

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

*На правах рукописи*

Жандалгарова Аделя Джуманияшевна

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ  
«ФЕРМ-КМ» И «ПРОСТОР» В КОРМЛЕНИИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ**

06.02.08 - кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных  
и технология кормов

**ДИССЕРТАЦИЯ**

*на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук*

Научный руководитель:  
доктор сельскохозяйственных наук,  
доцент Бахарева А.А.

АСТРАХАНЬ - 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1 Обзор литературы.....	10
1.1 Использование пробиотиков в составе кормов для рыб и сельскохозяйственных животных.....	10
1.2 Механизм действия пробиотических препаратов в организме животных и рыб.....	27
Глава 2 Материал и методы исследований.....	35
Глава 3 Результаты исследований.....	47
3.1 Влияние нового преднерестового комбикорма на репродуктивные функции производителей осетровых рыб .....	47
3.2 Влияние пробиотических препаратов на обсемененность преднерестовых комбикормов.....	57
3.3 Использование бактериальных препаратов в составе стартовых и продукционных комбикормов для осетровых рыб.....	60
3.3.1 Использование бактериальных препаратов в составе стартовых комбикормов для молоди осетровых рыб.....	60
3.3.2 Использование бактериальных препаратов в составе продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб.....	66
3.3.2.1 Выращивание молоди белуги на комбикормах с добавлением пробиотического препарата «Ферм-КМ».....	67
3.3.2.2 Влияние синбиотической добавки «ПроСтор» на рыбоводно-биологические и гематологические показатели молоди русского осетра.....	70
3.4 Влияние пробиотических препаратов на микрофлору жабер и кишечника молоди осетровых рыб.....	75
3.5 Влияние пробиотических препаратов на микрофлору воды при выращивании осетровых рыб.....	80
3.6 Введение пробиотических препаратов в продукционные комбикорма для двухлеток осетровых рыб.....	85
Заключение.....	94

Выводы.....	96
Практические рекомендации.....	98
Список литературы .....	99
Приложение А.....	115
Приложение Б.....	116
Приложение В.....	117
Приложение Г.....	118

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Наиболее важным фактором внешней среды является питание, влияющее на обмен веществ, формирование организма рыб, их рост и воспроизводительные функции. Кормление оказывает гораздо большее влияние на организм рыб, их продуктивность, чем порода и происхождение. Искусственное кормление позволяет повысить рыбопродукцию в прудовых хозяйствах на 75-85 %, а в хозяйствах индустриального типа на 100 % (Н.А. Абросимова и др., 1989; Е.А. Гамыгин и др., 1989). При индустриальных методах выращивания рыб роль естественной пищи близка к нулю, и весь прирост биопродукции происходит за счет вносимых кормов (В.Я. Скляр, Н.А. Студенцова, 2001). В отличие от прудовой аквакультуры в этих условиях повышаются требования к качеству кормов, их сбалансированности по основным питательным, биологически активным и энергетическим веществам (И.Н. Остроумова, 2012; А.А. Бахарева и др., 2014).

Выращивание осетровых рыб при замкнутой системе водоснабжения характеризуется увеличением уровня органического загрязнения и числа условно-патогенных микроорганизмов в водной среде. Определенная концентрация бактерий в воде рыбоводных емкостей приводит к их резкому увеличению в органах и тканях рыб (Л.Н. Юхименко, В.Ф. Викторова, 1979; Б.А. Шендеров, 1998). В данном случае отмечается ослабление общего состояния рыб и возникновение различных заболеваний, что ведет к необходимости проведения дополнительных исследований, направленных на разработку комбикормов, обладающих лечебно-профилактическими свойствами. В связи с чем, возникает необходимость поиска приемов повышения эффективности выращивания осетровых рыб за счет использования бактериальных препаратов в кормлении рыб.

**Степень ее разработанности.** К перспективным формам препаратов нового поколения относятся сорбированные формы пробиотиков, содержащие бактерии, иммобилизованные на частицах твердого субстрата. Такие пробиотические препараты отличаются высокой биологической активностью и перспективны для

применения в рационах сельскохозяйственных животных. Затраты, связанные с приобретением препаратов и их использованием, окупаются дополнительным приростом живой массы, лучшей сохранностью поголовья и лучшей конверсией корма. Исследования в данном направлении проводились такими учеными, как: Г.Ф. Бовкун, И.Н. Богатырев, В.М. Бондаренко, О.В. Калюжин, Н.И. Малик, А.Н. Панин, Г.А. Ноздрин, Б.В. Тараканов. Однако, влиянию пробиотических препаратов нового поколения в кормлении рыб, уделяется недостаточно внимания.

Вопросами применения бактериальных препаратов в кормлении рыб занимались: Г.В. Кулаков, И.В. Бурлаченко, Л.И. Бычкова, Л.Н. Юхименко, Б.А. Шендеров, О.А. Мирошник, Т.В. Колганова, Д.С. Павлов, Н.А. Ушакова, Е.В. Киянова, Е.А. Шульга, Л.З. Кравцова и другие. В настоящее время в литературе отсутствуют данные о применении пробиотических препаратов в виде биопленки на твердом фитосубстрате при кормлении осетровых рыб.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы – повышение эффективности кормления осетровых рыб в зависимости от периодов выращивания.

Поставленная цель определила следующие задачи:

- определить оптимальную дозу ввода бактериального препарата «Ферм-КМ» в преднерестовый комбикорм с учетом репродуктивных показателей и показателей крови;
- определить оптимальную дозу ввода бактериальных препаратов «Ферм-КМ» и «ПроСтор» в стартовые и продукционные комбикорма для осетровых рыб;
- изучить содержание микрофлоры жабер и кишечника молоди осетровых рыб при использовании пробиотических препаратов «Ферм-КМ» и «ПроСтор»;
- изучить влияние пробиотических препаратов на микробиологический фон воды и обсемененность комбикормов для осетровых рыб;
- определить экономическую эффективность выращивания осетровых рыб при использовании пробиотических препаратов.

**Научная новизна.** Впервые определена оптимальная доза ввода пробиотического препарата «Ферм-КМ» в рацион производителей осетровых рыб.

Установлено, что использование данного пробиотика в составе преднерестового комбикорма способствует улучшению качества ооцитов и эякулятов производителей, повышению процента оплодотворения икры на 14 %, уровня рентабельности на 28,1 %.

Определены дозы ввода пробиотика «Ферм-КМ» и синбиотика «ПроСтор» в стартовые комбикорма для молоди осетровых рыб и установлено, что введение препаратов увеличивает показатели интенсивности роста и повышает выживаемость молоди. Разработаны оптимальные дозы ввода пробиотиков «Ферм-КМ» и «ПроСтор» в производственные комбикорма для осетровых рыб и оценена эффективность использования пробиотических препаратов для снижения затрат комбикормов на единицу прироста массы рыб и увеличения рыбопродукции.

Установлено, что применение пробиотиков в кормах снижает численность патогенных микроорганизмов в жабрах и кишечнике молоди осетровых рыб. Выявлено, что применение пробиотических препаратов способствует снижению уровня бактериальной обсемененности воды до  $2,0 \times 10^3$  КОЕ/мл, а также увеличению обсемененности комбикормов молочнокислыми бактериями до  $4,5 \times 10^6$  КОЕ/мл.

Доказана экономическая эффективность использования бактериальных препаратов в рационе осетровых рыб.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные в ходе выполнения работы экспериментальные данные дополняют теоретические и научные сведения об использовании пробиотических препаратов «Ферм-КМ» и «ПроСтор» в составе преднерестовых, стартовых и производственных комбикормов для осетровых рыб.

Автором разработана оптимальная норма ввода пробиотика «Ферм-КМ» в состав преднерестового комбикорма – 6 г/кг комбикорма. Такая концентрация препарата способствует увеличению рабочей плодовитости самок до 237,6 тыс.шт., увеличению процента созревания самцов до 89,9 %, процента оплодотворения икры до 89,5 %. Определены нормы ввода пробиотических

препаратов в стартовые и продукционные комбикорма для осетровых рыб. Внесение пробиотических препаратов в стартовые комбикорма для молоди осетровых рыб в дозе 2 г/кг комбикорма увеличивает рыбоводно-биологические показатели (абсолютный прирост на 2,1-2,3 г, среднесуточную скорость роста до 3,84 %, выживаемость до 84 %). Введение пробиотиков в продукционные комбикорма обеспечивает увеличение прироста массы рыбы на 512,1 г и снижение кормовых затрат на единицу продукции до 1,6 ед. Использование пробиотических препаратов в рационе осетровых рыб способствует получению дополнительной прибыли от реализации икры до 21,4 тыс.руб., реализации товарной рыбы до 66,0-76,0 тыс.руб. и увеличивает рентабельность продажи посадочного материала на 80-83,3 %.

**Методология и методы исследований.** Исследования выполнялись в период с 2012 по 2017 гг. в рамках договоров между ФГБОУ ВО «АГТУ» и бассейновыми управлениями Юга России, в рамках программы «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («УМНИК», 2015-2017 гг.).

В ходе работы использованы классические и современные методы рыбоводно-биологических, морфобиохимических, микробиологических и экономических исследований, принятых в рыбоводстве с применением современного сертифицированного оборудования. В процессе выполнения работы определены рыбоводно-биологические и гематологические показатели осетровых рыб, оценены микробиологический фон жабер и кишечника осетровых рыб, обсемененность комбикормов и воды молочнокислыми бактериями.

Полученные в ходе исследований данные подвергались статистической обработке результатов исследований согласно общепринятым методам с использованием программы Microsoft Excel. При этом использовали элементы статистического анализа, уровень различий оценивали с помощью критерия достоверности Стьюдента (Г.Ф. Лакин, 1990).

**Положения, выносимые на защиту:**

- доза пробиотика «Ферм-КМ» 6 г/кг в преднерестовом комбикорме является оптимальной;

- введение пробиотических препаратов «Ферм-КМ» и «ПроСтор» в стартовые и продукционные комбикорма для молоди осетровых рыб, в продукционные комбикорма для выращивания осетровых рыб до товарной массы способствует увеличению рыбоводно-биологических показателей, морфобиохимических показателей крови, выживаемости рыб.

- использование пробиотических препаратов снижает рост энтеробактерий в жабрах и кишечнике молоди осетровых рыб, увеличивает обсемененность комбикормов молочнокислыми бактериями, уменьшает уровень бактериальной обсемененности воды;

- использование пробиотических препаратов «Ферм-КМ» и «ПроСтор» в рационе осетровых рыб экономически эффективно.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Результаты диссертационной работы прошли широкую апробацию на Международной научной конференции «Рациональное использование и сохранение водных биоресурсов» (Ростов-на-Дону, 2014); X юбилейной ежегодной научной конференции студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН (Ростов-на-Дону, 2014); Международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России» (Ростов-на-Дону, 2014); XI юбилейной ежегодной научной конференции студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН (Ростов-на-Дону, 2015); IV Международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса» (Ставрополь, 2015); Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки, д.с.-х.н, профессора В.М. Куликова (Волгоград, 2015).

Результаты проведенных исследований обработаны методом вариационной статистики с определением достоверности разницы по таблице Стьюдента при трех уровнях вероятности достоверности разницы.

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликовано 11 работ, в том числе 1 в издании, входящем в международную базу данных Scopus, 3 в



изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ. Подана заявка на патент «Продукционный комбикорм для производителей осетровых рыб с добавлением пробиотика и биологически активных веществ» (№ 2017116295 от 10.05.2017 г.)

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 118 страницах машинописного текста. Состоит из введения, основной части, заключения с выводами, практическими рекомендациями, списка литературы и приложений, иллюстрирована 16 рисунками и 32 таблицами. Список литературы содержит 153 источника, в том числе 37 на иностранном языке.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Использование пробиотиков в составе кормов для рыб и сельскохозяйственных животных

Современная аквакультура характеризуется новыми подходами к содержанию рыб в условиях плотных посадок, связанными с восстановлением естественной экологии организма и основанными на использовании биологически активных продуктов. Одним из аспектов такого подхода является нормализация измененного микробного пейзажа организма в условиях водной среды УЗВ при помощи бактериальных и биопрепаратов (Мирошник, 1997).

Пробиотики – это препараты на основе живых микробных культур, используемые для коррекции микробного ценоза при профилактике и лечении ряда заболеваний, связанных с дисбиотическими состояниями. Также пробиотики помогают при послестрессовой адаптации (бонитировка, резкая смена температурного режима, применение антибиотиков, химиопрепаратов, дезинфектантов), увеличивая резистентность макроорганизма к патогенным микроорганизмам; улучшают работу пищеварительной системы за счет дополнительной продукции ферментов в пищеварительном тракте (Воробьев, Лыкова, 1999). Пробиотики обладают способностью регулировать микробиоценоз пищеварительного тракта, внося существенный вклад в усвоение питательных веществ, тем самым, уменьшая кормозатраты и делая корма более эффективными, а их применение выгодным (Малик, Панин, 2001; Панин, Малик 2007). Они являются объектами всесторонних научных исследований и важным товаром на мировом рынке, объем продаж которых оценивается в миллиарды долларов в год (Иноземцев и др., 1998). В настоящее время в широком доступе различные пробиотические продукты питания и пищевые добавки, а производители кормов для сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы включают пробиотические препараты в состав комбикормов. Использование пробиотиков может позволить решить ряд проблем со здоровьем, повышением эффективности пищеварения,

стимуляцией роста и развития. Пробиотические препараты перспективны в качестве профилактических средств и сопутствующей терапии, однако не могут быть применены в качестве основного средства при лечении заболеваний (Ноздрин, Зеленков, 1992; Stephenson, Perego, 2002). В ноябре 2005 года Американской Академией Микробиологии были рассмотрены вопросы о взаимосвязи между микроорганизмами, болезнями и иммунитетом, доказательства о лечебных свойствах пробиотиков и возможные перспективы их использования (Glencross et al., 2007). Было установлено, что применение пробиотиков может оказывать не только противоинфекционное и иммунномодуляторное действие на организм, но и препятствует проникновению в него вирусов, бактерий, вредных веществ и защищает организм от воздействия окружающей среды, стимулирует моторику кишечника и его экскреторные функции. Пробиотические штаммы, введенные с препаратами, вступают с сообществом бактерий кишечника во взаимодействие, выделяя метаболиты, оказывающие влияние на пищеварительную, иммунную и гормональную системы организма. Концепция пробиотиков постоянно претерпевает существенные изменения. Структурные компоненты и продукты метаболизма пробиотических микроорганизмов вызывают интерес у исследователей. Данные изменения можно связать с расширением представлений о биологической эффективности пробиотиков и обнаружением того факта, что структурные элементы клеток и их метаболиты в ряде случаев оказываются не менее эффективными (Шендеров, Манвелова, 1997). Было выделено 4 поколения пробиотиков (Шендеров, 2008) (Таблица 1).

Таблица 1 - Современные поколения пробиотиков (Онищенко и др., 2002)

I	Монокомпонентные препараты
II	Самозелиминирующие антагонисты (представители рода <i>Bacillus</i> )
III	Комбинированные препараты (несколько штаммов бактерий или добавки, усиливающие их действие)
IV	Живые бактерии, иммобилизованные на сорбенте

На рынке пробиотиков в настоящее время пользуются спросом комбинированные препараты. Штаммы бактерий, входящие в состав пробиотика, объединяются по способности штаммов вырабатывать биологически активные вещества и ферменты таким образом, чтобы дополнять друг друга по биологической активности. Помимо этого, для того, чтобы получить новые поликомпонентные биологически активные препараты применяют сочетание комплексов пробиотиков и пребиотических веществ.

К перспективным формам препаратов нового поколения относятся сорбированные формы пробиотиков, содержащие бактерии, иммобилизованные на частицах твердого сорбента. Взаимодействие этих форм со стенкой кишечника за счет электростатических и химических сил значительно выше. Сорбент способствует ускорению дезинтоксикации и репаративного процесса. Угли, кремнеземы и цеолиты являются наиболее часто используемыми природными сорбентами и обладают относительно хорошей ионообменной и сорбционной способностями. Для них характерен хорошо развитый поверхностный каркас с порами различного диаметра, взаимодействующий с разными веществами и клетками пробиотика. Биологическая активность данных препаратов объясняется тем, что живые пробиотические бактерии неподвижны на сорбенте, что способствует быстрому заселению кишечника (Клименко, 2002; Ушкалова, 2007).

Иммобилизованная форма пробиотического препарата повышает защиту лакто- и бифидобактерий при прохождении через желудок, где обычные препараты на основе лиофильно высушенных клеток пробиотиков, теряют примерно 90% своей активности. Сочетание «цеолиты + пробиотик» обладает выраженным иммунокорректирующим свойством (Егоров и др., 2007), нормализует микрофлору кишечника, повышает неспецифическую резистентность организма, стимулирует функциональную деятельность пищеварительной системы. Так, например, одна доза пробиотика, сорбированного на косточковом активированном угле («Бифидумбактерин Форте»), содержит примерно  $10^7$  КОЕ/г бифидобактерий, что соответствует содержанию бактерий в молочнокислых продуктах, и на несколько порядков меньше дозы, которая

рекомендована для стандартных пробиотиков (Оркин, Сатин, 1986). В препаратах кормового назначения «Целлобактерин-Т» и «Целлобактерин» содержатся микроорганизмы, сорбированные на нейтральном фитоносителе, и доза ввода препарата в корм составляет 1 кг на тонну комбикорма. Если учитывать, что в 1 тонне комбикорма с «Целлобактерином-Т» содержится  $10^4$  КОЕ пробиотика, то это составляет  $10^7$  КОЕ на 1 кг препарата (Панин, Малик, 2006). В качестве сорбента эффективно использовать пребиотики – класс препаратов необходимых для регуляции кишечной микрофлоры, приобретающих популярность. Пребиотики являются субстратом, стимулирующим естественную микрофлору, не перевариваются и не всасываются в желудке и в тонком отделе кишечника. Попадая в толстый отдел кишечника, пребиотики используются в качестве питательной среды для нормальной микробиоты (Costerton et al., 1995; Reid, 2002; Anadyn et al., 2006). У млекопитающих в первые дни после рождения основным пребиотическим субстратом является лактулоза, входящая в состав молока. Во время перехода на смешанное питание в качестве субстрата используются структурные элементы растительных тканей и различные полисахариды (инулин, пектины и др.), способствующие росту нормальной микробиоты (Гинцбург и др., 2003). Для разных видов животных предложен пробиотический препарат «Зоонорм», состоящий из лиофилизированных живых бактерий *Bifidibacterium bifidum* в виде микроколоний, сорбированных на частицах лактулозы и активированного угля (Лянная и др., 1986; Ткачева, Тищенко, 2011).

Научное обоснование создания пробиотических препаратов может быть основано при анализе взаимоотношений макро- и микроорганизма. В настоящее время кишечную микробиоту представляют, как самостоятельный «орган», покрывающий стенку кишечника в виде биопленки (Верховцева, Осипов 2004; Романова и др., 2006; Ноздрин и др., 2009). Биопленка, сложившаяся в ходе развития организма, является прочной системой, которая препятствует проникновению чужеродных штаммов. Сложившийся у биопленки кишечника иммунитет не позволяет в полной мере корректировать дисбактериозы с помощью бифидо-, лакто- и энтеробактерий, так как промышленные штаммы

микроорганизмов из-за биологической несовместимости не способны войти в биопленку компонентом, а только пополняют пул транзиторных бактерий. Тем не менее, применение пробиотических препаратов целесообразно (Collins, Gibson, 1999; Cummings et al., 2001). В содержимом кишечника присутствуют различные симбионты и паразиты (простейшие, транзиторные бактерии, гельминты), роль которых нельзя недооценивать при нормальной жизнедеятельности организма (Корочкин, 1996). Пробиотические штаммы, введенные с препаратами, выделяют биологически активные метаболиты, антибиотики, сигнальные вещества и бактериоцины, тем самым, вступая во взаимодействие с кишечной микрофлорой и оказывая воздействие на функционирование различных физиологических систем организма-хозяина (Смирнов и др., 1982; Наумкин, 1991; Данилевская и др., 2002; Грязнева, 2005).

В настоящее время животноводство, птицеводство и рыбоводство основывается на использовании различных биологически активных стимуляторов обмена веществ, пищеварения и иммунитета животных в качестве основных компонентов комбикормов. Пробиотические, пребиотические, ферментные, комбинированные ферментно-пробиотические и комплексные пробиотические препараты, обогащенные фитоконпонентами необходимы для повышения перевариваемости и усваиваемости кормов, а также стимуляции роста и развития животных (Ющук, Бродов, 2001; Марков, 2005; Тихонович и др., 2005; Правдин и др., 2009).

Пробиотики – препараты, которые оказывают положительное влияние на организм хозяина и способствуют восстановлению пищеварения, повышают уровень вакцинации (Кощаев, 2006). Их применение значительно сокращает расходы на лечение заболеваний, а также повышает продуктивность пробиотиков и улучшает качество продукции (Юхименко и др., 2000; Walker, Buckley, 2006). Использование пробиотиков затрагивает широкий круг проблем, связанных с коррекцией кишечного биоценоза, иммунной, гормональной и ферментной систем сельскохозяйственных животных, птиц и рыб. Помимо этого, использование пробиотиков имеет актуальное значение не только для животноводства, но и для

здравоохранения, снижая риск заболеваемости людей и повышая экологическую безопасность сельскохозяйственной продукции.

Процесс изучения пробиотических препаратов не стоит на месте и находится в постоянном развитии (Бондаренко, 2007). Изучение пробиотиков берет свое начало от знаменитого русского ученого и Лауреата Нобелевской премии Ильи Мечникова, который предположил о том, что бактерии молочной кислоты улучшают состояние здоровья. Сам термин «пробиотики» был предложен в 1977 году Ричардом и Паркером для обозначения микроорганизмов и продуктов их ферментации, обладающих антагонистической активностью в отношении к патогенной микрофлоре (Muriana, Klaenhammer, 1991). Неинфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта молоди сельскохозяйственных животных, птиц и рыб широко распространены, развиваются с первых часов жизни, сопровождаются тяжелыми токсическими явлениями и характеризуются высокими показателями смертности, нанося значительный экономический ущерб (Kalemder, 1968). В сельском хозяйстве желудочно-кишечные заболевания занимают второе место после вирусных заболеваний и являются основной причиной гибели животных. При совмещении проблем желудочно-кишечных заболеваний и нарушением нормального соотношения между условно-патогенной и нормальной микрофлорой, возникает инфекционная патология, которая требует незамедлительного применения антибиотиков, но должного эффекта при антибактериальной терапии не наступает (Mancinelli, Shulls, 1978). Антибактериальная терапия, напротив, усиливает антропогенную и техногенную нагрузку на среду обитания, что выражается в усилении изменчивости циркулирующих в хозяйстве бактерий и вирусов, в развитии у них множественной лекарственной резистентности и усилении факторов патогенности у некоторых микроорганизмов кишечника. Вместе с этой проблемой возросла угроза попадания остаточного количества лекарственных веществ в пищу человека (Марков, Нестерова, 1987; Панин и др., 1996).

Проблема лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний животных, возбудителями которых являются условно-патогенные кишечные

микроорганизмы имеет социально-экономическое значение. Например, в США экономические убытки от сальмонеллеза составляют 2 млрд долларов, в Канаде - 300 млн долларов (Tewari, Chanal, 1977; Roife, Dallas, 1995). Последние 15 лет в странах СНГ заболеваемость людей и животных сальмонеллезом возросла в 6 раз, при этом этиологическое значение *S. enteridis* в заболевании людей возросло на 30 %, а у животных и птицы – на 74 %, при этом индикация возбудителя в продуктах питания увеличилась на 50 % (Кислюк и др., 2004). Поэтому наиболее востребованными считаются пробиотики, которые в отличие от антибиотиков направлены не на уничтожение части популяции кишечных микроорганизмов, а на заселение кишечника конкурентоспособными штаммами бактерий-пробионтов, осуществляющих неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из состава кишечного микробиоценоза (Naumski, 1973).

Развитие рыбоводства на интенсивной основе требует решения технических проблем, а также вопросов кормления и использования полноценных и сбалансированных кормов для всех видов разводимых животных. Одной из важнейших задач является создание и применение в практике кормовых смесей, которые бы максимально усваивались организмом для обеспечения его жизненных функций и обладали профилактическими свойствами. Пробиотики – эффективные элементы технологии производства безопасной продукции животноводства, птицеводства и рыбоводства (Коршунов и др., 2000).

Ведущими специалистами пробиотики кормового назначения рассматриваются как «...часть рационального потенциала животных, поддержания их здоровья и получения продукции высокого качества, безопасной не только в бактериальном, но и в химическом отношении» (Павлов и др., 2011).

Современная промышленность выпускает достаточное количество пробиотиков, представляющих культуру живых организмов. Наиболее распространенным является препарат «ВЕТОМ - 1.1», являющийся продуктом генной инженерии (Ноздрин и др., 1997). Применение препарата в профилактических целях повышает прирост живой массы у животных и снижает



затраты кормов на единицу продукции, а также повышает сохранность молодняка. Препарат не вызывает побочных действий в организме, не обладает канцерогенным, токсическим, мутагенным и аллергическим действием. Препарат удачно сочетается со всеми прививками животных и усиливает их эффективность при вирусных и бактериальных болезнях с симптомокомплексом диареи (Тараканов, 2000). В его состав входит кукурузный экстракт, сахара, картофельный крахмал и высушенная биомасса бактерии *Bacillus subtilis* (рекомбинантного штамма ВКПМ 7092, продуцирующего интерферон альфа-2-лейкоцитарный человеческий). Ветом 1.1 нормализует биоценоз кишечника, кислотность среды, всасывание и метаболизм железа, кальция, жиров, белков, углеводов, триглицеридов, аминокислот, сахаров, дипептидов, солей желчных кислот, стимулирует клеточные и гуморальные факторы иммунитета, повышает устойчивость животных и птицы к инфицированию вирусными и бактериальными агентами (Ноздрин, Зеленков, 1992).

Препарат «Бифином» содержит бифидобактерии и применяется в профилактических целях. Колонизация бифидобактериями кишечника цыплят приводит к активизации фагоцитоза и увеличению бактерицидной емкости крови. Применение препарата позволяет повысить сохранность молодняка кур до 98,5 %. Культуры бифидобактерий после пассажа через кишечник цыплят характеризуются стабильностью культуральных, морфологических, ферментативных, кислотообразующих свойств и резистентностью к фармазину, тилану, байтрилу (Бовкун, Нигманов, 1998).

