



Е.А.Йылдырым  
Г. Ю.Лаптев  
Л.А.Ильина  
Д.Г.Тюрина  
Н.И.Новикова  
В.А.Филиппова  
А.В.Дубровин  
Е.С.Пономарева  
К.А.Калиткина  
ООО «БИОТРОФ»

# Биопрепараты для рыб – острая необходимость

Доля кормов в себестоимости производства товарной рыбы составляет около 70-80%. Ранее корма, в основном, закупались за рубежом. Однако в условиях санкционного давления произошло существенное удорожание, а также приостановка поставок зарубежных кормов.

**Ч**асть рыбоводческих предприятий пошла по пути создания собственных небольших комбикормовых заводов. Это, как правило, позволяет сэкономить 30-50% на данной статье расходов, а часть корма удается продавать, увеличивая прибыль хозяйства.

На правительственном уровне активно обсуждаются льготные режимы для инвестиций в строительство новых комбикормовых заводов: предложено субсидирование 30% капитальных затрат на строительство. В некоторых рыбоводческих хозяйствах начали завоевывать популярность отечественные корма. Так, по данным кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура» ФГБОУ ВО СПб-ГАУ, использование отечественного корма «Кларис-301» для кормления африканского клариевого сома в течение двух месяцев способствовало на 45% большему приросту биомассы по сравнению с применением зарубежного корма производства Дании. Это открывает широкие возможности для внедрения в практику аквакультуры отечественных кормовых добавок.

## Факторы уязвимости аквакультуры

Рыбы, являясь гидробионтами (организмами, существующими в водной среде), в отличие от животных, обитающих на суше, на протяжении всей жизни, начиная уже с эмбриональной стадии (икринки), окружены огромной популяцией смертельно опасных бактерий и грибов. При этом товарное производство рыбы в нашей

стране, как правило, ведется в условиях высокой плотности посадки и слабой проточности, а существующие ветеринарные требования к использованию антибиотиков и дезинфектантов достаточно строгие. Высокий уровень органического загрязнения воды приводит к уменьшению уровня кислорода, появлению токсичных форм азота и фосфора и снижению иммунного статуса рыб, провоцирует развитие патогенов. В отличие от рыб естественных мест обитания, для аквакультуры характерны частые вспышки бактериальных инфекций, приводящие нередко к массовой гибели. В таких условиях спорадические инфекции (вызывающие единичные случаи заболеваний) быстро переходят в эпизоотии (массовое распространение инфекции).

Желудочно-кишечный тракт рыб играет важнейшую роль в поддержании иммунной защиты организма, поскольку представляет собой линию столкновения с различными патогенами, поступающими с водой и кормом и способными колонизировать клетки и ткани хозяина. Микробиом служит специфическим иммунным барьером или, напротив, усиливает активность патологического процесса.

В отечественных ветеринарных лабораториях проводятся микробиологические исследования, задача которых – прицельно определить основного этиологического агента инфекционных болезней рыб. Тем не менее, в водной среде рыба обычно подвергается воздействию

