

УДК 639.3

*С. М. Шалгимбаева, С. Ж. Асылбекова, А. К. Садвакасова,
Г. Р. Сармолдаева, А. Н. Кенжеева, Г. Б. Джумаханова*

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОДУКЦИОННЫХ КОРМОВ НА МИКРОБИОЦЕНОЗ ОРГАНОВ ТИЛЯПИИ (TILAPIA) В УСТАНОВКАХ ЗАМКНУТОГО ВОДООБЕСПЕЧЕНИЯ

Проведен сравнительный анализ количественного и качественного состава сапрофитных и условно-патогенных микроорганизмов молоди тилапии, выращиваемой в аквакультуре (установки замкнутого водообеспечения акционерного общества «Казахский агротехнический университет» им. С. Сейфуллина), при ее кормлении различными видами комбикормов (контроль – корм Alleg Aqua, Дания; вариант 1 – корм Казахского научно-исследовательского института перерабатывающей и пищевой промышленности; вариант 2 – корм «Караганда»). Анализ выявил незначительное превышение нормативных показателей в образцах опытных кормов по спорообразующим бактериям и дрожжам и показателей контаминации органов тилапии в опытных вариантах. Установлено, что микрофлора тилапии представлена сапрофитными и условно-патогенными бактериями родов *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Proteus*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Enterobacter*. Значимые различия в микробиоценозе кишечника рыб между вариантами опыта и контроля отсутствовали. В опытных вариантах наблюдалось лишь незначительное увеличение количества спорных аэробных палочек (представители р. *Bacillus*), в кишечной микрофлоре обнаруживались спорообразующие анаэробы (представители р. *Clostridium*). Дрожжеподобные грибы, обнаруженные в микрофлоре кормов, в посевах из кишечника отсутствовали. Выявленные условно-патогенные микроорганизмы контаминировали в основном кишечник, жабры и печень, без каких бы то ни было патологических отклонений у рыб. Изучение культурально-морфологических свойств обнаруженных культур бактерий показало, что микрофлора тилапии представлена подвижными и неподвижными грамположительными и грамотрицательными кокками и палочками. Доминировали подвижные грамотрицательные бактерии – более 50 % от общего микробного фона.

Ключевые слова: аквакультура, тилапия, комбикорма, жабры, печень, кишечник, микробиологические исследования.

Введение

Одной из важнейших основ интенсификации производства продукции при культивировании любых видов животных является рациональное кормление, основанное на применении высокоэффективных комбикормов. Хотя для рыб, на основе изучения их пищевых потребностей в основных питательных веществах, аминокислотах, жирных кислотах и витаминах, разработаны стартовые и продукционные комбикорма, реальная практика рыбоводства свидетельствует, что проблема кормления рыб решена далеко не полностью [1]. Современные тенденции рационального и эффективного кормления требуют весьма значимого смещения акцентов в сторону надежного обеспечения безопасности кормов, используемых для выращивания животных и рыб, с точки зрения накопления в пищевых цепях факторов, негативных для человека.

Известно, что большинство компонентов комбикормов нередко содержит контаминанты – комплекс чужеродных веществ, способных оказывать отрицательное влияние на общее состояние здоровья и продуктивность объектов выращивания [2]. В связи с этим в животноводстве присутствие контаминантов в кормах регламентируется показателями безопасности, которые устанавливаются в соответствии с особенностями влияния этих веществ на организм.

