

LATVIJAS BRŪNĀS ŠĶIRNES GOVJU PIENA MIKROBIĀLĀS PIESĀRŅOTĪBAS VĒRTĒJUMS PĒC TO ĢENĒTISKĀS IZCELSMES

LB BOVINE MILK MICROBIAL CONTAMINATION EVALUATION BY RESEARCHING THEIR GENETIC ORIGIN

Inese Dūjina, Aleksandrs Jemeljanovs, Ināra Helēna Konošonoka

LLU, Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”, Latvija
LUA, Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra” Latvia
sigra@lis.lv

ABSTRACT

The most important target in dairy husbandry in the world is to harvest high quality, unpolluted milk. The most important measure in cultivation of dairy cow herd is to choose the correct genotypic and phenotypic brood stock for crossing. The aim of the research work is to analyze the fresh milk of different bulls' daughters, to find cows the effects of cows' genetic predisposition on microbial contamination, and somatic cell count (SCC) in milk. We can find in literature describing increasing resistance to some diseases like leukemia, tuberculosis, brucellosis, mastitis, foot disorders. This indicates that the genetic resistance and the animal's genetic immunity to diseases is found. Experimental work was carried in breed Latvijas Brūnās (LB) dairy cows shed which belongs to SIA Palsa and is situated in civil parish Varini, Smiltene county in year 2008/2009. It is compared seven different bulls daughters microbial contamination of fresh milk and SCC. Comparing SCC samples between the lines of bull daughters researching average value of the uniformity of dispersion analysis, observed that the SCC was statistically significantly different ($F = 2.1$, $p > 0.05$) in different lines of bull daughters. But at the same housing and feeding conditions in two breeding bulls daughter groups drastically changed the common bacteria and coagulase negative number of bacteria in raw milk, indicating the resistance of different cows, after assessing the genetic background.

KEY WORDS: cow's milk, microbial contamination, predisposition.

IEVADS

Latvijas Republikā viena no visplašāk attīstītajām lauksaimniecības nozarēm ir piena lopkopība, kurā piena ieguvei 2009.gadā izmantoja 75% Latvijas Brūnās (LB) šķirnes govīs. Tādēļ mūsu pētījumos izvērtētas LB šķirnes govīs, kuros skaidrota ģenētiskās tesmens slimību rezistences pārmantojamība tieši pa buļļu līnijām. Piena ieguvē visā pasaulē ļoti aktuāls jautājums ir iegūtā svaigā piena kvalitāte. Piena iepirkšanas uzņēmumi regulāri nosaka piena kvalitātes rādītājus – baktēriju kopskaitu un SSS, bet nediferencē mikrobiālo piesārņojumu. Izslauktajā pienā var atrasties cilvēkam kaitīgi mikroorganismi: *Salmonella* spp., *Listērijas*, koagulāzes negatīvie stafilokoki, koliformas un *Enterococcus* spp. Par stafilokoku izplatību Latvijā liecina pētījumi, ka no slimo govju piena visbiežāk izdalītā mikroflora ir *Staphylococcus aureus* 62.5 %, *Streptococcus agalactiae* 21.88%, *Escherichia Coli* 12.50%, kuri ir ciešā saistībā ar vaislas buļļu meitām, izvērtējot rezultātus pa līnijām (Jemeljanovs

u.c.,1998). *Staphylococcus aureus* ir izturīgs pret sanitārās higiēnas pasākumiem, izturīgs ārējā vidē, ilgstoši saglabājas slaukšanas iekārtās (Myllys, 1995).

Darba mērķis: noteikt atsevišķu LB šķirnes vaislas buļļu līniju meitu predispozīcijas piena mikrobiālai kontaminācijai,

Darba uzdevumi:

noteikt atsevišķu vaislas buļļu meitu pienā:

1. somatisko šūnu skaitu (SŠS),
2. svaiga piena bakteriālo piesārņojumu,
3. noteikt LB šķirnes vaislas buļļu līnijas meitu.predispozīciju. piena bakteriālai piesārņotībai,
4. noteikt LB šķirnes vaislas buļļu līnijas, kuras ir predisponētas saslimšanai ar mastītu un paaugstinātu SŠS.