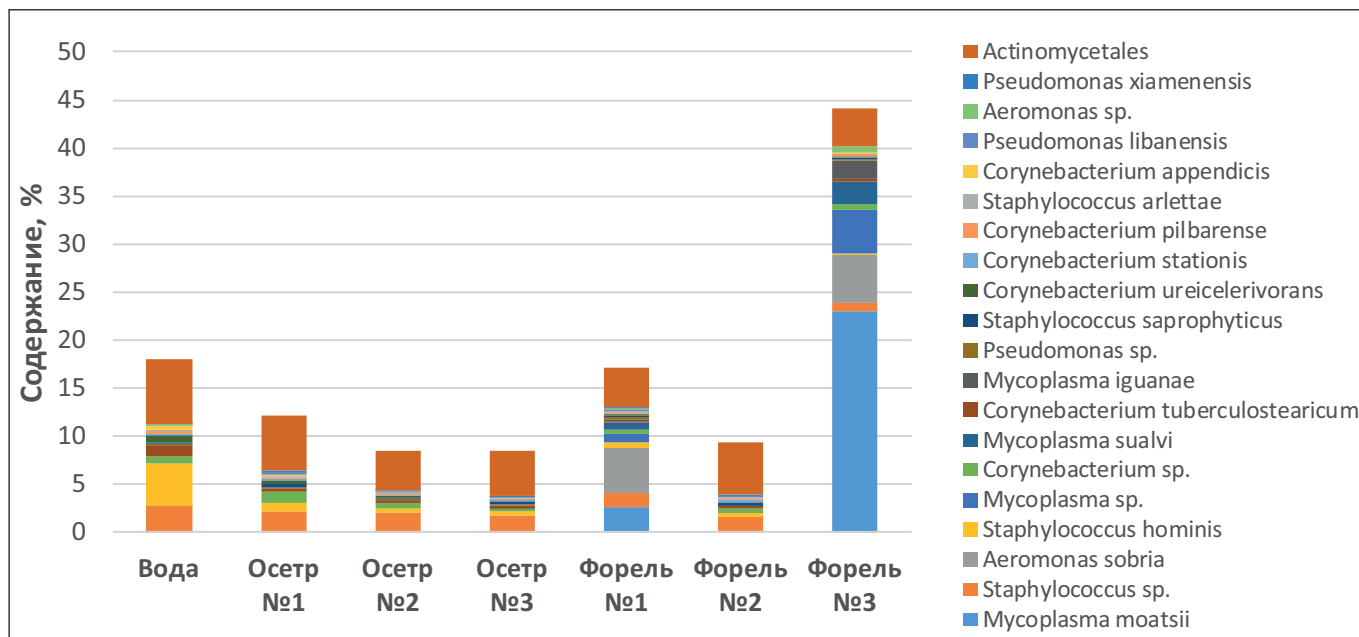


Рис. 1. Условно-патогенная и патогенная микрофлоры кишечника товарных рыб и проб воды методом NGS-секвенирования

одновременно нескольких патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, которые нередко относятся к категории некультивируемых (не высеваются на чашки Петри). Исследования, проведенные с использованием молекулярно-генетических методов, продемонстрировали, что существует ряд новых патогенных бактерий, не выявляемых классическими микробиологическими методами. Так, например, не описанное ранее инфекционное заболевание атлантического лосося вызывал не известный патоген *Streptobacillus moniliformis*.

С помощью современного молекулярно-генетического метода NGS-секвенирования мы изучили состав микрофлоры кишечника клинически здоровых товарных осетров, форели и проб воды из среды их обитания. Оказалось, что в кишечнике всех рыб, а также в воде был обнаружен целый спектр условно-патогенной и патогенной микрофлоры, в т.ч., вызывающей серьезные заболевания (рис. 1).

Так, у всех исследованных рыб в значительном количестве (до 5,8%) в кишечнике присутствовали актиномицеты. Микобактерии, которые относятся к данной группе, вызывают хроническое заболевание, характеризующееся истощением рыб. У них может наблюдаться потеря чешуи и язвы на коже. Иногда в дополнение к поверхностным поражениям отмечаются глубокие геморрагические поражения кожи и гранулемы при вскрытии (рис. 2). Микобактериальные заболевания зарегистрированы у широкого круга (более 150 видов рыб из 34 семейств) рыб пресноводной, морской и солоноватой водной среды.

У большинства рыб, а также в воде, — были выявлены *Aeromonas* spp., вызывающие аэромоноз, который считается заболеванием, приводящим к наибольшим экономическим потерям в аквакультуре Российской Федерации. Вид *Aeromonas hydrophila* долгое время считался сапрофитным (непатогенным), однако впоследствии было доказано, что данная бактерия способна вызывать тяжелый инфекционный процесс как у рыб, так и у человека. Вирулентность у *A. hydrophila* связана с секрецией множества факторов агрессии, таких как адгезины, цитотоксины, гемолизины, липазы и протеазы и др.

