

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)»
(ФГБОУ ВО «МГУТУ им К.Г. Разумовского (ПКУ)»)

На правах рукописи



КЛИМОВ ВИКТОР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ПРИЖИЗНЕННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ
МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ В УСЛОВИЯХ
АКВАКУЛЬТУРЫ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

4.3.3 - Пищевые системы

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Никифоров-Никишин Алексей Львович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИЖИЗНЕННОГО ФОРМИРОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ	12
1.1 Анализ состояния аквакультуры Белгородской области и выявление потребности населения в рыбной продукции	12
1.2 Прижизненное улучшение качества рыбной продукции, обогащенной микроэлементами и улучшенными потребительскими свойствами	16
1.2.1 Влияние кормов на качество мяса получаемой рыбной продукции	22
1.2.2 Пробиотические и пребиотические добавки	26
1.2.3 Микроэлементные премиксы	34
1.3 Опыт использования комплексных кормовых добавок для формирования пищевой продукции с заданными свойствами	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	53
2.1 Объекты исследований.....	55
2.2 Условия содержания и проведения экспериментов	55
2.2.1 Эксперименты на базе МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)	55
2.2.2 Эксперименты на базе хозяйства на ООО «Форелевый рай».....	58
2.2.3 Эксперименты на базе хозяйства на СССПОК «Белфорель»	60
2.3 Используемые кормовые добавки для формирования заданного качества рыбной продукции	63
2.3.1 Пробиотические препараты	63
2.3.2 Хелатные соединения микроэлементов	64
2.4 Приготовление опытных кормов	64
2.5 Определение рыбоводно-биологических показателей	66
2.6 Методы контроля физиологических показателей рыб	67
2.6.1 Гематологические исследования	67
2.6.2 Гистологические исследования	68

2.7 Оценка потребительских качеств обогащенной микроэлементами рыбы	69
2.8 Анализ микроэлементов в мясе рыбы	70
ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ИСПЫТАНИЯ КОМПЛЕКСНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА	72
3.1 Пробиотические препараты.....	72
3.2 Хелатные соединения микроэлементов	83
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ.....	97
4.1 Научно-хозяйственный опыт в ООО «Форелевый рай»	97
4.2 Научно-хозяйственный опыт в СССПОК «Белфорель»	101
4.3 Оценка экономической эффективности при введении в рацион разработанной добавки	109
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ОБОГАЩЕННОЙ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ	113
4.1 Оценка качества разработанных продуктов по основным показателям качества рыбной продукции	113
4.2 Сравнительная характеристика пищевой ценности обогащённого микроэлементами мяса рыбного сырья.....	117
4.3 Сравнительная характеристика минеральной ценности мяса рыбного сырья.....	119
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
ВЫВОДЫ.....	127
РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	131
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	145
ПРИЛОЖЕНИЯ	146

Приложение А (обязательное). Акты внедрения результатов диссертационного исследования.....	147
Приложение Б (обязательное). Акт использования материалов диссертационного исследования в учебном процессе.....	158

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Продовольственная безопасность государства является основной задачей сельскохозяйственных производителей нашей страны. Обеспечение населения Российской Федерации качественными продуктами питания, в том числе рыбной продукцией, является приоритетным направлением, которое нашло свое отражение во многих нормативных документах (Доктрина продовольственной безопасности, Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года, Федеральный закон "О качестве и безопасности пищевых продуктов" от 02.01.2000 № 29-ФЗ).

Рациональное питание составляет основу здорового образа жизни человека, является одним из важных факторов, которые обеспечивают снижение риска развития заболеваний, связанных с питанием, повышение физической активности и адаптации организма к возрастающей инфекционной нагрузке. Это обуславливает необходимость проведения корректировки рациона питания населения, в первую очередь, для поддержания работы сердечно-сосудистой системы, ликвидации микроэлементного дефицита, улучшения функционирования желудочно-кишечного тракта и других жизненно важных органов и систем организма человека (МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ»). Например, по данным социально-гигиенического мониторинга состояния здоровья и пищевого статуса различных социально-демографических групп населения области, жители города Белгорода, как и в целом Белгородской области, испытывают дефицит важнейших микроэлементов, а за период с 2017 года по 2021 год, по данным Управления Роспотребнадзора Белгородской области, ежегодный средний темп прироста уровня первичной заболеваемости, связанной с микронутриентной недостаточностью среди населения составил 0,3% («О состоянии санитарно – эпидемиологического благополучия населения в Белгородской области» 2019, 2023).

