

На правах рукописи



ШУЛЬГА Елена Александровна

**ПРОБИОТИКИ В КОРМЛЕНИИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ
ПРИ ТОВАРНОМ ВЫРАЩИВАНИИ**

Специальность 03.00.10 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук



Астрахань 2009

Работа выполнена в Астраханском государственном техническом университете

Научный руководитель:

заслуженный работник рыбного хозяйства РФ
доктор биологических наук,
профессор

Пономарев Сергей Владимирович

Официальные оппоненты:

заслуженный работник рыбного хозяйства РФ
доктор биологических наук,
профессор,

Иванов Владимир Прокофьевич

заслуженный деятель науки РФ

доктор биологических наук,
профессор,

Воробьев Владимир Иванович

Ведущая организация: МГУТУ - Московский государственный университет технологий и управления

Защита диссертации состоится «4» февраля 2009 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д.307.001.05 при Астраханском государственном техническом университете по адресу: 414025, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, АГТУ

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного технического университета.

Автореферат разослан «21» января 2009 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Мелякина Э.И.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы В условиях катастрофического снижения численности осетровых рыб развивающееся в последние годы товарное осетроводство является единственным способом производства этой ценной деликатесной продукции. Разработаны и эффективно реализуются различные интенсивные технологии товарного выращивания осетровых рыб, которые предусматривают получение продукции только за счет использования комбинированных комбикормов.

При выращивании осетровых рыб наблюдается увеличение уровня органического загрязнения и числа условно-патогенных бактерий в водной среде. При определенной концентрации микроорганизмов в воде рыбоводных емкостей происходит их увеличение в органах и тканях рыб (Юхименко, Викторова, 1979; Каховский, Михайловская, 1990; Каховский, Тромбицкий, 1991; Казарникова, Шестаковская, 2005). При этом отмечаются случаи ослабления общего состояния рыб и возникновения различных заболеваний, что ведет к необходимости проведения исследований, направленных на разработку лечебно-профилактических кормов.

В настоящее время в качестве средства, направленного на поддержание и восстановление нормального физиологического состояния человека и животных используют различные пробиотические препараты (Harbarth, Samore, 2005; Шендеров, 2007). Это связано с современным состоянием антибиотикорезистентности рыб, которая делает необходимым поиск альтернативных, физиологически обоснованных и безопасных средств для профилактики и лечения инфекций (Noga, 1995; Мирзоева, 2000; Головин и др., 2005)

В связи с этим, основной проблемой интенсивного товарного осетроводства является разработка новых биотехнологий выращивания, с использованием комбикормов, содержащих в своем составе современные препараты пробиотиков.

Типичным представителем пробиотиков является отечественный препарат «Субтилис», действующим началом которого являются *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, они активно выделяют в ки-

и

шечнике биологически активные вещества, продуцируют различные пищеварительные ферменты и энзимы (Кулаков, 2003).

Таким образом, особую актуальность исследований представляет изучение возможности использования пробиотика «Субтилис» в составе комбикормов для осетровых рыб.

Цель и задачи исследований. Целью данной работы явилась научная оценка эффективности применения пробиотика «Субтилис» в составе сухих комбинированных кормов для осетровых рыб:

Поставленная цель определила следующие задачи:

- определить влияние пробиотика «Субтилис» на микробиологический фон комбикормов для осетровых рыб;
- изучить лечебные свойства пробиотического препарата «Субтилис» при раневых поражениях кожных покровов осетровых рыб;
- изучить биологическую эффективность использования пробиотического препарата «Субтилис» в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб;
- установить целесообразность использования пробиотического препарата «Субтилис» в продукционных кормах для осетровых рыб;
- проанализировать влияние пробиотического препарата «Субтилис» на микробный фон воды и выращиваемой рыбы.

Научная новизна. Впервые комплексно, на основании оценки рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических показателей, научно обоснована целесообразность и эффективность применения пробиотического препарата «Субтилис» – биологически активной добавки в отечественные комбикорма для осетровых рыб серии ОСТ и ОТ, рекомендуемых и утвержденных в 2005-2006 гг. к использованию в рыбном хозяйстве России. Установлено, что введение этого пробиотика в рацион осетровых рыб позволяет повысить основные рыбоводно-биологические показатели выращивания, снижает кормовые затраты, улучшает физиолого-биохимическое состояние выращенной молодежи.

Выявлено, что препарат «Субтилис» снижает микробную контаминацию воды в бассейнах, поверхности тела выращиваемых рыб,

кормов. Установлена перспектива применения пробиотика для профилактики и лечения раневых повреждений осетровых рыб.

Практическая значимость. Полученные результаты могут служить основой для совершенствования технологий интенсивного выращивания осетровых рыб. Предложены методы снижения контаминации комбикормов с использованием пробиотика «Субтилис» в жидкой активной форме. Использование комбикормов с пробиотическим препаратом позволяет снизить потери рыбоводной продукции, сократить затраты кормов.

Основные положения выносимые на защиту.

Совокупность новых научных результатов, обосновывающих использование пробиотического препарата «Субтилис» в составе комбикормов при промышленном выращивании осетровых рыб, что способствует увеличению выхода рыбоводной продукции, улучшению ее физиологического состояния.