Каскады генетической регуляции, которые приводят к экспрессии (запуску) факторов вирулентности у патогенов нередко связаны с изменениями окружающей среды, в том числе, гипоксическими условиями и избыточным уровнем нитритов в воде. Поэтому для товарных рыб поддержание благоприятного состава микробиома имеет критическое значение.

### Повысить рентабельность

В настоящее время выращивание карпа практикуется на неполноценных для него рационах, содержащих много некрахмалистых полисахаридов (НПС). Было показано, что способность к утилизации сложных углеводов у рыб низкая по сравнению с таковой у млекопитающих. В результате снижается эффективность производства. Известно, что добавление в корм ферментов увеличивает переваримость рациона, однако применение ферментов в рыбоводстве весьма ограничено. Связано это прежде всего с тем, что большинство ферментов-карбогидраз было разработано для теплокровных животных. Установлено, что зависимость активности

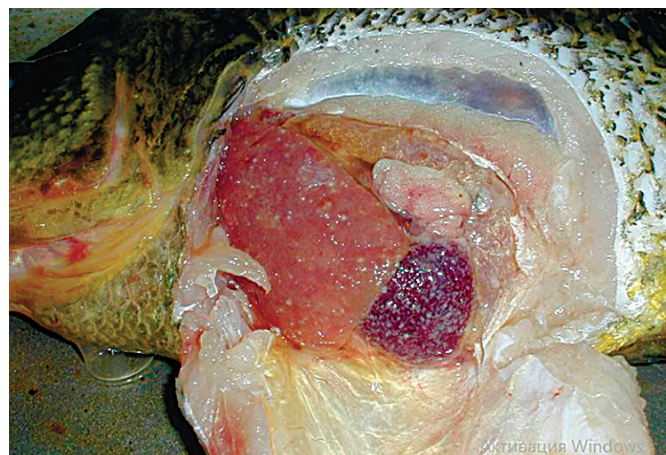


Рис. 2. Гранулемы представляют собой скопления микобактерий, окруженных особыми «эпителиоидными» клетками

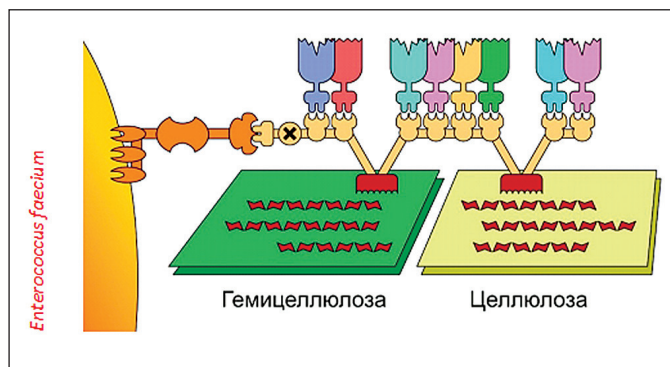


Рис. 3. Целлюлосома штамма бактерии в составе пробиотика Целлобактерин+

ферментов от температуры имеет колоколообразный характер, причем уменьшение температуры на 10 градусов может приводить к более, чем двукратному снижению активности фермента. Желудочно-кишечный тракт холоднокровных рыб не является оптимальной средой для работы ферментов, поэтому применение ферментных препаратов, направленных на разрушение некрахмалистых полисахаридов, в рыбоводстве проблематично.

Ферменты, продуцируемые пробиотическими бактериями — это один из самых эффективных способов доставки их в кишечник рыб, а, значит, наиболее эффективный метод преодоления негативного воздействия неполноценных кормов.