MATERIĀLS UN METODIKA

Svaiga piena paraugi tika iegūti vienā no Smiltenes novada LB šķirnes slaucamo govju novietnē 2008/2009.gadā no 52 govīm. Dažādu šķirņu buļļu meitas izvēlētas apzināti, lai varētu salīdzināt un noteikt rezultatīvākos vaisliniekus pēc dažādām genotipa un fenotipa pazīmēm, novērtējot katra buļļa meitu grupu un salīdzinot rezultātus. Paraugi iegūti rīta slaukšanas reizē, pēc slaukšanas aparāta noņemšanas un pupa gala dezinfekcijas. Paraugi nogādāti laboratorijā aukstuma somā 5°C temperatūrā. Svaiga piena paraugu bakterioloģiskā izmeklēšana veikta LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskā institūta „Sīgra”, Bioķīmijas un mikrobioloģijas zinātniskajā, sertificētajā laboratorijā (LATAK reģistrācijas Nr. LATAK-T-038-07-99-A) saskaņā ar LVS EN ISO standartu metodikām. Svaigā pienā noteikti sekojoši rādītāji: kopējais baktēriju skaits, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Enterococcus spp.*, izolēti *Staphylococcus aureus*, koagulāzes negatīvie stafilokoki, *Escherichia coli* un koliformas. Datu matemātisko apstrādi veicām, izmantojot matemātiskās statistikas metodes (vienfaktoru un daudzfaktoru dispersijas analīzi), izmantojot MS Excel datorprogrammu, nosakot iegūto datu būtiskumu. Slaucamo govju produktivitātes rādītāji, SŠS (noteikts pēc metodes ISO 13366 – 3:1997), buļļu asinības rādītāji iegūti no V/A „Lauksaimniecības datu centrs”(V/A LDC) datu bāzes. Darbā izmantoto buļļu asinība attēlota 1.tabulā.

1.tabula/Table 1

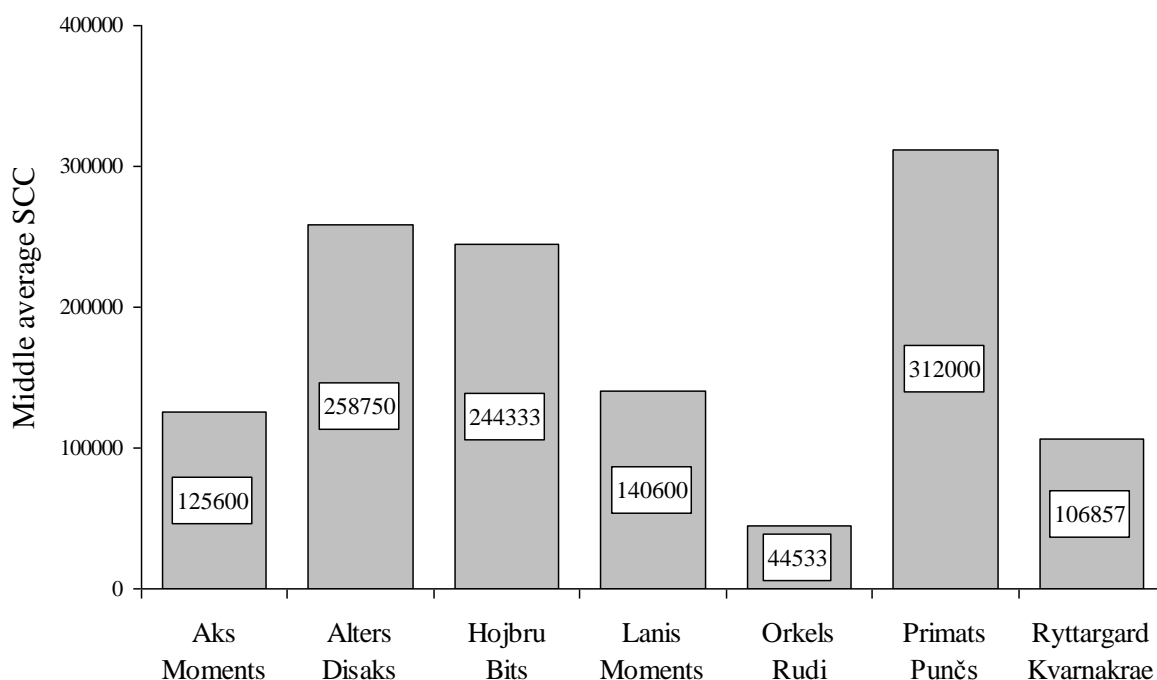
Ekspērimētā izmantoto buļļu asinības rādītāji The bloodiness indicators of bulls, used in experiment