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы докладывались на конференциях: Межрегиональной научно-практической конференции «Научные подходы к решению проблем производства продуктов питания (г. Ростов-на-Дону, 2003); Международной научно-практической конференции «Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности» (г. Москва, 2005); международной научной конференции «Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны» (Ростов – на – Дону, 2006); на научных конференциях профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета в 2004-2008 гг.; I и II научных конференциях студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН (г. Ростов-на-Дону, 2005-2006 гг.); на Международной научно-практической конференции «Фундаментальные аспекты биологии в решении актуальных экологических проблем» (Астрахань, 2008).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста. Состоит из введе-

ния, семи глав, заключения, выводов, предложений производству, приложений. Список литературы содержит 246 источников, из них 52 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 8 рисунками и 26 таблицами.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Обобщены и проанализированы сведения по вопросам кормления ценных объектов аквакультуры. Отдельное внимание уделено вопросам патологий рыб, вызванных использованием несбалансированных кормов, а также проблемам качества комбинированных кормов. Также представлена информация о введении в комбикорма для объектов аквакультуры пробиотика «Субтилис». Анализ литературных сведений показал актуальность и целесообразность проведения научных исследований.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполняли в экспериментальном аквариальном комплексе и лабораториях инновационного центра «Биоаквапарк – Научно-технический центр аквакультуры» Астраханского государственного технического университета, на береговой научно-экспедиционной базе «Кагальник» Южного научного центра РАН (Ростовская область), Лебяжьем осетровом рыбноводном заводе (Астраханская область) и Волгоградском осетровом рыбноводном заводе (Волгоградская область) в период с 2003 по 2008 гг.

Для испытаний ООО «Провими» (г. Москва) были представлены опытные партии пробиотика «Субтилис» в жидкой и сухой формах. Схема проведения исследований представлена на рисунке 1.

При определении оптимальной нормы препарата «Субтилис», воздействующей на микробную контаминацию, различное количество жидкой формы препарата наносили на комбикорм с начальным уровнем обсемененности $5,3 \times 10^6$ КОЕ/кг и хранили его в течении 50 суток. Исследовали следующие нормы нанесения препарата: 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 мг/кг корма. При длительном хранении кормов (150 суток) в опытном варианте использовали дозу 0,1 мл/кг.

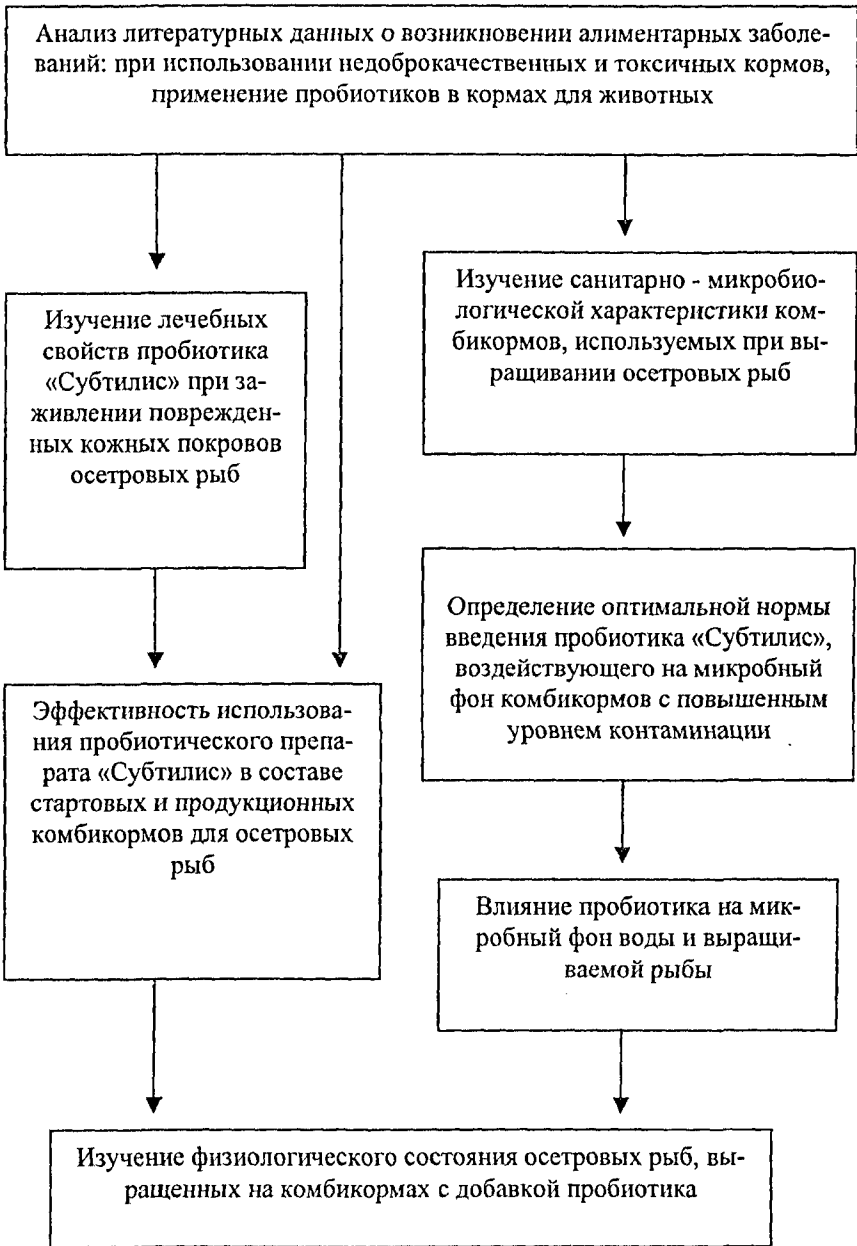


Рис. 1. Схема проведения исследований

Лечебные свойства препарата «Субтилис» определяли в два этапа в производственных условиях. На первом этапе эксперимента молоди русского осетра начальной массой 14-16 г наносили надрезы кожных покровов. На втором этапе для исследований были отобраны особи стерляди с одинаковой степенью «потертостей» (после транспортировки).

