

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГИЙ  
И УПРАВЛЕНИЯ ИМ. К.Г. РАЗУМОВСКОГО»

ИНСТИТУТ «БИОТЕХНОЛОГИЙ И РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА»

На правах рукописи



**АБРОСИМОВА КСЕНИЯ СЕРГЕЕВНА**

**ОПТИМИЗАЦИЯ КОРМОВ И КОРМЛЕНИЯ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ  
РЫБ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ТИМПАНИИ  
В ИНТЕНСИВНОЙ АКВАКУЛЬТУРЕ**

Специальность 06.04.01 «Рыбное хозяйство и аквакультура»

**Диссертация**

на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук

Научный руководитель  
доктор биологических наук,  
профессор **Пономарева Е.Н.**

Ростов-на-Дону, 2015

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР</b> .....	10
1.1. Формирование пищеварительной системы в процессе роста и развития молоди осетровых рыб.....	10
1.2. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта рыб в пищеварении.....	15
1.3. Алиментарные факторы, влияющие на рост, развитие и здоровье рыб.....	19
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	32
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	40
3.1. Изменения биохимического статуса рыб при тимпании.....	40
3.1.1. Тимпания – как следствие нарушения симбионтного пищеварения рыб.....	40
3.1.2. Изменения общего обмена веществ молоди стерляди и бестера при тимпании.....	43
3.1.3. Липидный и энергетический обмен молоди стерляди и бестера при тимпании.....	45
3.1.4. Показатели перекисного окисления липидов у молоди стерляди и бестера при тимпании.....	53
3.2. Повышение эффективности выращивания молоди осетровых рыб при новой методике кормления.....	56
3.2.1. Рецептуры комбикормов для оптимизации кормления молоди осетровых рыб.....	56
3.2.2. Рыбоводно-биологические результаты при двухуровневом кормлении молоди стерляди и бестера.....	66
3.2.3. Общий, липидный и энергетический обмен молоди стерляди и бестера при двухуровневом кормлении.....	70
3.2.4. Показатели перекисного окисления липидов у молоди стерляди и бестера при двухуровневом кормлении.....	75
3.3. Результаты лечебного кормления молоди осетровых рыб при тимпании.....	77
3.3.1. Влияние лечебного кормления на микрофлору кишечника молоди стерляди и бестера.....	78

3.3.2. Влияние лечебного кормления на выживаемость и химический состав молоди бестера.....	89
3.3.3. Липидный и энергетический обмен молоди бестера после лечебного кормления.....	81
3.3.4. Состояние перекисного окисления липидов у молоди бестера после лечебного кормления.....	90
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	92
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	97
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	99
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	100
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	119
<b>ГЛОССАРИЙ ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ, ПОНЯТИЙ И ТЕРМИНОВ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ</b> .....	125

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Интенсивное рыбоводство – одно из перспективных направлений аквакультуры ценных видов рыб, таких как осетровые. Его активное развитие обусловлено возрастающим спросом на ценную, деликатесную продукцию в условиях истощения природных ресурсов осетровых рыб и, как следствие, полного запрета промысла в Каспийском и Азово-Черноморском бассейнах. Эти объективные причины послужили стимулом для ускоренного развития искусственного воспроизводства с целью сохранения и восстановления естественных популяций осетровых рыб и товарного осетроводства.

Искусственно созданные условия при интенсивной аквакультуре отличаются от естественной среды обитания гидробионтов и могут быть настолько существенными, что приводят к нарушению равновесия генетически сложившейся системы обмена веществ, патологии и снижению жизнестойкости рыб. Рациональное кормление животных, в том числе рыб, основывается на физиологически полноценных кормах, оптимальной технологии кормления и содержания. При разработке искусственных кормов для рыб особое значение имеет знание возрастных особенностей формирования пищеварительной системы.

Благодаря своему врожденному иммунитету, позволившему сохраниться этому древнему семейству, осетровые меньше подвержены заболеваниям по сравнению с другими рыбами. Однако при переходе на интенсивные формы выращивания возникает ряд алиментарных заболеваний, вызванных неполноценностью или недоброкачеством кормов, а также нарушением или физиологически не адекватным режимом кормления. Причем потери от этого достаточно высоки. Одно из таких заболеваний - дисбактериоз, проявлением которого является метеоризм (тимпания), от которого ежегодно теряется значительная часть молоди осетровых, что наносит непоправимый ущерб осетроводству. Тимпания возникает при качественном и количественном изменениях нормальной микрофлоры кишечника вследствие скармлива-

ния недоброкачественных или неполноценных кормов (Шивокене, 1989; Головина и др., 2000; Бурлаченко, 2007). Еще одной причиной проявления тимпаний считают длительное кормление молоди искусственными кормами (Маликова, Котова, 1961; Марченко, 1987).

Изучению существующих и регистрируемых на сегодняшний день заболеваний осетровых рыб алиментарного характера уделяется недостаточно внимания. Имеющиеся литературные данные освещают, в основном, видовой состав популяции микрофлоры кишечника и ее функциональную активность в системе пищеварения рыб с различным спектром питания.

Более успешно проблема тимпаний, как следствие нарушения кормления, решена для сельскохозяйственных млекопитающих животных (Ионов, 1985, 2002), но при этом методы, используемые для лечения сельскохозяйственных животных, неприемлемы для рыб в силу своей специфики.

Исследования, направленные на повышение эффективности интенсивных методов выращивания осетровых рыб за счёт снижения потерь при различных видах алиментарных заболеваниях остаются важной задачей современной науки в области аквакультуры.

В связи с этим становится актуальным поиск путей повышения выживаемости, реализации потенциала роста и обеспечения здоровья рыб в условиях интенсивного рыбоводства при искусственном воспроизводстве и товарном осетроводстве.

**Цель и задачи исследований.** Разработать оптимизированную рецептуру кормов и методику кормления осетровых рыб на ранних стадиях развития для профилактики и лечения тимпаний.

Для достижения этой цели ставились следующие задачи:

1. Изучить микрофлору пищеварительного тракта молоди осетровых рыб нормального физиологического состояния и при заболевании тимпанией.
2. Изучить патологические изменения показателей, характеризующих общий, липидный и энергетический обмен веществ, а также перекисного окисления липидов у молоди стерляди и бестера при тимпании.

3. Разработать усовершенствованную рецептуру стартовых кормов для молоди осетровых рыб на ранних стадиях развития для профилактики тимпани.

4. Разработать методику двухуровневого кормления стерляди и бестера в соответствии с возрастными изменениями для формирования оптимального микробиоценоза пищеварительного тракта.

5. Оценить физиологическое состояние молоди осетровых рыб по показателям общего, липидного, энергетического обменов и перекисного окисления липидов после двухуровневого кормления с использованием новых кормов.

6. Оценить результаты лечебного кормления молоди осетровых рыб по состоянию микрофлоры кишечника, липидного, жирнокислотного и энергетического обмена, а также выживаемости и химического состава тела рыб в зависимости от стадии развития тимпани.

#### **Научная новизна и теоретическое значение.**

1. Установлено, что длительное кормление молоди осетровых рыб на ранних стадиях развития однотипным стартовым кормом способствует нарушению нормальной микрофлоры кишечника и, как следствие, возникновению заболевания тимпани.

2. Определен комплекс показателей, характеризующих изменения обмена веществ при тимпани, показано, что по мере ее развития существенно снижается уровень гликогена, изменяется баланс эссенциальных жирных кислот  $\omega 3$  и  $\omega 6$  ряда, повышаются энергетические затраты.

3. Доказано, что тимпания сопровождается окислительным стрессом, о чем свидетельствует возрастающая активность перекисного окисления липидов, подтвержденная повышением уровня гидроперекисей и снижением активности естественных антиоксидантов организма.

4. Теоретически обоснована и экспериментально доказана целесообразность двухуровневого кормления со сменой рациона по мере роста и развития молоди в зависимости от возрастных изменений активности пищева-

тельных ферментов. Разработаны рецептура специализированных кормов и режим кормления молоди осетровых рыб для профилактики и лечения тимпани.

**Практическая значимость работы.** Разработанное поэтапное (двух-уровневое) кормление молоди осетровых кормами, соответствующих возрастным физиологическим особенностям организма, позволяют повысить эффективность их выращивания за счет предупреждения тимпани, снижения потерь и улучшения жизнестойкости рыб.

Разработанные мероприятия по лечебному кормлению молоди осетровых рыб с использованием новых кормов, в рецептуру которых введены пробиотики, кормовая липидная добавка, оказывающая антистрессовое действие и способствующая стабилизации процессов перекисного окисления липидов в организме рыб, позволяют улучшить физиологическое состояние, снизить потери молоди и нормализовать кишечную микрофлору осетровых, подверженных тимпани.

Результаты исследований апробированы и внедрены на трёх рыбоводных предприятиях Ростовской области.

Материалы, изложенные в диссертационной работе, используются в учебном процессе ФГБОУ ВПО «МГУТУ им. К.Г.Разумовского» и его Ростовском и Темрюкском филиалах по дисциплинам «Корма и кормление рыб», «Физиология рыб», «Ихтиопатология», «Аквакультура» и Астраханского государственного университета по дисциплине «Индустриальное осетроводство».

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Основной фактор, способствующий развитию тимпани у молоди осетровых рыб на ранних стадиях развития, - нарушение нормальной микрофлоры кишечника, вследствие длительного кормления однотипным кормом без учёта возрастных физиологических изменений организма.

2. Оптимизация кормления ранней молоди осетровых рыб для профилактики тимпани за счёт смены рациона по завершении морфогенеза орга-

нов пищеварения и введения в рецептуру стартовых кормов специальных биологически активных препаратов.

3. Разработка методов лечения тимпании у ранней молодежи осетровых рыб с использованием фармакологических препаратов.

**Апробация работы.** Материалы диссертации представлены на международных конференциях: «World Aquaculture» (Италия 2006); «Aquaculture Europe» (Испания, 2014); научно-практической конференции «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития (Астрахань, 2006); международной научной конференции «Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны» (Азов, 2006), Международной научной конференции «Наука, техника и высшее образование» (Аура, Мальта, 2007); II, III и IV международных научных конференциях «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (Ростов-на-Дону, 2008, 2009, 2011); Международной научной конференции «Инновационные технологии аквакультуры» (Ростов-на-Дону, 2009); международной научной конференции «Актуальные проблемы обеспечения продовольственной безопасности юга России: инновационные технологии для сохранения биоресурсов, плодородия почв, мелиорации и водообеспечения» (Ростов-на-Дону, 2011); международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России» (Ростов-на-Дону, 2014).

**Публикации.** Основные материалы и положения диссертации изложены в 21 печатной работе, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 126 страницах и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и 5 приложений. Список цитируемой литературы включает 169 работ, из которых 38 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 24 рисунками.

**Благодарности.** Выражаю свою искреннюю признательность и благодарность за ценные советы, помощь и поддержку, оказанную в выполнении этой работы: моему научному руководителю д.б.н., профессору Е.Н. Пономаревой, к.б.н. С.С. Абросимову, к.б.н. Лобзаковой Т.В., к.т.н. Игнатенко М.А., д.б.н. М.А. Сазыкиной, д.с-х.н. Л.М. Васильевой, экс-директору ООО «Бессергеновский рыбоводный завод» Т.К. Руденко, начальнику ФГБУ «Аз-донрыбвод» Н.П. Пивоварову, директору ООО «Рыболовецкой артели им. Чкалова» Н.И. Черникову, сотрудникам ФГУП НПЦО «БИОС», Донского осетрового рыбоводного завода.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Основой культивирования рыб, как и других гидробионтов, являются биотехника выращивания, специальные корма, методика кормления, охрана здоровья и повышение адаптационной пластичности биообъектов.

Искусственно созданные условия при интенсивной аквакультуре отличаются от естественной среды их обитания и могут быть настолько существенными, что могут привести к нарушению равновесия генетически сложившейся системы обмена веществ, патологии и снижению жизнестойкости гидробионта.

### **1.1. Формирование пищеварительной системы в процессе роста и развития молоди осетровых рыб.**

Рациональное кормление животных, в том числе рыб, основывается на физиологически полноценных кормах, оптимальной технологии кормления и содержания. При разработке искусственных кормов для рыб особое значение имеет знание возрастных особенностей формирования пищеварительной системы и активности пищеварительных ферментов.

По определению Н.Н. Гуртового с соавторами (1976) строение пищеварительной системы осетровых занимает промежуточное положение между хрящевыми и костистыми рыбами.

Осетровые рыбы по экологии питания относятся к донным рыбам, а по характеру питания - к плотоядным. Уже на ранних этапах онтогенеза для молоди осетровых рыб характерна полифагия, способствующая их биологическому прогрессу (Гербильский, 1957). Основными пищевыми объектами личинок и ранней молоди в естественных условиях являются мелкие олигохеты, полихеты, личинки и куколки хирономид, корофииды, гаммариды, мизиды, причем молодь осетровых до ската в море мало меняет пищевой спектр, за исключением белуги, которая рано начинает хищничать (Коробочкина,

1951; Константинов, 1953; Шмальгаузен, 1968 и др.).

В бассейне Каспийского моря основу пищи, прежде всего, составляют у осетра моллюски, ракообразные, рыба; севрюги - ракообразные, nereidy, рыба; белуги - рыба и ракообразные; стерляди - хирономиды (Полянинова, Пестриков, 1974).

В Азовском море осетр преимущественно питается двустворчатыми моллюсками, севрюга - многощетинковыми червями, а крупные особи - двустворчатыми моллюсками; белуга - рыбой. Осетровые Азовского моря рыбу используется слабо, значение ее возрастает лишь с понижением температуры (Савчук, 1975).

По результатам исследований Н.Н. Дислера (1940, 1960) осетровые отыскивают добычу преимущественно при помощи органов осязания и хеморецепции. Однако по данному вопросу имеются противоречивые мнения, которые возникают из-за того, что у рыб трудно разграничить обоняние и вкусовое восприятие (Окайти, Хасимото, 1968).

Органы зрения и органы боковой линии у осетровых не играют заметной роли в поисках пищи (Дислер, 1960; Константинов, 1953; Сбикин, 1981).

Как отмечали ранее, по типу питания осетровые рыбы относятся к плотоядным, а по экологии питания – к донным рыбам. За несколько дней до начала активного питания у личинок появляются челюстные зубы, которые служат для захвата и удерживания пищи, через 2 недели они редуцируются (Садов, 1951). Прохождению пищи в пищевод способствует вырабатываемая в полости рта слизь (Калояну, 1959).

В пищевode имеются эпидермальные ворсинки в виде листовидных сосочков, которые разветвляются на вершинах на 2-3 дополнительных сосочка. Они располагаются продольными рядами и при переходе в желудок постепенно изменяются в продольные волнообразные складки (Гуртовой и др., 1976).

Желудок подразделяется на кардиальную, примыкающую к пищеводу, и пилорическую части. Последняя отделена от кишечника пилорическим

клапаном. Слизистая кардиального отдела имеет продольную складчатость в 6-7 рядов, выстланные мерцательным эпителием, переходящих непосредственно в пилорический отдел. В пилорическом отделе, имеющем толстые мясистые стенки, эти складки выражены сильнее.

На месте перехода желудка в кишечник образуется мощный мускулистый сфинктер (Гуртовой и др., 1976). Для кишечника характерной особенностью является наличие спиральной складки (спиральный клапан) и пилорических придатков. Пилорические придатки осетровых представляют собой выросты промежуточной кишки, составляют одно компактное образование, которое во много раз увеличивает поверхность ее слизистой оболочки, и погружена в жировую соединительную ткань.

Промежуточная кишка отделена от спиральной кольцевой складки клапаном. Число витков спиральной складки в спиральной кишке колеблется от 5 до 10 у разных видов осетровых. Характерной чертой кишечника осетровых является очень короткая задняя кишка и отсутствие клапана между средней и задней кишкой (Гербицкий, 1957; Шмальгаузен, 1968).

Печень состоит из двух долей. На правой доле расположен желчный пузырь, от которого желчный проток впадает в двенадцатиперстную кишку.

Поджелудочная железа осетровых представлена самостоятельным органом, диффузно внедренным в ткань печени (Калояну, 1959).

У осетровых рыб развитие пищеварительного тракта проходит в направлении: спиральный клапан → средняя кишка → желудок. При переходе на экзогенное (активное) питание хорошо развиты только спиральный клапан и средняя кишка (Гербицкий, 1957; Колояну, 1959).

Решение проблем искусственного кормления рыб непосредственно связано с изучением становления пищеварительных ферментов, т.к. деградация сложных пищевых структур с образованием преимущественно мономеров происходит, в основном, под влиянием гидролитических ферментов (Сорвачев, 1982; Уголев, 1987).

Функционирование железистого аппарата и секреция пищеварительных

ферментов начинается от анального отверстия по направлению к желудку, т.е. взаимосвязано с развитием пищеварительного тракта (Коржуев, Шаркова, 1967).

Активность пищеварительных ферментов - пепсина, химотрипсина, трипсина, амилазы, липазы и щелочной фосфатазы - у осетровых рыб проявляется в период эмбрионального развития и максимальна перед вылуплением. В период перехода личинок на активное питание активность протеиназ снижается и резко повышается на 10-12 день после вылупления (Коржуев, Шаркова, 1967; Плотников, Проскуряков, 1984; Плотников, 1984).

По данным Н.А. Абросимовой (1997) значительное повышение активности пищеварительных ферментов у ранней молоди осетровых совпадает с процессами активного морфогенеза органов пищеварения - желудка, гепатопанкреаса, пилорических придатков. У личинок осетра при переходе на экзогенное питание соотношение активности пепсин/трипсин не превышает 1; через 10-12 суток данное соотношение превышает 1, а через 30 суток составляет более 2. По мнению автора это свидетельствует о сравнительно низкой ферментовыделительной активности желудка на ранних этапах экзогенного питания, причем аналогичная направленность формирования активности протеиназ выявлена у молоди севрюги и бестера.

На незначительные межвидовые различия активности пищеварительных ферментов у осетровых рыб указывали Г.К. Плотников и М.Т. Проскуряков (1984).

В среднем к 25 суткам (средняя масса 1.0-1.5 г) активного питания комбикормами соотношение между основными пищеварительными ферментами почти стабилизируется. В 1,8-2,1 раза повышается активность амилазы, кислых и щелочных фосфатаз и протеиназ, в 4-5 раз – липазы. По достижении массы 2.0-2.5 г (около 45 суток) в 2,3-2,9 раза повышается активность протеиназ и амилазы и в 7,1-8,3 раза липазы, активность кислой и щелочной фосфатаз практически остается на прежнем уровне (Абросимова, 1997, с.11-15).

Выяснено, что у ранней молоди осетровых наибольшая активность ферментов обеспечивается поджелудочной железой и пилорическими придатками. По данным Н.А. Абросимовой (1997) «в поджелудочной железе локализовано до 40-50% активности химотрипсина, 37-46% активности химотрипсина, до 30% активности амилазы и щелочной фосфатазы, 41-43% активности липазы, а в пилорических придатках - 30-54% кислой фосфатазы, 34-57% - кислых протеиназ, 32-37% липазы и 36-40% - амилазы. В промежуточной кишке осетровых рыб содержится 30-37% активности амилазы, 33-47% липазы и 27-36% активности щелочной фосфатазы. Самая низкая активность ферментов отмечена в спиральной кишке за исключением кислой фосфатазы, активность которой составляет 34-50%».

Активность пищеварительных ферментов в значительной степени определяется величиной рН (Уголев, Кузмина, 1993; Неваленный и др, 2003). Установлено, что у личинок осетра через 8-10 суток после перехода на экзогенное питание величина рН химуса в желудке составляет 4.2-5.0 ед., а с возрастом – 3.1-3.3 ед., в спиральном клапане – 7.6-8 ед. (Абросимова, 1997).

Известно, что «оптимальная величина рН у рыб для пепсина соответствует 2-2,5, трипсина - 6,5-7, амилазы - 7-7,5, липазы - 7,5-8 ед.» (цит. Абросимова, 1997, с. 12). По мнению ряда исследователей, некоторое несоответствие между оптимумом рН ферментов и рН химуса пищеварительного тракта, возможно, компенсируется низкой величиной рН в зоне мембранного пищеварения (Уголев, 1961; Кушак, 1983; Голованова, 2006).

Интенсивность процессов расщепления и всасывания питательных веществ зависят от нахождения пищевого комка в определенном отделе пищеварительного тракта. По данным Н.А. Абросимовой (1997) при массе 500-800 мг в желудке усваивается 23-26% органического вещества корма, в промежуточной кишке – 16-18 %, в верхней части спирального клапана на уровне выше 3-го витка от прямой кишки - 27-32 %, в прямой кишке - не более 1,5%. До 25% непереваренных веществ корма выходит с фекалиями. С возрастом у молоди массой 1-1,5 г усвоение органической части корма в желудке увели-

чивается на 17 %, в верхнем отделе спирального клапана - на 32 %. Одновременно в промежуточной кишке и нижнем отделе спирального клапана усвояемость органических веществ снижается соответственно в 1,7 и 4 раза. В целом усвояемость корма повышается на 22%, соответственно в фекалиях содержание органических веществ снижается почти на 18%.

Приведенные литературные данные свидетельствуют о поэтапном формировании ферментовыделительной системы молоди осетровых рыб в ранний постэмбриональный период развития, что предполагает новый подход к разработке технологии кормления, в том числе, стартовыми кормами.

## **1.2. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта рыб в пищеварении**

С развитием интенсивных методов аквакультуры, где основой рациона являются комбикорма, все большее внимание уделяется симбионтному пищеварению с участием микрофлоры. К настоящему времени определена важная роль микрофлоры кишечника в пищеварительном процессе рыб. Потребляя определенное количество питательных веществ химуса кишечника, микрофлора поставляет организму продукты своего метаболизма. Микрофлора синтезирует некоторые аминокислоты и витамины, необходимые для нормального роста и развития самих рыб. Незаменима роль микрофлоры в расщеплении клетчатки, хитина, пигментов и желчных кислот, практически недоступных ферментам самих рыб. Известно, что переваримость (или физиологическая доступность) углеводов, особенно растительных, осетровыми рыбами незначительна. В комбикормах же, как правило, их количество достигает 30 %, из которых около половины приходится на трудногидролизуемые углеводы. Кроме того, микрофлора, препятствуя развитию патогенных микроорганизмов, выполняет защитную функцию. Материалы по данному вопросу достаточно широко освещены в мировой литературе (Okutani, Kitada, 1968; Okuzumi, Horie, 1969; Sugita et al., 1982; Шивокене, 1989; Извекова,

2006 и др.).

Анализ литературных данных свидетельствует о существенной роли в жизнедеятельности хозяина микрофлоры кишечника. Выявлено, что микроорганизмы пищеварительного тракта рыб синтезируют такие незаменимые аминокислоты как лизин, гистидин, аргинин, и заменимые - цистин, аспарагин, аспарагиновую кислоту, серин, глутаминовую кислоту, аланин и тирозин, а также ферменты и дефицитные витамины группы В, С, К и др.

Для кишечной микрофлоры характерна высокоспецифичная ферментная система, определяющая их участие в расщеплении трудногидролизуемых пищевых веществ.

Численность физиологической группы микроорганизмов соответствует пищевому субстрату организма-симбионта. В тоже время, нормальная кишечная флора рыб подвержена существенным качественным и количественным изменениям под воздействием различных абиотических и биотических факторов, что является физиологической нормой.

Работами упомянутых выше исследователей доказано, что пищеварение рыб определяется не только качественным составом и химизмом кормов, ферментными системами органов пищеварения, но и характером эндосимбиотических взаимоотношений между организмом-симбионтом и населяющими его пищеварительный тракт микрофлорой. Важное значение последних, как отмечали выше, определяется их способностью образовывать и обеспечивать организм хозяина жизненно необходимыми метаболитами, в том числе гормоноподобными веществами, антибиотиками и т.д.

В своих исследованиях микрофлоры пищеварительного тракта скумбрии, бонито, желтохвоста и других видов морских рыб К. Окутани и Н. Китада (Okutani, Kitada, 1968) показали, что доминирующие в кишечнике штаммы (на примере рода *Vibrio*) морфологически и биохимически идентичны при всех видах кормов.

Изучая синтез свободных аминокислот микроорганизмами пищеварительного тракта сеголетков, двухлетков и трехлетков карпа, белого амура и

линя Я. С. Шивокене (1987) отмечала различия состава синтезируемых аминокислот в зависимости от качества пищи и возраста рыб. На примере карповых рыб она установила следующее:

- наиболее интенсивный микробный синтез аминокислот характерен для рыб питающихся комбикормами: у трехлетнего линя в 25, трехлетнего амура в 9.6 и у сеголетков карпа в 3.7 раза интенсивнее, чем при выращивании на естественной пище;

- микроорганизмы пищеварительного тракта линя при выращивании на комбикормах синтезировали в больших количествах метионин, фенилаланин, валин, лейцин, треонин, триптофан, что, по-видимому, связано с их недостатком в рационе. А у линя, питающегося естественной пищей, микроорганизмы синтезировали в основном аланин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, метионин и тирозин;

- у одновозрастных карпов при питании комбикормом, микроорганизмы синтезировали главным образом в больших концентрациях аргинин, глутаминовую кислоту и аланин, а при питании естественной пищей у сеголеток карпа микроорганизмы пищеварительного тракта преимущественно синтезировали аланин, фенилаланин, глутаминовую кислоту, треонин, у двухлетков - аланин, глутаминовую кислоту, лейцин;

- осенью, со снижением пищевой активности синтетическая активность микроорганизмов пищеварительного тракта рыб резко возрастает.

На основании этих данных можно утверждать о немаловажном значении кишечной микрофлоры в обмене веществ организма хозяина, в содержании стабильности витаминов и аминокислот при неблагоприятных условиях питания рыб.

Как отмечали ранее, микроорганизмы отдельных физиологических групп обладают специфичностью в расщеплении пищевых субстратов. Функциональная деятельность кишечных бактерий разнообразна и зависит от характера и типа питания рыбы.

В расщеплении углеводсодержащих пищевых субстратов принимают

участие такие группы микроорганизмов, как амилолитические, молочнокислые и целлюлозолитические бактерии. Согласно литературным данным, молочнокислые бактерии являются облигатными представителями кишечной микрофлоры рыб. Причём, молочнокислые бактерии в максимальных количествах обнаруживаются в кишечниках рыб, питающихся естественной пищей, а бактерии, расщепляющие белковые вещества, в кишечниках рыб, питающихся комбикормами (Шивокене, 1987; Извекова, 2006).

Расщепляя в полости кишечника животных белки, углеводы и другие органические соединения, микроорганизмы выполняют весьма важную роль в обеспечении себя и организма-симбионта необходимыми веществами. Однако их функциональная деятельность зависит от ряда экзофакторов - составом пищи, спектром и интенсивностью питания, возрастом и физиологическим состоянием организма - симбионта, в том числе возрастными изменениями функционирования пищеварительного тракта. Важное значение для нормального состояния кишечной микрофлоры имеет также организация кормления.

Известно, что всякое значительное искусственное вмешательство во взаимодействие организма животного и его микробного населения, в результате которого резко подавляются или исчезают микробы отдельных видов, может привести к снижению темпа роста и увеличению потерь при выращивании, а также патологии (Маликова, 1984; Сорвачев, 1982; Марченко, 1987; Бурлаченко и др., 2002; Абросимов, Абросимова, 2006; Abrosimova, 2006; Абросимова, 2009а, 2011). Следовательно, восстановление симбиотического равновесия в организме животных, нарушенное неправильно организованным кормлением, является залогом повышения темпа роста и выживаемости рыб в интенсивной аквакультуре.

Обобщая литературные данные о значении микрофлоры пищеварительного тракта рыб в их жизнедеятельности, следует отметить факторы, контролирующие ее численность. Эти факторы следующие:

- пища, которая является основным экзофактором, влияющим на мик-

робоценоз пищеварительного тракта;

- интенсивное кормление рыб, так как способствует значительным изменениям бактериальной флоры, количественное и качественное соотношение которой в популяции содержимого кишечника зависит от биохимического состава пищи организма-симбионта;

- групповой состав микроорганизмов, на который влияет специфическая секреция пищеварительных желез и слизистой пищеварительного тракта;

- численность кишечной микрофлоры рыб, которая зависит от температуры воды и интенсивности питания рыб. Максимальное количество бактерий характерно в период интенсивного питания организма-симбионта.

Следовательно, для более полного познания микрофлоры пищеварительного тракта рыб, ее качественных и количественных изменений и функциональной деятельности необходимо обратить особое внимание на факторы, контролирующие ее проявления.

### **1.3. Алиментарные факторы, влияющие на рост, развитие и здоровье рыб**

Важнейший элемент технологии интенсивной аквакультуры и основной показатель - получения прироста рыбы является рациональное кормление. В интенсивной аквакультуре практически 100% рыбной продукции производится за счет кормления. Поэтому, использование высококачественных кормов, сбалансированных по основным питательным веществам, грамотное и рациональное распределение их при кормлении – обязательное условие эффективного выращивания рыбы.

В начале разработки методов выращивания молоди осетровых рыб личинок кормили живыми кормами – олигохетами и дафниями. С расширением масштабов пресноводной и морской аквакультуры проблема разведения живых стартовых кормов приобрела особое значение.

Известно, что у личинок рыб недостаточно полно функционирует ферментативная система органов пищеварения, а пищеварительные ферменты кормовых организмов вносят существенный вклад в процессы переваривания пищи (Шивокене, 1989; Кузмина, Скворцова, 2002; Извекова, 2011). При этом живые корма, обеспечивают увеличение выживаемости ювенильных особей на ранних стадиях постэмбриогенеза, что, соответственно, повышает рентабельность производства в целом.

В мировой практике аквакультуры накоплен значительный опыт выращивания различных кормовых беспозвоночных и водорослей - листоногих рачков (артемия и жаброног), дафниид (дафнии и моина), почвенных олигохет, свободноживущих нематод, дождевых червей, коловраток, личинок хириноид, микроводорослей. Однако культивирование кормовых организмов – процесс трудоемкий, требующий значительных энергозатрат и производственных площадей. Вероятно, поэтому в современный период наиболее широко используется артемия салина, как наиболее технологичный объект. На многих рыбопроизводных заводах традиционно культивируют и олигохет.

При кормлении олигохетами темп роста молоди осетровых не уступает естественной молоди. Однако, из-за избыточного количества углеводов и дефицита минеральных веществ и витаминов в олигохетах у молоди осетровых нарушается обмен веществ, что зачастую приводит к повышенной гибели. Эта проблема была решена за счет введения в рацион планктонных ракообразных, в частности дафний. По сравнению с олигохетами планктонные ракообразные физиологически более полноценный корм, так как содержат полный набор незаменимых аминокислот, богатых минеральными веществами и витаминами (Dabrowski, Rusiecki, 1983).

Расширение масштабов осетроводства в 50-х годах прошлого столетия послужило стимулом для интенсивной разработки искусственных рационов из-за возросшей потребности в живых кормах, в которых ощущался острый дефицит.

Попытки кормления молоди осетровых рыб искусственными кормами

были предприняты в начале 40-х годов прошлого столетия и носили опытный характер. Для этого использовали лососевую и тюлечную муку в смеси с пшеничной мукой или отходами мукомольной промышленности, икру частиковых рыб. Биологическое действие этих кормов было весьма низким.

В конце 50-х годов для кормления молоди осетровых рыб стали использовать искусственный пастообразный комбикорм КРТ, разработанный для лососевых рыб под руководством профессора Е.М. Маликовой (1957). Кормление данным кормом позволило выращивать на заводах жизнестойкую молодь. Для улучшения качества корма ввиду его быстрой размываемости в состав кормосмеси О.Л. Гордиенко (1960, 1964) предложила ввести 9-10 % фосфатидов. Модифицированный вариант корма получил название КРТФ и успешно применялся на осетровых заводах вплоть до 70-х годов прошлого столетия. Следует, однако, заметить, что при длительном кормлении молоди кормами КРТ и КРТФ хорошие рыбоводно-биологические результаты можно было получить при условии включения в рацион живых кормов.