Bullis/ Bull	Alters Disaks	Primats Punčs	Hoibru Bits	Aks Moments	Lanis Moments	Ryttargard Kvarnakra	Orkels Rudi
Asinība	DS	DS	DS	HS 50.00	HS 50.00	ZS 87.50	AN
%	68.75	75.00	59.37	DS 43.75	DS 25.00	NS 12.50	50.00
Blodiness	ŠV	ŠV	ŠV 4.38	ŠV 6.25	ŠV 25.00		HS
%	31.25	25.00	HS 6.25				50.00

1.tabula - izmantoto 7 buļļu grupu šķirnes asinības rādītāji %. Šķirņu nosaukumi: DS – Dānijas sarkanā (Danish Red), ŠV–Švices(Schwyz), HS–Holšteinas sarkanraibā(Holstein Red), ZS–Zviedru sarkanraibā(Sweden Red and white), NS–Norvēģu sarkanā, AN–Angleras (Angler) šķirne. Dzīvnieks noteiktajai šķirnei pieskaitāms, ja 75% izcelšanās nāk no šīs šķirnes asinības (Brunovska M., Līdaks M., 2009; V/A LDC).

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Viens no piena kvalitātes rādītājiem ir SŠS pienā. Pienā somatiskās šūnas atrodas vienmēr, bet to skaits ir tesmeņa veselības raksturotājs. SŠS pienā ietekmē veselības stāvoklis, ģenētiskā predispozīcija, slaukšanas veids un laiks, laktācijas periods, gadalaiks, dzīvnieku produktivitāte, dzīvnieku vecums. Pārbaudot statistisko hipotēzi par izlašu vidējo vērtību vienādību ar dispersiju analīzi noskaidrojām, ka dažādu bulļu meitu piena vidējais somatisko šūnu skaits statistiski būtiski neatšķiras ($F=2.1$; $p>0.5$). Eksperimenta govju grupu SŠS 1 ml piena 2008.gada vidējie rādītāji attēloti 1.attēlā.