Норму ввода пробиотика «Субтилис» в состав стартовых и продукционных комбикормов для осетровых рыб определили на основе анализа научной литературы, она составила 40 г/кг комбикорма (Кулаков, 2003). Сухую форму пробиотического препарата вводили в состав комбикормов в процессе изготовления.

Опытные партии сухих комбикормов (ОСТ-4, ОСТ-6, ОТ-7) изготавливали в лабораторных условиях, комбикорм ВОРЗ-Ст – на специальном оборудовании для производства влажных кормов Волгоградского ОРЗ.

Исследования по определению эффективности использования пробиотика «Субтилис» в составе стартовых комбикормов проводили в лабораторных и производственных условиях на ранней молоди стерляди, русского осетра и севрюги.

Изучение эффективности использования пробиотика «Субтилис» в продукционных комбикормах проводили в лабораторных условиях на молоди русского осетра и стерляди, в производственных условиях на сеголетках гибрида стерлядь x белуга.

Для характеристики интенсивности роста использовали показатели абсолютного и среднесуточного приростов, среднесуточной скорости роста, а также коэффициент массонакопления (Винберг, 1956; Castell, Tiewes, 1979; Резников и др., 1978; Баранов и др., 1979; Купинский и др., 1986).

Затраты корма рассчитывали в целом за опыт; как отношение количества корма внесенного в рыбоводную емкость к единице прироста массы (Щербина, Гамыгин, 2006). Выживаемость выражали в процентах от общего количества наблюдаемых рыб. Жизнестойкость молоди севрюги определяли методом функциональных нагрузок (Лукьяненко, 1989).

Общий химический анализ тела исследуемых рыб выполняли по общепринятым методикам. Они включали определение влаги высушиванием при температуре 105⁰С; жира – экстракционным методом в аппарате Сокслета; сырого протеина – путем колориметрического определения азота с применением реактива Несслера; содержание золы - сжиганием исследуемого материала в муфельной печи при температуре 500⁰С (Щербина, 1983).

Определение содержания гемоглобина проводили цианметгемоглобиновым фотометрическим методом, общий объем эритроцитов измеряли с использованием гематокритной центрифуги МГ6-02, количественное определение эритроцитов - пробирочным методом в счетной камере Горяева (Иванова, 1983), белка в сыворотке крови - с использованием рефрактометра.

Для проведения бактериологических исследований корма, воду, рыб отправляли в лабораторию микробиологин РостНИпчи (г. Ростов-на-Дону), полученные данные анализировались и использовались в работе.

Всего выполнено около 2500 взвешиваний и измерений осетровых рыб различного возраста. Обработано 300 гематологических и 280 биохимических проб. В экспериментах использовано около 12000 шт. осетровых рыб.

Опыты проводили в двукратной повторности, данные подвергали статистической обработке по Г.Ф. Лакину (1990) с применением персонального компьютера.

ГЛАВА III. ОБЩАЯ САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМБИ- КОРМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

В настоящее время при товарном выращивании осетровых рыб достаточно остро стоит вопрос обеспечения безопасности комбикормов. Поэтому, наряду с традиционным контролем биологического качества комбикормов, весьма важное значение придается их санитарно-биологической характеристике (Бурлаченко, 2007). Комбикорма для

осетровых рыб содержат значительное количество продуктов животного происхождения, что является благоприятной основой для массового развития бактерий, токсины которых оказывают супрессивное действие на иммунную систему, провоцируя патологические изменения внутренних органов (Байрамова, Абросимова, 2006). Одним из возможных способов предотвращения такого негативного воздействия на организм рыб, является использование пробиотиков в составе комбикормов.

Основной особенностью пробиотика «Субтилис» является сочетание аэробной *Bacillus subtilis* и анаэробной *Bacillus licheniformis* форм бактерий. Первые – являются источником пищеварительных ферментов, вторые – проявляют выраженное антагонистическое действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (Verweyen et al., 1999; Кулаков, Панасенко, 2004; Ларцева, Обухова, 2006).

На первом этапе провели определение оптимальной нормы введения пробиотического препарата «Субтилис», воздействующей на микробный фон комбикорма с повышенным уровнем контаминации.

В ходе наблюдений за бактериальным фоном кормов, обработанных жидким пробиотиком «Субтилис», было отмечено, что даже при минимальной дозе (0,1 мл/кг) пробиотического препарата происходило снижение уровня зараженности кормов бактериями.

На рыбоводных заводах кормление рыб осуществляется в течение длительного периода, особенно при круглогодичном содержании ремонтно-маточного стада, а закупка комбикормов, как правило, осуществляется 2-3 раза в год. Поэтому комбикорма хранятся непосредственно на предприятии. Во время хранения комбикормов их обсемененность изменяется, что приводит к накоплению бактериальных клеток и продуктов их метаболизма.

Через 2 месяца хранения зараженность контрольной партии корма, микроорганизмами увеличилась, а к концу четвертого месяца хранения его общая бактериальная обсемененность достигла достаточно высоких пределов и далее уже не изменялась (рис. 1).