Для детального изучения механизмов действия штамма бактерии в составе пробиотика Целлобактерин+ коллектив ученых НПК «БИОТРОФ» использовал инновационный метод полногеномного секвенирования, который позволил оценить функцию каждого гена в составе генома и описать биологический потенциал на молекулярном уровне. Этого не может предложить ни одна компания, распространяющая пробиотики в России. Использование базы данных «Саду» Французского национального центра научных исследований для биоинформатической обработки данных секвенирования позволило детально охарактеризовать весь спектр ферментов (гликозилгидролаз), активных в отношении НПС, — у штамма.

Доказано, что сложные ферментные системы штамма бактерии в составе Целлобактерина+ объединены в целлюлосомы — выступы, образующиеся на клеточной стенке целлюлозолитических бактерий (рис. 3). Эти выступы представляют собой стабильные ферментные комплексы, которые прочно связаны со стенкой бактериальной клетки, но при этом они достаточно гибкие, чтобы

также прочно связываться с расщепляемыми субстратами: целлюлозой, гемицеллюлозой и другими НПС. Это значительно облегчает гидролиз НПС за счет механизма приближения каталитического домена (участка) к расщепляемому субстрату и дальнейшему связыванию с его поверхностью.

При помощи другой группы синтезируемых ферментов — амилотических, — бактерии расщепляются на молекулы крахмала. Таким образом, за счет обеспечения большего доступа к широкому спектру субстратов кормов активность одного типа фермента облегчается другим.

В то же время, преимущества биопрепарата выходят далеко за рамки простого улучшения переваривания питательных веществ. Целлобактерин+ оказывает многостороннее воздействие на желудочно-кишечный тракт рыбы: на 25-30% увеличивает в кишечнике количество собственных целлюлозолитических бактерий, одновременно вытесняя и патогенную микробиоту.

Был проведен опыт с применением пробиотика Целлобактерин+ на карпах в неполносистемном прудовом нагульном хозяйстве ООО «РХ Гулькевичское» в Гулькевичском районе Краснодарского края в 2019 году. Срок проведения опыта составил 72 дня. Целлобактерин+ добавляли в кормосмесь, приготавливаемую в хозяйстве из сырья зерновых культур, богатых клетчаткой.

Данные таблицы 1 свидетельствуют о более высоком темпе роста карпа при введении в рацион пробиотика при одинаковых кормовых затратах и условиях среды обитания. После первого месяца кормления темп роста у опытной группы был выше на 25% в сравнении с контрольными экземплярами. При завершении эксперимента показатели по темпам роста составили на 13% выше у опытной группы.

Высокий прирост биомассы карпа в результате введения в рацион пробиотика Целлобактерин+ заключается в активном заселении кишечника рыб высокоактивными микроорганизмами, что обеспечивает восстановление микробного баланса: увеличивается количество нормофлоры и вытесняются патогены. Важным следствием является синтез штаммом бактерий в составе пробиотика спектра пищеварительных ферментов. Микрофлора на фоне пробиотика способствовала более полному усвоению нехарактерных для карпа кормов путем воздействия на структуру клетчатки, в результате чего происходило высвобождение усвояемых питательных веществ и энергии. Происходил также синтез необходимых бактериоцинов, органических кислот, аминокислот и витаминов. Это способствовало увеличению толщины слизистого слоя

Таблица 1. Эффективность выращивания карпа с применением пробиотика Целлобактерин+

Показатель	Контроль			Опыт (Целлобактерин+)			В опыте по сравнению с контролем	
	Начало опыта	Через месяц	Через 2 месяца	Начало опыта	Через месяц	Через 2 месяца	Через месяц	Через 2 месяца
Количество экземпляров	8000	7842	7775	8000	7846	7783	+0,05 %	+0,1 %
Отход экземпляров	-	158	67	-	154	63	-2,5 %	-6,0 %
Средний вес, кг	0,05	0,28	0,61	0,05	0,35	0,7	+25,0 %	+14,7 %
Биомасса, кг	400	2195	4743	400	2746	5448	+25,1 %	+14,8 %

кишечника, повышению его фагоцитарной активности, что обеспечивало механический и химический защитный барьер против патогенных организмов.