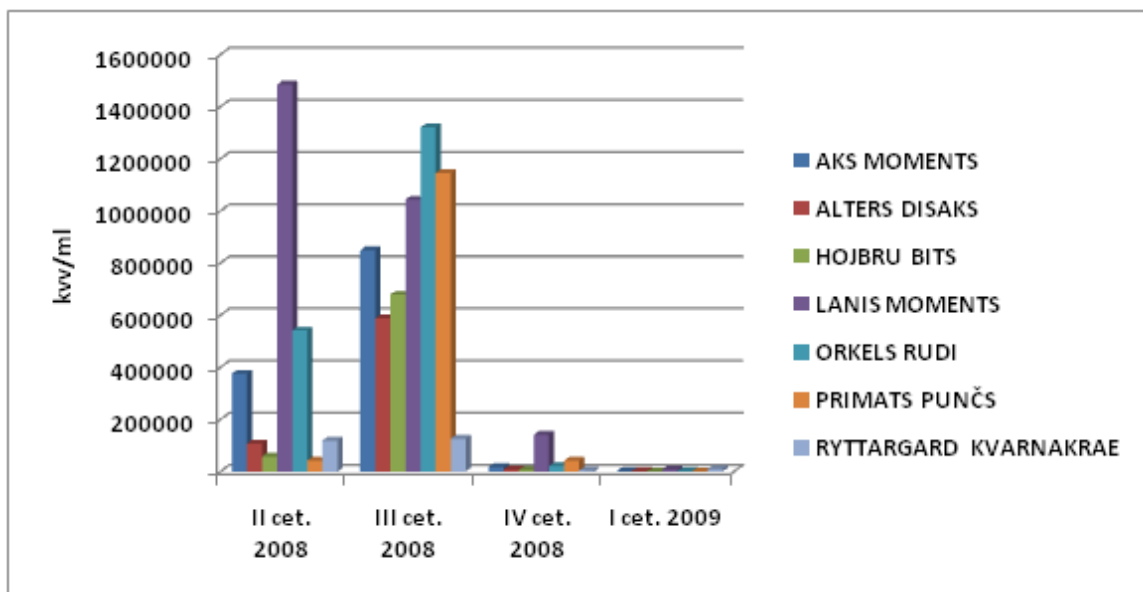


1.attēls. **Dotas SŠS vidējās vērtības norādīto bulļu meitu pienā 2008.gadā**
Figure 1. **Bulls' daughters' average values of SCC in milk in year 2008**

Vaislas bulļa Orkels Rudi meitu zemākais vidējais grupas SŠS bija 44 533; 2. zemākais SŠS bija bulļa Ryttagard Kvarnakra meitām – 106 857 vienā ml piena. Labi SŠS rādītāji ir vaislas bulļa Aks Moments –125 600 un Lanis Moments –140 600 bulļu meitu grupām. Augstākie SŠS rādītāji konstatēti bulļiem ar DS šķirnes asins pārākumu, piemēram, Hojbru Bits meitu grupā vidējais SŠS bija 244 333; Alters Disaks meitu grupā vidējais SŠS bija 258 750; Primats Punčs meitu grupā vidējais SŠS bija 312 000 vienā ml piena. Šie dati apstiprina pieņēmumu, ka ar vaislas bulļu selekcijas palīdzību ir iespējams izlasīt īpatņus, kuru meitas uzrāda labākus produktivitātes rezultātus, kā arī mazāk slimo ar mastītiem, (Strautmanis, 2003; Schukken, 1992; Sanore, 2000; Olesen, 2000). Salīdzinot iepriekšējo autoru pētījumu rezultātus 2005.gadā darbā "Bulļu iedzimtības ietekme SŠS izmaiņām meitu pienā" ar augstāk minētajiem rādītājiem, vērojama sakritība, ka mazākais SŠS salīdzinot sarkano govju šķirnes, bija Zviedru sarkanraibā (ZS) bulļu meitu pienā. Lielākais piena tauku daudzuma indekss ir govju grupām Angleras(AN) x LB šķirņu asinību, tīršķirnes LB un ZS, Latvijā augstākais tauku saturs pienā starp sarkanajām šķirnēm ir AN šķirnes govīm. Viszemākais tauku saturs ir tīršķirnes DS govju grupai. (Strautmanis, 1997).

Lai izvērtētu dažādu līniju buļļus, noteiktu to ģenētisko pārmantojamību jeb rezistenci uz piena mikrobiālo piesārņotību, kopā ir izmeklēti 7 buļļu 52 meitu 174 svaiga piena paraugi. Kopējais baktēriju skaits noteikts katrā izmeklētajā svaiga piena paraugā. Izmeklējuma rezultāts parāda, ka no visiem paraugiem *Salmonella spp.* nav konstatēta, *Listeria spp.* izolēta 1 paraugā, *Staphylococcus aureus* 3 svaiga piena paraugos (vienai govij 2x), *Staphylococcus* ģints jeb koagulāzes negatīvie stafilokoki izolēti 167 svaiga piena paraugos, koliformas 17 svaiga piena paraugos, *Enterococcus spp.* - 75 paraugos. Izteikti augstais *Staphylococcus* ģints jeb koagulāzes negatīvo stafilokoku izolēšanas skaits - 167 svaiga piena paraugos, lika pievērst uzmanību SŠS, izslaukuma un koagulāzes negatīvo stafilokoku sakarībai. Papildus 5 slaucamajām govīm ar paaugstinātu SŠS iegūtajos piena paraugos tika izolēti *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* (hemolizējošais), vides stafilokoki, gramnegatīvā mikroflora (Joffe u.c. 2006). Bīstamāks piena piesārņojums ir patogēnie mikroorganismi: salmonellas, listērijas, mezofilās baktērijas, pienam raksturīgie mikrokokki, koliformas un enterokoki, mastītus izraisošie, dažādie stafilokoki, kā arī piena patērētājam bīstamie piena piesārņotāji: dizentērijas ierosinātājas šigellas un salmonelozes ierosinātāji. (Konošonoka, Jemeljanovs, 2007; Konošonoka u.c. 2008). Dzīvnieku selekcijas sekmīgai īstenošanai praksē, nepieciešams izdalīt gan izturīgus, gan uzņēmīgus šķirņu pārstāvjus, diferencēt atsevišķus dzīvniekus vai radniecīgas dzīvnieku grupas, kuri saslimst vai nesaslimst ar mastītiem, leikozi, vai ir neauglīgi. Tomēr attiecīgās pazīmes determinējošo gēnu ir grūti noteikt., tāpat kā grūti noteikt krasu robežu starp ģenētiski mantoto rezistenci vai slimības uzņēmību (Petuhovs u.c., 1985).