Положительное влияние на переваривание клетчатки в рационе сельскохозяйственных животных, птиц, рыб и повышение сохранности молодняка оказывает препарат «Целлобактерин». В связи с возможностью использования компонентов с высоким содержанием клетчатки (подсолнечниковый и рапсовый шроты) имеет низкую стоимость. Превосходит по данному показателю в 2-3 раза существующие отечественные и импортные ферментные препараты (энерджекс, авизим). Препарат удобен с точки зрения дозировок, так как приспособлен к существующей комбикормовой промышленности. Он не только уменьшает

стоимость существующих рационов, но и решает проблему утилизации рапсового шрота в связи расширением посевов рапса для производства биодизельного топлива. Для препарата «Целлобактерин-Т» характерна высокая термоустойчивость, позволяющая включать его в корма, проходящие термическую обработку (экспандирование и гранулирование). Препарат применяется в птицеводстве, свиноводстве, скотоводстве, включается в корма для лошадей. Зарегистрирован в Российской Федерации, Белоруссии, Украине и Казахстане.

Лизировать штаммы аминолитических стрептококков животных позволяет препарат «Стрептофагин», предназначенный для скармливания высокопродуктивным лактирующим коровам, содержащимся на концентратных рационах в качестве средства регуляции метаболических процессов в рубце. Препарат позволяет повысить жирность молока на 0,2 – 0,3 % и снизить затраты на производство одного килограмма молока на 15 % (Тараканов, Николичева, 2000).

«Имагро» – комбинация пробиотиков, пребиотиков и органических кислот, способствующая успешному подавлению патогенных микроорганизмов и поддержанию здоровой микрофлоры желудочно-кишечного тракта, что обеспечивает высокую сопротивляемость организма к инфекциям.

Применение данного препарата является альтернативой кормовым антибиотикам и дает возможность перейти с них на новые, наиболее эффективные комбинации органических компонентов, совершенно безвредных как для организма человека, так и животных. «Имагро» поддерживает здоровую микрофлору молодого растущего организма, позволяет оптимально функционировать иммунной системе, повышая тем самым сопротивляемость организма к инфекционным и неинфекционным заболеваниям.

Эффективным средством для коррекции дисбактериозов у телят с симптомокомплексом диареи является пробиотик «РАС». Препарат получен методом генетических рекомбинаций путем селекции на градиентных пластинках из исходного штамма *Bacillus subtilis* 534. Преимущество препарата заключается в

устойчивости к антибиотикам, что позволяет применять его совместно с противомикробной терапией (Бессарабов и др., 1996; Жирков, Братухин, 1999).

Наиболее эффективными являются пробиотики, полученные из сапрофитной микрофлоры, в частности, сенной палочки (*Bacillus subtilis*) (Pandey, Aronson, 1979; Vasanta, Freese, 1979). Они проявляют антагонистическую активность в отношении большинства видов патогенных микроорганизмов, а также значительно повышают неспецифическую резистентность организма животного (Jonescu, 1966; Grey, 1973; Kaneko, Matsushima, 1973) . В отечественном рыбоводстве одним из первых пробиотиков стал ветеринарный лечебно - профилактический препарат на основе живых бактерий *Bacillus subtilis* штамма 2335 «Субалин» (Суб-Про). Он обладает антагонистическим действием в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, высокой ферментативной активностью, позволяющей стимулировать и регулировать пищеварение антитоксическим и противоаллергенным действиями (Смирнов и др., 2000; Юхименко и др., 2001). Данный препарат с 1997 года успешно применяется в осетровых, лососевых, форелевых и карповых рыбоводных хозяйствах для борьбы с бактериальными болезнями рыб (Борисова и др., 2000; Юхименко и др., 2000).

Исследования, проведенные в рыбоводных хозяйствах различного типа, показали, что в сложной и напряженной эпизоотической обстановке, применение «Субалина» дает положительный результат (Ткачева, 2011). У рыб наблюдается заживление язв, нормализуется слизиобразование на поверхности тела, а также улучшается состояние жаберного аппарата, нормализуется работа кишечника и его ферментативная активность, восстанавливается естественный баланс между нормальной и патогенной микрофлорой. Из внутренних органов рыб происходит элиминация контаминантных микроорганизмов. После приема препарата выделяются биологически активные вещества, начинают функционировать системы микробных клеток, и оказывают как прямое действие на патогенные и условно - патогенные микроорганизмы, так и опосредствованное - путем активации специфических и неспецифических систем защиты макроорганизма. В

этот же период бактериальные клетки пробиотика, могут рассматриваться как биокатализатор многих жизненно важных процессов в пищеварительном тракте, активно продуцирующего ферменты, аминокислоты, антибиотические вещества и другие физиологически активные субстраты, дополняющие лечебно-профилактическое действие (Рисунок 1). Именно поэтому при использовании «Субалина» отмечено иммуностимулирующее действие препарата на рыбу. В результате применения данного пробиотика у рыб повышается бактерицидная активность сыворотки крови и уровень агглютинирующих антител к аэромонадным штаммам (Гаврилин и др., 2002; Юхименко и др., 2002).



Рисунок 1 – Механизм лечебно-профилактического действия *Bacillus subtilis* (Смирнов и др., 1993)

Основными положительными качествами данного препарата являются снижение кормовых затрат, улучшение физиологического состояния и обеспечение высокой выживаемости и активного продукционного роста рыб. Преимущество препарата заключается в безвредности даже в концентрациях, значительно превышающих рекомендуемые для применения, а также в способности существенно повышать неспецифическую резистентность макроорганизма.

Субалин успешно применяется в крупных рыбоводных прудовых хозяйствах Московской и Ростовской областей, в крупных садковых форелевых хозяйствах Карелии, в осетровых хозяйствах Московской, Волгоградской и Тверской областей, где применение антибактериальных препаратов значительно снизилось, что повышает качество товарной рыбной продукции.

В 1997 году Бисеровский комбинат одним из первых экспериментально применил препарат «Субалин» при выращивании карпа в прудовых системах в условиях уплотненных посадок. Эпизоотическое благополучие хозяйства обусловлено строгим контролем за средой обитания рыб и применением профилактических курсов кормления кормами с субалином, что делает их продукцию конкурентоспособной, экологически безопасной для населения и повышает ее стоимость на рынке.

В настоящее время препарат «Субалин» получил широкое распространение и выпускается под новым коммерческим названием «СУБ-ПРО». Данный препарат зарегистрирован на территории РФ, серийный выпуск аттестован и сертифицирован в системе Госстандарта России. Согласно решения ФГУ Межведомственной Ихтиологической комиссии от 01.02.07г. препарат «СУБ-ПРО» (субалин) рекомендован для широкого применения в рыбоводстве. Многолетний опыт работы показывает, что правильное применение пробиотического препарата «СУБ-ПРО» обеспечивает в товарном рыбоводстве высокий экономический эффект, а при выращивании – выпуск полноценной жизнестойкой рыбоводной продукции в естественные водоемы.

Аналогом «Субалина», получившим широкое распространение в рыбоводстве, является препарат «Субтилис», действующим началом которого являются штаммы *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 и *Bacillus licheniformis* ВКМ В-2252 с ярко выраженной антагонистической активностью к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов кишечника рыб. Штаммы пробиотика выделены из почвы и рубца крупного рогатого скота без каких-либо генетических модификаций.

Основной особенностью пробиотика «Субтилис» является сочетание анаэробной *Bacillus licheniformis* и аэробной *Bacillus subtilis* форм бактерий. *Bacillus subtilis* являются источником пищеварительных ферментов, а *B. licheniformis* проявляют выраженное антагонистическое действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (Кулаков, 2003).

Впервые целесообразность и эффективность применения пробиотического препарата «Субтилис» была научно обоснована в ходе исследований специалистами инновационного центра «Биоаквапарк – научно-технический центр аквакультуры» Астраханского государственного технического университета на основании оценки рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических показателей. Введение с состав продукционного комбикорма сухой формы пробиотика оказывает положительный эффект на заживление кожных покровов осетровых рыб, увеличивая ее скорость, а также приводит к увеличению выживаемости травмированных рыб. Препарат способствует выработке жизненно важных пищеварительных ферментов и витаминов непосредственно в кишечнике, оказывая тем самым выраженный ростостимулирующий эффект. В результате выращивания молоди русского осетра было установлено преимущество введения пробиотика в состав комбикорма ОТ-7, заключающееся в наиболее высоком значении среднесуточного прироста, выживаемости и наименьшими кормовыми затратами (Пономарев, Пономарева, 2003). Положительный эффект применения «Субтилис» можно объяснить тем, что в состав пробиотического препарата входят ферменты, способствующие быстрому расщеплению, а также лучшему усвоению пищи.

В настоящее время разработана современная технология получения пробиотиков в виде биопленки на твердом фитоносителе, предназначенная для коррекции кишечного биоценоза, повышения неспецифического иммунитета молодняка, стимуляции откорма, молочной продуктивности и яйценоскости. На 2006 год в Российской Федерации было зарегистрировано более 80 наименований отечественных и импортных пробиотических препаратов (Павлов и др., 2011), которые различаются не только по стоимости и составу, но и по качеству, способам и дозам применения.

Эффективность пробиотиков во многом определяется технологией получения этих препаратов. Современные разработки пробиотических препаратов подразумевают: применение в определенных сочетаниях различных видов микроорганизмов; форму выпуска, позволяющую длительное хранение при обычной температуре; сохранение своих свойств при внесении их комбикорма и кормовые добавки. Проведенные исследования показали, что под действием желчи и желудочного сока пробиотики теряют около 90 % своей активности к моменту попадания в кишечник. Разрабатываются различные способы повышения выживаемости микроорганизмов за счет иммобилизации на пористых микроносителях и включения в состав препарата компонентов питательной среды. Но даже в случае научного обоснования пробиотических препаратов, на практике далеко не все из них оказываются эффективными (Ушакова и др., 2010).

Физиология и рацион сельскохозяйственных животных учитываются в рецептуре биологически активного пробиотического препарата «Ферм-КМ». Технология получения препарата заключается в проведении твердофазного сбраживания фитосубстрата, способствующего образованию биопленки пробиотика на твердом носителе, повышающем жизнеспособность бактерий и их активность в желудочно-кишечном тракте. Помимо этого, препарат позволяет сохранить образующиеся бактериальные метаболиты, во многом определяющие эффективность пробиотика. Применение лекарственных трав и плодов в виде порошка сохраняет биологически активные вещества фитобиотиков, вступающие в синергические отношения с пробиотиком на сброженном свекловичном жоме

(Рисунок 2). Предложенная фитокомпозиция - свекловичный жом (основной фитосубстрат), расторопша и эхинацея - соответствует мировой тенденции разработки нового поколения биологически активных препаратов для животных, птиц и рыб.

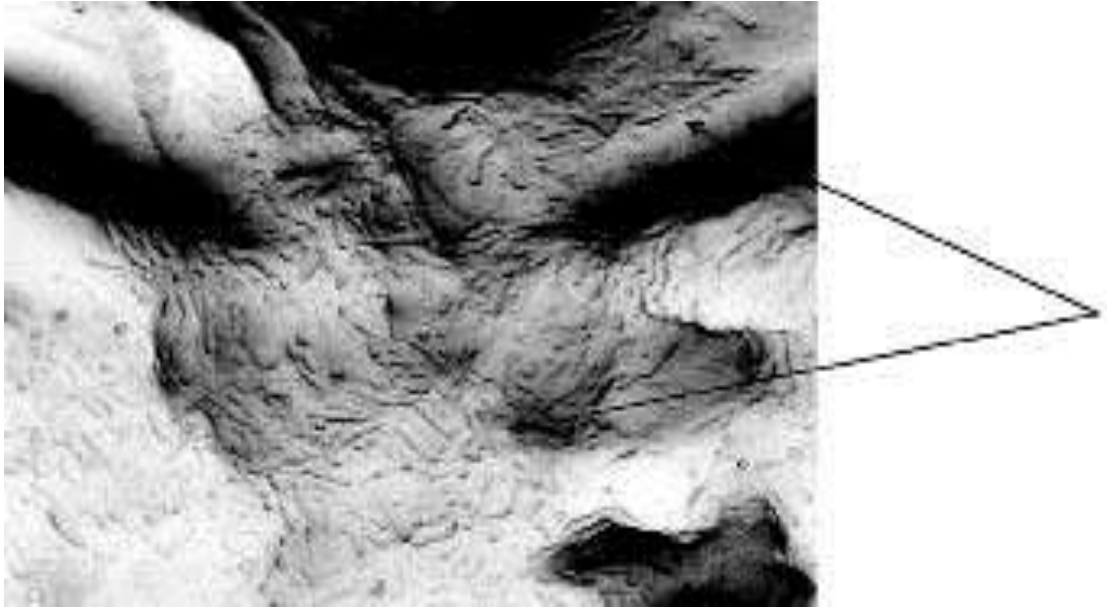


Рисунок 2 – Сброженный свекловичный жом с биопленкой бактерий *B. subtilis* B-8130. Стрелками отмечены вегетативные клетки бациллы на фитоносителе (Ушакова и др., 2009)

Препарат «Ферм-КМ» представлен живыми клетками трех штаммов *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, а также комплексом молочнокислых бактерий. Самым оптимальным является сочетание депонированных в ВКПМ штаммов: *Bacillus subtilis* 188, *Bacillus subtilis* B-8130, *Bacillus licheniformis* MC-12, *Bacillus subtilis* 44-р, демонстрирующих пробиотический эффект в комплексе с эндоглюканазной, протеолитической и амилазной активностями ([www.ntcbio.ru](http://www.ntcbio.ru)). Так как бактерии пробиотических препаратов находятся в виде биопленки на фитоносителе, они отличаются повышенной жизнеспособностью и устойчивостью к неблагоприятным условиям окружающей среды. Препарат содержит в себе набор важнейших ферментов: эндоглюканаза, целлюлаза, амилаза, комплекс протеаз, липаза, органические кислоты, биологически активные вещества, витамины и аминокислоты, иммуноактивные пептиды (продукты метаболизма пробиотиков) (Ушакова и др., 2009).



Исходя из вышеотмеченного, биологическая эффективность пробиотических препаратов определяется на основе свойств используемых штаммов микроорганизмов, а также технологией их получения. Новое перспективное направление, используемое в технологии производства препарата «Ферм-КМ» – это получение кормовой биологически активной добавки, содержащей биопленку пробиотических бактерий на фитосубстрате, что позволяет микроорганизмам сохранять жизнеспособность при сушке и гранулировании комбикормов, а также при комбинировании с некоторыми кормовыми антибиотиками. Исследования показали, что в отличие от чистых культур бактерий, в биопленке физиологические процессы происходят иначе, в том числе продукция метаболитов и биологически активных веществ (Богатырев, 2003). Важную роль играют сигнальные вещества, обеспечивающие взаимодействие клеток в биопленке. Возможно, эти вещества могут служить аналогами регуляторных молекул животного организма. Также можно предположить, что соматостатинподобный пептид, обнаруженный при развитии некоторых штаммов *Bacillus subtilis*, является фактором межклеточной коммуникации. Установлено, что грамположительные бактерии взаимодействуют друг с другом при помощи олигопептидных сигнальных молекул (Гинцбург и др., 2003). Согласно симбиогенетической теории происхождения эукариот многие сигнальные молекулы, общие для бактерий и эукариот, у первых обеспечивали взаимодействие клетки с другими членами прокариотного сообщества, а у вторых – согласованную работу клеток многоклеточного организма (Кравцова и др., 2004). Поэтому препараты, основанные на твердофазных процессах и получении биопленки пробиотиков, отличаются от препаратов-аналогов наличием сигнальных веществ бактериального происхождения, влияющих на гомеостаз многоклеточных организмов-хозяев.

Препарат был разработан специалистами ООО «НТЦ БИО» совместно с Институтом проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Трифорова и др., 2004). «Ферм-КМ» позволяет на 50-70 % снизить применение известных импортных ферментных препаратов и антибиотиков, используемых для лечения

заболеваний желудочно-кишечного тракта. Препарат имеет невысокую стоимость и полностью ориентирован на зерновую специфику отечественных комбикормов. «Ферм-КМ» обеспечивает высокоэффективное использование имеющихся кормов, увеличивает переработку корма, прирост живой массы, значительно улучшает переваривание животными, птицей и рыбами некрахмалистых полисахаридов из различных видов зерна, повышает резистентность организма к неблагоприятным факторам среды ([www.rusmedserv.com](http://www.rusmedserv.com); Похиленко, Перельгин, 2007). Испытания препарата, проведенные в ПФ «Приосколье» показали, что применение препарата «Ферм-КМ» способствует повышению сохранности цыплят-бройлеров на 0,8 %, увеличению суточного прироста живой массы тела на 2,6 %, увеличению конверсии корма на 3,2 %. В птицекомплексе ЗАО «Реал-Инвест» было продемонстрировано влияние препарата «Ферм-КМ» на яйценоскость. Один из главных критериев улучшения производственных показателей – увеличение общего количества и качества товарного яйца. Патологоанатомическое вскрытие установило, что на 14 день после приема препарата с кормом полностью отсутствовали признаки геморрагического и катарального воспаления тонкого отдела кишечника, в 3 раза сократилось выпадение яйцеводов кур, они были чисто-белого цвета, что свидетельствует о положительном действии препарата «Ферм-КМ» на продуктивность птицы.

Научно-исследовательские опыты, проведенные при ООО «Вёрдазернопродукт» (Рязанская область) и ГНУ ВИЖа на дорастиваемых поросятах-аналогах, позволили выявить перспективность применения «Ферм-КМ» в практике кормления свиней. Для определения приростов живой массы (абсолютного и среднесуточного) каждую декаду проводили индивидуальное взвешивание. Материалы, полученные за время эксперимента, подверглись статистической обработке с использованием t-критерия Стьюдента. Несмотря на то, что при включении в состав комбикорма ферментно-пробиотического препарата «Ферм-КМ» интенсивность роста поросят, выращиваемых с 35- до 75-дневного возраста, увеличилась, происходило снижение затрат кормов и энергии на единицу прироста (на 4,9 % по сравнению с контролем). Добавление в

комбикорма препарата «Ферм-КМ» привело к увеличению продуктивности поросят за счет улучшения конверсии питательных веществ корма в прирост живой массы.

Пробиотические препараты нового поколения в виде биопленки на твердом фитосубстрате отличаются высокой биологической активностью и перспективны для применения в рационах животных. Затраты, связанные с приобретением препаратов и их использованием, окупаются дополнительным приростом живой массы, лучшей сохранностью поголовья, лучшей конверсией корма, получением экологически чистой продукции животноводства.

## **1.2 Механизм действия пробиотических препаратов в организме животных и рыб**

Пищеварительный тракт животных представляет собой микробиоценоз, обеспечивающий защиту и развитие организма. С первых минут жизни в желудочно-кишечный тракт поступает значительное количество различных групп микроорганизмов, но не все они способны прижиться в кишечнике. В процессе эволюционного развития сформировался определенный микробиоценоз кишечника, который обусловлен постоянной нормальной или резидентной микрофлорой (Бовкун и др., 1998).

Кишечник животных заселяется антигенно-чужеродной микрофлорой, однако иммунная система кишечника поддерживает нормальный гомеостаз и фактически толерантна к большинству кишечных микроорганизмов. Толерантность выражается в преимуществах, свойственных постоянной кишечной микрофлоре, обеспечивающих организм хозяина некоторыми питательными веществами, аминокислотами, витаминами К и группы В (Wostman, 1996; Brown et al., 1996). По мнению С.А. Шевелевой (1999) нормофлора кишечника обеспечивает защитную функцию макроорганизма, колонизируя в желудочно-кишечный тракт и присутствуя в нем. А.Н. Панин и др. (1996) полагают, что основными представителями микрофлоры кишечника

являются молочнокислые бифидобактерии, которые расположены на поверхности оболочки слизистой, прилегают к мембранам энтероцитов или локализованы в непосредственной близости от поверхности эпителия, в слое муцина, покрывающего мембраны эпителиальных клеток. С учетом этого принципа микроорганизмы, ассоциированные со слизистой оболочкой, составляют мукозную микрофлору (М-флору), а локализующиеся в просвете – полостную (П-микрофлору) (Тимошко, 1990). В зависимости от внешних факторов и рациона кормления состав П- и М- микрофлоры пищеварительного тракта может существенно различаться по качественным и количественным показателям.

Постоянное присутствие резидентных микроорганизмов, адгезированных на стенке кишечника, предотвращает размножение патогенов, их внедрение в энтероциты и прохождение через кишечную стенку. Бактерии кишечника защищают организм хозяина от патогенных микроорганизмов и способствуют формированию передней линии слизистой защиты. Благодаря конкуренции за жизненно важные питательные вещества или за эпителиальные сайты прикрепления, кишечные бактерии предотвращают колонизацию кишечника патогенными микроорганизмами. При образовании антимикробных соединений, энергозависимых жирных и химически модифицированных желчных кислот, кишечные бактерии создают местную окружающую среду, неблагоприятную для развития патогенов. Резидентная кишечная микрофлора стимулирует восстановление иммунных клеток подслизистого слоя (*Lamina propria*), образующие второй слой защиты (Hung et al., 1981; Roife, 1996).

В организме животных отмечаются значительные отклонения в аутофлоре, вызванные такими явлениями, как нарушение условий содержания и кормления животных, постоянные стрессовые воздействия различной этиологии, способствующие отрицательными сдвигам микрофлоры. На фоне дефицита нормофлоры нарушаются нормальные соотношения между облигатными микроорганизмами кишечника, обуславливающие дисбаланс между нормо- и условно-патогенными микроорганизмами и дисбактериозы. Поэтому профилактические мероприятия включают в себя применение средств для

формирования нормобиоза и колонизационной резистентности, среди которых немаловажное значение имеют пробиотики. Анализ имеющихся литературных данных может свидетельствовать о многогранном воздействии пробиотиков на микробиоценоз пищеварительного тракта.

К наиболее важным аспектам взаимодействия пробиотических штаммов с микрофлорой кишечника и организмом животного можно отнести: образование антибактериальных веществ, конкуренция за питательные вещества и место адгезии, изменение микробного метаболизма (уменьшение или увеличение ферментативной активности), стимуляция иммунной системы (Тараканов, 2000).

Пробиотические препараты широко применяются для стимуляции неспецифического иммунитета, лечения и профилактики при инфекциях желудочно-кишечного тракта. Также они необходимы при расстройствах пищеварения (дисбактериоз, острый молочнокислый ацидоз и др.), возникающих из-за резкой смены состава рациона, нарушений режимов кормления, технологических стрессов (Платонов, 1985), восстановления микробиоценоза пищеварительного тракта после лечения антибиотиками и другими химиотерапевтическими препаратами (Смирнов и др., 1993; Тараканов, 1998), улучшения процессов пищеварения, ускорения адаптации животных к рационам с высокой энергетической ценностью и небелковым азотистым веществам, повышения эффективности использования корма и продуктивности животных (Тимошко, 1973).

Пробиотики обладают разносторонним фармакологическим действием. Положительный эффект пробиотиков заключается в их участии в процессах пищеварения и метаболизма организма-хозяина, биосинтезом, усвоением белка и ряда других биологически активных веществ, обеспечении резистентности макроорганизмов. Нормальное функционирование многих систем и органов животных в большей степени зависит от видового состава и межвидового соотношения микроорганизмов, заселяющих их с момента рождения.

Участие симбионтных микроорганизмов в белковом питании – одна из важных их функций. Микроорганизмы, усваивают поступающие питательные

вещества, размножаются, растут и увеличивают свою биомассу в результате сложных биохимических процессов, протекающих в желудочно-кишечном тракте хозяина. Отмирая, они перевариваются и усваиваются организмом, являясь таким образом источником белка. Благодаря своей ферментационной активности симбионтная микрофлора способна синтезировать многие биологически активные вещества (органические кислоты, липиды, спирты, витамины, в частности группы В, соединения тетрапирольной структуры). Попадая в кровеносные сосуды, большинство из них принимают активное участие в энергетическом и витаминном обменах, играя важную роль в жизнедеятельности организма.

Органические кислоты усиливают перистальтику и секрецию кишечника, способствуя перевариванию корма, повышая резорбцию железа и кальция. Полифосфаты бактерий выполняют функцию гексокиназ, принимая активное участие в переносе сахаров в клетку. Помимо этого, симбионты обладают способностью синтезировать метаболиты с выраженным антитоксическим действием (Ewans et al., 1988). Например, болгарская палочка благодаря специальному веществу нейтрализует энтеротоксин кишечной палочки, патогенной для свиней. Пробиотическая микрофлора также принимает активное участие и в инактивации избытка некоторых пищеварительных ферментов и микотоксинов, детоксикации отдельных экзогенных и эндогенных веществ. Другая и не менее важная функция симбионтных микроорганизмов – защита от патогенной микрофлоры, которая обеспечивается различными механизмами. Неспецифическая защита кишечника от патогенных вирусов и бактерий, обладающих генетически детерминированными инвазионными свойствами, осуществляется местной микрофлорой путем создания антагонистического барьера (колонизационная резистентность кишечника). При контакте со слизистой кишечника она покрывает его поверхность толстым слоем, защищая тем самым от проникновения патогенных микроорганизмов. Антибактериальная активность симбионтов заключается в способности продуцировать спирты, перекись водорода, молочную, уксусную и другие органические кислоты, синтезировать лизоцим и антибиотики широкого спектра действия (лактолин,

ацидофилин, низин, лактоцид и др.). За счет более высокого биологического потенциала, способности быстро размножаться и достигать М-концентрации, более короткой lag-фазы, окислительно-восстановительного потенциала среды или изменения рН они угнетают рост других видов бактерий (Петровская, Марко, 1976). Благодаря тому, что симбионтные серотипы кишечной палочки и серотипы патогенных микроорганизмов обладают перекрестными антигенными свойствами, макроорганизм, вырабатывающий иммуноглобулины по отношению к первым, приобретает механизм защиты и к патогенным серотипам, хотя и никогда не имел с ними контакта.

В 1976 году Куваева И.Б. предположила, что антагонизм кишечной палочки обеспечивается также продукцией бактериоцинов (колицинов). У *L. acidophilus* обнаружено несколько бактериоцинов, описано два бактериоцина: лактацин В и лактацин F (Barefoot, Klaenhammer, 1983). Лактацин В ингибировал бактерии видов *L. leuchmanii*, *L. bulgaricus*, *L. Helveticus*, *L. lactis*, а лактацин F подавлял *L. fermentum* и *Streptococcus faecalis*. Бактерицидное действие лактацина В возрастало прямо пропорционально его концентрации. Очищенный препарат, представленный в виде белка молекулярной массой 6000-6500 Да, имел аналогичную антагонистическую активность, что и «сырой» препарат. Лактацин F представляет собой пептид, состоящий примерно из 56 аминокислот (Muriana, Klaenhammer, 1991). Выявлено, что у *L. plantarum* плантарицин А обладает бактерицидными свойствами по отношению к грамположительным бактериям (*L. plantarum*, *L. pentosaceus* и *L. paramesenteroides*), устойчив к нагреванию (100°C – 25 минут) и активен в интервале рН от 4,5 до 6,5. Из штамма *L. plantarum* L 441 с широким спектром антагонистического действия выделили плантарицин С, представляющий собой пептид с молекулярной массой около 3500 Да.