**Повысить жизнестойкость молоди**

В последние годы активное внедрение в практику отечественного рыбоводства установок замкнутого водоснабжения (УЗВ), позволяющих минимизировать воздействие окружающей среды на рост рыбы, предоставило возможность выращивания ценных перспективных теплолюбивых видов рыб, таких, как африканский клариевый сом. Неоспоримыми преимуществами при его выращивании являются всеядность, значительная скорость роста и очень высокая плотность посадки — 300-600 кг/т воды, что существенно уменьшает каннибализм среди популяции и производственные затраты.

Тем не менее, основным препятствием при выращивании рыб в УЗВ является массовая гибель молоди вследствие бактериальных инфекций, возникающих из-за органического загрязнения воды. Патогенные бактерии нередко обладают активной способностью образовывать биопленки на поверхностях УЗВ. Из-за высокой устойчивости биопленок к антибиотикам полностью избавиться от присутствия патогенных микроорганизмов не представляется возможным. Наиболее значительные потери рыб происходят в момент перехода эмбриона с завершающей стадии этапа желточного питания на потребление корма, поступающего из внешней среды.

На базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» сотрудниками кафедры биологии, экологии и гистологии аспи-



Рис. 4. Измерение размера мальков

рантом Е.С.Гринюк и д.вет.н., доцентом М.Э.Мкртчян были проведены эксперименты на мальках африканского клариевого сома. В течение месяца после выклева проводили вскармливание мальков кормом с добавлением пробиотика Целлобактерин+ (НПК «БИОТРОФ») (опытная группа I) и лиофилизированной культурой комплекса лакто- и бифидобактерий (опытная группа II).

Результаты измерения длины тела, ширины головы и массы рыб (рис. 4) показали, что применение пробиотика Целлобактерин+ оказало существенное влияние

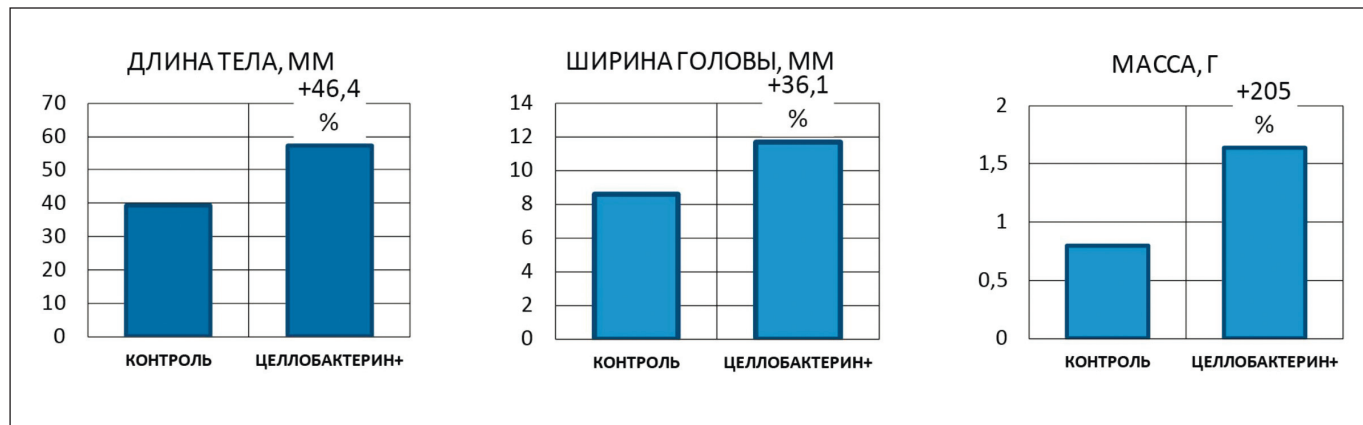


Рис. 5. Эффективность применения пробиотика Целлобактерин+ на мальках клариевого сома

