

БУНЬКОВА СОФЬЯ ИЛЬЯСОВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АКВАПУРИНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И
ЭКСТЕРЬЕРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОСЕТРОВ**

06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Новосибирск – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ
Ноздрин Григорий Антонович

Официальные оппоненты: **Татарникова Наталья Александровна**
доктор ветеринарных наук, профессор,
зав. кафедрой инфекционных болезней
ФГБОУ ВО «Пермский государственный
аграрно-технологический университет им.
академика Д. Н. Прянишникова»

Семенихина Наталья Михайловна
кандидат ветеринарных наук, старший
научный сотрудник, НИИ Биологической
медицины ФГБОУ ВО «Алтайский
государственный университет».

Ведущая организация: ФГБОУ ВО Уральский государственный
аграрный университет

Защита состоится «24» декабря 2018 г. в 09⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 999.215.02 при ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, зал заседаний учёного совета. Тел./факс: 8 (383) 267-09-07, E-mail: nsau999.215.02@mail.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Новосибирский ГАУ» и на официальном сайте <http://www.nsau.edu.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета

Горб Наталья Николаевна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Количество осетров в мире резко уменьшается (Бондарев И. Э. с соавт., 2006; Бурцев И. А. с соавт., 2007; Алымов Ю. В., 2010-2011). Промысел осетров в нашей стране не ведется с 2006 г. В настоящее время, когда ситуация с осетровой продукцией стала критической товарное осетроводство – единственный путь решения серьезной проблемы насыщения рынка экологически чистой деликатесной продукцией (Привезенцев Ю. А. с соавт., 2004; Raymarkers С., 2006; Новосадов А. Г. с соавт., 2008; Алымов Ю. В. с соавт., 2009; Будниченко В. А., 2010; Юсупова А. З., 2014). В последние годы в Российской Федерации развитие товарного выращивания осетровых набирает обороты. Одной из основных проблем рыбоводства является увеличение заболеваемости рыб и снижение эффективности лечения в связи с увеличением количества устойчивых к антибиотикам штаммов болезнетворных микроорганизмов, в результате чего эффективность ряда антибиотиков резко снижается (Perdigon G., et al., 2001; Reid G., 2002; Паромова Я. И., 2010; Головин П. П. с соавт., 2011). Возникает необходимость применения новых более эффективных средств – пробиотиков. В отличие от антибиотиков пробиотики не оказывают негативного воздействия на биофильтр и находят широкое применение в рыбоводстве (Кулаков Г. В., 2003; Панасенко В. В., 2006; Иванова А. Б. с соавт., 2012). Особый интерес вызывает применение препаратов на основе штаммов, выделенных от рыб – гомобиотиков в рыбоводстве, так как в изученных нами литературных источниках не установлено наличие работ по применению гомобиотиков в Российской Федерации. В этой связи актуальность темы по изучению нового гомобиотика в основу которого входит *B. siamensis* не вызывает сомнений.

Мы проводили исследования нового гомобиотика аквапурина, в основу препарата входит *Bacillus siamensis* IC 1470-1. Гомобиотик разработан в ООО Научно-производственной фирме «Исследовательский центр», наукоград Кольцово.

Степень разработанности темы. В настоящее время пробиотические препараты (в том числе разработанные в НПФ «Исследовательский центр») широко применяют с профилактической целью в животноводстве. Несмотря на активное развитие рыбоводной отрасли имеются лишь единичные работы по применению пробиотиков при выращивании рыб. Аквапурин – новый пробиотический препарат. Исследования аквапурина проводились впервые.

Цель и задачи исследования. Цель: изучение острой и хронической токсичности аквапурина и его действия на физиологические и экстерьерные показатели осетров.

Задачи исследования:

1. определить острую и хроническую токсичность аквапурина на мышцах и цыплятах;
2. установить влияние аквапурина на интенсивность роста сеголеток и годовиков 2+ осетра;
3. изучить влияние препарата на экстерьерные показатели осетров;

4. определить влияние аквапурина на физиологический статус организма рыб;

5. установить влияние аквапурина на микробиоценоз осетров и воды в аквариуме.

Научная новизна. Впервые изучена острая и хроническая токсичность пробиотического препарата аквапурин и установлено, что препарат относится к IV классу токсичности. Разработаны и изучены в динамике различные схемы и дозы препарата и впервые определена оптимальная схема и доза применения пробиотика с профилактической целью для сеголеток и годовиков 2+ осетра сибирского. Впервые дано научное обоснование применения препарата в осетроводстве. Определено позитивное влияние препарата и отсутствие побочных отрицательных эффектов на организм сеголеток и годовиков 2+ осетра. Экспериментально установлено, что применение аквапурина в рыбоводстве способствует повышению интенсивности роста сеголеток и годовиков 2+ осетра. При применении препарата сеголеткам в дозе 10 мкл/кг, а годовикам в дозе 20 мкл/кг абсолютная масса сеголеток и годовиков 2+ осетра за опытный период превышает данный показатель аналогов из контроля на 4,8 и 8,8 %, относительный прирост на 15,6 и 26,5 %, среднесуточный прирост на 31,4 и 22,6 % соответственно. Установлена целесообразность применения препарата для улучшения экстерьерных показателей сеголеток и годовиков 2+ осетра. Аквапурин стабилизирует биохимические показатели сыворотки крови. Препарат изменяет микробиоценоз в организме осетров и воде аквариума.