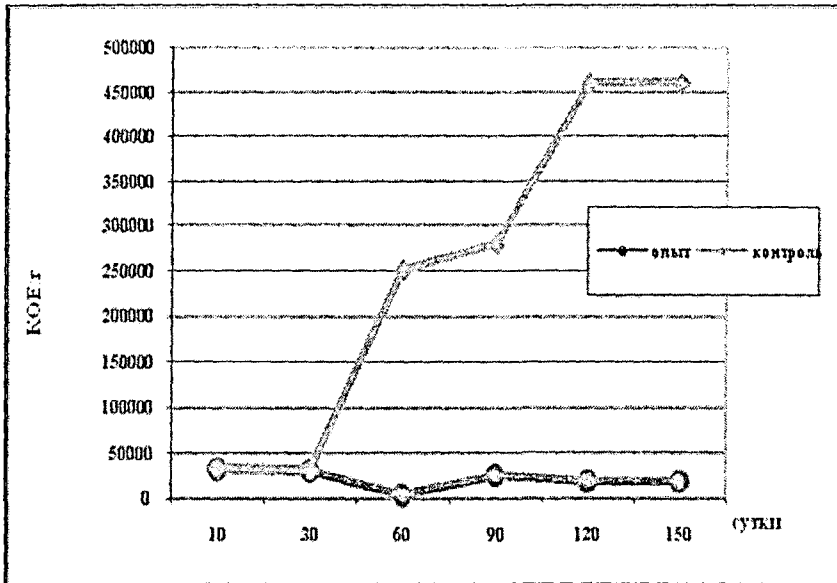


Рис. 1. Общая бактериальная обсемененность кормов при длительном хранении

Примечание: опыт- комбикорм обработанный жидкой формой пробиотического препарата «Субтилис»; контроль – не обработанный комбикорм

В опытной партии кормов отмечали, что уровень бактериальной обсемененности был значительно ниже. Однако в период хранения комбикорма динамика микробной обсемененности имела аналогичную контрольному варианту картину. Бактерии рода *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* действуя, как антагонисты, при попадании в среду патогенных и условно-патогенных бактерий начинают активно развиваться, увеличивая свою численность, затем постепенно вытесняя их из сообщества (Кулаков, 2003).

Таким образом, проведенные исследования показали, что для увеличения срока хранения и уменьшения контаминации комбикормов для осетровых рыб, возможно использование пробиотика «Субтилис» в жидкой - активной форме.

ГЛАВА IV. ЛЕЧЕБНЫЕ СВОЙСТВА ПРОБИОТИКА «СУБТИЛИС» ПРИ РЕПАРАЦИИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Особый интерес представляло определение лечебных свойств пробиотического препарата «Субтилис» при репарации поврежденных кожных покровов у молоди русского осетра массой 14-16 г. Результаты оценки лечебных свойств пробиотика «Субтилис» показали, что полное заживление ран по первичному натяжению у рыб в опытном варианте произошло на 5 суток раньше, чем в контроле (рис. 2). Первая и вторая фазы, характеризующиеся сворачиваемостью крови и воспалением, протекали достаточно быстро – в течение одних суток. Уже через 48 часов наблюдали начало пролиферативной фазы (Яковлева, 1978; Гецадзе, 1984; Малеков, 2001), при которой отмечались первые признаки стягивания ран. В контрольном варианте начальные фазы репарации проходили медленнее, а стягивание повреждений началось лишь через 6 суток.

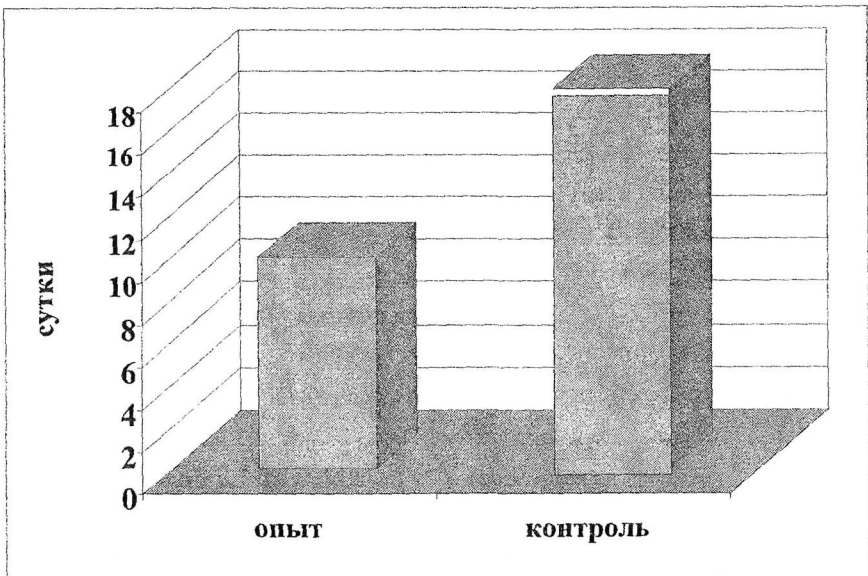


Рис. 2. Влияние препарата «Субтилис» на скорость полной репарации ран при незначительном повреждении

Рана загрязняется микробами уже в момент ранения - первичное загрязнение раны (Кузов, Яглинский, 1991; Ибрагимов и др., 2007). Так у 20% интактных рыб наблюдали инфицирование ран. По видимому, у рыб контрольной группы загрязнение поврежденных покровов продолжалось, что привело к вторичному микробному загрязнению раны и увеличению ее общей микробной обсемененности. Качественный состав выделенной микрофлоры с раневой поверхности рыб (по данным лаборатории микробиологии РостНИпчи) в контрольном варианте отличался большим разнообразием.