С интенсивным развитием товарного осетроводства в 70-х годах вновь были возобновлены исследования по разработке искусственных кормовых смесей, преимущественно для гибридов осетровых рыб. Были разработаны и успешно апробированы пастообразные и гранулированные комбикорма, в которых на уровне знаний того времени учитывали пищевые потребности и особенности пищевого поведения осетровых рыб. Однако в практике товарного выращивания осетровых возникла проблема перевода рыб с живых кормов на искусственные. По данным В.А. Пегасова (1980) при такой смене кормов отход молоди составлял от 50-70 % до массового. У приученной к искусственному корму молоди гибель практически не наблюдалась. Стала необходимой разработка кормов для более раннего перевода молоди на искусственный рацион.

Разработки в данном направлении показали, что выращивание молоди осетровых при минимальных потерях реально при кормлении специализированными искусственными кормами (Сиверцов, Милославова, 1980; Бонда-

ренко, 1985; Шевченко, Ноякшева, 1981).

В середине 80-х годов были разработаны государственные комплексно-целевые программы (КЦП), направленные на развитие рыбного хозяйства страны. В частности КЦП «Премикс» предусматривала разработку гранулированных физиологически полноценных стартовых и продукционных кормов нового поколения для разных видов рыб, в том числе осетровых. При разработке кормов необходимо было изучить и учитывать физиологические потребности рыб в основных элементах питания, в том числе витаминах и минеральных веществах с учетом возрастных особенностей. В разработке кормов принимали участие такие институты как ЦНИОРХ, КаспНИИРХ, АзНИИРХ, КрасНИИРХ, ВНИИПРХ и ВНИРО, ГосНИОРХ, ФГУП НПЦО «БИОС» и др. Рыбохозяйственная наука успешно справилась с поставленной задачей. Были разработаны и предложены промышленности стартовые и продукционные корма, витаминные и минеральные премиксы и другие добавки для осетровых, лососевых, сиговых, карповых и других объектов аквакультуры. Такие корма как «Эквизо», Старт-1Аз, «Экос» и некоторые другие могли заменить живые корма при выращивании личинок.

Рецептуры кормов обобщены в справочниках и монографиях М.А. Щербины с соавторами (1985), Л.М. Васильевой (2000), В.И. Козлова с соавторами (2004) и других ученых.

Разработка гранулированных кормов нового поколения способствовало активному развитию интенсивной аквакультуры осетровых рыб. Однако, при всех положительных технологических возможностях, позволяющих контролировать и регулировать качество среды обитания и питания, проводить профилактические и лечебные мероприятия, интенсивное рыбоводство не снимает проблемы, связанные со здоровьем и, соответственно, с ростом, развитием и выживаемостью рыб.

Как отмечали ранее, кормление рыбы в индустриальной аквакультуре осуществляют исключительно искусственными комбикормами. Несоответствие физиологической потребности рыб в питательных и биологически ак-

тивных веществах, плохое качество кормов и неправильный режим кормления ухудшают физиологическое состояние организма рыб, способствуют замедлению роста и снижению упитанности, а также развитию тяжелых патологий, часто вызывающих массовую гибель (Golovin, Golovina, 1995; Головин с соавторами. 2000; Головина с соавторами, 2000; Бурлаченко с соавторами, 2002).

П.П. Головин, Н.А. Головина (Golovin, Golovina, 1995) делят алиментарные заболевания рыб на две группы:

- первая - заболевания, связанные с использованием несбалансированных комбикормов по основным питательным и биологически активным веществам - белкам, жирам, углеводам, витаминам и минеральным элементам;
- вторая - заболевания, возникающие у рыб в результате потребления недоброкачественных кормов.

Для нормального роста и развития рыб корма должны быть сбалансированы по всем питательным веществам, т.е. содержать белки с аминокислотами, жиры с жирными кислотами, различные углеводы, минеральные элементы, витамины, каротиноиды, антиоксиданты и другие биологически активные вещества в определенном количестве и соотношении.

Белки являются структурным элементом тканей и не откладываются в запас. Недостаток в рационе белков приводит к депрессии роста из-за разрушения, в первую очередь, клеток мышц и печени. Поэтому питательная ценность корма во многом определяется качеством, степенью переваримости и усвоения белка (Остроумова, 2001).

Качество белка определяется набором и количественным соотношением аминокислот и их доступностью организму в процессах переваривания. К незаменимым аминокислотам относятся: лизин, аргинин, гистидин, треонин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, триптофан и фенилаланин. Они не могут синтезироваться в организме, либо синтезируются с недостаточной скоростью для удовлетворения его потребностей, поэтому должны поступать с пищей.

К заменимым аминокислотам относятся глютаминовая и аспаргиновая, серин, глицин,  $\alpha$ -аланин, пролин, тирозин, цистин, цистеин и ряд других. Определено, что при дефиците некоторых аминокислот организм способен компенсировать их недостаток другими аминокислотами (Nose et al., 1979; Halver, 1964; Wilson, 1984, 1989; Tacon, Cowey, 1985 и др.).

В недостаточности отдельных незаменимых аминокислот в питании рыб специфические проявления, как правило, отсутствуют и проявляются общими признаками, характерными для неполноценного питания вообще. Таковыми являются угнетение роста, потеря аппетита, снижение резистентности к неблагоприятным условиям содержания и восприимчивости к инфекционным заболеваниям. Кроме того, дефицит незаменимых аминокислот в рационах приводит к снижению эффективности использования протеина корма и значительному повышению кормовых затрат.

Оптимальный уровень белка в комбикормах определяется энергетической обеспеченностью рациона. Высококонцентрированными источниками энергии являются жиры. Кроме того, часть энергетических потребностей покрывается за счет расщепления углеводов. Функции жиров в организме многогранны. Они являются поставщиками энергии и передатчиками биологических сигналов, служат структурными компонентами клеточных мембран.

Главный энергетический резерв организма - триглицериды. Они участвуют в процессах терморегуляции и их уровень зависит от состояния рыбы и накормленности.

Фосфолипиды, или мембранные липиды, представлены многообразной группой веществ различного состава и структуры. Фосфолипиды поддерживают постоянство внутренней среды и межклеточный обмен, обеспечивают нормальное функционирование нервной системы, способствуют адаптации организма к изменяющимся условиям. При недостатке в организме рыб фосфолипидов нарушается жировой и ионный обмен, дыхание и биологическое окисление в клетках.

Физиологические свойства различных липидов во многом определяют

ся типом и количественным соотношением жирных кислот. Отличительным показателем липидов и физиологического состояния рыб служит соотношение полиеновых кислот  $\omega 3/\omega 6$  рядов (Takeuchi et al., 1980; Watanabe, 1982; Bell et al., 1986; Абросимова, 1997).

Жирные кислоты подразделяют на незаменимые (эссенциальные) и заменимые по тем же признакам, как аминокислоты. Функционально важными для рыб являются ленолевая ( $C_{18:2}$   $\omega 6$ ) и леноленовая ( $C_{18:3}$   $\omega 3$ ) кислоты и их производные: арахидоновая ( $C_{20:4}$   $\omega 6$ ), эйкозопентаеновая ( $C_{20:5}$   $\omega 3$ ), докозапентаеновая ( $C_{22:5}$   $\omega 3$ ) и докозагексаеновая ( $C_{22:6}$   $\omega 3$ ) жирные кислоты.

При избыточном поступлении в организм жирные кислоты остаются в жировой ткани, а при низком уровне - потребности удовлетворяются за счет депонированных жирных кислот. Избыток жиров в кормах вызывает повышенное отложение жира на внутренних органах, ожирение печени и ее жировое перерождение, восприимчивость рыб к инфекциям.

Наиболее типичные проявления дефицита жира и незаменимых жирных кислот: депрессия роста, снижение общего белка, заболевания кожи и плавников вплоть до некроза, нарушение осморегуляции (Абросимова и др., 1988; Головина и др., 1994).

В жизнедеятельности рыб углеводы, в частности глюкоза и гликоген, играют важную роль как поставщики органических кислот, необходимых для осуществления пластического и энергетического обмена. Питательная ценность углеводов пищи определяется их химическим строением и соотношением отдельных структурных групп. По химическому составу их подразделяют на 2 группы: легкогидролизуемые и трудногидролизуемые.

К легкогидролизуемым углеводам относятся главным образом сахара, полисахариды и гликоген, содержащиеся внутри клеток. Конечные продукты их распада - моносахариды.

Трудногидролизуемые углеводы – это сложные комплексы, в состав которых входят целлюлоза, лигнин, хитин, поли - и гетеросахариды растительного и животного происхождения и составляют основу оболочек клеток.

Питательная ценность трудногидролизуемых углеводов невысока, но они вносят достаточно существенный вклад в нормализацию процессов пищеварения в качестве балластных веществ. Трудногидролизуемые углеводы активизируют переваривание остальных питательных веществ, усиливая перистальтику кишечника. Кроме того, они «служат субстратом для кишечных микроорганизмов, участвующих в симбионтном пищеварении. Эта микрофлора синтезирует основное количество витамина В<sub>12</sub>, много витамина С, частично фолиевую кислоту (витамин В<sub>с</sub> или В<sub>9</sub>) и инозитол (витамин В<sub>8</sub>), а также ферменты, разрушающие пентозаны (ксиланы, рабаны), целлюлозу и другие (3-глюканы, пектиновые вещества и гемицеллюлозы» (цит. по М.А. Щербина, Е.А. Гамыгин, 2006. с. 26).

При недостатке в пище углеводов и жиров организм энергетические затраты осуществляет за счет белков. При избытке углеводов у рыб повышается содержание жира и уровень гликогена в печени.

Витамины – являются незаменимыми компонентами сбалансированного кормления. Они выполняют важные биохимические и физиологические функции, входят в состав коферментов и белков. Витамины - низкомолекулярные органические соединения, различные по Потребность в витаминах у рыб очень мала, так как они обладают высокой биологической активностью, но их дефицит вызывает серьезные изменения в обмене веществ, негативно влияя на рост и развитие (Halver, 1982; Мирзоева, 1990; Сергеева, 1998; Щербина, Гамыгин, 2006).

Выделяют 3 формы патологии рыб, обусловленные их обеспеченностью витаминами - авитаминоз, гиповитаминоз, гипервитаминоз.

Авитаминоз развивается в результате полного или почти полного отсутствия одного из витаминов в период длительного кормления. Совместная недостаточность нескольких витаминов называют полиавитаминозом.

Основные симптомы: плохой аппетит, снижение темпа роста, реформация скелета, жабр.

Гиповитаминоз – это состояние, характеризующее частично проявив-

шуюся специфичность, образованную недостатком витамина. В хозяйствах индустриального типа наиболее часты гиповитаминозы А, В, С.

Симптомы: неспецифическое снижение темпа роста, ухудшение ряда физиологических показателей, нестойкость к инфекционным и инвазионным заболеваниям, нарушения в системе крови и кроветворении, изменения в морфофизиологической характеристике печени, снижение усвояемости корма.

Гипервитаминоз развивается вследствие длительного избыточного введения в организм любого из витаминов, преимущественно жирорастворимых. Проявляется комплексом патофизиологических и биохимических нарушений, идентичных симптомам при гиповитаминозе.

В целом неполноценность витаминного обеспечения корма приводит к повышению себестоимости рыбой продукции, что снижает экономическую эффективность рыбоводства.

Минеральные вещества не являются питательными веществами, однако необходимы рыбе для нормального роста и развития. Минеральные вещества выполняют многочисленные и разнообразные функции: служат пластическим материалом для формирования скелета, зубов, хрящей, входят в состав многих белков и нуклеиновых кислот, некоторых ферментов, гормонов, фосфолипидов, витаминов, участвуют в процессах обмена веществ в качестве активаторов и кофакторов многих ферментов, поддерживают относительное динамическое постоянство внутренней среды организма (гомеостаз) за счет поддержания постоянства рН среды и осмотического давления (Nose, Arai, 1979; Цирульская, Люкшина, 1981; Евтушенко, 1989; Мирзоева, 1996). Спектр минеральных веществ в организме животных достаточно велик – около 70 элементов, но наиболее важное значение в жизни животных имеют кальций, фосфор, магний, калий, натрий, сера, хлор, железо, медь, йод, марганец, кобальт, цинк, молибден, селен, хром, олово.

Биологическая роль отдельных минеральных элементов зависит от его физических, химических и физико-химических особенностей, от общего со-

держания в отдельных тканях или во всем организме, от его включения в состав органических соединений или нерастворимых солей, находится в свободном ионном состоянии.

При недостатке, избытке или неблагоприятном соотношении того или иного микро- и макроэлемента проявляются специфические нарушения определенных функций организма (Мирзоева, 1996; Сергеева, 1998; Болезни рыб, 2000; Щербина, Гамыгин, 2006).

Несмотря на то, что функция каждого макро- и микроэлементов в организме имеет соответствующее значение, недостаток или избыток каждого угнетает рост и отрицательно влияет на использование кормов. Особенно чувствительна к недостатку в кормах минеральных веществ ранняя молодежь. У нее при этом снижается аппетит, понижается упитанность, деформируются кости, развивается сколиоз и анемия.

С целью повышения физиологической полноценности в рыбные комбикорма вводят минеральные, витаминные или витаминно-минеральные премиксы, ферментные препараты, каротиноиды и антиоксиданты, а в стартовые корма вводят кормовое сырье с высоким уровнем дисперсности протеина или гидролизаты (Цирульская, Люкшин, 1981; Орлинский, 1984; Яржомбек и др., 1986; Абросимов, 1991;).

Как отмечали ранее, ко второй группе алиментарных заболеваний относятся заболевания, возникающие у рыб в результате потребления недоброкачественных кормов. Основными факторами их вызывающими являются окисленные жиры, алиментарные токсикозы и заболевания, вызванные комбикормами, высококонтаминированными микроорганизмами (бактериями, микроскопическими грибами, дрожжами) или содержат продукты их жизнедеятельности - токсины. В процессе хранения рыбных комбикормов или кормового сырья, особенно жиросодержащих компонентов животного происхождения (рыбная, мясная и мясокостной мука, сухое молоко) происходит окисление жиров с образованием токсичных продуктов - перекисей, альдегидов, кетонов и др. При кормлении рыб комбикормами с окисленными жира-

ми у них нарушается координация движения, дыхание, наблюдаются конвульсии и гибель (Абросимова и др., 1988; Мирзоева, 1999; Головин и др., 2000; Болезни рыб..., 2000).

Для предохранения жиров от порчи в корма вводят различные естественные и синтетические антиоксиданты и антиокислители (Петрухин, 1989; Гамыгин, 1987). Введение антиоксидантов в корма требует четкости нормирования, так как их избыток нарушает динамическое равновесие свободнорадикального окисления в организме, что приводит к снижению темпа роста, антиоксидантной защиты и резистентности.

Патологические процессы усугубляются при скармливании кормов с окисленными жирами, обсемененных бактериями и грибами и содержащие различные токсические вещества. У таких рыб, прежде всего, поражается печень (Абросимова и др., 1988; Болезни рыб..., 2000).

При скармливании рыбам кормов, зараженных плесневыми грибами, у них развиваются микотоксикозы. Микотоксины, как правило, оказывают иммунодепрессивное действие, подавляя естественную резистентность рыб.

К алиментарным относятся и заболевания, вызываемые токсическими веществами растительного происхождения (Щербина, Гамыгин, 2006). К таковым относятся хлопчатниковый жмых содержащего госсипол, жмыхи и шроты из семян клещевины, содержащие токсальбумин и алкалоид рицина.

При интенсивных технологиях выращивания рыб, где используются корма с высоким содержанием белков животного и микробиального синтеза, наиболее часто встречаются заболевания вызванные кормами, зараженными микроорганизмами.

Наиболее опасными микроорганизмами в кормах И.В. Бурлаченко выделяет группу кишечной палочки, дрожжеподобные и плесневелые грибы (Бурлаченко, 2007). Эти микроорганизмы успешно существуют как во внешней, так и внутренней среде животных. Они относятся к условно-патогенным организмам, могут принимать участие в процессах переваривания пищи в кишечнике, будучи симбионтами, но при ухудшении условий могут транс-

формироваться в возбудителей заболеваний (Mattheis, 1964; Savadge, 1980; Ларцева, Проскурин, 2003). Кроме того, как отмечали ранее, грибы способны образовывать токсины, негативно влиять на обмен веществ и выживаемость, вызывать дисбактериоз.

Для борьбы с алиментарными токсикозами проводят полную или частичную замену токсичных кормов на нетоксичные до уровня предельно-допустимых значений токсиканта, вводят в рацион витамины, пробиотики, антидоты и другие биологически активные препараты (Киянова, 1998; Юхименко и др., 2000; Трифонова и др., 2004; Судакова и др., 2005 и др.).

Одним из часто встречаемых алиментарных заболеваний в индустриальной аквакультуре является дисбактериоз. В настоящее время сложилось 2 точки зрения на проявление данного заболевания:

- высокая обсемененность кормов газообразующими дрожжами р. *Candida* (Golovin, Golovina, 1995);

- вследствие длительного кормления однотипной искусственной диетой (Маликова, Котова, 1961; Абросимов, Абросимова, 2006; Abrosimova, 2006).

Высокая обсемененность кормов дрожжами р. *Candida*, при кормлении которыми развивается дисбактериоз и, как следствие, вздутие желудочно-кишечного тракта, является результатом проявления бродильной активности дрожжей. Как правило, это корма, содержащие жизнеспособные гидролизные и углеводородные дрожжи, белотин, биотрин и др.

Установлено, что уровень обсемененности корма микроорганизмами не должен превышать  $1 \times 10^3$  КОЕ/г, а при их содержании выше  $1 \times 10^6$  КОЕ/г корм может быть причиной возникновения заболевания.

Известно, что структурно-функциональная организация животных, в том числе рыб, существенно изменяется в процессе онтогенетического развития. Расширяется спектр потребляемых кормовых организмов, формируется тип питания, которое сопровождается перестройками спектра и активности пищеварительных ферментов рыб (Остроумова, 1983; Уголев, Кузьмина,

1993 и др.). Поэтому, длительное однотипное кормление становится причиной нарушения симбионтного взаимоотношения между организмом рыбы и микробным населением пищеварительного тракта.

Сначала у молоди осетровых наблюдается скопление газовых пузырьков в желудке и спиральном клапане. По мере усугубления дисбактериоза и накопления газов у рыб раздувается желудочно-кишечный тракт, они не могут потреблять пищу и гибнут.

По клиническим признакам это заболевание было отнесено к дисбактериозу, а по клиническому проявлению - тимпанию.

Профилактика тимпаний сельскохозяйственных животных: контроль качества кормов, правильное и регулярное кормление, исключение из рациона недоброкачественных кормов, правильная и постепенная смена рационов. Для удаления газов применяют зондирование и промывание, а также массаж рубца. Для усиления мониторинга преджелудков назначают руминаторные средства, а для освобождения желудочно-кишечного тракта – слабительные (Субботин и др., 2001).

Меры, предложенные для лечения тимпаний у рыб, до недавнего прошлого не были достаточно эффективными. В настоящее время наряду с полной или частичной заменой рациона предлагается введение в корма различных пробиотиков. Однако, несмотря на применяемые меры, их эффективность невысока, проблема профилактики и лечения тимпаний у гидробионтов до настоящего времени остается не решенной.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Согласно поставленным задачам исследования проводили в 3-х направлениях: 1-е - изучали изменения физиолого-биохимического статуса молоди стерляди и бестера в условиях интенсивной аквакультуры с различной степенью нарушения симбионтного пищеварения (тимпани); 2-е – изучали возможность профилактики и нормализации процессов пищеварения за счет оптимизации кормов и кормления; 3-е – изучали возможность лечения молоди, пораженной тимпанией на различной стадии, за счет специальной методики кормления (рис. 1).



Рисунок 1. Схема и основные направления исследований

Сбор материала, данных и опыты проводили в течение 2006-2013 гг. на Донском осетровом рыбноводном заводе (ДОЗ), ФГУП НПЦ по осетроводству

«БИОС» Астраханской области, ЗАО «Казачка», Новочеркасском рыбокомбинате и ООО «Бессергеновский рыбоводный завод» Ростовской области.

Объектом исследований служила молодь стерляди и бестера с различной степенью поражения тимпанией. В зависимости от степени поражения рыба условно была разделена на 3 группы: 1-я - начальная, 2-я - средней тяжести и 3-я - тяжелая или предагональная стадия (рис. 2).



**Рисунок 2. Тяжелая (3 стадия) заболевания**

Рыбу на начальной стадии заболевания (1 стадия) отличает вялость, побледнение окраски тела, визуальная различимая припухлость брюшка, предвестница начинающейся тимпаниии. Молодь со средним течением заболевания (2 стадия) отличается нарушением координации движений, дальнейшим увеличением вздутия брюшной полости. Рыба на тяжелой (3 стадии) заболевания перестает питаться и держится на поверхности воды. Наблюдается сильнейшее вздутие брюшной полости (сквозь кожные покровы просвечивается воспаленный кишечник), с выпячиванием кишечника и ануса (Головина и др., 2000). Незадолго до гибели молодь утрачивала рефлекс ориен-

тации и плавала кверху брюшком, не реагируя на внешние раздражители.

Для сравнения была исследована группа рыб без внешних патологических отклонений (контроль). Следует отметить, что представленная картина развития тимпаниа характерна для осетровых рыб (Абросимова, 2006).

Молодь стерляди и бестера содержали в пластиковых бассейнах ИЦА-2 площадью 4 м<sup>2</sup> с круговым током воды и начальной плотностью посадки по 15 000 экз. на бассейн (по традиционной для России интенсивной методике). Кормили рыб стартовыми кормами отечественного или зарубежного производства в зависимости от их наличия на данном ОРЗ. Режим кормления соответствовал разработанной для осетровых рыб технологии (Абросимова и др., 1989; Абросимова, 1997).

Для изучения воздействия различных стадий тимпаниа на физиологический и биохимический статус молодь стерляди и бестера отбирали в производственных бассейнах.

Для профилактики и лечения тимпаниа использовали методики лечения дисбактериоза людей и животных, основанных на применении специальных диет, антимикробных препаратов, антиоксидантов и пробиотиков. С этой целью для профилактики тимпаниа молодь после 20 суток кормления кормом Старт-1 переводили на новый Старт-2, в котором повышали уровень полиформных белков за счет замены «Протамино Аква» на кукурузный глютен и в качестве антиоксиданта вводили β-каротин растворенный в очищенном льняном масле (Патент 2310338, 2007).

При лечении в качестве антимикробного препарата применяли фуразолидон в количестве 0.6 г на 1 кг корма и в качестве пробиотика – лактобактерин в количестве 0.2 % к массе корма.

При подборе данной композиции ориентировались на литературные данные по использованию перечисленных компонентов при выращивании осетровых рыб (Абросимов, Абросимова, 2004; Абросимова и др., 2006; Патент 2310338, 2007; Пономарев, Пономарева, 2010).

Фуразолидон предварительно растворяли в небольшом количестве во-

ды и раствором орошали корм при постоянном перемешивании. Продолжительность лечебного кормления 5 дней, затем, после двухдневного перерыва, курс повторяли.

Изменение метаболизма молоди при тимпании оценивали по физиолого-биохимическим показателям: обмену веществ (общему, липидному и энергетическому: фосфолипидно-триацилглицериновому и фосфатидилэтанолламинно-фосфатидилхолиновому коэффициентам, коэффициенту Дьёрдии, соотношению жирных кислот  $\omega 3/\omega 6$ ), показателям перекисного окисления липидов (уровню гидроперекисей и антиоксидантом).

Эффективность новой методики кормления, а также лечебного кормления определяли по рыбоводно-биологическим показателям (весовой рост, выживаемость, упитанность, кормовому коэффициенту) и физиолого-биохимическим показателям (химический состав мышц, фосфолипидно-триацилглицериновый и фосфатидилэтанолламинно-фосфатидилхолиновый коэффициент, коэффициент Дьёрдии, соотношение  $\omega 3/\omega 6$  жирных кислот, уровень гидроперекисей и антиоксидантов). Изучали также качественный и количественный состав кишечной микрофлоры у рыб при тимпании и после лечебного кормления.

**Рыбоводно-биологические исследования.** Исследуемые показатели определяли по общепринятым методикам (в прописи Абросимовой и др., 2006).

Темп роста рыб оценивали по среднесуточному приросту по формуле:

$$\text{Среднесуточный прирост, мг} = (M_k - M_n) / T,$$

где,  $M_n$  - масса рыбы в начале эксперимента, мг;

$M_k$  - масса рыбы в конце эксперимента, мг;

$T$  - период выращивания, сут.

Выживаемость рассчитывали по данным учета погибшей молоди при ежедневной чистке бассейнов.

Упитанность определяли по формуле:

$$КУ_\phi = M / l^3 \cdot 100,$$

где  $КУ_\phi$  – коэффициент упитанности по Фультону;

$M$  - масса рыбы, мг;  $l$  - длина рыбы от конца рыла до начала средних

*лучей хвостового плавника, мм.*

Кормовой коэффициент (КК) рассчитывали по формуле:

$$KK = C_k / (M_k - M_n),$$

*где  $C_k$  - количество корма, затраченного на выращивание за период эксперимента, мг (г);*

*$M_n$  и  $M_k$  - масса рыбы в начале и конце эксперимента, г.*

**Физиолого-биохимические исследования.** Общий химический анализ рыб и кормов проводили по стандартным методикам (в прописи Абросимова и др., 2006): определение влаги высушиванием при  $T = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$ , жира - экстрагированием в аппарате Сокслета, сырого протеина - путем калориметрического определения азота с применением реактива Неслера, умноженного на коэффициент 6.25, гликогена – колориметрическим методом, содержание золы - сжиганием исследуемого материала в муфельной печи при  $T = 500\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Для разделения липидов на классы использовали метод тонкослойной хроматографии (Шталь, 1965), с предварительным экстрагированием их по Фолчу (Folch et al., 1957). В качестве сорбента применяли закрепленный слой силикагеля "LS 5/40 1m 0" (Chemapol) + 13% гипса. Разгонку липидов осуществляли в системе растворителей - гексан:диэтиловый эфир:ледяная уксусная кислота в соотношении - 80:20:2.

Глицерины определяли по цветной реакции с хромотроповой кислотой (Биохимические методы исследований в клинике, 1969), липоидный фосфор - по методу Ш. Исао с соавторами, холестерин - по методу Либермана-Бурхарда модифицированного С. Ильком, эфиры холестерина - с использованием дигитонина (в прописи Абросимова и др., 2006), неэстерифицированные жирные кислоты - колориметрически с использованием медного реактива (Yang Jeun-Sing, Biggs, 1971).

При количественном определении спектра фосфолипидов использовали систему растворителей - хлороформ:метанол:вода (65:25:4). При этом липиды разделялись на следующие фракции: лизофосфотидилхолины, сфингомиелины, инозитфосфатиды, фосфатидилхолин, фосфотидилэтаноламин,

кардилипин с полиглицерофосфатидами.

Жирные кислоты определяли методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «ЦВЕТ-5». В качестве неподвижной среднеполярной фазы использовали "Lac 2R-446" - 27%. Идентификацию жирных кислот осуществляли путем сравнения графиков зависимости логарифмов удерживаемых объемов от длины цепи углеродных атомов. В качестве метчиков использовали стандартные смеси метиловых эфиров жирных кислот - "Sigma-189-1" и "Sigma-189-6".

Содержание диеновых конъюгатов оценивали по характерному для них ультрафиолетовому спектру поглощения раствора липидов в системе растворителей - метанол: гексан в соотношении 5:1. Малоновый диальдегид определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Коробейникова, 1989). Конечные продукты перекисного окисления липидов (основания Шиффа) регистрировали по спектрам флюоресценции растворов липидов в хлороформе с максимумом возбуждения флюоресценции при 360 нм и максимумом испускания в области 420-440 нм на спектрофотометре "Hitachi". Определение активности супероксидсмутазы проводили гидроксиламиновым методом (Yasuhira, 1983),  $\alpha$ -токоферола - флуорометрическим методом (Taylor et al., 1980). Активность липазы определяли по скорости гидролиза трибутирина (Yang Jeun-sing, Biggs, 1971), фосфолипазы А - по методу Х. Брокерхоф и Р. Дженсен (1978).

**Микробиологические исследования.** При сборе материала для определения микрофлоры кишечника молоди руководствовались общепринятыми методиками. При исследовании использовали метод смешанных проб (Richter-Otto, Fehrmann, 1956), для чего отбирали содержимое кишечника не менее 10 рыб каждого варианта. Содержимое кишечника стерильно взвешивали и приготавливали разведение в физиологическом растворе в соотношениях от  $10^{-1}$  до  $10^{-5}$ . Посевы производили на элективные среды и выявляли следующие физиологические группы бактерий: минерализующие белки,

амилолитические, молочнокислые, целлюлозолитические, плесневые грибы, дрожжи, группа кишечной палочки. О наличии бактерий различных физиологических групп судили по росту их в определенных средах и вызываемым ими в этих средах химическим реакциям.

Минерализирующие белки бактерии учитывали на сусло-пектонном агаре по выросшим колониям. Амилолитические бактерии исследовали на крахмальном агаре (Шивокене, 1989) и идентифицировали по зонам гидролиза вокруг колоний, не дающих реакций с иодом. Для выделения молочнокислых бактерий использовали среду Бликфельда - сусло-агар с мелом (ГОСТ 10444.11-89). Для выращивания целлюлозолитических бактерий использовали среду Гетчинсона, учет проводили по наличию колоний на фильтровальной бумаге (Шивокене, 1989). Для определения плесеней и дрожжей использовали среду Сабуро (ГОСТ 10444.12-88), бактерий группы кишечной палочки - среду Эндо (ГОСТ 30518-97/ГОСТ Р 50474-93).

Многие формы этих бактерий «заглушаются» сопутствующей микрофлорой, поэтому посев обрабатывали 3%-ным раствором перекиси водорода.

Посевы инкубировали следующим образом:

- на сусло-пептонном агаре – в течение 72 часов при температуре 30 °С;
- на среде Сабуро – в течение 120 часов при температуре 24 °С;
- на среде Эндо – в течение 72 часов при температуре 37 °С 72 часа;
- на крахмальном агаре – в течение 10 суток при температуре 24 °С;
- на среде Гетчинсона – в течение 14 суток при температуре 24 °С;
- на среде Бликфельда - в течение 120 часов при температуре 30 °С.

По истечении срока инкубации посевов подсчитывали количество выросших характерных колоний.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью прикладной компьютерной программы «Excel». Информация об объеме исследованного материала приведена в таблице 1.

**Объем исследованного материала**

Направление исследований	Определяемый показатель	Количество проб	Количество проведенных анализов
Комбикорма, компоненты	Химический состав (влага, протеин, фракция белков, жир, зола)	12	86
Рыбоводно-биологические	Масса, выживаемость, упитанность)	1600	3200
Изменения физиолого-биохимического статуса рыб при тимпании	Микробиологические исследования	30	210
	Общий биохимический состав	56	280
	Содержание отдельных липидов	40	80
	Содержание жирных кислот	24	24
	Уровень гидроперекисей	30	90
	Активность антиоксидантов	30	60
Результаты оптимизации кормления и лечебного кормления рыб	Микробиологические исследования	32	224
	Общий биохимический состав	140	660
	Содержание отдельных липидов	200	400
	Содержание жирных кислот	52	52
	Активность липазы и фосфолипазы А	24	48
	Уровень гидроперекисей	51	153
	Активность антиоксидантов	51	102

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Изменения биохимического статуса рыб при тимпании

По результатам наших наблюдений и анализа литературных данных нарушение симбионтного пищеварения негативно влияет на здоровье рыб и может привести к определенному патогенному фону физиологических и биохимических процессов. Негативные последствия являются следствием нарушения благоприятных экологических связей между организмом рыбы, ее пищей и микрофлорой пищеварительного тракта. Этому способствуют также условия интенсивного выращивания – высокие плотности посадки, достаточно напряженные санитарно-гигиенические условия в бассейнах, использование в комбикормах продуктов микробиального синтеза, в производстве которых используют различные штаммы грибов рода *Candida* (Петрухин, 1989; Беккер и др., 1990; Евтушенков, Фомичев, 2002; Абросимов, 2008б).