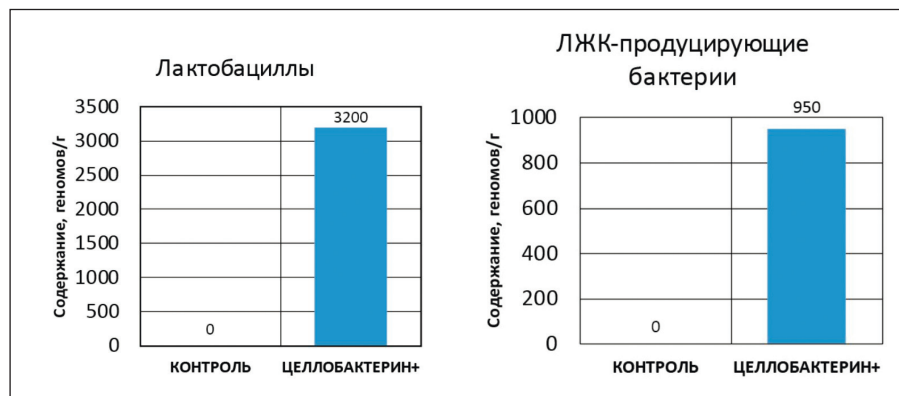


Рис. 6. Состав микрофлоры пищеварительной системы мальков клариевого сома

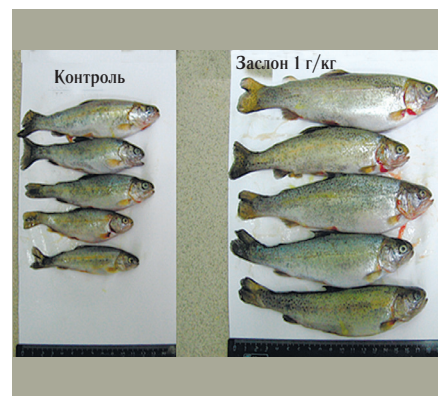


Рис. 7. Эффективность сорбента Заслон на форели радужной

на увеличение темпов роста мальков (рис. 5). Так, масса мальков увеличивалась более, чем в 2 раза по сравнению с контролем.

С помощью метода количественной ПЦР мы проанализировали состав микрофлоры пищеварительной системы мальков (рис. 6). Пробиотик Целлобактерин+ приводил к раннему становлению нормобиоты с полезными свойствами: происходило заселение пищеварительной системы лактобациллами с антимикробной активностью и бактериями, продуцирующими летучие жирные кислоты (ЛЖК). ЛЖК способствуют утолщению слизистого слоя, образованного бокаловидными клетками, который обеспечивает немедленную защиту от патогенов, поскольку слизь содержит ряд противомикробных соединений. Происходит восстановление архитектуры пищеварительной системы.

Таким образом, пробиотик Целлобактерин+ способствует восстановлению микрофлоры, развитию защитной функции кишечника и улучшает местный иммунитет в тканях пищеварительной системы. Мальки становятся более физиологически подготовленными к борьбе с патогенными микроорганизмами, поскольку организм гораздо быстрее распознает и устраняет угрозу, а также эффективно переваривает компоненты корма. Это способствует значительному усилению темпов их роста.

### Сорбция токсинов

Общемировой проблемой стало загрязнение кормов микотоксинами, вторичными метаболитами микромицетов (грибков), коснувшись и аквакультуры, особенно, в связи с частичным переходом последней на более дешевые растительные компоненты кормов. Не менее значим факт того, что особенностью технологического процесса при разведении рыб является повышенная влажность, инициирующая размножение грибков в хранящихся кормах. Как оказалось, организм рыб очень чувствителен к воздействию микотоксинов. Так, например, введение в корм радужной форели афлатоксина В<sub>2</sub> в невысокой концентрации — 0,4 мг/т, — приводило к заболеваемости 14% особей гепатоцеллюлярной карциномой (Manning, 2006).