Продукция бактериоцинов (лактоцин 27, гельветицин) выявлена также у *L. helveticus* (Upreti, Hindsdill, 1975). Бактериоцины, продуцируемые *L. brevis* В 37 и *L. casei* В 80, получили названия соответственно бревицин 37 и казеицин 80. Бревицин 37 проявлял антагонистическую активность в отношении большинства молочнокислых бактерий и *Nocardia corallina*, в то время как Казеицин 80

ингибировал лишь один штамм *L. casei* В 109. Помимо лактобацилл бактериоцины образуют грамотрицательные кишечные бактерии, стрептококки, энтерококки и ряд других систематических групп микроорганизмов. Среди бактерий рубца бактериоциногенно обнаружили у *Streptococcus bovis* и анаэробов рода *Butyrivibrio*. Бактериоциногенность в экосистеме пищеварительного тракта птицы и животных – одна из важнейших проблем, требующая пристального внимания исследователей.

В 1962 году впервые была выявлена противоопухолевая активность *L. bulgaricus* и *Bacillus subtilis*. Однако механизм продукции противоопухолевой активности молочнокислыми бактериями неясен. Предполагается, что антиопухолевая активность обусловлена гликопептидами. Варьирующие результаты противоопухолевой активности у молочнокислых бактерий, особенно *L. bulgaricus*, могут быть частично объяснены лабильностью активного начала (Тараканов, 2000).

Ряд проведенных экспериментов показал, что микробиоценоз кишечника способен изменять содержание холестерина в сыворотке крови. У безмикробных животных, выращенных на кормах обогащенных холестерином, в крови накапливается приблизительно в 2 раза больше холестерина, чем у животных с обычной микрофлорой. Последние экскретируют холестерин в фекалиях в больших количествах, чем безмикробные животные, это дает основание предполагать, что кишечная микрофлора препятствует его всасыванию из кишечника (Gilliland, 1990). Исследования, проведенные с применением чистых культур бифидобактерий, лактобацилл, молочнокислых эшерихий и стрептококков показали, что они способны ассимилировать холестерин. Установлено, что в анаэробных условиях и в присутствии желчи *L. acidophilus* активно удаляла холестерин из лабораторных сред.

Симбионты оказывают пагубное влияние на патогенные микроорганизмы за счет активации ферментов слюны и поджелудочной железы, а также секреции желез желудка и кишечника, деконъюгации солей желчных кислот. Симбионтная микрофлора повышает общую неспецифическую резистентность организма



хозяина, активно участвуя в обменных процессах и поставляя ему необходимые пластические вещества. Антагонистическая активность в наибольшей степени выражена у ацидофильных бактерий, бифидобактерий, молочнокислого стрептококка и др. (Антипов, 1981).

Пробиотики находят широкое применение в профилактике дисбактериозов молоди сельскохозяйственных животных, птиц и рыб. Рассмотрение дисбактериозов, как механических процессов избыточного развития условно-патогенной микрофлоры под воздействием внешних факторов без учета реакций организма-хозяина ошибочно (Wilkinson, Davies, 1974). Главной предпосылкой развития дисбактериозов кишечника является состояние иммунодефицита, обусловленное сочетанием эффекта эволюционных особенностей развития иммунного ответа в раннем постнатальном периоде и воздействия внешних иммунодепрессивных факторов (технологический стресс, лекарственная и антибиотиковая терапия, чрезмерная нагрузка антигенами при плановых вакцинациях, нарушение молозивного иммунитета, дефицит белков и витаминов и др.). Последствия иммунологической депрессии разнообразны, но в первую очередь они вызывают сдвиг регуляторной функции макроорганизма, которая обеспечивает баланс между нормальной и условно-патогенной микрофлорой кишечника.

Одним из условий реализации эффективного иммунного ответа в отношении различных патогенных микроорганизмов является поступление в организм достаточного количества жизненно важных витаминов и минералов. Включение в состав пробиотических препаратов витаминов (А, Е, С и др.) и минералов (селен, железо, цинк и др.) обеспечивает необходимый фундамент для адекватной противoinфекционной защиты, в том числе для реализации иммунотропных эффектов симбионтных бактерий (Young, Sell, 1982; Veld et al., 1998). С другой стороны, нормализация качественных и количественных показателей микробиоты увеличивает биологическую доступность витаминов и минералов. Помимо правильного подбора необходимых компонентов для пробиотически-мультивитаминного препарата необходимо обеспечить защиту

симбионтных микроорганизмов для их доставки в живом виде в необходимые отделы желудочно-кишечного тракта. Вопрос жизнеспособности пробиотических штаммов затрагивает не только аспекты их защиты при прохождении желудка и верхних отделов тонкой кишки, но и аспекты, характеризующие особенности производства и хранения готовых лекарственных форм (Калюжин, 2012).

Недооценка специфики иммуногенеза дисбактериозов способна привести к тому, что пробиотики, содержащие штаммы бифидобактерий или лактобацилл с высокой колонизационной активностью, могут потерять свою адгезивную связь с рецепторами клеток кишечника, и препараты окажутся менее эффективными при профилактике дисбактериозов.

Таким образом, пробиотики – это живые микроорганизмы, которые при рациональном использовании оказывают положительный эффект на состояние здоровья организма-хозяина. В последнее десятилетие множество исследований посвящено улучшению микроэкологии кишечника сельскохозяйственных животных, птиц и рыб. Однако во время изучения научной литературы необходимо обращать внимание на тот факт, что использование пробиотических препаратов не всегда сопровождается положительным эффектом. Многие проведенные исследования дали противоречивые результаты, что связано с недостаточной изученностью этих препаратов, неудачным подбором входящих в их состав штаммов бактерий, технологическими проблемами при их производстве и применении. Поэтому изучение фармакологических свойств пробиотиков и их влияния на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта является актуальным и представляет огромный интерес, как в научном, так и в практическом отношениях.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные работы проводились в период 2012-2017 гг. в Инновационном центре «Биоаквапарк – научно-технический центр аквакультуры» (г. Астрахань), Сергиевском осетровом рыбноводном заводе Северо-Каспийского филиала ФГБУ «Главрыбвод» (Астраханская область), Волгоградском осетровом рыбноводном заводе ФГБУ «Нижеволжрыбвод» (Волгоградская область), садковом комплексе ГКФХ Полякова С.Ю. (Астраханская область). Схема исследований представлена на рисунке 3.

В качестве объектов исследований использовали производителей стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), молодь русского осетра (*Acipenser queldenstadtii* Brandt et Ratzeburg, 1833) и белуги (*Huso huso* Linnaeus, 1758), сеголеток русского осетра (*Acipenser queldenstadtii* Brandt et Ratzeburg, 1833), двухлеток русского осетра (*Acipenser queldenstadtii* Brandt et Ratzeburg, 1833 x *Acipenser baerii* Brandt, 1869).

Для проведения исследований использовались два вида пробиотических препаратов. Первый образец – препарат «Ферм-КМ» представляет собой комплекс бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum* № 791 БАГ, *Bifidobacterium longum* ДВА-13, *Bifidobacterium bifidum* 8-3, а также лактобактерии штаммов *Lactobacillus casei* Сб, *Lactobacillus acidophilus* КЗШ24, *Lactobacillus plantarum* П-75. В состав второго образца - синбиотической добавки «ПроСтор» входят иммобилизованные на фитосорбенте живые клетки бациллы и метаболиты: штаммы *Bacillus subtilis* (три штамма), *Bacillus licheniformis*, комплекс молочнокислых бактерий и продукты их метаболизма. Дополнительно препарат содержит комплекс лекарственных трав (эхинацея пурпурная и расторопша пятнистая).

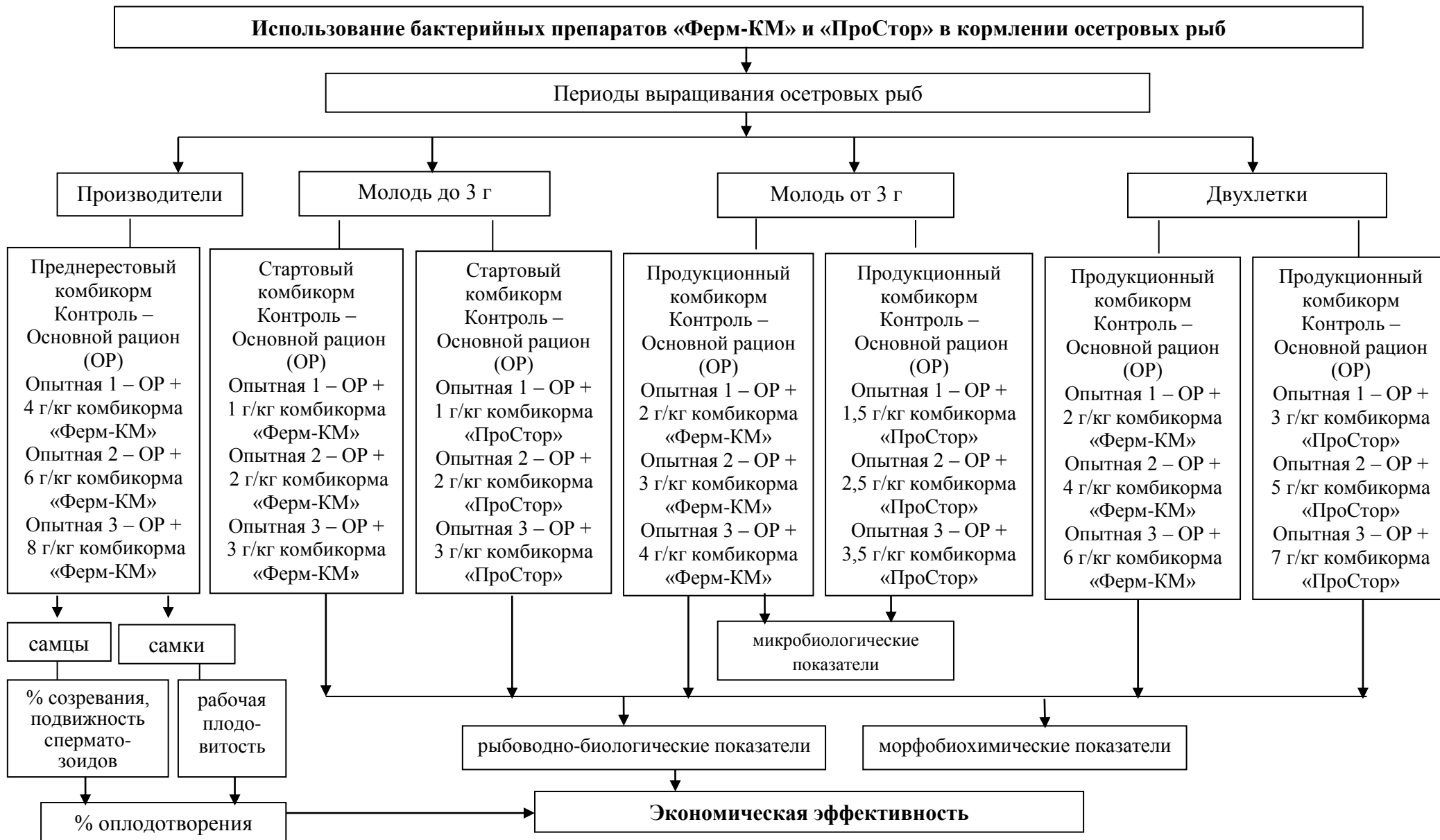


Рисунок 3 – Схема исследований

Оценка эффективности разработанного преднерестового комбикорма проводилась в производственных условиях путем осуществления экспериментального кормления производителей стерляди. Кормление разработанным комбикормом начинали за месяц до окончания преднерестового выдерживания. Суточную норму кормления определяли в зависимости от массы тела рыб и температуры воды, в соответствии общепринятой технологией выращивания (Пономарев и др., 2013). Преднерестовый комбикорм изготавливали способом влажного прессования (Пономарев и др., 2002). До начала гранулирования все компоненты, входящие в состав комбикорма, смальывали, просеивали и готовили смесь из сухих компонентов. Пробиотический препарат «Ферм-КМ», аскорбиновую кислоту и  $\alpha$ -токоферола ацетат вносили в полученную смесь, тщательно перемешивали и добавляли 30 % воды. Затем из влажной кормовой смеси формировали гранулы, сушили и охлаждали. Норма ввода пробиотика «Ферм-КМ» составила 6 г/кг комбикорма. Содержание производителей осуществляли в бассейнах площадью 10 м<sup>2</sup>. Плотность посадки производителей составила 25 экземпляров на бассейн. Температуру воды поддерживали в пределах от 11° до 20 °С, содержание кислорода – 6,0-8,0 мг/л, рН – 6,5-7,0.

Исследования по определению эффективности использования пробиотиков нового поколения в составе стартовых комбикормов для молоди осетровых рыб проводили в лабораторных условиях в течение 30 суток. В качестве объектов исследований использовали молодь русского осетра массой 1 г. Рыбы были разделены на 3 группы: в первой опытной группе кормление молоди русского осетра осуществляли комбикормом ОСТ-6 с добавлением синбиотической добавки «ПроСтор», во второй – с добавлением пробиотика «Ферм-КМ», в качестве контроля использовали комбикорм ОСТ-6 (Таблица 2). Выращивание осуществлялось в стеклопластиковых бассейнах с закругленными углами объемом 1 м<sup>3</sup> с постоянной проточностью. Плотность посадки молоди устанавливали в зависимости от массы выращиваемой рыбы (Пономарев и др.,

2013). Температура воды колебалась от 19,6°C до 23,2 °C. Содержание кислорода не опускалось ниже 5,5 мг/л.

Таблица 2 – Состав стартового комбикорма ОСТ-6 для осетровых рыб, % (Пономарев, Иванов, 2009)

Компонент	Содержание
Мука рыбная	62,0
Гидролизат рыбный	10,0
Сухой обрат	5,0
Дрожжи кормовые	5,0
Витазар	10,0
Мука пшеничная	2,0
Жир рыбий	5,0
Витаминно-минеральный премикс	1,0

Опытные корма изготавливали в лабораторных условиях методом влажного прессования с использованием кормовых компонентов отечественного производства. Готовые сухие комбикорма измельчали в дробилке и рассеивали в соответствии с необходимым размером гранул, который устанавливался в зависимости от массы выращиваемой рыбы (Таблица 3).

Таблица 3 – Размер крупки стартового комбикорма для молоди осетровых рыб (Пономарев и др., 2013)

Масса рыб, мг	Размер крупки, мм
До 60	0,05 - 0,1
60-300	0,1 - 0,4
300-500	0,4 - 0,6
500-3000	0,6 - 2,5

Кормление молоди осетровых рыб осуществлялось в светлое время суток. Суточная норма кормления определялась в зависимости от массы тела рыб и температуры воды, в соответствии общепринятой технологией выращивания (Пономарев и др., 2013) (Таблица 4).

Таблица 4 – Суточные нормы кормления осетровых рыб стартовыми комбикормами, % массы тела (Пономарев, Иванов, 2009)

Температура воды, °С	Масса рыб, г				
	до 0,1	0,1-0,3	0,3-0,5	0,5-1,5	1,5-3,0
12	14	12	11	8	6
14	16	14	13	9	7
16	18	16	15	11	8
18	21	19	16	12	10
20	23	21	18	14	12
22	25	23	20	16	13
24	27	25	22	17	14
26	30	27	24	17	14
28	27	24	21	15	12

Сухую форму пробиотиков вводили в состав комбикормов в процессе изготовления. Норма ввода пробиотиков нового поколения в стартовые комбикорма для осетровых рыб является 2 г/кг комбикорма.

Во второй серии экспериментальных работ проведена оценка эффективности пробиотического препарата «Ферм-КМ» и синбиотической добавки «ПроСтор» в продукционных комбикормах для молоди осетровых рыб. Для выращивания молоди использовали прямоугольные бассейны, изготовленные из армированного стекловолокна объемом 1 м<sup>3</sup> (Рисунок 4). Плотность посадки молоди белуги и русского осетра устанавливали в зависимости от массы выращиваемой рыбы (Пономарев и др., 2013).

Температура в бассейнах колебалась в пределах 22,5-26,0 °С, содержание кислорода составляло 7,0 мг/л. Длительность экспериментальных работ составила 30 суток. Молодь осетровых рыб была разделена на две группы: контроль и опыт. Контрольная группа потребляла комбикорм ОТ-7 (Таблица 5), опытная – комбикорм ОТ-7 с добавлением пробиотических препаратов. Норма ввода пробиотика «Ферм-КМ» в комбикорм составила 3,0 кг/т комбикорма, синбиотической добавки «ПроСтор» – 2,5 г/ кг комбикорма.



Рисунок 4 – Бассейны для выращивания молоди белуги и русского осетра на Сергиевском осетровом рыбноводном заводе

Таблица 5 – Состав опытных рецептов производственного комбикорма ОТ-7 для осетровых (Пономарев и др., 2013)

Компонент	Содержание
Мука рыбная	39,0
Витазар	20,0
Мука пшеничная	3,0
Соевый шрот	10,0
Дрожжи кормовые	5,0
Кукурузный глютен	15,0
Рыбий жир	5,0
Подсолнечное масло	2,0
Витаминно-минеральный премикс	1,0



Исследования по определению эффективности использования пробиотиков нового поколения в составе продукционных комбикормов для выращивания осетровых рыб до товарной массы проводили в производственных условиях в течение 154 суток. В качестве объекта исследований выступили двухлетки русского осетра. Выращиваемые рыбы разделены на опытные варианты и контроль. В первом опытном варианте двухлеток кормили продукционным комбикормом ОТ-7 с разной нормой ввода пробиотического препарата «Ферм-КМ», во втором – с разной нормой ввода синбиотической добавки «ПроСтор», в контрольном варианте использовали комбикорм рецептуры ОТ-7.

Выращивание осетровых рыб осуществлялось в садках размером 2x2 м, глубиной 1 м. Плотность посадки двухлеток русского осетра устанавливали в зависимости от массы выращиваемой рыбы (Пономарев и др., 2013). Норма ввода пробиотических препаратов составила «ПроСтор» - 4 г/кг, «Ферм-КМ» - 5 г/кг комбикорма.

В течение всего периода исследований проводили наблюдения за термическим и гидрохимическим режимами, водообменом, ростом и развитием рыб. Температуру, кислород и рН измеряли три раза в сутки. Для этого использовали специальные приборы: термооксиметр Handy Polaris и рН-метр HANNA.

Для оценки половых продуктов использовали методики, применяемые в рыбоводной практике (Персов, 1941; Казаков, Образцов 1981). Исследования эякулятов проводили в камере Горяева. Концентрацию спермиев (млн./мм<sup>3</sup>) подсчитывали по формуле 1.

$$C = \frac{nD}{Nv} * 1000000, \quad (1)$$

где С – концентрация спермиев;

n – число сосчитанных малых квадратов (80);

D – степень разбавления (200);

V – объем малого квадрата ( $1/4000\text{мм}^3$ );

N – число больших квадратов.

Плодовитость рыб рассчитывали согласно рекомендации П.Ф. Правдина (1966). Процент оплодотворения икры определяли на 5-ой стадии второго деления (4-х бластомеров) (Детлаф и др., 1981).

Для проведения гематологических исследований кровь у молоди осетровых рыб отбирали методом отсечения хвостового стебля, у двухлеток и производителей – из хвостовой артерии с помощью медицинского шприца. Содержание гемоглобина определяли фотометрическим методом с использованием КФК-3. Расчет концентрации гемоглобина осуществляли по формуле:

$$X=D 540 \times 367,1 \text{ (г/л)}, \quad (2)$$

где D 540 – показания ФЭК;

367,1 – коэффициент пересчета, учитывающий разведение крови, миллимолярный вес гемоглобина и другие показатели.

Для определения общего белка получили сыворотку, для этого отобранную кровь переливали в чистые сухие пробирки. После того, как кровь свернулась, сгусток отделяли от стенок пробирки иглой путем обводки. Сыворотка шприцем отсасывалась в чистые пробирки. Белок в сыворотке определяли с помощью рефрактометра ИРФ-454Б2М.

Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) производили по методике Панченкова. Для этого использовался аппарат Панченкова, состоящий из штатива и капиллярных пипеток со шкалой 100 мм, шагом шкалы 1,0 мм и диаметром отверстия 1,0 мм. Время измерения – 1 час. В капилляр набирали 5 %-ый раствор цитрата натрия до метки Р, выдували на часовое стекло, затем кровь до метки К (0,2 мл) и также выдували на часовое стекло. Промыли капилляр раствором цитрата натрия и нанесли кровь до метки К еще 1 раз. Кровь тщательно перемешали с раствором цитрата натрия и набрали в тот же капилляр до метки 0.

Учет производили через 1 час, результат определяли по высоте столба прозрачной плазмы (мм).

Подсчет лейкоцитарной формулы проводили на хорошо окрашенных мазках под иммерсионным маслом (ув.100х1,25). В мазке просчитывали 200 клеток крови и вычисляли их процентное соотношение.

Общий химический состав тканей рыб определяли общепринятыми методами: содержание влаги – высушиванием при температуре 105 °С; жира – экстракционным методом в аппарате Сокслета; протеина – по Къельдалю с использованием реактива Несслера; минеральных элементов – озолением при температуре 550 °С (Щербина, 1983).

Гистологический анализ печени проводился стандартными методами с фиксацией в жидкости Буэна, дальнейшей проводкой через серию спиртов возрастающей крепости и заливкой в парафин (Ромейс, 1954). При изготовлении гистологических препаратов использовали окраску гематоксилин-эозином с докраской по Маллори. Просмотр препаратов велся под микроскопом OLYMPUS BX40. Фотографии изготовили с помощью цифровой камеры-окуляр для микроскопа ДСМ500.

Отбор микробиологических проб кишечника рыб проводили в научно-исследовательской лаборатории микробиологического мониторинга кафедры «Прикладная биология и микробиология» ФГБОУ ВО «АГТУ» (г. Астрахань) на основе методики В.А. Мусселиус (1983). Анализ микрофлоры жабер и кишечника производили по методике И.В. Бурлаченко, Л.И. Бычковой (2005). Объектом исследований являлись сеголетки русского осетра. Отбор проб осуществляли два раза: 1 проба – перед началом применения пробиотических препаратов, 2 проба – в конце эксперимента. Родовую и видовую принадлежность полученных образцов микроорганизмов определяли с помощью биохимических пластин, дифференцирующих стафилококки (ПБДС) и энтеробактерии (ПБДЭ) (разработано НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород). Количественный учет представителей семейства Энтеробактерий, родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* осуществляли бродильным методом: разведение

определенных объемов воды или пробы из кишечника, высеив в среду накопления с последующим пересевом на среду «Эндо» и постановка оксидазного теста. Наличие в исследуемых образцах стафилококков определяли по характеру роста данных микроорганизмов на молочно-солевом агаре.

Взвешивание и измерение рыбы (Рисунок 5) проводили согласно рекомендациям И.Ф. Правдина (1966).

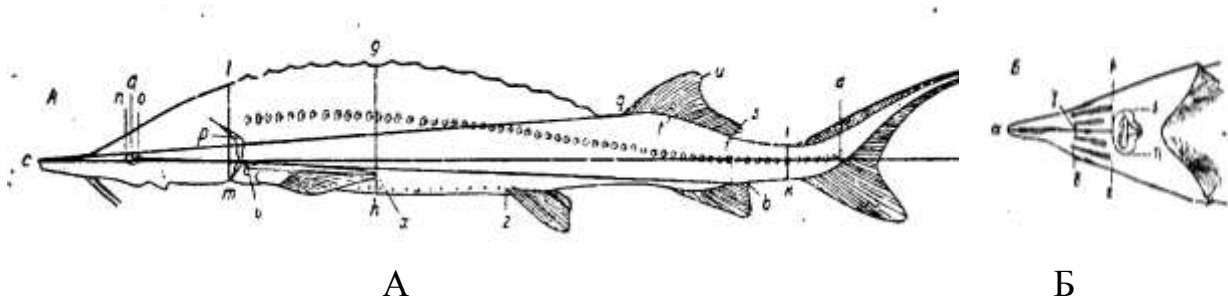


Рисунок 5 – Схема измерения осетровых рыб (Acipenseridae):

А.  $ab$  – промысловый размер;  $cd$  – длина тела до корней средних лучей  $C$ ;  $ce$  – длина всего тела;  $fe$  – длина хвостового стебля;  $gh$  – наибольшая высота тела;  $ik$  – наименьшая высота тела;  $lm$  – высота головы у затылка;  $cn$  – длина рыла;  $no$  – диаметр глаза;  $op$  – заглазничный отдел;  $cp$  – длина головы;  $cq$  – антедорсальное расстояние;  $cz$  – антевентральное расстояние;  $qs$  – длина основания спинного плавника;  $tu$  – высота спинного плавника;  $vx$  – длина грудного плавника;  $vz$  – расстояние между грудным и брюшным плавниками. Б. Голова снизу:  $\alpha\beta$  – расстояние от конца рыла до рта;  $\alpha\gamma$  – расстояние от конца рыла до середины основания средних усиков;  $\delta\epsilon$  – длина наибольшего усика;  $\tau\eta$  – ширина рта.

Взвешивание рыбы осуществлялось при помощи электронных весов.

Абсолютный прирост вычислялся по формуле (Правдин, 1966):

$$P_{аб} = m_k - m_0, \quad (3)$$

где  $m_k$  – масса конечная, грамм;

$m_0$  – масса начальная, грамм.

Среднесуточный прирост вычислялся по формуле (Правдин, 1966):

$$P_{аб} = (m_k - m_0) / t, \quad (4)$$

где  $m_k$  – масса конечная, грамм;

$m_0$  – масса начальная, грамм.

$t$  – продолжительность опыта, сут.

Среднесуточную скорость роста молоди и старших возрастных групп вычисляли по формуле сложных процентов (Castell, Tiewes, 1979):

$$A = [(m_k / m_0)^{1/t} - 1] \times 100 (\%), \quad (5)$$

где  $m_k$  и  $m_0$  - масса рыбы в конце и в начале опыта;

$t$  – продолжительность опыта, сут.