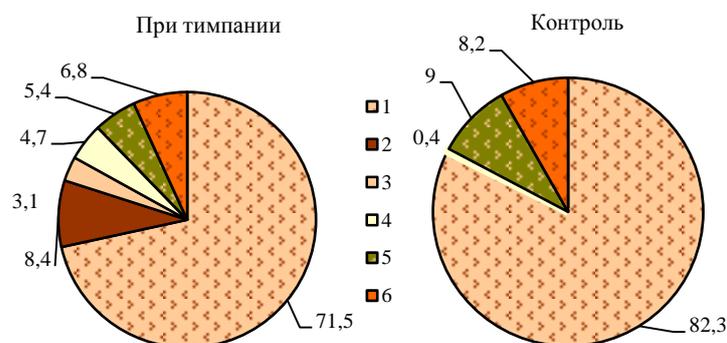
#### 3.1.1. Тимпания – как следствие нарушения симбионтного пищеварения рыб

Известно, что бактериальная флора представляет собой необходимый компонент любого организма и необходима для его нормального существования (Lee, 1980; Чахава, 1982; Уголев, 1985). Доказано, что пищеварение рыб определяется не только качественным составом и химизмом кормов, ферментными системами органов пищеварения, но и характером эндосимбиотических взаимоотношений между макроорганизмами и населяющими его пищеварительный тракт микроорганизмами (Трепшене и др., 1975; Абросимов, Абросимова, 2006; Бурлаченко, Малик, 2007). Качественный и количественный состав микробов пищеварительного тракта животных в значительной мере зависит от среды и условий обитания, в том числе трофических, и постоянно изменяется под воздействием различных биотических и

абиотических факторов (Hamid et all., 1978; Sugita et all, 1982; Шивокене, 1989). При изменении качественного состава пищи соотношение бактерий в микробиоценозе изменяется. Доказано, что длительное потребление искусственных диет приводит к нарушению равновесия в составе кишечной микрофлоры, в результате которого резко подавляются или исчезают микробы отдельных видов. Это может привести к патологии, в частности дисбактериозу и, как следствие, тимпании (Маликова, Котова, 1961; Desmettre, Auda, 1974; Сорвачев, 1982; Марченко, 1987; Головина и др., 2000; Abrosimova, 2006).

В пищеварительном тракте у здоровой молодежи стерляди и бестера нами обнаружены микроорганизмы разных физиологических групп: минерализующие белок бактерии, молочнокислые, амилалитические и целлюлозолитические бактерии. Аналогичный состав микрофлоры пищеварительного тракта наблюдали у молодежи русского осетра (Абросимова, 2008).

В наибольшем количестве микрофлора кишечника молодежи стерляди представлена минерализующими белок бактериями, доля которых превышала 80 % (рис. 3, контроль).



**Рисунок 3. Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов в кишечнике молодежи стерляди при тимпании, %**

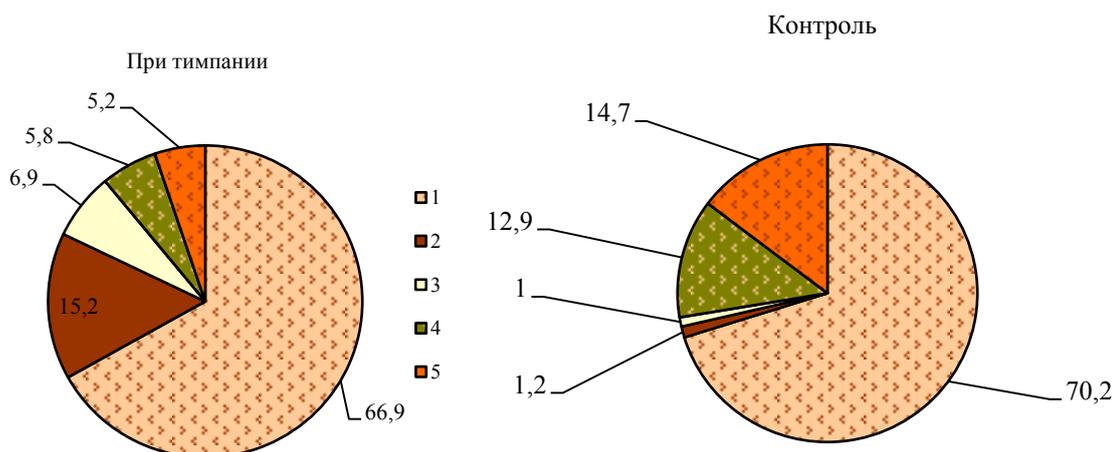
1 - минерализующие белок бактерии, 2 – дрожжи, 3 – плесени, 4 - группа кишечной палочки, 5 – амилалитические бактерии, 6 - молочнокислые бактерии

Количество молочнокислых и амилалитических бактерий практически было в равной пропорции, а доля целлюлозолитических бактерий не превы-

шала 0.1 %. В малом количестве содержались бактерии кишечной палочки – около 0.4 %.

При заболевании тимпанией количество минерализующих белок бактерий уменьшалось на 13.1 %, молочнокислых и амилолитических соответственно на 17.1 и 40.0 %. Одновременно в содержимом кишечника были обнаружены дрожжи – более 8 % и плесени – около 3 %. Доля бактерий кишечной палочки увеличилась более чем в 4 раза (см. рис. 3, при тимпании).

Доминирующими в составе кишечной микрофлоры кишечника у молодежи бестера без признаков тимпании также были минерализующие белок бактерии, уровень которых составлял около 70 % от общего количества выявленной микрофлоры, а также амилолитические и молочнокислые бактерии, доля которых составляла около 27 % (рис. 4, контроль).



**Рисунок 4. Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов в кишечнике молодежи бестера при тимпании, %**

1 - минерализующие белок бактерии, 2 – плесени+дрожжи, 3 - группа кишечной палочки, 4 – амилолитические бактерии, 5 - молочнокислые бактерии

Количество амилолитических и молочнокислых бактерий соответственно в 1.4 и 1.8 раза превышало таковые у стерляди. У этой же молодежи в кишечнике обнаруживались плесени, дрожжи и бактерии группы кишечной палочки, однако их суммарное количество не превышало 2,2 %.

У больной тимпанией молодежи бестера, как и у стерляди, количество

минерализующих белок бактерий уменьшалось, хотя незначительно - на 4.8 %. Более существенно снижался уровень молочнокислых и амилолитических бактерий соответственно в 2.8 и 2.2 раза. Количество плесеней с дрожжами увеличилось в 12.6 раза, группа кишечной палочки – в 6.9 раз.

Таким образом, по результатам наших исследований при тимпании в большей степени подавляются молочнокислые и амилолитические бактерии, являющиеся облигатными при кормлении комбикормами. Незначительное присутствие плесеней, дрожжей и бактерий группы кишечной палочки не оказывало видимого негативного влияния на здоровье молоди, что подтверждается результатами исследований В.В. Сорокина с соавторами (1973) и Я. Шивокене (1989). Следовательно, можно утверждать, что увеличение количества газообразующих плесеней, дрожжей и бактерий группы кишечной палочки более 2 % общей микрофлоры кишечника, являются причиной тимпании у молоди осетровых рыб.

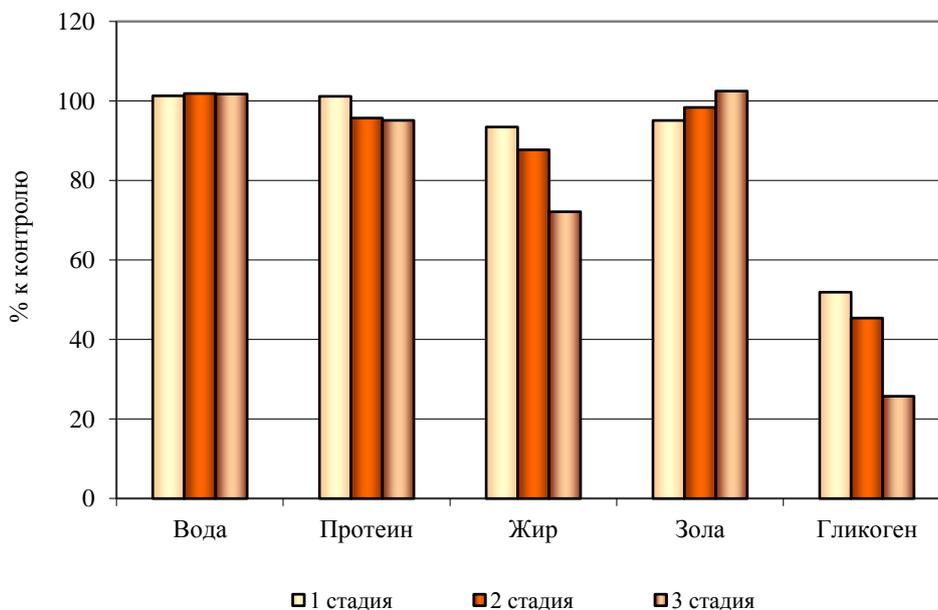
Скопление газа в желудочно-кишечном тракте и, как следствие, его вздутие у рыб отмечала Н.А. Головина с соавторами (2000) при обсеменении кормов дрожжами рода *Candida*.

### **3.1.2. Изменения общего обмена веществ молоди стерляди и бестера при тимпании**

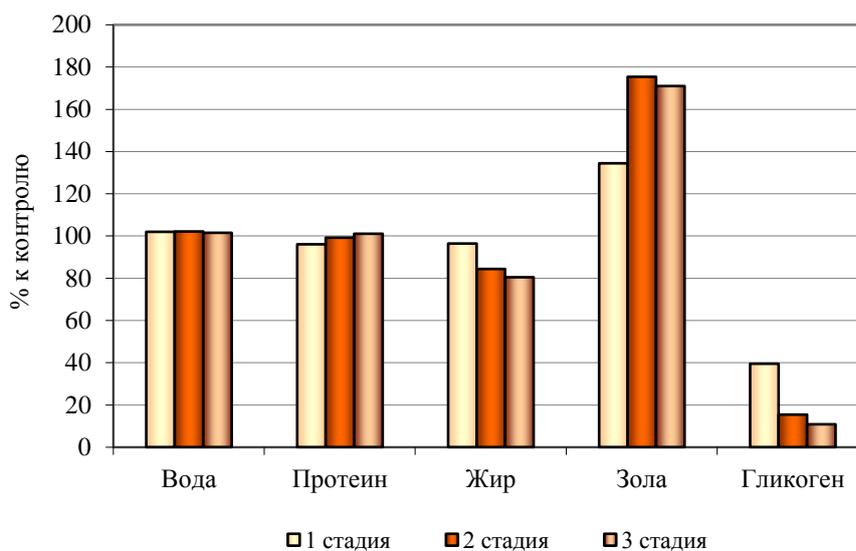
Интегральным отражением направленности обменных процессов являются изменения в пластическом обмене веществ у животных, в том числе рыб, на основании показателей абсолютного и относительного изменения отдельных групп органических и минеральных веществ в их организме в период наблюдений (Абросимова и др., 2006; Щербина, Гамыгин, 2006).

Сравнительная характеристика химического состава молоди стерляди и бестера на различных стадиях тимпании и здоровых рыб выявила у них различия в содержании пластических веществ и гликогена. Наибольшие отличия отмечены в содержании гликогена, жира и минеральных веществ.

Уровень воды в теле, как стерляди, так и бестера на всех 3-х стадиях тимпаниии практически не отличался от контрольной здоровой группы рыб. Незначительны изменения содержания протеина у рыб с тимпанией. Различия по уровню протеина у стерляди на 2-3 стадии тимпаниии не превышали 4.3-4.9 %, у бестера на 1 стадии – 4.0 % (рис. 5 и 6).



**Рисунок 5. Изменение общего обмена веществ у стерляди в процессе развития тимпаниии, % к контролю (контроль принят за 100 %)**



**Рисунок 6. Изменение общего обмена веществ у бестера в процессе развития тимпаниии, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

На метаболическом уровне значимые изменения отмечены по гликогену. С развитием тимпании от 1-й к 3-й стадии содержание гликогена у стерляди уменьшалось в 1.9, 2.2 и 3.9 раз, у бестера - в 2.5, 6.5 и 9.3 раза по сравнению с контролем.

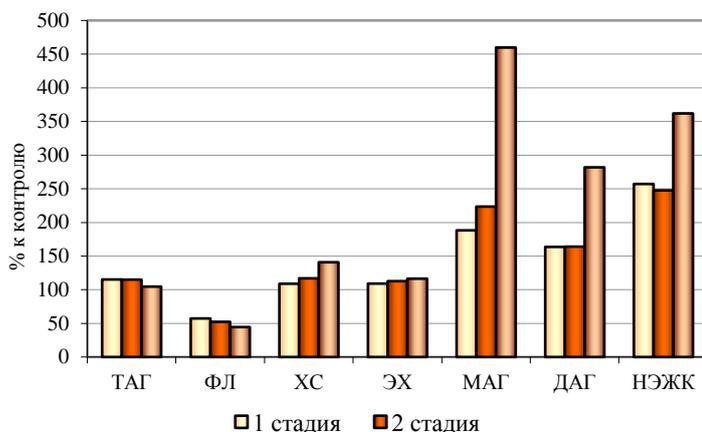
Известно, что гликоген – быстро мобилизуемый энергетический резерв живых организмов. Снижение его содержания в организме свидетельствует об активации гликогенолиза, обусловленного существенным увеличением энерготрат, направленного на поддержание гомеостаза организма при различных патологиях (Весельский, 1976).

Следует также отметить, что изменения в содержании приведенных веществ у бестера по сравнению со стерлядью более выражены. Возможно, это обусловлено высоким содержанием газообразующих организмов - дрожжей, плесени и группы кишечной палочки – у исследуемых рыб, суммарное количество которых более чем на 30 % превышало таковое у стерляди с преобладанием бактерий группы кишечной палочки (15.2 % против 7.8 %).

### **3.1.3. Липидный и энергетический обмен молоди стерляди и бестера при тимпании**

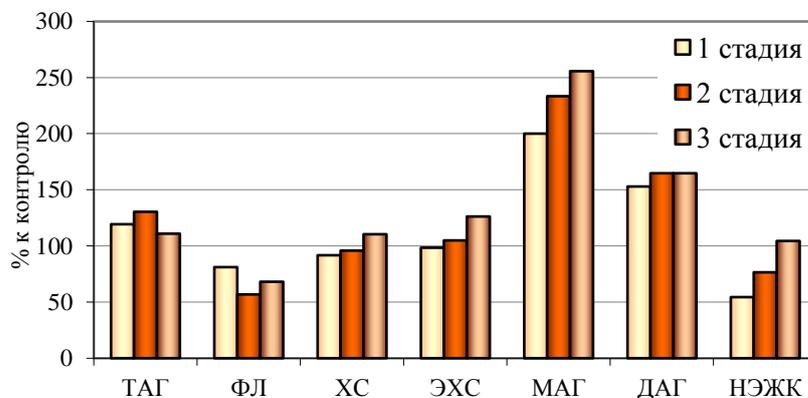
Липиды, как известно, служат составной структурной частью клеток и активно участвуют в биоэнергетических процессах. Поэтому они чрезвычайно чувствительны к изменениям как внешней, так и внутренней среды (Castel, 1979; Taylor e. all, 1980; Сидоров, 1983; Гершанович и др., 1991). Изменения липидного состава клеточных мембран – важные механизмы процессов компенсации и их срыва при развитии патологического процесса. Согласно нашим и литературным данным при нарушении симбионтного пищеварения и развития тимпании липиды проявляют определенный патогенный фон физиолого-биохимических процессов (Топарская, 1970; Аврова, 1999; Абросимова, Абросимова, 2006; Абросимова, 2009 а, б, в).

Сравнительный анализ выявил определенные отличия липидного состава пораженных тимпанией рыб по сравнению с контрольной группой. Выявлено последовательное повышение относительного содержания ХС от 8.9 до 40.8 %, ЭХ – от 9.1 до 16.4 %, МАГ – от 1.9 до 4.6 раз, ДАГ – от 1.6 до 2.8 раз, НЭЖК – от 2.5 до 3.6 раз при последовательном снижении ФЛ от 1.7 до 2.2 раза в сравнении с контрольным вариантом. Уровень ТАГ на начальной и средней стадии отличался от контроля на 15 %, на предагональной – на 4.6 % (рис. 7).



**Рисунок 7. Состав общих липидов тела молоди стерляди в процессе развития тимпанией, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

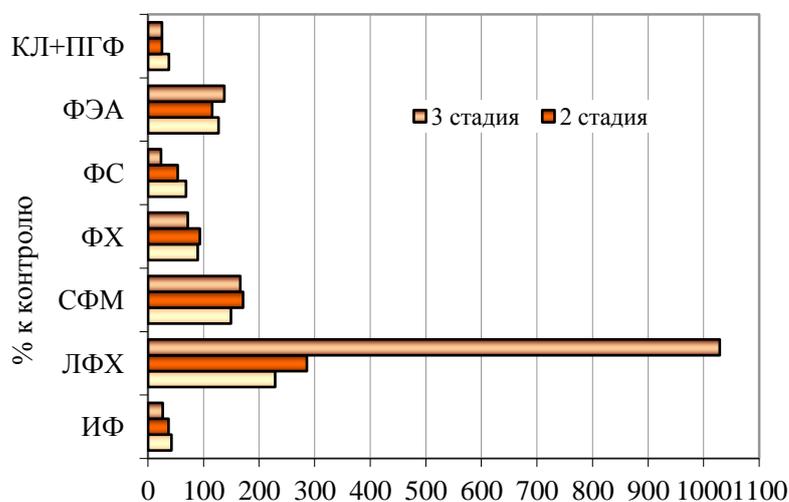
Аналогичная направленность изменений состава липидов в процессе развития тимпанией отмечена и у молоди бестера, хотя и с некоторыми особенностями (рис. 8).



**Рисунок 8. Состав отдельных липидов молоди бестера в процессе развития тимпанией, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Так, на 1-й начальной стадии тимпании изменения в содержании ТАГ и ФЛ составляли 18.9-19.3 % по сравнению с контролем. С развитием тимпании эта синхронность нарушалась, и на 2-й стадии содержание ФЛ снижалось на 43.2 %, а ТАГ – повышалось на 30.4 %. На 3-й стадии различия в ФЛ и ТАГ составили соответственно 31.9 и 10.9 % по сравнению с контролем. Содержание ХС и ЭХС на 1-й и 2-й стадиях тимпании у бестера было близко контрольному варианту. На 3-й стадии содержание данных липидов повышалось соответственно на 10.4 и 26.2 % по сравнению с контролем. К наиболее четко выраженным изменениям следует отнести последовательное увеличение МАГ в 2.0-2.5 и ДАГ - в 1.5-1.6 раза. В отличие от стерляди уровень НЭЖК у бестера на 1-й и 2-й стадиях по сравнению с контролем был ниже на 65.6 и 23.5 %, на 3-й – превышал контроль на 4.4%.

В изменении состава ФЛ также наблюдается определенная закономерность (рис. 9).

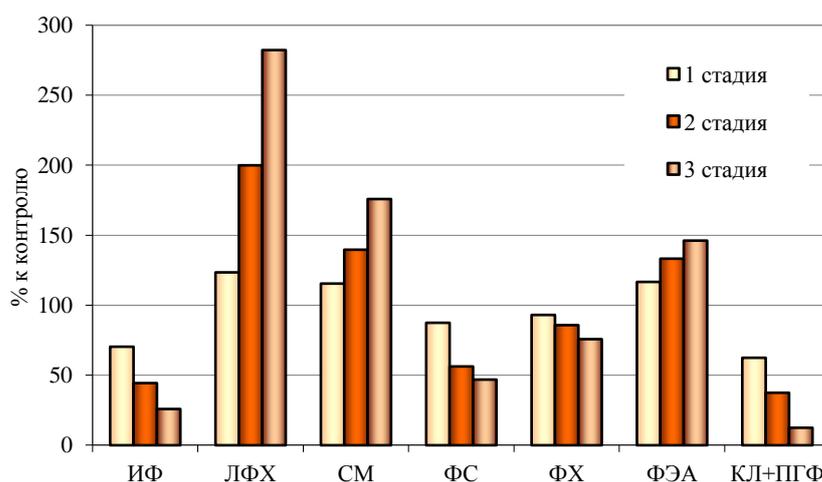


**Рисунок 9. Состав фосфолипидов тела молоди стерляди в процессе развития тимпании, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Так, с усугублением тимпании у молоди стерляди по отношению к контролю последовательно повышался уровень ЛФХ и СФМ соответственно от 2.3 до 10.3 и от 1.5 до 2.6 раз при уменьшении доли ИФ от 2.4 до 3.8 раз, ФС

– от 1.5 до 4.9 раза и КЛ+ПГФ – от 2.7 до 4 раз. Уровень ФХ снижался на 6.9-28.6 %, а ФЭА увеличился на 15.3-37.2 % при минимальных значениях у рыб на 2-й стадии поражения.

В отношении фосфолипидного спектра молоди бестера также отмечали однонаправленный последовательный характер изменений в зависимости от тяжести тимпаний (рис. 10).



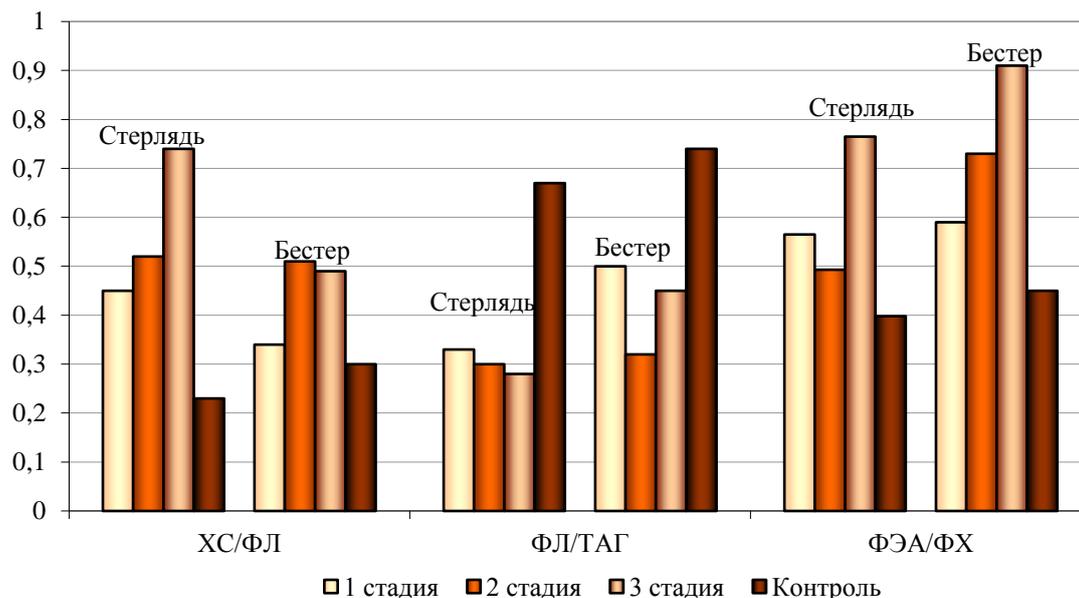
**Рисунок 10. Состав отдельных фосфолипидов молоди бестера в процессе развития тимпаний, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Так, выявлено существенное и последовательное снижение от 1-й к 3-й стадии по сравнению с контролем уровня ИФ от 1.4 до 3.9 раза, ФС - от 12.5 до 53.1 %, ФХ- от 7 до 24 % и КЛ+ПГФ - от 1.6 до 8 раз. Следовательно, уровень этих мембранных липидов был тем ниже, чем более усугублено тимпанией состояние рыбы. Развитие патологического процесса сопровождалось также ступенчатым увеличением уровня ЛФХ от 1.2 до 2.8 раза, СМ – от 1.2 до 1.8 раза и ФЭА - от 17 до 46 % по сравнению с контролем.

Адекватным отражением липидного и энергетического обмена являются ФЛ/ТАГ- коэффициент, коэффициент Дьёрдии, соотношение ФЭА/ФХ и жирных кислот  $\omega 3/\omega 6$  (Takeuchi, Watanabe, 1977b; Сидоров, 1983; Абросимова, 1997; Шульман, Юнева, 1998).

У молоди стерляди и бестера величина ФЛ/ТАГ-коэффициента снижалась по мере развития тимпаний соответственно в 2.0-2.4 и 1.5, 2.3 и 1.6 раз в

сравнении со здоровой (рис. 11).



**Рисунок 11. Показатели липидного и энергетического обмена молоди стерляди и бестера в процессе развития тимпании, ед.**

Подобное изменение ФЛ/ТАГ-коэффициента за счет снижения уровня ФЛ и повышения фракции ТАГ, возможно, является компенсационным эффектом, позволяющим восполнить энерготраты, требующиеся для поддержания существования пораженной тимпанией рыбы. А возможно, усиление синтеза ТАГ, требующего меньшей затраты энергии, компенсирует недостаток энергетических запасов для синтеза ФЛ (Топарская, 1970).

Увеличение коэффициента Дьердии от начальной 1-й стадии тимпании к 3-й по сравнению с контрольными рыбами в 2.0-3.2 раза у стерляди и в 1.1, 1.7 и 1.6 раз у бестера за счет увеличения уровня ХС и уменьшения ФЛ может свидетельствовать о снижении прочности клеточной мембраны на 1-й стадии и, вероятно, о разрушении тканей организма рыб на 2-й и 3-й стадии.

Увеличение соотношения главных мембранных липидов ФЭА/ФХ с развитием тимпании в тканях стерляди в 1.4-1.9 раза и бестера – в 1.3-2.0 раза по сравнению с контролем, свидетельствует о снижении скорости окисления ФЭА и увеличении утилизации ФХ, что неизбежно влечет за собой акти-

вацию ПОЛ (Петрусевич и др., 1972; Бурлакова и др., 1991; Лескова, 2001). Для нормально функционирующих тканей характерно обратное соотношение. Однако возможно, что снижение защитного действия ФХ компенсируется увеличением ФЭА, также обладающего свойством усиливать антиоксидательную активность природных антиоксидантов.

В обеспечении нормального функционирования организма важная роль отводится эссенциальным жирным кислотам, в частности отдельным высоконенасыщенным жирным кислотам  $\omega 3$  и  $\omega 6$  ряда, являющихся протекторами экстремальных состояний, и их соотношению. Недостаток или избыток приводит к существенным нарушениям физиологического статуса организма. Доказано, что среди полиеновых кислот особую роль играет самая ненасыщенная из них -  $C_{22:6} \omega 3$ . Ее недостаточность приводит к резкому снижению защитных возможностей вида и, соответственно, устойчивости к экстремальным воздействиям (Takeuchi, Watanabe, 1977a, b; Шульман, Юнева, 1990).

Исследования показали, что при заболевании тимпанией у молодых стерляди существенно изменяется уровень и баланс полиеновых жирных кислот  $\omega 3$  и  $\omega 6$  ряда (табл. 2).

Таблица 2

**Жирнокислотный состав общих липидов (ОЛ) и фосфолипидов (ФЛ)  
молоди стерляди при тимпании и в норме, % жирных кислот**

Жирные кислоты	Тимпания (предагональная стадия)		Контроль	
	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ
$\omega 3$ ,	0.7	0.5	10.2	14.1
в т.ч.: $C_{18:3}$	0.1	0.1	1.2	1.8
$C_{20:5}$	0.4	0.2	3.0	3.7
$C_{22:5}$	0.1	0.1	1.3	1.8
$C_{22:6}$	0.1	0.1	5.1	6.8
$\omega 6$ ,	20.7	22.7	6.3	5.4
в т.ч.: $C_{18:2}$	4.7	5.6	2.1	1.6
$C_{20:4}$	6.8	7.2	3.7	3.3
$\omega 3/\omega 6$	0.03	0.02	1.7	2.6

Так, доля  $\omega 3$  кислот в составе общих липидов и ФЛ у молодежи на тяжелой предагональной стадии уменьшилась в 15 и 28 раз соответственно, а  $\omega 6$  кислот увеличилось в 3 и 4 раза. Эти изменения обусловлены за счет значительного уменьшения в липидах  $C_{22:6} \omega 3$ ,  $C_{22:5} \omega 3$ ,  $C_{20:5} \omega 3$  и  $C_{18:3} \omega 3$  кислот и увеличения  $C_{18:2} \omega 6$  и  $C_{20:4} \omega 6$  кислот. Причем в наибольшей степени в организме больной стерляди утилизируется  $C_{22:6} \omega 3$  кислота, уровень которой снижался в общих липидах и ФЛ более чем в 50 и 68 раз.

У молодежи бестера при тимпании содержание  $\omega 3$  кислот в составе общих липидов и ФЛ уменьшилось в 11-12 раз, а  $\omega 6$  кислот увеличилось в 1.6-1.7 раз (табл. 3).

Таблица 3

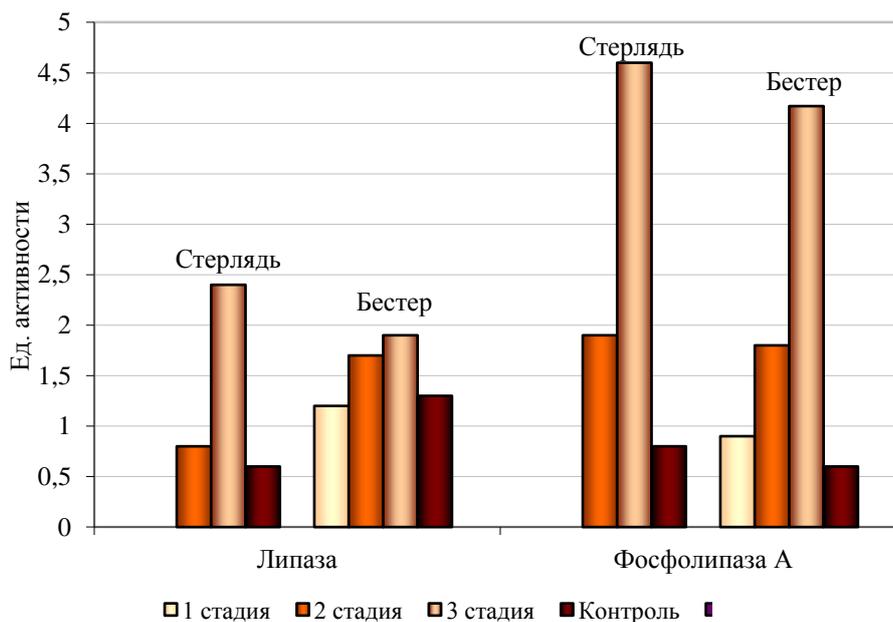
**Жирнокислотный состав общих липидов (ОЛ) и фосфолипидов (ФЛ)  
молоди бестера при тимпании и в норме, % жирных кислот**

Жирные кислоты	Тимпания (предагональная стадия)		Контроль	
	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ
$\omega 3$ , в т.ч.: $C_{18:3}$ $C_{20:5}$ $C_{22:5}$ $C_{22:6}$	1.2	1.5	13.3	17.8
	0.2	0.4	1.4	2.1
	2.0	2.3	3.5	4.0
	0.9	1.4	1.8	2.7
	3.4	3.7	6.5	8.8
$\omega 6$ , в т.ч.: $C_{18:2}$ $C_{20:4}$	15.7	11.2	9.9	6.7
	4.2	3.3	3.5	2.2
	5.4	4.4	4.4	3.4
$\omega 3/\omega 6$	0.05	0.1	1.3	2.8

При этом соотношение  $\omega 3/\omega 6$  в общих липидах и ФЛ – в 26-28 раз. Как и у молодежи стерляди, основное снижение уровня  $\omega 3$  жирных кислот у бестера обусловлено уменьшением доли  $C_{22:6} \omega 3$ ,  $C_{22:5} \omega 3$ ,  $C_{20:5} \omega 3$  и  $C_{18:3} \omega 3$  кислот соответственно в 1.9, 2, 1.8 и 7 раз и повышением суммы  $\omega 6$  кислот за счет  $C_{18:2} \omega 6$  и  $C_{20:4} \omega 6$  жирных кислот соответственно в 1.4 и 28 раз.

