

УДК 597.442:597-113.4:639.3.043

**ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ КОРМОВ  
НА РОСТ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МОЛОДИ СТЕРЛЯДИ**

*И.В. Бурлаченко, К.Б. Аветисов (ВНИРО)  
Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова (ВНИИПРХ)*

Качество комбикормов является одним из определяющих условий успешного выращивания рыб в аквакультуре, и особенно для заводского воспроизводства. В настоящее время разработаны и широко используются комбикорма, обеспечивающие в соответствующих условиях культивирования не только реализацию потенциала роста рыб, но и получение физиологически полноценных организмов. В то же время, нарушение технологии обработки сырья, изготовления и хранения готовой продукции (в частности, повышенная влажность и высокая температура) приводят к снижению качества кормов до такой степени, что их применение не только отрицательно сказывается на темпе роста, физиологическом состоянии рыб, но и в ряде случаев вызывает их гибель. К факторам, способным ухудшать качество кормов, можно отнести образование в них токсических веществ, представляющих собой продукты перекисного окисления липидов, метаболиты микроорганизмов — мико- и бактериальные токсины. В настоящее время знания о токсических свойствах кормовых продуктов ограничены. Механизм действия многих токсических компонентов неизвестен, и отсутствуют эффективные противоядия [Тутельян, 1985а, б].

Отрицательное влияние на рыб продуктов перекисного окисления липидов, входящих в состав кормов, описано во многих публикациях [Абрамова и др., 1981; Картавцева и др. 1986, 1987 и др.] В работах В. Галаша [1987, 1988] рассмотрено развитие у карпа патологических процессов под действием трихотеценовых микотоксинов.

В то же время одним из путей контаминации кормов чужеродными веществами является бактериальная обсемененность в результате размножения бактерий в благоприятных условиях как с образованием токсинов, так и без них. Действие на комбикорма и рыб высокой бактериальной обсемененности практически не изучено.

Для сельскохозяйственных животных при ветеринарно-санитарном контроле кормов узаконены определения количества бактерий паратифозной группы, энтеропатогенных штаммов кишечной палочки и анаэробов. Однако для рыб, температура тела которых значительно ниже, чем у сельскохозяйственных животных, их опасность не доказана. Допустимые значения общей бактериальной обсемененности рыбных кормов не определены [Марченко, 1987]. Между тем, имеются сведения, что присутствие в комбикормах различных энтеробактерий, стрептококков, псевдомонад может играть определенную роль в возникновении различных заболеваний рыб [Методические указания по диагностике алиментарных токсикозов, 1999]. Причем, метаболические эффекты интоксикации могут появляться задолго до проявления ее общих признаков. Поэтому нами была предпринята попытка определить влияние контаминации стартовых комбикормов наиболее распространенными представителями микрофлоры кормо-

вых компонентов — *Vac. mesentericus* и *Citrobacter* — на рост, состояние внутренних органов и процессы обмена веществ у молоди стерляди — одного из ценных объектов заводского воспроизводства и аквакультуры.

**Методика.** Объектами исследований служили две группы бактерий, часто встречающихся в комбикормах. Первая — *Vac. mesentericus* (картофельная палочка). Эти бактерии были выбраны как наиболее распространенные в ходе выполненного нами предварительного анализа 14 образцов кормов, применение которых в большинстве случаев сопровождалось заболеваниями рыб и птиц. Во время исследований было обнаружено, что *Vac. mesentericus* обладает сильной ферментативной, в том числе протеолитической активностью, а также является антагонистом по отношению к другим микроорганизмам, что дало основание предположить ее агрессивность и возможное отрицательное действие на качество корма и организм рыб.

Вторая группа бактерий — это род *Citrobacter*, представители которого относятся к кишечной группе и считаются условно патогенными. Бактерии обладают явно выраженными гемолитическими и протеолитическими свойствами, часто встречаются в комбикормах, а также во внутренних органах рыб при различных патологических процессах. В ассоциации с другими бактериями кишечной группы они усиливают патогенные свойства последних и тяжесть заболевания рыб [Жезмер и др., 1991]. Пищевая рыба, пораженная цитробактером, быстро портится и требует значительной термической обработки перед употреблением в пищу, т.к. эти бактерии термостойки и могут вызывать диспептические явления у человека.

Известно, что высокая зараженность корма бактериями может оказывать на организм комплексное воздействие как посредством изменения химического состава и накопления в корме продуктов метаболизма микроорганизмов, так и непосредственным воздействием на рыб бактериальных токсинов. Учитывая сложность определения действия каждой из этих составляющих, в частности выделение и количественное определение бактериальных токсинов, мы изучали влияние только общей микробной обсемененности корма, которую выражали в колониеобразующих единицах на 1 г корма (КОЕ/г).

Для испытаний был взят стартовый комбикорм для осетровых рецепта ОСТ-5, содержащий влаги 8,7%, сырого протеина 55%, жира 11,2% (энергия 3252 ккал/кг), изготовленный на заводе рыбных комбикормов ЗАО Агропромсервис в городе Сергиев-Посад. Первоначальная обсемененность корма составляла 480000 КОЕ/г (в том числе 220000 спорных форм *Vac. mesentericus* и 260000 *Pseudomonas* sp.). Предполагаемую степень заражения испытуемых вариантов кормов выбирали, исходя из данных об уровнях обсемененности кормов, которыми питались заболевшие рыбы, указанных в «Рекомендациях по борьбе с алиментарными болезнями рыб» (1999), а также собственных данных, полученных в ходе предварительного анализа кормов.

Культуры микроорганизмов наращивали на плотных питательных средах (*Vac. mesentericus* на эритроит-агаре, *Citrobacter* — на среде Эндо) в течение 2-х суток в термостате при температуре 25 и 37 °С соответственно. Затем делали смыв культур физиологическим раствором. Концентрацию бактерий определяли по стандарту оптической мутности [Черкес и др., 1987] и проводили соответствующие разбавления. Так как уровень обсемененности исходного корма составлял  $0,48 \times 10^6$  КОЕ/г, при экспериментальном заражении первоначально предполагалось увеличить ее значение сначала на порядок, а затем еще дважды — в два раза. Растворы с культурами вносили в порции корма и тщательно перемешивали. Для определения уровня заражения проводили посеы этих кормов на те же питательные среды. Однако фактическая обсемененность кормов в вариантах с *Vac. mesentericus* составила  $4,0 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^6$ ,  $28 \times 10^6$ , а обсемененность цитробактером —  $6,6 \times 10^6$ ,  $8,5 \times 10^6$ ,  $13,0 \times 10^6$ . Несоответствие планируемого и фактического уровня заражения кормов может быть связано с действием неучтенных нами факторов, в частности, с влиянием присутствовавших в исходном корме спорных форм *Vac. mesentericus* и других микроорганизмов. Для поддержания относительно стабильного уровня заражения кормов по мере их расходования каждые 10 дней проводили обсеменение новых порций кормов.