Теоретическая и практическая значимость работы. Определен класс токсичности препарата аквапурин. Получены новые данные по фармакодинамике гомобиотика на организм осетровых. Результаты исследований могут быть использованы в промышленном рыбоводстве для повышения жизнестойкости и продуктивности рыб. По результатам исследования выпущены «Рекомендации по применению пробиотического препарата Аквапурин на стадии клинических исследований в осетроводстве» рассмотренные и утвержденные на заседании научно-технического совета Научно-производственной фирмы «Исследовательский центр». Протокол № 4 от 07.06.2016 года. Результаты исследований внедрены в учебный процесс в ФГБОУ ВО Новосибирского ГАУ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Область диссертационных исследований соответствует формуле специальности 06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией, а именно п. 3. Исследование фармакологического действия лекарственных веществ на желудочно-кишечный тракт, органы и ткани животных; п. 7. Исследование зависимости фармакологического действия лекарственных средств от их дозы, формы применения и метода введения; п. 8 Токсичность лекарственных веществ для животных и характер их побочного действия, разработка показаний и противопоказаний для применения в ветеринарной практике, а также методов устранения побочных эффектов.

Методология и методы исследования. При проведении исследований использовали стандартные физикальные, микробиологические, зоотехнические,

морфометрические и гематологические методы исследований. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием стандартной программы Microsoft Excel.

Статистическая обработка и анализ материалов клинико-экспериментальной работы выполнены на кафедре фармакологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Новосибирского государственного аграрного университета».

Опыт по определению острой и хронической токсичности препарата аквапурин проводился в ООО НПФ «Исследовательский центр», при участии заведующей лабораторией биотехнологического контроля, кандидата биологических наук, Лемяк Анастасии Александровны, научно-производственный опыт проводился на сеголетках и годовиках 2+ осетра – на базе ООО «Новосибирского рыбзавода».

Положения, выносимые на защиту.

1. Аквапурин не обладает токсическим эффектом. Препарат безопасен при применении в дозах 45; 75 и 150 мкл/кг. По токсикологической классификации аквапурин относится к IV классу токсичности (малотоксичные препараты).

2. Микробиоценоз кишечника и воды в аквариумах сеголеток и годовиков 2+ осетра изменяется под влиянием аквапурина.

3. Препарат оказывает положительное влияние на физиологический статус, экстерьерные показатели и интенсивность роста осетров.

Степень достоверности и апробации работы. Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на внутривузовской конференции по иностранному языку в г. Новосибирске в 2014 г.; внутривузовской конференции факультета ветеринарной медицины в г. Новосибирске в 2014-2016 гг.; конференции на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых учёных высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства России на I, II и III этапе конкурса в г. Новосибирске, Омске и Санкт-Петербурге в 2014 году; конференции на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых учёных высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства России на I, II и III этапе конкурса в г. Новосибирске и Санкт-Петербурге в 2015 году; на интеллектуальной игре форсайт в институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока с участием резидентов технопарка Академгородка в г. Новосибирске в 2015 году, на конкурсе «У.М.Н.И.К. – 2015» технопарка Академгородка в г. Новосибирске в 2015 году, на заседании научно-технического совета ООО НПФ «Исследовательский центр» в наукограде Кольцово 2015-2016 годах.

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 9 научных статей, 2-в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; 1-в журнале, включенном в единую международную реферативную базу данных Scopus (Indian Journal of Science and Technology).

Структура и объем диссертации. Диссертация включает в себя

введение, обзор литературы, собственные исследования, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение, выводы, предложения и список использованной литературы. Изложена на 164 страницах, иллюстрирована 40 таблицами и 14 рисунками. Список литературы состоит из 264 источников, в том числе 51 иностранных авторов.

Благодарности. Автор выражает благодарность д-ру биол. наук, профессору, зав. кафедрой биологии, биоресурсов и аквакультуры БТИ НГАУ Морузи И. В. за ценные консультации в области рыбоводства, канд. биол. наук, заведующей лабораторией биотехнологического контроля Леляк А. А. за консультации по проведению микробиологических исследований.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

Объекты исследования – гомобиотик аквапурина, мышцы, цыплята, сеголетки и годовики 2+ осетра. Предметы исследования- вода из аквариума, фекалии, сыворотка крови, кровь.