Изменение уровня  $\omega 3$  и  $\omega 6$  жирных кислот при заболевании тимпанией обусловило исключительно низкое соотношение суммы  $\omega 3/\omega 6$  в липидах эти рыб (в норме более 1), что свидетельствует о патофизиологических перестройках в их организме.

Патологические изменения у молоди подтверждаются нашими данными о повышении активности липазы и фосфолипазы А (рис. 12).



**Рисунок 12. Активность липазы и фосфолипазы А у молоди стерляди и бестера в процессе развития тимпанией, ед. активности**

В процессе развития тимпанией у молоди стерляди активность липазы возросла на 33.3 %, а затем в 4 раза, у молоди бестера (Абросимова, 2012) - на 30.8 % и 46.2 % по сравнению с контрольной группой рыб. Еще больший отклик на изменение обмена веществ при тимпанией отмечен в активности фосфолипазы А. Так, ее активность на 2-й стадии повысилась более чем в 2 раза, а 3-й – более чем 5.5 раз.

Высокую активность фосфолипазы А у молоди бестера при тимпанией отмечала и Н.А. Абросимова (2012): от начальной к 3-й предагональной – от 1.5 до более чем в 4 раза.

Литературные данные свидетельствуют о четкой взаимосвязи измене-

ний активности фосфолипаз и перекисления липидов, так как перекисленные мембранные липиды в первую очередь подвергаются воздействию эндогенных фосфолипаз (Бурлакова и др., 1982; Олехнович и др., 1982).

#### **3.1.4. Показатели перекисного окисления липидов у молодежи стерляди и бестера при тимпании**

Активность эндогенных фосфолипаз и свободнорадикального окисления липидов в организме находится под контролем антиоксидантных систем, поддерживающих данные процессы на оптимальном физиологическом уровне (Козлов и др., 1972; Дубинина и др., 1992; Кесельман и др., 1997; Абросимов, Абросимова, 2009). Однако при некоторых патологических состояниях, возникающие нарушения превышают надежность защитной системы, что приводит к тому, что клетка не справляется с окислительной свободнорадикальной атакой и в ней начинают накапливаться продукты окислительной деградации липидов.

Известно, что СОД и  $\alpha$ -токоферол, являются своеобразными внутриклеточными буферами, поддерживающие уровень активированного кислорода в определенной концентрации (Кесельман и др., 1997; Богословская и др., 1984). Поэтому, понижение их содержания в тканях является наиболее стереотипной реакцией организма на повреждение.

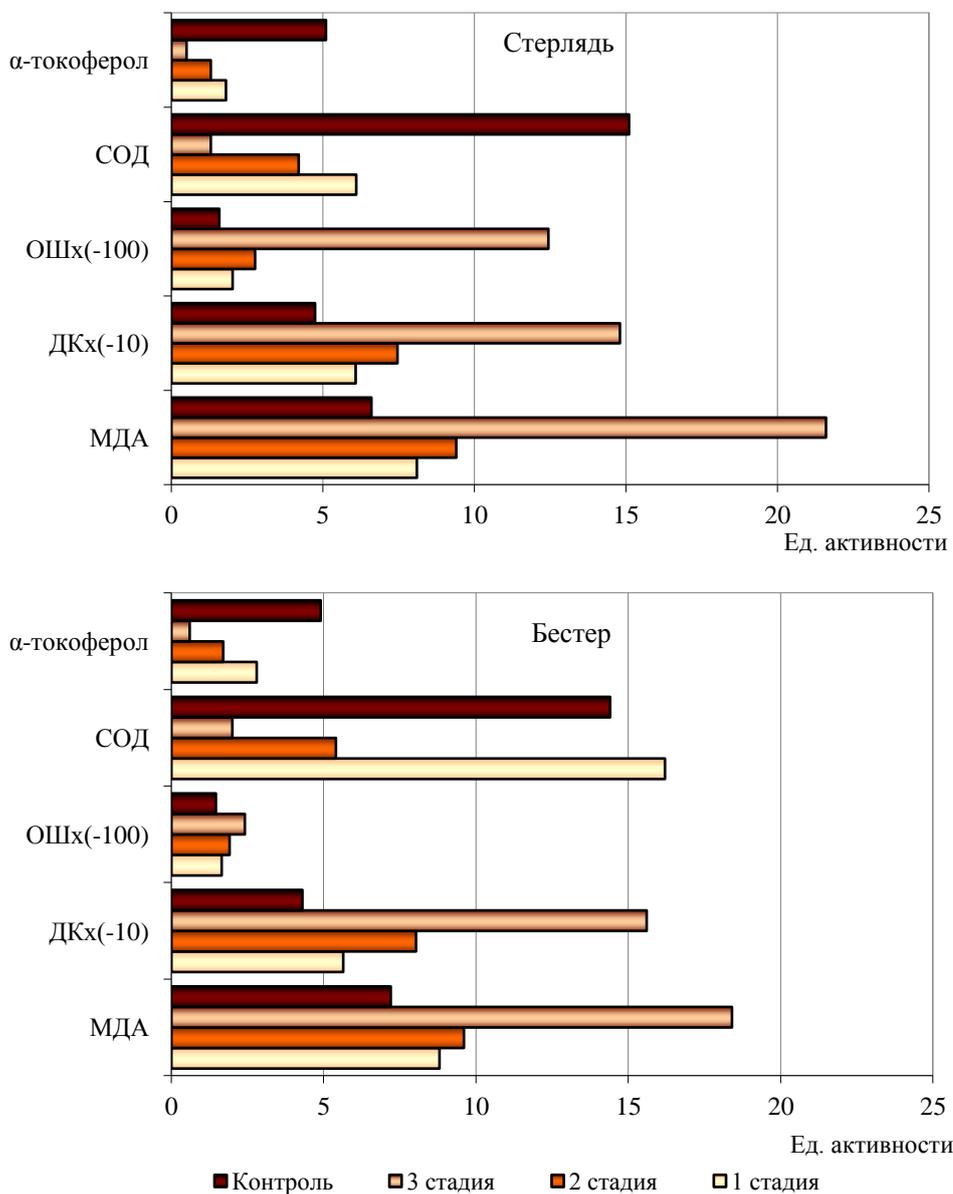
В процессе развития тимпании у молодежи стерляди и бестера последовательно повышался уровень гидроперекисей и снижалась активность антиоксидантов.

Так, у молодежи стерляди на начальной и средней стадии тимпании уровень МДА и ДК повысился на 23-42 %, ОШ – 28-75 %, у молодежи бестера - соответственно на 22-33, 30-85 и 13-16 % по отношению к контрольной группе рыб.

У молодежи стерляди на начальной стадии заболевания активность СОД и  $\alpha$ -токоферола снизилась соответственно в 2.5-3.6 и 2.8-3.9 раза, а на треть-

ей стадии - более чем в 10-11 раз в сравнении с контрольными величинами.

У больной молоди бестера по сравнению с контрольными рыбами активность СОД снизилась от начальной к предагональной стадии на 11 %, в 3 и 8 раз,  $\alpha$ -токоферола – в 1.7, 2.9 и 8.2 раза (рис. 13).



**Рисунок 13. Уровень гидроперекисей и антиоксидантов у молоди стерляди и бестера в процессе развития тимпаний, ед. активности**

Низкий уровень анализируемых антиоксидантов в тканях молоди стерляди и бестера на начальной стадии тимпаний может быть отражением интенсивного расходования этих компонентов в процессе развития тимпаний.

Крайне низкое их содержание на 2-й и, особенно, на 3-й - тяжелой стадии болезни свидетельствует о снижении способности организма рыб ингибировать свободнорадикальные реакции, за счет истощения пула антиоксидантов и протекания иммунопатологических реакций. Эти изменения в организме больных рыб сопровождаются изменением баланса дегидрогеназ за счет увеличения лактатдегидрогеназной и уменьшения сукцинатдегидрогеназной активности, свидетельствующей о вытеснении окислительно - восстановительных процессов анаэробными и, соответственно, ухудшении функционального состояния рыб (Абросимова, Абросимова, 2012).

Таким образом, тимпания развивается вследствие нарушения нормальной микрофлоры пищеварительного тракта. В процессе ее развития изменяется биохимический статус молоди осетровых, свидетельствующий о значительном повышении энергетических затрат у рыб для поддержания гомеостаза организма (Абросимова, Абросимова, 2006; Абросимов, 2008б; Абросимова, 2009, 2011; Абросимова, Тарасов, 2009; Абросимов, Абросимова, 2011). При тимпании изменяется внутриклеточный метаболизм и усиливается липолиз, о чем свидетельствуют уменьшение ФЛ/ТАГ-коэффициента, увеличение коэффициента Дьердии и существенное повышение уровня НЭЖК, МАГ и ДАГ.

Развивающийся патологический процесс сопровождается дисбалансом фракции ФЛ, в частности увеличением уровня ЛФХ, что является неспецифической реакцией организма рыб на патологическое воздействие и свидетельствует о повышении активности перекисного окисления липидов (Бурлаков и др., 1982). Следовательно, при тимпании нарушается липидный и энергетический обмен, причем с развитием заболевания эти нарушения все более усугубляются (Абросимова, 2011; Абросимов, Абросимова, 2011).

Полученные нами данные установили общую тенденцию снижения содержания антиоксидантов и повышение уровня гидроперекисей в тканях молоди стерляди и бестера при тимпании по сравнению со здоровой группой рыб. Следовательно, тимпания сопровождается окислительным стрессом.

Полученные данные позволили понять механизм развития тимпани и разработать соответствующие меры для ее профилактики и лечения.

### **3.2. Повышение эффективности выращивания молоди осетровых рыб с использованием новой методики кормления**

Наши данные об активации процессов ПОЛ, изменении уровня антиоксидантов и активности дегидрогеназ, фосфатаз, липазы и фосфолипазы А при тимпани, а также информация о формировании активности пищеварительных ферментов в процессе роста и развития молоди осетровых позволили оптимизировать процесс кормления, в том числе состав рациона с учетом возрастных особенностей.

Разработанная нами оптимизация кормов и кормления для профилактики и лечения тимпани включает комплекс мер: своевременную смену рациона и введение в корма пробиотиков, обогащение кормов антиоксидантами и липидами с повышенным содержанием эссенциальных жирных кислот, в частности  $\omega 3$  ряда. Предполагалось, что своевременная смена рациона в соответствии с формированием пищеварительных ферментов и усилением полостного пищеварения будут способствовать нормализации микробного населения кишечника, обмена веществ и, соответственно, повышению темпа роста и выживаемости.

#### **3.2.1. Рецептуры комбикормов для оптимизации кормления молоди осетровых рыб**

Известно, что на начальных этапах постэмбриогенеза у рыб, в том числе осетровых, превалирует мембранное пищеварение из-за недоразвитости пищеварительной системы (Fluchter, 1980; Бондаренко, 1985; Уголев, 1985, 1987; Абросимова, Саенко, 1996; Остроумова, 2001, Пономарев, Пономарева, 2003). Высокое содержание высокодисперсных белков в диетах рыб на

начальных этапах кормления оказывает значительное улучшение роста личинок. В дальнейшем с возрастом наблюдается снижение темпа роста, сопровождающееся физиологическими изменениями, такими как ухудшение картины крови, увеличение печени и изменение ее структуры (Абросимова, 1997; Остроумова, 2001), что подтверждается теорией А.М. Уголева (1970). Согласно этой теории при длительном кормлении диетами с преобладанием мономерных форм вступает в действие бактериостимулирующий фактор, снижающий доступность таких кормов. Кроме того, для нормального развития организма необходима соответствующая нагрузка, в частности перевод организма на полимерные формы питательных веществ с более высокой молекулярной массой (Уголев, 1987).

В соответствии с теорией А.М. Уголева необходимо было разработать 2 рецептуры комбикормов – Старт-1 и Старт-2. Старт-1, предназначенный для ранних этапов экзогенного питания, должен содержать не только все необходимые питательные вещества, но и в доступной для формирующегося пищеварительного тракта форме. Старт-2 должен обеспечивать определенную нагрузку на организм, способствующую интенсивному росту и нормальному физиологическому состоянию.

Основным источником высокодисперсных белков в Старте-1 являлся «Протамино-Аква». «Протамино-Аква» - высушенный распылительным способом мясной бульон. Согласно данным НТЦ «Аквакорм» «Протамино-Аква» содержит до 76 % протеина с аминокислотным составом близким к составу сухих рыбных бульонов и характеризуется высокой переваримостью, хорошим адгезионными и аттрактивными свойствами.

Водорастворимая фракция белковых веществ «Протамино-Аква» более чем на половину представлена олигопептидами (М.М. менее 1.5 тыс. Да) и чуть менее 1/3 - полипептидами (М.М.- 1.5-10 тыс. Да). Высокомолекулярные растворимые белки (М.М. более 10 тыс. Да) составляют не более 12 % .

Для повышения уровня полимерных белков в состав корма Старт-2 вводили кукурузный глютен и исключали «Протамино-Аква».

Протеин глютена почти на 60% представлен специфическим комплексом белков, прочно связанными с углеводами, липидами и другими веществами. Однако они способны расщепляться под воздействием пищеварительных ферментов в кислой среде. По сравнению с «Протамино-Аква» кукурузный глютен содержит почти в 1.5 раза меньше сырого протеина, более чем на 85 % представленного нерастворимыми в воде белковыми веществами, из которых более 10 % - проламины и глютелины (табл. 4).

Таблица 4

**Химический состав «Протамино-Аква» и кукурузного глютена, %**

Состав	Протамино-Аква	Кукурузный глютен
Вода	5.2	6.5
Сырой протеин, в т.ч.	62.2	41.7
водорастворимые белковые вещества	55.7	0.9
нерастворимые белковые вещества,	-	36.5
в т.ч.: проламины	-	7.3
глютелины	-	3.3
небелковый азот	6.5	4.3
Жир	2.9	5.4
Зола	10.4	3.4

Водорастворимая фракция белков кукурузного глютена – не более 1 % и значение ее в составе комбикорма не существенна. Однако глютен по сравнению с «Протамино-Аква» содержит в 2 раза больше жиров и в 3 раза меньше зольных элементов. Вместе с тем глютен является источником видоспецифического для осетровых каротиноидного пигмента - зеаксантина, содержание которого составляет около 3.5 мг/100 г продукта.

В кукурузном глютене крайне низко содержание таких незаменимых аминокислот как лизин и триптофан. Их дефицит компенсировали сорго «Жемчуг», богатого этими аминокислотами, в количестве 10 %.

Так как данные об оптимальном количестве глютена в кормах, обеспечивающих реализацию потенциала роста и здоровье исследуемой возрастной

группы молоди отсутствуют, были испытаны 3 варианта кормов, в которых рыбную муку последовательно заменяли кукурузным глютенем в количестве 10, 15 и 20 % (табл. 5).

Таблица 5

**Состав рецептуры кормов с повышенным содержанием  
полимерных форм белков, %**

Компоненты	Содержание глютенa в корме, %		
	10	15	20
Рыбная мука	50	45	40
Глютен кукурузный	10	15	20
Соевый шрот	10	10	10
Подсолнечный жмых	5	5	5
Зерносмесь	8	8	8
Сорго «Жемчуг»	10	10	10
Рыбий жир	6	6	6
Премикс	1	1	1

Подбор компонентов осуществляли по компьютерной программе «Корм-Оптима» по показателям химического состава, перевариваемости основных групп питательных веществ кормового сырья и их доступность организму молоди осетровых (Абросимова и др., 2006; Щербина, Гамыгин, 2006).

Биологическое и продуктивное действие этих кормов изучали на ранней молоди бестера. Продолжительность кормления составила 23 суток.

Температурный и кислородный режимы в период выращивания находились в оптимальных пределах: температура – 22,2-26 °С, содержание растворенного в воде кислорода - 5,4-9,3 мг/л. Кормление молоди начинали по достижении средней массы 0.650 г.

По завершении кормления молодь бестера по показателям роста, выживаемости и упитанности на кормах с кукурузным глютенем в количестве от 10 и 15 % практически не отличалась. Существенное отставание в росте от других вариантов (на 29-30 %) отмечали при введении в корм 20 % глютенa (табл. 6).

Таблица 6

**Рыбоводно-биологические показатели молоди бестера  
на комбикормах с кукурузным глютенем**

Показатели	Содержание глютена в корме, %		
	10	15	20
Начальная масса, г	0.650±0.15	0.650±0.15	0.650±0.15
Конечная масса, г	2.93±0,159	2.95±0,152	2,07±0,164*
Темп роста, мг/сутки	99,3	100.0	87.7
Выживаемость, %	84,1	86,7	86,1
Коэффициент Упитанности (Ф), ед.	0,78±0,01	0,79±0,01	0,76±0,01
КК, ед.	1.2	1.1	1.2

\* P&gt;0,05

Однако существенных отличий химического состава молоди на разных вариантах кормов не выявлено (табл. 7).

Таблица 7

**Химический состав бестера на комбикормах с глютенем, %**

Вариант кормов	Вода	Абсолютно сухое вещество		
		Протеин	Жир	Зола
10% глютена	79,7±1,2	61,2±2,6	23,5±1,3	8,6±1.0
15% глютена	80,6±1,3	64,2±5,2	21,7±5,6	9,6±0,8
20% глютена	80,3±1,3	64,6±1,1	22,8±0,6	9,3±0,04

Содержание отдельных фракций липидов у рыб на кормах с 10 и 15 % глютена практически не отличались. На корме с 20 % глютена у молоди повысился уровень ТАГ - на 8,2 %, МАГ – на 30,1 %, НЭЖК – на 8,2 %, а содержание ФЛ снизилось на 12 %. (табл. 8).

Таблица 8

**Липидный состав бестера на комбикормах с глютенем, % ОЛ**

Показатель	Содержание глютенa в корме, %		
	10	15	20
ТАГ	41,6±0,5	42,2±0,8	45,1±0,6
ФЛ	33,4±0,8	33,4±0,7	28,9±0,5
ХС	9,4±0,6	9,0±0,1	10,0±0,2
ЭХС	6,5±0,3	6,2±0,6	7±0,7
МАГ	1,5±0,3	1,3±0,1	1,7±0,2
ДАГ	2,1±0,5	2,4±0,1	2,6±0,1
НЭЖК	5,1±0,3	5,0±0,6	5,3±0,7

У особей на корме с 20 % глютенa отмечены также отличия в фосфолипидной фракции: повышение в 1,4 раза ЛФХ и на 24,2 % СФМ, также снижении в 1,8 раза ИФ, и на 19,2 % ФС. Фосфолипидная фракция у молоди на кормах с 10 и 15 % глютенa практически не отличалась друг от друга (табл. 9).

Таблица 9

**Фосфолипидный состав бестера на комбикормах с глютенем, % ФЛ**

Показатель	Содержание глютенa в корме, %		
	10	15	20
ИФ	3, 1±0,43	3, 7±0,11	1,8±0,11
ЛФХ	1,6±0,11	1,8±0,12	2,5±0,08
СФМ	6,7±0,22	6,7±0,44	7,7±0,29
ФХ	55±0,23	53,7±0,55	56,6±0,57
ФС	6,6±0,28	6,7±0,22	5, 1±0,25
ФЭА	26,4±0,55	26,8±0,82	25,4±0,39
КЛ+ПГФ	0,6±0,07	0,7±0,11	0,5±0,04

Уменьшение пула и состава полиеновых жирных кислот в ОЛ и ФЛ при добавлении в корм 20 % глютенa (табл. 10) может свидетельствовать о снижении устойчивости и нормальном функционировании структурных кле-

точных мембран, что в свою очередь может привести к ослаблению жизне- способности рыб и отрицательно повлиять на их выживаемость.

Таблица 10

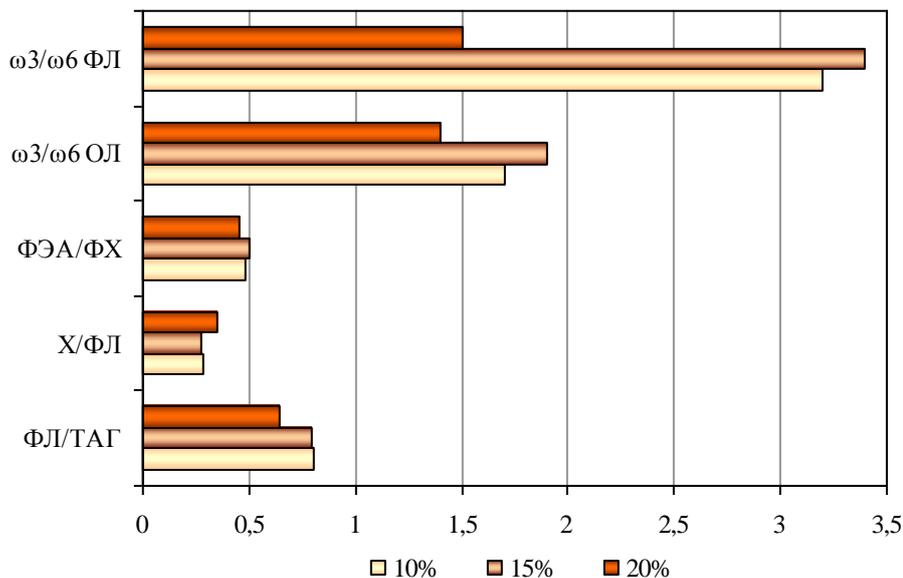
**Жирнокислотный состав тела молоди бестера на комбикормах с глютенем,  
% суммы ЖК**

Жирные кислоты	Содержание глютена в корме, %					
	10		15		20	
	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ
Насыщенные	34,2	31,6	34,8	32,7	38,5	37,5
Моноеновые	45,7	46,0	45,5	45,1	43,3	43,5
Полиеновые,	20,1	22,2	19,7	22,2	18,2	19,0
в т.ч. $\omega$ 3:	12,8	17,1	13,0	17,2	10,3	11,4
18:3	1,4	2,1	1,2	2,2	0,7	0,7
20:5	3,6	3,8	3,5	4,1	3,2	3,3
22:5	1,6	2,4	1,4	2,2	1,2	1,6
22:6	6,2	8,8	6,9	8,7	5,2	5,8
в т.ч. $\omega$ 6:	7,3	5,3	6,7	5,0	7,5	7,6
18:2	2,9	1,7	2,4	1,5	2,4	2,4
20:4	3,9	3,3	3,8	3,2	4,8	4,6
$\omega$ 3/ $\omega$ 6	1,7	3,2	1,9	3,4	1,4	1,5

Отмеченные изменения, в основном, обусловлены снижением уровня  $\omega$ 3 жирных кислот, особенно 18:3 и 22:6, при одновременном увеличении суммы  $\omega$ 6 жирных кислот, преимущественно за счет 20:4. Наибольшие различия от рыб на кормах с 10 и 15 % глютена выявлены в ФЛ. Так, содержание  $\omega$ 3 жирных кислот в ФЛ у молоди на кормах с 20 % глютена было меньше в среднем на 33.5 %, 18:6 – в 3 раза, 22:6 – в 1.5 раза. Уровень  $\omega$ 6 жирных кислот увеличился более чем на 43 %, а 20:4 – на 39 %. Баланс  $\omega$ 3/  $\omega$ 6 хотя и не был критическим, но уменьшился в ОЛ в 1.2-1.4 раза, в ФЛ – более чем в 2 раза.

Полученные данные о липидном и жирнокислотном составе молоди бестера на корме с 20 % глютена свидетельствует о негативной направленно-

сти у них липидного и энергетического обмена, свидетельствующего о повышенных энерготратах (рис. 14).



**Рисунок 14. Липидный и энергетический обмен молоди бестера на комбикормах с глютеном**

Участвуя в поддержании нормальной физиологической активности клеток, продукты ПОЛ играют важную роль в клеточной дифференцировке и адаптации организма к факторам внешней среды. Для регуляции процессов ПОЛ в клетке существуют целый ряд антиокислительных систем.

При содержании в рационе 20% глютена у рыб отмечается повышение активности ПОЛ в организме, о чем свидетельствует достоверное ( $P > 0,05$ ) повышение уровня МДА – более чем на 44 %, ОШ – в среднем более чем на 14 % при снижении активности СОД в 1.3-1.5 раза и  $\alpha$ -токоферола – в 1.2-1.4 раза (табл.11).

*Таблица 11*

**Содержание гидроперекисей и антиоксидантов у молоди бестера на комбикормах с глютеном, (ед. акт)**

Показатель	Содержание глютена в корме, %		
	10	15	20
1	2	3	4
ДК	45,8±2,4	45,6±2,6	53,9±2,2

Продолжение Таблицы 11

1	2	3	4
МДА	4,7±0,3	4,6±0,4	6,8±0,3*
ОШ	99,7±2,2	98,1±1,7	113,4±2,6*
СОД	10,5±0,6	12,1±0,6	7,9±0,2*
α-токоферол	5,4±0,7	6,1±0,3	4,4±0,5

\* P&gt;0.05

По-видимому, эти изменения обусловлены несколько избыточной концентрацией глютена для ранней молодежи бестера.

Итак, основываясь на теории А.М. Уголева и продуктивного действия кукурузного глютена в составе кормов на молодь бестера, были определены 2 варианта комбикормов – Старт-1 и Старт-2, отличающихся набором кормового сырья, обеспечивающих поставленную задачу (табл. 12).

Таблица 12

Состав рецептуры экспериментальных комбикормов, %

Компоненты	Старт-1	Компоненты	Старт-2
Рыбная мука	37	Рыбная мука	50
Протамино-Аква	15	Глютен кукурузный	10
Сухое молоко	7	Соевый шрот	10
Соевый шрот	15	Подсолнечный жмых	5
Подсолнечный жмых	11	Зерносмесь	8
Зерносмесь	8	Сорго «Жемчуг»	10
Рыбий жир	6	Рыбий жир	6
Премикс	1	Премикс	1

Оба варианта кормов обогащали дополнительно 2 % кормовой липидной добавки (Патент РФ № 2310338. 20.11.2007). Кроме того, в корм рецептуры Старт-2 вводили 0.2 % лактобактерина и 0.2 % лизина.

Лактобактерии являются составной частью нормальной микрофлоры кишечника, оказывают антагонистическое действие по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, сохраняют и регулируют физиологическое равновесие кишечной флоры (Киянова, 1998). Лактобакте-

рин представляет собой микробную массу живых лактобацилл, лиофилизированных в среде культивирования.

Кормовая липидная добавка – это смесь очищенного льняного масла с каротиноидами, преимущественно  $\beta$ -каротинами, оказывающая антистрессовое действие и способствующая стабилизации процессов ПОЛ в организме рыб (Патент 2310338; Абросимова, 2009а).

По содержанию основных групп органических и минеральных веществ комбикорма рецептуры Старт-1 (контроль) и Старт-2 (опыт) были достаточно близки и соответствовали физиологической норме, но отличались по структуре белков (табл. 13 и 14).

Таблица 13

**Химический состав экспериментальных кормов**

Варианты кормления	Вода, %	Абсолютно сухое вещество, %			
		Протеин	Жир	Зола	Углеводы
Опыт	8.3	52.3	10.0	9.9	27.8
Контроль	7.2	54.6	11.3	9.2	24.9

Таблица 14

**Фракционный состав протеина в опытном и контрольном кормах, г/кг**

Вариант комбикорма	Сумма растворимых белковых веществ	Высокомолекулярные белки, М.М. более 10 тыс. Да	Полипептиды, М.М.- 1,5-10 тыс. Да	Олигопептиды, М.М. менее 1,5 тыс. Да
Опыт	132.7	33.1	59.3	40.3
Контроль	218.9	45.1	85.8	88.0

Так, в опытной рецептуре существенно уменьшилось содержание водорастворимых белковых веществ, поли- и олигопептидов соответственно почти на 40, 30 и 54 %, что позволило обеспечить упомянутую А.М. Уголевым (1987) нагрузку на организм.

### 3.2.2. Рыбоводно-биологические показатели молоди стерляди и бестера при двухуровневом кормлении

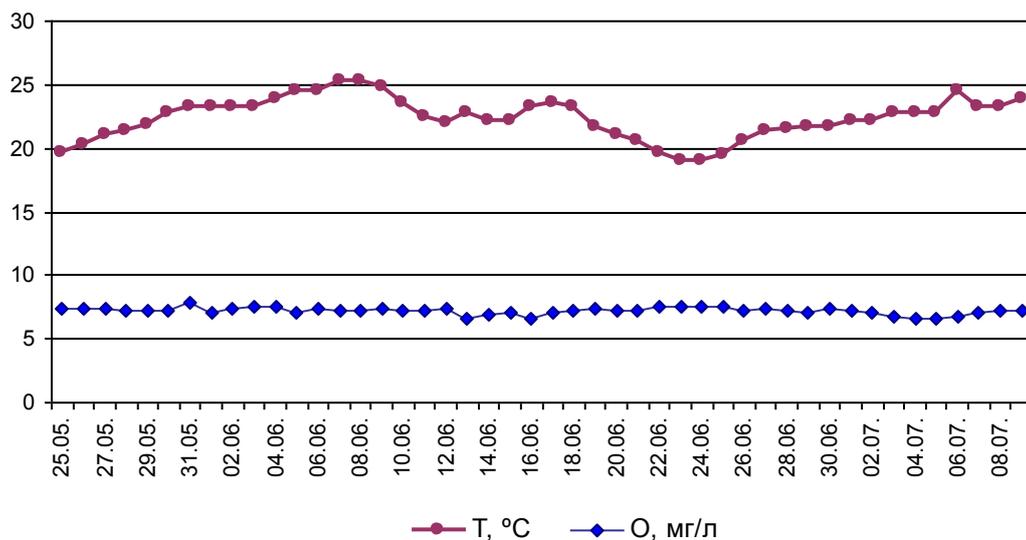
Согласно нашим наблюдениям тимпания у молоди осетровых проявляется, как правило, после 20-25 суток при полном переходе на активное питание. Учитывая это, было организовано экспериментальное кормление, при котором использовали традиционную методику и нашу, где предусматривалась смена рациона (двухуровневое кормление) по схеме (рис. 15).



Рисунок 15. Схема экспериментального кормления

Биологическое и продуктивное действие комбикормов оценивали при выращивании личинок и мальков бестера. Рыб содержали в пластиковых бассейнах ИЦА-1 площадью 1 м<sup>2</sup> с круговым током воды.

Температура воды, содержание растворенного в воде кислорода находились в пределах оптимальных значений и составляли: среднесуточная температура – 19.7-25.3 °С, содержание кислорода – 6.6-7.8 мг/л. Термический и кислородный режим в бассейнах приведен на рисунке 16.



**Рисунок 16. Температурный и кислородный режим в период выращивания молоди бестера**

Начальная плотность посадки личинок бестера, перешедших на активное питание, составляла 1200 шт./бассейн, а через 20 суток плотность мальков уменьшали до 140 шт./бассейн. Химический состав воды в бассейнах представленный в таблице 15 показывает, что содержание биогенных веществ, в основном, не превышало рекомендуемых значений.