Так как бактерии могут инициировать или усиливать окисление липидов кормов, а те, в свою очередь, вызывать различные патологические процессы [Шатерников, 1985], в общих липидах кормов были определены значения кислотных чисел. В начале опыта кислотное число липидов контрольного корма составляло 18,5, а в конце — 34,3 мл КОН/г. В зараженных кормах в конце экспериментов оно не превышало 55 мл КОН/г, что лишь незначительно выше допустимых норм [Методические указания по диагностике алиментарных токсикозов, 1999].

Испытания проводили на молоди стерляди *Acipenser ruthenus L.*, полученной из Конаковского тепловодного осетрового хозяйства ВНИИПРХ. Эксперименты проводили в аквариальной ВНИРО в июле – октябре 2000 г.

Молодь начальной массой 7–8 г содержали в проточных аквариумах емкостью 300 л. В каждый аквариум было посажено по 45 акклиматизированных рыб. Скорость водообмена составляла 0,1 л/мин, концентрация растворенного в воде кислорода — 80–85% насыщения. Температура воды в период кормления колебалась от 23,0 до 25,6 °С, (в среднем 24,8 °С). Предварительный акклиматизационный период составил 21 день, основной период ростовых экспериментов — 45 сут. Экспериментальное голодание продолжалось 40 сут при температуре от 18,0 до 22,0 °С (в среднем 19,9 °С). Молодь кормили по поедаемости 6–8 раз в светлое время суток. Отход рыб за период акклиматизации составил 46%.

О биологическом действии кормов на рыб судили по показателям выживаемости, а также абсолютного и среднесуточного приростов. Среднесуточный прирост (скорость роста) рассчитывали по формуле

$$CW = \frac{2 \times (M_1 - M_0)}{(M_1 + M_0) \times t} \times 100\%,$$

где CW — среднесуточный относительный прирост в % от средней массы рыб за период опытов;  $M_0$ ,  $M_1$  — масса рыб в начале и конце опытов соответственно, г;  $t$  — продолжительность опытов, сут.

Физиологическое состояние рыб определяли по результатам патолого-анатомического анализа внутренних органов, а также по комплексу физиолого-биохимических показателей, характеризующих химический статус и изменения в обмене веществ у рыб.

Состояние внутренних органов — кишечника, печени, желчного пузыря, почек, вступающих в непосредственный контакт с токсическими веществами, а также участвующих в их разложении и выведении, оценивалось на основании визуально выявляемых изменений цвета, размеров и консистенции органов. Кроме того, определяли степень обсемененности этих органов с идентификацией преобладающих микроорганизмов. Для этого проводили прямые посевы фрагментов органов на плотные питательные среды: на эритроцит-агар для определения общего микробного числа, среду Эндо для выявления бактерий кишечной группы и среду Сабуро для определения грибов в соответствии со стандартными методами [Мусселиус и др., 1983].

Оценку воздействия кормов на организм рыб проводили согласно методическим рекомендациям М.А. Щербины [1983] на основании учета изменений массы и химического состава тела рыб в начале и конце опытов. Для этого определяли содержание в теле рыб воды, сухого вещества, сырого протеина, общих липидов, зольных элементов. Углеводы определяли по разности, энергию рассчитывали по коэффициентам Рубнера. Для характеристики изменений в обмене веществ использовали показатель «концентрация веществ и энергии в единице прироста», который рассчитывали по формуле

$$K = \frac{M_1 \Pi_1 - M_0 \Pi_0}{M_1 - M_0} \times 10,$$

где K — содержание питательного вещества (мг) или энергии (ккал в 1 г прироста рыб);  $M_0$  и  $M_1$  — начальная и конечная масса рыб соответственно, г;

$\Pi_0$  и  $\Pi_1$  — содержание питательных веществ в теле рыб соответственно в начале и конце экспериментов, %.

Кроме того, на основании данных об изменении массы и химического состава рыб от начала к концу опытов рассчитывали накопление веществ и энергии за период роста по формуле

$$H = \frac{M_1\Pi_1 - M_0\Pi_0}{M_0} \text{ мг (или ккал на 1 г начальной массы).}$$

Этот показатель является интегральным отражением накопления массы и изменений в химическом и энергетическом составе организма рыб за период опыта.

Для оценки последствий возможной интоксикации на организм рыб были проведены специальные опыты по голоданию. Потери веществ и энергии рассчитывали по выше приведенным формулам. За  $M_0$  и  $\Pi_0$  были приняты значения, полученные в конце ростовых опытов, а за  $M_1$  и  $\Pi_1$  — значения, полученные после голодания.

**Результаты и обсуждение.** Схема экспериментов и рыбоводные результаты выращивания молоди стерляди на комбикормах с различной бактериальной обсемененностью приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты выращивания молоди стерляди на комбикормах, обсемененных различными микроорганизмами (период экспериментов 45 сут)

Показатели	Уровень обсемененности кормов, КОЕ/г						
	0,48×10 <sup>6</sup> (контроль)	<i>Bac. mesentericus</i>			<i>Citrobacter</i>		
		4,0×10 <sup>6</sup>	6,0×10 <sup>6</sup>	28×10 <sup>6</sup>	6,6×10 <sup>6</sup>	8,5×10 <sup>6</sup>	13,0×10 <sup>6</sup>
Масса рыб							
в начале опыта, г	8,2	8,2	7,0	7,7	6,7	7,2	7,1
в конце опыта, г	25,7	24,7	25,0	26,5	23,5	23,3	22,7
Абсолютный прирост, г	17,5	16,5	18,0	18,9	16,8	16,1	15,6
Среднесуточный прирост, СW%	2,99	2,76	2,97	2,9	2,93	2,78	2,75
Выживаемость, %	100	100	100	100	100	100	100

Как видно из табл. 1, по сравнению с контрольным вариантом, питание молоди стерляди в течение 45 сут комбикормами с различной бактериальной зараженностью не оказало сильно выраженного влияния на ее выживаемость и скорость роста. На фоне 100%-ной выживаемости среднесуточный прирост рыб в разных вариантах был меньше, чем в контроле, на 2–8%, что могло бы свидетельствовать о незначительном отрицательном воздействии или о полном его отсутствии.

