

УДК 619:615.356.:639.2/3.043.2(470.319)

ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ РЫБОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ ЗА СЧЕТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК (НА ПРИМЕРЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ BACILLUS SYBTILLIS ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ КАРПА И СТЕРЛЯДИ В САДКОВЫХ ХОЗЯЙСТВАХ ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ)

ЗУЕНКО ВИКТОРИЯ АФАНАСЬЕВНА

кандидат биологических наук, доцент

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина»

Аннотация: Исследованы особенности воздействия бактерий *Bacillus subtilis*, входящих в пробиотик кормового назначения ПроСтор, на различные группы кишечных микросимбионтов, активность ферментов кишечника, концентрацию в его химусе метаболитов, переваримость питательных веществ, темпы роста живой массы рыбоводных объектов (стерляди *Acipenser ruthenus* и карпа *Cyprinus carpio*) при экспериментальном кормлении в условиях садкового культивирования.

Ключевые слова: стерлядь *Acipenser ruthenus*, карп *Cyprinus carpio*, пробиотик ПроСтор, бактерия *Bacillus subtilis*, кишечная микрофлора, активность ферментов, переваримость, компоненты корма, прирост массы.

INCREASING OF EFFICIENCY OF FISH FARMS THROUGH USING OF BIOLOGICALLY ACTIVE FEED ADDITIVES (ON THE EXAMPLE OF USING OF THE BACILLUS SYBTILLIS BACTERIA WHILE GROWING CARP AND STERLET IN THE CAGE CULTURE FISH FARMS OF THE ORYOL REGION)

Zuenko Victoriya Afanasievna

Abstract: The peculiarities of the influence of bacteria *Bacillus subtilis*, included in feed probiotic ProStor, over various groups of intestinal microsymbionts, the activity of intestinal enzymes, the concentration of metabolites in its chyme, the digestibility of nutrients, the growth rate of live weight of fish-breeding objects (sterlet *Acipenser ruthenus* and carp *Cyprinus carpio*) upon the application of experimental feeding under the conditions of cage culture are studied.

Key words: sterlet *Acipenser ruthenus*, carp *Cyprinus carpio*, probiotic ProStor, bacterium *Bacillus subtilis*, intestinal microflora, enzyme activity, digestibility, feed components, weight gain.

С конца 80-х годов на аквакультуру пришелся впечатляющий прирост поставок рыбы для употребления в пищу людьми. Если в 1974 г. доля аквакультуры составляла лишь 7% производства рыбы для употребления в пищу людьми, то в 1994 году эта доля возросла до 26%, а в 2014 г. до 39%. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), производство водных животных в аквакультуре в 2014 г. составило 73,8 млн тонн, в том числе 49,8 млн тонн костистых рыб, 16,1 млн тонн моллюсков, 69 млн тонн ракообразных, 7,3 млн. тонн других водных объектов, включая земноводных. В 2014 году на Китай приходилось более 45,5 млн тонн, или более 60 % всего мирового производства рыбы в аквакультуре. В число других основных производителей входили Бангладеш, Вьетнам, Египет, Индия. Кроме того, выращивалось 27,3 млн тонн водных растений. Предложение рыбы в 2014 г. достигло нового рекордного уровня и составило 20 кг на душу населения [18]. Рыба остается одним из самых ходовых продовольственных товаров в мире.

Если в 2014 г. в Российской Федерации продукция отечественного товарного рыбоводства составила около 160 тыс. т – 3,8% в общем объеме вылова водных биоресурсов, то в 2017 г. достигла 177 тыс. т. Отраслевой программой развития товарного рыбоводства в РФ на 2015-2020 гг. поставлена задача к 2020 г. производить 315 тыс. т рыболовной продукции.