Таблица 15

**Химический состав воды в бассейнах**

Показатели	Единицы измерения	Содержание	
		бассейны	рекомендуемые <sup>1</sup>
1	2	3	4
рН	ед.	8.0-8.3	7,0-8,0
Двуокись углерода	мг/дм <sup>3</sup>	<10	до 13,2
Перманганатная окисляемость	мгО/дм <sup>3</sup>	9.7 - 13	до 10.0
Бихроматная окисляемость	мгО/дм <sup>3</sup>	28 - 36	до 30.0
БПК <sub>5</sub>	мгО <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>	2.5 – 3.1	до 2.5
Азот аммонийный	мгN/дм <sup>3</sup>	0.01 – 0.11	0.1
Азот аммиака	«	до 0.013	0.05
Азот нитритов	«	0.003 – 0.013	0.02
Азот нитратов	«	0.041 – 0.18	2.0
Фосфаты	мгP/дм <sup>3</sup>	0.05-0.08	0.3

Продолжение Таблицы 15

1	2	3	4
Кремний	мг/дм <sup>3</sup>	1.5-3.6	
Железо общее	«	0.07 – 0.09	
Щелочность	«	192 - 207	
Хлориды	«	38 - 87	
Сульфаты	«	224 - 229	
Кальций	«	56 - 65	
Калий+Натрий	«	84 - 115	
Магний	«	30 - 33	
Минерализация	«	642 - 718	
Жесткость	мг-экв/дм <sup>3</sup>	5.5 – 5.7	

Примечания: <sup>1</sup> – Л.М. Васильева и др. (2010)

Гидрохимический режим практически не отличался от рекомендованного Л.М. Васильевой с соавторами (2010) и был достаточно благоприятным для выращивания осетровых в части ионно-солевого и биогенного состава на протяжении всего периода исследований. Содержание ионов цинка и марганца в воде не превышало установленных ПДК, а меди составляло 1.5-2 ПДК, что соответствует минимальному уровню, характерному для донского региона.

Поддерживаемая в бассейнах проточность воды и проводившиеся технологические мероприятия обеспечивали благоприятные условия выращивания: накопление загрязнений, определяемые по показателям окисляемости, нитритов, нитратов, двуокиси углерода практически не отмечалось, за исключением незначительного увеличения концентрации ионов аммония (не более, чем на 0.23 мгN/дм<sup>3</sup>).

Экспериментальное кормление личинок стерляди и бестера начинали после перехода их на активное питание при массе 18 и 33 мг соответственно. Согласно разработанной схеме личинок кормили кормом рецептуры Старт-1 (см. рис. 16).

Рыбоводно-биологические результаты на 1 этапе кормления сравнимы

с литературными данными при выращивании молоди стерляди, бестера и других осетровых рыб на полнорационных кормах (Бондаренко, 1985, с. 50, табл. 9; Абросимова, 1997, с. 36, табл.10; Васильева и др., 2010, с. 37; Дудко, 2010, с.11, табл. 5; Магомаев, 2013, с. 240-241). Положительный эффект этих кормов, в том числе Старт-1, обусловлен высоким уровнем доступных растворимых белковых веществ и их дисперсностью за счет гидролизатов и бульонов.

По достижении средней массы мальков стерляди и бестера соответственно около 0.2 и 0.6 г после сортировки по массе (визуально) и отбора особей с признаками тимпаниии рассадили поровну в опытные бассейны для дальнейшего выращивания. Полученные рыбоводно-биологические показатели свидетельствовали о более высокой эффективности двухуровневого кормления по сравнению с традиционным методом (табл. 16).

Таблица 16

**Рыбоводно-биологические показатели молоди стерляди и бестера**

Показатели	1 этап (20 сут.)	2 этап (25 сут.)	
	Старт-1	Старт-2 (опыт)	Старт-1 (контроль)
<i>Стерлядь</i>			
Начальная масса, г	0.018±0,005	0.239±0.172	0.239±0.172
Конечная масса, г	0.239±0.172	1.823±0.237=134.9	1.351±0.134
Темп роста, мг/сут.	11.05	63.36=142.4	44.48
Выживаемость, %	65.0	78.2=8.6	72.0
Коэффициент упитанности (Ф), ед.	0.88±0.04	0.89±0.04	0.82±0.2
КК, ед.	1.2	1.0	1.2
<i>Бестер</i>			
Начальная масса, г	0.033±0,001	0.624±0.15	0.624±0.15
Конечная масса, г	0.624±0.15	3.221*±0.165	2.433±0.162
Темп роста, мг/сут.	29.55	103.88	72.36
Выживаемость, %	62.3	83.9	64.5
Коэффициент упитанности (Ф), ед.	0,69±0,01	0,87±0,01	0,88±0,01
КК, ед.	1,2	1.1	1.3

\* - P&gt;0,05

Темп весового роста опытных мальков стерляди на 2-м этапе кормления был выше контрольных на 42.4 %, что обеспечило более высокую на 34.9 % конечную массу. Смена рациона способствовала и большей на 30 % выживаемости мальков при снижении кормового коэффициента на 0.2 ед.

Аналогичные рыбоводно-биологические результаты получены и при выращивании мальков бестера. Суточный весовой их рост при смене рациона на опытный был выше на 43.6 %, конечная масса - на 32.4 %, а выживаемость – на 30 % при снижении кормового коэффициента на 0.2 ед.

Таким образом, перевод мальков стерляди и бестера с корма с высоким уровнем низкомолекулярных белковых веществ на менее дисперсный рацион способствовало повышению эффективности выращивания за счет повышения темпа роста и выживаемости молоди, а также снижения затрат корма на прирост. Кроме того, при двухуровневой системе кормления молоди осетровых рыб (стерляди, русского осетра и бестера) тимпаний у них, как в экспериментальных, так и подконтрольных производственных бассейнах не наблюдали.

В варианте кормления контрольным кормом Старт-1 в течение 45 суток в экспериментальных и производственных бассейнах особи на различной стадии тимпаний составляли от 7 %, а в отдельных бассейнах - более 80 %.

### **3.2.3. Общий, липидный и энергетический обмен молоди стерляди и бестера при двухуровневом кормлении**

Положительный рыбоводный эффект подтвердился и физиолого-биохимическими исследованиями. Существенных отличий общего химического состава молоди стерляди и бестера вне зависимости от метода кормления и состава корма не выявлено. Различия по содержанию воды, протеина, жира и золы не превышали у стерляди 7.5 %, у бестера - 5.4 % без достоверных отличий. Следует отметить, что в биопробы на биохимический анализ особей с признаками тимпаний не включали (табл.17).

**Химический состав тела молоди стерляди и бестера на 45 сутки, (%)**

Варианты кормления	Вода, %	Абсолютно сухое вещество, %		
		Протеин	Жир	Зола
Стерлядь				
Опыт	78.6±0.3	66.7±1.8	16.1±1.7	9.2±0.2
Контроль	78.5±1.1	63.9±1.2	17,4±2,1	9.4±0.2
Бестер				
Опыт	78.8±1.7	67.7±1.6	13.6±0.3	12.9±0.3
Контроль	80.5±1.6	69.1±1.3	12.9±0.3	12.3±0.4

Как отмечали ранее, липиды являются важнейшими биологическими эффекторами, участвующими практически во всех важнейших физиологических процессах, происходящих в организме, и биохимических реакциях, протекающих в клетках животных и человека. Вероятно, поэтому более значимы различия липидного состава молоди (табл. 18).

**Липидный состав тела молоди стерляди и бестера, % липидов**

Показатели	На 45 сутки			
	Стерлядь		Бестер	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
ТАГ	43,5±0,7*	49,3±0,6	52.1±1.1*	58.6±1.1
ФЛ	30.0±0,3*	24.0±0,4	26.9±0.9*	20.6±0.5
ХС	9,5±0,2	10,2±0,3	8.4±0.1	7.9±0.2
ЭХС	6,9±0,4	7,3±0,4	4.2±0.3	3.6±0.1
МАГ	1,7±0,1	1,6±0,2	1.4±0.4*	1.6±0.3
ДАГ	2,3±0,2	2,4±0,2	2.2±0.6	2.1±0.2
НЭЖК	4,8±0,7*	5,4±0,2	4.8±0.5*	5.5±0.4

\* - P>0,05

У опытных мальков стерляди содержание ТАГ и НЭЖК достоверно снизилось на 11.8 и 11.1 % соответственно, а уровень ФЛ достоверно увеличился на 25 %. В отношении других липидов – ХС, ЭХС, МАГ и ДАГ – раз-

личия были незначительны и не превышали 7 %.

У мальков бестера содержание ТАГ, МАГ и НЭЖК достоверно уменьшилось соответственно на 11.1, 12.5 и 12.7 % при одновременном достоверном повышении уровня ФЛ на 30.6 %. Различия по содержанию ХС, ЭХС и ДАГ не были существенными и составили соответственно 6.3, 16.7 и 4.8 %.

Отмеченные различия в составе общих липидов молоди стерляди и бестера свидетельствуют об улучшении физиологического статуса молоди при двухуровневом кормлении, что подтверждается существенным повышением уровня ФЛ и снижением содержания МАГ и НЭЖК.

Известно, что нормальное состояние любого организма, в том числе рыб, в значительной степени определяется не только содержанием в теле общего количества ФЛ, но также соотношением их фракций (Сидоров, 1983; Ипатова, 2005). Определено, что в ФЛ тканях рыб содержатся в достаточно постоянном соотношении, причем доминирующими компонентами являются ФХ и ФЭА (Kanazawa et al., 1985; Гершанович и др., 1991). У здоровой молоди осетровых рыб их содержание составляет соответственно более 50 и 20 % (Абросимов, 2008а,б; Абросимова, 2009б; Абросимов, Дудко, 2009; Абросимов, Абросимова, 2011).

Как отмечали ранее адекватным отражением физиологического состояния рыб является уровень ЛФХ. ЛФХ – минорные в количественном отношении липиды, но их функциональное значение в организме велико - стабилизация мембран, увеличение их проницаемости для небольших по размерам молекул, неспецифическая реакция на патологическое воздействие.

В составе ФЛ молоди стерляди и бестера в опытном варианте при двухуровневом кормлении наиболее существенно было снижение содержания ЛФХ на 26.5 и 35.7 %.

О положительном эффекте двухуровневого кормления молоди стерляди и бестера свидетельствует также повышение ИФ на 31.8 и 33.3 % соответственно и КЛ+ПГФ на 40.0 % (табл. 19).

**Фосфолипидный спектр тела молоди стерляди и бестера на 45 сутки,  
% фосфолипидов**

Показатели	На 45 сутки			
	Стерлядь		Бестер	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
ИФ	2,9±0,2*	2,2±0,1	2.4±0.1*	1.8±0.2
ЛФХ	1,4±0,1*	1,9±0,2	0.9±0.1*	1.4±0.1
СМ	6,5±0,5	7,1±0,5	3.8±0.3 5	4.2±0.5
ФХ	54,8±0,5	52,7±0,5	59.0±0.8	59.7±1.1
ФС	6,8±0,4*	5,4±0,4	4.6±0.6	4.0±0.3
ФЭА	27±0,6	30,3±0,3	28.6±0.6	28.5±0.4
КЛ+ПГФ	0,7±0,1*	0,5±0,04	0.7±0.1*	0.5±0.1

\* - P>0,05

Важная роль ИФ заключается в функционировании мозга и кальциевом обмене, в связи с чем, повышение уровня ИФ способствует повышению способности организма отвечать на внешний раздражитель, т.е. повышает адаптационные способности молоди (Лескова, 2001).

Не менее важным фактором в оценке физиологического состояния молоди является уровень КЛ+ПГФ. Наблюдаемое его повышение в составе ФЛ-фракции у молоди в опыте при смене рациона может свидетельствовать об активации у них клеточного дыхания и стабильности свободнорадикальных реакций.

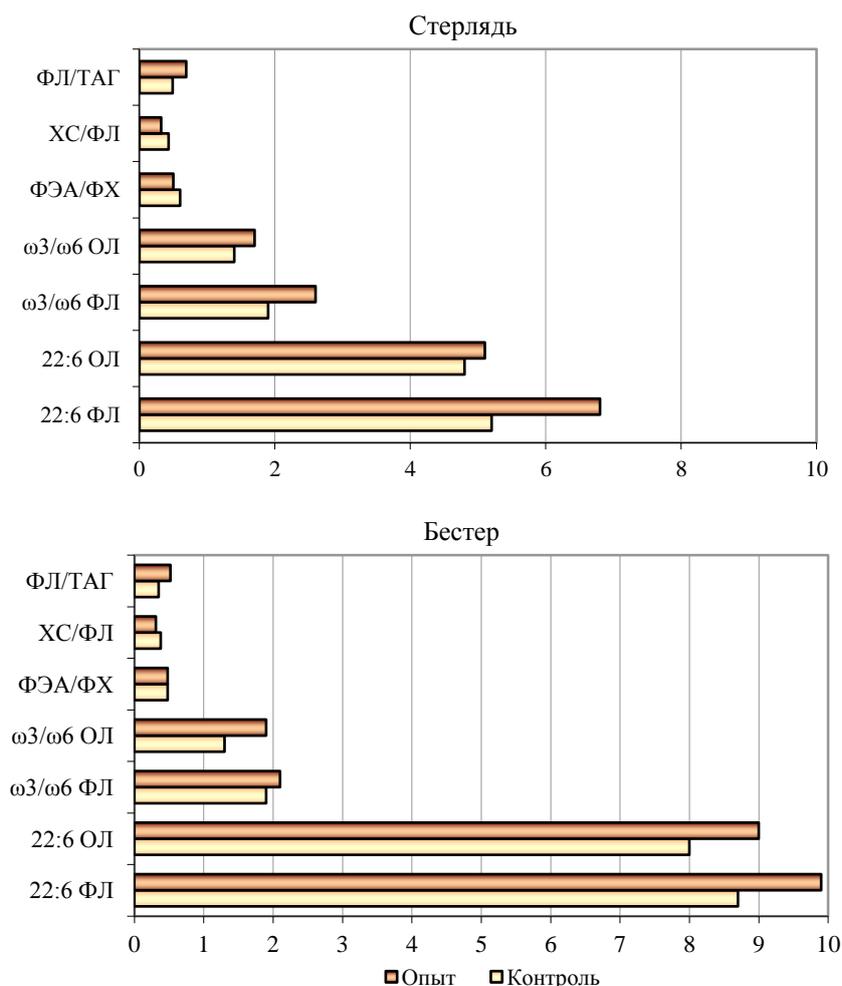
Различия в содержании СМ не превышали 10 %, ФХ – 4 %. Уровень ФЭА у опытной стерляди снизился на 10 %, а у бестера был близок контрольным рыбам при постоянном кормлении кормом Старт-1. В отношении ФХ и ФС существенных различий между опытными и контрольными рыбами не отмечено, что свидетельствует о благоприятном энергетическом обмене.

Несмотря на то, что у молоди стерляди и бестера в обоих вариантах кормления содержание ЛФХ находилось в пределах физиологической нормы, снижение их количества у рыб в опытном варианте следует рассматривать

как положительный фактор, свидетельствующий о хорошем их физиологическом состоянии.

В результате анализа липидного и энергетического обмена молоди стерляди и бестера отмечены различия некоторых показателей в зависимости от методики кормления.

Так, по завершении 2-го этапа кормления у опытной молоди стерляди и бестера величина ФЛ/ТАГ-коэффициента превысила контрольный вариант соответственно на 40.8 и 48.6 %. При этом коэффициент Дьердии у них уменьшился на 25.6 и 18.4 %. Уменьшилось также у молоди стерляди соотношение главных мембранных липидов ФЭА/ФХ на 16.7 %. В отличие от стерляди величина данного показателя у опытной молоди бестера не отличалась от контрольных рыб (рис. 17).



**Рисунок 17. Показатели липидного и энергетического обмена молоди стерляди и бестера, ед. (конец 2-го этапа)**

Известно, что изменением баланса отдельных липидов, как правило, связано с изменением баланса жирных кислот (Сидоров, 1983), что мы наблюдали и при разработанном нами кормлении. Выявлены отличия и в балансе эссенциальных  $\omega 3$  и  $\omega 6$  жирных кислот. Причем реакция молоди стерляди по данным показателям отличалась от молоди бестера.

Так, величина  $\omega 3/\omega 6$  в общих липидах опытной молоди стерляди превышала контрольный вариант на 21.4 %, а у бестера – на 46.2 %, т.е. почти в 2 раза больше. А  $\omega 3/\omega 6$  в ФЛ у молоди стерляди в опыте было выше по сравнению с контролем на 36.8 %, в то время как у бестера – на 10.5 %. Такая же направленность была характерна и для содержания 22:6  $\omega 3$  кислоты. У опытной молоди стерляди уровень данной кислоты в общих липидах превышал у контрольных рыб всего на 6.3 %, а у бестера – на 12.5 %, в ФЛ – соответственно на 30.8 и 13.8 %. Эти различия, возможно, обусловлены физиологическими особенностями стерляди и ее гибрида с белугой.

Полученные нами показатели липидного и энергетического обмена согласуются с данными Е.Б. Абросимовой (2009, с. 89), согласно которым у физиологически здоровой молоди бестера величина ФЛ/ТАГ, ХС/ФЛ и ФЭА/ФХ составляет соответственно 0.44, 0.33 и 0.45 ед.

#### **3.2.4. Показатели перекисного окисления липидов у молоди стерляди и бестера при двухуровневом кормлении**

Отмеченные изменения физиолого-биохимического статуса опытных рыб по сравнению с контрольными свидетельствуют об улучшении физиологической эффективности липидного и энергетического обмена, нормализации активности ПОЛ.

Замена на 2-ом этапе кормления молоди стерляди контрольного корма Старт-1 на опытный Старт-2 не оказывало существенного влияния на уровень таких гидроперекисей как ДК и ОШ, различия которых от контроля составили соответственно 13.3 и 17.8 %.

**Содержание продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов в теле молоди стерляди и бестера, ед. акт. (конец 2-го этапа)**

Показатели	На 45 сутки			
	Стерлядь		Бестер	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
ДК	54,1±1=86.7	62,4±1,2	40.4±1.8	38.3±0.5
МАГ	7,1±0,3*=81.6	8,7±0,2	3.9±0.1	3.9±0.2
ОШ	103,2±4,5=82.2	125,6±3,5	96.1±3.4	94.2±2.1
СОД	6,2±0,4*=129.2	4,8±0,7	10.0±0.4*	8.1±0.5
α-токоферол	2,4±0,3*=133.3	1,8±1,2	3.8±0.3	3.5±0.3

\* - P>0,05

Однако содержание МАГ достоверно снижалось на 18.4 % по сравнению с контрольными рыбами.

В отличие от стерляди смена рациона не оказывала существенное влияние на процессы ПОЛ в организме бестера, о чем свидетельствовали близкие величины гидроперекисей: ДК, МДА и ОШ. Различия между вариантами кормления по данным показателям составляли не более 5.5 %.

У молоди стерляди на опытном корме существенно повысилась активность естественных антиоксидантов - СОД и α-токоферола - относительно контрольного варианта – более чем 29 и 33 % соответственно.

Активность СОД у бестера на опытном корме Старт-2 была выше на 23.4 % при, хотя незначительном, но повышении активности α-токоферола. Можно предположить, что для поддержания сбалансированного метаболизма, в том числе для регуляции процессов ПОЛ, у молоди при смене рациона расходуется меньше составляющих антиоксидантную защиту организма, что имеет важное значение в адаптации организма эндо - и экзофакторам.

В завершение следует отметить, что по комплексу рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических показателей наиболее благоприятное воздействие на рост, выживаемость, конверсию корма, общий обмен, а также липидный и энергетический обмен, антиоксидантную защиту организ-

ма молоди стерляди и бестера оказывает двухуровневое кормление, т.е. своевременная смена рациона, основанная на возрастных изменениях функциональных особенностей пищеварительного тракта.

### 3.3. Результаты лечебного кормления молоди стерляди и бестера при тимпании

Разработанное нами лечебное кормление молоди осетровых, пораженных тимпанией, включало элементы двухуровневого кормления с периодическим включением в рацион антимикробных препаратов (Abrosimova, Abrosimova, 2014). Предполагалось, что дополнительное введение в рацион рыб фармакологических препаратов и биологически активных компонентов будут способствовать нормализации микробного населения кишечника и обмена веществ, компенсируя повышенные энергозатраты и повышая антиоксидантную защиту организма.

Влияние лечебного кормления на состояние микрофлоры кишечника определяли у молоди стерляди и бестера, а его биологическое действие - у молоди бестера. Для этого молодь бестера, визуальнo разделяя по стадиям тимпании, пересаживали в отдельные бассейны. При кормлении молоди, пораженной тимпанией, в корма периодически в качестве антидота добавляли фуразолидон (Ф) в количестве 0.6 г на 1 кг корма по схеме (рис.18).



Рисунок 18. Схема лечебного кормления молоди осетровых при тимпании

### 3.3.1. Влияние лечебного кормления на микрофлору кишечника молоди стерляди и бестера

Как отмечали ранее, при тимпании микрофлора кишечника молоди осетровых представлена не только характерными для здоровых особей белокминерализующими, молочнокислыми, амилолитическими и целлюлозолитическими бактериями, но и дрожжами и плесенью при одновременном повышении количества бактерий кишечной палочки (рис. 19).



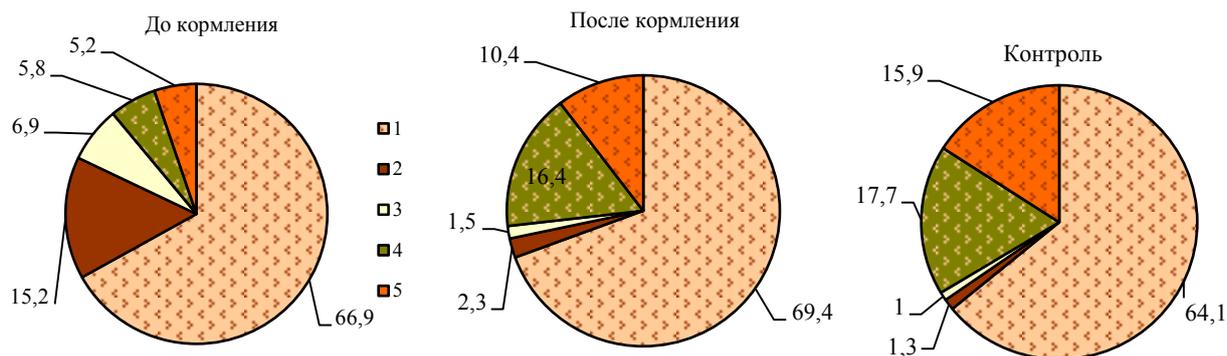
**Рисунок 19. Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов в кишечнике стерляди после лечебного кормления, %**

1 - минерализующие белок бактерии, 2 – дрожжи, 3 – плесени, 4 - группа кишечной палочки, 5 – амилолитические бактерии, 6 - молочнокислые бактерии

После лечебного кормления по схеме, представленной на рисунке 18, у молоди стерляди отмечено уменьшение количества дрожжей и плесени по сравнению с начальными показателями соответственно в 4.4 и 2.6 раза, а группы кишечной палочки – на 27.7 %. При этом количество минерализующих белок бактерий увеличилось на 11.0 %, амилолитических – в 1.8 раза, молочнокислых бактерий – на 27,9 %. Количество целлюлозолитических бактерий оставалось практически неизменным – не более 0.15 %.

Изменившийся состав бактериальной микрофлоры кишечника молоди стерляди после лечебного кормления может свидетельствовать об улучшении процессов симбионтного пищеварения. Различия этой молоди по сравнению с контролем по минерализующим белок бактериям не превышали 0.25 %, амилолитическим - 11.2 %, молочнокислым – 25 %.

Аналогичный эффект отмечен и у молоди бестера (рис. 20).



**Рисунок 20. Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов в кишечнике бестера после лечебного кормления, %**

1 - минерализующие белок бактерии, 2 – плесени + дрожжи, 3 - группа кишечной палочки, 4 – амилолитические бактерии, 5 - молочнокислые бактерии

Так, после лечебного кормления суммарное количество дрожжей и плесени уменьшилось по сравнению с начальными показателями в 6.6 раза, а группы кишечной палочки – в 4.6 раза. При этом количество минерализующих белок бактерий, хотя и незначительно, но увеличилось на 3.7 %.

Существенным было повышение уровня амилолитических и молочнокислых бактерий, соответственно в 2.8 и 2 раза.

Содержание минерализующих белок бактерий у опытной молоди превышало контрольную группу на 8.8 %, количество же амилолитических бактерий было меньше на 7.4 %, а молочнокислых – 1.5 раза.

Несмотря на некоторые количественные отличия в микрофлоре молоди стерляди и бестера после лечебного кормления с контрольными рыбами, признаков вздутия пищеварительного тракта не наблюдали.

Следовательно, ступенчатое (двухуровневое) кормление молоди осетровых рыб с использованием специальных диет с учетом возрастных изменений активности пищеварительных ферментов способствует нормализации кишечной микрофлоры за счет подавления численности потенциально патогенных микроорганизмов – дрожжей, плесени и группы кишечной палочки - и способствует наиболее благоприятному развитию амилолитических и молочнокислых бактерий.

Следует отметить, что при нормализации кишечной микрофлоры повышается переваримость комбикормов, в частности углеводов, которые в современных кормах для осетровых рыб достигают 20-25 % (Абросимов, Абросимова, 2006).

### 3.3.2. Влияние лечебного кормления на выживаемость и химический состав молоди бестера

В результате 1-го курса лечебного кормления лучшие результаты наблюдали у рыб на 1-й стадии тимпании. Выживаемость этой молоди составила 98 %, при средней тяжести заболевания – 62 %, а на предагональной – 6 %. При этом у молоди средней и тяжелой пораженности остаточные признаки тимпании сохранялись у 45 и 90 % особей соответственно. Химический состав до и после экспериментального кормления представлен в таблице 21.

Таблица 21

#### Химический состав тела молоди бестера, пораженного тимпанией, до и после экспериментального кормления

Стадии тимпании	Вода, %	Абсолютно сухое вещество, %			Гликоген, мг %
		Протеин	Жир	Зола	
<i>Начало экспериментального кормления</i>					
Начальная	85.37±0.77	64.67±1.74	11.53±0.32	16.02±1.47	307.97±34.85
Средняя	85.51±0.34	66.79±1.19	10.09±1.10	20.90±1.80	120.00±29.13
Тяжелая	84.99±0.18	68.04±1.73	9.62±0.28	20.38±0.7	84.22±15.51
Контроль	83.74±0.46	67.34±0.62	11.96±0.30	11.92±1.03	780.00±59.70
<i>После экспериментального кормления</i>					
Начальная	82.33±1.44	59.14±1.98	21.47±2.00	8.08±0.36	1548.98±562.08
Средняя: 1*	83.81±2.77	68.31±1.45	16.53±5.42	10.41±2.83	853.56±190.68
	2*	87.21±1.14	66.48±2.82	13.86±1.71	12.00±1.80
Тяжелая: 1*	88.78±1.47	67.28±0.75	16.79±3.24	11.74±1.47	371.46±83.17
	2*	88.05±0.62	66.81±3.00	13.79±0.08	12.27±1.30
Контроль	83.65±4.52	65.92±1.32	19.99±0.79	13.22±1.27	935.37±183.23

Примечание: 1\* - без признаков тимпании, 2\* - с остаточными признаками тимпании

Данные таблицы 21 наглядно демонстрируют повышение у бестера при тимпании относительного содержания суммы зольных элементов на 35.9-75.3 % и последовательное снижение гликогена с усилением тяжести поражения молоди в 2.5, 6.5 и 9.3 раза. При этом на предагональной стадии уровень жира снижался на 19.6 %.

Нормализация физиологического состояния рыб, в том числе энергетического обмена, сопровождалась улучшением химического состава мышц, в первую очередь за счет повышения уровня жира и гликогена соответственно более чем в 1.5 и 4 раза, уменьшения зольных элементов более чем в 1.7 раза относительно начальных показателей. Причем наиболее близкий химический состав мышц к контрольной группе рыб после лечебного кормления были у молоди с 1-й и 2-й стадией тимпании.

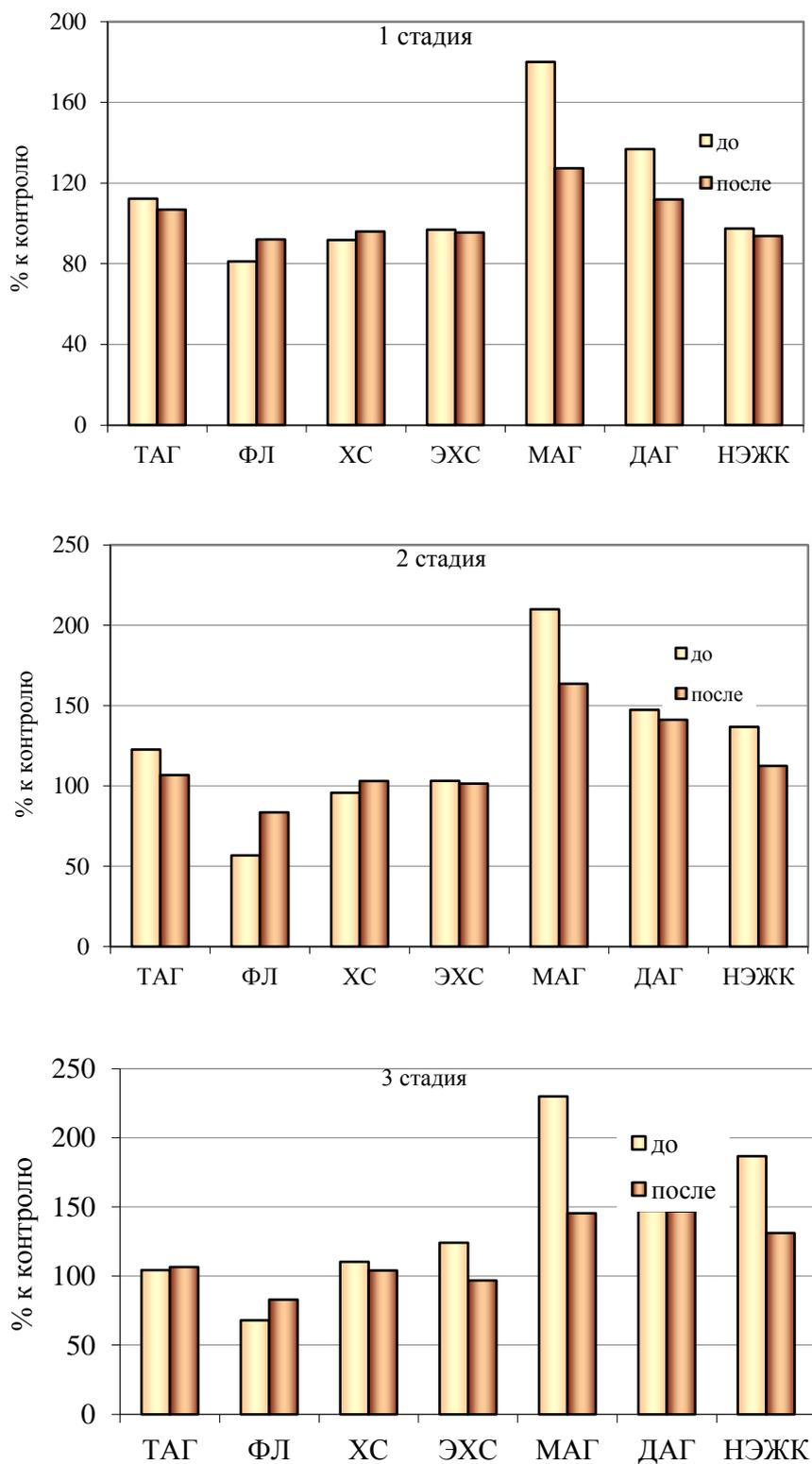
### **3.3.3. Липидный и энергетический обмен молоди бестера после лечебного кормления**

Положительное влияние лечебного кормления наблюдали и по показателям липидного и фосфолипидного статуса. Характерными изменениям в процессе лечебного кормления являлись снижение уровня ТАГ, МАГ, ДАГ и НЭЖК и увеличение уровня ФЛ (приложение 1, табл. 1). В отношении состава ФЛ отмечено повышение уровня ИН, ФХ, ФС, КЛ+ПГФ и уменьшение ЛФХ, СМ и ФЭА (приложение 1, табл. 2).