Однако патолого-анатомический осмотр рыб, проведенный на разных этапах экспериментов, позволил обнаружить существенные изменения во внутренних органах. Известно, что в норме печень имеет коричневый цвет и плотную консистенцию, желчный пузырь — темно-зеленый; почки должны иметь четкую границу и также, как селезенка, быть темно-вишневыми. Согласно данным табл. 2, во всех экспериментах 50% рыб и более характеризуются той или иной степенью патологических нарушений во внутренних органах. Эти изменения у молоди во всех вариантах, в том числе и в контроле, заключались в изменении цвета печени (от светло-серого до серо-глинистого). По консистенции печень была рыхлой или даже распадалась при прикосновении. Желчный пузырь таких рыб имел светлую окраску, характерную для воспаленного состояния.

После голодания, когда обычно происходит освобождение организма от алиментарных ядов, у рыб всех вариантов (за исключением варианта заражения цитробактером 6,6×10<sup>6</sup>) была отмечена некоторая нормализация цвета и консистенции печени, что свидетельствовало о ее частичной регенерации. Бак-

Патолого-анатомическая картина и микробиоценоз внутренних органов молоди стерляди при различных условиях эксперимента

Период опыта, показатели	Печень				Почки				Кишечник		
	Изменения цвета, %	Нарушение структуры, %	Бактериальная обсемененность*		Изменения цвета, %	Нарушение структуры, %	Бактериальная обсемененность		Состояние	Бактериальная обсемененность	
			число колоний	преобладающие виды			число колоний	преобладающие виды		число колоний	преобладающие виды
Начало кормления	50	Нет	Ед.*	Аеромонас	80	Нет	Ед.	Аеромонас			Аеромонас
Окончание кормления	50	100	0	0	100	100	"	Acinetobacter	Норма	Умерен.	Аеромонас, Acinetobacter, Citrobacter
голодания	25	25	0	0	100	30	"	Citrobacter, БГКП	"	"	"
Окончание кормления	50	0	0	0	100	100	"	Moraxella	Отсутствие слизи	Обильн.	Аеромонас, БГКП Staph. epid.
голодания	0	0	Ед.	Аеромонас	100	75	Умерен.	Аеромонас Pseudomonas	Норма	Ед.	Аеромонас
Окончание кормления	50	100	Умерен.	0	100	70	"	"	Отсутствие слизи	Умерен.	Pseudomonas Bac. mesentericus, Staph. epid.
голодания	0	0	Ед.	0	70	70	Ед.	Аеромонас	Норма	"	Аеромонас
Окончание кормления	50	50	"	Аеромонас	100	70	"	"	"	Обильн.	Аеромонас, Pseudomonas, Staph. epid., Bac. mesentericus, плесень
голодания	50	75	"	Аеромонас	100	50	"	Аеромонас	"	Ед.	Аеромонас, БГКП
Окончание кормления	50	50	0	0	100	50	0	0	Воспаление заднего отдела	Умерен.	Pseudomonas, Staph. epid., Bac. mesentericus, плесень
голодания	0	0	Ед.	Аеромонас	100	50	Ед.	Аеромонас	Норма	0	0

\* Бактериальная обсемененность: ед. — единичный рост (до 10 колоний); умерен. — умеренный рост (до 300 колоний); обильн. — обильный рост (свыше 300 колоний).

териальная обсемененность печени в контрольном варианте отсутствовала, а в опытных была представлена единичными колониями.

Состояние почек было значительно хуже. Патология была обнаружена у 50–70% рыб. Наиболее часто встречались светлый цвет и обводнение почек, рыхлая или разрушающаяся консистенция. Светлая окраска почек наряду с бледным, розовым цветом селезенки\* является признаком анемии. В ряде случаев, напротив, была отмечена кровенаполненность почек, связанная с нарушением целостности стенок кровеносных сосудов. После голодания негативные изменения цвета и консистенции почек несколько уменьшились.

Бактериальная обсемененность почек колебалась от 10 до 300 колоний бактерий рр. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, а также бактерий группы кишечной палочки.

Бактерии первых двух родов являются типичными представителями водных микробиоценозов и обычной микрофлоры рыб, хотя некоторые их штаммы могут обладать вирулентностью. В то же время бактерии р. *Moraxella*, *Acinetobacter* являются характерными показателями органического загрязнения водной среды [Бычкова и др., 2000]. Следует подчеркнуть, что *Vac. mesentericus* и *Citrobacter* в посевах печени и почек выявлены не были. Особое внимание было уделено состоянию кишечника рыб, т.к. именно он является местом непосредственного контакта токсических веществ пищи с организмом рыб. После окончания ростовых опытов кишечника рыб из контрольного варианта были в нормальном состоянии. В вариантах, где корма были заражены *Vac. mesentericus*, в кишечниках отмечено отсутствие слизи. Известно, что слизь содержит ферменты кишечного сока и не только участвует в переработке пищевых веществ в зоне пристеночного пищеварения, но и выполняет защитную функцию [Уголев, 1963, 1984; Кузьмина, 1995], поэтому ее отсутствие свидетельствует об ухудшении физиологического состояния рыб и проявлении патологии. В варианте наибольшего заражения корма *Citrobacter* ( $13 \times 10^6$ ) у подопытных рыб было констатировано воспаление заднего отдела кишечника. После голодания состояние слизистой и заднего отдела кишечника пришло в норму.

Что касается микрофлоры кишечника молоди разных вариантов кормления, то она была представлена преимущественно бактериями рр. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, бактериями группы кишечной палочки, р. *Moraxella* и *Acinetobacter*. Кроме того, отмечены *Staphylococcus epidermidis*, единично — *Vac. mesentericus*, а в вариантах с цитробактером — плесень. Таким образом, *Vac. mesentericus* и *Citrobacter* даже при максимальной обсемененности кормов ( $28-13 \times 10^6$  КОЕ/г) не оказали существенного влияния на микрофлору кишечника молоди стерляди.