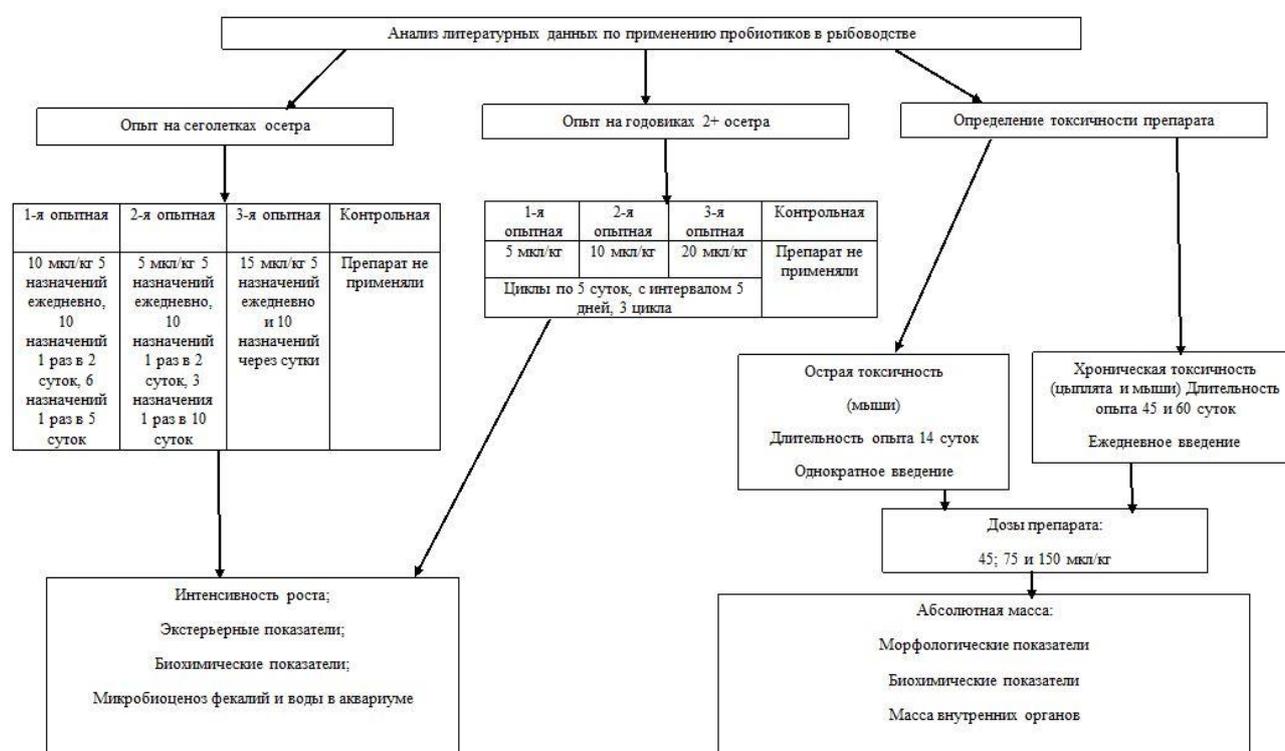


Рис. 1. – Алгоритм проведения опытов

На рисунке 1 представлен алгоритм проведения опытов на сеголетках и годовиках 2+ осетра, а также схема определения острой и хронической токсичности на мышях и цыплятах.

Объем исследований проведенный в процессе изучения действия аквапурина представлен в таблице 1.

Эффективность действия аквапурина на сеголеток и годовиков 2+ осетра оценивали по следующим параметрам:

- экстерьерные: абсолютная масса рыб, относительный прирост массы рыб, среднесуточный прирост, коэффициент Фультона, коэффициент

массонакопления, индекс прогонистости, индекс обхвата тела, индекс относительной толщины;

- биохимические: АЛТ, АСТ, кальций, общий белок, альбумин;
- микробиологические: определение микробиоценоза фекалий сеголеток и годовиков 2+ осетра, а также воды в аквариумах.

Таблица 1. – Объем проведенных исследований

Показатель	Количество
Определение абсолютной массы	640 анализов
Определение экстерьерных показателей	360 анализов
Биохимическое исследование сыворотки крови	108 анализов
Исследование микробиоценоза	132 анализа
Патологоанатомическое исследование	108 анализов
Морфологическое исследование	108 анализов

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием пакета стандартной программы Microsoft Excel (2008), достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Определение токсичности аквапурина

При определении острой и хронической токсичности аквапурина не оказывал негативного действия на организм. За период опыта изменений физиологического состояния и падежа цыплят и мышей не наблюдали.

Мыши в течение всего периода эксперимента были клинически здоровы, аппетит и двигательная активность животных соответствовали норме, поведенческих изменений не наблюдалось.

Под влиянием аквапурина при определении острой и хронической токсичности установлено достоверное повышение абсолютной массы у мышей 1-3-й опытных групп по сравнению с контролем на 1,0; 1,5 ($P < 0,01$); 2,0 ($P < 0,001$) % и 6,04; 16,6; 23,4 ($P < 0,01$) соответственно (рис. 2).

