

Перспективные пробиотики для осетровых рыб

Канд. биол. наук И.В. Бурлаченко – ФГУП «ВНИРО»

Канд. биол. наук Н.В. Судакова, Е.И. Балакирев, Д.А. Мордовцев – ФГУП «НПЦ по осетроводству «БИОС»

Канд. биол. наук Е.В. Малик – ФГУ «ВГНКИ»

Основной задачей индустриального производства рыбной продукции является обеспечение максимально быстрого достижения объектами аквакультуры товарной массы на ограниченной площади. Условия интенсивного выращивания – высокие нагрузки биомассы на единицу объема, несвойственные корма и навязываемый режим питания, органическое загрязнение воды, перепады концентрации кислорода и т.д. – наряду с различными технологическими операциями (вылов рыб для сортировок и контрольных взвешиваний, лечебные обработки и др.) являются постоянно действующими факторами стресса. Их влияние приводит к снижению общей резистентности организма рыб, что на практике выражается в ослаблении темпа роста, высокой подверженности рыб различным заболеваниям, повышенной смертности. Поэтому в рыбохозяйственной науке ведутся непрерывные работы по поиску средств и методов повышения защитных функций организма рыб.

Одним из значимых элементов неспецифической защиты живого организма от неблагоприятных воздействий окружающей среды является его пищеварительная система, и в частности, симбиотная микрофлора, населяющая кишечник (Кузьмина В.В. *Защитная функция пищеварительного тракта рыб*// «Вопросы ихтиологии», 1995. Т. 35. № 1. С. 86–93). Свойственная каждому организму микрофлора появляется в кишечнике вскоре после рождения животного и сосуществует с ним всю жизнь. Изменения естественной среды обитания приводят к соответствующим качественным и количественным изменениям в составе и численности микрофлоры. В условиях индустриального культивирования возможность формирования и поддержания микрофлоры, специфичной для объектов выращивания, весьма ограничена, что связано с особенностями их содержания и кормления (Малик Н.И., Панин А.Н., Малик Е.В. *Пробиотики в промышленном животноводстве*// «Животноводство», 2000, № 3. С. 10–16). Именно поэтому одним из важных условий повышения резистентности живых организмов в условиях культивирования может служить нормализация микробного биоценоза в кишечнике.

Для сельскохозяйственных животных и птиц в течение последних десятилетий с успехом применяются различные пробиотические препараты (*pro bio* – для жизни). Эти препараты включают микроорганизмы или продукты их метаболизма, способствующие нормализации микробиоценоза кишечника. Пробиотики, в отличие от антибиотиков, не оказывают отрицательного воздействия на нормальную микрофлору, поэтому их широко применяют для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и коррекции неспецифического иммунитета (Малик Н.И., Панин Н.А. *Ветеринарные пробиотические препараты*// «Ветеринария», 2001, № 1. С. 46–51).

С 80-х годов XX в. пробиотики применяются и в аквакультуре (Мирзоева Л.М. *Применение пробиотиков в аквакультуре*// *Рыбное хозяйство. Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре*. 2001. Вып. 2. М.: ВНИЭРХ. С. 23–30). В нашей стране с успехом используется пробиотик субалин на основе *Bacillus subtilis*, разработанный для теплокровных животных (Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И. *Применение антибактериальных препаратов и профилактика бактериальной геморрагической септицемии (азромоноза) в рыбоводных хозяйствах*// *Рыбное хозяйство. Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре*. 2000. Вып. 2. М.: ВНИЭРХ. С. 1–6).

Обнадеживающие результаты применения пробиотиков в рыбоводстве дают основание для расширения спектра их использования при интенсивном выращивании различных объектов аквакультуры. В

этой связи целью нашей работы было изучение действия новых пробиотических препаратов на рост, выживаемость, эффективность кормления и микрофлору кишечника молоди русского осетра.

Молодь русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) начальной массой 8–10 г выращивали в бассейновом цехе НПЦ «БИОС» при плотности посадки 80 экз/м². Температура воды колебалась от 23,3 до 24,8° С; концентрация кислорода находилась на уровне 70–80 % насыщения. Опыты продолжались 30 сут.

В экспериментах использовали два препарата, различающиеся принципом действия и набором микроорганизмов. Первый – «Биокорм-Пионер» – представляет собой комбинацию лиофилизированных культур двух не модифицированных генетически штаммов *Bacillus subtilis*. Находящиеся и размножающиеся в просвете кишечника бактерии этого вида образуют метаболиты, которые подавляют рост патогенной и условно-патогенной микрофлоры. В частности, стафилококков, протей, шигелл, эшерихий, псевдомонад, грибов рода Кандида и других организмов. Препарат предупреждает развитие дисбактериозов, способствует стимуляции клеточных и гуморальных факторов иммунитета. Бактерии *Bacillus subtilis* не способны колонизировать кишечник и после прекращения применения препарата постепенно выводятся из организма. Одним из важных преимуществ препарата является использование спорообразующих микроорганизмов. Это обеспечивает его высокую технологичность при введении в корма, так как споры способны выдерживать достаточно жесткие условия обработки при гранулировании и экструдировании в процессе изготовления корма. Кроме того, подобные препараты сохраняют свою действенность при длительных сроках хранения комбикормов.