Результаты исследования количественного показателя общей микробной обсемененности показали, что контаминация воды из бассейнов опытного варианта была ниже и составила $2,1 \times 10^3$ КОЕ/мл, тогда как обсемененность воды в контроле составила $1,8 \times 10^5$ КОЕ/мл. На раневой поверхности рыб контрольного варианта обнаружили значительное количество различных микроорганизмов.

Формирование раневой инфекции является следствием нарушения общей защитной реакции организма (Балаханов, 1979; Бандемир, 1985; Ганбов, Султанов, 1988; Чернуха, Флорова, 2006). В связи с тем, что пробиотик обладает иммуномодулирующим действием, благодаря активации макрофагов, индукции эндогенного интерферона и синтеза иммуноглобулинов, очевидно резистентность рыб опытного варианта к инфицированию была значительно выше.

Анализ рыбоводно-биологических показателей, полученных в ходе эксперимента, позволяет утверждать, что введение в корма для осетровых рыб пробиотического препарата «Субтилис», оказывает позитивный эффект на рост и выживаемость рыб с механическими повреждениями кожных покровов.

Среднесуточная скорость роста рыб контрольного варианта была на 1,6 % ниже, чем у рыб из опытного варианта, а абсолютный прирост - на 32%. При этом выживаемость рыб в контрольном варианте была ниже на 10% (табл. 1).

Таблица 1

Рыбоводно-биологические показатели выращивания молоди русского осетра с поврежденными кожными покровами

Показатели	Опыт	Контроль
Масса начальная, г	14,77±0,44	14,85±0,29
Масса конечная, г	31,57±0,62***	23,65±0,52
Абсолютный прирост, г	16,80	8,80
Среднесуточная скорость роста, %	3,9	2,3
Коэффициент массонакопления, ед	0,04	0,02
Выживаемость, %	100	90
Период выращивания, сут	20	20

Примечание: различия достоверны при *** $P \leq 0,001$

Формирование ремонтно-маточных стад осетровых рыб возможно осуществлять методом domestikации рыб, отловленных из естественной среды обитания. При этом в результате отлова и транспортировки у значительного количества особей наблюдаются симптомы начала воспалительного процесса. Для экспериментальных исследований были отобраны особи с одинаковой степенью поражения кожных покровов.

Использование в течение 14 суток продукционного комбикорма ОТ-7, содержащего пробиотический препарат «Субтилис», способствовало лучшему заживлению пораженных кожных покровов. В контрольном варианте раны стали покрываться сапролегнией, состояние рыб ухудшилось. Через 2 недели эксперимента отход среди интактных рыб составил 8%, тогда как в опытном варианте - 2%.

Наблюдения показали, что в варианте, где рыба потребляла комбикорм с пробиотическим препаратом, отмечалось исчезновение покраснений кожных покровов уже на 4-е сутки эксперимента. Полное заживление поврежденных покровов наблюдалось на 10-е сутки. Это связано с тем, что, попадая в пищеварительный тракт, бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* начинают активно продуцировать аминокислоты, которые, вступая в процесс синтеза коллагена,

способствуют быстрому заживлению ран (Сорокулова, 1999; Колганова и др., 2001; Малик и др., 2002; Кулаков, 2003).

Таким образом, использование комбикормов с пробиотиком благоприятно влияет на ряд фаз процесса заживления раны, улучшает иммунный ответ и опсонизацию бактерий.

ГЛАВА V. БИОЛОГИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКА «СУБТИ- ЛИС» В СОСТАВЕ СТАРТОВЫХ КОМБИКОРМОВ ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

В современных экологических условиях для кормления осетровых рыб целесообразно применять комбикорма, которые отличались бы не только сбалансированностью состава по основным питательным и биологически активным веществам, но и высоким продуктивным и иммуномодулирующим действием, а также низкой стоимостью (Лукьяненко, 1989).

В связи с этим был проведен ряд исследований по оценке эффективности использования бактериального препарата «Субтилис» в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб. Применение препарата при выращивании других видов рыб показало, что он способствует лучшей усваиваемости пищи (Кулаков, 2003; Кулаков, Панасенко, 2004; Панасенко, 2006).

В качестве контроля использовали вначале комбикорм рецептуры ОСТ-4, через 10 суток по мере роста молоди использовали комбикорм ОСТ-6, содержащий легкоусваиваемый протеин (гидролизат).

При выращивании ранней молоди русского осетра и стерляди в течение 30 суток ростовой эффект в опытном варианте находился на уровне контроля (табл. 2).

При этом следует отметить, что введение в состав комбикорма пробиотического препарата «Субтилис» оказало положительное влияние на выживаемость личинок, как русского осетра, так и стерляди.

Таблица 2

Рыбоводно-биологические показатели выращивания
личинок осетровых рыб

Показатели	Русский осетр		Стерлядь	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Масса начальная, г	0,06±0,004	0,06±0,004	0,04±0,002	0,04±0,002
Масса конечная, г	0,62±0,05	0,65±0,06	0,56±0,04	0,50±0,03
Абсолютный прирост, г	0,56	0,59	0,52	0,46
Среднесуточный прирост, %	5,49	5,54	5,77	5,67
Кормовые затраты, ед.	1,1	1,0	1,20	1,25
Выживаемость, %	87	84	85	82
Продолжительность эксперимента, сут	30	30	30	30

Полученное положительное действие при введении в состав комбикорма пробиотического препарата «Субтилис», можно объяснить его возможностью вырабатывать разнообразные пищеварительные ферменты и витамины непосредственно в кишечнике, и, тем самым, оказывать на рыб, выраженный ростостимулирующий эффект.