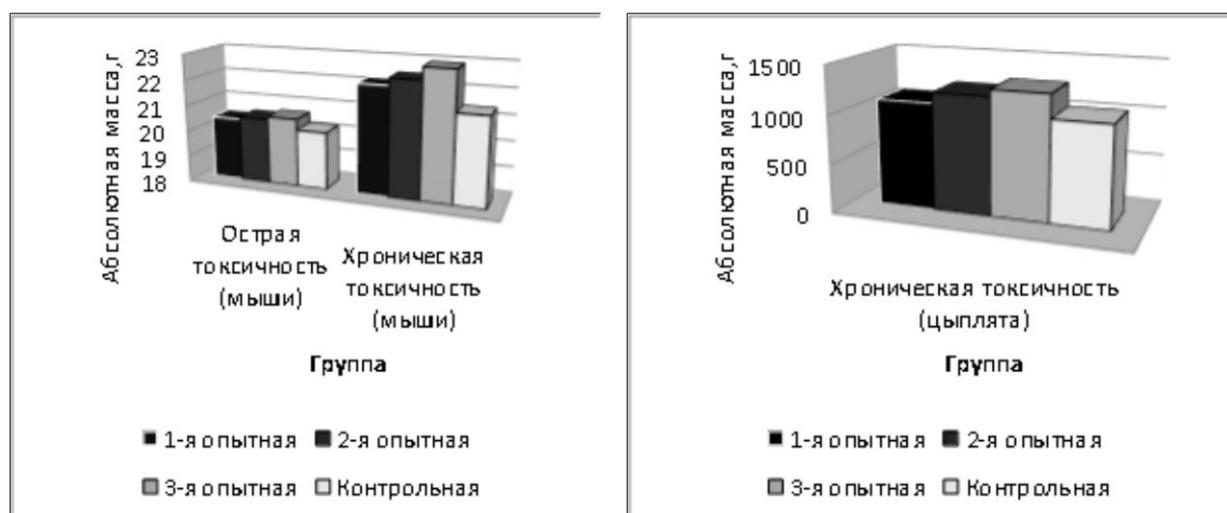


Рис. 2. – Абсолютная масса мышей и цыплят после применения аквапурина

При изучении острой и хронической токсичности морфологические показатели сыворотки крови у мышей и птицы опытных и контрольной групп соответствовали физиологической норме и не имели достоверных различий (табл. 2).

Таблица 2. – Морфологические показатели крови цыплят и мышей после применения аквапурина (M±m)

Группа	Показатель			
	Эритроциты, 10 ¹² /л Норма (8,0-9,0)	Гемоглобин, г/л Норма (130,0-150,0)	Тромбоциты, 10 ⁹ /л Норма (259,0-270,0)	Лейкоциты, 10 ⁹ /л Норма (7,5-7,6)
Острая токсичность (мыши)				
1-я опытная	8,38±0,06	132,40±3,33	266,05±2,79	7,50±0,08
2-я опытная	8,32±0,17	130,10±4,08	265,78±1,73	7,51±0,08
3-я опытная	8,35±0,09	130,20±1,98	266,34±3,84	7,50±0,08
Контрольная	8,35±0,10	130,00±3,15	265,75±2,30	7,52±0,10
Хроническая токсичность (цыплята)				
1-я опытная	3,23±0,22	92,86±4,49	79,43±4,28	29,71±2,30
2-я опытная	3,53±0,47	101,71±6,18	84,57±4,10	31,00±2,48
3-я опытная	3,66±0,56	117,86±4,61***	95,43±3,31*	30,29±2,46
Контрольная	3,19±0,32	86,71±5,29	76,29±6,42	28,43±2,99
Хроническая токсичность (мыши)				
1-я опытная	8,53±0,12	135,00±3,25	269,45±2,79	7,50±0,04
2-я опытная	8,69±0,14	142,00±2,81**	269,61±1,78	7,50±0,06
3-я опытная	8,84±0,10**	148,00±2,13***	269,22±1,96	7,50±0,05
Контрольная	8,37±0,12	130,00±2,91	268,15±2,52	7,57±0,06

Примечание здесь и далее: * – достоверность различий (P<0,05); ** – достоверность различий (P<0,01); *** – достоверность различий (P<0,001).

При изучении препарата на морфометрические изменения селезёнки, сердца, печени, мозга, лёгких, почек у мышей и сердца, печени, селезёнки, поджелудочной железы, желудка, зоба у птиц опытных и контрольной групп изменений их структуры и размеров не установлено.

Таким образом, в результате проведенного опыта отмечаем, что однократное и многократное применение аквапурина в дозах 45; 75 и 150 мкл/кг, превышающих терапевтическую в 3, 5 и 10 раз мышам и цыплятам не оказывало негативного действия на организм цыплят и мышей. Согласно полученным данным и существующей классификации препарат относится к IV классу токсичности (малотоксичные).

2.2.2. Интенсивность роста осетра

При применении аквапурина у сеголеток и годовиков 2+ осетра интенсивность роста повышалась (рис. 3, 4).



Рис. 3. – Абсолютная масса осетров

За опытный период у сеголеток осетра 1-й опытной группы отмечали максимальный прирост абсолютной массы, который на 4,9 % превышал показатели аналогов из контроля. У годовиков 2+ осетра абсолютная масса рыб 1-3-й опытных групп на протяжении всего опыта была выше, чем у аналогов из контроля. Наиболее высокие результаты за опытный период наблюдали у осетров 3-й опытной группы, рыбы превышали аналогов из контроля на 8,8 %. По абсолютной массе у сеголеток и годовиков 2+ осетра была выявлена зависимость эффективности применения препарата от дозы аквапурина. Сеголеткам осетра наиболее эффективно применение препарата в дозе 10 мкл/кг; годовикам в дозе 20 и 10 мкл/кг массы.