Орловская область по выпуску основных продуктов сельского хозяйства на душу населения занимает лидирующие позиции в России и в ЦФО. Уровень самообеспеченности по мясу - 133 %, по молоку – 104 %, по картофелю – 125 % [3]. Однако с обеспечением населения рыбной продукцией существуют проблемы [5,7]. В области ежегодно производится 400 - 500 тонн товарной рыбы. При численности населения области 760 тыс. человек, потребность в рыбопродукции составляет свыше 15 тыс. т. (при норме потребления 20 кг/год на жителя). Благодаря хорошим климатическим условиям и финансово-экономической привлекательности региона развитие аквакультуры в Орловской области имеет большой потенциал. Водохозяйственный фонд Орловской области составляет 5901 га площади водохранилищ и прудов. Ресурсы региона позволяют обеспечить производство нескольких тысяч тонн товарной рыбы в год. В связи с этим большую актуальность приобретают вопросы кормления и лечебно-профилактических мероприятий, применении различных витаминно-минеральных и пробиотических препаратов при выращивании рыбы в садковых хозяйствах. Значимость таких мероприятий объясняется технологическими особенностями содержания, выращивания и кормления рыбы, особенно в индустриальной аквакультуре, физиологическими особенностями культивируемых объектов рыбоводства [9,10,12,22]. При выращивании в индустриальных условиях рыбы лишены естественной пищи, высокие плотности посадки определяют увеличение органического загрязнения воды и условно-патогенных бактерий в водной среде, нарушаются процессы самоочищения воды, происходят изменения в микробиоценозе кишечника рыб. Снижается темп роста рыб и устойчивость их к заболеваниям. Различные стрессы при индустриальном рыбоводстве еще более усугубляют ситуацию [2,4]. Эффективным способом нормализации микробиоценоза кишечника рыб, улучшения их физиологического состояния является применение пробиотиков [9,10,11,12,20]. Представляют интерес пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* [14,15,16,17,20,21,23], отмечена их эффективность при выращивании в установках замкнутого водоснабжения осетровых (*Acipenseridae*) и карпа (*Cyprinus carpio*). Одна из форм индустриального рыбоводства – садковое выращивание рыбы. Кормление рыбы в садковых хозяйствах является одним из определяющих факторов получения качественной рыбной продукции, в связи с этим изучение особенностей пищеварения рыбы и роль в пищеварении пробиотических препа-

ратов актуально.

С целью оценки эффективности применения пробиотиков «Моноспарин» и «ПроСтор» на основе бактерий рода *Bacillus* проведены опыты в садковом хозяйстве «Лагуна» Орловской области. В качестве объектов исследования были выбраны стерлядь (*Acipenser ruthenus*) и карп (*Cyprinus carpio*), определялись активность ферментов, концентрация метаболитов, переваримость питательных веществ комбикорма, учитывался прирост живой массы. Исследованы физиологические показатели рыбободных объектов [6,8,13]. По данным микроскопии, общая численность микроорганизмов в химусе кишечника рыб составляла у карпа $56,5 \pm 2,61$ млрд./г, у стерляди значительно ниже - $4,3 \pm 1,27$ млрд./г (в 14 раз ниже). До 80% симбиоза было представлено палочковидными формами. Грамотрицательные бактерии в среднем составляли у карпа 70%, у стерляди – 63%. Около 50% бактерий рыб являются аэробами, остальные – микроаэрофилы и факультативные анаэробы, в то время как у теплокровных животных, подавляющая часть резидентной микрофлоры состоит из облигатных анаэробов, что является следствием низкой температуры тела пойкилотермных животных и большей концентрации газов в плазме крови и тканевых жидкостях. У рыб микробиальная азотфиксация происходит более эффективно. Этот фактор представляет возможность разработки пробиотика, включающего мезофильные целлюлозолитические бактерии и *Azotobacter*, одновременно улучшающего процессы пищеварения (клеточные стенки растений, состоящие из целлюлозы, препятствуют доступу пищеварительных ферментов к веществам протопластов) и обеспечивающего рыбу азотистыми соединениями. Продвигаясь по длинному кишечнику растительноядных рыб микроорганизмы, использующие простые соединения азота в качестве пластического материала, погибают, а белки, выгодно отличающиеся по аминокислотному составу, используются хозяином.

Родовой состав микрофлоры карпа и стерляди имеет некоторые отличия (рис. 1, 2).