Для более точного определения скорости роста определяли коэффициент массонакопления (Купинский и др., 1986):

$$K_M = ((M_k^{1/3} - M_0^{1/3}) * 3) / t, \quad (6)$$

где  $K_M$  – общий продукционный коэффициент скорости роста;

$M_k$  и  $M_0$  – масса рыбы конечная и начальная, г;

$t$  – период выращивания, сут.

Коэффициент упитанности определяли по Фультону (Fulton, 1902):

$$Qф = W * 100 / l^3 (\%), \quad (7)$$

где  $W$  – масса рыбы, г;

$l$  – длина рыбы, см.

Статистическую обработку результатов исследований проводили согласно общепринятым методам математической обработки с использованием программы Microsoft Excel. При этом использовали элементы статистического анализа с определением средней ошибки. Уровень различий оценивали с помощью критерия достоверности Стьюдента (Лакин, 1990).

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Влияние нового преднерестового комбикорма на репродуктивные функции производителей осетровых рыб

В настоящее время одним из главных способов сохранения и увеличения запасов осетровых рыб является искусственное воспроизводство. Однако на осетровых рыбоводных заводах возникает проблема заготовки в реках необходимого количества производителей, поэтому проблема формирования и эксплуатации маточных стад весьма актуальна (Макаров, 2000; Матишов и др., 2006; Васильева и др., 2006). Формирование ремонтно-маточных стад осетровых основано на кормлении искусственными кормами, представляющими собой смесь рыбного фарша и гранулированного комбикорма (Бахарева и др., 2014). Такая смесь является благоприятной средой для активного развития болезнетворных бактерий, токсины которых могут оказывать супрессивное действие на иммунную систему рыб (Бондаренко, 1984; Федоссева, Астафьева, 2006; Чипинова и др., 2004).

В связи с этим возникает острая необходимость в период нагула производителей добавлять в комбикорма пробиотические препараты нового поколения, представляющие собой живые бактерии, иммобилизованные на фитосубстратах. Наибольший интерес представляет пробиотик в виде биопленки на твердом фитоносителе «Ферм-КМ». Этот препарат представлен штаммами *Bacillus subtilis* ВКПМ В-8-130, *Bacillus subtilis* ВКПМ В-2984, *Bacillus subtilis* ВКПМ В-4099 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ В-4162. Необходимость использования данного препарата обусловлена тем, что его состав представлен необходимыми в период созревания гонад веществами: ферментами, аминокислотами, витаминами и иммуноактивными пептидами (Ушакова и др., 2009). Кроме того, штаммы *Bacillus subtilis*, входящие в состав пробиотика «Ферм-КМ», оказывают выраженное антагонистическое действие в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том

числе *Escherichia Coli* и бактерий р. *Clostridium* (Ткачева, Тищенко, 2011). Введение данного пробиотического препарата в корма способствует развитию полезной микрофлоры кишечника, участвующей в различных пищеварительных процессах: разложении клетчатки, желчных кислот и пигментов. Установлено, что микроорганизмы пищеварительного тракта производителей осетровых, потребляющих корм с добавлением пробиотиков, в большем количестве синтезируют незаменимые аминокислоты: метионин, фенилаланин, валин, лейцин и триптофан, так как испытывают недостаток в них при питании естественной пищей.

В период гаметогенеза и сперматогенеза концентрация незаменимых аминокислот увеличивается: в яичниках – аргинина, гистидина и изолейцина, в семенниках – аргинина, гистидина, лизина, лейцина и валина. Также наблюдается увеличение свободных аминокислот, витаминов (в частности аскорбиновой кислоты и  $\alpha$ -токоферола) и других биологически активных веществ (Kaushik et al., 1998; Бахарева, 2016). Потребность в  $\alpha$ -токофероле в период созревания гонад резко возрастает: его концентрация в яичниках увеличивается более чем в 10 раз. Так как витамин Е не синтезируется в организме рыб, то единственным его источником являются корма. Дефицит витамина Е вызывает дистрофию мышц, анемию, жировое перерождение печени (Абрамова, Оксенгендлер, 1985; Halver, 1986). Введение  $\alpha$ -токоферола в преднерестовые комбикорма оказывает влияние на выработку половых гормонов, необходимых для полноценного функционирования репродуктивной системы рыб. Так как витамин Е является природным антиоксидантом, то неразрывна связь данного витамина с другими соединениями, в том числе с аскорбиновой кислотой, защищающей клетки от окислительного перерождения, восстанавливающей витамин Е в его метаболически активную форму, предотвращающей окисление липидов (Остроумова, 2012). Витамин С играет важную роль в период формирования половых продуктов. Производители осетровых рыб в период гонадогенеза находятся в стрессовой ситуации, поэтому дополнительное введение в корма аскорбиновой кислоты способствует стабилизации функционирования иммунной



системы и усилению защитных сил организма (Soliman et al., 1987). Дефицит витамина С снижает воспроизводительную способность производителей, уменьшая количество половых гормонов у самок и снижая уровень протеина в икре, а также оказывает влияние на качество спермы, ее концентрацию, подвижность, а, следовательно, и на эффективность оплодотворения икры.

Полноценное питание производителей благоприятно сказывается на качестве половых клеток и на физиологическом состоянии полученного потомства (Ponomarev et al., 2010). Комбикорма должны содержать все необходимые биологически активные вещества, способствующие нормальному формированию и созреванию гонад (Уголев, 1959; Матишов и др., 2008).

На основании вышеизложенного возникает острая необходимость применения новых эффективных способов преднерестового выдерживания производителей и подготовки их к нересту, в том числе с применением высокоэффективных комбикормов, в состав которых входят незаменимые биологически активные вещества и пробиотический препарат. Для решения данной проблемы разработана рецептура нового комбикорма с добавлением биологически активных веществ и пробиотического препарата нового поколения, позволяющая его использование во время всего периода преднерестового выдерживания производителей. Применение предложенного комбикорма оказывает положительное влияние на такие репродуктивные показатели осетровых рыб как рабочая плодовитость, оплодотворяемость, выживаемость икры и снижает количество аномалий в развитии эмбрионов. Так как развитие половых продуктов происходит за счет эндогенных ресурсов организма, поэтому крайне важно тщательно следить за преднерестовым содержанием производителей и обеспечивать их всеми необходимыми питательными элементами, позволяющими в дальнейшем получить жизнестойкое потомство.

Состав нового преднерестового комбикорма представлен следующими компонентами: мука рыбная, мука пшеничная, соевый шрот, рыбий жир, витазар и премикс. Дополнительно в состав комбикорма были введены: пробиотический препарат «Ферм-КМ», аскорбиновая кислота,  $\alpha$ -токоферол.

Таким образом, в результате использования нового высокоэффективного комбикорма для производителей осетровых рыб можно наблюдать положительное его влияние на репродуктивную функцию, позволяющее повысить плодовитость производителей, процент оплодотворяемости икры, снизить риск заболеваний, а также сохранить и увеличить запасы осетровых, которые находятся в критическом состоянии.

Для оценки эффективности применения разработанного комбикорма проведена серия экспериментальных работ по определению оптимальной нормы ввода пробиотического препарата в комбикорм, оценке рыбоводно-биологических и гематологических показателей производителей осетровых рыб в период кормления новым комбикормом.

Для определения оптимальной дозы пробиотического препарата было проведено экспериментальное кормление производителей стерляди. Рыбы были разделены на 4 группы по 25 особей в каждой. Три группы рыб получали разработанный комбикорм с препаратом «Ферм-КМ» в количестве: 4 г/кг (опытная 1), 6 г/кг (опытная 2), 10 г/кг (опытная 3), четвертая группа – контрольная потребляла смесь из фарша и производственного комбикорма рецептуры ОТ-7. В результате исследований было установлено, что эффективной нормой ввода пробиотика «Ферм-КМ» является 6 г/кг комбикорма (Опытная 2) (Таблица 6).

Таблица 6 – Результаты кормления производителей стерляди опытными комбикормами (n=25)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 2
Масса, кг	1,86±0,13	1,95±0,42	2,04±0,15***	1,98±0,10
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	175,2±0,26	214,2±0,73	237,6±3,72	182,3±4,35
Масса 1 ооцита, мг	19,2±0,41	18,4±1,10	27,2±1,11	20,4±0,39
Процент оплодотворения икры, %	75,5±0,71	81,5±0,84	89,5±2,11***	84,1±0,66

Примечание: различия достоверны при \*\*\* - P > 0,999

Кормление производителей осетровых в преднерестовый период сбалансированными комбикормами сопряжено с изменениями их физиологического состояния, что отражается на динамике физиолого-биохимических показателей (Таблица 7).

Таблица 7 - Биохимический состав икры, % от сухого вещества (n=10)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Влага	59,1±0,85	58,3±1,35	54,2±0,48	56,0±0,53
Сухое вещество	40,9±0,53	41,7±0,34	45,8±0,80	44,0±0,64
Протеин	24,8±0,27	24,5±0,34	26,9±0,66**	25,4±0,53
Липиды	4,2±0,09	4,3±0,09	4,6±0,11**	5,5±0,20
Углеводы	6,8±0,08	7,1±0,18	7,9±0,11	6,8±0,13
Минеральные вещества	5,1±0,25	5,8±0,11	6,4±0,09	6,3±0,08

Примечание: различия достоверны при \*\* -  $P > 0,99$

Содержание белка в ооцитах является основным показателем функционального состояния гонад и подготовленности самок к нересту. Ооциты, полученные от самок, потреблявших комбикорм с комплексом пробиотика и биологически активных веществ, отличались более высоким содержанием белка в сравнении с контрольным вариантом. Наиболее высокая концентрация белка и жира отмечена в икре самок, потреблявших комбикорм с введением 6 г/кг пробиотического препарата (опытная 2). В этом же варианте отмечено повышение процента оплодотворения икры до 89,5 %. Высокий процент созревания самок связан с оптимальным содержанием в корме живых микроорганизмов, угнетающих развитие патогенной микрофлоры в кишечнике и стимулирующих активность переваривания и всасывания питательных и биологически активных веществ, которые накапливаются в организме и затем переносятся в развивающиеся гонады. В контрольном варианте при кормлении традиционными кормами процент оплодотворения икры был ниже на 14 %, что обусловлено физиологическим состоянием самок, которое к моменту созревания гонад ухудшается. Процесс созревания неразрывно связан со стрессовым воздействием

на организм не только факторов внешней среды, но и вынужденным голоданием перед нерестом, характерным для осетровых видов рыб. Большая часть внутренних резервов организма расходуется на ингибирование стрессовых факторов, и лишь остатки направляются на формирование половых продуктов.

При исследовании эякулятов самцов стерляди было установлено, что использование преднерестового комбикорма самцами стерляди увеличило процент созревания до 89,8 % (опытная 2). В контрольной группе самцов процент ответа на спермиацию был ниже на 11,9% (Таблица 8).

Таблица 8 – Результаты исследования эякулятов самцов стерляди (n=10)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Процент созревания, %	77,9±0,96	82,5±0,55	89,8±2,4***	89,3±0,52
Количество спермиев, млн/мм <sup>3</sup>	0,652	0,739	0,841	0,794
Количество мертвых спермиев, %	43,1±0,62	22,7±0,59	15,1±0,73	17,9±0,34
Подвижность (шкала Г.М. Персова), балл	2,6±0,13	4,2±0,08	4,5±0,06	4,4±0,04

Примечание: различия достоверны при \*\*\* - P > 0,999

В контрольном варианте семенная жидкость была водянистой белоголубого цвета. У некоторых особей цвет эякулята имел розоватый оттенок, что свидетельствует о наличии крови. Подвижность сперматозоидов в опытных вариантах достигала 4,5 балла по пятибалльной шкале Персова. Самцы контрольной группы отличались низким качеством эякулятов (подвижность спермиев – 2,6 балла). При этом количество мертвых спермиев было значительно выше, чем в опытных вариантах.

После того, как была определена норма ввода пробиотического препарата, произведена оценка рыбоводно-биологических и физиологических показателей производителей стерляди при кормлении разработанным комбикормом. Результаты выращивания производителей стерляди с использованием

разработанного комбикорма показали его высокое продукционное свойство. Длительность эксперимента составила 30 суток. Абсолютный прирост во второй опытной группе составил 211,1 г, что на 21,8 г выше, чем в контроле (Таблица 9). Среднесуточный прирост также был выше в группе, потреблявшей преднерестовый комбикорм с нормой ввода пробиотика 6 г/кг комбикорма (опытная 2), и составил 7,04 г, в то время как в опытной 1 и опытной 3 группах данный показатель не превышал 6,89 г. Выживаемость во всех вариантах составила 100%.

Таблица 9 – Рыбоводно-биологические показатели производителей стерляди (n=25)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Масса начальная, г	1857,4±8,6	1864,5±7,5	1871,7±9,2	1845,3±11,2
Масса конечная, г	2046,7±8,2	2066,1±9,6	2082,8±9,1**	2052,0±8,7
Абсолютный прирост, г	189,3	201,6	211,1	206,7
Среднесуточный прирост, г	6,31	6,72	7,04	6,89
Кормовой коэффициент, ед.	2,7	2,5	2,3	2,4
Выживаемость, %	100	100	100	100
Продолжительность экспериментов, сут.	30	30	30	30

Примечание: различия достоверны при \*\* -  $P > 0,99$

Таким образом, по данным рыбоводно-биологических показателей можно сделать вывод об эффективности введения пробиотического препарата «Ферм-КМ» в состав нового преднерестового комбикорма в количестве 6 г/кг комбикорма, способствующего увеличению линейно-весовых показателей производителей осетровых рыб.

Для оценки физиологического состояния рыб был выполнен анализ гематологических показателей производителей стерляди контрольной группы и

опытной группы 2 (норма ввода 6 г/кг комбикорма), показавшей наиболее высокие результаты по репродуктивным и рыбоводно-биологическим показателям (Таблица 10).

Таблица 10 – Биохимические показатели крови производителей стерляди (n=10)

Показатель	Группа	
	Контроль	Опытная
Начало эксперимента		
Гемоглобин, г/л	71,5±0,27	70,8±1,12
СОЭ, мм/ч	2,4±0,03	2,5±0,21
Общий белок, г/л	24,4±0,21	23,8±0,24
Холестерин, ммоль/л	1,8±0,03	1,9±0,03
Общие липиды, г/л	3,9±0,15	3,4±0,06
Конец эксперимента		
Гемоглобин, г/л	72,8±0,6	75,1±0,36**
СОЭ, мм/ч	2,0±0,06	1,8±0,06*
Общий белок, г/л	24,6±0,39	25,8±0,24*
Холестерин, ммоль/л	1,7±0,03	1,7±0,06
Общие липиды, г/л	3,7±0,15	5,4±0,21**

Примечание: различия достоверны при \* -  $P > 0,95$ ; \*\* -  $P > 0,99$

Из таблицы 10 видно, что уровень гемоглобина у рыб, потреблявших комбикорм с добавлением пробиотического препарата и биологически активных веществ, повысился с 70,8 до 75,1 г/л. В контрольном варианте значительных изменений по данному показателю отмечено не было. Наиболее высокий показатель скорости оседания эритроцитов отмечен перед началом выращивания у рыб опытной группы, однако, кормление преднерестовым комбикормом снизило данный показатель до 1,8 мм/ч.

Изучение лейкоцитарной формулы крови производителей стерляди показало, что в крови рыб, потреблявших разработанный комбикорм, уровень лимфоцитов составляет 61,5 %, что говорит об отсутствии нарушений в

функционировании иммунной системы, заключающейся в способности синтезировать антитела и лизировать чужеродные клетки (Рисунок 6).

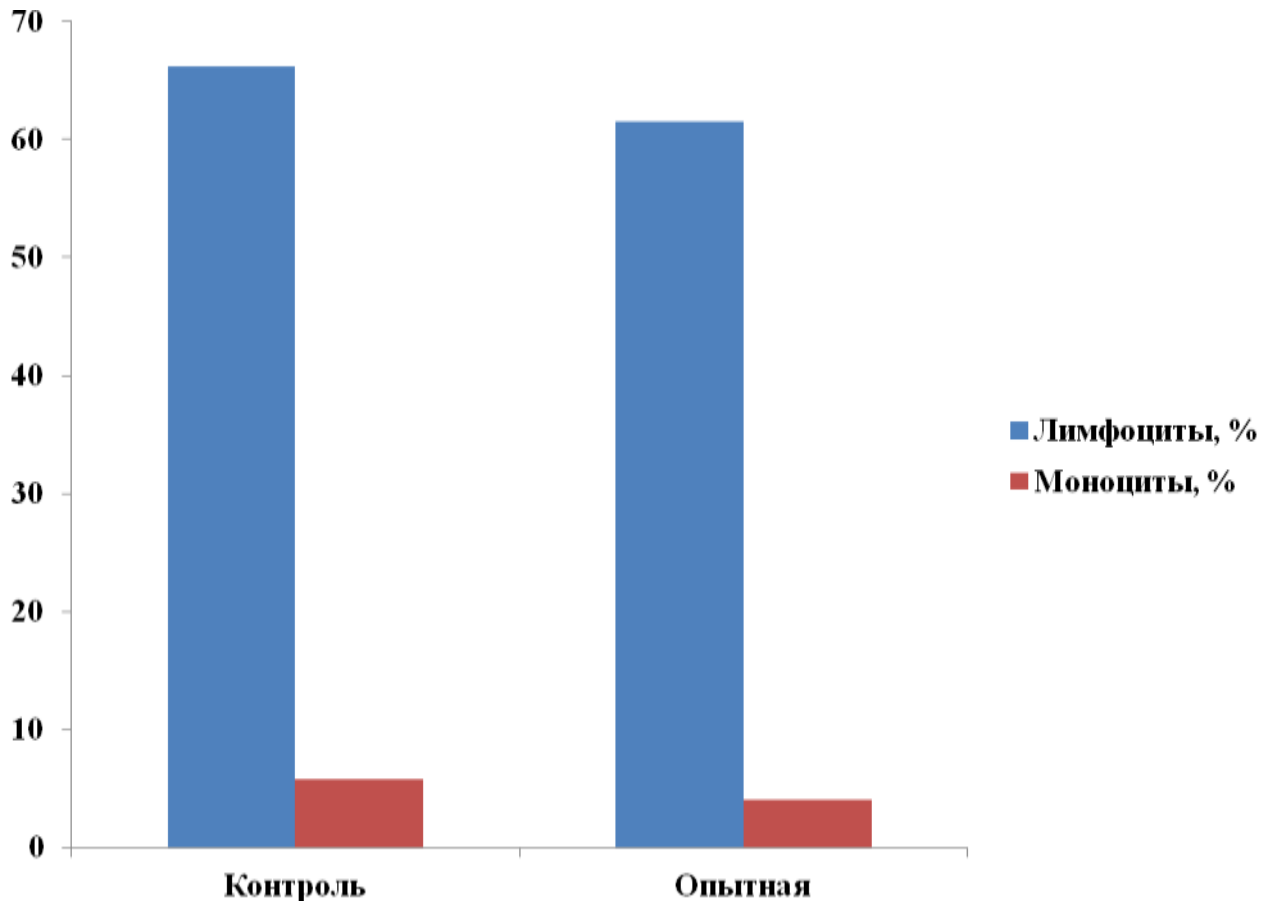


Рисунок 6 – Уровень лимфоцитов и моноцитов крови производителей осетровых рыб

Уровень моноцитов в контроле и опытном варианте колебался в пределах 4,1-5,8 % и соответствует физиологическим нормам, что дополнительно подтверждает отсутствие воспалительных процессов в организме рыб.

Оценка экономической эффективности использования преднерестового комбикорма для производителей осетровых рыб проводилась на основании рыбоводных результатов получения половых продуктов. Расчет стоимости используемых для кормления производителей стерляди кормов показал, что традиционно используемая смесь несколько дешевле, чем предлагаемый преднерестовый комбикорм. Результаты расчета экономической эффективности использования преднерестового комбикорма с пробиотическим препаратом

«Ферм-КМ» показали, что уровень рентабельности данного варианта выше на 28,1 % (Таблица 11).

Таблица 11 – Экономическая эффективность использования преднерестового комбикорма при кормлении производителей стерляди

Показатели	Ед. измерения	Группа	
		Опытная	Контрольная
Количество самок	Шт.	100	100
Средняя масса самок	кг	2,25	2,05
Суточная норма кормления	%	2	2
Длительность кормления	Сут.	30	30
Всего затрачено кормов	кг	135	123
Стоимость комбикормов	Руб/кг	84	70
Стоимость комбикорма	Тыс. руб.	11,340	8,610
созревание	%	90	78
Рабочая плодовитость	Тыс.шт.	237,7	175,2
Количество полученной икры	Тыс. шт.	21393	13665
Стоимость овулировавшей икры	Руб./шт.	1,0	1,0
Общая стоимость икры при условии ее реализации	Тыс. руб.	21 393	13 665
Затраты на выращивание и содержание маточного стада, исключая затраты на преднерестовые корма	Тыс. руб.	10 600	10 600
Прибыль	Тыс. руб.	10793	3065
Уровень рентабельности	%	50,5	22,4

Из таблицы 11 видно, что при условии реализации овулировавшей икры в качестве посадочного материала, эффективность производства достаточно высокая, что отражается на уровне рентабельности, который достигает 50,5 % в варианте с использованием преднерестового комбикорма с пробиотиком «Ферм-КМ».



Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что пробиотический препарат «Ферм-КМ» соответствует физиологической потребности осетровых рыб в биологически активных веществах в период формирования и созревания гонад. Отличительной особенностью пробиотика является то, что он выполнен в виде биопленки, обеспечивающей жизнеспособность микроорганизмов и их активность в желудочно-кишечном тракте. В результате экспериментальных работ установлена оптимальная норма ввода пробиотика в состав преднерестового комбикорма – 6 г/кг. Такая концентрация препарата позволяет улучшить качество ооцитов и эякулятов производителей, повысив процент оплодотворения икры на 14%, а уровень рентабельности на 28,1 %.

### **3.2 Влияние пробиотических препаратов на обсемененность преднерестовых комбикормов**

Установлено, что микрофлора рыб во много определяется микрофлорой кормов, для которой характерно присутствие различных форм микроорганизмов. Развитие микрофлоры комбикормов зависит от ряда факторов, в том числе от их влажности и температуры. Пониженная температура благоприятна для развития микроорганизмов р. *Penicillium*, высокая — микроорганизмов р. *Aspergillus*. Макро- и микроэлементы, биологически активные вещества, входящие в состав комбикорма способствуют интенсификации процессов развития патогенной микрофлоры, повышая скорость роста грибов и синтез их метаболитов. Особенно чувствительны к витаминам бактерии р. *Aspergillus*, *Penicillium*. Быстро размножаясь, данные микроорганизмы вызывают изменение органолептических показателей и плесневение комбикормов. Микрофлора комбикормов чаще всего представлена бактериями р. *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Trichotecium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, реже другие грибы (Бурлаченко и др., 2002).

Ветеринарно-санитарное состояние комбикормов устанавливаются путем проведения микробиологического анализа. В связи с этим возникает острая

необходимость изучения влияния пробиотических препаратов нового поколения на обсемененность комбикормов при выращивании осетровых рыб в индустриальных условиях.

Для анализа санитарно-микробиологических показателей комбикормов проведены экспериментальные работы по изучению их микрофлоры. Были изучены два вида комбикормов: смесь фарша и продукционного комбикорма рецептуры ОТ-7 и разработанный преднерестовый комбикорм.

При выделении молочнокислых микроорганизмов в комбикормах для производителей осетровых рыб были обнаружены микроорганизмы с культуральными свойствами: колонии мелкие бежевые стелющиеся по субстрату, колонии мелкие бежевые матовые неправильной формы шероховатые, колонии мелкие бежевые слизистые (Рисунок 7).



а

б

Рисунок 7 – Выделение микрофлоры преднерестовых комбикормов для осетровых рыб: а – смесь фарша + ОТ-7; б – разработанный комбикорм

Изучение морфологических признаков выделенных микроорганизмов позволило установить наличие в пробах комбикормов грамположительных палочек *p. Lactobacillus*, грамположительных кокков *p. Pediococcus*, *Leuconoctoc*), грамотрицательных палочек.

Анализ микрофлоры комбикормов для производителей осетровых рыб позволил установить, что фоновый уровень их бактериальной обсемененности колебался в пределах  $1,8 - 4,5 \times 10^6$  КОЕ/мл (Таблица 12).

Таблица 12 - Численность молочнокислых микроорганизмов в пробах кормов

№ пробы	Кол-во аэробных микроорганизмов	Кол-во анаэробных микроорганизмов	Кол-во мицелиальных микроорганизмов	Общее микробное число (КОЕ/мл)
Фарш + ОТ-7	45	11	10	$1,8 \times 10^6$
Разработанный комбикорм	19	15	-	$4,5 \times 10^6$

Смесь фарша и продукционного комбикорма ОТ-7 характеризовалась повышенным содержанием аэробных микроорганизмов, способствующих развитию вредных анаэробных процессов: разложению усвояемых азотистых соединений, распаду углеводов органического вещества. Также в корме присутствовало значительное количество мицелиальных микроорганизмов, представленных плесневыми грибами, вызывающими гнилостные процессы.

Разработанный преднерестовый комбикорм отличался стабильным микробным фоном, повышенным содержанием молочнокислых бактерий, что обусловлено наличием в корме пробиотического препарата.

Таким образом, на основе проведенного микробиологического анализа установлено, что разработанный преднерестовый комбикорм наиболее безопасен для кормления производителей осетровых рыб, так как содержит в своем составе пробиотический препарат, оказывающий супрессивное действие на развитие патогенной микрофлоры в комбикормах. Влажный комбикорм, содержащий в своем составе рыбный фарш, является источником заражения патогенными микроорганизмами и может вызывать отравление за счет выделения токсичных продуктов жизнедеятельности присутствующих микроорганизмов.

### **3.3 Использование бактериальных препаратов в составе стартовых и продукционных комбикормов для осетровых рыб**

С развитием индустриальной аквакультуры в России большое внимание уделяется качеству и продукционным свойствам сухих комбикормов, сбалансированных по основным питательным веществам (Пономарев, Пономарева, 2003). Качественная и количественная оценка состава комбикормов, их влияние на рост и развитие рыб зависят главным образом от метаболических особенностей каждого биологического вида, индивидуальных особенностей типа обменных процессов, условий обитания и выращивания организма (Васильева и др., 2000). В настоящее время особое внимание направлено на выявление механизмов биохимической адаптации рыб к пище, ее влияния на пищеварительную систему, в частности на структуру и функционирование свойств клеточных мембран, так как именно на клеточном уровне осуществляется гидролиз, всасывание и включение в обмен веществ отдельных компонентов комбикормов (Сорвачев, 1982). Комбикорма для осетровых рыб, наряду с элементами, непосредственно участвующими в поддержании жизненных сил организма, должны содержать различные биологические вещества и пробиотические препараты (Афонский, 1970). Примерами таких препаратов являются синбиотическая добавка «ПроСтор» и пробиотик «Ферм-КМ», способствующие эффективному использованию кормовой базы за счет снижения конверсии корма, профилактике распространенных инфекционных заболеваний, сокращению затрат на проведение антибиотикотерапии.