Рис. 4. – Относительный и среднесуточный прирост осетров

Относительный прирост сеголеток и годовиков 2+ осетра 1-3-й опытных групп на протяжении всего опыта был выше, чем у аналогов из контроля. Наиболее высокие результаты за опытный период наблюдали у осетров 3-й опытной группы. Рыбы превышали аналогов из контроля по относительному приросту на 26,5%. По указанному показателю у сеголеток и годовиков 2+

осетра была выявлена зависимая эффективность применения аквапурина от дозы препарата.

За опытный период среднесуточный прирост у сеголеток и годовиков 2+ осетра 1-3-й опытных групп был выше, чем у аналогов из контроля (рис.4). У годовиков 2+ осетра 3-й опытной группы наблюдали максимальный среднесуточный прирост живой массы, рыбы превышали аналогов из контроля на 22,6%.

По коэффициенту массонакопления только сеголетки осетра 3-й опытной группы превышали аналогов из контроля в начальный период эксперимента (на 6-16-е сутки). На 26-56-е сутки осетры 3-й опытной группы по изучаемому показателю были ниже аналогов из контроля.

Коэффициент массонакопления за опытный период у годовиков 2+ осетра 2-3-й опытных групп был выше рыб из контроля. Максимальные значения коэффициента массонакопления наблюдали у осетров 3-й опытной группы, которым применяли аквапурин в дозе 20 мкл/кг массы.

Индекс относительной толщины был выше аналогов из контроля в течение эксперимента только у сеголеток 1-й опытной группы. Годовики 2+ осетра 3-й опытной группы превышали по индексу относительной толщины рыб из контроля только на 60-е сутки.

Таким образом, у сеголеток осетра по абсолютной массе, среднесуточному приросту и индексу относительной толщины наиболее высокие показатели наблюдались у осетров 1-й опытной группы, которым препарат задавали в дозе 10 мкл/кг. У годовиков 2+ осетра по абсолютной массе, относительному и среднесуточному приросту, а также по коэффициенту массонакопления максимальные показатели наблюдались у осетров 2-й и 3-й опытных групп которым препарат задавали в дозе 10 и 20 мкл/кг соответственно.

2.2.3. Экстерьерные показатели осетра

При применении аквапурина экстерьерные показатели сеголеток и годовиков 2+ изменялись.

Коэффициент Фультона, который указывает на уровень зимостойкости осетров, у сеголеток опытных групп соответствовал физиологической норме и был ниже аналогов из контроля. Коэффициент Фультона у годовиков 2+ осетра 2-3-й опытных групп был выше аналогов из контроля на 30-60-е сутки исследования. Максимальное увеличение коэффициента Фультона регистрировали при применении аквапурина в дозе 10 и 20 мкл/кг массы рыб в период после прекращения применения препарата на 60-е сутки исследования. Годовики 2+ осетра 2-й и 3-й опытных групп достоверно превышали аналогов из контроля на 10,5% ($P < 0,001$) (рис. 5).

Индекс прогонистости, который указывает на морфологические особенности развития рыбы, у сеголеток и годовиков 2+ осетра был в пределах физиологической нормы. Сеголетки по данному показателю достоверно превышали аналогов из контроля на 9,5% ($P < 0,05$) на 90-е сутки исследований.

Кoeffициент Фyльтона и индекс обхвата тела сеголеток и годовиков 2+ осетра

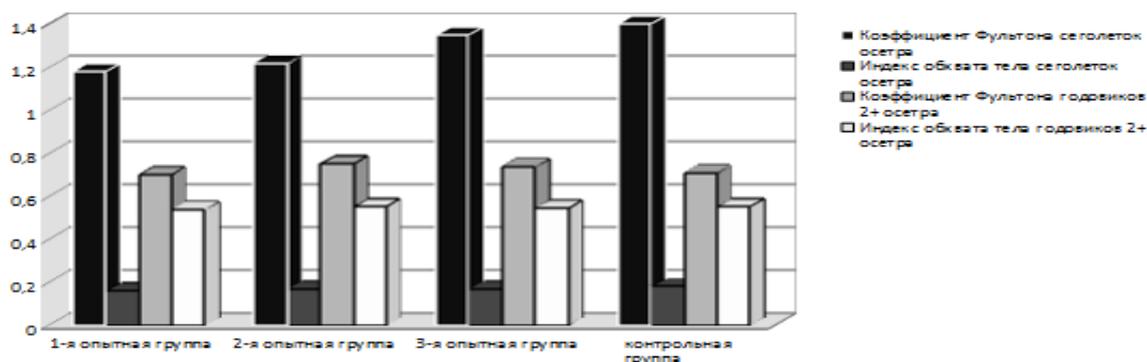


Рис. 5. – Экстерьерные показатели осетра при применении аквапурина мкл/кг массы рыб.

По индексу обхвата тела, который указывает на общее состояние рыб, биологическую и коммерческую ценность мяса, годовики 2+ осетра и сеголетки не имели достоверных различий по сравнению с аналогами из контроля.