Проведение микробиологической оценки по комплексу показателей, таких как количественные и качественные санитарно-микробиологические исследования рыбы, корма и воды, показывает, что микрофлора рыбы напрямую зависит от содержания в корме микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности (токсинов). Наибольший интерес представляет пищеварительная система, поскольку она является своеобразным защитным барьером между внутренней средой организма и чужеродной внешней средой, и особая роль при этом принадлежит нормальной микрофлоре кишечника, а также печени, где происходит детоксикация ядовитых веществ пищи, не обезвреженных при ее ферментативном расщеплении. Известно, что микрофлора кишечника участвует в расщеплении белков и аминокислот, влияет на метаболизм

жиров, осуществляя их частичное расщепление и эмульгирование, в результате чего увеличивается их пищевая ценность и улучшается всасывание; кроме этого, бактерии, в результате собственного обмена веществ, образуют значительное количество витаминов и аминокислот, необходимых для макроорганизмов, и т. д. Вследствие этого количественные и качественные нарушения равновесия между нормальной и патогенной микрофлорой под воздействием экзогенных факторов приводят к формированию иммунодефицита, недостаточному энергетическому обеспечению функций генетического аппарата и, как следствие, к снижению общей жизнеспособности организмов. Как известно, в настоящее время в повседневной практике рыбоводства в Республике Казахстан о безопасности комбикормов, в частности их микробиологической составляющей, в силу разных причин известно немного. Источники сырья, используемые для изготовления комбикормов, кроме питательных веществ, содержат различные контаминанты, в том числе и микроорганизмы. Поражая комбикорма, микроорганизмы не только уничтожают и разрушают их питательные вещества, но и выделяют токсические метаболиты, способные вызывать заболевания и гибель выращиваемых объектов.

В связи с вышеизложенным изучение предлагаемых показателей представляется актуальным и позволяет охарактеризовать устойчивость рыб к действию различных экологических факторов и их адаптационные возможности.

При выращивании рыб индустриальными методами в установках замкнутого водообеспечения (УЗВ) большое внимание уделяется кормлению. Оптимизация кормления дает возможность получать максимальный эффект по скорости роста и выживаемости при минимальных кормовых затратах.

Следует отметить, что серьезную опасность представляют те контаминанты, присутствие которых в комбикормах для рыб обусловлено особенностями их пищевых потребностей – высоким содержанием белка и липидов [1]. К ним относятся продукты перекисного окисления жиров и жизнедеятельности микроорганизмов – грибов и бактерий.

Вопросы воздействия на рыб продуктов окисления липидов и микотоксинов, изучались достаточно подробно [2]. В то же время бактериальное заражение кормов для рыб остается в ряду наименее изученных проблем.

Цель исследования – изучение количественного и качественного состава сапрофитных и условно-патогенных микроорганизмов рыб в аквакультуре в УЗВ АО «Казахский агротехнический университет» им. С. Сейфулина» при их кормлении различными видами продукционных кормов.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования явились сеголетки тилапии (*Tilapia*).

Тилапию содержали в условиях УЗВ. В ходе исследований использовались 3 вида корма: корм Aller Aqua (Дания) – контроль и 2 вида корма, произведенные в Республике Казахстан: вариант 1 – корм Казахского научно-исследовательского института перерабатывающей и пищевой промышленности (КазНИИПП); вариант 2 – корм «Караганда». Средний вес рыб в контрольной группе составил 38,2–42,6 г, в варианте 1 – 39–42,9 г, в варианте 2 – 37–41 г.

Микробиологическим исследованиям подвергались жабры, печень и кишечник рыб контрольной и опытных групп, а также 3 вида корма. Из органов тилапии для микробиологических исследований было отобрано 60 проб. Из отобранных проб был сделан посев на среды общего назначения и селективные питательные среды в трех повторностях с целью определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и количества условно-патогенных бактерий.

Перед началом отбора фрагментов кишечника и печени тело рыб было обработано спиртом. Вскрытие производилось стерильными инструментами. Образцы помещались в заранее подготовленные стерильные пробирки с физиологическим раствором. Для определения общей бактериальной обсемененности органов рыб первичные бактериологические посеы проводили на рыбопептонный агар. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* определяли бродильным методом в накопительной среде (глюкозопептонная среда) и выявляли инкубированием на среде Эндо при температуре 37 °С [3]. Для выявления грибов и дрожжей посеы проводили на агаризованную питательную среду Сабуро. Полученные изолированные колонии были описаны в соответствии с микробиологическими правилами [4]. Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов проводили по общим требованиям

и рекомендациям по микробиологическим исследованиям [5]. Выделенные бактерии высевали на 1 %-ный агар в пробирках, присваивали индивидуальный шифр культуры, а затем идентифицировали до рода по определителям Берджи [6]. Пробы кормов отбирали в стерильные колбы объемом 250–300 г для определения в них условно патогенной микрофлоры и общего микробного числа (ОМЧ) [3]. Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке при помощи программы Statistika 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Микробная обсемененность рыбы находится в прямой зависимости от количества и качества микрофлоры используемых кормов.