#### **3.3.1 Использование бактериальных препаратов в составе стартовых комбикормов для молоди осетровых рыб**

Для оценки эффективности пробиотических препаратов в виде биопленки на твердом фитосубстрате в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб была проведена серия экспериментов на молоди русского осетра. На первом этапе







Коэффициент массонакопления во всех вариантах варьировал от 0,036 до 0,047 ед. Кормление молоди русского осетра комбикормами с добавлением пробиотических препаратов оказало положительное влияние на выживаемость рыб, которая составила 80-84 %, в то время как в контроле выживаемость не превышала 75 %.

Полученные в период выращивания данные позволяют сделать вывод об эффективности введения в состав стартовых комбикормов пробиотических препаратов нового поколения, так как они способствуют выработке жизненно важных пищеварительных ферментов и витаминов непосредственно в кишечнике, вызывая тем самым ростостимулирующий эффект.

Физиологическое состояние молоди русского осетра оценивалось по химическому составу тела (Таблица 16). Молодь, выращенная на комбикорме с добавлением пробиотического препарата «Ферм-КМ», характеризовалась более высоким содержанием белка и жира в теле. Это свидетельствует о том, что физиологическое состояние рыб находилось в пределах нормы.

Таблица 16 – Химический состав тела молоди русского осетра при кормлении комбикормами с добавлением пробиотиков нового поколения, % (n=10)

Показатели	Группа		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Влага	63,2 ±0,41	64,1±0,62	61,8±0,56
Сухое вещество	36,8±0,59	35,9±0,73	38,2±0,69
Протеин	68,9 ±0,14	69,6±0,64	72,2±0,71***
Липиды	10,3 ±0,25	11,1±0,34	11,3±0,21
БЭВ	7,0 ±0,21	6,5±0,11	5,4± 0,32
Зола	13,8 ±0,32	12,8±0,41	11,1±0,15

Примечание: различия достоверны при \*\*\* - P > 0,999

На основе полученных данных о химическом составе тела выращенной молоди выявлено, что добавление пробиотических препаратов в виде биопленки на твердом фитосубстрате в состав стартового комбикорма ОСТ-6 способствует накоплению протеина и липидов в теле рыбы.



Физиологическое состояние молоди осетровых рыб, выращенной на комбикормах с добавлением пробиотических препаратов, оценивалось также и по основным показателям состава крови (Таблица 17). Кормление с добавлением пробиотика «Ферм-КМ» (опытная 2) показало лучшие результаты по показателям крови. Содержание гемоглобина и количество эритроцитов в крови в этом варианте были выше в сравнении с контролем и опытной группой 1с добавлением пробиотика «ПроСтор», однако эти показатели были также в пределах физиологических норм (Гершанович и др., 1987).

Таблица 17 – Биохимические показатели крови при выращивании молоди русского осетра на опытных комбикормах (n=10)

Показатель	Группа		
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
Начало эксперимента			
Гемоглобин, г/л	71,0±0,53	70,5±0,17	70,9±0,37
СОЭ, мм/ч	2,0±0,10	2,3±0,13	2,1±0,11
Общий белок, г/л	22,7±0,23	23,2±0,17	22,1±0,24
Холестерин, ммоль/л	2,0±0,07	1,9±0,07	2,0±0,04
Общие липиды, г/л	5,1±0,03	4,9±0,40	4,8±0,36
Конец эксперимента			
Гемоглобин, г/л	70,4±0,36	72,2±0,60**	73,4±0,83**
СОЭ, мм/ч	2,1±0,07	2,0±0,05	1,8±0,05**
Общий белок, г/л	21,6±0,25	24,6±0,17***	25,8±0,83***
Холестерин, ммоль/л	1,9±0,05	1,7±0,04**	1,6±0,04***
Общие липиды, г/л	4,9±0,16	5,5±0,10**	5,7±0,06***

Примечание: различия достоверны при \*\* - P > 0,99 ; \*\*\* - P > 0,999

Проведенные исследования позволили установить, что наиболее эффективным является добавление в стартовые комбикорма для осетровых рыб пробиотика в виде биопленки на твердом фитосубстрате «Ферм-КМ».

### **3.3.2 Использование бактериальных препаратов в составе продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб**

Развитие товарного осетроводства невозможно без разработки полноценных комбикормов, так как выживаемость, жизнеспособность рыб напрямую зависит от качества потребляемой ими корма (Матишов и др., 2008). Выращивание осетровых рыб основано на правильной технологии кормления, что способствует получению максимальных показателей скорости роста и выживаемости при минимальных затратах. В связи с этим возникает необходимость не только создавать эффективные рецептуры комбикормов для рыб, но и исследовать состав и структуру питательных веществ естественной пищи, особенности развития пищеварительной, ферментативной системы, а также потребность в незаменимых питательных веществах. Для решения этой задачи, необходимо проводить комплексные исследования, принимая во внимание особенности малькового периода развития осетровых рыб (Пономарев и др., 2002).

Для создания полноценных комбикормов необходимо рационально подбирать сухие компоненты, исследовать их продукционные свойства, а также сбалансировать состав и содержание питательных веществ рецепта в соответствии с потребностью молоди осетровых рыб (Абросимова и др., 1989; Аминова, Яржомбек, 2000). При производстве комбикормов используют огромное количество различных по происхождению компонентов, добавок, биологически активных веществ и препаратов. Считается, что чем больше в комбикорм входит компонентов, тем выше его питательная ценность и эффективность (Пономарев, Пономарева, 2003; Бурлаченко, 2005; Остроумова, 2012).

Для того, чтобы повысить продуктивность индустриальной аквакультуры необходимо особое внимание уделять бактериальным препаратам, которые необходимы для профилактики и лечения заболеваний рыб бактериальной и вирусной этиологии, нормализации микрофлоры кишечника. Такие препараты позволяют смягчать стрессы, вызываемые сменой комбикормов и технологическими воздействиями на организм рыб. Служат для повышения резистентности организма и напряженности иммунитета, позволяют увеличить усваиваемость комбикормов (Бондаренко, Грачева, 2003; Пономарев и др., 2013).



За 30 дней выращивания наиболее высокие показатели линейно-веса прироста были характерны для варианта с добавлением пробиотического препарата в количестве 3 г/кг комбикорма (опытная 2). Абсолютный прирост в опытной группе 2 составил 16,8 г, что на 4 г выше, чем в контроле. Коэффициент упитанности по Фультону в опытных вариантах варьировал в пределах от 0,46 до 0,56 %. Необходимо отметить, что кормление молоди белуги комбикормом с добавлением пробиотического препарата «Ферм-КМ» оказало положительное влияние на выживаемость рыб (80 %).

Таким образом, выращивание молоди белуги на комбикорме с пробиотическим препаратом «Ферм-КМ» позволило увеличить темп роста рыб на 12 %, снизить смертность рыб на 12 % и сократить кормовые затраты до 0,9 единиц.

Основным критерием качества и физиологической адекватности используемых комбикормов являются показатели крови. Изменение гематологической картины в ту или иную сторону позволяет сделать вывод о состоянии организма и диагностировать заболевания. Изучение показателей крови молоди белуги, потреблявшей комбикорма с пробиотиком «Ферм-КМ», не выявило признаков заболеваний у рыб (Таблица 19). Содержание гемоглобина в крови рыб в опытном варианте 2 было достоверно ( $P > 0,999$ ) выше чем в контрольном и других опытных группах, что связано с более эффективным протеканием процессов дыхания. За счет наличия в комбикорме пробиотического препарата стабилизируются процессы, протекающие в печени и кишечнике. Выполнившие свою функцию клетки гемоглобина распадаются в печени, превращаются в желчный пигмент - билирубин и выводятся через кишечник.

Таблица 19 – Биохимические показатели крови при выращивании молоди белуги на комбикорме ОТ-7 с добавлением пробиотического препарата (n=10)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
1	2	3	4	5
Гемоглобин, г/л	69,2±0,46	70,4±0,52	71,5±0,63**	70,9±0,33

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4	5
СОЭ, мм/ч	2,3±0,09	2,2±0,03	2,0±0,07	2,0±0,03
Общий белок, г/л	21,6±0,43	22,5±0,44	23,6±0,23***	23,0±0,28
Холестерин, ммоль/л	2,2±0,11	2,0±0,09	2,0±0,13	2,1±0,11
Общие липиды, г/л	3,6±0,15	4,2±0,23	5,2±0,13***	4,9±0,14

Примечание: различия достоверны при \*\*\* -  $P > 0,999$

Из таблицы 19 видно, что самый высокий показатель скорости оседания эритроцитов наблюдался в контроле и составил 2,3 мм/ч, в то время как в опытных группах данный показатель не превышал 2,2 мм/ч. Следует отметить, что во всех вариантах СОЭ не превышала норму (2-10 мм/ч), что свидетельствует об отсутствии воспалительных процессов и нарушений функционирования иммунной системы рыб.

Показатель общего белка в опытном варианте 2 составил 23,6 г/л и находился на нижней границе нормы, характерной для рыб из естественных водоемов (Гершанович и др., 1987; Федосеева, Астрафьева, 2006). Уровень холестерина у рыб, потреблявших комбикорм с пробиотическим препаратом, варьировал от 2,0 до 2,1 ммоль/л.

На основании изучения рыбоводно-биологических и гематологических показателей необходимо сделать вывод об оптимальной норме ввода пробиотика «Ферм-КМ» в состав производственного комбикорма для молоди осетровых рыб, которая оставила 3 г/ кг комбикорма.

Проведенные экспериментальные исследования позволили изучить влияние пробиотического препарата «Ферм-КМ» в составе комбикорма для молоди осетровых рыб. Выявлено, что внесение пробиотика в комбикорм способствует улучшению рыбоводно-биологических и гематологических показателей молоди белуги. Изучение гематологических показателей молоди белуги позволило сделать вывод о том, что добавление пробиотического препарата поддерживало физиологическое состояние рыб на должном уровне, а также не вызывало сбоев в функционировании иммунной системы

Расчеты экономической эффективности применения продукционных комбикормов с пробиотическим препаратом «Ферм-КМ» установили, что уровень рентабельности повысился на 8,3 % (Таблица 20).

Таблица 20 – Экономическая эффективность использования продукционных комбикормов с пробиотиков «Ферм-КМ» при выращивании молоди осетровых рыб

Показатель	Ед. измерения	Группа	
		Контрольная	Опытная
Посажено на выращивание	Шт.	300	300
Средняя масса	г	24,6	28,2
Суточная норма кормления	%	10	10
Длительность кормления	Сут.	30	30
Всего затрачено кормов	кг	7,4	8,5
Стоимость комбикормов	Руб/кг	54,5	71,8
Затраты на комбикорма	Руб.	402,2	607,4
Реализационная стоимость	Руб/шт.	6	10
Общая сумма выручки от реализации, руб.	Руб.	1800	3000
Себестоимость	Руб./шт.	8	12
Прибыль	Руб	2400	3600
Уровень рентабельности	%	75,0	83,3

Введение пробиотического препарата «Ферм-КМ» в состав продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб дает возможность повысить уровень рентабельности до 83,3 %, способствуя увеличению выручки от продажи посадочного материала.

### **3.3.2.2 Влияние синбиотической добавки «ПроСтор» на рыбоводно-биологические и гематологические показатели молоди русского осетра**

Влияние синбиотической добавки «ПроСтор» в составе продукционного комбикорма для молоди осетровых рыб оценивали на основании рыбоводно-



Как видно из таблицы 20 при внесении в комбикорм для молоди русского осетра синбиотика в количестве 2,5 г/кг комбикорма было отмечено увеличение среднесуточной скорости роста до 3,39 %. Важно отметить, что выживаемость рыб данной опытной группы была на 14 % выше, чем в контрольном варианте.

Таким образом, удалось установить эффективность синбиотической добавки «ПроСтор» в составе продукционного комбикорма для молоди осетровых рыб. Препарат дополнительно содержит экстракты расторопши и эхинацеи, являющиеся мощными иммуномодуляторами, которые повышают устойчивость рыб к воздействию агрессивных факторов внешней среды. Содержащиеся в расторопше биологически активные вещества (силимарин, содержащий комплекс фитоэстрогенных соединений флавонолигнанов; витамины; микро- и макроэлементы; липидный комплекс – токоферолы, фосфолипиды и др.) ингибируют перекисное окисление липидов, предотвращает образование свободных радикалов в клетках печени, усиливает регенерацию тканей, стимулирует синтез фосфолипидов и белков в клетках печени, инактивирует токсические вещества и оказывает противовоспалительное действие. Витамины, микроэлементы, полисахариды и эфирные масла эхиноцеи позволяют нормализовать обменные процессы, стимулировать иммунную систему организма (Соколов, Замотаев, 1988).

Так как печень является природным фильтром организма, способствующим выведению токсических веществ, регулированию состава белков, переработке гормонов, осуществлению кроветворения, далее был проведен гистологический анализ печени молоди осетровых рыб до и после кормления комбикормами с синбиотической добавкой «ПроСтор». Обнаружено, что структура печени молоди осетровых рыб до начала кормления комбикормами с добавлением синбиотической добавки имела структурные изменения: границы клеток печени не просматривались, в ядрах не было видно ядрышек, однако наблюдается значительное скопление хроматина (Рисунок 8). Около сосудов установлены очаги фиброза, что свидетельствует о наличии нарушения оттока желчи.



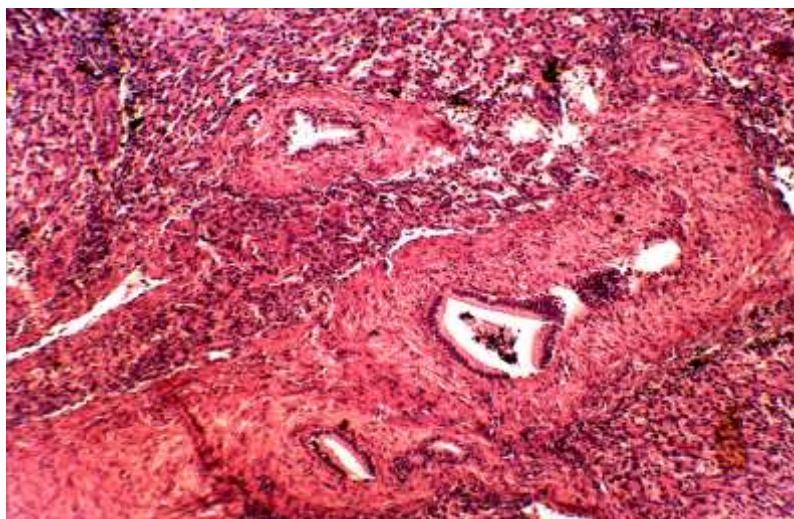


Рисунок 8 – Фрагмент печени до кормления молоди осетровых рыб комбикормами с пробиотическим препаратом. Окраска гематоксилин-эозином.

Ув. 22x10

Гистологическая картина печени после применения синбиотической добавки «ПроСтор» значительно изменилась. Количество очагов фиброза, встречаемых в паренхиме, значительно снизилось, что указывает на снижение уровня застоя желчи (Рисунок 9).

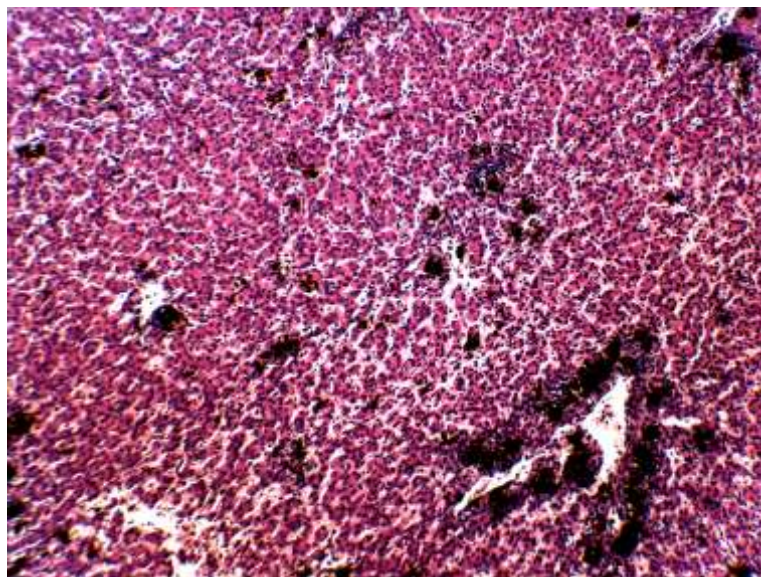


Рисунок 9 - Фрагмент печени после кормления молоди осетровых рыб комбикормами с пробиотическим препаратом. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 22x10

эозином. Ув. 22x10

Таким образом, необходимо сделать вывод о положительном влиянии экстракта расторопши в составе синбиотической добавки «ПроСтор» на печень молоди осетровых рыб. Ее экстракт останавливает разрушение клеточных структур печени, улучшает функцию мембран, ускоряет процессы регенерации клеток печени, а также способствует снижению уровня застоя желчи.

Физиологическое состояние молоди осетровых рыб, выращенных на комбикормах с добавлением синбиотика, следует оценивать по химическому составу крови (Таблица 22). Состав крови молоди русского осетра, получавшим синбиотик «ПроСтор» в количестве 2,5 г/кг комбикорма (опытная 2), в целом соответствовал физиологическим нормам и имел лучшие показатели, чем в контрольном и других опытных вариантах.

Таблица 22 – Биохимические показатели крови при выращивании молоди русского на комбикорме с синбиотической добавкой (n=10)

Показатель	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Гемоглобин, г/л	49,1±3,46	58,4±1,62	62,4±0,98***	61,3±2,11
СОЭ, мм/ч	2,4±0,36	2,1±0,44	1,8±0,51	2,0±0,15
Общий белок, г/л	20,1±0,69	21,7±0,65	23,1±0,72	22,2±1,11
Холестерин, ммоль/л	3,5±0,16	2,9±0,21	2,7±0,80	2,7±0,54
Общие липиды, г/л	3,2±0,21	3,9±0,33	4,2±0,34	3,8±0,11

Примечание: различия достоверны при \*\*\* -  $P > 0,999$

Полученные данные позволяют сделать вывод о положительном влиянии препарата «ПроСтор» на гематологические показатели молоди осетровых рыб, способствующему повышению уровня гемоглобина в крови и снижению концентрации холестерина, что снимает дополнительную стрессовую нагрузку на организм.

По результатам расчета экономической эффективности выявлено, что использование комбикорма с синбиотиком «ПроСтор» повышает стоимость посадочного материала, способствуя увеличению уровня рентабельности до 80 % (Таблица 23).

Таблица 23 - Расчет экономической эффективности использования продукционных комбикормов с синбиотиком «ПроСтор» при выращивании молоди осетровых рыб

Показатель	Ед. измерения	Группа	
		Контрольная	Опытная
Посажено на выращивание	Шт.	300	300
Средняя масса	г	8,2	7,8
Суточная норма кормления	%	14	14
Длительность кормления	Сут.	30	30
Всего затрачено кормов	кг	3,44	3,28
Стоимость комбикормов	Руб/кг	54,5	77,4
Затраты на комбикорма	Руб.	187,5	253,9
Реализационная стоимость	Руб/шт.	6	8
Общая сумма выручки от реализации, руб.	Руб.	1800	2400
Себестоимость	Руб./шт.	8	10
Прибыль	Руб	2400	3000
Уровень рентабельности	%	75,0	80,0

Проведенные исследования доказывают эффективность, и рациональность введения в состав продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб кормовой синбиотической добавки «ПроСтор», способствующей увеличению прироста массы рыбы, выживаемости молоди, улучшению гематологических показателей рыб и восстановлению клеточной структуры печени.

### **3.4 Влияние пробиотических препаратов на микрофлору жабер и кишечника молоди осетровых рыб**

Микрофлора рыб разнообразна и зависит от многих факторов: микробного фона воды, от вида рыбы и условий ее обитания. На поверхности рыбы обнаруживают в основном спорообразующие и неспорообразующие бактерии,

микрোকки, сарцины и некоторые обитающие в воде дрожжи и плесневые грибы. Особенно обсеменены микроорганизмами жаберы из-за высокого содержания органических веществ, приносимых водой, интенсивной аэрации и слабощелочной реакции.

Желудочно-кишечный тракт рыбы содержит много патогенных микроорганизмов, служащих источником разнообразных инфекций (Литвина, 2000). Бактерии попадают в него из воды вместе с комбикормами. Среди микрофлоры кишечника имеются все обитатели воды, а также анаэробы - спорообразующие клостридии. Часто встречаются патогенные клостридии и кишечная палочка (Сорокин и др., 1973).

Отдельные физиологические группы микроорганизмов обладают способностью расщеплять пищевые субстраты. Микроорганизмы, расщепляя в полости кишечника белки, углеводы и другие соединения, обеспечивают себя и макроорганизм необходимыми веществами (Roife et al., 1996). Установлено, что потребление искусственных кормов способствует нарушению состава микрофлоры кишечника, в результате чего резко сокращается или исчезает численность микробов отдельных видов, что может привести к патологии или дисбактериозу (Абросимов, Хлебнова, 2004).

В разных отделах кишечника рыб выявлена неодинаковая численность бактерий. Максимальное их количество выявлено в переднем и среднем отделах, что позволяет предположить об участии бактерий в расщеплении питательных веществ. Присутствие большого числа бактерий в заднем отделе кишечника можно связать с их участием в расщеплении балластных веществ и с обеспечением рыб вторичными нутриентами (Шивокене, 1989). В кишечном тракте рыб существует популяция бактерий, характеризующаяся высокой плотностью – до  $10^8$  аэробных гетеротрофных бактерий и приблизительно  $10^5$  анаэробных бактерий на грамм содержимого (Austin, 2002).

На основании ранее проведенных опытов, где были установлены оптимальные нормы введения пробиотических препаратов в продукционные комбикорма, проведена серия экспериментов для анализа микрофлоры жабер и кишечника сеголетков русского осетра до кормления с добавлением

пробиотических препаратов, и после применения пробиотических препаратов. Опытные рыб были разделены на 3 группы: контроль, первый опыт – синбиотическая добавка «ПроСтор», второй опыт – пробиотический препарат «Ферм-КМ». Для кормления использовался производственный комбикорм для осетровых рыб ОТ-7. Длительность опыта составила 14 дней. Для вскрытия было отобрано по 3 экземпляра сеголеток русского осетра с каждого варианта опыта и контроля, и проведено микробиологическое исследование микрофлоры жабер и кишечника. После 14-дневного кормления рыб с применением пробиотических препаратов, вскрытие было проведено вновь.

Для определения количества молочнокислых микроорганизмов в жабрах и кишечнике рыб использовали метод глубинного посева из расчета 0,9 и 0,39 г жабр на среде капустный агар. Посевы инкубировались в течение 5 суток при температуре 30 °С. Определение численности микроорганизмов определяли из расчетов на 1 г.

Изучение микрофлоры жабер сеголетков русского осетра позволило установить, что после кормления рыб комбикормами с добавлением пробиотических препаратов численность микроорганизмов повысилась. В варианте с добавлением пробиотика «Ферм-КМ» с  $2,7 \times 10^5$  до  $5,2 \times 10^7$  КОЕ/г (опытная 2), в варианте с синбиотической добавкой «ПроСтор» с  $1,1 \times 10^5$  до  $8,5 \times 10^6$  КОЕ/г (опытная 1) (Таблица 24).

Таблица 24 - Численность молочнокислых микроорганизмов в жабрах сеголетков русского осетра, КОЕ/г

Показатель	Группа		
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
до кормления	$3,1 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$
после кормления	$1,4 \times 10^5$	$8,5 \times 10^6$	$5,2 \times 10^7$

В результате проведенных исследований в жабрах осетровых рыб выявлены молочнокислые микроорганизмы – грамположительные палочки и кокки. Обнаружено, что количество молочнокислых микроорганизмов в жабрах возрастает во время кормления рыб пробиотиками, а с прекращением кормления численность молочнокислых микроорганизмов снижается.

Для определения количества молочнокислых микроорганизмов в кишечнике рыб использовали метод глубинный посева из расчета 0,66 и 2,16 г кишок на среде капустный агар. Посевы инкубировались в течение 5 суток при температуре 30 °С. Определение численности микроорганизмов определяли из расчетов на 1 г.

Анализ кишечника сеголетков осетровых рыб до начала кормления выявил присутствие микроорганизмов разных таксонов: р. *Pseudomonas*, сем. Enterobacteriaceae, кокковые формы, р. *Bacillus*, грибы. Доминирующее положение среди выявленных микроорганизмов во всех вариантах опыта занимали представители р. *Citrobacter*, их количество в среднем составило  $22 \times 10^3$  КОЕ/г. В меньшем количестве встречаются микроорганизмы р. *Morganella*, вызывающие гнилостные процессы в кишечнике рыб. Количество кишечной палочки варьировало от 1,4 до  $2,5 \times 10^3$  КОЕ/г (Рисунок 10). В конце кормления наблюдается тенденция увеличения молочнокислых бактерий р. *Bacillus* (Рисунок 11).