2.2.4. Биохимические показатели сыворотки крови осетра

Содержание АЛТ и АСТ у сеголеток и годовиков осетра 1-3-й опытных групп находилось в пределах физиологической нормы, но ниже аналогов из контрольной группы (табл. 3, 4). концентрация кальция в сыворотке крови

Таблица 3. – Биохимические показатели сыворотки крови сеголеток при применении аквапурина (M±m)

Группа	АЛТ (Ед/л) Норма: 15,05-27,80	АСТ (Ед/л) Норма: 46,5-59,8	Кальций (ммоль/л) Норма: 2,9-4,0	Общий белок (г/л) Норма: 20,3-72,0	Альбумин (г/л) Норма: 18,3-30,3
30-е сутки					
1-я опытная	20,24 ± 2,21	48,92 ± 1,68	3,34 ± 0,47*	46,56 ± 4,77	24,52 ± 1,95
2-я опытная	20,20 ± 1,76	49,82 ± 2,85	2,99 ± 0,36	46,16 ± 3,00	24,06 ± 2,08
3-я опытная	19,58 ± 2,86	49,44 ± 4,44	2,96 ± 0,64	42,86 ± 2,25	23,80 ± 3,90
Контрольная	22,88 ± 2,10	52,66 ± 5,10	1,94 ± 0,37	42,50 ± 5,15	21,88 ± 1,79
60-е сутки опыта					
1-я опытная	17,14 ± 1,86	48,06 ± 5,79	3,72 ± 0,61	50,38 ± 3,79	26,08 ± 1,83
2-я опытная	17,54 ± 2,29	48,74 ± 0,96	3,34 ± 0,40	48,88 ± 5,57	25,92 ± 1,68
3-я опытная	18,72 ± 2,72	49,14 ± 1,17	3,30 ± 0,40	45,62 ± 5,07	25,18 ± 1,66
Контрольная	21,94 ± 2,82	51,46 ± 7,65	2,02 ± 0,46	43,20 ± 1,30	20,32 ± 2,80
90-е сутки опыта					
1-я опытная	15,80 ± 2,69	46,70 ± 3,62	3,88 ± 0,69	57,70 ± 1,76	26,72 ± 2,01
2-я опытная	16,94 ± 1,55	47,08 ± 1,94	3,66 ± 0,64	53,92 ± 3,76	26,04 ± 1,28
3-я опытная	18,04 ± 2,30	48,0 ± 2,41	3,38 ± 0,52	47,24 ± 2,61	25,76 ± 2,72
Контрольная	20,40 ± 2,01	50,76 ± 0,61	2,36 ± 0,75	44,22 ± 6,24	21,34 ± 3,30

сеголеток и годовиков осетра 1-3-й опытных групп соответствовала физиологической норме, но была выше аналогов из контроля. Содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови сеголеток и годовиков 2+ 1-3-й опытных и контрольных групп осетра соответствовало физиологической норме в период эксперимента. В период и после прекращения применения препарата сеголетки и годовики 2+ осетра превышали аналогов из контроля по содержанию общего белка и альбуминов не только в период введения препарата, но и в течение 30 суток после прекращения его назначения (табл. 3,4). При использовании аквапурина повышалась концентрация протеина и альбуминовой фракции в сыворотке крови сеголеток и годовиков 2+ осетра.

Таким образом, биохимические показатели крови у сеголеток и годовиков 2+ осетра изменяются с одинаковой закономерностью. Содержание АЛТ и АСТ в сыворотке крови у осетров 1-3-й опытных групп понижается, а кальция, общего белка и альбумина повышается. Выраженность эффективности влияния аквапурина на биохимические показатели сыворотки крови зависела от дозы препарата. У сеголеток осетра наиболее эффективно использование препарата в дозе 10 мкл/кг, у годовиков 2+ осетра 20 мкл/кг массы рыб. Аквапурин физиологичен для организма осетров так как изучаемые показатели сыворотки крови изменялись в пределах физиологической нормы.

Таблица 4. – Биохимические показатели сыворотки крови годовиков 2+ осетра при применении аквапурина (M±m)

Группа	АЛТ (Ед/л) Норма: 15,05-27,80	АСТ (Ед/л) Норма: 46,5-59,8	Кальций (ммоль/л) Норма: 2,9-4,0	Общий белок (г/л) Норма: 20,37-72,0	Альбумин (г/л) Норма: 18,3-30,3
30-е сутки					
1-я опытная	22,87±2,22	52,98±3,21	3,13±0,37	39,97±1,87	22,54±1,55
2-я опытная	22,08±1,09	52,58±4,65	3,63±0,43	47,69±4,60*	24,27 ±2,32
3-я опытная	21,28±1,36	49,07±3,36	3,99±0,29**	56,71±5,17**	28,41±1,28*
Контрольная	23,76±2,17	54,28±1,66	2,94± ,17	34,92±1,93	21,81±2,48
60-е сутки опыта					
1-я опытная	24,86±2,30	50,98±2,07	3,30±0,42	45,75±2,45	24,12±1,39*
2-я опытная	24,01±1,45	50,0±3,87	3,81±0,40	51,68±4,06*	27,05±2,22
3-я опытная	20,11±0,82*	47,82±3,18	3,93±0,39*	58,71±4,35**	29,35±1,16
Контрольная	25,19±2,04	54,88±1,43	2,90±0,25	38,10±3,49	23,07±2,44

2.2.5. Микробиоценоз осетра и воды в аквариуме

Микробиоценоз воды в аквариумах, где содержалась сеголетки и годовики 2+ осетра 1-3-й опытных групп, перед началом эксперимента был представлен общими колиформами и термотолерантными колиформами, а *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Clostridium spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* в воде бассейна, где содержалась рыба выявлено не было.