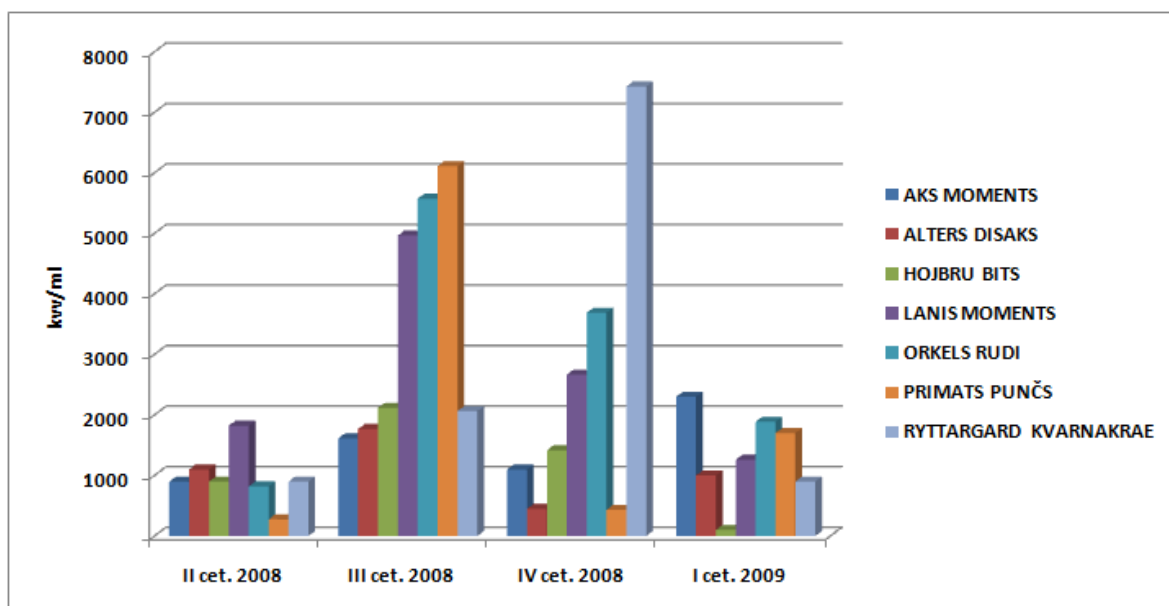
Tabulas 2. rādītāju kopējais baktēriju skaits uzskatāmi parādīts attēlā 2.



2. attēls. Kopējais baktēriju skaits kvv ml⁻¹ buļļu meitu pienā 2008. un 2009. gadā
Figure 2. The total number of bacteria in cfu ml⁻¹ in milk of daughters of bulls in year 2008 and 2009

2008./2009. gada rādītāji iegūti no 174 paraugiem, ar lielāko kopējo baktēriju skaitu - buļļa Laņa Momenta meitām aprīļa un jūnija mēnesī – 1 484 889 kvv ml⁻¹ piena. Salīdzinot ar SŠS skaitu, varam secināt, ka tas bija lielākais SŠS, kuru maksimālā vērtība bija 378 000 1 ml piena. Šis kopējo baktēriju skaits Laņa Momenta meitām konstatēts jūnija mēnesī, ganību periodā. Laņa Momenta meitas raksturīgas ar izteikti