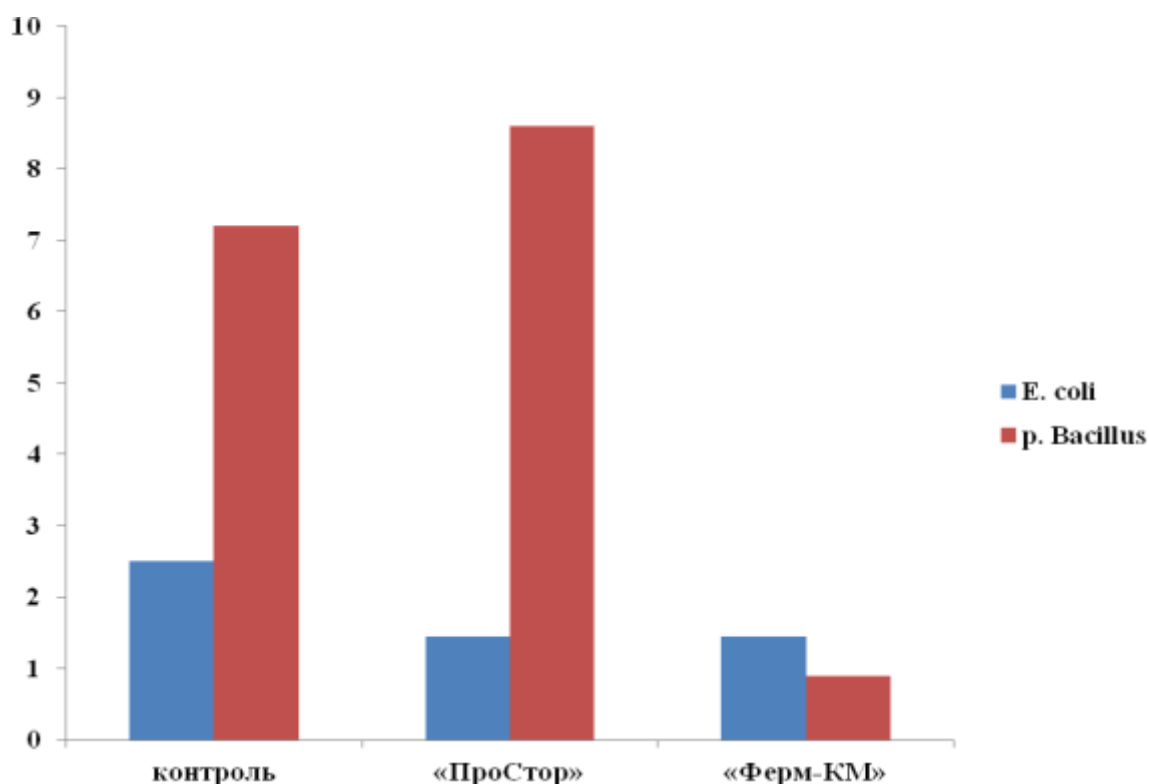


Рисунок 10 – Численность бактерий р. *Bacillus* и *E. Coli* в кишечнике сеголетков русского осетра до начала кормления, x 10<sup>3</sup> КОЕ/г

## p. *Bacillus*

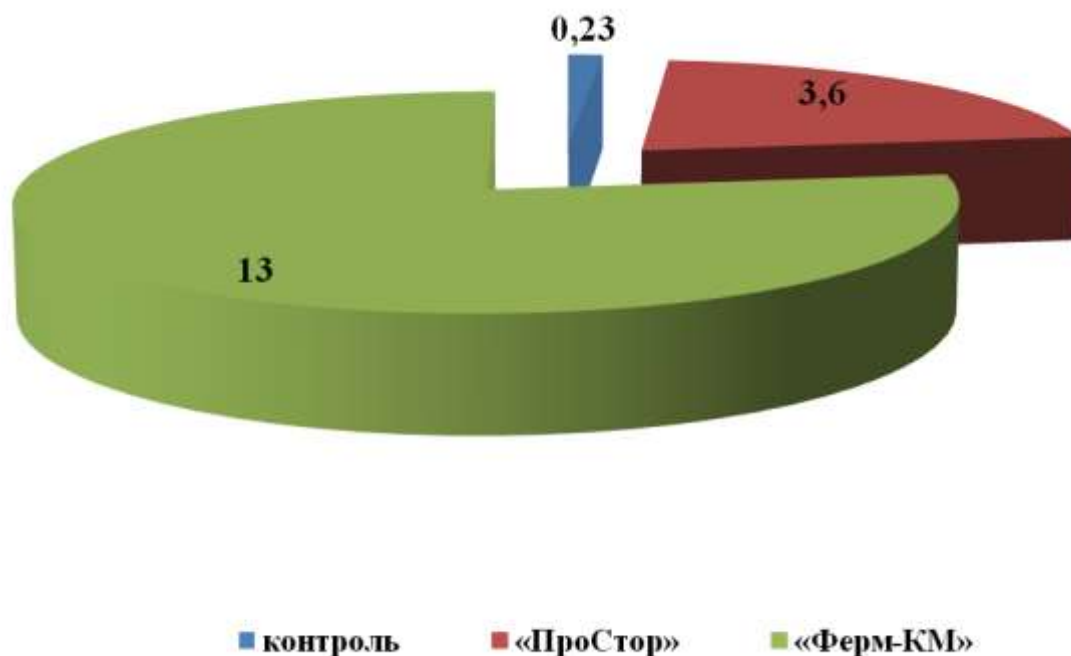


Рисунок 11 – Численность бактерий p. *Bacillus* в кишечнике русского осетра после кормления, x 10<sup>7</sup> КОЕ/г

Количественная характеристика микробного фона кишечника сеголеток русского осетра имела некоторые вариации не только в контрольном, но и в опытных вариантах. Во всех представленных опытах наблюдалась тенденция к увеличению количества микроорганизмов от начала эксперимента к его окончанию (Таблица 25). Общее количество микроорганизмов кишечника в контрольном варианте до начала кормления составило  $3,3 \times 10^5$  КОЕ/г, но уже в конце эксперимента данный показатель увеличился до  $1,2 \times 10^7$  КОЕ/г.

Таблица 25 - Численность молочнокислых микроорганизмов в кишечнике сеголетков осетровых рыб, КОЕ/г

Показатели	Контроль	«ПроСтор»	«Ферм-КМ»
до кормления	$3,3 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$
после кормления	$1,2 \times 10^5$	$6,0 \times 10^6$	$8,5 \times 10^7$

В варианте с применением пробиотика «Ферм-КМ» количество энтеробактерий составляет 41 % от общего количества микроорганизмов. В конце эксперимента в данном варианте отмечена элиминация р. *Enterobacter*. Это свидетельствует о том, что пробиотик «Ферм-КМ» имеет избирательную активность в отношении представителей некоторых групп патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в частности подавляет рост представителей родов *Pseudomonas*, *Staphylococcus*. При кормлении с добавлением пробиотика на основе энтеробактерий в кишечнике сеголеток отмечено появление бактерий р. *Bifidobacterium* и р. *Lactobacillus*, что способствовало подавлению эшерихий и кокковых форм.

Таким образом, при анализе полученных данных было выяснено, что, несмотря на значительное снижение роста энтеробактерий, а также представителей родов *Pseudomonas* и *Staphylococcus*, нельзя говорить о положительном эффекте действия пробиотических препаратов. В данном случае целесообразно провести дополнительные исследования и усовершенствовать схему кормления.

### **3.5 Влияние пробиотических препаратов на микрофлору воды при выращивании осетровых рыб**

Вода является естественной средой обитания многих микроорганизмов. Основная масса бактерий поступает из почвы. Количество микроорганизмов в 1 мл воды зависит от наличия в ней питательных веществ: чем вода сильнее загрязнена органическими веществами, тем больше в ней микроорганизмов. Особенно опасно попадание болезнетворных бактерий в водопроводную сеть, поэтому за состоянием водоемов и подаваемой из них водопроводной воды установлен санитарно-бактериологический контроль.

Возбудителями инфекционных заболеваний являются условно-патогенные микроорганизмы, которые населяют кожные покровы и слизистые оболочки рыб (Бурлаченко, 2008). К таким микроорганизмам можно отнести бактерии рода



*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Streptococcus* и т.д. Слизистые оболочки являются естественным барьером, однако при возникновении неблагоприятных условий защитные функции организма могут нарушиться, и бактерии слизистых оболочек проникают во внутренние органы, активно размножаясь и вызывая ряд негативных явлений (Шульга, 2006).

На основании вышесказанного возникает острая необходимость изучения влияния пробиотических препаратов нового поколения на обсемененность воды при выращивании осетровых рыб в индустриальных условиях.

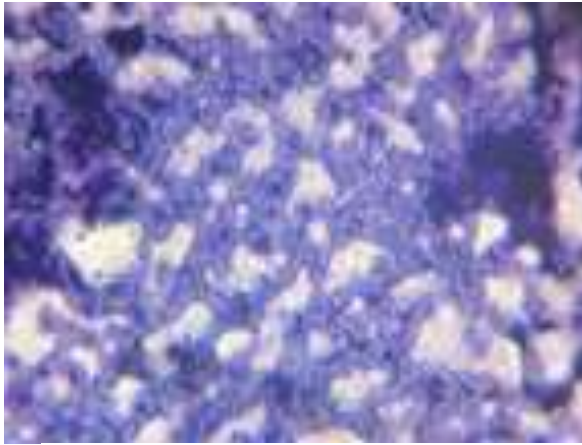
Для этого был проведен анализ микробного фона воды до кормления, во время кормления и после кормления пробиотическими препаратами нового поколения.

Обнаружено, что общий микробный фон воды изменялся в сторону снижения общего микробного числа с  $3,1 \times 10^4$  до  $3,0 \times 10^3$  КОЕ/ мл (контроль), с  $5,9 \times 10^4$  до  $2,0 \times 10^3$  КОЕ/ мл («ПроСтор») и с  $1,3 \times 10^5$  до  $1,0 \times 10^4$  КОЕ/ мл («Ферм-КМ») (Таблица 26).

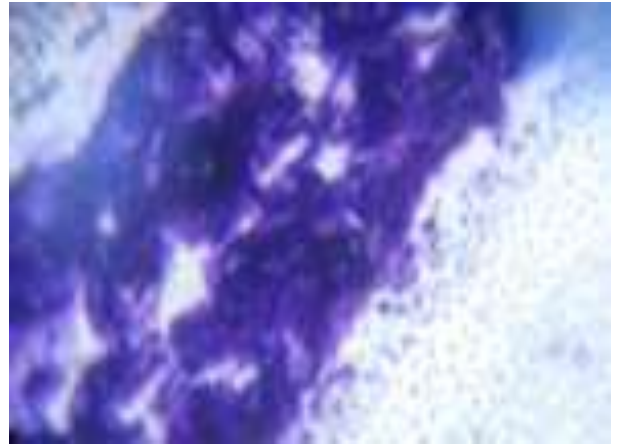
Таблица 26 – Обсемененность воды в период выращивания осетровых рыб

Показатели	Контроль	«ПроСтор»	«Ферм-КМ»
До кормления	$3,1 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$
Во время кормления	$1,5 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$
После кормления	$3,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$

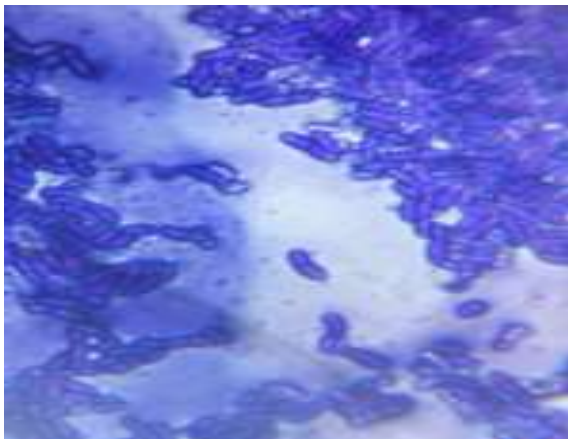
Во всех вариантах опыта и контроле до начала кормления в воде присутствовали грамположительные спорообразующие палочки (Рисунок 12), грамположительные кокки, а также мицелиальные колонии плесневого гриба *Aspergillus niger*, являющегося возбудителя аспергиллеза – микоза, поражающего дыхательную систему. Заражение происходит при проглатывании спор патогенных аспергилл, при проникновении их через поврежденную кожу или слизистые оболочки. После курса кормления рыб комбикормами с добавлением пробиотических препаратов наличие плесневого грибка в воде значительно снизилось.



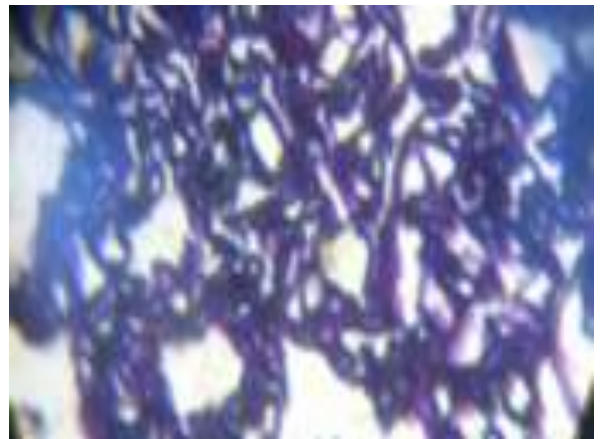
а



б



в



г

Рисунок 12 – Грамположительные палочки в воде (а, б, в, г)

Таким образом, выявлено положительное влияние пробиотиков нового поколения на микрофлору воды, выраженное в отсутствии грамотрицательных микроорганизмов, являющихся источниками большого количества инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Второй этап микробиологических исследований основан на изучении влияния пробиотических препаратов нового поколения на обсемененность сухих комбикормов для осетровых рыб микроорганизмами.

При выделении микроорганизмов из проб кормов был обнаружен сплошной зарос колоний (мелкие, белые, круглые). Также чувствовался кислый запах, цвет среды имел светло-зеленый цвет (Рисунок 13). При изучении морфологических свойств выделенных микроорганизмов были обнаружены крупные грамположительные палочки.

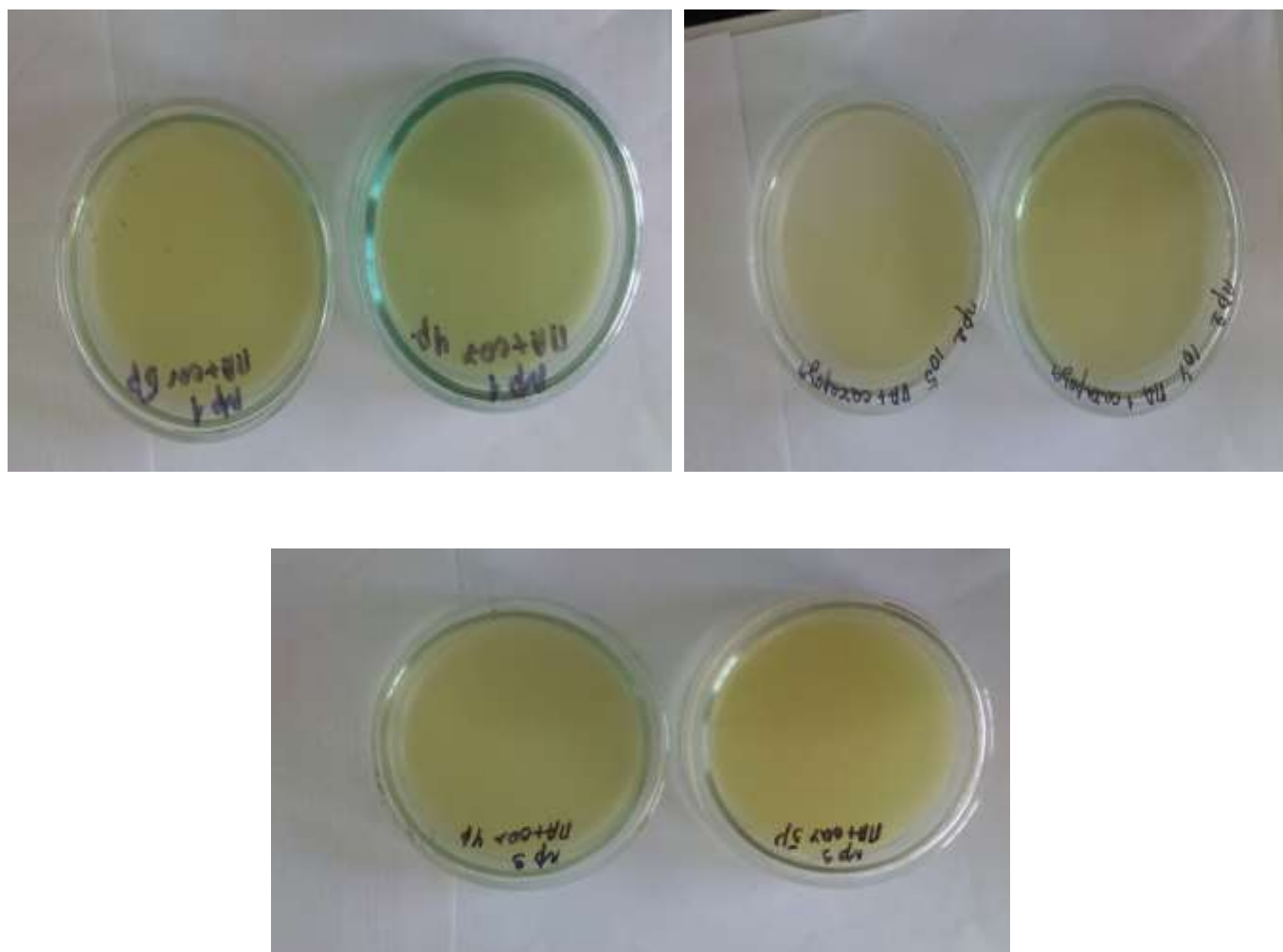


Рисунок 13 – Посев микрофлоры комбикормов для осетровых рыб

Фоновый уровень обсемененности комбикорма молочнокислыми бактериями составлял  $1,7 \cdot 10^6$  КОЕ/мл, в то время как в комбикормах с добавлением пробиотических препаратов численность микроорганизмов варьировала от  $4,2 \cdot 10^6$  до  $4,3 \cdot 10^6$  КОЕ/мл (Таблица 27).

Таблица 27 - Численность молочнокислых микроорганизмов в пробе кормов

№ пробы	Кол-во аэробных микроорганизмов	Кол-во анаэробных микроорганизмов	Кол-во мицелиальных микроорганизмов	Общее микробное число (КОЕ/мл)
Контроль	46	10	-	$1,7 \cdot 10^6$
«ПроСтор»	45	15	-	$4,2 \cdot 10^6$
«Ферм-КМ»	49	18	-	$4,3 \cdot 10^6$

При определении количества молочнокислых микроорганизмов в комбикормах с добавлением пробиотических препаратов обнаружено, что после 5 суток инкубации при температуре 30 °С отмечен рост молочнокислых микроорганизмов. В результате чего во всех исследуемых пробах кормов обнаружено появление осадка, изменение цвета среды, наличие пленки (Рисунок 14).

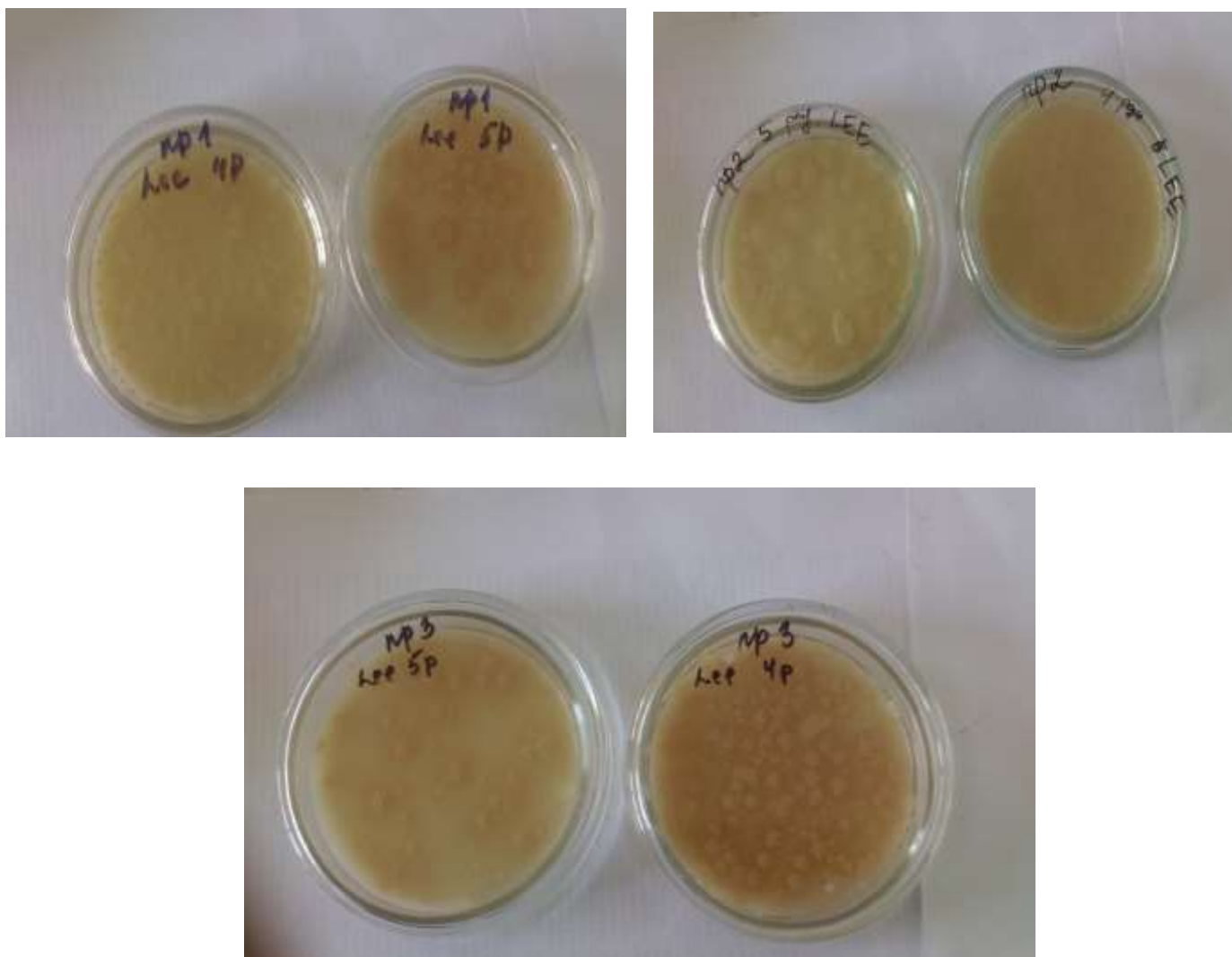


Рисунок 14 – Обсемененность комбикормов для осетровых рыб через 5 дней инкубации

В результате выделения молочнокислых микроорганизмов, из кормов рыб в жидких средах обнаружен рост грамположительных палочек и кокков, относящиеся к родам *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*. Отсутствие роста грамположительных микроорганизмов на среде МПБ, свидетельствует о

наличие в кормах молочнокислых микроорганизмов, относящиеся к р. *Streptococcus*.

Таким образом, установлено, что применение пробиотических препаратов нового поколения в составе стартовых и продукционных комбикормов для осетровых рыб способствует снижению уровня бактериальной обсемененности воды, а также увеличению обсемененности комбикормов молочнокислыми бактериями, что связано с наличием различных штаммов бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, оказывающих антагонистическое действие на широкий спектр патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

### **3.6 Введение пробиотических препаратов в продукционные комбикорма для двухлеток осетровых рыб**

Для оценки эффективности пробиотических препаратов нового поколения при добавлении в продукционные комбикорма при товарном выращивании осетровых рыб были проведены исследования в садковом комплексе ГКФХ Полякова С.Ю. на двухлетках русского осетра.

В первой части экспериментальных работ были определены нормы ввода пробиотика «Ферм-КМ» в продукционные комбикорма. Для этого двухлетки русского осетра были разделены на 4 группы: контрольная, опытная 1 - с нормой ввода 3 г/кг комбикорма, опытная 2 - с нормой ввода 5 г/кг комбикорма, опытная 3 - с нормой ввода 7 г/кг комбикорма.

При кормлении рыб с добавлением пробиотика в виде биопленки «Ферм-КМ» лучшие рыбоводно-биологические показатели наблюдались в опытном варианте, где норма ввода составляла 5 г/кг корма (опытная 2). За 30 суток абсолютный прирост в этой группе составил 109,7 г, что на 23,6 г выше, чем в контроле (Таблица 28).











1	2	3	4
Коэффициент упитанности по Фультону, %	0,22	0,37	0,36
Коэффициент массонакопления, ед	0,03	0,03	0,03
Кормовой коэффициент	1,8	1,6	1,5
Выживаемость, %	100	100	100
Период выращивания, сут.	150	150	150

Примечание: различия достоверны при \*\*\* -  $P > 0,999$

При кормлении рыб комбикормами с добавлением пробиотика «Ферм-КМ» (опытная 2) наблюдалось наиболее высокое значение абсолютного прироста (512,1 г), что на 29,7 г выше, чем при добавлении в комбикорма синбиотической добавки «ПроСтор» (опытная 1). Показатели среднесуточной скорости роста незначительно отличались, как в контроле, так и в опытных вариантах и колебались в пределах 0,23-0,27 % (Рисунок 15).

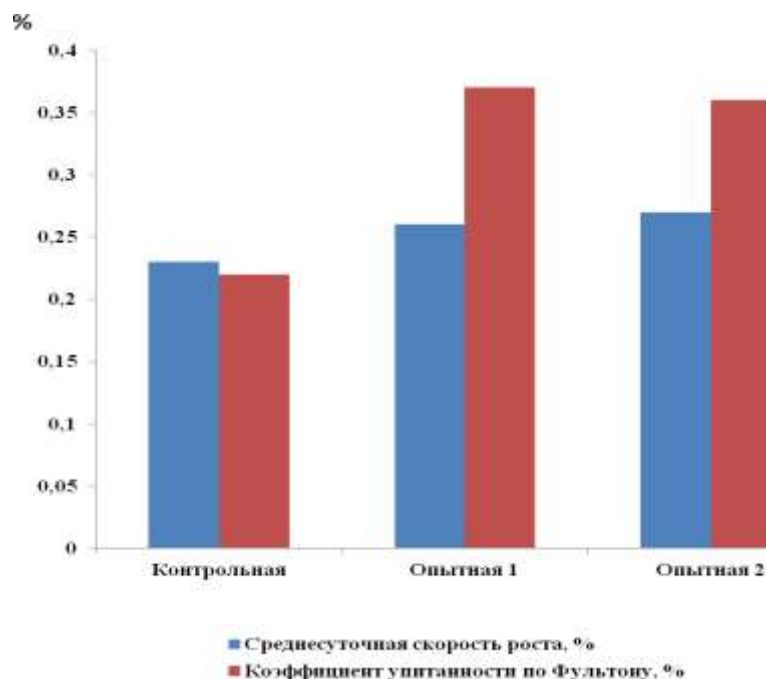


Рисунок 15 – Рыбоводно-биологические показатели выращивания осетровых рыб до товарной массы на комбикорме ОТ-7 с добавлением пробиотических препаратов

Таким образом, по данным биологических показателей роста, выживаемости можно говорить о положительном действии данных пробиотических препаратов при добавлении их в продукционные корма для осетровых рыб. Введение их в рецептуру корма дает увеличение прироста массы и упитанности рыб. По итогам выращивания двухлеток русского осетра в индустриальных условиях отмечено, что из двух образцов пробиотиков более эффективным оказался образец пробиотика в виде биопленки «Ферм-КМ».

По результатам расчетов экономической эффективности применения продукционных комбикормов с пробиотическими установлено, что уровень рентабельности опытных вариантов был выше, чем в контроле и составил 50,7 % (опытная 1) и 54,3 % (опытная 2) (Таблица 31).