При применении аквапурина на 60-е сутки исследования в воде из аквариумов, где содержались сеголетки и годовики 2+ осетра 1-3-й опытных

групп численность общих и термотолерантных колиформов соответствовала норме для воды из бассейнов. В пробах воды отсутствовали: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Clostridium spp.*, *Pseudomonas aeruginos*.

До применения препарата микробный состав фекалий опытных и контрольной групп сеголеток осетра достоверно не различался и был представлен следующими микроорганизмами: *Proteus vulgaris*, *Streptococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus faecalis*. Микробный состав фекалий сеголеток осетра относится к условно-патогенной микрофлоре, так как повышение числа перечисленных микроорганизмов может приводить к кишечным инфекциям, гнойно-воспалительным поражениям желудочно-кишечного тракта, нарушению пищеварения сеголеток осетра.

На 30-е сутки исследований микробиоценоз фекалий сеголеток осетра 1-3-й опытных и контрольной групп изменялся. У осетров 1-2-й опытных групп из фекалий выделяли *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli*, у сеголеток 3-й опытной группы – *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Streptococcus haemoliticus*, контрольной группы – *Escherichia coli*. Следовательно, изучаемый пробиотик оптимизирует микробный пейзаж в кишечнике, уменьшая количество условно-патогенной микрофлоры.

Таким образом, установлено позитивное действие препарата на микробиоценоз фекалий сеголеток осетра. При анализе действия пробиотика на микробиоценоз прослеживалась зависимость эффективности действия аквапурина от его дозы.

До применения препарата из фекалий годовиков 2+ осетра 1-3-й опытных и контрольной групп были выделены *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*.

На 60-е сутки исследований микробный пейзаж фекалий годовиков 2+ осетра опытных и контрольной группы изменялся. У рыб 1-3-й опытных групп из фекалий выделяли *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, а у аналогов из контрольной группы – *Escherichia coli*.

Под влиянием изучаемого гомобиотика микробиоценоз у изменяется с одинаковой закономерностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По токсикологической классификации аквапуринов относится к IV классу токсичности (малотоксичные препараты). Препарат аквапуринов физиологичен для организма осетров и оказывает позитивное действие на интенсивность роста, экстерьерные показатели, изучаемые биохимические параметры сыворотки крови осетров, а также на микробиоценоз рыб и воды в аквариуме.

ВЫВОДЫ

1. Аквапуринов не обладает токсическим действием на организм мышей и птицы при применении препарата в дозах 45; 75 и 150 мкл/кг, которые в 3, 5 и 10 раз превышают рекомендуемую дозу. По токсикологической классификации аквапуринов относится к IV классу токсичности (малотоксичные препараты).

2. Препарат аквапурин не оказывает негативного действия на организм сеголеток и годовиков 2+ сибирского осетра. Показатели абсолютной массы, экстерьера, биохимического состава крови, микробиоценоза сеголеток и годовиков 2+ осетра в опытных группах соответствовали показателям нормы. Выраженность действия препарата зависела от дозы. У сеголеток оптимальные результаты получены при применении препарата в дозе 10 мкл/кг, у годовиков 2+ – 10-20 мкл/кг.

3. Интенсивность роста сеголеток и годовиков 2+ осетра под влиянием изучаемого препарата повышается. Сеголетки осетра 1-3-й опытной групп при применении препарата в дозе 10 мкл/кг на 56-е сутки эксперимента превышали показатели рыб из контроля по среднесуточному, относительному приросту и коэффициенту массонакопления на 17,9; 7,4 и 84,4 % соответственно; на 90-е сутки по индексу относительной толщины на 15,4 %. Индекс относительной толщины сеголеток осетра 2-3-й опытных групп, при применении препарата в дозах 5 и 15 мкл/кг, на 90-е сутки достоверно превышали индекс относительной толщины рыб из контрольной группы в среднем на 7,7 %. Годовики 2+ осетра 1-3-й опытных групп получавшие препарат в дозах 5; 10 и 20 мкл/кг соответственно, превышали по абсолютной массе, относительному и среднесуточному приросту осетров из контроля в среднем на 5,9; 49,2 и 46,6 % соответственно. Наиболее высокие результаты интенсивности роста были получены у сеголеток осетра при применении препарата в дозе 10 мкл/кг, а у годовиков 2+ в дозе 10 и 20 мкл/кг.

4. Экстерьерные показатели у осетров при применении аквапурина изменяются. Индекс прогонистости у сеголеток осетра 1-й опытной группы, которым препарат применяли в дозе 10 мкл/кг на 90-е сутки опыта достоверно превышал аналогов из контроля на 9,5 %. Коэффициент Фультона у годовиков 2+ осетра 2-3-й опытных групп, получавших аквапурин в дозах 10 и 20 мкл/кг, достоверно превышал данные из контроля на 30-е и 60-е сутки опыта в среднем на 8,0 %. На индекс обхвата тела осетров препарат не оказывал достоверного действия.