Второй препарат – «Интестевит» – в отличие от первого содержит комплекс лиофильно высушенных культур бифидобактерий *Bifidobacterium globsum*, стрептококков *Enterococcus faecium* и *Bacillus subtilis*. Две первые группы бактерий, входящих в этот препарат и являющихся представителями нормальной микрофлоры теплокровных животных, способны к активной колонизации слизистой оболочки кишечника и образованию на ней биопленки. Ассоциация микроорганизмов препарата характеризуется взаимным усилением антагонистического эффекта по отношению к условно-патогенным микроорганизмам. Образующиеся бактериями метаболиты активно участвуют в процессах переваривания пищи, синтезе витаминов, аминокислот и других жизненно важных элементов, повышают естественную резистентность организма и способствуют восстановлению популяционного уровня представителей нормальной микрофлоры кишечника. Последняя особенность, помимо комплексного характера и способности к колонизации слизистой, отличает «Интестевит» от первого препарата. Оба препарата разработаны Центром медико-ветеринарных экологических исследований (ЦМВЕИ) совместно с ВГНКИ.

Эти препараты с успехом используются в ветеринарии для теплокровных животных и птиц. Нами также был получен положительный эффект их применения на молоди осетровых при лечении обменных заболеваний, связанных с питанием некачественными кормами, и при выводе молоди из зимнего голодания (Bourlatchenko, Malik. *Use probiotics for normalization of physiological condition of young sterlet (Acipenser ruthenus L.) after starvation*// 5-th International Symposium on Sturgeon. May 2005. Ramsar, Iran. P. 25–26).

В экспериментах использовали корм для осетровых рецепта ОТ-6Сг, производимый комбикормовым заводом НПЦ «БИОС». Пре-

параты вводили путем орошения сухих гранул водным раствором пробиотиков. Расчетные значения содержания препаратов «Биокорм Пионер» и «Интестевит» в корме составляли 1×10^5 и 1×10^7 микробных клеток (КОЕ) на 1 г корма (шифры П1 и П2; И1 и И2 соответственно). Схемой эксперимента было предусмотрено проведение двух курсов кормления с пробиотиками по 10 сут. каждый, с десятидневным перерывом между ними. Все опыты повторялись дважды.

О действии препаратов судили по рыбоводно-биологическим показателям: темпу роста, выживаемости, затратам корма на единицу прироста, – в совокупности характеризующим воздействию препаратов, а также по изменениям микробиоценоза кишечника молоди.

Микробиологический анализ кишечника молоди производился в соответствии с методиками, описанными в практикуме по болезням рыб (*Лабораторный практикум по болезням рыб. / Под ред. В.А. Мусселиус. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 295 с.*). Родовую и видовую принадлежность микроорганизмов определяли при помощи биохимических пластин, дифференцирующих стафилококки и энтеробактерии, разработанных НПО «Диагностические системы» (г. Нижний Новгород) в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

Рыбоводные результаты испытаний приведены в *таблице*.

Результаты выращивания молоди русского осетра в зависимости от вида и дозы применяемых пробиотиков

Показатель		Вариант опыта				
		Контроль	Биокорм «Пионер», КОЕ/г		«Интестевит», КОЕ/г	
			1×10^5 (П1)	1×10^7 (П2)	1×10^5 (И1)	1×10^7 (И2)
Масса рыб, г	начальная	8,5	8,5	8,3	10,9	14,5
	конечная	20,5	20,5	21,0	26,9	35,8
Среднесуточный прирост, % (C_w)*		2,7	2,8	2,9	2,8	2,8
Выживаемость, %		93	98	99	96	96
Продуктивность, кг/м ²		0,85	0,94	1,07	1,23	1,64

*Рассчитывается по формуле: $C_w = \frac{2(M_c - M_o)}{(M_c + M_o) \times t} \times 100\%$, где C_w – % прироста средней массы рыб в сутки; M_o , M_c – масса в начале и в конце опыта; t – период проведения опыта

Можно видеть, что применение пробиотиков привело к некоторому увеличению темпа роста и выживаемости молоди (на 4–7 %). В то же время в результате расчета интегрального показателя полученной продукции, учитывающего как изменения массы рыб, так и их выживаемость, были обнаружены более существенные отличия между контрольным и опытным вариантами. Более значимыми показателями продукции были у молоди, получавшей «Интестевит».