Подводя итог анализу состояния и обсемененности внутренних органов у молоди стерляди, питавшейся комбикормами, зараженными *Vac. mesentericus* и *Citrobacter*, можно говорить, что высокая обсемененность кормов вызвала изменения цвета и нарушение структуры паренхиматозных органов, развитие анемии, изменения в кишечнике (нарушение секреции слизи, воспаление заднего отдела), что свидетельствует о развитии патологических процессов [Журавель и др., 1968]. Причем отрицательное воздействие цитробактера, относящегося к кишечной группе, было выражено наиболее сильно.

Все эти патологии являются признаками различных алиментарных токсикозов, отмеченных у многих видов рыб [Галаш, 1988; Метод. указания по диагностике алиментарных патологий, 1999 и др.]. Подтверждением алиментарной природы изменений во внутренних органах молоди стали регенерация и нормализация их состояния, зарегистрированные по окончании голодания рыб. Кроме того, следует отметить, что, несмотря на наличие патологических изменений во внутренних органах, присутствия в них картофельной палочки и цитробактера не обнаружено. Их количество в кишечнике по сравнению с обсемененностью корма было незначительным. Все это свидетельствует о довольно эффективных защитных механизмах пищеварительного тракта молоди стерляди,

\* Розовый цвет селезенки отмечен почти у всех рыб, и поэтому этот показатель не внесен в табл. 2.

препятствующих проникновению в организм чужеродных бактерий, и подтверждает данные В. Кузьминой [1995].

В связи с высокой выживаемостью и отсутствием внешних проявлений патологии у молоди, с одной стороны, и значительными изменениями во внутренних органах — с другой, представлялось целесообразным выяснить, влияет ли обсемененность кормов бактериями на обмен веществ рыб. Изменения химического статуса молоди приведены в табл. 3.

Таблица 3  
Химический статус молоди стерляди в различные периоды эксперимента

Показатели, % сырой ткани	До начала кормления	Уровень обсемененности кормов, КОЕ/г						
		0,48×10 <sup>6</sup> (контроль)	<i>Vac. mesentericus</i>			<i>Citrobacter</i>		
			4,0×10 <sup>6</sup>	6,0×10 <sup>6</sup>	28×10 <sup>6</sup>	6,6×10 <sup>6</sup>	8,5×10 <sup>6</sup>	13,0×10 <sup>6</sup>
<i>После окончания кормления</i>								
Вода	86,5	77,6	78,5	79,4	79,7	80,1	80,0	81,5
Сухое вещество	13,5	22,4	21,5	20,6	20,3	19,9	20,0	18,5
Сырой протеин	9,0	13,0	12,3	11,5	11,4	11,7	11,0	10,8
Общие липиды	1,4	4,6	4,1	3,9	3,6	3,9	3,9	3,0
Углеводы	1,0	1,7	1,2	2,2	2,4	1,5	2,3	1,9
Зольные элементы	2,1	3,1	3,9	3,0	2,9	2,9	2,8	3,0
<i>После окончания голодания</i>								
Вода	—	80,9	82,4	83,5	82,5	84,4	83,5	82,7
Сухое вещество	—	19,1	17,6	16,5	17,5	15,6	16,5	17,3
Сырой протеин	—	11,4	10,6	10,6	10,3	9,7	9,7	10,8
Общие липиды	—	1,9	1,6	1,3	1,3	0,8	0,8	0,8
Углеводы	—	1,7	1,9	1,1	2,5	1,5	2,4	1,8
Зольные элементы	—	4,1	3,5	3,5	3,4	3,6	3,6	3,9

Судя по данным табл. 3, достаточно четко проявилась тенденция снижения содержания сухого вещества за счет падения уровня белка и липидов по мере возрастания обсемененности. Наибольшие изменения отмечены в варианте с максимальной концентрацией в корме цитробактера.

Голодание рыб в течение 40 сут во всех случаях привело к обводнению организма и снижению содержания сухого вещества, протеина, и особенно липидов. В большинстве случаев отмечено повышение уровня зольных элементов. Максимальные сдвиги наблюдались в варианте заражения картофельной палочкой  $4,0 \times 10^6$ .

Химический статус указывает в основном на соотношение основных групп питательных веществ в организме рыб. В то же время, за период экспериментов масса молоди значительно увеличилась и не была одинаковой у рыб из различных вариантов. Поэтому для получения интегральной характеристики, отражающей количественные изменения в массе тела и химическом составе, были рассчитаны показатели накопления веществ и энергии по отношению к единице (1 г) начальной массы (табл. 4).

У рыб, питавшихся кормами, обсемененными *Vac. mesentericus*, по сравнению с контролем накопление массы шло более интенсивно (за исключением варианта  $4,0 \times 10^6$ ). При этом наблюдалось большее (на 6–21%) накопление воды и несколько меньшее, чем в контроле, накопление сухого вещества, в том числе на 7–12% сырого протеина и на 4–13% липидов. Синтез углеводов, напротив, был активнее, чем в контрольном варианте, с максимумом при наибольшей обсемененности кормов. Накопление энергии в вариантах заражения  $4,0 \times 10^6$  и  $28,0 \times 10^6$  было наименьшим.