На современном этапе потребность населения в микроэлементах,

антиоксидантах и других жизненно важных веществах компенсируют за счет потребления обогащенных продуктов питания. Это позволяет повысить их качество и пищевую ценность, а также способствует реализации государственной политики в области здорового питания населения.

Белгородская область занимает первое место в ЦФО по количеству выращиваемой рыбы. Наиболее значимым объектом аквакультуры является радужная форель (*Oncorhynchus mykiss*). Естественно, что рыба, выращенная в этих условиях, должна стать важной составляющей здорового питания. Поэтому прижизненное формирование обогащенной микроэлементами рыбной продукции рассматривается правительством области как приоритетное.

В условиях технологического суверенитета наблюдается ускоренное наращивание объемов производства отечественных кормов для рыб, а также ведутся разработки новых рецептур и их апробация. Включение в рацион питания рыб пробиотиков, хелатных соединений микроэлементов и других биологически активных добавок не только способствует более активному росту и повышению иммунитета, но и улучшает качество мышечной ткани рыб, а, следовательно, и увеличивает пищевую ценность продукции аквакультуры и при дальнейших исследованиях создаст возможность отнести выращенную рыбу к пищевым продуктам, дополнительно обогащенным функциональными ингредиентами.

Следовательно, исследование возможностей прижизненного улучшения потребительских характеристик мышечной ткани рыб и формирование микроэлементного состава рыбного сырья при использовании кормов направленного действия, актуально, так как это позволит при минимальных дополнительных затратах получать обогащенную микроэлементами рыбную продукцию. Такая задача соответствует современному подходу к контролю качества продуктов питания на всех этапах производства, начиная от выращивания до потребления готовой продукции, и соответствует актуальному направлению развития пищевых систем.

Степень разработанности. В настоящее время в России и мире уделяется большое внимание разработке кормов и кормовых добавок с заданными

свойствами (Никифоров-Никишин А.Л., Пономарев С.В., Agheyisi R., Arines-Amar M., Bhagwat V., Falcinelli S., Lin S.). Продукция аквакультуры может использоваться для создания обогащенных продуктов питания за счет полноценного аминокислотного состава, высокого содержания полиненасыщенных жирных кислот или увеличенного микроэлементного состава. Кормление рыб является важным технологическим процессом, позволяющим создавать продукцию с повышенным содержанием необходимых компонентов. В диссертации доктора сельскохозяйственных наук Ирины Владимировны Поддубной, «Научно-практическое обоснование использования йодосодержащих кормовых добавок в товарном рыбоводстве» досконально изучены факторы аккумуляции йода рыбой.

Бактерии *Bacillus subtilis*, входящие в состав пробиотических препаратов для сельскохозяйственных животных и рыб, являются антагонистически активными и вырабатывают антимикробные субстанции, нормализуют микрофлору кишечника и могут использоваться в составе комплексных кормовых добавок (Бычкова Л.И., Грязнева Т.Н., Скляр В.Я., Юхименко Л.Н., Wuertz S.)

Следовательно, существует возможность корректировки макро- и микроэлементного состава рыбных кормов с добавлением пробиотических препаратов и необходимо дальнейшее изучение технологии их применения. А возможность аккумуляции дополнительных микроэлементов в течение всего срока выращивания рыбы до товарных размеров позволяет определить наличие увеличенных концентраций необходимых микроэлементов в получаемой рыбной продукции.

Цель диссертационной работы – разработать технологические рекомендации прижизненного получения обогащенной микроэлементами рыбной продукции в аквакультуре Белгородской области за счет использования в составе кормов комплексной кормовой добавки, включающей пробиотики и хелатные соединения микроэлементов.

Для достижения цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести анализ и обосновать возможность прижизненного формирования

обогащенной микроэлементами рыбной продукции для населения Белгородской области за счет применения комплексных кормовых добавок направленного действия;

2. Выявить наиболее эффективные и безопасные концентрации пробиотиков и хелатных соединений микроэлементов в составе кормов по рыбоводно-биологическим и физиологическим показателям радужной форели по результатам лабораторных исследований;

3. Установить эффективность применения кормовой добавки по рыбоводно-биологическим и физиологическим показателям радужной форели при интенсивном выращивании в условиях аквакультуры Белгородской области;

4. Оценить экономическую эффективность выращивания радужной форели при включении в состав основного корма разработанной кормовой добавки;

5. Сравнить органолептические и физико-химические показатели обогащенной микроэлементами опытной группы рыбной продукции;

6. Выполнить оценку потребительских свойств и минеральной ценности обогащенной микроэлементами рыбной продукции.

Научная новизна работы.