Отмеченные различия находились в прямой зависимости от начального состояния молоди, однако в целом направленность изменений свидетельствует об улучшении липидного статуса и нормализации энергетического обмена (Алимова и др., 1975; Kanazawa, 1985; Саутин, 1989; Гершанович и др., 1991; Карагезян и др., 1990; Hannum, 1994; Ghosh et al., 1997; Нагайцев и др., 2002).

Несмотря на некоторые различия в содержании отдельных липидов после лечебного кормления в зависимости от стадии поражения тимпанией, в

наблюдаемых изменений по сравнению с контролем отмечалась определенная закономерность (рис. 21).



**Рисунок 21. Изменения содержания отдельных липидов у молоди бестера до и после лечебного кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Так, к завершению лечебного кормления уровень ТАГ уменьшился по отношению к контролю с 12.2-22.7 до 6.8 % (1 и 2 стадии), МАГ – с 80.0-130.0 % до 27.3-63.6 %, ДАГ – 36.8-47.4 до 11.8-47.0 %, НЭЖК – с 36.8-86.8 до 12.5-31.2 % (2-я и 3-я стадии). Одновременно повысилось содержание ФЛ. Если различия с контрольными рыбами до лечебного кормления составляли 18.9-43.2 %, то после кормления – 8.0-17.0 % в зависимости от стадии заболевания в начале кормления (см. рис. 21).

У молоди на 3-й тяжелой стадии тимпании содержание ТАГ и ДАГ по отношению к контролю практически не изменилось. Но при этом уровень ФЛ увеличился с 68.1% от начального до 83.0 %, а НЭЖК - уменьшились в 1.4 раза по сравнению с контрольными рыбами.

Существенное снижение НЭЖК, особенно у рыб 2-й и 3-й стадии тимпании может объяснить достоверное повышение уровня ФЛ у молоди после лечебного кормления. Вероятно, НЭЖК используются организмом в качестве источника энергии в процессе окисления (Алимова и др., 1975).

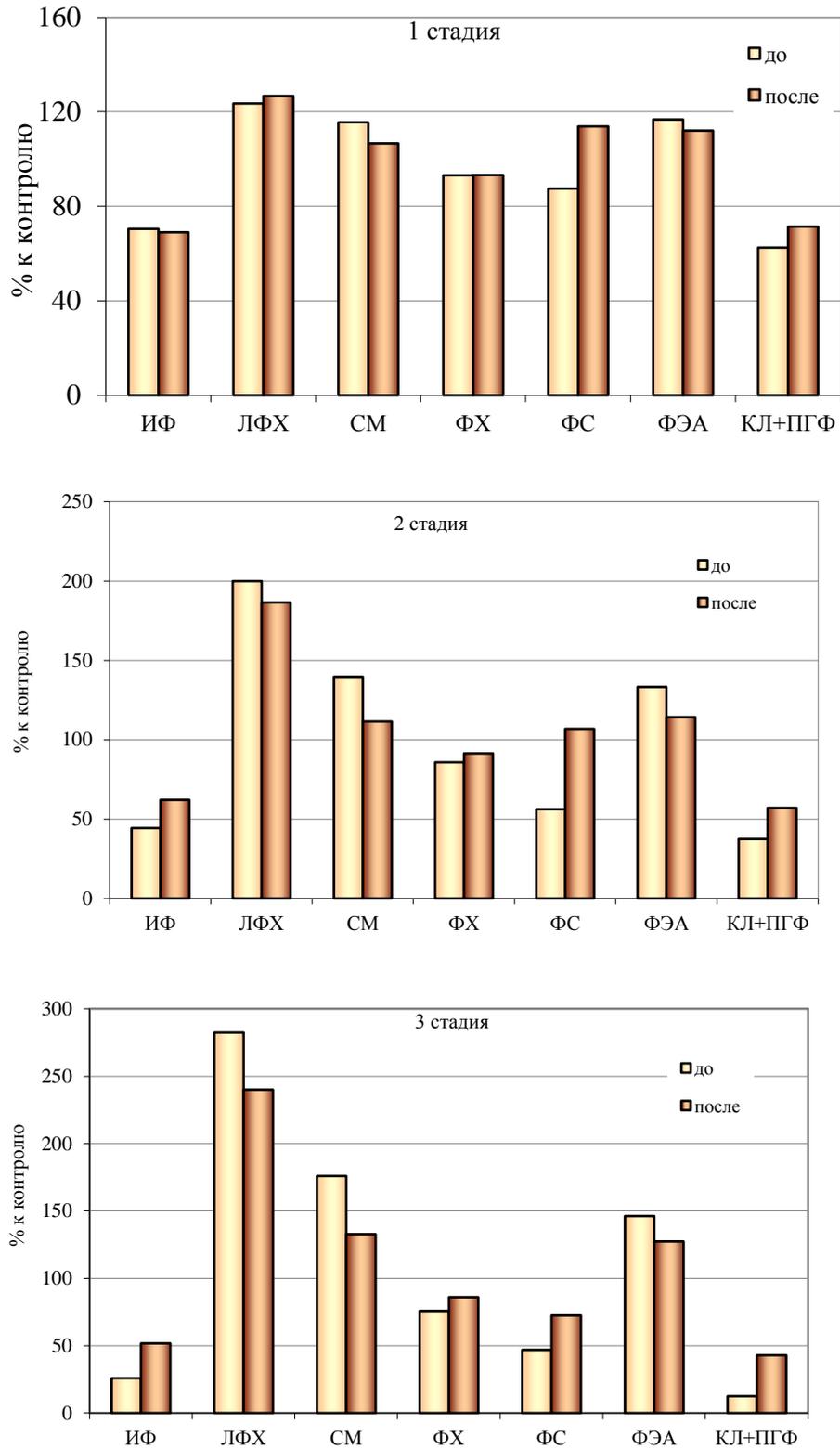
Четкой картины изменений ХС и ЭХС не наблюдалось, что связано с особой их ролью в осморегуляторных процессах и необходимостью сохранения ХС в неактивной форме (Лапин, Шатуновский, 1981).

Аналогичная направленность обмена отмечена и для фосфолипидов.

У молоди с 1-й стадией тимпании, несмотря на некоторые отличия от контроля, показатели ФЛ обмена находились в пределах физиологической нормы либо незначительно отличались от этой нормы (рис. 22).

Наиболее выраженные изменения у молоди с 2-й стадией были увеличение относительно контроля ФС и КЛ+ПГФ соответственно в 1.9 и 1.5 раза.

У молоди с 3-й формой наиболее выражено положительное действие лечебного кормления в повышении относительно контроля ИФ, ФС и КЛ+ПГФ соответственно почти в 2.0, 1.5 и более чем в 3 раза, а также уменьшении ЛФХ и СМ в 1.2 и 1.3 раза (см. рис. 22).



**Рисунок 22. Изменения содержания отдельных фосфолипидов у молоди бестера до и после лечебного кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Выявленные различия свидетельствуют об улучшении физиологического состояния молоди и нормализации энергетического обмена после лечебного кормления. Причем положительный отклик организма на лечебное кормление в большей степени проявилось у рыб при 2-й и 3-й тяжести тимпани.

После повторного курса лечебного кормления молоди с остаточными признаками тимпани различия этих рыб с контролем по составу общих липидов и ФЛ становились еще менее значимыми (приложение 2, рис. 1 и 2).

Как отмечали ранее, одним из важных показателей физиологического статуса животных является состав жирных кислот тканей, особенно соотношение  $\omega 3/\omega 6$  (Castel et al., 1972; Takeuchi et al., 1980; Крепс, 1981; Watanabe, 1982). В норме этот показатель для осетровых рыб составляет в общих липидах 1,3 и более, в фосфолипидах более 1,5 (Абросимова, 1997).

В таблицах 22 и 23 представлено содержание жирных кислот в общих липидах и ФЛ молоди бестера до и после лечебного кормления.

Как показано в таблице 22 относительное содержание насыщенных, моноеновых и полиеновых жирных кислот у молоди на различных стадиях тимпани незначительно (от 2 до 8 %) отличается от контрольных рыб. Исключение составляет уровень в ФЛ насыщенных жирных кислот на 3-й стадии, полиеновых - на 2-й и 3-й стадиях тимпани, где различия с контролем составляли 17-20 %.

Характерное для рыб на всех стадиях тимпани - существенное отклонение от нормы баланса  $\omega 3$  и  $\omega 6$  жирных кислот, который отличался от контрольных здоровых рыб в 1.4-26.6 раза в общих липидах и в 2-28 раз в ФЛ. Эти отклонения были обусловлены низким уровнем эссенциальных жирных кислот  $\omega 3$  ряда, особенно 18:3 и 22:6 кислотами, количество которых от более чем 2 раза до более чем в 13 раз отличалось от контроля (см. табл. 22). Причем минимальные отклонения по данным показателям были у молоди на 1-й стадии тимпани.

**Жирнокислотный состав тела молоди бестера, % суммы жирных кислот  
(начало 1 курса лечебного кормления)**

Жирные кислоты	Начальные стадии тимпаниии						Контроль	
	1-я		2-я		3-я		ОЛ	ФЛ
	ОЛ*	ФЛ*	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ		
Насыщенные	36.7	33.4	37.5	33.8	38.4	37.1	35.5	31.5
Ненасыщенные	63.3	66.6	62.5	66.2	61.6	62.9	64.5	68.5
Моноеновые	39.7	43.6	39.6	46.9	36.1	43.3	41.3	44.4
Полиеновые,	23.6	23.0	22.9	19.3	25.5	19.6	23.2	24.1
в т.ч. ω3:	10.9	13.3	5.0	5.6	1.2	1.5	13.3	17.8
18:3	0.6	0.9	0.3	0.5	0.1	0.1	1.3	2.2
20:5	7.8	10.2	3.1	3.8	0.3	0.3	6.6	9.1
22:5	1.8	1.4	1.2	1.0	0.7	0.9	3.7	3.9
22:6	0.7	0.8	0.4	0.3	0.1	0.2	1.7	2.6
ω6:	12.7	9.7	17.9	13.7	24.3	18.1	9.9	6.3
18:2	3.7	2.6	4.6	4.3	5.8	5.1	3.4	1.9
20:4	5.2	4.5	6.1	4.8	7.6	5.4	4.2	3.3
ω3/ω6	0.9	1.4	0.3	0.4	0.05	0.1	1.3	2.8

Примечание: ОЛ\* – общие липиды, ФЛ\* – фосфолипиды

Таблица 23

## Жирнокислотный состав тела молоди бестера, % суммы жирных кислот (после 1 курса лечебного кормления)

Жирные кислоты	Начальные стадии тимпании										Контроль	
	1-я		2-я				3-я					
	Здоровые		Здоровые		С остаточными явлениями		Здоровые		С остаточными явлениями			
	ОЛ*	ФЛ*	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ	ОЛ	ФЛ
Насыщенные	37.1	33,6	37.0	34,3	36,3	32,3	37,8	35,3	36,4	33,6	37,2	31,5
Ненасыщенные	62.9	66,4	63.0	65,7	63,7	67,7	62,2	64,7	63,6	66,4	62,8	68,5
Моноеновые	40.2	44,4	40,3	45,1	42,7	49,7	41,6	44,4	41,4	47,4	39,7	44,2
Полиеновые,	22.7	22.0	22,7	20,6	21.0	18	20,6	20,3	22,2	19	23,1	24,3
в т.ч. ω3:	11.5	14,5	9,4	11,2	6,3	7,8	8,4	10,5	6,5	7,8	13,2	17,6
18:3	0.9	1,2	0,7	1.0	0,5	0,7	0,5	0,7	0,2	0,4	1,4	2.1
20:5	2.8	3,2	2,0	2,3	1,8	2.0	2,4	2.0	2.0	2,3	3,5	4.0
22:5	1.4	1,9	0,9	1,2	0,8	1,2	1.2	1,6	0,9	1,4	1,8	2,7
22:6	6.4	8,2	5,8	6,7	3,2	3,9	4.3	6.2	3,4	3,7	6,5	8,8
ω6:	11.2	7,5	13,3	9,4	14,7	10,2	12,2	9.8	15,7	11,2	9,9	6,7
18:2	3.6	2,2	3,8	3.0	4.0	3,2	3,8	3.2	4,2	3,3	3,5	2,2
20:4	4.8	3,6	5,8	4,2	5.2	4,2	4.8	4,2	5,4	4.4	4,4	3,4
ω3/ω6	1.0	1,9	0,7	1,2	0,4	0,8	0.7	1,1	0,4	0,7	1,3	2,6

Примечание: ОЛ\* – общие липиды, ФЛ\* – фосфолипиды

По завершении 1-го курса лечебного кормления жирнокислотный состав молоди с 1-й стадией тимпаниии нормализовался и практически не отличался от контрольной группы. У этих рыб соотношение  $\omega_3/\omega_6$  по сравнению с начальными показателями наиболее приближалось физиологической норме (см. табл. 23).

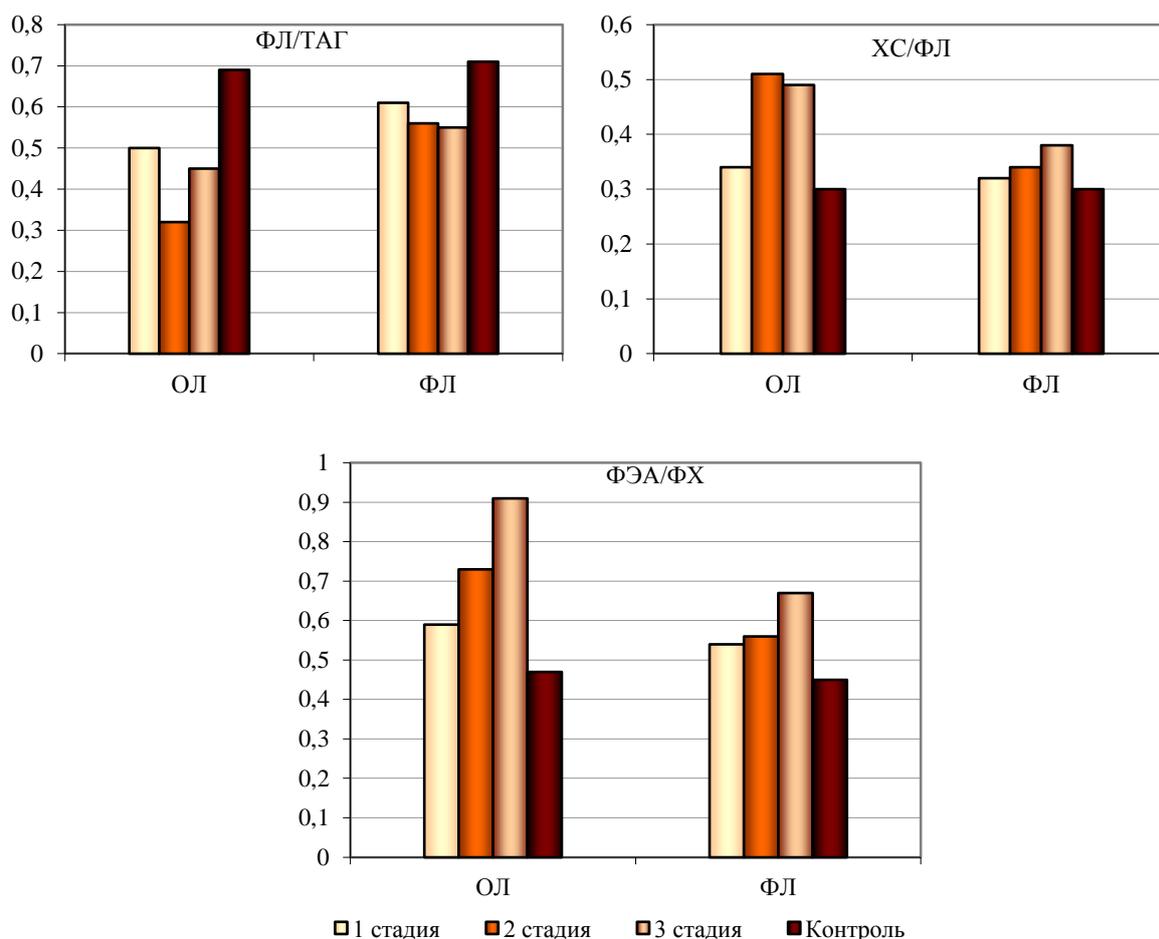
Молодь после лечебного кормления (без признаков тимпаниии) из группы рыб с 2-й стадией тимпаниии и единичные особи из группы с 3-й стадией отличались от контрольной в основном более низким на 14-15 % уровнем полиненасыщенных жирных кислот в ФЛ с минимальными (на 26-30 %) отличиями содержания 22:6  $\omega_3$  кислот.

Однако относительное содержание  $\omega_6$  кислот у них оставалось достаточно высоким - на 40-67 % по сравнению с контролем, что и определило величину  $\omega_3/\omega_6$  в общих и ФЛ более чем в 1.8 раз ниже, чем в контроле и в 1.8 и 1.2 раза в сравнении с физиологической нормой.

Положительное влияние лечебного кормления наблюдали и по показателям липидного и энергетического обмена, которые отличались в зависимости от тяжести тимпаниии.

Так, до начала лечебного кормления ФЛ/ТАГ- коэффициент у опытной молоди соответствовал 46.4-72.5 %, коэффициент Дьёрдии – 113.3-163.3 %, ФЭА/ФХ-коэффициент – 125.5-193.6 % по отношению к контролю. После лечебного кормления эти показатели составляли 77.5-85.9, 106.6-126.7 и 120-148.8 % (рис. 23).

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии лечебного кормления при тимпаниии, что выразилось нормализации ФЛ- статуса молоди и энергетического обмена. (Kanazawa, 1985; Гершанович и др. 1991; Карагезян и др., 1999; Нагайцев и др., 2002;. Причем положительный отклик организма на разработанную систему кормления большей степени проявилось у рыб при 3-й и 2-й тяжести тимпаниии.



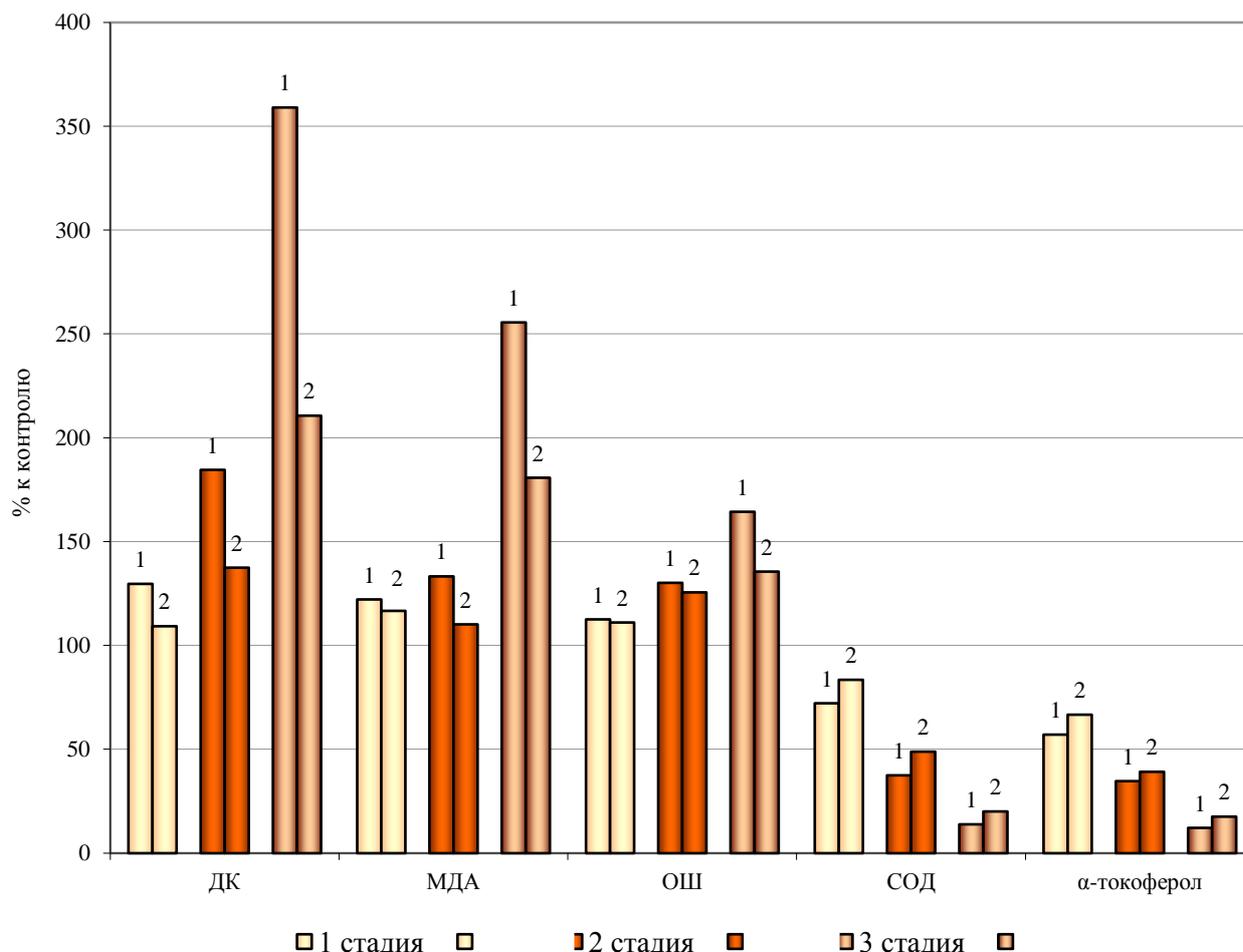
**Рисунок 23. Показатели липидного и энергетического обмена молоди бестера после лечебного кормления**

После повторного курса лечебного кормления молоди с остаточными признаками тимпании их различия с контролем по жирнокислотному составу, показателям липидного и энергетического обменов становились еще менее значимыми (приложение 3 и 4).

Существенно низкий уровень 22:6  $\omega$ 3 кислоты - 1.4-1.8 % суммы жирных кислот, по-видимому, компенсировался высоким содержанием 22:5  $\omega$ 3 – 6.2-7.6 % суммы жирных кислот. В контроле содержание этих жирных кислот составляло соответственно 6.5-8.8 и 3.5-4.0 %. Соотношение  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 у молоди после 2 курса кормления составляло 1.0-1.6 ед., в контроле – на прежнем уровне – 1.3-2.6 ед. ФЛ/ТАГ- и ФЭА/ФХ-коэффициенты и коэффициент Дьердии достаточно приближались к контрольной группе рыб и составляли соответственно 0.52 и 0.43; 0.41 и 0.38; 0.51 и 0.45 ед.

### 3.3.4. Состояние перекисного окисления липидов у молоди бестера после лечебного кормления

Анализируя состояние молоди до и после лечебного кормления по показателям ПОЛ в организме, следует отметить направленность данного процесса на нормализацию у рыб с 1-й и 2-й степенью заболевания (рис. 24).



**Рисунок 24. Уровень гидроперекисей и антиоксидантов молоди бестера до (1) и после (2) лечебного кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

Как видно на рисунке 22, содержание ДК у молоди с 1-й и 2-й стадией тимпани в процессе 1-го курса лечебного кормления снизилось более чем на 20 и 40 % при отличиях от контроля соответственно на 9 и 37 %.

Аналогичные изменения наблюдали и с другими гидроперекисями. Так, уровень МДА у молоди бестера с 1-й стадией тимпани снизился на 5.5 %, 2-й – на 23 % при отличиях от контроля на 10-16 %. Уменьшение ОШ

было незначительным – не более 5 % при отличиях от контрольных рыб на 11-25 %. Несмотря на снижение содержания гидроперекисей у молоди с 3-й тяжелой стадией тимпани их содержание превышало таковые у контрольных рыб в 2 раза (ДК), в 1.8 раз (МДА) и в 1.3 раза (ОШ).

Одновременно со снижением содержания гидроперекисей в процессе лечебного кормления у рыб с 1-й, 2-й и 3-й стадиями тимпани по сравнению с начальными показателями повышалась активность антиоксидантов: СОД - с 10.4 до 11.6, с 5.4 до 6.8 и с 2.0 до 2.8 ед. активности, а-токоферола – с 2.8 до 3.4, 1.7 до 2.0 и с 0.6 до 0.9 ед. активности соответственно.

Однако, уровень активности исследованных антиоксидантов по сравнению с контролем оставалась ниже: СОД - в пределах 20.0-85.5 %, α-токоферола – 17.6-62.7 %, что, в первую очередь, обусловлено их интенсивным расходом на нейтрализацию гидроперекисей и поддержание гомеостаза организма. Наибольший эффект при этом проявлялся при лечебном кормлении рыб с 1-й начальной стадией тимпани.

После повторного курса лечебного кормления рыб с остаточными признаками тимпани содержание гидроперекисей у них еще более снизилось, а активность антиоксидантов возросло, что определило меньшие различия с контролем (приложение 5).

Таким образом, разработанное нами лечебное кормление молоди осетровых, основанное на смене рациона в соответствии с формированием пищеварительной системы, обогащении кормов биологически активными препаратами направленного действия (поддержание нормальной микрофлоры кишечника, нормализация липидного и энергетического обмена, регулирование процесса ПОЛ и устойчивость к стрессам), при периодическом введении в корм фуразолидона в качестве антибактериального компонента способствовало излечиванию молоди от тимпани, в первую очередь, за счет подавления в кишечнике условно-патогенных газообразующих микроорганизмов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты многолетних наблюдений позволили определить реакцию осетровых рыб на длительное кормление однотипным стартовым кормом, которая, нередко, проявлялась в изменении поведения: вялость, потеря аппетита, нарушение координации движений, отказ от пищи, утрата рефлекса ориентации, отсутствие реакции на внешние раздражители. При этом отмечалась припухлость брюшка, которая постепенно образовывала сплошной воздушный пузырь в полости тела. Обнаруженные явления аналогичны для всех стартовых кормов вне зависимости от рецептуры и характерны также для рыб при кормлении кормами, зараженными газообразующими дрожжами *p. Candida* и плесневелыми грибами *p. Aspergillus* и *Penicillium* и др. (Golovin, Golovina, 1995; Головина и др., 1998). По клиническим признакам эта патология отнесена дисбактериозу, проявлением которого является метеоризм (тимпания), от которой ежегодно теряется значительная часть молодежи осетровых, что наносит непоправимый ущерб для осетроводства.

Установлено, что соотношение активности между основными пищеварительными ферментами практически стабилизируется к 25 суткам активного питания молодежи осетровых, что свидетельствует о новом уровне развития их организма и предполагает необходимость качественно нового состава стартового корма. Это подтверждается и теорией А.М. Уголева (1970; 1987), согласно которой при длительном кормлении диетами с преобладанием мономерных форм вступает в действие бактериостимулирующий фактор, снижающий доступность таких кормов, а для нормального развития организма необходим его перевод на полимерные формы питательных веществ с более высокой молекулярной массой.

При интенсивном выращивании осетровых рыб на ранних стадиях развития используются современные стартовые комбикорма, для которых характерна высокая дисперсность протеина и повышенная доля мономерных форм. Такое однообразное кормление не учитывает поэтапное формирование

пищеварительного тракта и активности пищеварительных ферментов молоди осетровых рыб в ранний постэмбриональный период развития.

Результаты наших исследований, выполненных на примере стерляди и бестера, позволили получить качественную и количественную характеристику микрофлоры пищеварительного тракта молоди осетровых, выявить основные облигатные группы микроорганизмов. При нормальном физиологическом состоянии и хорошем здоровье доминируют минерализующие белок бактерии – более 80 %, затем молочнокислые и амилалитические бактерии – до 8-9 % каждая группа, количество целлюлозолитических бактерий не превышает 0.1 %. Условно-патогенные (газообразующие) микроорганизмы – группа кишечной палочки, дрожжи и плесени – в суммарном количестве около 2 % не оказывали отрицательного воздействия на здоровье молоди.

С развитием патологии у молоди снижалось количество минерализующих белок бактерий почти на 14 %, молочнокислых и амилалитических – соответственно на 17 и 40 %. Количество дрожжей, плесени и бактерий группы кишечной палочки повышалось и достигало 16-22 %. Повышенный фон условно-патогенных газообразующих микроорганизмов отрицательно воздействует на метаболизм, темп роста, выживаемость, состояние пищеварительной и иммунной систем, жизнеспособность молоди осетровых рыб.

Развитие патологических процессов проявлялось в уменьшении ФЛ/ТАГ-коэффициента в 1.5 раза и увеличении коэффициента Дьердии в 1.6-3.2 раза, а также в изменении соотношения главных мембранных липидов – ФЭА/ФХ - коэффициента, последовательным увеличением уровня ЛФХ до 2.8 раза и дисбалансом эссенциальных жирных кислот  $\omega 3$  и  $\omega 6$  ряда.

Представленные функциональные изменения в организме молоди осетровых создают определенный патогенный фон физиолого-биохимических процессов, спровоцированных изменением нормальной микрофлоры кишечника. При этом у молоди осетровых рыб активируются процессы ПОЛ, что сопровождается накоплением гидроперекисей, снижением антиоксидантной защиты организма, нарушением липидного, жирнокислотного и энергетиче-

ского обмена, снижении темпа роста и жизнеспособности. В процессе развития тимпаний, отмеченные изменения, усугублялись.

Если к 3-й тяжелой стадии тимпаний защитные и компенсаторные функции рыб находились на грани истощения и, вероятно, в большинстве случаев эти нарушения носили необратимый характер, то обнаруженные отклонения от нормы на 1-й и 2-й стадиях свидетельствуют о возможности предотвращения дальнейшего развития патологии при условии своевременного профилактического и лечебного кормления. Выявленные изменения в липидном и энергетическом обмене рыб позволили правильно понять механизм возникновения и протекания тимпаний, следовательно, изыскать пути оптимизации процессов выращивания молоди за счет рационального кормления и снизить ее потери в процессе выращивания.

В свете современной теории адекватного питания, разработанной А.М. Уголевым (1985, 1987), методов профилактики и терапии тимпаний, применяемые для сельскохозяйственных животных, а также наших знаний об изменениях метаболизма у рыб была усовершенствована технология выращивания и разработана схема двухуровневого кормления молоди осетровых рыб, направленная на повышение их жизнеспособности. В основу такой технологии - двухуровневого кормления молоди осетровых рыб на ранних стадиях развития - были заложены следующие принципы:

- рацион должен соответствовать возрастным функциональным особенностям пищеварительного тракта;
- смена рациона по завершении морфогенеза органов пищеварения, в котором снижена дисперсность протеина;
- использование на первом уровне кормления осетровых рыб корма с антистрессовым препаратом, а на втором - дополнительно – пробиотиков;
- в случае поражения молоди тимпанией перевод ее на специальный лечебный режим кормления, при котором в рацион вводятся препараты, блокирующие развитие газообразующих микроорганизмов (дрожжей, плесени и группы кишечной палочки).

Разработанная схема двухуровневого кормления на ранних стадиях развития молоди осетровых рыб предусматривает в течение 20-25 суток от начала активного питания личинок применять стартовые корма с уровнем растворимых белков около 40 % общего протеина, поли - и олигопептидов - 39-40 % растворимых белков. В дальнейшем суток молодь нужно переводить на корма с меньшей дисперсностью (растворимые белки около 25 % общего протеина, поли - и олигопептиды - соответственно 45 и 30 % растворимых белков) за счет введения в рецептуру кукурузного глютена и сорго «Жемчуг».

При кормлении молоди стерляди и бестера по разработанной системе были получены убедительные доказательства возможности повышения эффективности выращивания рыб в интенсивной аквакультуре, что проявилось в повышении выживаемости, хорошем физиологическом состоянии и достаточно высоком продуктивном действии комбикормов при полном отсутствии признаков тимпани.