Уровень гемоглобина и количество эритроцитов в составе красной крови рыб опытной группы были выше по сравнению с показателями рыб контрольной группы на 4%.

Исследование общего биохимического состава тела молоди русского осетра, выращенного на комбикорме с пробиотиком, показало, что весьма благоприятным следует считать более высокое количество белка в теле рыб по сравнению с контролем.

Кроме того, также следует отметить, что при выращивании молоди осетровых рыб на опытном варианте комбикорма увеличивалась интенсивность накопления основных питательных веществ в теле (рис. 3).

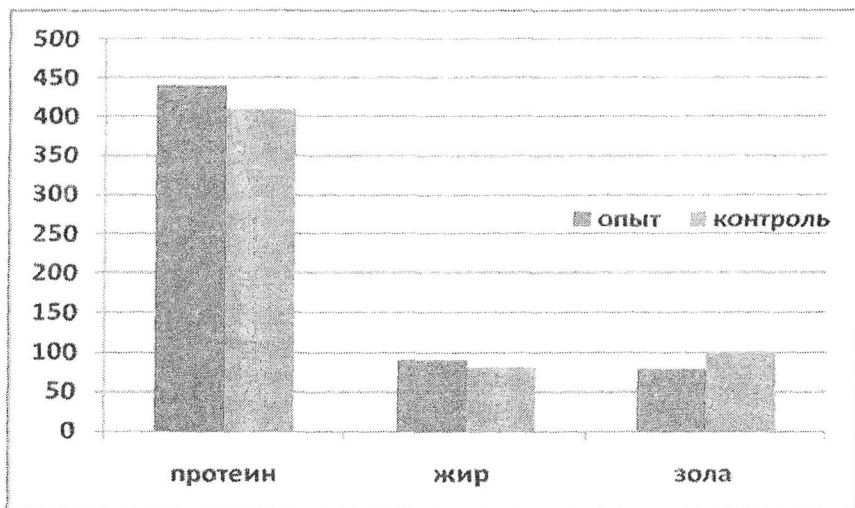


Рис. 3. Накопление питательных веществ в теле молоди русского осетра, мг/100 г

Исследования, проведенные в производственных условиях, показали, что применение пробиотического препарата «Субтилис» в составе стартового комбикорма в большей степени оказывает положительное влияние на жизнестойкость молоди севрюги. Уровень выживаемости во всех опытных вариантах был выше, чем в контроле на 5-10%. Причем лучший показатель выживаемости (на 10% выше по сравнению с контролем) отмечали в варианте, где на протяжении всего периода выращивания применяли стартовый комбикорм с пробиотиком «Субтилис» (табл. 3).

В целом, следует отметить, что применение пробиотического препарата «Субтилис» в составе стартового комбикорма на протяжении всего периода выращивания (до массы 3 г) стимулирует рост ранней молоди осетровых рыб.

Терморезистентность молоди опытной группы оказалась относительно высокой – в среднем 249,3 мин. Наименее устойчивой была молодь севрюги в контроле: максимальный период выживания ее в аналогичных условиях (до момента гибели) составил не более 201,6 мин.

**Рыбоводно-биологические показатели выращивания
молоди севрюги**

Показатели	Варианты опыта ¹⁾					
	I	II	III	IV	V	K
Масса начальная, г	0,03±0,005	0,03±0,005	0,03±0,004	0,03±0,005	0,03±0,005	0,03±0,004
Масса конечная, г ²⁾	3,29±0,01	3,31±0,02	3,34±0,02	4,05±0,05	4,26±0,06	3,01±0,02
Абсолютный прирост, г	3,26	3,28	3,31	4,02	4,23	2,98
Выживаемость, %	65	68	68	71	70	60
Продолжительность, сут.	56	56	56	56	56	56
Массонакопление, ед.	0.125	0.117	0.117	0.127	0.130	0.112
Кормовые затраты, ед., % к контролю	1,1 84,6	1,1 84,6	1,1 84,6	1,0 76,9	1,0 76,9	1,3 100

Примечание: 1) вариант I - в течение первых 10 суток кормили комбикормом ОСТ-4, содержащим пробиотик «Субтилис», далее комбикормом ОСТ-6; вариант II - в течение первых 20 суток кормили комбикормом ОСТ-4, содержащим пробиотик «Субтилис», далее комбикормом ОСТ-6; вариант III - в течение первых 30 суток кормили комбикормом ОСТ-4, содержащим пробиотик «Субтилис», далее комбикормом ОСТ-6; вариант IV - в течение первых 40 суток кормили комбикормом ОСТ-4, содержащим пробиотик «Субтилис», далее комбикормом ОСТ-6; вариант V - на протяжении всего эксперимента кормили комбикормом ОСТ-4, содержащим пробиотик «Субтилис»; контрольную группу на протяжении всего периода выращивания кормили комбикормом ОСТ-6 (без пробиотического препарата).

2) различия достоверны при $P \leq 0,05$.

Оценивая все установленные рыбоводно-биологические и физиолого-биохимические показатели молоди осетровых рыб, следует отметить, что введение в состав комбикорма для осетровых рыб пробиотика «Субтилис» достоверно улучшает рост и выживаемость ранней молоди.