Таким образом, оценивая количественные показатели накопления, можно говорить, что обсеменение кормов картофельной палочкой как бы стимулировало рост молоди стерляди. Однако это было обусловлено обводнением массы рыб и снижением накопления белка, липидов и энергии на фоне увеличения запаса

Таблица 4

**Накопление веществ и энергии в организме молоди стерляди при выращивании на комбикормах, обсемененных *Vac. mesentericus* и *Citrobacter*, и их потери при экспериментальном голодании (мг/г первоначальной массы)**

Показатели	Уровень обсемененности кормов, КОЕ/г			
	0,48×10 <sup>6</sup> естественный фон (контроль)	4,0×10 <sup>6</sup>	6,8×10 <sup>6</sup>	28,0×10 <sup>6</sup>
<b>Обсемененность кормов <i>Vac. mesentericus</i></b>				
<i>Период роста</i>				
Масса	2136	2009	2596	2441
Вода	1571	1500	1993	1883
Сухое вещество	565	509	603	558
Сырой протеин	319	280	319	299
Общие липиды	128	111	124	104
Углеводы	42	46	75	77
Зольные элементы	75	72	85	78
Энергия, ккал/г	3,22	2,84	3,32	3,01
За счет белка, %	57	56	55	57
<i>Период голодания</i>				
Масса	110	127	252	181
Вода	58	66	69	120
Сухое вещество	52	61	83	61
Сырой протеин	31	30	34	30
Общие липиды	29	28	28	26
Углеводы	3	2	17	4
Зольные элементы	10*	1	4	1
Энергия, ккал/г	0,47	0,45	0,53	0,44
За счет белка, %	38	38	36	39
<b>Обсемененность кормов <i>Citrobacter</i></b>				
<i>Период роста</i>				
Масса	2136	2513	2245	2198
Вода	1571	1952	1734	1743
Сухое вещество	565	562	510	455
Сырой протеин	319	322	268	256
Общие липиды	128	121	114	82
Углеводы	42	39	58	47
Зольные элементы	75	80	70	70
Энергия, ккал/г	3,22	3,15	2,85	2,44
За счет белка, %	57	58	54	60
<i>Период голодания</i>				
Масса	110	165	58	51
Вода	58	96	14	26
Сухое вещество	52	69	45	25
Сырой протеин	31	36	19	7
Общие липиды	29	32	31	23
Углеводы	3	2	0,4*	4
Зольные элементы	10*	2*	5*	9*
Энергия, ккал/г	0,47	0,52	0,40	0,28
За счет белка, %	38	41	28	14

\* Приращение веществ

углеводов. При этом интересно отметить, что доля белка в энергетических накоплениях оставалась достаточно стабильной (55–57%).

Расчеты накопления веществ и энергии у рыб, питавшихся комбикормами, зараженными *Citrobacter*, выявили сходную картину (см. табл. 4). По сравнению с контролем на 1 г первоначальной массы накопление массы у молоди шло более активно, но медленнее, чем в вариантах с картофельной палочкой



(3–18%), и в основном за счет воды. В то же время, сухого вещества откладывалось в теле молоди соответственно меньше в основном за счет снижения накопленй сырого протеина (на 16–26%), и особенно липидов (на 5–36%), что обусловило и меньшее накопление энергии.

Сравнение абсолютных значений накопления веществ и энергии у рыб, питавшихся зараженными кормами, показало, что обсеменение корма цитробактером приводит к количественно более значимым сдвигам в обмене веществ.

Для характеристики количественных изменений в обмене веществ в процессах роста был использован предложенный М.А. Щербиной [1983] показатель «концентрация в единице прироста веществ и энергии». Он рассчитывался по формуле, приведенной в методической части, в мг на 1 г прироста молоди. Для большей наглядности и удобства анализа данные по концентрации веществ в приросте приведены в % по отношению к контрольному варианту (рисунок).

Согласно этим результатам, в вариантах обсеменения кормов *Bac. mesentericus* количество сырого протеина в приросте по сравнению с контролем уменьшилось на 7–17%, липидов — на 8–25%, углеводов — возросло на 15–45%. Общая обеспеченность прироста энергией снизилась на 6–17%. Доля энергии белка в общей энергии была близкой — 55–57%. Это свидетельствует о перестройке в обмене веществ по мере возрастания уровня обсемененности кормов. Она выразилась в торможении синтеза белка и липидов, обводнении и снижении энергоемкости прироста, однако при сохранении постоянства энергетической составляющей белка в общей энергии.

В вариантах с кормами, зараженными цитробактером, получены аналогичные, но более выраженные зависимости. При этом угнетение синтеза белка и липидов и гидратация прироста в количественном выражении были большими по сравнению не только с контролем, но и с вариантами с картофельной палочкой. Доля энергии за счет белка в общей энергии была близкой к ее доле в предыдущем варианте, но имела больший разброс (54–60%).

Таким образом, на основании показателя «концентрация веществ и энергии в единице прироста», удалось выявить скрытую интоксикацию, вызываемую обеими группами бактерий, несмотря на отсутствие смертности рыб и внешних признаков токсикоза. Она выразилась в изменении направленности обмена веществ в сторону обводнения организма, последовательном по мере возрастания степени обсемененности кормов торможении синтеза белка, и особенно липидов, причем в большей степени под действием бактерий рода *Citrobacter*.

Объективность этого вывода подтвердили данные, полученные в ходе экспериментального голодания. Несмотря на то, что при голодании организм рыб освобождается от влияния токсинов [Валова, 1999; Методические указания по диагностике алиментарных токсикозов у рыб, 1999], представлялось важным выяснить метаболический эффект последствий бактериальных метаболитов корма на поддерживающий обмен в процессе эндогенного питания.

Для этого кормление рыб было прекращено, и их выдерживали при средней температуре 19,8 °С в течение 40 сут, что по количеству градусо-дней (792) приблизительно соответствовало периоду зимнего голодания в естественных условиях. Изменения массы рыб и выживаемость приведены в табл. 5.

В относительных единицах потери массы рыб за период голодания составили от 5 до 25% (цитробактер —  $6,6 \times 10^6$  и картофельная палочка —  $6,0 \times 10^6$ ). Причем у молоди, питавшейся кормами, зараженными картофельной палочкой, они были выше, чем в контроле и в вариантах с цитробактером. Это при том, что рост рыб в вариантах обсеменения *Bac. mesentericus* был более активным. Однако наибольший интерес представляет значительное снижение выживаемости голодавших рыб (от 2 до 50%) в вариантах с зараженными кормами. При этом максимальная смертность (47 и 50%) отмечена при минимальной концентрации бактерий. В контроле гибели рыб не наблюдалось. В настоящее время эти факты не поддаются объяснению.