Анализ образцов исследованных кормов показал присутствие в них и незначительное превышение нормативных показателей по спорообразующим бактериям и дрожжам (табл. 1).

Таблица 1

Результаты микробиологического анализа исследуемых комбикормов

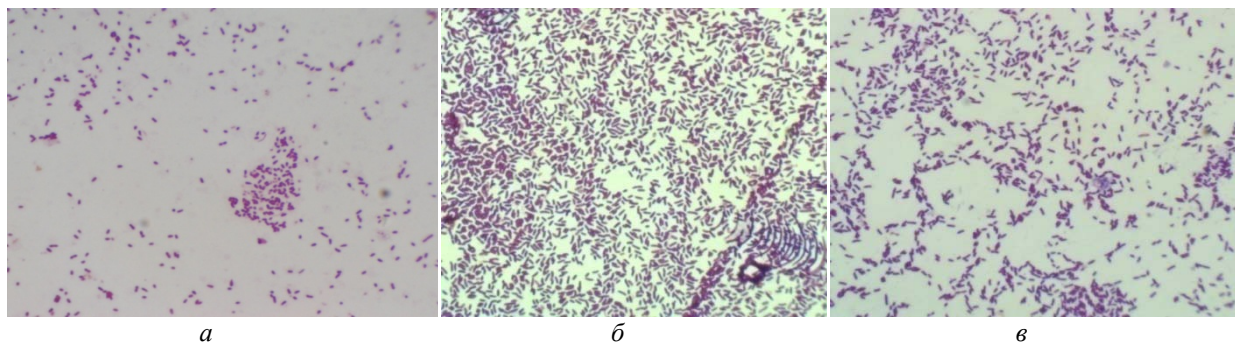
Вид корма	КМАФАнМ, КОЕ/г					
	Общее число ОМЧ	Споровые бактерии	Бактерии группы кишечной палочки	<i>Staphylococcus aureus</i>	Дрожжи	Плесневые грибы
Aller Aqua	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	–	–	–	–
Караганда	$2,9 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^4$	–	–	$0,2 \cdot 10^3$	–
КазНИИПП	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	–	–	–	–

Подсчет ОМЧ в органах теляпии в контрольном варианте показал, что в кишечнике количество бактерий колеблется от $1,9 \cdot 10^5$ до $2,8 \cdot 10^5$ КОЕ/г. Бактериальная обсемененность печени была незначительной, показатель ОМЧ составил не более чем $1 \cdot 10^1$ КОЕ/г влажного веса. Обсемененность жабр составляла от $2,3 \cdot 10^4$ до $2,8 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В опытных вариантах показатели ОМЧ различных органов теляпии незначительно отличались от таковых в контрольном варианте. Так, в кишечнике рыб из варианта 1 количество бактерий колебалось от $2,6 \cdot 10^5$ до $3,2 \cdot 10^5$ КОЕ/г, в печени этот показатель составил $3,2 \cdot 10^2$ КОЕ/г влажного веса. Обсемененность жабр составила от $2,3 \cdot 10^4$ до $3,6 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В варианте 2 количество бактерий в кишечнике колебалось от $2,1 \cdot 10^5$ до $3,0 \cdot 10^5$ КОЕ/г, в печени составляла не более чем $1,2 \cdot 10^2$ КОЕ/г влажного веса. Обсемененность жабр составила от $2,1 \cdot 10^5$ до $3,0 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

По окончании инкубирования посевов из различных органов рыбы было выделено в чистую культуру 12 изолятов бактерий. Изучение культурально-морфологических свойств выделенных изолятов бактерий показало, что микрофлора теляпии представлена подвижными и неподвижными грамположительными и грамотрицательными палочками и кокками, с доминированием подвижных грамотрицательных бактерий (палочек), составляющих более 70 % всех выделенных микроорганизмов. Ниже представлены микрофотографии выделенных изолятов бактерий (рис.).