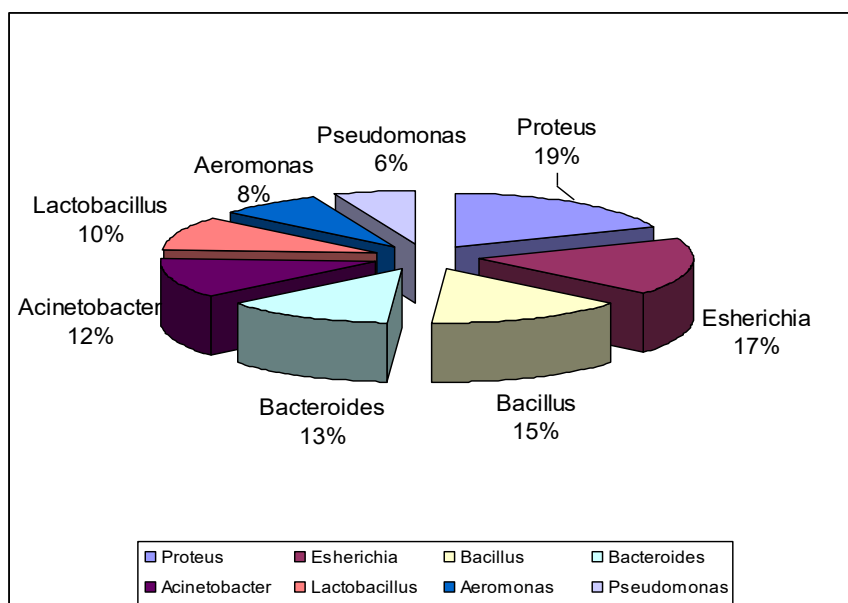


Рис. 1. Родовой состав микрофлоры химуса кишечника карпа

У карпа в составе симбиоза преобладают бактерии кишечной группы *Esherichia* и *Proteus*, у стерляди – *Aeromonas* и *Pseudomonas*. Доля представителей различных родов в составе микрофлоры при использовании пробиотиков изменялась. Так, отмечено, что добавление в комбикорм «Моноспарина» и пробиотика «ПроСтор» снижало долю представителей кишечной группы, прежде всего *Proteus* на 6 – 14%, *Acinetobacter* – на 5 – 9%, бацилл – на 7 – 8%. Снижение численности рода *Bacillus* объясняется конкурентными взаимоотношениями с микробионтами пробиотиков. Доля других, функционально значимых представителей ассоциации (*Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*), пропорци-

онально увеличивалась. Наблюдаемые изменения по сравнению с контрольной группой были достоверны при $P < 0,05$.