5. Под влиянием аквапурина в сыворотке крови рыб достоверно увеличивалось количество протеина, альбумина, кальция и уменьшалось содержание АЛТ и АСТ. У сеголеток осетра 1-3 опытных групп, получающих препарат в дозах 10; 5 и 20 мкл/кг превышение концентрации изучаемых показателей по сравнению с контролем составило в среднем: по протеину 19,8 %; по альбумину 22,6 %; по кальцию 51,3%. У годовиков 2+ осетра 1-3 опытных групп, получающих аквапурин в дозах 5; 10 и 20 мкл/кг по сравнению с аналогами из контрольной группы концентрация изучаемых показателей была выше в среднем по протеину на 36,5 %; по альбумину на 15,0 %; по кальцию на 26,8 %. Уменьшение концентрации АЛТ и АСТ у сеголеток осетра 1-3-й опытных групп по сравнению с осетрами из контроля в среднем составило по АЛТ 17,0 %; по АСТ 6,9 %. У годовиков 2+ осетра показатели сыворотки крови 1-3-й опытных групп были ниже, чем у рыб из контроля в среднем по АЛТ на 8,7 %; по АСТ на 9,6 %. Полученные данные указывают на позитивное действие препарата на физиологические показатели осетров.

6. Микробиоценоз воды в аквариуме и кишечнике сеголеток и годовиков осетра изменялся. Микробный пейзаж в кишечнике сеголеток и годовиков 2+ осетра опытных групп был более разнообразным по сравнению с контролем и представлен следующими микроорганизмами: *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Streptococcus haemoliticus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*. У осетров из контроля преобладали *Escherichia coli*.

7. Аквапурин на сеголеток и годовиков 2+ осетра действует с одинаковой закономерностью. Происходит повышение интенсивности роста, улучшаются экстерьерные показатели, нормализуются биохимические показатели сыворотки крови и увеличивается число бактерий нормофлоры при уменьшении условно-патогенной микрофлоры.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Материалы диссертации вошли в следующие нормативные документы:
-рекомендации по применению пробиотического препарата Аквапурин на стадии клинических исследований в осетроводстве рассмотренные и утвержденные на заседании научно-технического совета Научно-производственной фирмы «Исследовательский центр». Протокол № 4 от 07.06.2016 года;

- акт о проведении испытаний препарата аквапурин на сеголетках и годовиках 2+ осетра;

-акт о проведении испытаний острой и хронической токсичности препарата аквапурин.

2. С профилактической целью и для повышения интенсивности роста, улучшения экстерьерных показателей, повышения обменных процессов, нормализации микробиоценоза осетров рекомендуем применять аквапурин сеголеткам осетра в дозе 10 мкл/кг, а годовикам 2+ в дозе 10 и 20 мкл/кг.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и включенных в единую международную реферативную базу данных Scopus.

1. Nozdrin Grigori Exterior Features of Siberian Sturgeon Under yearlings when Applying BS 225 Microbiological Preparation / Grigori Nozdrin, Irina Moruzi, Yelena Pishchenko, Angela Ivanova, Sophia Nurutdinova, Ekaterina Startseva // Indian Journal of Science and Technology. – 2015. – №8 (34). – P. 1-6.

2. Ноздрин Г. А. Изменение прироста массы осетровых при применении пробиотического препарата аквапурин / Г. А. Ноздрин, И. В. Морузи, Е. В. Пищенко, С. И. Нурутдинова // Вестник НГАУ. – 2015. – №4 (37). – С. 121-126.

3. Нурутдинова С. И. Изменение биохимических показателей крови сибирского осетра *Acipenser baerii* при применении пробиотического препарата аквапурин / С. И. Нурутдинова, Г. А. Ноздрин, И. В. Морузи, А. А. Леляк, С. В. Глушко // Вестник НГАУ. – 2016. – № 1(38). – С. 99-104.

Публикации в других изданиях

4. Нурутдинова С. И. Кишечная микрофлора рыб семейства карповых / С. И. Нурутдинова // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции «Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России. – 2014. – С. 90-91.

5. Нурутдинова С. И. Морфологический состав крови семейства Карповых / С. И. Нурутдинова // Международный научный институт «Educatio». – 2014. №4. – С. 109-110.

6. Nurutdinova S. I. The importance of Probiotics in fish Breeding / S. I. Nurutdinova // Progress through Innovation: тезисы городской научно-практической конференции аспирантов и магистрантов. – 2014. – С. 108.

7. Ноздрин Г. А. Влияние применения пробиотических препаратов на среднесуточный прирост сеголеток осетра / Г. А. Ноздрин, С. И. Нурутдинова, Е. А. Старцева // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции. – 2015. – С. 73-75.

8. Ноздрин Г. А. Применение микробиологического препарата BS 225 в осетроводстве / Г. А. Ноздрин, Е. А. Старцева, С. И. Нурутдинова // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции. – 2015. – С. 75-77.

9. Бунькова С. И. Определение острой токсичности пробиотического препарата аквапурин / С. И. Бунькова, Г. А. Ноздрин // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса. – 2017. – С. 104-105.