В результате выполненного лечебного курса кормления у молоди осетровых рыб, подверженных тимпани, нормализовалась кишечная микрофлора за счет подавления численности дрожжей, плесени и группы кишечной палочки и благоприятного развития амилолитических и молочнокислых бактерий. При этом у молоди нормализовался обмен веществ, в том числе липидный, жирнокислотный, энергетический, процессы ПОЛ и, как следствие, снижение уровня гидроперекисей, повышение активности антиоксидантов наиболее уязвимых при нарушении питания. Разработанные мероприятия позволяют предотвратить массовую гибель молоди осетровых рыб на 1-й и 2-й стадии тимпани.

Таким образом, предложенная схема двухуровневого кормления осетровых рыб на ранних стадиях развития позволяет сформировать и поддерживать нормальную микрофлору кишечника и снизить риск развития тимпани, а разработанный курс лечебного кормления молоди стерляди и бестера на 1-й и 2-й стадии тимпани улучшает физиологическое состояние культивируе-

мых биообъектов и повышает их рыбоводные показатели.

Особое значение в условиях интенсивной аквакультуры приобретают вопросы организации рационального кормления молоди осетровых рыб, что может стать существенным резервом повышения выживаемости, хорошего физиолого-биохимического состояния молоди осетровых рыб, выращиваемых для целей искусственного воспроизводства и товарного осетроводства.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что микрофлора кишечника молоди осетровых при нормальном физиологическом состоянии представлена более чем на 80 % минерализующими белок бактериями, по 8-9 % молочнокислыми и амилолитическими бактериями и не более 0, 1 % целлюлозолитическими бактериями, а группа кишечной палочки, дрожжи и плесени – около 2 % не оказывающие отрицательного воздействия на здоровье молоди.

2. Показано, что кормление молоди осетровых рыб на ранней стадии развития стартовыми кормами без учёта возрастных особенностей способствует развитию тимпании, при которой нарушается нормальная видовая и количественная структура микробиоценоза кишечника: количество минерализующих белок бактерий снижается почти на 14 %, молочнокислых и амилолитических - соответственно на 17 и 40 %, а количество дрожжей, плесени и бактерий группы кишечной палочки увеличивается и достигает 16-22 %.

3. Доказано, что в процессе развития тимпании проявляются патологические изменения в обмене веществ у молоди осетровых, в частности, последовательно снижается уровень гликогена у стерляди в 1.9-3.9 раз, у бестера – 2.5-9.3 раза, жира – соответственно на 6.6-17,1 и 3.6-19.6 %, свидетельствующие о существенном повышении энергетических затрат у рыб для поддержания нормального гомеостаза.

4. Определено, что уменьшение ФЛ/ТАГ-коэффициента в 1.5 раза, увеличение коэффициента Дьердии в 3 раза и ФЭА/ФХ - коэффициента – до 2 раз, а также уровня ЛФХ - в 2.8 раза и дисбалансом эссенциальных жирных кислот  $\omega 3$  и  $\omega 6$  ряда сопровождается повышением ПОЛ, что подтверждается количеством гидроперекисей и приводит к ухудшению физиологического состояния молоди осетровых рыб и развитию патологии.

5. Разработана схема двухуровневого кормления молоди осетровых рыб на ранних стадиях развития, которая предусматривает в течение 20-25 суток от начала активного питания личинок применять стартовые корма с

уровнем растворимых белков около 40 % общего протеина, поли - и олигопептидов - 39-40 % растворимых белков, а в дальнейшем с 21-26 суток переводить на корма с меньшей дисперсностью за счет введения в рецептуру кукурузного глютенa, а также сорго «Жемчуг» для повышения в рационе триптофана. Оптимальный уровень растворимых белков около 25 % общего протеина, поли - и олигопептидов - соответственно 45 и 30 % растворимых белков.

6. Установлено, что лечение молоди осетровых рыб с 1-й и 2-й стадиями тимпаний посредством кормления специализированными кормами с применением антисептических и антистрессовых компонентов позволяет предотвратить дальнейшее развитие патологии, нормализовать состояние кишечной микрофлоры и улучшить липидный, жирнокислотный и энергетический обмен, что позволит увеличить процент выживаемости рыб: с 1-й стадией тимпаний до 98 %, со 2-й – 62 %.

7. Доказано, что своевременное лечебное кормление молоди осетровых рыб, подверженных 1-й и 2-й стадиям тимпаний, специализированными кормами с использованием антистрессовых на первом этапе выращивания и на втором – пробиотических препаратов позволяет добиться полного отсутствия признаков тимпаний и улучшить физиологическое состояние рыб. Но при этом у молоди осетровых с 3-й стадией тимпаний защитные и компенсаторные функции почти полностью истощены и носят необратимый характер, что является причиной массовой гибели рыб.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для уменьшения потерь молоди осетровых рыб при выращивании в интенсивной аквакультуре необходимо оптимизировать их кормление с учетом возрастных изменений обмена веществ и пищеварения.

Для этого следует:

- кормление личинок стерляди и бестера осуществлять стартовыми кормами с уровнем протеина 50-55 %, в том числе растворимых белков около 40 % при соотношении высокомолекулярных белков, поли- и олигопротеинов близком 1:2:2 в течение 20-25 суток от начала активного питания;

- с 21 суток от начала активного питания нужно переводить молодь на корма с уровнем протеина не менее 50 %, в том числе растворимых белков около 25 % и меньшей дисперсностью при соотношении высокомолекулярных белков, поли- и олигопротеинов близком 1:1.8:1.2 за счет введения в рецептуру 10 % кукурузного глютена и 10 % сорго «Жемчуг» для повышения в рационе триптофана;

- для нормализации микробного населения кишечника в корма следует вводить 0.2 % лактобактерина;

- для усиления антиоксидантной системы рыб целесообразно вводить в рацион 2 % липидной добавки (Патент № 2310338, 2007);

- необходимо ежедневно проводить визуальный контроль состояния рыб для оперативного выявления первых признаков тимпани;

- при первых признаках тимпани (визуально различимая припухлость брюшка) необходимо начать профилактическое кормление, направленное на нормализацию кишечной микрофлоры;

- профилактическое кормление заключается в обработке кормов фуразолидоном в количестве 0.6 г на 1 кг корма и кормлением этим кормом течение 5 дней с повтором после 2-дневного перерыва. Как правило, положительный эффект достигается после 2-разового кормления кормами с фуразолидоном.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Абросимов, С.С. Влияние жирнокислотного состава корма на рост и физиолого-биохимическое состояние молоди севрюги [Текст] / С.С. Абросимов, Ю.В. Дудко // Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та, 2009. - Вып. 1(16). - С. 116-119.

2.Абросимов, С.С. Влияние микробного населения кишечника на биологическое и продуктивное действие стартового корма [Текст] / С.С. Абросимов, К.С. Абросимова // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. Материалы докладов IV международной научно-практической конференции (Астрахань, 13-15 марта 2006 г.).- Астрахань: изд-во ВНИРО, 2006.- С. 217-219.

3.Абросимов, С.С. Изменение физиолого-биохимических показателей молоди донской стерляди при тимпании [Текст] / С.С. Абросимов, К.С. Абросимова // Юг России: экология, развитие.- 2011.- №2. - С. 63-67.

4.Абросимов, С.С. Повышение жизнестойкости молоди севрюги (*Acipenser stellatus* Pallas) при бассейновом выращивании [Текст] / С.С. Абросимов, Н.А. Абросимова // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: материалы докладов III международной научно-практической конференции.- Астрахань, 2004.- С. 226-227.

5.Абросимов, С.С. Стабилизация свободнорадикального окисления липидов у молоди *Acipenser stellatus* при интенсивном выращивании [Текст] / С.С. Абросимов // Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та.- 2008а.- Вып. 3 (12).- С. 77-81.

6.Абросимов, С.С. Стресс-факторы и их влияние на физиолого-биохимический статус молоди осетровых [Текст] / С.С. Абросимов // Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та.- 2008б. – Вып. 3(12). – С. 93-98.

7.Абросимова Н.А. Активность дегидрогеназ в процессе развития тимпании у молоди стерляди *Acipenser ruthenus* L. [Текст] / Н.А. Абросимова,

К.С. Абросимова//Юг России: экология, развитие. - Махачкала: Изд. Дом «Камертон», 2012.- №1. - С. 59-63.

8.Абросимова, Е.Б. Диагностическое значение физиолого- биохимических показателей при некоторых заболеваниях рыб / Е.Б. Абросимова, К.С. Абросимова // Наука, техника и высшее образование: проблемы и тенденции развития: сб. науч. трудов. – Ростов-на-Дону: изд-во РГУ, 2006. - С. 187-194.

9.Абросимова, Е.Б. Направленность обмена веществ при некрозе жабр у молоди бестера [Текст] / Е.Б. Абросимова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки.- 2009б.- № 2.- С. 82-84.

10.Абросимова, Е.Б. Особенности аммиачной интоксикации рыб в интенсивной аквакультуре [Текст] / Е.Б. Абросимова: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Астрахань, 2009а. – 25 с.

11.Абросимова, К.С. Изменение липидного обмена молоди бестера в процессе развития тимпани [Текст] / К.С.Абросимова // Журнал фундаментальных и прикладных исследований Астраханского гос. университета. Естественные науки.- 2011. - № 1 (34).- С. 85-90.

12.Абросимова, К.С. Изменение липидного состава молоди стерляди при нарушении симбионтного питания [Текст] / К.С. Абросимова // Инновационные технологии аквакультуры: тез. докл. Международной научной конференции (21-22 сентября 2009 г., г. Ростов-на-Дону). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2009а. – С. 18-20.

13.Абросимова, К.С. Кормление рыб в интенсивной аквакультуре и окислительный стресс [Текст] / К.С. Абросимова // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: материалы II Международной научно-практической конференции (Ростов-на-Дону, 8-10 октября 2008 г.). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2008. – С. 12-13.

14.Абросимова, К.С. Некоторые особенности липидного обмена молоди стерляди при тимпани [Текст] /К.С. Абросимова, Е.К. Тарасов //Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Мат-лы III

Международ. науч.-практ. конф. Ростов-на-Дону, 1-4 октября 2009 г. – Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ ЮФУ, 2009. – С. 62-63.

15.Абросимова, К.С. Особенности обмена фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов молоди стерляди при тимпании [Текст] / К.С. Абросимова // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: материалы III Международной научно-практической конференции (Ростов-на-Дону, 1-4 октября 2009 г.). – Ростов-на-Дону : Изд-во ЮФУ, 2009б. – С. 62.

16.Абросимова, Н.А. Изменение активности пищеварительных ферментов у молоди бестера при тимпании [Эл. ресурс] / Н.А. Абросимова // Современные проблемы науки и образования. Электронный научный журнал, ISSN 2070-7428.- 2012.- № 4. - Режим доступа: <http://www.science-education.ru/104-6555>

17.Абросимова, Н.А. Инструкция по бассейновому выращиванию молоди осетровых на предприятиях Азово-Донского района с использованием стартового комбикорма Ст4-Аз [Текст] / Н.А. Абросимова, Е.А. Гамыгин, Е.Г. Белов, М.В. Сафонова.- Ростов-на-Дону: АзНИИРХ, 1989.- 24 с.

18.Абросимова, Н.А. Корма и кормление молоди осетровых рыб в индустриальной аквакультуре [Текст] / Н.А. Абросимова: автореф. дис. ... док-ра биол. наук.- М.: ВНИИПРХ, 1997.- 76 с.

19.Абросимова, Н.А. Кормовое сырье и добавки для объектов аквакультуры [Текст] / Н.А. Абросимова, С.С. Абросимов, Е.М. Саенко.- Ростов-на-Дону: «Эверест», 2006.- 144 с.

20.Аврова, Н.Ф. Биохимические механизмы адаптации к изменяющимся условиям среды у позвоночных: роль липидов [Текст] / Н.Ф. Аврова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии.- 1999.- Т.35, №3.- С.170-180.

21.Алимова Е. К., Аствацатурьян А. Т., Жаров Л. В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. М.: Медицина, 1975. 280 с.

22.Бекер, М. Е. Биотехнология [Текст] / М.Е. Бекер, Г.К. Лиепиньш,

Е.П. Райнулис.- М.: Агропромиздат, 1990.- 334 с.

23.Биохимические методы исследований в клинике. Справочник [Текст] / Под ред. проф. Покровского.- М.: Медицина,1969. – 652 с.

24.Богословская, С. И. Антигипоксическое действие этимизола [Текст] / С.И. Богословская, И.М. Петяев, Л.С. Филимоновская, В.А. Клочков, Е.В. Подземельников, Л.И. Струченевская // Биологические мембраны и энергетика организма в норме и патологии: сб. научн. тр. - Т.110 (127).- Саратов, 1984.- С. 67-69.

25.Болезни рыб при индустриальном выращивании: обзорная иформ. Серия: Болезни гидробионтов в аквакультуре/Под ред. Н.Е. Гепецкого. – М.: Изд. ВНИЭРХ, 2000. - Вып.1.- С. 1-60.

26.Бондаренко, Л.Г. Биологические основы разработки сухих гранулированных кормов для личинок осетровых рыб на примере бестера и русского осетра [Текст] / Л.Г.Бондаренко: Дис. ... канд. биол. наук. - М., 1985.- 169 с.

27.Брокерхоф, Х. Липолитические ферменты [Текст] / Х. Брокерхоф, Р. Дженсен; пер. с англ. Т.П. Левчук и др., под ред. Браунштейна А.Е. и др.- М.: Мир, 1978.- 396 с.

28.Бурлакова, Е.Б. Механизмы реактивации липидзависимых ферментов при патологических состояниях [Текст] / Е.Б. Бурлакова, А.В. Алексеенко, С.А. Аристархова и др. //Липиды биологических мембран.- Ташкент: Фан, 1982. - С.16-23.

29.Бурлакова, Е.Б. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке [Текст] / Е.Б. Бурлакова, С.А. Аристархова, Л.В. Федорова, Н.И. Шелудченко, Л.Н. Шишкина // Биологические науки.- 1991.- Т. 333, Вып. 9. - С.21-24.

30.Бурлаченко, И.В. Влияние бактериальной обсемененности кормов на физиологическое состояние молоди рыб [Текст] / И.В. Бурлаченко, К.Б. Аветисов, Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова // Аквакультура начала XXI века: материалы международной научно-практической конференции.– М.: Изд-во

ВНИРО, 2002 – С. 245-253.

31.Бурлаченко, И.В. Использование пробиотиков на ранних стадиях развития рыб и их влияние на выживаемость, рост и микробиоценоз личинок сибирского осетра (*Acipenser baerii*) [Текст] / И.В. Бурлаченко, Е.В. Малик // Ветеринария.- 2007. - № 3. - С. 47-51.

32.Бурлаченко, И.В. Теоретические и прикладные аспекты повышения резистентности осетровых рыб в аквакультуре [Текст] / И.В. Бурлаченко. Автореф. дис. ... док-ра. биол. наук.- М.: 2007. – ВНИРО. – 46 с.

33.Васильева Л.М. Биологические и технологические особенности товарной аквакультуры осетровых в условиях Нижнего Поволжья [Текст] /Л.М. Васильева. Астрахань, 2000. – 189 с.

34.Васильева Л.М. Биотехнологические нормативы по товарному осетроводству [Текст] /Л.М. Васильева, А.А. Китанов, Т.Н. Петрушина и др. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2010. – 80 с.

35.Весельский, С.П. О соотношении процессов тканевого дыхания и гликолиза у рыб при их адаптации к различным уровням  $CO_2$  в водной среде [Текст] / С.П. Весельский // Экологическая физиология рыб. Часть 1.: тезисы докладов III Всесоюзной конференции (Киев, ноябрь 1976 г.).- Киев: Наукова Думка, 1976. – С.100-101.

36.Внутренние незаразные болезни [Текст]/ Под. ред. Г.Г. Щербаковой, А.В. Колосовой. – СПб.: Изд-во «Лань», 2002. -756 с.

37.Галаш В. Т. Токсико-биологическое действие трихотеценовых микотоксикозов на карпа и предельно допустимая концентрация Т-2-токсина в карповых комбикормах [Текст] /В.Т. Галаш: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.,1988. - 27 с.

38.Галаш В.Т. Реакция крови карпа на острое действие дезоксиниваленола [Текст] / В.Т. Галаш, Н.А. Головина//Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, 1989. - Вып. 5. – С. 5-11.

39.Гамыгин, Е.А. Корма и кормление рыбы. [Текст]/ Е.А. Гамыгин. - Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, 1987. Вып. 1. – С. 1-82.

40.Гербильский, Н.Л. Гистологический анализ пищеварительной системы осетровых и костистых на раннем периоде развития и методика работы с личинками в рыбоводстве [Текст]/ Н.Л. Гербильский // Тр. совещания по рыбоводству. – М.: Изд-во АН СССР, 1957. – В. 7. – С. 89-93.

41.Гершанович, А.Д. Особенности обмена липидов у рыб [Текст] / А.Д. Гершанович, В.И. Ланин, М.И. Шатуновский // Успехи современной биологии.-1991.- Т.111, вып. 2.- С.207-219.

42.Головин, П.П. Алиментарные болезни рыб: диагностика и профилактика [Текст] / П.П. Головин, Н.А. Головина, О.П. Цвылев // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре.– М., 2000. – С.49-50.

43.Головина, Н.А. Алиментарные болезни рыб, выращиваемых в условиях теплых вод [Текст] / Н.А. Головина, П.П. Головин, Н.Н. Романова, Н.С. Иванова // Итоги тридцатилетнего развития рыбоводства на теплых водах и перспективы на XXI век: материалы Международного симпозиума.- М., С.Пб., 1998. - С. 236-243.

44.Головина, Н.А. Алиментарный токсикоз осетровых рыб и его последствия [Текст] / Н.А. Головина, М.А. Ланге, Т.В. Васильева, П.П. Головин // Осетровые на рубеже 21 века: материалы Международной конференции (Астрахань, 11–15 сентября 2000 г.).- Астрахань, 2000. – С. 299-300.

45.Головина, Н.А. Синдром дефицита энергии у карпа: его диагностика, меры профилактики и терапии [Текст] / Н.А. Головина, П.П. Головин, А.С. Ващенко, Н.А. Задорожная. - Сер. Аквакультура. Информ. пакет ВНИ-ЭРХ, 1994. - М. - Вып. 2. С. 1-12.

46.Гордиенко О.Л. Выращивание молоди осетровых на искусственных кормах [Текст] /О.Л. Гордиенко// Тр. ВНИРО. – М., 1964. – Вып. 56. – С. 61-68.

47.ГОСТ 10444.11-89. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов [Текст].- Взамен ГОСТ 10444.11.-75, введ. 1991-01-01. / Продукты пищевые, консервы. Методы микробиологического

анализа. - М.: Стандартиформ, 2010.- С. 281-294.

48.ГОСТ 10444.12-88. Продукты пищевые. Методы определения дрожжей и плесневых грибов [Текст].- Взамен ГОСТ 10444.12-75, ГОСТ 10444.13-75, ГОСТ 26888-86, введ. 1990-01-01. / Продукты пищевые, консервы. Методы микробиологического анализа. - М.: Стандартиформ, 2010.- С.295-302.

49.ГОСТ 30518-97 / ГОСТ Р 50474-93. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) [Текст].- Введ. 1994-01-01. / Консервы. Методы микробиологического анализа: Сб. ГОСТов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2002.- С. 71-77.

50.Гуртовой, Н.Н. Практическая зоотомия позвоночных [Текст] / Н.Н. Гуртовой, Б.С. Матвеев, Ф.И. Держинский. – М.: Высшая школа, 1976. – 351 с.

51.Дислер, Н.Н. Органы чувств системы боковой линии и их значение в поведении рыб [Текст] / Н.Н.Дислер. - М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1960. - 310 с.

52.Дислер, Н.Н. Развитие кожных органов чувств латеральной системы себрюги [Текст] / Н.Н.Дислер // Тр. ИМЖ АН СССР. - 1949. - В.1. - С. 338-361.

53.Дубинина, Е.Е. Выделение и свойства супероксиддисмутаза плазмы крови человека [Текст] / Е.Е. Дубинина, В.В. Туркин, Г.А. Бабенко, В.А. Исakov // Биохимия.- 1992. - Т.57, вып.12. - С.1892 - 1897.

54.Дудко, Ю.В. Оптимизация выращивания молоди себрюги *Acipenser stellatus donensis Zovetzky* при искусственном воспроизводстве [Текст] / Ю.В. Дудко. Автореф. дис...канд. биол. наук. – Астрахань, 2010. – 16 с.

55.Евтушенко Н.Ю. Применение макро- и микроэлементов в рыбководстве [Текст] / Н.Ю. Евтушенко // Рыбное хозяйство. - 1989. - №5. - С .63-64.

56.Извекова, Г.И. Гидролитическая активность ферментов симбионтной микрофлоры кишечника щуки (*Esox lucius L.*) [Текст] / Г.И. Извекова,

А.О. Плотников // Биология внутренних вод.– 2011.- № 1.– С. 79–85.

57.Извекова, Г.И. Трофические отношения в системе хозяин-паразит – симбионтная микрофлора (на примере пресноводных костистых рыб и цестод) [Текст] / Г.И. Извекова: автореф. дис. ... док. биол. наук.- Санкт-Петербург, 2006. – 52 с.

58.Ионов, П.С. Внутренние незаразные болезни крупного рогатого скота [Текст] / П.С. Ионов, А.А. Карбыш, И.И. Тарасов и др.; под. ред. П. С. Ионова. – М.: Агропромиздат, 1985. – 383 с.

59.Ипатова, О.М. Фосфоглив: механизм действия и применение в клинике [Текст] / О.М. Ипатова; под ред. акад. РАМН А.И. Арчакова. – М.: Изд. ГУ НИИ биомедицинской химии РАМН, 2005. – 318 с.

60.Карагезян, К.Г. Окислительные процессы и обмен фосфолипидов в мембранных структурах гепатоцитов при аллоксановом диабете [Текст] / К.Г. Карагезян, Л.М. Овсепян, К.Г. Адонц // Клиническая лабораторная диагностика.- 1990. № 4.– С. 10.

61.Кесельман МЛ., Милютина Н.П., Кузнецова Л.Я., Ракитский В.Н. Свободнорадикальные процессы в механизме действия и диагностике пестицидной интоксикации ихтиофауны [Текст]. Ростов н/Д, Изд-во «Гефест», 1997. - С. 120.

62.Киянова, Е.В. Физиолого-биохимической характеристика молоди русского осетра при введении в рацион кормовых антибиотиков, эубиотиков и антиоксидантов [Текст] / Е.В. Киянова. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Краснодар: Изд-во КубГАУ, 1998. – 23 с.

63.Козлов В.И. Аквакультура [Текст]/ В.И. Козлов, А.Л. Никифоров-Никитин, А.Л. Бородин. - М., 2004. - 433 с.

64.Козлов, Ю.П. Свободно-радикальное окисление липидов в биологических мембранах [Текст] / Ю.П. Козлов, В.С. Данилов, В.Е. Каган, М.В. Ситковский.- М.: МГУ, 1972.- 88 с.

65.Колояну, М. Гистологическая характеристика пищеварительной системы осетра, севрюги, шипа и белуги в связи с их экологическими особен-

ностями на ранних этапах онтогенеза [Текст] / Колояну М. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Л., 1959. – 21 с.

66. Константинов, К.Г. Биология молоди осетровых рыб Нижней Волги [Текст] / К.Г. Константинов // Тр. Саратовского отд. Каспийского филиала ВНИРО.– Саратов, 1953.– Т. 2.– С. 28-71.

67. Коржуев, П.А. Об особенностях пищеварения каспийского осетра [Текст] / П.А. Коржуев, Л.Б. Шаркова // Обмен веществ и биохимия рыб. – М.: Наука, 1967. – С. 205-209.

68. Коробейникова, Э.Н. Модификация определения перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой [Текст] / Э.Н. Коробейникова // Лабораторное дело.- 1989.- № 7.- С.8-10.

69. Коробочкина, З.С. Скот и питание молоди осетровых на Дону [Текст] / Э.Н. Коробочкина // Рыбное хозяйство.- 1951. - № 8. – С. 49-50.

70. Крепс, Е.М. Липиды клеточных мембран [Текст] / Е.М. Крепс.- Л.: «Наука», 1981. – С. 116-122.

71. Кузьмина В. В. Бактерии желудочно-кишечного тракта и их роль в процессах пищеварения у рыб [Текст] / В.В. Кузьмина, Е.Г. Скворцова// Успехи современной биологии, 2002. – Т. 122. - № 6. – С. 569-579.

72. Кушак, Р.И. Пищеварительно-транспортная система энтероцитов [Текст] / Р.И. Кушак.– Рига: Зинанте, 1983. – 304 с.

73. Лапин В.И. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб [Текст]/В.И. Лапин, М.И. Шатуновский//Успехи современной биологии, 1981.- Т.92. - №3(6). - С.380-394.

74. Ларцева Л.В. Состояние паразитофауны микрофлоры Волго-Каспийского региона на рубеже XXI века [Текст]/ Л.В. Ларцева, В.В. Проскурин. – Астрахань: Изд. КаспНИИРХ, 2003. – 79 с.

75. Лескова, Г.Ф. Роль нарушений липидного обмена в патогенезе гемморагического шока и пути их коррекции [Текст] / Г.Ф. Лескова // Успехи современной биологии. – 2001.- Т.121.- №1.- С.79-90.

76. Магомаев Ф.М. Словарь и нормативы по аквакультуре [Текст] /Ф.М.

Магомаев. Махачкала: ИД «Эпоха», 2013. – 312 с.

77.Маликова, Е.М. Биохимический состав молоди лососяпри выращивании на полноценных авитаминозных кормах [Текст] / Е.М. Маликова //Сб. научн. тр. Латв. Отд. ВНИРО. – Рига, 1957. – Вып.11. – С. 257-281.

78.Маликова, Е.М. Значение антибиотиков при искусственном выращивании молоди лососевых [Текст] / Е.М. Маликова, Н.И. Котова // Тр.ИИРХ СНХ ЛатвССР.- 1961.- Т.3.- С.431-443.

79.Маликова, Е.М. Значение стимулирующих дозировок антибактериальных веществ в искусственных кормах молоди лососевых рыб [Текст] / Е.М. Маликова // Искусственное кормление лососевых при интенсивных методах воспроизводства. Тр. БалтНИИИРХ.- Рига: Авотс, 1984.- С.126-139.

80.Марченко, А.М. Микозы рыб и причины их возникновения [Текст] / А.М. Марченко // Вопросы паразитологии и патологии рыб: Тр. Зоологического ин-та АН СССР.- Л., 1987.- Т.171.- С.82-91.

81.Мирзоева Л.М. Алиментарные болезни рыб [Текст] /Л.М. Мирзоева. - Обзорная информация ВНИЭРХ. - М., 1990. - Вып.4. - 67 с.

82.Мирзоева Л.М. Патологии рыб, вызванные дефицитом минеральных веществ [Текст] /Л.М. Мирзоева // Рыбное хозяйство. Сер. Аквакультура. Информационный пакет «Болезни рыб». – ВНИЭРХ, 1996. - Вып.2. - С.1-12.

83.Мирзоева Л.М. Содержание жира в кормах для лосося [Текст] /Л.М. Мирзоева // Рыбное хозяйство. Сер. Аквакультура. Информационный пакет «Корма и кормление рыб». – ВНИЭРХ, 1999. - Вып. 2. - С. 30-33.

84.Нагайцев, А.В. Соотношение компонентов сфингомиелинового цикла и состав липидов у больных вирусными гепатитами [Текст] / А.В. Нагайцев, С.В. Новицкий, Т.В. Новицкая, Д.А. Вавилкин, В.Ю. Серебров // Клиническая лабораторная диагностика.- 2002.- №8.– С.3-5.

85.Неваленный, А.Н. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб: [Текст] / А.Н. Неваленный, А.В. Туктаров, Д.А. Бедняков. – Астрахань: ФГОУ ВПО «Астрахан. гос. техн. ун-

т», 2003. – 152 с.

86.Окаити Т. Питание рыб и корма в рыбоводстве [Текст] / Т. Окаити, Н. Хасимото; Перевод с японского яз.. – Токио: Изд-во Токийский ун-т, 1968. – 207 с.

87.Олехнович, В.М. Особенности перекисления липидов и антиоксидантных функций при аллергических и инфекционных поражениях бронхолегочной системы у детей [Текст] / В.М. Олехнович, В.П. Сорогин, С.В. Жогин и др. // Механизмы регуляции обмена веществ в норме и патологии: сб. научн. тр. - Свердловск, 1982. - с.11-14.

88.Орлинский Б.С. 1984. Добавки и премиксы в рационах [Текст] / Б.С. Орлинский. - М.: Россельхозиздат, 1984. - 173 с.

89.Остроумова, И.Н. Биологические основы кормления рыб [Текст] / И.Н. Остроумова.- С.-Пб: ГосНИОРХ, 2001. – 373 с.

90.Остроумова, И.Н. Потребность рыб в белке и ее особенности у личинок в связи с этапами развития пищеварительной системы [Текст] / И.Н. Остроумова. // Сборник научных трудов ГосНИОРХ «Вопросы физиологии и кормления рыб». Л.: Промрыбвод, 1983. - Вып. 194. - С. 3-19.

91.Павлов, Д.С. Роль органов чувств при питании осетровых рыб [Текст] / Д.С. Павлов, Ю.Н. Сбикин, И.К. Попова // Зоологический журнал.- 1970. – Т. 49, Вып.6.– С. 872-880.

92.Пат. 2310338 Российская Федерация, МПК А 23к 1/16. Кормовая добавка для рыб [Текст] / Абросимова Н.А, Абросимов С.С.; заявитель и патентообладатель Азовский науч.-исслед. ин-т рыбного хозяйства.- № 2005140217; заявл. 22.12.2005; опубл. 20.11.2007. Бюл. № 32. - 5 с.

93.Пегасов В.А. Опыт по переводу молоди бестера и белуги на искусственные корма [Текст] /В.А. Пегасов// Рыбное хозяйство, 1980. - № 6. – С.39-41.

94.Петрусевиц Ю.М. Сверхслабые свечения в биологии [Текст] / Ю.М. Петрусевиц, Г.В. Коссова, О.Р. Кольс. - М.: Наука, 1972.- 133 с.

95.Петрухин, И.В. Корма и кормовые добавки [Текст] / И.В. Петрухин.

- М.: Росагропромиздат, 1989. - 526 с.

96.Плотников Г.К. Активность пищеварительных ферментов у осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза [Текст] / Г.К. Плотников: автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Краснодар, 1984. - 21 с.

97.Плотников, Г.К. Пищеварительные ферменты осетровых на ранних стадиях онтогенеза [Текст] / Г.К. Плотников, М.Г. Проскуряков // Ж. эволюц. биохим. и физиолог. - 1984. - Т.20, № 1.- С.21-25.

98.Полянинова, А.А. Питание разновозрастных групп осетровых в Северном Каспии [Текст] / А.А. Полянинова, В.А. Пестриков // Тез. отчетной сессии ЦНИОРХ. – Астрахань, 1974. – С. 122-123.

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

100.Пономарев, С.В. Каротиноиды в аквакультуре осетровых рыб [Текст] / С.В. Пономарев, Е.Н. Пономарева.– Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2010. – 148 с.

101.Пономарёв, С.В. Осетроводство на интенсивной основе [Текст] / С.В. Пономарев, Д.И. Иванов. - М.: Колос, 2009. - 312 с.

102.Савчук, М.Я. Питание осетровых рыб при современном режиме Азовского моря [Текст] / М.Я. Савчук // Тр. ВНИРО. – 1975. – Т.109. – С.161-181.

103.Садов, И.А. Влияние условий инкубации икры на развитие молоди осетра и севрюги [Текст] / И.А. Садов // Тр. ИМЖ АН СССР. – 1951. – В. 5. – С. 126-146.