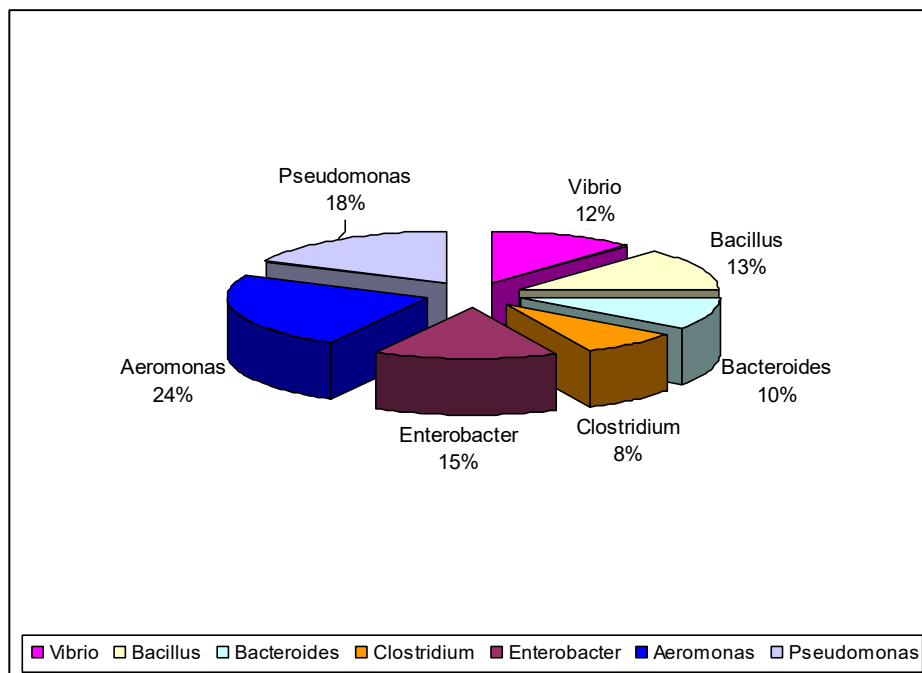


Рис. 2. Родовой состав микрофлоры химуса кишечника стерляди

Общая численность микроорганизмов в кишечном химусе возросла и достигла у карпа $63,8 \pm 3,78$ млрд./г, у стерляди в 4 раза ниже - $15,2 \pm 0,34$ млрд./г. У стерляди разница данного показателя с контролем в случае применения пробиотика «ПроСтор» достоверна при $P < 0,02$. Существенное увеличение числа микроорганизмов, гидролизующих основные пищевые субстраты, продемонстрировало достоверные различия с контролем у обоих исследованных видов рыб, несмотря на высокую вариативность показателя, коэффициент вариации составлял в некоторых случаях 30% и более (рис. 3, 4). Наиболее выраженные изменения наблюдались в случае использования пробиотика «ПроСтор», вносимого в количестве 2 кг/т комбикорма, увеличение численности бактерий, способствующих пищеварению, по сравнению с контролем при этом было достоверно при $P < 0,05$.

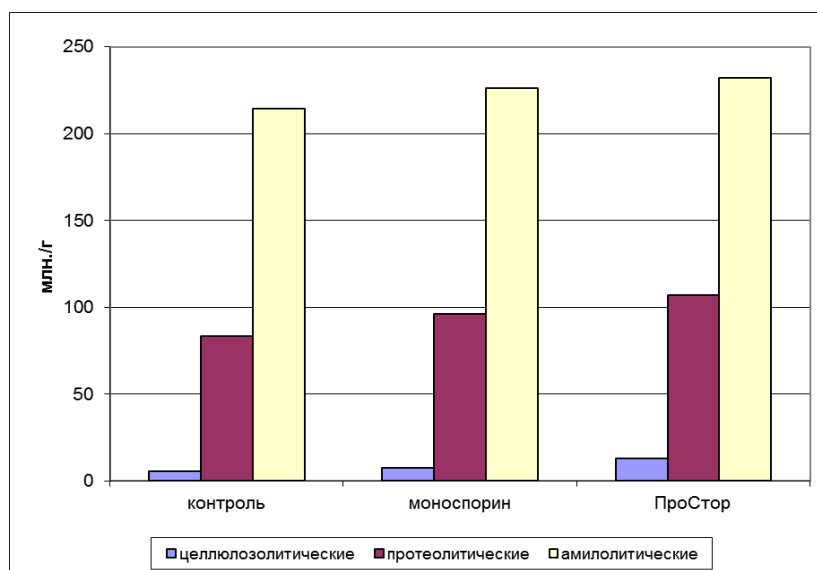


Рис. 3. Численность бактерий, гидролизующих различные субстраты у карпа

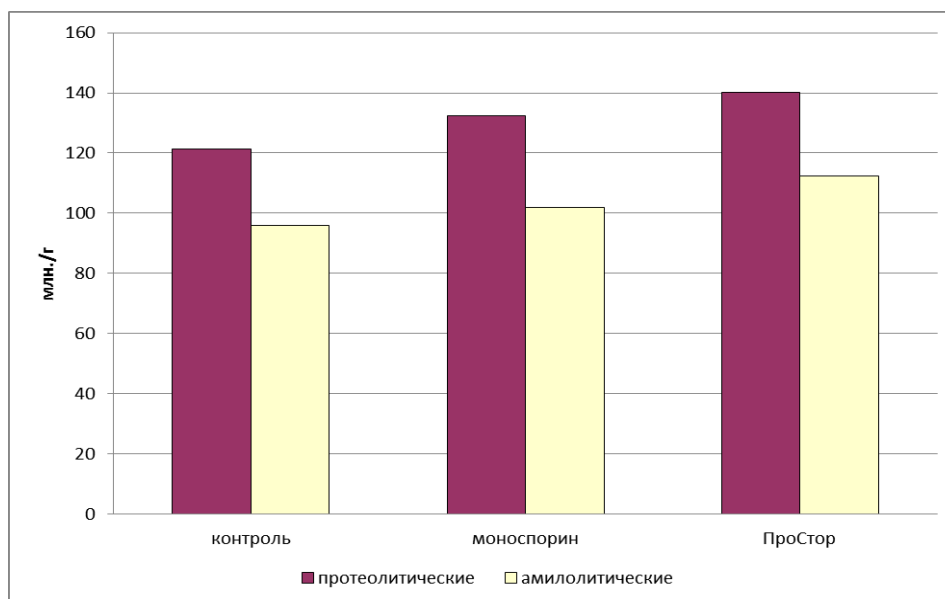


Рис. 4. Численность бактерий, гидролизующих различные субстраты у стерляди

В абсолютных величинах, число бактерий, расщепляющих белок и крахмал повысилось на 20 млн., гидролизующих клетчатку (у карпа) – на 10 млн., что существенно больше, чем при применении «Моноспорина» и «ПроСтора» в концентрации 3 кг/т.