Научно обоснована и экспериментально подтверждена возможность прижизненного формирования микроэлементного состава рыбного сырья радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в условиях пресноводной аквакультуры, за счет использования кормов направленного действия;

Экспериментально обосновано, что применение комплексной кормовой добавки с включением хелатных соединений микроэлементов и пробиотиков улучшает продукционные и физиологические показатели радужной форели;

Установлены органолептические и физико-химические показатели обогащенной микроэлементами рыбной продукции;

Дана оценка потребительских свойств и минеральной ценности обогащенной микроэлементами рыбной продукции форелеводства.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в обосновании оптимального состава

разработанной добавки и разработке методических подходов прижизненного формирования микроэлементного состава рыбного сырья радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в условиях пресноводной аквакультуры.

В ходе работы разработана комплексная хелатно-минеральная пробиотическая кормовая добавка для радужной форели, формирующая заданные свойства получаемой рыбной продукции. Установлено, что ее применение в условиях индустриальной аквакультуры способствует стимуляции физиологического состояния рыбы и дает значительный экономический эффект. Показано улучшение микронутриентного состава мяса радужной форели при использовании кормов направленного действия. Полученная с применением предложенных нами технологических приемов обогащенная микроэлементами рыбная продукция, позволяет предприятиям пищевой промышленности формировать широкий спектр обогащенных продуктов питания.

Результаты промышленной апробации подтверждены актами о внедрении, представленными в приложении А.

Результаты исследований используются в учебном процессе на кафедре ихтиологии и рыбоводства ФГБОУ ВО «МГУТУ им К.Г. Разумовского (ПКУ)» при подготовке бакалавров и магистров по направлению «Водные биоресурсы и аквакультура» (Приложение Б).

Полученные в работе рецептуры кормовых добавок будут востребованы предприятиями кормопроизводства, аквакультуры и пищевой промышленности.

Методология и методы исследований. В работе применялись стандартные и специальные методы исследования рыбоводно-биологических, физиологических, биологических, органолептических, физико-химических показателей.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эффективность и безопасность применения комплексной разработанной добавки в кормах для радужной форели, оказывающей положительное влияние на физиологические и продукционные показатели;
2. Технологические приемы внесения и дозировки хелатных соединений микроэлементов и пробиотического препарата в кормах для выращивания форели.

3. Данные по органолептическим и физико-химическим показателям обогащенной микроэлементами рыбной продукции при применении разработанной кормовой добавки;

4. Результаты оценки потребительских свойств, пищевой и биологической ценности обогащенной микроэлементами рыбной продукции при применении разработанной кормовой добавки.

Личное участие автора. Диссертация является результатом исследований автора за период 2019-2023 гг. Автором самостоятельно поставлена цель и определены задачи исследований, план проводимых исследований по изучению влияния хелатных соединений микроэлементов и пробиотика на рыбоводно-биологические показатели радужной форели, статистически достоверно доказано положительное влияние кормовой добавки на производственные показатели выращиваемой рыбы и потребительские качества рыбопродукции. Проведен анализ и обобщение полученных результатов.

Степень достоверности и апробация результатов.

Трехкратная повторность экспериментальных исследований подтверждает достоверность полученных данных и их репрезентативность. Обработка результатов проводилась по общепринятым и специальным методам с применением статистических методов анализа.

Основные положения диссертационной работы представлены на следующих конференциях (мероприятиях): Заседания научно-производственной платформы «Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов» научно-образовательного центра мирового уровня «Инновационные решения в АПК» (Белгород 2020, 2021, 2022, 2023); Ежегодная национальная выставка «ВУЗПРОМЭКСПО»-2021 (экспозиция Научно – образовательного центра мирового уровня «Инновационные решения в АПК») (Москва, 2021); участие в качестве докладчика на выставке АГРОС 2023 (Москва, 2023).

Результаты диссертационного исследования прошли апробацию в 2020-2023 годах в ходе реализации проекта «Увеличение производственного потенциала

индустриальной аквакультуры Белгородской области за счет внедрения комбикормов направленного действия» в рамках научно-образовательного центра мирового уровня «Инновационные решения в АПК» (Белгородская область) (проект рег. № 10 090 706).

Разработанная добавка прошла апробацию в рыбоводных хозяйствах: ООО «Форелевый рай», СССПОК «Белфорель» с различным производственным циклом.

Теоретические положения внедрены в учебный процесс факультета биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» в рамках дисциплин: индустриальная аквакультура, корма и кормление.