Таблица 31 - Расчет экономической эффективности использования продукционных комбикормов при выращивании осетровых рыб до товарной массы

Показатель	Ед. измерения	Группа		
		Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
Посажено на выращивание	Шт.	100	100	100
Средняя масса	кг	1,358	1,495	1,553
Суточная норма кормления	%	2	2	2
Длительность кормления	Сут.	150	150	150
Всего затрачено кормов	кг	407,4	448,5	465,9
Стоимость комбикормов	Руб/кг	72,2	95,4	90,5
Затраты на комбикорма	Руб.	29414	42787	42163
Реализационная стоимость 1 кг рыбы	Руб/кг	820	1300	1400
Общая сумма выручки от реализации, руб.	Руб.	82000	130000	140000
Себестоимость 1 кг рыбы	Руб.	490	640	640
Прибыль	Руб	33000	66000	76000
Уровень рентабельности	%	40,2	50,7	54,3

Таким образом, применение пробиотических препаратов в продукционных комбикормах при выращивании осетровых рыб позволяет кормовые затраты и получить увеличение прибыли с 1 кг товарной продукции на 660 рублей при использовании пробиотика «ПроСтор» (опытная 1) и на 760 рублей при применении пробиотика «Ферм-КМ» (опытная 2), увеличивая рентабельность на 10,5-14,1 %.

Для оценки физиологического состояния рыб во всех вариантах экспериментов был выполнен анализ гематологических показателей русского осетра (Таблица 32).

Таблица 32 – Биохимические показатели крови при выращивании осетровых рыб до товарной массы на опытных комбикормах (n=20)

Показатель	Группа		
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
Начало эксперимента			
Гемоглобин, г/л	63,8±0,4	64,4±1,3	65,8±0,8
СОЭ, мм/ч	2,6±0,2	2,8±0,1	2,7±0,6
Общий белок, г/л	28,4±0,8	27,6±0,3	27,8±0,5
Холестерин, ммоль/л	2,9±0,19	2,8±0,12	2,7±0,08
Общие липиды, г/л	3,8±0,4	3,7±0,9	3,6±0,7
Конец эксперимента			
Гемоглобин, г/л	64,5±0,6	75,2±0,5***	77,5±0,9***
СОЭ, мм/ч	2,1±0,3	2,2±0,1	2,0±0,5
Общий белок, г/л	21,8±0,5	26,9±0,3	27,8±0,6
Холестерин, ммоль/л	2,5±0,2	1,6±0,8	1,8±0,6
Общие липиды, г/л	3,7±0,3	5,2±0,7	6,6±0,4

Примечание: различия достоверны при \*\*\* -  $P > 0,999$

У разновозрастных осетровых СОЭ соответствует в среднем 2,5 мм/час, гемоглобин 50–80 г/л (Гершанович и др., 1987). Таким образом, из таблицы 27 видно, что по этим показателям физиологическое состояние русского осетра находится в пределах нормы. У рыб, потреблявших корм с добавлением

пробиотика «Ферм-КМ» (опытная 2), гемоглобин повысился с 65,8 г/л до 77,5 г/л (Рисунок 16). В контрольном варианте значительных изменений по данному показателю отмечено не было. Самая высокая скорость оседания эритроцитов наблюдалась перед началом выращивания у группы рыб опытной группы 2, однако, кормление опытным кормом снизило этот показатель до 1,8 мм/ч.

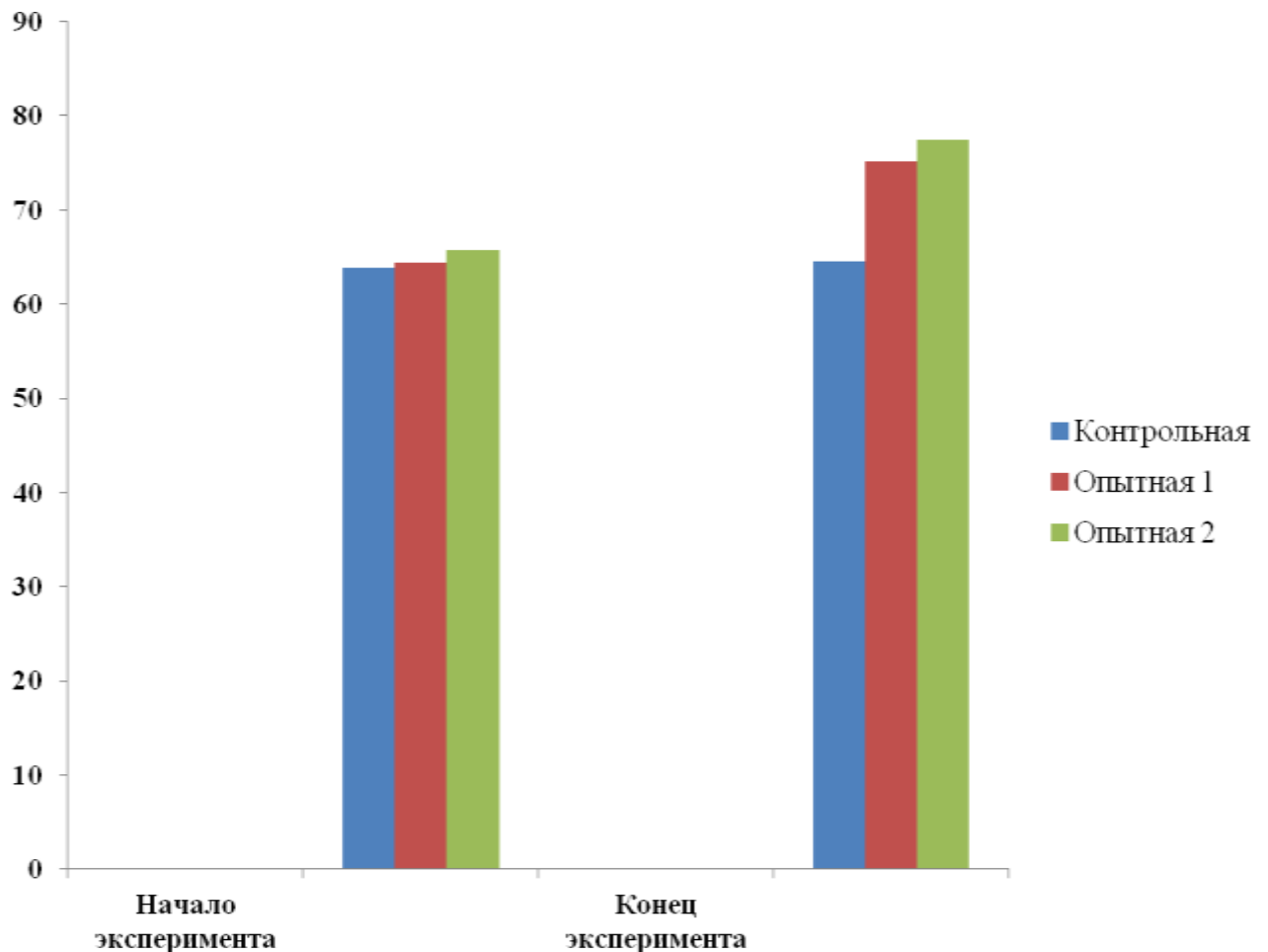


Рисунок 16 – Уровень гемоглобина в крови двухлетков русского осетра при кормлении комбикормом ОТ-7 с добавлением пробиотических препаратов, г/л

Концентрация сывороточного белка, как в контроле, так и в опытных вариантах колебалась в пределах нижней границы нормы, характерной для рыб из естественных водоёмов (25–40 г/л). Относительно низкий уровень сывороточного белка часто наблюдается у молоди осетровых при выращивании в условиях рыбоводных заводов заводов (Zuker-Franklin et al., 1981; Гершанович и др., 1987).

Возможно, это связано как со спецификой питания, так и с уровнем стрессовой нагрузки, которая всегда присутствует при содержании рыбы в прудах или бассейнах. Это приводит к излишним тратам легко реализуемого в процессе обмена такого биохимического субстрата, как белок. Дополнительная энергия в этом случае используется для преодоления стресса. Наличие стрессовой ситуации подтверждается повышенным уровнем холестерина в крови у рыб, как в контроле, так и в опыте. У экспериментальных рыб он в не превышал 2,9 ммоль/л. Если рассматривать холестерин как биохимический компонент, способствующий преодолению опытными рыбами стрессовых нагрузок, повышенный его уровень (на 30–40 %) вполне закономерен.

Концентрация общих липидов в период исследований у рыб опытных вариантов превышала норму незначительно (3–5 г/л). Это позволяет сделать вывод о том, что направленность жирового обмена у этих рыб способствовала нормальному процессу накопления энергетических ресурсов.

На основе проведенных гематологических исследований можно констатировать, что изучаемые пробиотические препараты не вызывали отклонений в состоянии здоровья рыб и нарушений в обмене веществ. Добавление их в продукционные комбикорма для осетровых рыб эффективно и способствует получению более высоких рыбоводно-биологических показателей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обеспечивая восстановление микробиоценоза желудочно-кишечного тракта рыб, пробиотические добавки позволяют усилить их резистентность к неблагоприятным факторам, увеличивают показатели прироста, улучшают обмен веществ, повышают усвояемость питательных веществ рациона и выживаемость рыб, стимулируют их рост и развитие, снижают применение антибиотиков.

В диссертационной работе научно обосновано применение пробиотических препаратов нового поколения в сухих комбикормах для осетровых рыб. Наиболее технологично использовать сухую форму пробиотика, так как она выдерживает процессы гранулирования, экспандирования и экструдирования комбикормов, что способствует получению лечебно-профилактических кормов в промышленных масштабах и упрощает использование данных препаратов в рыбоводстве.

В проведенных исследованиях впервые изучено влияние пробиотического препарата в составе преднерестового комбикорма на репродуктивные показатели осетровых рыб. Выявлено, что разработанный преднерестовый комбикорм соответствует физиологической потребности осетровых рыб в биологически активных веществах в период формирования и созревания гонад.

Внесение пробиотиков нового поколения в стартовые и продукционные комбикорма для осетровых рыб оказало положительный эффект на рост, выживаемость и физиологическое состояние рыб. Полученное положительное действие можно объяснить их способностью, вырабатывать непосредственно в кишечнике жизненно важные пищеварительные ферменты и витамины, оказывая тем самым ярко выраженный ростостимулирующий эффект.

Показатели крови (уровень гемоглобина, общего белка, липидов) позволили сделать вывод о высоком качестве и эффективности применения комбикормов в комплексе с пробиотическими препаратами. Они не вызывали отклонений в состоянии здоровья рыб и нарушений в обмене веществ.

Анализ микрофлоры жабер и кишечника исследуемых рыб установил, что введение пробиотиков в комбикорма позволяет снизить численность патогенных

и условно-патогенных микроорганизмов. Полученные данные по обсеменности воды и комбикормов для осетровых рыб свидетельствовали об отсутствии грамтрицательных микроорганизмов, являющихся источниками большого количества инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Полученные в ходе проведенных исследований данные позволяют рекомендовать введение в состав преднерестовых, стартовых и продукционных комбикормов для осетровых рыб пробиотических препаратов в виде биопленки на твердом фитонosite, позволяющие повысить показатели роста, снизить кормовые затраты, а также поддерживать физиологическое состояние рыб на соответствующем нормам уровне.

## ВЫВОДЫ

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы:

1. Применение пробиотического препарата «Ферм-КМ» в составе преднерестового комбикорма для производителей осетровых рыб в количестве 6 г/кг комбикорма соответствует физиологической потребности осетровых рыб в биологически активных веществах в период формирования и созревания гонад. Кормление производителей комбикормом с пробиотическим препаратом способствует увеличению рабочей плодовитости до 237,6 тыс.шт., увеличению процента оплодотворения икры до 89,5 %. Исследования эякулятов самцов стерляди показало увеличение процента созревания до 89,8%.

2. Оптимальная доза ввода пробиотических препаратов состав в стартовых комбикормов - 2 г/кг комбикорма увеличивает рыбоводно-биологические показатели (абсолютный прирост на 2,1-2,3 г, среднесуточную скорость роста до 3,84 %, выживаемость до 84 %). Введение в состав продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб: «ПроСтор» - 2,5 г/кг, «Ферм-КМ» - 3 г/кг комбикорма, в состав продукционных комбикормов для выращивания осетровых рыб до товарной массы: «ПроСтор» - 4 г/кг, «Ферм-КМ» - 5 г/кг комбикорма обеспечивает увеличение прироста массы рыбы на 512,1 г и снижение кормовых затрат на единицу продукции до 1,6 ед.

3. Применение пробиотических препаратов нового поколения в составе продукционных комбикормов для молоди осетровых рыб способствует увеличению количества полезных микроорганизмов в жабрах (до  $5,2 \times 10^7$  КОЕ/г) и кишечнике (до  $8,5 \times 10^7$  КОЕ/г) осетровых рыб.

4. Применение пробиотических препаратов снижает уровень бактериальной обсемененности воды с  $1,3 \times 10^5$  до  $1,0 \times 10^4$  КОЕ/мл, а также увеличению обсемененности комбикормов молочнокислыми бактериями до  $4,3 \times 10^6$  КОЕ/мл.

5. Использование пробиотического препарата «Ферм-КМ» в преднерестовых комбикормах для производителей осетровых рыб способствует увеличению рентабельности до 50,5 % и общей выручке от реализации икры



21,4 тыс.руб. Применение пробиотиков в продукционных комбикормах для молоди осетровых рыб позволил увеличить уровень рентабельности до 80-83,3 %, для двухлеток осетровых рыб прибыль товарной продукции на 660 руб. («ПроСтор») и 760 рублей («Ферм-КМ»).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения репродуктивных качеств производителей осетровых рыб рекомендуем вводить в преднерестовые комбикорма пробиотический препарат «Ферм-КМ» в дозе 6 г/кг комбикорма.

2. Для повышения рыбоводно-биологических, гематологических, микробиологических и экономических показателей осетровых рыб рекомендуем использовать в составе комбикормов пробиотические препараты с нормой ввода: в стартовые комбикорма - 2 г/кг комбикорма, в производственные комбикорма молоди осетровых рыб: «ПроСтор» - 2,5 г/кг, «Ферм-КМ» - 3 г/кг комбикорма, в производственные комбикорма для выращивания осетровых рыб до товарной массы: «ПроСтор» - 4 г/кг, «Ферм-КМ» - 5 г/кг комбикорма.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- 1 Абрамова, Ж. И. Человек и противокислительные вещества [Текст] / Ж. И. Абрамова, Г. И. Оксигендлер. – Л. : Наука, 1985. – 230 с.
- 2 Абросимов, С. С. Особенности липидного и жирнокислотного обмена при некоторых заболеваниях рыб [Текст] / С. С. Абросимов, Е. Ю. Хлебнова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2004. – № 9. – С. 56–60.
- 3 Абросимова, Н. А. Инструкция по бассейновому выращиванию молоди осетровых на предприятиях Азово-Донского района с использованием стартового комбикорма СТ-4Аз [Текст] / Н. А. Абросимова, Е. А. Гамыгин, Е. Г. Балов, М. В. Сафонова.- Ростов-на-Дону: АзНИИРХ, 1989.- 24 с.
- 4 Аминова, В. А. Физиология рыб [Текст] : учеб. / В. А. Аминова, А. А. Яржомбек. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 2000. – 200 с.
- 5 Антипов, В. А. Биологические препараты симбионтных микроорганизмов и их применение в ветеринарии [Текст] / В. А. Антипов // Сельское хозяйство за рубежом. – 1981. – № 2. – С. 43–47.
- 6 Афонский, С. И. Биохимия животных [Текст] : учеб. / С. И. Афонский. – М. : Высшая школа, 1970. – 611 с.
- 7 Бахарева, А. А. Влияние уровня жира в кормах на физиологическое состояние рыб [Текст] / А. А. Бахарева, Ю. Н. Грозеску, С. В. Пономарёв, М. А. Горбунова, М. В. Андреев // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство.- 2014. - № 1. – С. 55- 61.
- 8 Бессарабов, Б. Ф. Влияние пробиотиков на рост и сохранность цыплят [Текст] / Б. Ф. Бессарабов, А. Крыканов, И. Мельникова и др. // Птицеводство. – 1996. – № 1. – С. 25.
- 9 Бовкун, Г. Ф. Профилактическое действие бифинома при желудочно-кишечных болезнях цыплят [Текст] / Г. Ф. Бовкун, А. Н. Нигманов // Ветеринария. – 1998. – № 12. – С. 44–47.

10 Богатырев, И. Н. Использование биопрепаратов в кормлении животных для получения экологически чистого сырья [Текст] / И. Н. Богатырев // Современное комбикормовое производство и перспективы его развития. – М. : МПА, 2003. – С. 84–88.

11 Бондаренко, Л.Г. Опыт выращивания личинок русского осетра на сухих гранулированных кормах [Текст] / Л. Г. Бондаренко // Сб. науч. тр. Гос- НИОРХ. вып. 213. Рыбхозяйственное освоение и повышение продуктивности водоемов Сев. Кавказа.- Л., 1984. С. 60-67.

12 Бондаренко, В. М. Пробиотики, пребиотики, симбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов [Текст] / В. М. Бондаренко, Н. М. Грачева // Фарматика. – 2003. – № 7. – С. 56-63.

13 Бондаренко, В. М. О совершенствовании пробиотических препаратов / В. М. Бондаренко [Текст] // Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания, фундаментальные и клинические аспекты. – 2007. – № 1-2. – С. 24-25.

14 Борисова, М. Н. Субалин для рыб [Текст] / М. Н. Борисова, Т. М. Новоскольцева, И. П. Иренков и др. // Рыбоводство и рыболовство. – 2000. – № 2. – С. 21.

15 Бурлаченко, И. В. Бактериальная обсемененность комбикормов и ее влияние на молодь стерляди / И. В. Бурлаченко, К. Б. Аветисов, Л. Н. Юхименко, Л. И. Бычкова // Тр. ВНИРО. Т.141.-М.: ВНИРО, 2002. – с.194-208.

16 Бурлаченко, И. В. Способ клинической оценки состояния осетровых рыб при их культивировании в установках с замкнутым циклом водообеспечения [Текст] / И. В. Бурлаченко, Л. И. Бычкова // Рыбное хозяйство. – 2005. – № 6. – С. 70–72.

17 Бурлаченко, И. В. Актуальные вопросы безопасности комбикормов в аквакультуре рыб [Текст] / И. В. Бурлаченко. – М.: Изд-во ВНИРО, 2008. – 182 с.

18 Васильева, Л. М. Кормление осетровых рыб в индустриальной аквакультуре [Текст] / Л. М. Васильева, С. В. Пономарев, Н. В. Судакова. – Астрахань, 2006. – 86 с.

19 Верховцева, Н. В. Свойства и трофические связи основных групп микроорганизмов отделов кишечника и фекалий по данным измерений микробных маркеров методом ГХ-МС [Текст] / Н. В. Верховцева, Г. А. Осипов // Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы : сб. мат-лов Междунар. конф. – М., 2004. – С. 20–64.

20 Воробьев, А. А. Бактерии нормальной микрофлоры: Биологические свойства и защитные функции [Текст] / А. А. Воробьев, Е. А. Лыкова // Журнал микробиологии. – 1999. – № 6. – С. 102–105.

21 Гаврилин, К. В. Влияние факторов окружающей среды на микробиоценоз рыбоводных прудов [Текст] / К. В. Гаврилин, Л. П. Юхименко, Л. И. Бычкова // Аквакультура начала XXI века: истоки, состояние, стратегия развития : мат-лы Междунар. науч.-практ. конф. – М. : ВНИРО, 2002. – С. 282–285.

22 Гамыгин, Е. А. Комбикорма для рыб [Текст] / Е. А. Гамыгин, В. Я. Лысенко, В. Я. Складов, В. И. Турецкий. – М. : Агропромиздат, 1989. – 168 с.

23 Гершанович, А. Д. Экология и физиология молоди осетровых [Текст] / А. Д. Гершанович, В. А. Пегасов, М. И. Шатуновский. – М. : Агропромиздат, 1987. – 215 с.

24 Гинцбург, А. Л. «Quorum sensing», или социальное поведение бактерий [Текст] / А. Л. Гинцбург, Т. С. Ильина, Ю. М. Романова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2003. – № 5. – С. 86–93.

25 Грязнева, Т. Н. Применение пробиотика Биод-5 в рационах кормления поросят-отъемышей [Текст] / Т. Н. Грязнева // Зоотехния. – 2005. – № 8. – С. 15.

26 Данилевская, Н. В. Пробиотики в ветеринарии [Текст] / Н. В. Данилевская, М. А. Сидоров, В. В. Субботин // Ветеринария. – 2000. – № 11. – С. 17–22.

27 Детлаф, Т.А Развитие осетровых рыб [Текст] / Т.А. Детлаф, А.С. Гинцбург, О.И. Шмальгаузен.- М.: Наука, 1981. – 224с.

28 Егоров, И. Эффективность пробиотика терацид С [Текст] / И. Егоров, Ш. Имангулов, К. Харламов и др. // Птицеводство. – 2007. – № 6. – 56 с.

29 Жирков, И. Н. Применение пробиотика РАС для коррекции дисбактериозов для телят [Текст] / И. Н. Жирков, И. И. Братухин // Ветеринария. – 1999. – № 4. – С. 40–42.

30 Иванов, А. А. Физиология рыб [Текст] : учеб. для вузов / А. А. Иванов. – М. : Мир, 2003. – 280 с. – (Сер.: Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений).

31 Иноземцев, В. П. Новое эффективное средство для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней телят [Текст] / В. П. Иноземцев и др. // Ветеринария. – 1998. – № 1. – С. 47–51.

32 Казаков, Р.В. Методы оценки половых клеток рыб: рыбоводная оценка спермы [Текст] / Р.В. Казаков, А.Н. Образцов // Обз. Инф. Сер. Мариккультура. ВНИЭРХ. – 1990. – №4. – С. 1-54.

33 Калюжин, О. В. Пробиотики как современные средства укрепления противоинфекционной иммунной защиты: миф или реальность [Текст] / О. В. Калюжин // Русский медицинский журнал. – 2012. – Т. 20, № 28. – С. 1395–1401.

34 Кислюк, С. М. Целлобактерин – многофункциональная кормовая добавка [Текст] / С. М. Кислюк, Н. И. Новикова, Г. Ю. Лаптев // Свиноводство. – 2004. – № 3. – С. 34.

35 Клименко, В. В. Применение пробиотиков в ветеринарии [Текст] / В. В. Клименко // Биотехнология, экология, медицина : мат-лы III–IV Междунар. науч. семинаров. – Киров : ЭКСПРЕСС, 2002. – С. 32–34.

36 Коршунов, В. М. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника [Текст] / В. М. Коршунов, Н. Н. Володин, Б. А. Ефимов и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2000. – № 3. – С. 86–91.

37 Кощаев, А. Кормовые добавки на основе живых культур микроорганизмов [Текст] / А. Кощаев, А. Петенко, А. Калашников // Птицеводство. – 2006. – № 11. – С. 43-45.

38 Кравцова, Л. З. Пробиотики, как элемент технологии производства безопасной продукции животноводства и птицеводства [Текст] / Л. З. Кравцова,

Л. С. Несиневич, Т. В. Олива и др. // Актуальные проблемы сельскохозяйственной биотехнологии : мат-лы науч.-практ. конф. – Воронеж, 2004. – С. 19–20.

39 Куваева, Н. Б. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора [Текст] / Н. Б. Куваева. – М. : Медицина, 1976. – С. 148–160.

40 Кулаков, Г. В. Субтилис – натуральный концентрированный пробиотик [Текст] / Г. В. Кулаков. – М. : Визави, 2003. – 48 с.

41 Купинский, С. В. Радужная форель – предварительные параметры стандартной модели массонакопления [Текст] / С. В. Купинский, С. А. Баранов, В. Ф. Резников // Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах : сб. науч. тр. ВНИИПРХ. – М. : ВНИИПРХ, 1986. – Вып. 46. – С. 109–115.

42 Корочкин, О. Л. Приживаемость бифидобактерий у цыплят [Текст] / О. Л. Корочкин // Состояние и перспективы развития научных исследований по профилактике и лечению болезней сельскохозяйственных животных и птиц : мат-лы науч. конф. – Краснодар, 1996. – С. 104–106.

43 Лакин, Г.Ф. Биометрия [Текст] / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. – 293 с.

44 Литвина, Л. А. Микробиоценоз кишечника и его роль в поддержании гомеостаза [Текст] / Л. А. Литвина // Проблемы сельскохозяйственной экологии. – Новосибирск, 2000. – С. 51-52.

45 Лянная, А. М. Биологические и экологические особенности рода *Bifidobacterium* [Текст] / А. М. Лянная, М. М. Интизаров, Е. Е. Донских // Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. – М., 1986. – С. 32–38.

46 Макаров, Э. В. Проблемы сохранения и восстановления популяций осетровых и перспективы развития осетроводства в Азовском бассейне [Текст] : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Э. В. Макаров. – М., 2000. – 69 с.

47 Малик, Н. И. Ветеринарные пробиотические препараты [Текст] / Н. И. Малик, А. Н. Панин // Ветеринария. – 2001. – № 1. – С. 46–51.

48 Марков, Ю. М. Некоторые аспекты по повышению естественной резистентности и стрессоустойчивости животных в условиях промышленных

комплексов [Текст] / Ю. М. Марков, А. И. Нестерова // Ветеринария. – 1987. – № 12. – С. 3–5.

49 Марков, А. В. Проблема происхождения эукариот [Текст] / А. В. Марков // Палеонтологический журнал. – 2005. – Т. 2. – С. 3–12.

50 Матишов, Г. Г. Выращивание осетровых рыб в условиях замкнутого водоснабжения [Текст] / Г. Г. Матишов, Е. Н. Пономарева, П. А. Балыкин // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана : сб. науч. тр. Камчат. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. – 2008. – Вып. 11. – С. 47–56.

51 Матишов, Г. Г. Опыт выращивания осетровых рыб в условиях замкнутой системы водообеспечения для фермерских хозяйств [Текст] / Г. Г. Матишов, Д. Г. Матишов, Е. Н. Пономарева и др. – Ростов н/Д. : ЮНЦ РАН, 2006. – 72 с.

52 Мирошник, О. А. Бактерийные и биологические препараты для коррекции дисбиозов и их рациональное применение [Текст] / О. А. Мирошник // Омская медицинская газета. – 1997. – № 8 (май).

53 Михеева, И. В. Основы водной токсикологии [Текст] : учеб. пос. / И. В. Михеева, О. Ф. Филенко. – М. : Колос, 2007. – 144 с.