Микроскопия изолятов, выделенных из различных органов теляпии:
а – из жабр; б, в – из кишечника. Окрашивание по Граму, увел. 1×100

Соотношение выделенных микроорганизмов по родам представлено в табл. 2.

Таблица 2

Соотношение выделенных микроорганизмов по родам

Род бактерий	Соотношение выделенных микроорганизмов, %		
	Контроль	КазНИИПП	Караганда
Sarcina	8,0 ± 0,5	7,0 ± 0,5	6,0 ± 0,1
Micrococcus	10,0 ± 0,5	9,0 ± 0,3	6,0 ± 0,1
Aeromonas	16,0 ± 1,5	18,0 ± 2,2	18,0 ± 1,5
Acinetobacter	4,0 ± 0,2	7,0 ± 0,1	9,0 ± 0,5
Pseudomonas	14,0 ± 1	12,0 ± 1,0	13,0 ± 1,0
Enterobacter	6,0 ± 0,5	7,0 ± 0,3	8,0 ± 1,0
Escherichia	6,0 ± 0,5	8,0 ± 0,3	6,0 ± 0,5
Bacillus	18,0 ± 0,5	12,0 ± 1,0	15,0 ± 1,0
Lactobacillus	18,0 ± 2,5	20,0 ± 1,5	19,0 ± 1,0

Установлено, что в качественном составе микробиоценоза как в контрольном, так и в опытном вариантах преобладали представители родов *Lactobacillus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. Минимум отмечен для представителей семейства *Enterobacteriaceae* (выделенные бактерии отнесены к родам *Enterobacter* и *Escherichia*). В разном соотношении встречались также представители родов *Micrococcus*, *Sarcina*, *Acinetobacter*.

В целом полученные результаты соответствуют литературным данным. По данным ряда авторов [6] в составе микрофлоры рыб в норме встречаются условно-патогенные микроорганизмы, среди которых представители семейств *Pseudomonadaceae* (р. *Pseudomonas*), *Vibrionaceae* (р. *Aeromonas*) и *Enterobacteriaceae*. На коже и жабрах распространены бактерии родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* [7].

Заключение

По результатам исследования можно сделать следующие выводы.

1. Общее микробное число органов теляпии при ее кормлении различными продукционными кормами незначительно превышает показатели контаминации в органах в опытных вариантах.

2. Значимые различия в микробиоценозе рыб между вариантами опыта и контроля отсутствуют. Микрофлора теляпии представлена подвижными и неподвижными грамположительными и грамотрицательными кокками и палочками. Необходимо отметить доминирование подвижных грамотрицательных бактерий (палочек) – 70 % всех выделенных микроорганизмов.

3. Микрофлора теляпии представлена сапрофитными и условно-патогенными бактериями родов *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Enterobacter*. Выявленные условно-патогенные микроорганизмы контаминировали в основном кишечник и жабы, без каких-либо патологических отклонений у рыб. Несмотря на то, что при исследовании микрофлоры кормов были обнаружены дрожжеподобные грибы (корм «Караганда»), в посевах с кишечника эти микроорганизмы не выявлены. Это, по-видимому, связано с тем фактом, что не все бактерии, содержащиеся в пище и попадающие в пищеварительный тракт рыб, поселяются в нем, поскольку часть из них переваривается ферментами организма хозяина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Остроумова И. Н.* Биологические основы кормления рыб. СПб.: ГосНИОРХ, 2001. 372 с.
2. *Щербина М. А., Гамыгин Е. А.* Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. 364 с.
3. *Жезмер В. Ю., Ляшенко Е. В.* Санитарно-бактериологическое качество комбикормов, используемых при выращивании рыбы // *Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах*: сб. науч. тр. ВНИИПРХ, 1991. Вып. 64. С. 19–24.
4. *Жезмер В. Ю., Галдина Е. А., Кутищева Н. В., Лаврова Н. С.* Контроль санитарно-бактериологического состояния водной среды в УЗВ. *Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах*: сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1991. Вып. 64. С. 14–15.
5. *Определитель бактерий Берджи*: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига и др. М.: Мир, 1997.