ГЛАВА VI. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКА «СУБТИЛИС» В ПРОДУКЦИОННЫХ КОРМАХ ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Постоянное и широкое применение антибиотиков в составе комбикормов вызывает появление и длительную циркуляцию в хозяйстве резистентных к антибиотикам штаммов патогенов, в результате чего возрастает вирулентность микроорганизмов, резко снижается выживаемость и темп роста выращиваемых объектов (Кулаков, 2003; Юхименко и др., 2001). Альтернативой кормовым антибиотикам могут выступать спорообразующие пробиотики. Их влияние на организм рыб еще не достаточно изучено.

Введение в состав продукционного комбикорма ОТ-7 сухой формы пробиотика «Субтилис» не оказало негативного влияния на рост молоди стерляди: рыба в данном варианте характеризовалась высокой среднесуточной скоростью роста - 4,32 %, по сравнению с таковой в контроле (1,95 %), выживаемость была выше на 12 %, чем в контроле.

В результате выращивания молоди русского осетра было также установлено преимущество введения в состав продукционного комбикорма ОТ-7 пробиотика «Субтилис». Лучшие рыбоводно-биологические показатели выращивания рыбы в этом варианте подтверждаются наиболее высоким среднесуточным приростом, высокой выживаемостью и наименьшими кормовыми затратами.

По химическому составу тела молодь стерляди и русского осетра, выращенная на комбикорме с добавлением пробиотика «Субтилис», отличалась высоким содержанием белка и жира в теле, что свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии рыб.

Положительный эффект применения пробиотика можно объяснить тем что, в состав пробиотического препарата входят ферменты, которые способствуют быстрому расщеплению, а также лучшему усвоению пищи.

При изучении гематологических показателей молоди отмечали, увеличение уровня гемоглобина в опытном варианте у стерляди -

на 9%, у русского осетра – на 2 %. Общий объем эритроцитов был также выше у рыб опытной группы. Наибольшее количество белка в плазме крови было отмечено у рыб опытной группы. Количество лимфоцитов в крови было выше у рыб выращенных на комбикорме с пробиотиками.

Проведенный комплексный анализ рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических показателей позволил установить целесообразность использования пробиотика «Субтилис» в составе производственных комбикормов для осетровых рыб.

ГЛАВА VII. ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «СУБТИЛИС» НА МИКРОБНЫЙ ФОН ВОДЫ И ВЫРАЩИВАЕМОЙ РЫБЫ

Бактериологическая оценка качества воды из рыбоводных бассейнов показала, что при кормлении рыб комбикормом, содержащим пробиотический препарат «Субтилис» общий микробный фон воды изменялся в сторону снижения общего микробного числа с $3,1 \times 10^3$ до $2,1 \times 10^2$ КОЕ/мл. Вода из контрольных бассейнов характеризовалась относительно стабильным микробным фоном от $3,5 \times 10^3$ до $7,9 \times 10^3$ КОЕ/мл. Кроме того, в воде контрольных бассейнов отмечалась условно-патогенная оксидазоположительная микрофлора – 3,7-7,6%, и была представлена микроорганизмами 7 видов: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes latus*, *Alcaligenes sp.*, *Flavobacterium aquatile*, *Plesiomonas shigelloides*, *Plesiomonas sp.* Доля их в общем водном микробиоценозе невелика, однако при воздействии неблагоприятных факторов среды они могут явиться причиной заболеваний рыб или сопутствовать септическим процессам.

Из жабр и поверхности тела выращиваемых рыб контрольной группы выделялись оксидазоположительные микроорганизмы, характерные для водного микробного пейзажа, однако этот спектр менее разнообразен и представлен 5 видами: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sp.*, *Flavobacterium aquatile*, *Plesiomonas shigelloides*, *Plesiomonas sp.*

В воде из бассейнов, а также на поверхности тела рыб которых кормили комбикормом, содержащим пробиотический препарат «Суб-

тилис», условно-патогенной оксидазоположительной микрофлоры выявлено не было.

Результаты бактериологических исследований указывают на положительное влияние пробиотика «Субтилис» на микрофлору воды и выращиваемых рыб, что выражалось в отсутствии оксидазоположительных микроорганизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе научно обосновано применение пробиотика «Субтилис» в составе комбикормов для осетровых рыб. Спорообразующие пробиотики «Субтилис» производятся в виде двух форм: сухой и жидкой. В жидкой форме бактерии находятся в активной форме, однако ее достаточно сложно добавлять в корма. Сухая форма является наиболее технологичной, так как споровая культура легко выдерживает процесс приготовления комбикормов.

При проведении исследований нами установлено, что поверхностное нанесение на сухой комбикорм с повышенным уровнем контаминации пробиотика «Субтилис» в дозе 0,1 мл/кг приводит к уменьшению ее уровня и может незначительно продлить возможность использования кормов хранившихся на хозяйствах.

Значительный интерес представляет использование пробиотического препарата «Субтилис» для профилактики и лечения раневых поражений осетровых рыб, которые неизбежно возникают при их промышленном выращивании.

Введение в состав комбикорма пробиотического препарата «Субтилис» в количестве 40 г/кг корма оказало положительное влияние на рост, выживаемость и жизнестойкость осетровых рыб различных видов и возрастных групп.

Результаты бактериологических исследований указывают на положительное влияние пробиотика «Субтилис» на микрофлору воды и поверхностную микрофлору рыб, что выражается в отсутствии оксидазоположительных микроорганизмов в воде и на поверхности тела рыб.

ВЫВОДЫ

1. При обработке комбикормов жидкой формой пробиотика «Субтилис» в дозах от 0,1 до 0,7 мл/кг наблюдается постепенное снижение их обсемененности. Микробный фон начинает снижаться с 30-х

суток после нанесения препарата. Общая бактериальная обсемененность кормов в этот период составляет 230-280 тыс. микробных клеток в 1 г. Оптимальной нормой нанесения пробиотика для снижения обсемененности кормов является 0,1 мл/кг.