Изменения массы и выживаемость молоди стерляди, питавшейся  
зараженными кормами, после голодания в течение 792 градусо-дней

Показатели	Уровень обсемененности кормов, КОЕ/г						
	0,48×10 <sup>6</sup> (контроль)	<i>Vac. mesentericus</i>			<i>Citrobacter</i>		
		4,0×10 <sup>6</sup>	6,0×10 <sup>6</sup>	28×10 <sup>6</sup>	6,6×10 <sup>6</sup>	8,5×10 <sup>6</sup>	13,0×10 <sup>6</sup>
Масса рыб, г							
до голодания	25,7	24,7	25,0	26,5	23,5	23,3	22,7
после голодания	22,9	21,5	18,7	21,8	19,7	21,9	21,6
Абсолютные потери массы, г	2,8	3,2	6,3	4,7	3,8	1,4	1,1
Выживаемость, %	100	63	90	80	50	98	87

Расчеты утилизации веществ и энергии, а также степени их участия в тратах на поддерживающий обмен (по показателям «концентрации») позволили получить достаточно детальную характеристику метаболических процессов у голодающей молоди (см. табл. 4 и рисунок).

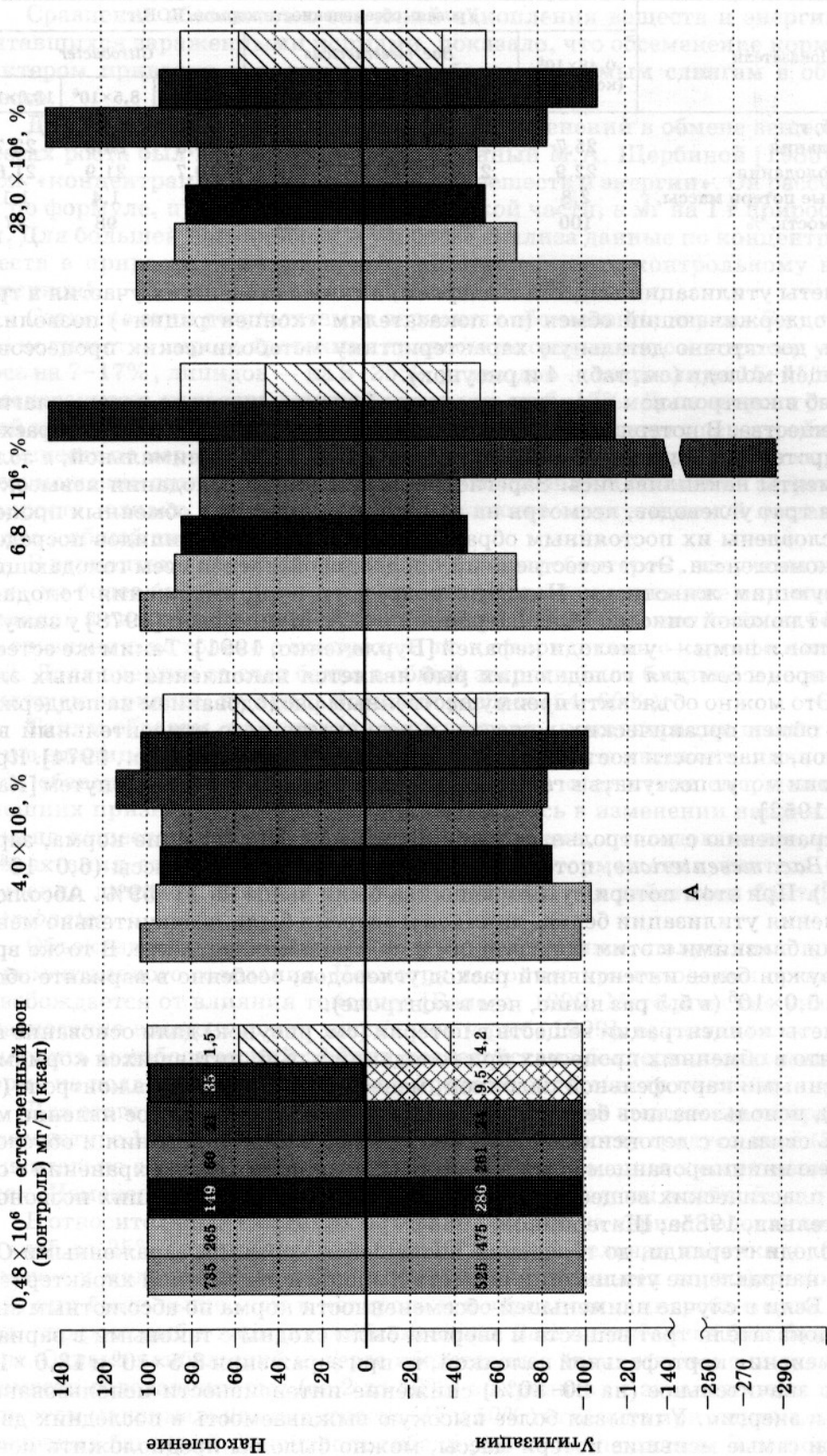
У рыб в контрольном варианте отмечены близкие значения потерь влаги и сухого вещества. В потерях сухого вещества приблизительно равным был расход сырого протеина и липидов. Утилизация углеводов была минимальной, а зольные элементы накапливались. Зарегистрированные при голодании невысокие значения трат углеводов, несмотря на их активное участие в обменных процессах, обусловлены их постоянным образованием из белков и липидов посредством глюконеогенеза. Этот естественный процесс свойственен всем голодающим или зимующим животным. Наличие подобного пути снабжения голодающих рыб глюкозой описано М.А. Щербиной и З.А. Мукосеевой [1978] у зимующих карпов и нами — у молоди кефалей [Бурлаченко, 1991]. Таким же естественным процессом для голодающих рыб является накопление зольных элементов. Это можно объяснить преимущественным расходом на поддерживающий обмен органических веществ, в результате чего относительный вес минералов, в частности костной ткани, возрастает [Щербина и др., 1974]. Кроме того, они могут поступать в голодающий организм осмотическим путем [Карзинкин, 1952].

