Bacillus licheniformis* and*

Bacillus subtilis affected the results of scar fermentation, such as the amount of volatile fatty acids, ammonia concentration of the scar and the pH of the scar. The mechanism of action of the bacterium *B. subtilis* is associated with the ability to produce antibiotic-like substances and enzymes and strengthen the body's defenses against common and specific pathogens, to stimulate the normal growth of intestinal microflora. Produced by *B. subtilis* substances also actively inhibit the growth and development of harmful bacteria, viruses and fungi, without causing them to become addicted. Immunomodulatory action is associated with the activation of macrophages, strengthening the barrier function of the intestine, activation of T and B lymphocytes. Destroying harmful microorganisms, free up space for the settlement of lacto- and bifidobacteria, which are typical representatives of the normal microflora.

Key words: probiotics, calves, gastrointestinal microflora, digestion, rumen

Дата надходження до редакції: 20.09.2020 р.