54 Мусселиус, В. А. Лабораторный практикум по болезням рыб [Текст] / В. А. Мусселиус. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 296 с.

55 Наумкин, И. В. Стимуляция роста телят с использованием полирибоната [Текст] / И. В. Наумкин // Новые фармакологические средства в ветеринарии: Тез. докл. 3-й межвуз. науч.-практ. конф.- Спб.- 1991.- С.44-45.

56 Научно-технический центр биологических технологий в сельском хозяйстве [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.ntcbio.ru](http://www.ntcbio.ru), свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус.

57 Ноздрин, Г. А. Влияние ветома-1.1. и ветома-2 на интенсивность роста и развития поросят в подсосный период [Текст] / Г. А. Ноздрин, А. И. Леляк и др. // Актуальные вопросы ветеринарии : тез. докл. I науч.-практ. конф. – Новосибирск, 1997. – С. 9–10.



58 Ноздрин, Г. А. Новые иммуномодуляторы и лечебно-профилактические средства [Текст] / Г. А. Ноздрин, В. Н. Зеленков // Новые фармакологические средства в ветеринарии : тез. докл. к 4-й межгос. межвуз. науч.-практ. конф. – СПб., 1992. – С. 31–32.

59 Ноздрин, Г. А. Пробиотики и микронутриенты при интенсивном выращивании цыплят кросса Смена [Текст] / Г. А. Ноздрин, А. Б. Иванова, А. И. Шевченко, С. А. Шевченко. – Новосибирск : НГАУ, 2009. – 207 с.

60 Онищенко, Г. Г. Иммунобиологические препараты и перспективы их применения в инфектологии [Текст] / Г. Г. Онищенко, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев и др. – М. : ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. – 608 с.

61 Оркин, В. Ф. Применение бифидумбактерина для нормализации кишечной микрофлоры [Текст] / В. Ф. Оркин, Н. К. Сатин // Вопросы профилактики инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в условиях промышленных комплексов. – М., 1986. – С. 43–49.

62 Остроумова, И. Н. Биологические основы кормления рыб [Текст] / И. Н. Остроумова. – СПб. : ГосНИОРХ, 2001. – 372 с.

63 Павлов, Д. С. Использование биологически активных кормовых добавок для повышения питательных свойств комбикормов и увеличения норм ввода в комбикорма шротов и жмыхов [Текст] / Д. С. Павлов, И. А. Егоров, Р. В. Некрасов, К. С. Лактионов и др. // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 1. – С. 89–92.

64 Панин, А. Н. Повышение эффективности пробиотикотерапии у поросят [Текст] / А. Н. Панин, Н. И. Серых, Е. В. Малик, И. М. Гараев и др. // Ветеринария. – 1996. – № 3. – С. 17–22.

65 Панин, А. Н. Пробиотики – неотъемлемый компонент рационального кормления животных [Текст] / А. Н. Панин, Н. И. Малик // Ветеринария. – 2006. – № 7. – С. 19–22.

66 Панин, А. Н. Пробиотики в системе рационального кормления животных и птиц [Текст] / А. Н. Панин, Н. И. Малик // Пробиотики, пребиотики, симбиотики, функциональные продукты питания. – СПб.: Лань, 2007. – С. 37–38.

67 Персов, Г.М. Дозирование спермиев как способ управления оплодотворением яйцеклеток осетровых [Текст] / Г.М. Персов // Докл. АН СССР. – 1953. – №6. – С. 1183-1185.

68 Петровская, В. Г. Микрофлора человека в норме и патологии [Текст] / В. Г. Петровская, О. П. Марко. – М., 1976. – 189 с.

69 Платонов, А. В. Производство препаратов для животноводства на основе микроорганизмов – симбионтов желудочно-кишечного тракта [Текст] / А. В. Платонов. – М., 1985. – 43 с.

70 Плетнев, М. Ю. Поверхностно-активные вещества и композиции [Текст] : справочник / М.Ю. Плетнев. – М. : Кламель, 2002. – 768 с.

71 Пономарев, С. В. Биологические основы разведения осетровых и лососевых рыб на интенсивной основе [Текст] / С. В. Пономарев, Е. Н. Пономарева. – Астрахань : Изд-во АГТУ, 2003. – 256 с.

72 Пономарев, С. В. Осетроводство на интенсивной основе [Текст] / С. В. Пономарев, Д. И. Иванов. – М. : Колос, 2009. – 314 с.

73 Пономарев, С. В. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры Юга России [Текст] / С. В. Пономарев, Е. А. Гамыгин, С. И. Никоноров и др. – Астрахань : Нова Плюс, 2002. – С. 199–200.

74 Пономарев, С. В. Индустриальное рыбоводство [Текст] : учеб. / С. В. Пономарев, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб. : Лань, 2013. – 420 с.

75 Похиленко, В. Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность [Текст] / В. Д. Похиленко, В. В. Перельгин // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – № 2–3 (32–33). – С. 20–41.

76 Правдин, В. Льняной жмых для карповых и осетровых рыб [Текст] / В. Правдин, Н. Ушакова, С. Пономарев // Комбикорма. – 2009. – № 8. – С. 58–60.

77 Правдин, П. Ф. Руководство по изучению рыб [Текст] / П. Ф. Правдин. – М. : Пищевая промышленность, 1966. – 250 с.

78 Привезенцев, Ю. А. Рыбоводство [Текст] / Ю. А. Привезенцев, В. А. Власов. – М. : Мир, 2004. – 456 с.

79 Промышленное рыболовство [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.rostaquaindustry.ru](http://www.rostaquaindustry.ru), свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус.

80 Романова, Ю. М. Образование биопленок – пример «социального» поведения бактерий [Текст] / Ю. М. Романова, Т. А. Смирнова, А. Л. Андреев и др. // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 556–561.

81 Ромейс, Б. Микроскопическая техника [Текст] / Б. Ромейс. – М.: Изд-во иностранной литературы. – 1954. – 718 с.

82 Русский медицинский сервер [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.rusmedserv.com](http://www.rusmedserv.com), свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус.

83 Скляр, В. Я. Биологические основы рационального использования кормов в аквакультуре [Текст] / В. Я. Скляр, Н. А. Студенцова. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2001. – 56 с.

84 Смирнов, В. В. Современные представления о механизме лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* [Текст] / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, В. А. Вьюницкая и др. // Микробиология. – 1993. – Т. 55, № 4. – С. 92–112.

85 Смирнов, В. В. Спорообразующие аэробные бактерии, продуценты биологически активных веществ [Текст] / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, И. А. Василевская. – Киев: Наукова думка, 1982. – 274 с.

86 Смирнов, Л. П. Цитоплазматическая белковая вакцина против бактериальной геморрагической септицемии (аэромоназа) рыб [Текст] / Л. П. Смирнов, В. В. Богдан, Н. Н. Немова, Л. Н. Юхименко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2000. – Т. 36, № 5. – С. 592-596.

87 Соколов, С. Я. Справочник по лекарственным растениям (Фитотерапия) [Текст] / С. Я. Соколов, И. П. Замотаев. – М.: Медицина, 1988. — 458 с.

88 Сорвачев, К. Ф. Основы биохимии питания рыб [Текст] / К. Ф. Сорвачев. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 247 с.

89 Сорокин, В. В. Нормальная микрофлора кишечника животных [Текст] / В. В. Сорокин, М. А. Тимошко, А. В. Николаева. – Кишинев : Штиинца, 1973. – С. 3–68.

90 Тараканов, Б. В. Ветеринарно-токсикологическая оценка применения лактоамиловорина в кормлении молодняка сельскохозяйственных животных [Текст] / Б. В. Тараканов // Теория и практика использования биологически активных веществ в животноводстве. – Киров, 1998. – С. 79–81.

91 Тараканов, Б. В. Механизм действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животного [Текст] / Б. В. Тараканов // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 47–54.

92 Тараканов, Б. В. Новые биопрепараты для ветеринарии [Текст] / Б. В. Тараканов, Т. А. Николичева // Ветеринария. – 2000. – № 7. – С. 45–50.

93 Тимошко, М. А. Взаимодействие бифидобактерий, молочнокислых бактерий и эшерихий в кишечнике гнотобиотичных цыплят [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. А. Тимошко. – Кишинев, 1973. – 23 с.

94 Тимошко, М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных [Текст] / М. А. Тимошко. – Кишинев : Штиинца, 1990. – 189 с.

95 Тихонович, И. А. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве [Текст] / И. А. Тихонович, А. П. Кожемяков, В. К. Чеботарь и др. – М. : Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.

96 Ткачева, И. В. Применение пробиотических препаратов «Субтилис» и «СУБ-Про» в комбикормах для осетровых [Текст] / И. В. Ткачева, Н. Н. Тищенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2011. – № 1 (28). – С. 122–124.

97 Трифонова, Е. С. Эффективность применения пробиотических препаратов «Зоонорм» и «Бифидум-СХЖ» на Можайском ПЭРЗ [Текст] / Е. С. Трифонова, Л. И. Бычкова, Л. Н. Юхименко, В. Д. Болотов // Проблемы

иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб : расширенные мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. – М., 2004. – С. 528–534.

98 Уголев, А. М. Пищеварение и его приспособительная эволюция [Текст] / А. М. Уголев. – М. : Колос, 1959. – 80 с.

99 Ушакова, Н. А. Анаэробная твердофазная ферментация растительных субстратов с использованием *Bacillus subtilis* [Текст] / Н. А. Ушакова, Е. С. Бродский, А. А. Козлова, А. В. Нифатов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 1. – С. 70–77.

100 Ушакова, Н. А. Выделение соматостатин-подобного пептида клетками *Bacillus subtilis* В-8130, кишечного симбионта дикой птицы *Tetrao urogallus*, и влияние бациллы на животный организм [Текст] / Н. А. Ушакова, В. В. Вознесенская, А. А. Козлова, А. В. Нифатов и др. // Доклады АН. – 2010. – Т. 434, № 2. – С. 282–285.

101 Ушкалова, Е. А. Роль пробиотиков в гастроэнтерологии [Текст] / Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2007. – № 6. – С. 16–23.

102 Федосеева, Е. А. Гематологические нормы молоди осетровых рыб при выращивании в различных технологических режимах [Текст] / Е. А. Федосеева, С. С. Астафьева // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития : мат-лы Междунар. науч.-практ. конф. (Астрахань, 13–15 марта 2006 г.). – М. : Изд-во ВНИРО, 2006. – С. 273–276.

103 Чипинова, Г. М. Использование нового стартового комбикорма при выращивании осетровых рыб на Бертюльском ОРЗ [Текст] / Г. М. Чипинова, В. Г. Чипинов, Н. М. Киселева, С. В. Пономарев, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева // Материалы междунар. науч.-практ. конф.: Научные подходы к решению производства продуктов питания. – Ростов-на-Дону, 2004. – С. 149–153.

104 Шевелева, С. А. Пробиотики, пребиотики и пробиотические продукты. Современное состояние вопроса [Текст] / С. А. Шевелева // Вопросы питания. – 1999. – Т. 68, № 2. – С. 32–40.

105 Шендеров, Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание [Текст] / Б. А. Шендеров. – М. : Грантъ, 1998. – С. 38–39.

106 Шендеров, Б. А. Функциональное питание и пробиотики: микрoэкологические аспекты [Текст] / Б. А. Шендеров, М. А. Манвелова. – М. : Агар, 1997. – 24 с.

107 Шендеров, Б. А. Функциональное питание и его роль в профилактике метаболического синдрома [Текст] / Б. А. Шендеров. – М. : Дели принт, 2008. – 320 с.

108 Шивокене, Я. Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых [Текст] / Я. Шивокене. – Вильнюс : Мокслас, 1989. – 223 с.

109 Шульга, Е. А. Пробиотик субтилис в комбикормах для стерляди [Текст] / Е. А. Шульга // Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны : тез. докл. Междунар. науч. конф. – Ростов н/Д. : Изд-во Ростов. ун-та, 2006. – С. 155–167.

110 Щербина, М.А. Методические указания по физиологической оценке питательной ценности кормов для рыб [Текст] / М.А. Щербина. – М.:ВНИИПРХ, 1983. – 83 с.

111 Юхименко, Л. Н. Аэромонады рыб [Текст] / Л. Н. Юхименко, В. Ф. Викторова // Сборник научных трудов ВНИИПРХ. – М. : ВНИИПРХ, 1979. – Вып. 23. – С. 37–55.

112 Юхименко, Л. Н. Биологические свойства аэромонад и их роль в патологии рыб [Текст] / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан, Л. И. Бычкова, Л. П. Смирнов // Рыбное хозяйство. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и реф. информ. – М. : ВНИЭРХ, 2001. – Вып. 1. – С. 1–10.

113 Юхименко, Л. Н. Испытания лечебного комбикорма с субалином в рыбхозах Московской области [Текст] / Л. Н. Юхименко, Л. И. Бычкова, К. В. Гаврилин // Рыбное хозяйство. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре: Аналит. и реф. инф. – М.: ВНИЭРХ, 2002. – Вып. 2. – С. 18–27.

114 Юхименко, Л. Н. Перспективы использования субалина для коррекции микрофлоры кишечника и профилактики БГС [Текст] / Л. Я. Юхименко, Г. С. Койдан, Л. Я. Бычкова // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре : тез. докл. науч.-практ. конф. – М. : МИК, 2000. – С. 133–136.

115 Ющук, Н. Д. Острые кишечные инфекции: диагностика и лечение [Текст] / Н. Д. Ющук, Л. Е. Бродов. – М. : Медицина, 2001. – 304 с.

116 Anadyn, A. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment. Regulatory Toxicology [Text] / A. Anadyn, M. R. Martнnez-Larranaga, M. Aranzazu-Martнnez // Pharmacology. – 2006. – Vol. 45. – P. 91–95.

117 Austin, B. Fish need doctoring too! [Text] / B. Austin // Microbiology today. – 2002. – Vol. 27. – P. 171–173.

118 Barefoot, S. F. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* [Text] / S. F. Barefoot, T. R. Klaenhammer // Applied and Environmental Microbiology. – 1983. – Vol. 45. – P. 56–64.

119 Brown, M. R. Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated as food for bivalve aquaculture [Text] / M. R. Brown, S. M. Barrett, J. K. Volkman, S.P. Nearhos et al. // Aquaculture. – 1996. – Vol. 143, № 3, 4. – P. 341–360.

120 Castell, J. D. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research [Text] / J. D. Castell, K. Tiews. – Hamburg (Federal Republic of Germany, March 21–23, 1979) EIFAC Tech. pap. 36. – 1979. – P. 1–24.

121 Collins, M. D. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut [Text] / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin.Nutr. – 1999. – Vol. 69, № 5. – P. 1052–1057.

122 Costerton, J. W. Microbial biofilms [Text] / J. W. Costerton, Z. Lewandowski, D. E. Caldwell et al. // Annu. Rev. Microbiol. – 1995. – Vol. 49. – P. 711–745.

123 Cummings, J. H. Prebiotics digestion and fermentation [Text] / J. H. Cummings, G. T. Macfarlane, H. N. Englyst // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – 73(suppl.) – P. 415–420.

124 Ewans, D. K. Inactivated *Propionibacterium acnes* [Immuno-Regulin ®] asddjunct to conventional therapy in the treatment of equine respiratory dislases [Text]

/ D. K. Ewans, J. B. Rollins, G. K. Huff et al. // Equine practice. – 1988. – Vol. 10, № 6. – P. 17–21.

125 Fulton, T. Rate of growth of sea fish [Text] / T. Fulton // Fish. Scotl. Sci. Invest. Report. – 1902. – Vol. 20. – P. 226- 334.

126 Gilliland, S. E. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria [Text] / S. E. Gilliland // FEMS Microbiol. Rev. – 1990. – Vol. 87, № 1–2. – P. 175–188.

127 Glencross, B. D. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds [Text] / B. D. Glencross, M. Booth, G. L. Allan // Aquaculture Nutrition. – 2007. – № 13. – P. 17–34.

128 Grey, L. G. The use of the fluorescent-antibody technique to study the ecology of *Bacillus subtilis* in soil [Text] / L. G. Grey // Bull. Ecol. Res. Comm. – 1973. – № 17. – P. 119.

129 Halver, J. E. Vitamin and amino acid requirements of Pacific salmon (*Oncorhynchus*) [Text] / J. E. Halver // FAO, EIFAK, SC. – 1986. – P. 61–68.

130 Hung, S. O. Effect of oxidized fish oil DL – a-tocopherol acetate and ethoxyquin supplementation on the vitamin E nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed practical diets [Text] / S. O. Hung, C.Y. Cho, S.Y. Slinger // J. Nutr. – 1981. – Vol. 111. – P. 648–657.

131 Jonescu, C. Identification of *Bacillus subtilis* from milk [Text] / C. Jonescu // Microbiologia, Parasitologia, Epidemiologia. – 1966. – Vol. 11, № 5. – P. 322–325.

132 Kalemder, J. Toxi-infection alimentaires dues aux germes aerobies (*B. Antracis*, *B. Cereus*, *B. Subtilis*, *B. Mesentericus*) [Text] / J. Kalemder // Arch. Union Med. Balk. – 1968. – Vol. 6, № 1. – P. 29–39.

133 Kaneko, J. Crystal-like structure in the sporulation cells of *Bacillus subtilis* 168 [Text] / J. Kaneko, H. Matsushima // J. Electron. Microsc. – 1973. – Vol. 22, № 2. – P. 217–219.

134 Kaushik, S. J. Application of the recommendations on vitamin requirements of finfish by NRC (1993) to salmonids and using practical and purified



diets [Text] / S. J. Kaushik, M. F. Gouillou-Coustans, C. Y. Cho // *Aquaculture*. – 1998. – Vol. 161. – P. 463–474.

135 Mancinelli, R. Airborne bacteria in an urban environment [Text] / R. Mancinelli, W. Shulls // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1978. – Vol. 35, № 6. – P. 1095–1101.

136 Muriana, P. M. Purification and partial characterization of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088 [Text] / P. M. Muriana, T. R. Klaenhammer // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1991. – № 1. – P. 114–121.

137 Naumski, R. Ntjecaj nekin metala na biosintezu proteaza u toku uzgoja bakterije *Bacillus subtilis* [Text] / R. Naumski // *Acta biol., Jugos.* – 1973. – Vol. 10, № 1. – P. 71–79.

138 Pandey, N. K. Properties of the *Bacillus subtilis* spore coat [Text] / N. K. Pandey, A. J. Aronson // *J. Bacteriol.* – 1979. – Vol. 137, № 3. – P. 1208–1218.

139 Ponomarev, S. V. The estimation of the diets with various fat contentions for sturgeon [Text] / S. V. Ponomarev, Y. M. Bakaneva, Y. V. Fedorovykh et al. // *The Caspian Sea. Natural Resources. International Journal*. – Baku, 2010. – № 4. – P. 64–70.

140 Reid, G. Probiotics for urogenital health [Text] / G. Reid // *Nutr. Clin. Care*. – 2002. – Vol. 5, № 1. – P. 3–8.

141 Roife, R. D. Investigations into the mechanisms of asymptomatic intestinal colonization of infants by toxigenic *Clostridium difficile* [Text] / R. D. Roife, S. D. Dallas // *Microecol. Therapy*. – 1995. – Vol. 25.

142 Roife, R. In: R. I. Mackie et al. (ed) *Gastrointestinal microbiology*, vol. 2. *Gastrointestinal microbes and host interaction* [Text]. – Chapman and Hall, New-York, 1996.

143 Soliman, A. K. I Stability of L-ascorbic acid (vitamin C) and its forms in fish feeds during processing, storage and leaching [Text] / A. K. Soliman, K. Jauncey, R. Roberts // *Aquaculture*. – 1987. – Vol. 60. – P. 73–83.

144 Stephenson, S. J. Interaction surface of the Spo0A response regulator with the Spo0E phosphatase [Text] / S. J. Stephenson, M. Perego // *Molecular Microbiology*. – 2002. – Vol. 44, № 6. – P. 1455–1467.

145 Tewari, H. K. Growth and cellulase formaftion by *Bacillus* sp. [Text] / H. K. Tewari, D. S. Chanal // *Indian. J. Microbiol.* – 1977. – Vol. 17, № 1. – P. 23–26.

146 Upreti, G. C. Antimicrobiol. Agents Chemoter [Text] / G. C. Upreti, R. D. Hindsdill. – 1975. – Vol. 7. – P. 43–51.

147 Vasantha, N. The role of manganese in growth and sporulation of *Bacillus subtilis* [Text] / N. Vasantha, E. Freese // *J. Gen. Microbiol.* – 1979. – Vol. 112, № 2. – P. 329–336.

148 Veld, J. H. Health aspects of probiotics [Text] / J. H. Veld, M. A. Bosschaert, R. C. Shortt // *Food Sci. Ttchnol. Today*. – 1998. – Vol. 12, № 1. – P. 46–50.

149 Wilkinson, G. Some aspect of the germination of *Bacillus cerius* in milk [Text] / G. Wilkinson, F. Davies // *Spore Res.* – London; New York, 1974. – P. 153–159.

150 Walker, R. Probiotic microbes: the scientific basis [Text] / R. Walker, M. Buckley // *A report from the American Academy of Microbiology*. – 2006. – 22 p.

151 Wostmann, B. S. Gesmfree and gnotobiotic animal model [Text] / B. S. Wostmann. – CRC Press, Boca Ration, F.L., 1996. – P. 10.

152 Young, C. M. Influence of vitamin A nutriture on humoral and cell-mediated immune response of broiler chicks [Text] / C. M. Young, J. L. Sell // *Dep. of animal sci. Jowa State University. Amer.* – 1982. – P. 133–117.

153 Zucker-Franklin, D. Atlas of blood cells: function and pathology [Text] / D. Zucker-Franklin, M. F. Greaves, C. E. Grossi et al. – Milan, 1981. – Vol. 1. – P. 255.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### ПРОТОКОЛ

рассмотрения результатов производственных испытаний комбикорма для ремонтно-маточного стада осетровых рыб с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ

№ 5

20 октября 2015 г.

Комиссия в составе к.б.н., доц. Грозеску Ю.Н., к.б.н., доц. Бахаревой А.А., к.с.-х.н., доц. Федоровых Ю.В., аспиранта Жандалгаровой А.Д. рассмотрела результаты производственных испытаний для ремонтно-маточного стада осетровых рыб с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ.

В качестве исходного материала при проведении производственной проверки использовали ремонтно-маточное стадо осетровых рыб.

#### Краткое содержание работы:

Разработанный преднерестовый комбикорм имеет повышенное содержание питательных веществ и витаминов, что в полной мере удовлетворяет потребности производителей осетровых рыб в этих веществах в период созревания половых продуктов.

Использование нового метода подготовки производителей осетровых рыб к нересту с применением нового комбикорма привело к повышению процента созревания самок до 89,8%. Установлено, что использование нового комбикорма с повышенным содержанием витаминов С и Е приводит к увеличению репродуктивных показателей рыб. После кормления доброкачественную икру отдали 89,5 % самок. Также преднерестовый комбикорм оказал положительное влияние на половые продукты самцов. Качество спермы полученной от самцов соответствовало 4-5 баллам по шкале Персова.

Установлено, что микроорганизмы пищеварительного тракта производителей осетровых, потребляющих корм с добавлением пробиотика нового поколения, в большем количестве синтезируют незаменимые аминокислоты: метионин, фенилаланин, валин, лейцин и триптофан, так как испытывают недостаток в них при питании естественной пищей.

Председатель комиссии

Члены комиссии:


 Ю.Н. Грозеску


 А.А. Бахарева


 Ю.В. Федоровых


 А.Д. Жандалгарова

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

УТВЕРЖДАЮ  
 Директор Инновационного центра  
 «Биоаквапарк - НТЦ аквакультуры» АГТУ,  
 д.б.н., профессор  
 Пономарев С.В.  
 «20» ОКТАБРЯ 2015 г.



## АКТ

производственных испытаний комбикорма для ремонтно-маточного стада осетровых рыб с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ

Комиссия в составе к.б.н., доц. Грозеску Ю.Н., к.б.н., доц. Бахаревой А.А., к.с.-х.н., доц. Федоровых Ю.В., аспиранта Жандалгаровой А.Д. рассмотрела результаты производственных испытаний комбикорма для ремонтно-маточного стада осетровых рыб с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ.


В условиях Инновационного центра «Биоаквапарк – НТЦ аквакультуры» АГТУ провели подготовку производителей осетровых рыб к нересту с применением комбикорма с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ в течение месяца перед получением половых продуктов без нарушения технологического процесса.

В качестве биологически активных веществ к комбикормам использовали токоферол и аскорбиновую кислоту, способствующие повышению эффективности регуляции и восстановления репродуктивной функции. В качестве пробиотика применяли препарат «Ферм-КМ», так как в его составе содержатся такие необходимые в период созревания гонад вещества как: ферменты, эссенциальные аминокислоты, витамины и иммуноактивные пептиды (важный фактор иммунной защиты организма).


На основании протокола от «20» ОКТАБРЯ 2015 г. комиссия считает, что комбикорма с добавлением пробиотиков нового поколения и биологически активных веществ могут быть рекомендованы для промышленного использования.


Председатель комиссии

Члены комиссии:

 Ю.Н. Грозеску

 А.А. Бахарева

 Ю.В. Федоровых

 А.Д. Жандалгарова

Астрахань 2015

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

УТВЕРЖДАЮ  
 Директор Инновационного центра  
 «Биоаквапарк - НТЦ аквакультуры» АГТУ,  
 д.б.н., профессор  
 Пономарев С.В.  
 «20» Октября 2015 г.







### АКТ

внедрения комбикорма с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ при подготовке производителей осетровых рыб к нересту

Преднерестовый комбикорм с добавлением пробиотика нового поколения и биологически активных веществ при подготовке производителей осетровых рыб к нересту, предложенный сотрудниками кафедры «Аквакультура и водные биоресурсы» АГТУ, примененный на практике с получением положительного результата, рекомендуется к использованию.

Председатель комиссии

Члены комиссии:

 Ю.Н. Грозеску  
 А.А. Бахарева  
 Ю.В. Федоровых  
 А.Д. Жандалгарова

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

Состояние делопроизводства: Формальная экспертиза завершена (последнее изменение статуса:  
07.06.2017)

(19) **RU** (11) **2017 116 295** (13)  
**АС**

(21) Заявка: [2017116295](#)

## Делопроизводство

Исходящая корреспонденция		Входящая корреспонденция	
Уведомление о положительном результате формальной экспертизы	01.06.2017		
Уведомление о зачете пошлины	01.06.2017	Платежный документ	10.05.2017
Уведомление о поступлении документов заявки	12.05.2017		