6. Ларцева Л. В. Кишечная микрофлора ценных промысловых рыб дельты Волги // Рыбное хозяйство. Аквакультура. Болезни рыб. М.: Изд-во ВНИЭРХ, 1991. С. 1–14.

7. Ларцева Л. В., Рогаткина И. Ю. Санитарно-гигиеническая оценка качества кормов, используемых в осетроводстве // Рыбное хозяйство: информ. пакет. Сер.: Корма и кормление рыб. М., 1996. Вып. 3. С. 1–6.

Статья поступила в редакцию 25.04.2016

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Шалгимбаева Сауле Мухамбеткалиевна – Республика Казахстан, 050016, Алматы; Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства; канд. биол. наук; зав. лабораторией ихтиопатологии; s.saule777@gmail.com.

Асылбекова Сауле Жангировна – Республика Казахстан, 050016, Алматы; Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства; канд. биол. наук; зам. генерального директора; assylbekova@mail.ru.

Садвакасова Асемгуль Каликумаровна – Республика Казахстан, 050040, Алматы; Казахский национальный университет им. аль-Фараби; канд. биол. наук; и. о. доцента кафедры биотехнологии; sadvakasova1979@mail.ru.

Сармолдаева Гафиза Руставиловна – Республика Казахстан, 050016, Алматы; Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства; старший лаборант лаборатории ихтиопатологии; gafiza_94@mail.ru.

Кенжеева Акерке Нургалиевна – Республика Казахстан, 050040, Алматы; Казахский национальный университет им. аль-Фараби; студентка; k.n.akerke@mail.ru.

Джумаханова Гаухар Бактияровна – Республика Казахстан, 050016, Алматы; Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства; старший лаборант лаборатории ихтиопатологии; gauhar_vip@mail.ru.



*S. M. Shalgymbaeva, S. Zh. Assylbekova, A. K. Advakasova,
G. R. Sarmoldaeva, A. N. Kenzheeva, G. B. Dzhumahanova*

STUDY OF INFLUENCE OF FEEDS ON MICROBIOCENOSIS OF TILAPIA IN RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEMS

Abstract. The comparative analysis of quantitative and qualitative compositions of saprophytic and conditionally pathogenic microorganisms of tilapia juveniles, grown-up in aquaculture (recirculating aquaculture system of JSC "Kazakh Agro-technical University" named after S. Seifullin) and fed with different feed (control – feed Aller Aqua, Denmark; test 1 – feed of the Kazakh Scientific Research Institute of Processing and Food Industry; test 2 – feed "Karaganda" is made. The analysis has shown a slight exceeding of normative parameters on spore-forming bacteria and yeasts and parameters on contamination in organs of tilapia in the experimental variants. It has been established that the microflora of tilapia was submitted by saprophytic and conditionally pathogenic bacteria from Lactobacillus, Micrococcus, Sarcina, Staphylococcus, Pseudomonas, Aeromonas, Bacillus, Proteus, Vibrio, Escherichia, Enterobacter generas. No relevant differences in microbiocenosis of fish intestines in test and control groups has been found. Only a slight increase in the number of aerobic spore rods (representatives of g. Bacillus) were observed in the experimental variants, in the intestinal microflora the spore-forming anaerobes (representatives of g. Clostridium) were found. Yeast-like fungi, found in the microflora of the feed, were absent in inoculations of the intestine. The identified opportunistic pathogenic microorganisms contaminated mainly the

intestines, gills and liver, without any pathological deviations in fish. The study of cultural-morphological characteristics of the found bacterial cultures showed that the microflora of tilapia is presented with mobile and immobile gram-positive and gram-negative cocci and rods. Mobile gram-negative bacteria – more than 50 % of the total microflora dominated.