Расчет относительных величин получаемой продукции и затрат корма позволил полностью оценить влияние пробиотических препаратов (*рис. 1*).

Так, при использовании препарата «Интестевит» затраты корма в вариантах с дозами 1×10^5 и 1×10^7 были, соответственно, на 4 и 9 %

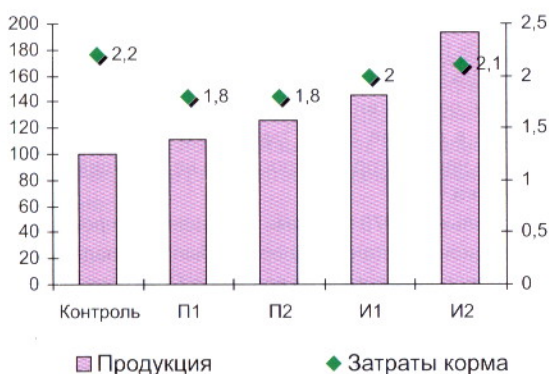


Рис. 1. Получаемая продукция и эффективность потребления молодью русского осетра комбикормов с пробиотиками, %

ниже, чем в контрольном варианте; при обеих дозировках препарата «Биокорм Пионер» – ниже на 18 %. Значения продукции для молоди, получавшей пробиотика, были существенно выше, причем, возрастание концентрации препаратов привело к увеличению продукции. Для «Биокорма Пионер» они, соответственно, составили 11 и 26 %; для препарата «Интестевит» – 45 и 93 %.

Таким образом, применение пробиотиков даже при небольшом усилении темпа роста и выживаемости молоди позволило существенно (почти вдвое, как в варианте «Интестевит» 1×10^7) увеличить получение продукции на единицу рыбоводной площади. Учитывая одинаковые условия содержания молоди, можно говорить о положительном действии пробиотических препаратов на ее физиологическое состояние. При этом следует отметить более значительный эффект от применения комплексного препарата «Интестевит».

Подтверждением реальности положительного эффекта биологического действия пробиотиков могут служить данные об изменениях количественных и качественных показателей микробиоценоза кишечника молоди, произошедших под воздействием препарата «Биокорм Пионер» (доза 1×10^5). К сожалению, по техническим причинам аналогичные данные по препарату «Интестевит», биологический эффект от применения которого был выражен сильнее, отсутствуют.

В отношении количественных характеристик отмечено, что при начальном значении численности бактерий в кишечниках рыб, равном $2,4 \times 10^4$ КОЕ/г, за период наблюдений у рыб контрольного варианта она возросла до $7,1 \times 10^5$, а у рыб, получавших «Биокорм Пионер», – существенно выше – до $4,5 \times 10^8$. Столь значительные изменения являются свидетельством активизации деятельности микрофлоры под влиянием препарата.

На *рис. 2* приведены изменения соотношения качественного состава микробиоценоза кишечника молоди русского осетра. У молоди, получавшей препарат, на фоне значительного сокращения общего количества энтеробактерий увеличилось присутствие бактерий рода *Bacillus* и дрожжей. Эти группы бактерий играют весьма существенную роль в усилении неспецифических иммунных реакций.

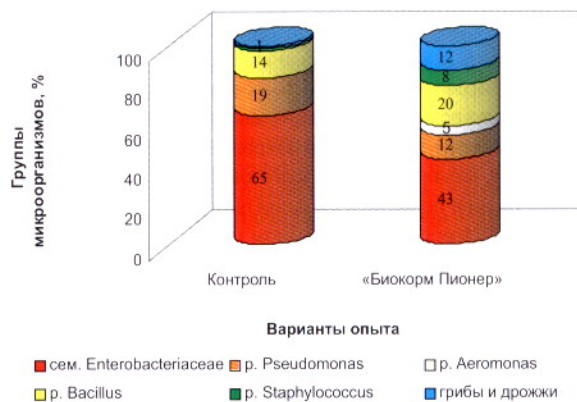


Рис. 2. Влияние пробиотика «Биокорм Пионер» на микробиоценоз кишечника молоди осетра

Кроме того, отмечено появление бактерий рода *Aeromonas*, являющихся типичными представителями микробиоценоза пресноводных рыб, в том числе и осетровых. Согласно литературным данным (*Панин А.Н., Малик Н.И., Вершинина. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / Ж-л «БИО», 2002, № 2, 3. С. 9–15*), подобные изменения соотношения микроорганизмов кишечника являются признаками положительной динамики и служат основой для усиления иммунных свойств организма.

Подводя итог проведенным исследованиям, можно говорить о том, что полученный эффект улучшения физиологического состояния является следствием повышения резистентности организма рыб, а увеличение продукции свидетельствует о перспективности применения новых препаратов «Интестевит» и «Биокорм Пионер» для коррекции негативного воздействия условий интенсивного культивирования осетровых.