Специальность, которой соответствует диссертация. Отраженные в диссертации научные положения соответствуют направлениям научной специальности 4.3.3 - «Пищевые системы»: прижизненное формирование заданного состава, структуры и функционально-технологических характеристик сельскохозяйственного сырья и технология, и товароведение пищевых продуктов, продуктов функционального и специализированного назначения и общественного питания (пункты 9, 11, 13, 17 паспорта специальности).

Публикации. По результатам выполненных исследований опубликовано 8 научных работ, из них 2 в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 5 статей в журналах, индексируемых в МБЦ Scopus, 1 монография.

Объем работы. Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук представлена на 158 страницах компьютерного текста, проиллюстрирована 25 таблицами и 37 рисунками. В список литературы входит 133 источника, в том числе 68 на иностранном языке.

ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИЖИЗНЕННОГО ФОРМИРОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

1.1 Анализ состояния аквакультуры Белгородской области и выявление потребности населения в рыбной продукции

Аквакультура на данный момент является одной из наиболее активно развивающихся отраслей сельского хозяйства. Продукция аквакультуры имеет большое значение для устойчивого развития и обеспечения пищевой безопасности. Интенсификация развития аквакультуры ограничена: доступностью водных и кормовых ресурсов, деградацией уже используемых биоценозов, экономической нестабильностью, а также недостатком законодательной поддержки. Данные проблемы могут быть решены внедрением новых технологий выращивания, использующих нетрадиционные виды организмов, новых систем очистки и ремедиации водных ресурсов, а также созданием усовершенствованных методов выращивания, в том числе кормов направленного действия.

Радужная форель или Микижа (*Oncorhynchus mykiss*) выступает одним из самых распространенных акклиматизированных объектов товарного выращивания. Такие страны европейского союза, как Италия, Швеция, Дания и Финляндия суммарно производят до 16-32 тыс. тонн форели ежегодно. Пищевая продукция, получаемая из радужной форели, относится к деликатесному типу, что обеспечивает высокую стоимость и стабильный спрос. По этим причинам в отчетах продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН можно видеть ежегодное увеличение объемов производства форели, рост которой обеспечен как увеличением вылова в прибрежных зонах, так и развитием аквакультуры.

Современное производство товарной форели основано на высокоинтенсивной форме рыбоводства, которое включает кормление качественными гранулированными и экструдированными кормами, выращивание при высоких плотностях посадки и постоянное соблюдение благоприятных

гидрохимических условий среды за счет применения замкнутых систем очистки воды. Эффективность такого выращивания определяется квалификацией персонала, степенью механизации труда, качеством кормов и технологиями кормления, количеством одновременно культивируемых возрастных групп, а также доступностью посадочного материала.

В РФ развитие рыбоводства является одним из приоритетных направлений государственной политики, в котором особое место отводится аквакультуре (Стратегия развития аквакультуры Российской Федерации на период до 2030 года, 2017). Данная стратегия подразумевает планомерное увеличение объема производимой рыбной продукции, в том числе на внутренних водоемах и аквакультурных хозяйствах нового типа.

Радужная форель выращивается во всех климатических зонах на территории РФ. Среди федеральных округов по количеству рыбной продукции лососевых лидирует Северо-Западный, в котором за 2019 производство увеличилось на 24 тыс. тонн, достигнув 91 тыс. тонн форели, семги и иных лососевых видов рыб (или более 86% от показателей по стране). Дальнейший рост в 2021 году составил 18,9%, с 93,4 тыс. тонн до 111,01 тыс. тонн. Для сравнения: общий объем производства карповых видов рыб, включая рыбопосадочный материал, составил в январе-октябре 2020 г 46 тыс. тонн, а беспозвоночных - 29 тыс. тонн (О развитии и поддержке аквакультуры (рыбоводства) в Российской Федерации, 2020). Активному развитию аквакультуры лососевых также способствует доступность рыбопосадочного материала, который выращивается в 7 организациях племенного рыбоводства на территории РФ.

Внимание развитию отечественного форелеводства уделяется со стороны федеральных органов власти, обеспечивающих реализацию единой политики в области аквакультуры. Так, в 2021 году Минобрнауки России выделил грант ФГБНУ «ВНИРО» на тему «Создание панели геномных маркеров высокой продуктивности и болезнеустойчивости как основа для геномной селекции и геномного редактирования при создании новых отечественных пород и линий семги, форели и карпа». Это подтверждает актуальность развития собственного

форелеводства по всем направлениям, включая самые передовые.

В Центральном и Южном федеральных округах РФ имеются широкие возможности для развития пресноводной аквакультуры, что может представлять особое значение для обеспечения населения полноценными продуктами питания.