Key words: aquaculture, tilapia, feed, gills, liver, intestine, microbiological researches.

REFERENCES

1. Ostroumova I. N. *Biologicheskie osnovy kormleniia ryb* [Biological bases for fish feeding]. Saint-Petersburg, GosNIORKh, 2001. 372 p.
2. Shcherbina M. A., Gamygin E. A. *Kormlenie ryb v presnovodnoi akvakul'ture* [Fish feeding in freshwater aquaculture]. Moscow, Izd-vo VNIRO, 2006. 364 p.
3. Zhezmer V. Iu., Liashenko E. V. Sanitarno-bakteriologicheskoe kachestvo kombikormov, ispol'zue-mykh pri vyrashchivaniy ryby [Sanitarium-bacteriological quality of combined forage used in fish breeding]. *Industrial'noe rybovodstvo v zamknutykh sistemakh. Sbornik nauchnykh trudov VNIIPRKh*. 1991. Vyp. 64. P. 19–24.
4. Zhezmer V. Iu., Galdina E. A., Kutishcheva N. V., Lavrova N. S. Kontrol' sanitarno-bakteriologicheskogo sostoianiia vodnoi sredy v UZV [Control of sanitarium and bacteriological state of aquatic medium in RAS]. *Industrial'noe rybovodstvo v zamknutykh sistemakh. Sbornik nauchnykh trudov VNIIPRKh*, 1991, iss. 64, pp. 14–15.
5. *Opredelitel' bakterii Berdzhi*. V 2 t. Pod redaktsiei Dzh. Khoult, N. Kriga i dr. Moscow, Mir Publ., 1997.
6. Lartseva L. V. Kishechnaia mikroflora tsennykh promyslovykh ryb del'ty Volgi [Intestine microflora of valuable commercial fish of the Volga Delta]. *Rybnoe khoziaistvo. Akvakul'tura. Bolezni ryb*. Moscow, Izd-vo VNIERKh, 1991. P. 1–14.
7. Lartseva L. V., Rogatkina I. Iu. Sanitarno-gigienicheskaia otsenka kachestva kormov, ispol'zuemykh v osetrovodstve [Sanitarium and hygienic evaluation of the quality of feed used in sturgeon breeding]. *Rybnoe khoziaistvo: informatsionnyi paket. Seriya: Korma i kormlenie ryb*. Moscow, 1996. Iss. 3, pp. 1–6.

The article submitted to the editors 25.04.2016

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Shalgymbaeva Saule Mukhambetkaliyevna – Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty; Kazakh Scientific Research Institute of Fishery; Candidate of Biology; Head of the Laboratory of Ichthyopathology; s.saule777@gmail.com.

Assylbekova Saule Zhangirovna – Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty; Kazakh Scientific Research Institute of Fisheries; Candidate of Biology; Deputy of General Director; assylbekova@mail.ru.

Sadvakasova Asemgul Kalikumarovna – Republic of Kazakhstan, 050040, Almaty; Al-Farabi Kazakh National University; Candidate of Biology; acting Assistant Professor of the Department of Biotechnology, sadvakasova1979@mail.ru.

Sarmoldaeva Gafiza Rustavilovna – Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty; Kazakh Research Institute of Fishery; Senior Researcher of the Laboratory of Ichthyopathology; gafiza_94@mail.ru.

Kenzheeva Akerke Nurgaliyevna – Republic of Kazakhstan, 050040, Almaty; Al-Farabi Kazakh National University; Student; k.n.akerke@mail.ru.

Dzhumahanova Gauhar Baktiyarovna – Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty; Kazakh Research Institute of Fishery; Senior Researcher of the Laboratory of Ichthyopathology; gauhar_vip@mail.ru.