Наглядным было изменение биохимических показателей химуса и, прежде всего, активности ферментов. Суммарная активность эндогенных и симбионтных энзимов оценивалась в присутствии буфера, поддерживающего уровень pH в пределах тех значений, которые наблюдались в кишечнике: для карпа – 7,6, и стерляди – 7,8. При этом гидролиз субстратов осуществлялся при температуре 22°-25°C, величине, установленной для условий содержания экспериментальных рыб. Результаты этих исследований представлены в табл. 1 и 2. При расчете переваримости брались количество особей, соответствующее n=5.

Таблица 1

Биохимические показатели химуса кишечника при использовании пробиотиков у карпа

Показатели, ед. изм.	Контроль	Моноспорин	ПроСтор (2 кг/т)	ПроСтор (3 кг/т)
Протеазы, мг глицина/мин·г	19,3±0,27	19,8±0,79	20,9±0,43 (+8%)*	20,4±1,56
Амилаза, мг крахмала/30 мин·г	36,4±1,34	39,6±2,02	42,3±1,00 (+16%)*	40,0±1,25
Липаза, мл 0,1 н-ра NaOH	4,0±0,50	4,4±0,12	5,8±0,30	5,2±0,44
Экзоглюканаза, мкМ/мин·г (10 ⁻⁴)	10,3±1,20	12,2±1,63	14,1±1,02 (+37%)	13,4±1,01
Общий азот, % от СВ	8,9±0,06	7,6±0,12	7,3±0,08 (-18%)*	7,5±0,14
Азот аммиака, % от общего	4,6±0,17	4,0±0,24	3,7±0,15 (-20%)**	3,9±0,21
Азот мочевины, % от общего	2,5±0,01	2,2±0,03	2,0±0,04 (-20%)*	2,1±0,05

Примечание, здесь и далее : * - P<0,05; ** - P<0,02; *** - P<0,01 **** - P<0,001

Результаты, представленные в таблицах, свидетельствуют о том, что применение пробиотиков у обоих исследованных видов существенно увеличивало активность протеаз, амилазы, а у карпа - эндоглюканазы (целлюлазы), в несколько меньшей степени – липазы. Кроме того, в хিমусе заметно снизилось содержание азота, вследствие лучших условий усвоения белка, а также азотистых метаболитов – аммиака и мочевины, которые интенсивнее использовались микрофлорой кишечника для синтеза собственной биомассы. Часть свободных аминокислот и лизированных протеинов, всасывается кишечной стенкой. Наиболее значимые изменения данных показателей отмечены при использовании пробиотика «ПроСтор» в количестве 2 кг/т. Изменения, происходящие в кишечнике, оказали влияние как на переваримость сухого вещества комбикормов в целом, так и отдельных его ингредиентов, прежде всего, сырого протеина, жира и безазотистых экстрактивных веществ, а у карпа также клетчатки.

Таблица 2

Биохимические показатели химуса кишечника при использовании пробиотиков у стерляди

Показатели, ед. изм.	Контроль	Моноспорин	ПроСтор (2 кг/т)	ПроСтор (3 кг/т)
Протеазы, мг глицина/мин·г	15,5±1,20	16,7±0,68	19,3±0,89 (+24%)	17,5±1,12
Амилаза, мг крахмала/30 мин·г	14,2±0,76	18,2±1,32	20,4±1,15 (+43%)*	18,0±1,06
Липаза, мл 0,1 н р-ра NaOH	5,1±0,21	5,2±0,35	5,6±0,24	5,3±0,15
Экзоглюканаза, мкМ/мин·г (10 ⁻⁴)	-	-	-	-
Общий азот, % от СВ	6,4±0,41	5,2±0,20	4,8±0,46 (-25%)	5,0±0,22
Азот аммиака, % от общего	5,7±0,12	4,6±0,11	4,1±0,08 (-28%)*	4,2±0,14
Азот мочевины, % от общего	3,8±0,07	3,2±0,10	2,5±0,05 (-34%)*	3,0±0,09