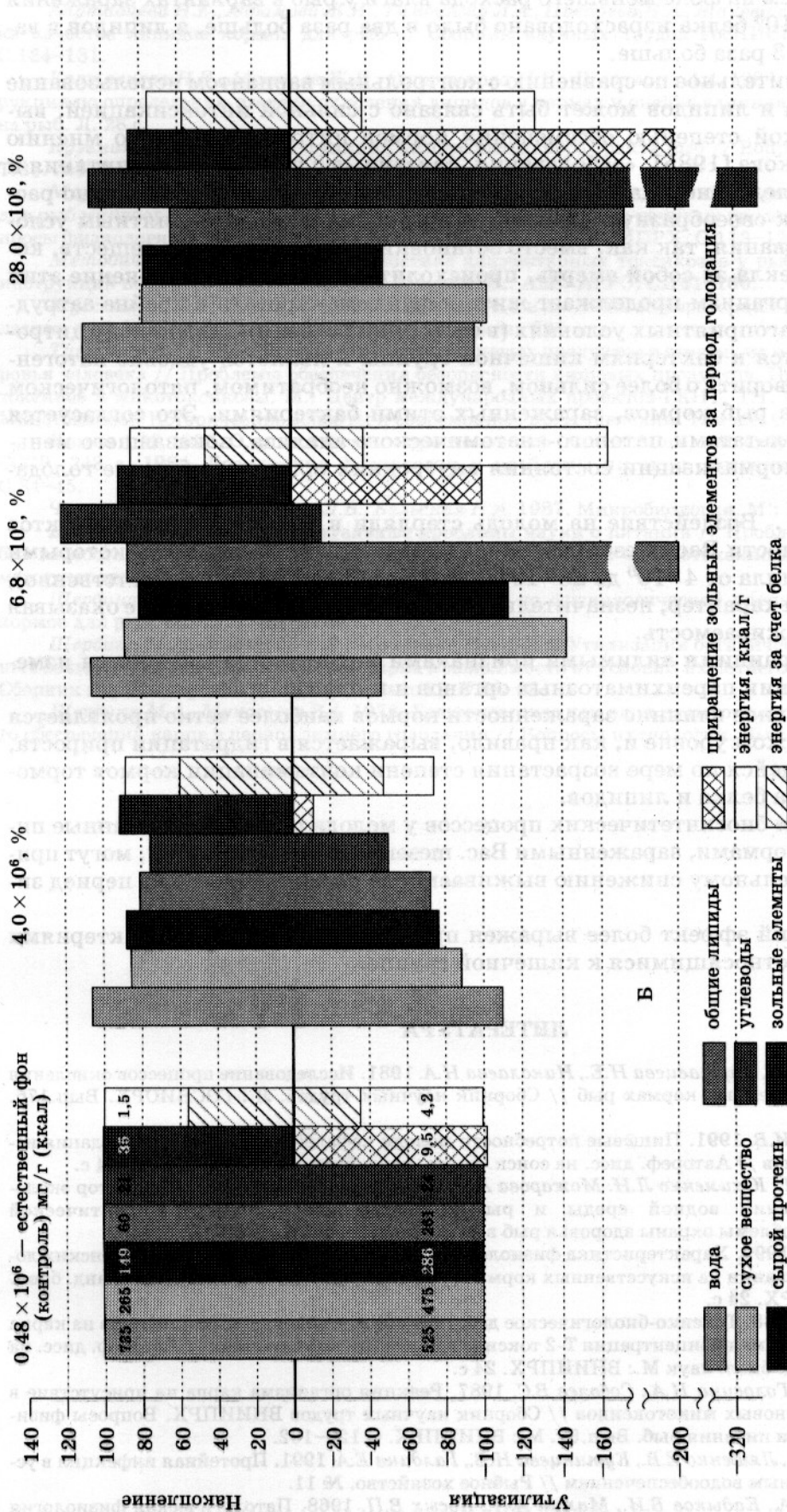
По сравнению с контрольным вариантом рыбы, получавшие корма, зараженные *Vac. mesentericus*, потеряли в 1,5–2,0 раза больше массы (6,0×10<sup>6</sup> и 28,0×10<sup>6</sup>). При этом потери сухого вещества были выше на 17–59%. Абсолютные значения утилизации белка, липидов и энергии были незначительно меньшими или близкими к этим показателям в контрольном варианте. В то же время обнаружен более интенсивный расход углеводов, особенно в варианте обсеменения 6,0×10<sup>6</sup> (в 5,5 раз выше, чем в контроле).

Расчеты концентрации веществ в потерях (см. рисунок) дали основание говорить, что в обменных процессах при голодании у рыб, питавшихся кормами, обсемененными картофельной палочкой, менее интенсивно, чем в контроле (на 16–52%), использовались белки и липиды (на 19–58%). Подобное явление может быть связано с детоксикацией организма рыб в ходе голодания и обусловленным ею иницированием компенсаторных механизмов для сохранения в организме пластических веществ, что наблюдается также и у высших позвоночных [Тутельян, 1985а; Шатерников, 1985].

У молоди стерляди, до голодания питавшейся кормами, зараженными *Citrobacter*, направление утилизации веществ и энергии имело иной характер (см. табл. 4). Если в случае наименьшей обсемененности корма по абсолютным значениям показатели трат веществ и энергии были сходны с таковыми в вариантах обсеменения картофельной палочкой, то при заражении 8,5×10<sup>6</sup> и 13,0×10<sup>6</sup> отмечено значительное (на 20–80%) снижение интенсивности использования веществ и энергии. Учитывая более высокую выживаемость в последних двух случаях и самые меньшие потери массы, можно было бы предположить меньшее отрицательное воздействие заражения кормов цитробактером. Однако рас-

Уровень обсемененности кормов





Концентрация веществ и энергии в единице прироста или потерь массы у молодых стерильных при питании комбикормами, обсемененными *Vac. mesentericus* (А), *Citrobacter* (Б), и экспериментальном голодании (в мг, ккал/г прироста или потерь массы и в % к контролю)

четы концентрации веществ в потерях (см. рисунок, Б) показали, что по сравнению с контролем на фоне меньшего расхода влаги у рыб в вариантах заражения  $8,5 \times 10^6$  и  $13 \times 10^6$  белка израсходовано было в два раза больше, а липидов в варианте СЗ — в 3 раза больше.

Столь значительное по сравнению с контрольным вариантом использование в тратах белка и липидов может быть связано с сильной интоксикацией, вызванной высокой степенью обсеменения кормов цитробактером. По мнению В.А. Шатерникова [1985], «заболевания, связанные с нарушениями питания и являющиеся следствием характерных изменений обмена веществ, можно рассматривать как своеобразную адаптацию организма к неблагоприятным условиям существования, так как, вместо остановки процессов обмена веществ, которая бы повлекла за собой смерть, происходит направленное изменение этих процессов, и организм продолжает жить и функционировать в крайне затрудненных и неблагоприятных условиях (в состоянии болезни)». Поскольку цитробактер относится к бактериям кишечной группы и является условно патогенным, можно говорить о более сильном, возможно необратимом, патологическом воздействии на рыб кормов, зараженных этими бактериями. Это согласуется также и с результатами патолого-анатомического анализа, показавшего меньшую степень нормализации состояния внутренних органов рыб после голодания.