lieliem, zemiem tesmeņiem, lieliem, resniem pupiem, slaukšanai mīkstas, plašu pupu atveri un lielu piena strūklas izdalīšanos slaukšanas laikā. Laņa Momenta meitu grupā ir 10 dzīvnieki, kas bija viena no vecākajām izmēģinājuma govju grupām (Butkus un Butkus, 1985). 2009. gadā Laņa Momenta 4 meitas no izmēģinājumu grupas saslimušas ar mastītu un likvidētas, tas liek domāt par Laņa Momenta meitu zemo rezistenci pret slimību ierosinātājiem un mastīta ģenētisko predispozīciju, kas pārmantota pa tēva līniju. Pēdējos gados aktuāls ir jautājums par koagulāzes negatīvo stafilokoku piesārņojumu svaiga piena paraugos. Koagulāzes negatīvie stafilokoki visbiežāk izraisa subklīniskos tesmeņa iekaisumus bez redzamām klīniskām izmaiņām un tiem raksturīgo somatisko šūnu skaita palielināšanos un izslaukuma samazināšanos. Par koagulāzes negatīvo stafilokoku izraisīto mastītu izplatību literatūrā atrodami dati, ka Norvēģijā, Zviedrijā, Somijā koagulāzes negatīvie stafilokoki ierosina vairāk nekā 30% subklīnisko mastītu un līdz 20% klīnisko tesmens iekaisumu. Mūsu pētījumā koagulāzes negatīvos stafilokokus izdalījām no klīniski veselu govju svaiga piena paraugiem (attēls 2.).



3. attēls. Koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits kvv ml⁻¹ bulļu meitu pienā 2008. un 2009. gadā

Figure 3. The total number of coagulate negative staphylococci cfu ml⁻¹ in bulls' daughters milk in years 2008 and 2009

Kā redzam attēlā 3., koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits pienā palielinājies augusta un septembra mēnešos iegūtajos piena paraugos visām izmēģinājuma govju grupām. Novietnē nomainīti pakaiši – zāģu skaidu vietā govis kaisa ar iepriekšējā gada sliktas kvalitātes ziemāju salmiem. Barības devā slaukšanas laikā turpina piebarot iepriekšējā gada skābsienu, gaisa temperatūra pazeminājusies, naktis govis pavada nakts aplokā pie fermas. Rezultātā vaislas bulļa Primats Punčs meitām visvairāk palielinājies koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits pienā - 6113 kvv ml⁻¹, septembra mēnesī Primats Punčs meitām strauji paaugstinājies SŠS, līdz 981 000. Orkels Rudi koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits 5575 kvv ml⁻¹, Lanis Moments - 4967 kvv ml⁻¹. Vaislas bulļa Aks Moments koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits, salīdzinot otrā ceturkšņa un trešā ceturkšņa rezultātus, palielinājies gandrīz divas reizes no 898 kvv ml⁻¹ uz 1612 kvv ml⁻¹. Vaislas bulļa Aks Moments SŠS meitu pienā 2008. gada ceturtajā ceturksnī

(oktobra – decembra mēnesī) strauji palielinājās - 981 000 vienā ml piena. Pārējo buļļu meitu grupās, palielinoties koagulāzes negatīvo stafilokoku skaitam pienā, SŠS pienā nav būtiski mainījies. Atsevišķu buļļu līniju meitām SŠS neizmainījās. Lielāks koagulāzes negatīvo stafilokoku skaits izraisa govju imūnsistēmas krasāku atbildes reakciju, kas rezultējās SŠS pieaugumā (Konošonoka, 2005).

SECINĀJUMI.