Переваримость комбикорма у карпа на пробиотиках оказалась в целом, выше, чем у стерляди. Это связано с большей численностью кишечной микробиоты и более протяженным кишечником, а также тем, что карп - типичный бентософаг, в естественном рационе которого преобладают животные организмы, в т. ч. моллюски, отличающиеся от растительных кормов высокоценным легко усвояемым белком, в отличие от типичного хищника стерляди, у которой комбикорм подвергается высокотемпературной обработке, белки не только коагулируют, но и вступают в соединение с сахарами с образованием меланоидино подобных комплексов, практически недоступных для гидролаз.

Полученные данные вновь указывают на более высокую эффективность пробиотика «ПроСтор» в концентрации 2 кг/т. Данная рецептура отличается тем, что микроорганизмы иммобилизованы на растительных пленках, в то время, как жидкая форма препарата «Моноспорин» может выщелачиваться водой.

Наиболее значимый для производства материал выявлен при учете абсолютных и среднесуточных приростов живой массы контрольных и исследуемых рыб.

Результаты опытов свидетельствует о том, что эффективность моноспорина для аквакультуры более низкая, чем пробиотика ПроСтор. Наиболее эффективная концентрация пробиотика ПроСтор в комбикорме – 2 кг/т. Данная концентрация повышает среднесуточный прирост у карпа на 25%, у стерляди – на 35%. Существенный прирост живой массы под влиянием пробиотика у стерляди по сравнению с карпом обусловлен значительно более бедным кишечным симбиозом у данного вида. Коэффициент биоконверсии в 3 группе, рассчитанный на 100 г корма и мяса рыбы натуральной влажности с учетом мДж обменной энергии составил для карпа 2,16, для стерляди – 3,33.

Длительное применение изученных биологически активных веществ оказывает стойкий и продолжительный эффект, который был выражен в сохранении более высоких значений рыбоводно-биологических показателей во всех опытных группах по сравнению с контролем. Большую эффективность для аквакультуры продемонстрировали пробиотики «ПроСтор», микроорганизмы и ферменты которых, в отличие от жидких форм, иммобилизованы на растительных пленках и не выщелачиваются водой. Применение пробиотика «ПроСтор» оказало положительное влияние на численность и родовой состав химуса симбиоценоза кишечника, достоверно повысило активность ряда пищеварительных ферментов, переваримость корма и, в конечном итоге, продуктивность карпа и стерляди при выращивании в садках. Месячный прирост живой массы у карпа и стерляди превысил контрольные значения на 13,6 и 36 %, среднесуточный – на 25 и 35% соответственно. Оптимальная установленная концентрация пробиотика «ПроСтор» в комбикорме для рыб составляет 2 кг/т. При этой дозировке коэффициент биоконверсии соответствовал для карпа 2,16, для стерляди – 3,33. С целью большей эффективности и увеличения абсолютных, а также среднесуточных приростов карпа и осетровых рыб рекомендовано использовать в комбикормах пробиотик «ПроСтор» в количестве 2 кг/т.