Для снижения концентрации микотоксинов в кормах рыб может быть использован метод энтеросорбции.

Разработка линейки Заслон в компании «БИОТРОФ» — это открытие мирового масштаба. Именно поэтому в 2019 г. за данную разработку, а также ряд других достижений, коллектив был удостоен премии Правительства РФ в области науки и техники для молодых ученых (N 2323-р от 7.10.2019 г., наименование работы: «Разработка современных технологий для нормализации пищеварения сельскохозяйственных животных, повышения качества животноводческой продукции на основе применения биопрепаратов, альтернативных кормовым антибиотикам, и энтеросорбентов для нейтрализации токсинов кормов»).

С помощью современных технологий эффективность сорбентов линейки Заслон доведена до совершенства. Уникальная технология обжига минерала при температуре свыше 800°C гарантирует отсутствие токсичных элементов (тяжелых металлов, пестицидов, хлорорганических соединений и др.), температура кипения которых существенно меньше температуры обжига. Кроме того, это существенно повышает удельную поверхность сорбента (до 40 га/кг), поэтому сорбенты линейки Заслон выигрывают по сорбционной ёмкости среди других энтеросорбентов. Для примера, эта величина

в 20 раз выше, чем удельная поверхность клеточных стенок дрожжей. Говоря проще, малое количество препарата Заслон способно собирать максимально много ядов со всего просвета желудочно-кишечного тракта, поэтому Заслон работает гораздо эффективнее и быстрее других. За счет крепкого связывания токсинов на поверхности сорбента с помощью различных физических связей Заслон работает, как в кислом, так и в щелочном диапазонах pH.

Одно из важных преимуществ данных энтеросорбентов состоит также в том, что в состав препаратов входят живые микроорганизмы — полезные бактерии. Ни один сорбент из существующих на рынке не может на 100% связать и вывести из организма такие токсины, как Т-2 и ДОН. Препараты линейки Заслон эффективно обезвреживают эти токсины при помощи механизма биотрансформации, присущего штаммам *Bacillus* sp. в их составе. Они способны трансформировать трихоценовые токсины ДОН и Т-2 токсин, а также охратоксин А до нетоксических форм, которые выводятся из организма через почки. Как показало полногеномное секвенирование, у штаммов бактерий в составе данных сорбентов имеются отвечающие за биотрансформацию уникальные ферментные комплексы.

Продемонстрировано, что введение в рацион сорбента Заслон приводило к увеличению содержания в ЖКТ форели радужной лактобактерий рода *Lactobacillus* и возрастанию численности амилотических бактериоидов. Синтез данными микроорганизмами молочной кислоты в качестве основного продукта вызывает падение уровня pH, ограничивая, тем самым, развитие патогенной микрофлоры. Это приводило к полному конкурентному вытеснению бактерий рода *Vibrio* spp., который вызывает инфекционное заболевание вибриоз. Сорбция микотоксинов и пробиотический эффект добавки приводил к значительному росту продуктивности (рис. 7).

### Подводя итоги

Вся жизнь рыб, начиная с икринки, проходит в тесном взаимодействии с патогенами, токсинами и постоянной борьбе за выживаемость. Поэтому они проявляют крайне высокую отзывчивость на использование пробиотиков и сорбентов. Современные отечественные биопрепараты Целлобактерин+ и Заслон воздействуют на разные ключевые факторы выживаемости рыб: изменение микрофлоры в сторону благоприятных видов, повышение устойчивости к болезням, увеличение переваримости питательных веществ, сорбцию токсинов, повышение жизнестойкости молоди и эффективность роста.

## ООО «БИОТРОФ»



Санкт-Петербург, г. Пушкин,  
ул. Малиновская,  
д. 8, лит. А, пом. 7-Н  
+7 (812) 322-85-50,  
322-65-17, 452-42-20  
biotrof@biotrof.ru

<http://biotrof.ru>