104.Саутин, Е.Ю. Проблема регуляции адаптационных изменений липогенеза, липолиза и транспорта липидов у рыб [Текст] / Е.Ю. Саутин // Успехи современной биологии.– 1989.– Вып. 1.- С. 131.

105.Сбикин, Ю.Н. Онтомоторная реакция и некоторые особенности зрения молоди осетровых рыб сем. Acipenseridae [Текст] / Ю.Н. Сбикин // Вопросы ихтиологии.- 1981. - № 21, В.1. – С.174-177.

106.Сергеева, Н.Т. Биохимия витаминов и минеральных элементов [Текст] / Н.Т. Сергеева.- Калининград: Изд-во КГТУ, 1998.- 122 с.

107.Сидоров, В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды [Текст] / В.С. Сидоров.- Л.: Наука, 1983.- 240 с.

108.Сорвачев, К.Ф. Основы биохимии питания рыб [Текст] / К.Ф. Сорвачев.- М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1982.- 247 с.

109.Сорокин, В.В. Нормальная микрофлора кишечника животных [Текст]/ В.В. Сорокин, М.А. Тимошко, А.В. Николаева. – Кишинев:Щтиинца, 1973. – 78 с.

110.Субботин, В.М. Современные лекарственные средства в ветеринарии: серия «Ветеринария и животноводство» / В.М. Субботин, С.Г. Субботина, И.Д. Александров. - Ростов-на-Дону: Изд-во «Феникс», 2001. – 600 с.

111.Судакова, Н.В. Повышение рыбоводно-биологической эффективности выращивания осетровых рыб путем применения пробиотиков [Текст] / Н.В. Судакова, Е.И. Балакирев, Д.А. Мордовцев, И.В. Бурлаченко // Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана:мМатериалы международн. науч-практич. конф.- М.: ВНИРО, 2005.- С.130-131.

112.Топарская, В.Н. Физиология и патология углеводного липидного и белкового обмена [Текст] / В.Н. Топарская.- М.: Медицина, 1970.- 249 с.

113.Трепшене, О.П. Синтез витаминов и свободных аминокислот микроорганизмами пищеварительного тракта карпа [Текст] / О.П. Трепшене, В.Н. Лубянскене, Я.С. Шивокене // 9 конфер. молодых ученых Молдавии: тез. докл. и сообщ.- Кишинев, 1975.- С.202.

114.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 [Текст] // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб: расширенные материалы Всерос. научно-практич. конф.- М., 2004.- С.528-534.

115.Уголев А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция

[Текст] / А.М. Уголев.- М.: Высшая школа, 1961.- 306 с.

116.Уголев А.М. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб [Текст] / А.М. Уголев, В.В. Кузьмина.- СПб.: Гидрометеоиздат, 1993. - 240 с.

117.Уголев, А. М. Естественные технологии биологических систем [Текст] / А.М. Уголев. - Л.: Наука, 1987. - 317 с.

118.Уголев, А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций: элементы современного функционализма [Текст] / А.М. Уголев. - Л.: Наука, 1985.- 544 с.

119.Уголев, А.М. Организация и регуляция процессов мембранного пищеварения и транспорта [Текст] / А.М. Уголев // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова.- 1970.- Т.56, №4.- С. 651-662.

120.Цирульская, З.И. Включение в корма микроэлементов для улучшения роста [Текст] / Цирульская З.И., Люкшина В.Д. // Сб. науч. тр. - М.: Изд-во ЦНИИОРХ, 1981. - № 176. - С. 151-154.

121.Чахава, О.В. Микробиологические и иммунологические основы гнотобиологии [Текст] / О.В. Чахава, Е.М. Горская, С.З. Рубан.- М.: Медицина, 1982.-160 с.

122.Шевченко, В.Н. Стартовая кормосмесь для бестера [Текст] /В.Н. Шевченко, Т.А. Ноякшева/ Рациональные основы ведения осетрового хозяйства: тез. докл. науч.-практ. конф. – Волгоград, 1981. – С. 255-256.

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

124.Шмальгаузен, О.И. Развитие пищеварительной системы осетровых [Текст] / О.И. Шмальгаузен // Морфо-экологические исследования развития рыб. – М.: Изд-во АН СССР, 1968. – С.40-70.

125.Шталь, Э. Хроматография в тонких слоях [Текст] / Э. Шталь.- М.: Мир, 1965. - 633 с.

126.Шульман, Г. Е. Докозагексаеновая кислота и ненасыщенность липидов у рыб [Текст] / Г.Е. Шульман, Т.В. Юнева // Гидробиологический журнал.-1990.-Т. 26, № 6.- С.50-55.

126.Щербакова, Г.Г. Внутренние незаразные болезни [Текст] / Г.Г. Щербакова, А.В. Колосова. – СПб.: Издательство "Лань", 2002.- 736 с.

128.Щербина, М.А. Искусственные корма и технология кормления основных объектов промышленного рыбоводства [Текст] / М.А. Щербина, Н.А. Абросимова, Н.Т. Сергеева. - Ростов-на-Дону, 1985.- 47 с.

129.Щербина, М.А., Кормление рыб в пресноводной аквакультуре [Текст] / М.А. Щербина, Е.А. Гамыгин.– М.: Изд-во ВНИРО, 2006.– 360 с.

130.Юхименко, Л.Я. 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.

131.Яржомбек А.А. Минеральные добавки и премиксы к кормам радужной форели [Текст]/ А.А. Яржомбек, А.Н. Канидъев, Н.Ф. Шмаков// Вопр. ихтиологии, 1986. - Т. 26. Вып. 3, -С - 488-493.

132.Abrosimova, N. Prevention of Tympanism in young sturgeon reared under intensive system of production [Text] / N. Abrosimova, K. Abrosimova// Aquaculture Europe- 2014, October 14-17. Spain, Donostia-San Sebastian. 2014. -P. 22-23.

133.Abrosimova, X. Specificities of symbiotic digestion in young sturgeons *Acipenser guldensadtii* Brand [Text] / X. Abrosimova // World Aqua-2006 (May 9-13, Firenze, Italy). 2006. - P 8.

134.Bell M.V. The role of polyunsaturated fatty acids in fish [Text] / M.V. Bell, R.J. Henderson, J.R. Sargent// Comp. Biochem. Physiol., 1986. – 83B. - P. 711-719.

135.Castell J.D. Review of lipid requirement of finfish [Text] / J.D. Castell // FI FAC /FAO Symposium of finfish nutrition and feed technology, Hamburg, Germany, 20-23 June 1978.- Berlin, 1979. - P.1-40.

136.Castell, J.D. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Lipid metabolism and fatty acid composition [Text] / J.D. Castell, D.J.Lu, R.O. Suinhubes // J. Nutr.- 1972.- B.102.- P. 93-100.

137.Dabrowski K. Content of total and free amino acids in zooplanktonic food of fish larvae [Text] / K. Dabrowski, M. Rusiecki// Aquaculture, 1983. - N 1-4. - P. 31-42.

138.Desmettre, Ph. L'Ecosysteme digestif [Text] / Ph. Desmettre, I. Auda // Rev. med. vet. Frans.- 1974.- Vol.125, N 1.- P.27-44.

139.Fluchter, I. Review of the present knowledge of rearing white fish larvae [Text] / I. Fluchter // Aquaculture. - 1980.- V. 19.- P. 191-208.

140.Folch, J. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [Text] / J. Folch, M. Less, K. Sloane, Z.A. Stanley // J. Biol. Chem.- 1957. – Vol. 226, N 1. – P. 497-510.

141.Ghosh, S. Lipid biochemistry: functions of glycerolipids and sphingolipids in cellular signaling [Text] / S. Ghosh, J.C. Strum, R.M. Bell // FASEB J.- 1997. -V.11.- P. 45-50.

142.Golovin, P.P. Candidomycosis in young fish [Text] / P.P. Golovin, N.A. Golovina // Diseases of fish and shell fish: Intern. Conf. (Spain, 10-15 September, 1995).- P.31.

143.Halver, J.E. The vitamins required for cultivated salmonids [Text] / J.E. Halver // Comp. Biochem. Physiol, 1982. - 73B. - P. 43-50.

144.Halver, J.E. Protein requirements for sockeye salmon and rainbow trout [Text] / J.E. Halver, L.S. Bates, E.T. Mertz // Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 1964. - V. 23. - P. 1778.

145.Hamid, A. Microflora in the alimentary tract of gray mullet. 2. A comparison of the mullet interstitial microflora in fresh and sea water [Text] / A. Hamid, T. Sakata, D. Kakimoto // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1978.- Vol.44, N 1.- P.53-57.

146.Hannum, Y. A. The sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide [Text] / Y.A. Hannum // J. Biol. Chem.,1994.- V.269.- P. 3125-3127.

147.Kanazawa, A. Essential fatty acid and lipid requirement of fish [Text] / A. Kanazawa // Fish feeding and Nutrition. Academic Press, London, 1985. - P.

280.

148.Kawai, S. Studies on digestive enzymes of fishes. III. Development of the digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage [Text] / S. Kawai, S. Ikeda // Bull. Jap. Soc. Scio Fish.- 1971.- Vol. 39, N 7.- P. 819–823.

149.Ketola G.H. Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets [Text]/ G.H. Ketola // Comp. Biochem. Physiol., 1982.- V.73B, N 1.- P.17-24.

150.Lee, A. Normal flora of animal intestinal surfaces // Absorption of microorganisms to surfaces [Text] / Ed. by G. Bitton, K.C. Marshall. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley et Sons. N.Y. Chichester, Brisbane; Toronto, 1980. Ch.. 5. - P. 145-174.

151.Mattheis, T. Ökologie der Bakterien im Darm von Süßwassernutzfischen (1. Familie Pseudomonadaceae, Gattung Pseudomonas) [Text] / T. Mattheis // Z. Fisch.- 1964. – Bd.12. – S.507-536.

152.Nose T. Summary report on the requirement of essential amino acids for carp [Text] / T. Nose // Fish Nutrition and Fishfeeding Technol. Proc. World Symp. Hamburg, 1978, 1. Berlin, 1979. - P. 145-154.

153.Nose T. Recent advances in studies on mineral nutrition of fish in Japan [Text] / T. Nose, S. Arai // In: T. V. R. Pillay and W.A. Dill (Editors), Advances in Aquaculture. Fishing News Books. Ltd., Farnham, Surrey, 1979. - P. 584-590.

154.Okutani, K. Studies on chitin decomposing bacteria present in the digestive tract of aquatic animals [Text] / K. Okutani, H. Kitada // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1968.- Vol. 34, N 12.- P. 1141-1146.

155.Okuzumi, M. Studies on the bacterial flora in the intestines of various marine fish [Text] / M. Okuzumi, S. Horie // Ibid.- 1969.- Vol. 35, P. 93-100.

156.Richter-Otto, W. Zur Methodik von Darmflora Untersuchungen [Text] / W. Richter-Otto, M. Fehrmann // Ernährungstorschung.- 1956. -V.1.- N 3. -S. 584-586.

157.Savadge, D.C. Colonization by and Survival of pathogenic bacteria on

intestinal mucosal surfaces // Absorption of microorganisms to surfaces / Ed. by G. Bitton, K.C. Marshall. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley et Sons. N.Y. Chichester, Brisbane; Toronto, 1980. Ch.6. – P. 175-206.

158.Sugita, H. Bacterial flora in the gastrointestinal of *Tilapia nilotica* [Text] / H. Sugita, Y. Ishida, Y. Deguchi // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.- 1982.- V.48, N 7.- P. 987-991.

159.Tacon A.G.J. Protein and amino acid requirement [Text] / A.G.J. Tacon, C.B. Cowey// In: P. Tytler and P. Calow, Fish energetics. New perspectives. Croom Helm, Londres, Sydney, 1985. - P. 155-183.

160.Takeuchi, T. Requirement of eel *Anguilla japonica* for essential fatty acids [Text] / T. Takeuchi, S. Arai, T. Watanabe **et al.** //Bull. Jap. Soc. Sci Fish, 1980. - 46 B. - P. 345-353.

161.Takeuchi T. Requirement of carp for essential fatty acids [Text] / T. Takeuchi, T. Watanabe// Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1977a. - 43 B. - P. 541-551.

162.Takeuchi T. Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement of rainbow trout [Text] / T. Takeuchi, T. Watanabe // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1977b. – 43 B. - P. 893-898.

163.Takeuchi T. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in pollock liver oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout [Text] / T. Takeuchi, T. Watanabe// Bull. Japan. Soc. Sci. Fish, 1977b. - N 9. - P. 947-953.

164.Taylor, S.L. Sensitive Fluorometric Method for Tissue Tocopherol analysis [Text] / S.L. Taylor, M.P. Lamden, A.L. Tappel // Lipids.- 1980.- V.10.- N.6.- p.407-412.

165.Watanabe T. Lipid nutrition of fish [Text] / T. Watanabe // Comp. Biochem. Physiol.- 1982. - 73B. – N 1. - P. 3-15.

166.Wilson R.P. 1984. Quantitative amino acid requirements for channel catfish [Text] / R.P. Wilson//VI Int. Symp. Prot. Metabol. and Nutrition. Clermont-Ferrand, France, 1984. - P. 5-9.

167.Wilson R. 1989. Amino acids and protein [Text] / R.P. Wilson // In:

Halver J.E. ed., Fish nutrition., 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, San Diego (USA), 1989. - P. 111-151.

168. Yang, Jeun-Sing. Rapid reliable method for measuring serum lipase activity [Text] / Jeun-Sing Yang, H.J. Biggs // Clin. Chem. -1971.- V.17.- N 6.- p. 512- 518.

169. Yasuhira, Kono. Generation of Superoxid radical during Antioxidation of Hydroxylamine and assay for SOD [Text] / Kono Yasuhira // Biochemistry and Biophys., 1983.- V. 186.- N 6.- P. 119-195.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

## Приложение 1

Таблица 1

**Состав общих липидов молоди бестера в процессе экспериментального кормления, % общих липидов**

Жирные кислоты	Начальные стадии тимпании						Контроль	
	1-я		2-я		3-я			
	1	2	1	2	1	2	1	2
ТАГ	51.4±1.6*	48.5±0.6	56.2±1.5*	48.5±0.7	47.8±1.7	48.4±0.9	45.8±0.8	45.4±0.6
ФЛ	25.7±0.5	29.7±0.5	18.0±0.6*	27.0±0.4	21.6±0.7	26.8±0.5	31,7±0.5	32.3±0.5
ХС	8.8±0.2*	9.4±0.1	9.2±0.3	10.1±0.2	10.6±0.3	10.2±0.4	9.6±0.2	9.8±0.2
ЭХС	6.0±0.3	6.2±0.07	6.4±0.06	6.6±0.5	7.7±0.1	6.3±0.1	6.2±0.2	6.5±0.3
МАГ	1.8±0.2*	1.4±0.1	2.1±0.12*	1.8±0.2	2.3±0.2*	1.6±0.1	1.0±0.1	1.1±0.1
ДАГ	2.6±0.1*	1.9±0.1	2.8±0.1*	2.4±0.1	2.8±0.2*	2.5±0.2	1.9±0.1	1.7±0.1
НЭЖК	3.7±0.2	3.0±0.07	5.2±0.1*	3.6±0.2	7.1±0.3*	4.2±0.2	3.8±0.2	3.2±0.1

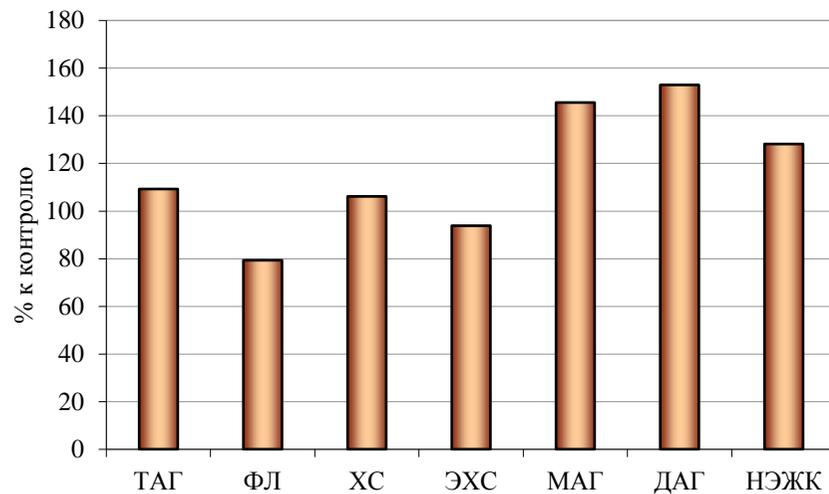
Таблица 2

**Состав фосфолипидов молоди бестера в процессе лечебного кормления, % суммы фосфолипидов**

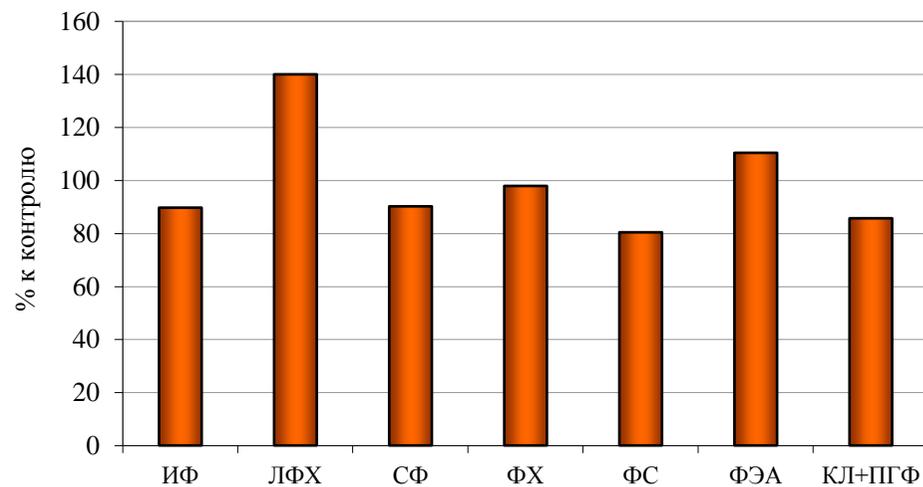
Жирные кислоты	Начальные стадии заболевания						Контроль	
	1-я		2-я		3-я			
	1	2	1	2	1	2	1	2
ИФ	1.9±0.1*	2.0±0.2	1.2±0.2*	1.8±0.2*	0.7±0.05*	1.5±0.13*	2.7±0.15	2.9±0.2
ЛФХ	2.1±0.04*	1.9±0.07	3.4±0.1*	2.8±0.1*	4.8±0.4*	3.6±0.4*	1.7±0.1	1.5±0.1
СМ	6.7±0.2	6.5±0.2	8.1±0.2	6.8±0.2	10.2±0.6*	8.1±0.5	5.8±0.3	6.1±0.3
ФХ	52.3±1.7	53.4±1.5	48.2±1.5	52.4±0.9	42.6±2.2	49.3±1.9	56.2±0.7	57.3±0.9
ФС	5.6±0.3	6.6±0.2	3.6±0.6	6.2±0.3	3.0±0.3	4.2±0.3	6.4±0.3	5.8±0.3
ФЭА	30.8±0.3	29.0±0.4	35.2±0.6	29.6±0.7	38.6±0.5	33.0±0.4	26.4±0.4	25.9±0.4
КЛ+ПГФ	0.5±0.01	0.5±0.04	0.3±0.01	0.4±0.01	0.1	0.3±0.01	0.8±0.04	0.7±0.04

Примечание: 1 – до лечения, 2 – здоровые после лечения; \* - различия достоверны (P<0,05)

## Приложение 2



**Рис. 1. Состав общих липидов молоди бестера  
после 2 курса кормления, % к контролю  
(контроль принят за 100 %)**



**Рис. 2. Состав фосфолипидов молоди бестера  
после 2 курса кормления, % к контролю  
(контроль принят за 100 %)**

## Приложение 3

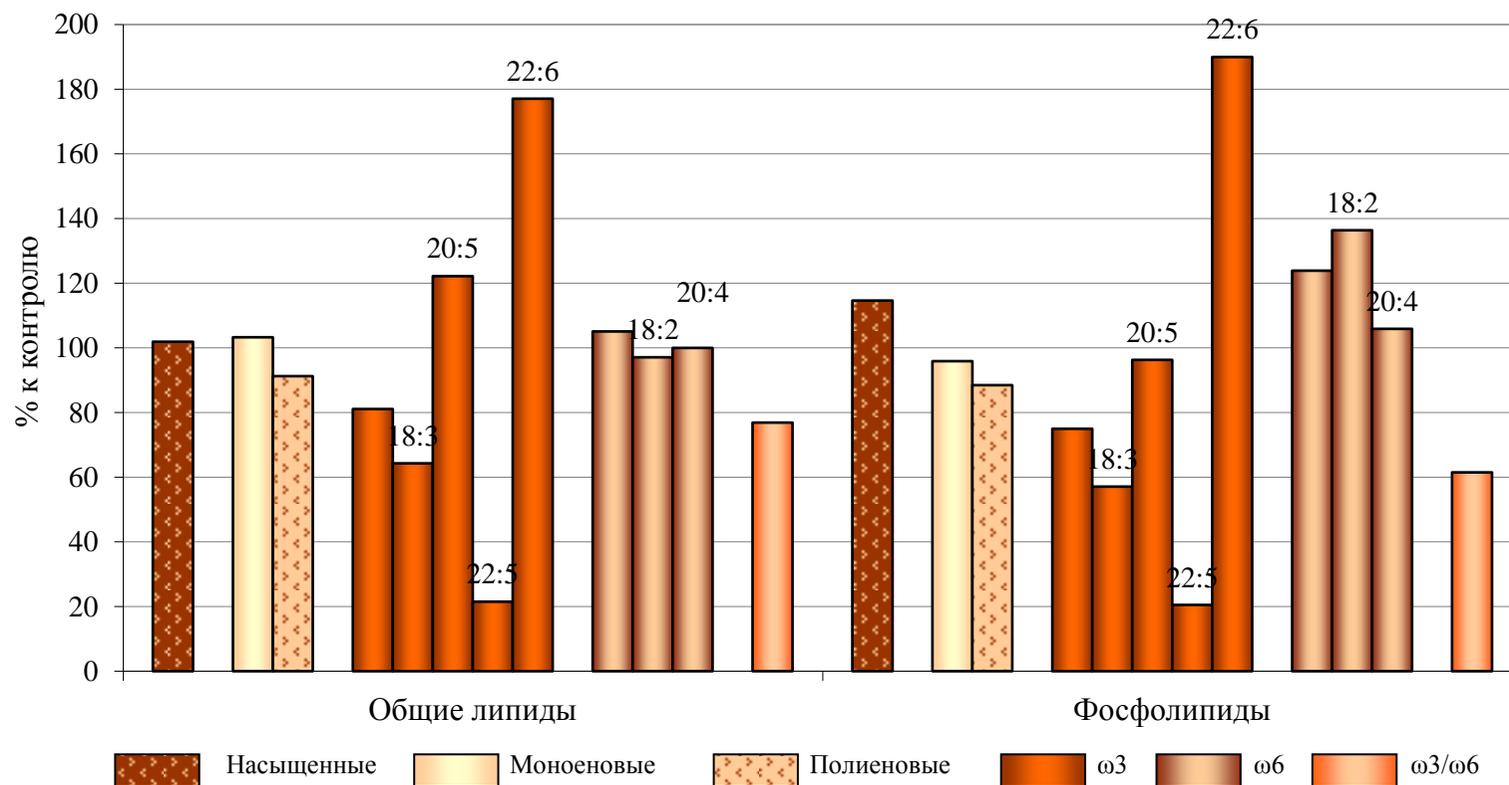


Рисунок 3. Жирнокислотный состав молодежи бестера после 2 курса лечебного кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %)

## Приложение 4

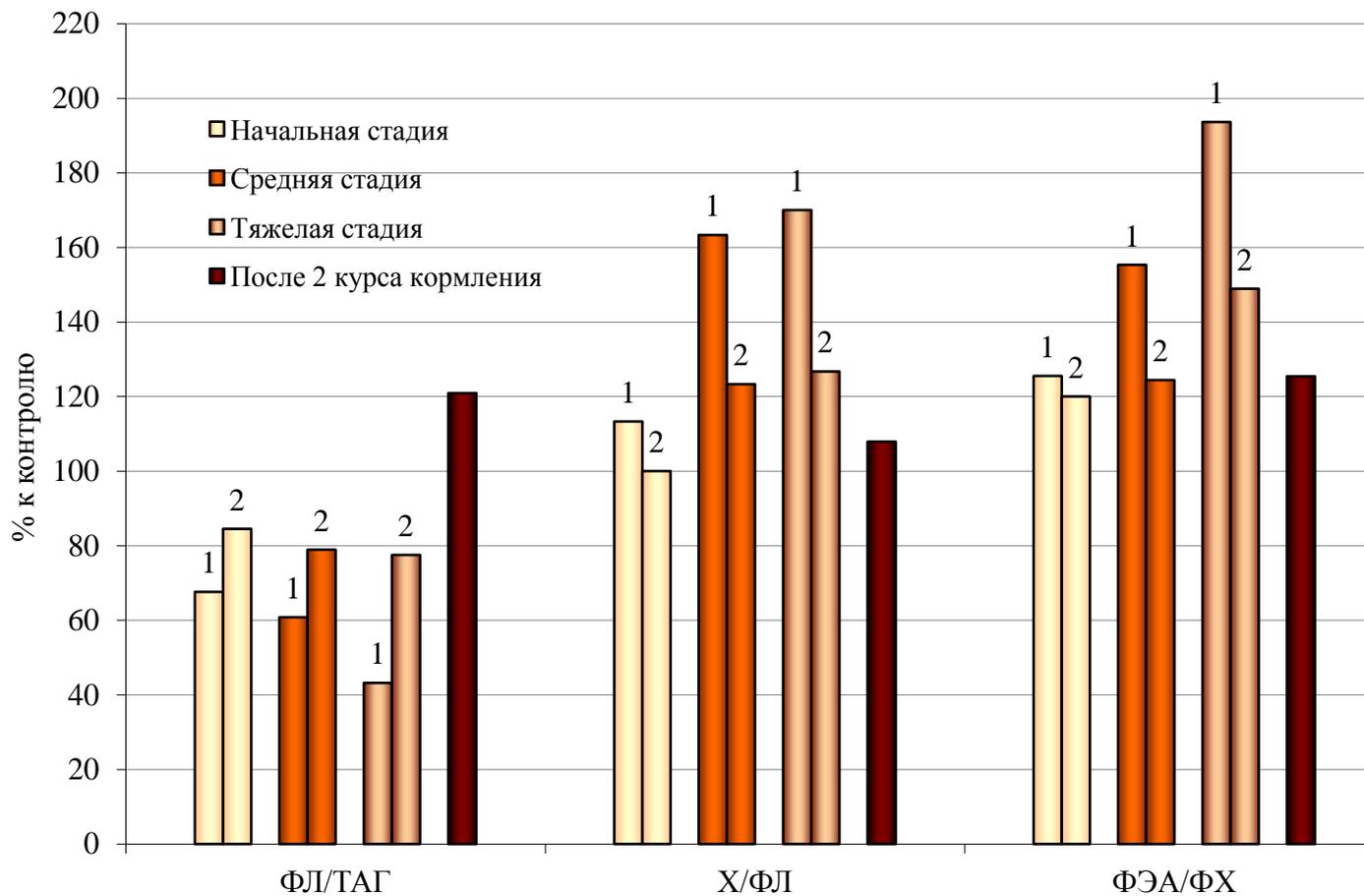
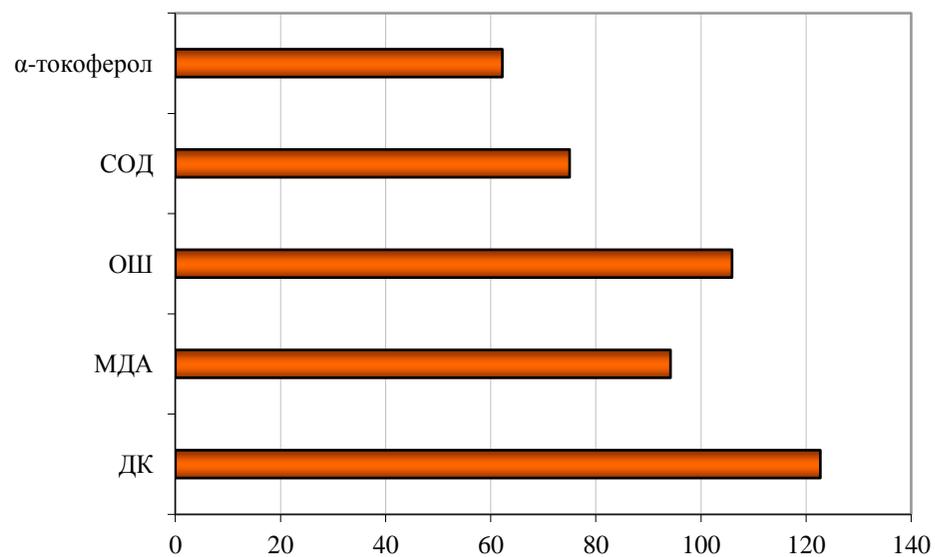


Рисунок 4. Показатели липидного и энергетического обмена молодежи бестера до (1) и после (2) 2 курса экспериментального кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %):

## Приложение 5



**Рисунок 5. Уровень гидроперекисей и антиоксидантов молоди бестера после 2-го курса лечебного кормления, % к контролю (контроль принят за 100 %)**

## **Глоссарий основных сокращений, понятий и терминов, использованных в диссертационной работе**

СИМБИОТНОЕ ПИТАНИЕ – взаимополезное участие кишечных микроорганизмов в пищеварении рыб.

КК - кормовой коэффициент (затраты кормов на единицу прироста).

ТАГ - триацилглицериды – запасные липиды, главный энергетический резерв организма.

ХС - холестерин, вместе с ФЛ и белками обеспечивает избирательную проницаемость клеточной мембраны и оказывает регулирующее влияние на состояние мембраны.

ЭХС - эфиры холестерина.

МАГ - моноацилглицериды, служат предшественниками триглицеридов (ТАГ) и многих фосфолипидов, характеризуют направленность липидного обмена.

ДАГ - диацилглицериды, служат предшественниками триглицеридов (ТАГ) и многих Фосфолипидов, наряду с МАГ характеризуют направленность липидного обмена.

НЭЖК - неэстерифицированные жирные кислоты, источник ресинтеза в ТАГ, частично – источник энергии.

ФЛ - фосфолипиды – мембранные липиды, составляют периферическую липидную оболочку клеток.

ИФ – инозидфосфатиды.

ЛФХ – лизофосфатидилхолин.

СФМ – сфингомиелин.

ФХ - фосфатидилхолин - основной липидный компонент биологических мембран.

ФС – фосфатидилсерин.

ФЭА - фосфотидилэтанололамины - наряду с ФХ основные липидные компоненты биологических мембран.

КЛ+ПГФ - кардиолипиды+полиглицерофосфатиды.

ПОЛ - перекисное окисление липидов, универсальный механизм повреждения мембранных структур клетки при патологиях и экстремальных факторах.

ДК - диеновые конъюгаты, первичные продукты ПОЛ.

МДА - малоновый диальдегид, вторичные продукты ПОЛ.

ОШ - конечные продукты ПОЛ.

СОД - супероксиддисмутаза, естественный антиоксидантный фермент организма.

ФЛ/ТАГ - фосфолипидно-триацилглицериновый коэффициент, характеризует липидный и направленность энергетического обмена.

ХС/ФЛ - коэффициент Дьёрдии (отношение холестерина к фосфолипидам), характеризует состояние мембран клеток.

ФЭА/ФХ - фосфатидилэтаноламинно-фосфатидилхолиновый коэффициент, характеризует состояние энергетического обмена.

ЛИПАЗА, ФОСФОЛИПАЗА А – ферменты класса гидролаз.

ЭССЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛИНАНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ - не синтезируются в животной клетке, обеспечивается поступлением с пищей