**Выводы.** Воздействие на молодь стерляди в течение 40 сут продуктов жизнедеятельности *Vac. mesentericus* и *Citrobacter*, обсемененность которыми кормов составляла от  $4 \times 10^6$  до  $28 \times 10^6$  и от  $6,8 \times 10^6$  до  $13 \times 10^6$  (соответственно), носит скрытый характер, незначительно замедляя скорость роста и не оказывая влияния на выживаемость.

Наиболее ранними видимыми признаками интоксикации являются изменения в состоянии паренхиматозных органов и кишечника.

Отрицательное влияние зараженности кормов наиболее четко проявляется на метаболическом уровне и, как правило, выражается в гидратации прироста, сопровождающейся по мере возрастания степени контаминации кормов торможением синтеза белка и липидов.

Нарушения биосинтетических процессов у молоди стерляди, вызванные питанием комбикормами, зараженными *Vac. mesentericus* и *Citrobacter*, могут привести к значительному снижению выживаемости рыб (до 30–50%) в период зимовки.

Токсический эффект более выражен при обсеменении кормов бактериями р. *Citrobacter*, относящимися к кишечной группе.

## ЛИТЕРАТУРА

Абрамова Ж.И., Картавецва Н.Е., Николаева Н.А. 1981. Исследование процессов окисления липидов в искусственных кормах рыб // Сборник научных трудов. Л.: ГОСНИОРХ. Вып.176. С.103–112.

Бурлаченко И.В. 1991. Пищевые потребности молоди кефалей как основа для создания искусственных кормов // Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук М.: ВНИРО. 24 с.

Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Можарова А.И. 2000. Микробиоценоз как индикатор экологического состояния водной среды и рыбы // Тезисы докладов научно-практической конференции. Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. М.: ВАСХНИЛ. С.44.

Валова В.Н. 1999. Характеристика физиологического состояния молоди тихоокеанских лососей при выращивании на искусственных кормах // Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук М.: ВНИИПРХ. 24 с.

Галаш В.Т. 1988. Токсико-биологическое действие трихотеценовых микотоксинов на карпа и предельно допустимая концентрация Т-2 токсина в карповых комбикормах // Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук М.: ВНИИПРХ. 24 с.

Галаш В.Т., Головина Н.А., Соболев В.С. 1987. Реакция организма карпа на присутствие в кормах трихотеценовых микотоксинов // Сборник научных трудов ВНИИПРХ. Вопросы физиологии и биохимии питания рыб. Вып.52. М.: ВНИИПРХ. С.120–132.

Жезмер В.Ю., Ляшенко Е.В., Кутинцева Н.В., Галдина Е.А. 1991. Протейная инфекция в установках с оборотным водообеспечением // Рыбное хозяйство. № 11.

Журавель А.А., Кадыков Б.И., Мамин А.И., Косых В.П. 1968. Патологическая физиология сельскохозяйственных животных. М.: Колос. 432 с.

- Карзинкин Г.С.* 1952. Основы биологической продуктивности водоемов. М.: Пищепромиздат. 341 с.
- Картавецца Н.Е., Абрамова Ж.И., Тимошина Л.А., Писарева Н.А., Жакевич М.Л.* 1986. Оценка качества липидов кормов для рыб // Сборник научных трудов ГосНИОРХ. Л. Вып.246. С.124-131.
- Картавецца Н.Е., Абрамова Ж.И., Остроумова И.Н., Шабалина А.А.* 1987. Временная инструкция по определению степени окисления липидов в кормах и оценке влияния качества кормов на рыб. Л. 28 с.
- Кузьмина В.В.* Защитная функция пищеварительного тракта рыб // Вопросы ихтиологии. Т.35. №1. С.86-93.
- Марченко А.М.* 1987. Актуальность развития научных исследований о зараженности кормов для рыб микроорганизмами и продуктами их обмена // Сборник научных трудов ВНИИПРХ. Вопросы физиологии и биохимии питания рыб. Вып.52. М.: ВНИИПРХ. С.113-120.
- Методические указания по диагностике алиментарных токсикозов у рыб.* 1999. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Т.4. №2. М.: АМБ-АГРО. С.141-160.
- Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А.* и др. 1983. Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность. 296 с.
- Тутельян В.А.* 1985а. Вредные вещества пищевых продуктов и степень их опасности для здоровья человека // Проблемы обеспечения безопасности пищевых продуктов. Продуценты микотоксинов и микотоксикозы. М.: Центр международных проектов ГКНТ. Т.1. С.23-104. 1985б. Микотоксины: Исторические аспекты и современные представления. Там же. С.83-104.
- Уголев А.М.* 1963. О существовании пристеночного (контактного) пищеварения. М.: Л.: АН СССР. 243 с. 1984. Достижения физиологии и проблемы питания. Вестник АН СССР. №6. С.34-45.
- Черкес Ф.К., Богоявленская Л.Б., Бельская Н.А.* 1987. Микробиология. М.: Медицина. 512 с.
- Шатерников В.А.* 1985. Актуальные проблемы науки о питании // Проблемы обеспечения безопасности пищевых продуктов. Продуценты микотоксинов и микотоксикозы. Т.1. М.: Центр международных проектов ГКНТ. С.64-82.
- Щербина М.А.* 1983. Методические указания по физиологической оценке питательности кормов для рыб. М.: ВАСХНИЛ. 83 с.
- Щербина М.А., Баженова К.Я., Маханько В.А.* 1974. Утилизация органических и минеральных веществ у зимующих сеголетков карпа в зависимости от условий их летнего выращивания // Сборник научных трудов ВНИИПРХ. Вып.11. С.56-68.
- Щербина М.А., Мукосеева З.А.* 1978. Глюконеогенез как один из источников энергетического обеспечения карпа в период зимнего голодания // Вопросы ихтиологии. Вып.3. С.557-561.