1. Vidējais somatisko šūnu skaits pienā statistiski ticami neatšķiras atsevišķu LB šķirnes buļļu meitām. Zemākais SŠS konstatēts vaislas buļļa Orkels Rudi meitām un augstākais SŠS vaislas buļļa Primats Punčs meitām vienā ml piena. Pasliktinoties ēdināšanas, turēšanas un klimatiskajiem apstākļiem SŠS krasi palielinās divu – Alters Disaks un Primats Punčs līniju buļļu meitu pienā.
2. Lielākais kopējo baktēriju skaits svaigā pienā ir vaislas buļļa Laņa Momenta meitām un vaislas buļļa Orkels Rudi meitām.
3. Koagulāzes negatīvo stafilokoku piesārņojums septembra mēnesī ievērojami palielinās Lanis Moments(HS 50.00%, DS 25.00%, ŠV 25.00%), Orkels Rudi(AN 50.00%, HS 50.00%) un Primats Punčs(DS 75.00%, ŠV 25.00 %) līniju buļļu meitu pienā, bet decembra mēnesī Ryttagard Kvarnakrae(ZS 87.50%, NS 12.50%) līnijas buļļu meitu pienā – tas liek domāt par samazinātu buļļu meitu rezistences ģenētisko potenciālu.

LITERATŪRA

1. Brunovska, M., Līdaks, M. *Latvijas Brūnās šķirnes govju ģenētisko resursu saglabāšanas programma* (Latvian Brown breed cows genetic resources conservation program). Rīga, 2009;12.
2. Jemeljanovs, A., Mozgis, V., Blūzmanis, J., Jonins, V., Reine, A. *Govju akūtais tesmeņa iekaisums un tā izraisītāji*. (Cows' udder acute inflammation and it's reasons). Latvijas Veterinārārstu biedrības, LLU Veterinārmedicīnas fakultātes, Latvijas Republikas Valsts Veterinārā dienesta kopīgi veidots zinātniski praktiskais izdevums *Veterinārmedicīnas raksti '98*. Jelgava, 1998; 67 – 71
3. Joffe, R., Birģele, E., Baranovičs, E. The prevalence of enterotoxins producing staphylococcus aureus strains in milk products marketed in Latvia *Starptautiskās zinātniskās konferences raksti*. Jelgava, 2006; 112 – 119
4. Konošonoka, I. H., Jemeljanovs, A., Ikauniece, D. Svaiga govju piena mikrobiālā kvalitāte un to ietekmējošie faktori (Microbiological quality of cow's raw milk and it's affecting factors). In: Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigrā” of Latvia University of Agriculture *Proceedings of International Scientific Conference*. Sigulda, 2008; 123 – 127.
5. Konošonoka, I. H. *Govju piena mikrobiālā kontaminācija un izolētās mikroorganismu asociācijas*. (Microbial contamination of cow's milk and isolated association of microorganisms) Sigulda, 2008; 56.
6. Mylly, V. *Effect of Abrasion of Teat Orifice Epithelium on Development of Bovine Staphylococcal Mastitis*. Staphylococcal mastitis in heifers and dairy cows. Helsinki, 1995; 446-452.
7. Olesen, M. *Nye indekser for mastitis og vrige sygdomme*. (Breeding values estimation of somatic cell count) *RDMnyt* 2000; 339.
8. Sanore, A.B. Breeding values estimation of somatic cell count in the Italian Holstein. 51 st *Animal Meeting of the EAAP*, 2000; 51.

9. Schukkan, Ontario bulk milk somatic cell count reduction programm. *Journal of Dairy Sci*, 1992; 75: 12: 3352 – 3358.
10. Strautmanis, D. Latvian Brown dairy breed in current situation. *Proceedings of the 3rd Baltic Animal Breeding Conference*, Riga, 1997; 46 – 47.
11. Strautmanis, D. Dažādo govju šķirņu ietekme uz LB šķirnes buļļu māšu kandidāšu ražības ciltsvērtības indeksiem (Some dairy breeds influence on breeding valume indexes of Latvian Brown bull mothers candidates), *Agronomijas Vēstis, Latvian Journal of Agronomy* Nr. 5. Jelgava, LLU, 2003; 254 – 258.
12. Valsts aģentūra "Lauksaimniecības datu centrs" datu bāze, (Database) Latvija, Available at: www ldc.gov.lv/dzreg2.php 10 March 2009.
13. Буткус, К., Буткус, П.. Влияние аномального молока на качество сыра (Effect of abnormal milk to cheese quality), *Агрпромиздам* Москва, 1985; 78.
14. Петухов, В.Л., Жигачев, А.И., Назарова, Г.А.. Ветеринарная генетика с основами *вариационной статистики* (Veterinary Genetics with the basics of variation statistics), *Агрпромиздам*, Москва, 1985; 367.