2. Введение в корма для осетровых рыб пробиотического препарата «Субтилис», оказывает позитивный эффект на заживление кожных покровов осетровых рыб увеличивая ее скорость, а также приводит к увеличению выживаемости травмированных рыб на 6%.

3. Использование пробиотика «Субтилис» в составе стартовых комбикормов стимулирует рост молоди осетровых рыб, способствует повышению ее жизнестойкости и улучшению физиологического состояния. Наиболее эффективно длительное использования комбикорма с пробиотиком, которое приводит к увеличению прироста на 18%, а выживаемости на 10 %.

4. Выращивание на промышленных предприятиях осетровых рыб с использованием продукционных комбикормов с добавлением пробиотика «Субтилис» оказывает ростостимулирующий эффект – увеличение прироста в 1,8 раза по сравнению с контролем.

5. При кормлении рыб комбикормом, содержащим пробиотический препарат «Субтилис» общий микробный фон воды изменяется в сторону снижения общего микробного числа с $3,1 \times 10^3$ до $2,1 \times 10^2$ КОЕ/мл, тогда как в контрольных бассейнах остается стабильным.

6. Установлено положительное влияние пробиотика «Субтилис» на микрофлору воды и выращиваемых рыб, что выражается в отсутствии оксидазоположительных микроорганизмов. При кормлении рыб комбикормом не содержащим пробиотик «Субтилис» в воде рыбоводных бассейнов отмечается наличие условно-патогенной оксидазоположительной микрофлоры – 3,7-7,6% от общего микробного числа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Осетровым рыбоводным заводам рекомендуется использовать пробиотический препарат «Субтилис» в составе стартовых и продукционных комбикормов, что позволяет получать устойчивые высокие результаты выращивания.

2. Для улучшения физиолого – биохимического состояния выращиваемой молоди осетровых рыб рекомендуется вводить «Субтилис» в состав комбикормов.

3. Для уменьшения обсемененности комбикормов патогенными и условно-патогенными бактериями, рекомендуется использовать пробиотик Субтилис в жидкой форме, в которой бактерии антагонисты находятся в активной форме

4. При наличии на поверхности тела выращиваемых рыб повреждений рекомендуется вводить в состав комбикорма пробиотический препарат «Субтилис».

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шульга Е.А., Болонина Н.В. Выращивание молоди донской стерляди на искусственном комбикорме ОТ-7 с добавлением пробиотика // Вестник КБГУ. Серия Биологические науки. – Вып. 6. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2004. - С. 75-77.

2. Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Харламова Ю.В., Митрофанова М.А., Шульга Е.А. Использование вкусовых добавок в составе комбикормов для осетровых рыб // Научные подходы к решению проблем производства продуктов питания: Межвузовский сборник научных трудов. – Ростов – на – Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2004. – С. 125-127.

3. Пономарев С.И., Ларцева Л.В., Шульга Е.А., Пономарева Е.Н. Санитарно-микробиологическая характеристика искусственных кормов, используемых в осетроводстве // Вестник КБГУ. Серия Биологические науки. – Вып. 6. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2004. - С. 7-10.

4. Ларцева Л.В., Шульга Е.А., Пузанков И.В. Санитарно-микробиологическая характеристика искусственных кормов, используемых в осетроводстве // Вестник АГТУ. - № 2(21). – Астрахань: Астр. гос. техн. ун-т, 2004. – С. 61-66.

5. Шульга Е.А., Лапухин Ю.А. Эффективность применения пробиотика «Субтилис» в составе продукционных комбикормов для осетровых рыб // Материалы первой ежегодной научной конференции студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН– Ростов – на – Дону: 2005. – С. 340-341.

6. Ponomarev S.V., Ponomareva E.N., Grozesku J.N, Bahareva A.A., Sorokina M.N., Shulga E.A. Use biologically active substances injections to improve quality of sturgeon species gonadal material //

12

Extended Abstracts Aquaculture. 5th International Symposium on Sturgeon (Ramsar, Iran, 9 – 13 May 2005) – Ramsar, 2005. - P.105-106.

7. Шульга Е.А., Потапов Д.Э., Федоровых Ю.В. «Субтилис» - эффективный препарат для повышения выживаемости молоди рыб // Материалы второй ежегодной научной конференции студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН – Ростов – на - Дону: 2006. – С. 48-49.

8. Шульга Е.А. Пробиотик субтилис в комбикормах для стерляди // Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны: Тезисы докладов международной научной конференции. – Ростов – на - Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2006. – С. 155-167.

9. Шульга Е.А. Пробиотик субтилис в комбикормах для стерляди // Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны: Материалы международной научной конференции. – Ростов – на – Дону. 2007. – С. 101-103.

10. Шульга Е.А., Бахарева А.А., Грозеску Ю.Н. Общая санитарно-микробиологическая характеристика комбикормов, используемых при выращивании молоди осетровых рыб // Фундаментальные аспекты биологии в решении актуальных экологических проблем: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения К.В. Горбунова, 10-12 декабря 2008 года, г. Астрахань: Астрахань, ООО «КПЦ «ПолиграфКом», 2008. – С. 295-297.

Подписано в печать 14.01.09 г. Тираж 110 экз. Заказ 5
Типография ФГОУ ВПО «АГТУ», тел. 61-45-23
г. Астрахань, Татищева 16ж.