Список литературы

1. Абросимова, Н.А. Кормовое сырье и добавки для объектов аквакультуры / Н.А. Абросимова, С.С. Абросимов, Е.М. Саенко. – Ростов-на-Дону: Медиа-Полис, ФГУП «АзНИИРХ», 2006. – 147 с.
2. Бурлаченко, И.В. Актуальные вопросы безопасности комбикормов в аквакультуре рыб/ И.В. Бурлаченко. – Москва, ВНИРО, 2008. – 183 с.
3. Бутусов Д.В. Орловская область от экстенсивного земледелия к эффективному производству // Вестник агропромышленного комплекса, 2016, апрель/май, С.84 -85.
4. Васильева, Л.М. Лечебно-профилактические мероприятия при выращивании осетровых в садках / Л.М. Васильева О.В. Горкина, М.В. Лозовская, Т.Г. Щербатова// Естественные науки. – 2012. - № 2 (39). – С.154 – 159.
5. Зуенко В.А. Проблемы и перспективы развития аквакультуры в Орловской области// Рациональная эксплуатация биоресурсов: проблемы и возможности в контексте целей устойчивого развития ООН. Материалы Всероссийской научно – практической конференции (Москва, ФГБОУ ВО РГСУ, 19 марта 2018 г.) /Издательство «Перо», С. 177 – 184.
6. Зуенко В.А., Лактионов К.С., Правдин И.В., Кравцова Л.З, Ушакова Н.А. // Влияние кормового пробиотика на основе бактерий *Bacillus subtilis* на пищеварение рыб при садковом выращивании// Вопросы ихтиологии, 2017, том 57, №1, С.112 – 117.
7. Зуенко В.А., Низамов В.Т. К вопросу совершенствования законодательства при использовании внутренних водоемов для аквакультуры // Агротехника и энергообеспечение, ОрелГАУ, 2015, № 3 (7), С. 70-75.
8. Методы общей бактериологии. Т. 1. - М.: Мир. – 1983.- 110 с.
9. Мордовцев, Д. А. Оценка влияния пробиотиков на рыбоводно-биологические показатели выращивания молоди осетровых / Д. А. Мордовцев, Е. И. Балакирев, Н. В. Судакова // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: IV Междунар. науч.-практ. конф.: матер. - М. : ВНИРО, 2006.- С. 267-270.
10. Сариев, Б.Т. Оценка эффективности роста массы осетровых рыб при добавлении в корма пробиотических препаратов /Б.Т. Сариев, А.Н. Туменов, Ю.М. Баканева, Н.В. Болонина //Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. – 2011. – № 2. – С.118 – 121.
11. Скляров, В.Я. Корма и кормление рыбы в аквакультуре: ВНИРО. – 2008. – 150 с.
12. Ткачева И.В. Продуктивность и биологические особенности русского осетра при использовании в рационе пробиотиков. Диссерт. на соискание уч. степени кандидата с.-х. н., 2002. – 128 с.
13. Уголев, А.М. Исследование пищеварительного аппарата / А.М. Уголев, Ц.Г. Масевич, Н.М. Тимофеева. - М.: МаксПресс. – 2002.-116 с.
14. Ушакова, Н.А. Патент РФ №2202224. Способ получения биологически активной кормовой до-

бавки из растительного сырья /Н.А. Ушакова, Е.И. Наумова, Д.С. Павлов, Б.А. Чернуха; опубл. 20.04.2003.

15. Ушакова, Н.А. и др. Анаэробная твердофазная ферментация растительных субстратов с использованием *Bacillus subtilis* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 1. – С. 70–77.

16. Ушакова, Н.А. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н.А. Ушакова Н.А., Р.В. Некрасов Р.В., В.Г. Правдин, Л.З. Кравцова О.И. Бобровская, Д.С. Павлов // Фундаментальные исследования.- 2012.-№1.- С. 184-192.

17. Ушакова Н.А. Оценка эффективности синбиотического препарата «Простор» в рационе молодки осетровых рыб / Н.А. Ушакова, С.В. Пономарев, В.Г. Правдин, Л.З. Кравцова, С.А. Лиман, Д.С. Павлов //Фундаментальные исследования – 2013. – № 6. – С.1174 – 1177.

18. ФАО, 2016. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры. Вклад в обеспечение продовольственной безопасности и питания. Рим. 216 С.

19. Щербатова, Т.Г. Садковое и прудовое выращивание товарных осетровых /Т.Г. Щербатова //Лекционный материал Международного научно-практического семинара по осетроводству. – Астрахань. – 2007. – С. 23 – 26.

20. Щербина, М.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре/ М.А. Щербина, Е.А. Гамыгин.– Москва, ВНИРО, 2006. – 360 с.

21. Якубенко, Е.В. Эффективность применения пробиотиков Бацелл и Моноспорин/ Е.В. Якубенко, А.Г. Коцаев, А.И. Петенко //Ветеринария Кубани, 2009.-№4.-С 34-46.

22. Noga E.J. 1995. Fish disease : diagnosis and treatment. N.Y.: Mosby Year Book, P. 321 p.

23. Pavlov S.D., Ushakova N.S., Pravdin V.G. et al. 2014. The ProStor and Ferm KM-1 complex probiotic additives – innovations biotechnological preparations for enhancing the qyaliti of domestic fish mixed feed // Nova Shi. Publ. V. 20. P. 239 – 244.