Белгородская область обладает существенным потенциалом для развития индустриальной аквакультуры. На сегодняшний день регион является активным участником различных программ по развитию агропромышленного комплекса. Среди них стоит выделить областную программу «Развитие аквакультуры ценных пород рыб и других гидробионтов в Белгородской области на 2013–2015 годы и на период до 2020 года», объем финансирования которой составил более 2 млрд. рублей. Наличие на территории области необходимых ресурсов, развитие сельских территорий и сельскохозяйственной кооперации и создание новых аквакультурных предприятий дали существенный толчок для развития отрасли (Павлов и др., 2019). По данным полученным за 2016 год Белгородская область занимает 22 место в РФ по производству рыбной продукции и первое место в Центральном федеральном округе по производству охлажденной и свежей аквакультурой продукции. За 2021 год объемы товарной рыбы и рыбопосадочного материала составили 12 тыс. тонн, превышая показатели 2020 года на 7,5% (что сравнимо с показателями Мурманской области и Республики Карелия). По последним данным на территории региона функционирует 62 рыбохозяйственных предприятия прудовой и 17 - индустриальной аквакультуры. При этом, большая часть индустриальных хозяйств специализируется на выращивании радужной форели.

Помимо этого, реализуется ряд программ по воспроизводству ценных и краснокнижных видов рыб, а также производство кормов и рыбной продукции, основанных на применении самых передовых технологий. В том числе, широкомасштабно развивается фермерское рыбоводство, что может послужить основой для создания органической аквакультуры и решения задач социально-экономического развития сельских регионов.

Перспективность индустриального типа выращивания лососёвых видов рыб продиктована: недостатком свободных земельных участков, обладающих

необходимыми условиями для выращивания таких требовательных видов рыб, высокими объемами капитальных затрат на строительство и запуск производства, вследствие чего подобные предприятия обладают длительным сроком окупаемости. Интенсивное выращивание с использованием установок замкнутого водоснабжения выступает многообещающей альтернативой для разведения радужной форели.

Современные интенсивные хозяйства рециркуляционного типа, использующие установки замкнутого водоснабжения (УЗВ) для выращивания радужной форели включают: рыбоводные бассейны, сегменты водоподготовки, секции подачи и отвода воды. Наиболее важной частью системы является водоподготовка, где происходят основные процессы очистки воды (т.е. циркуляция). Данные процессы включают: очистку от взвешенных частиц (продукты жизнедеятельности рыб и остатки корма) за счет механической фильтрации; преобразование аммиака в нитрит, далее в нитрат и затем в газообразный азот, т.е. процессы нитрификации и денитрификации; удаление углекислого газа и фосфатов; последний этап предполагает обогащение воды растворенным кислородом и возвращение в рыбоводные емкости. Подобный процесс водоподготовки позволяет даже при интенсивном выращивании снизить потребление воды и получить дополнительную выработку субстрата для удобрений.

Для эффективного разведения радужной форели предприятие должно иметь несколько цехов: для инкубации икры и выдерживания/выращивания личинок, подращивания молоди до 5 г и от 5 до 50 г.

Для обеспечения дальнейшего развития аквакультуры данного региона, в том числе ценных видов рыб (включая радужную форель), необходимо создание новой и улучшение существующей материально-технической базы технологий выращивания, в том числе создание кормов направленного действия.

1.2 Прижизненное улучшение качества рыбной продукции, обогащенной микроэлементами и улучшенными потребительскими свойствами

Кормление является ключевым технологическим процессом в аквакультуре. Применение рациональных технологий кормления и использование полноценных кормов является наиболее важным условием успешного функционирования хозяйства. Выращиваемые гидробионты должны получать с кормами все необходимые для развития вещества, включая: белки с полным набором незаменимых аминокислот, жиры и жирные кислоты, углеводы, а также витамины и минеральные вещества. Важно заметить, что потребность в определенных питательных веществах может изменяться в зависимости от возраста рыбы, ее полового статуса, а также изменений биотических и абиотических факторов среды (световой режим, газовый режим, температура воды и другие гидрохимические параметры).

Потребность рыб в питательных веществах различна. Больше всего для успешного развития гидробионтам требуется белок, далее идут жиры и углеводы, меньше всего требуется витаминов, минеральных веществ и жирных кислот. При обосновании новых рецептур кормов необходимо обращать внимание на физиологические особенности рыб:

Температура выращивания. Метаболизм организма напрямую зависит от температуры среды, возрастая до определенного уровня с ростом температуры;

Возрастная и размерная группы рыб. У молоди рыб интенсивность обмена веществ выше, чем у взрослых особей;

Изменение физиологической и метаболической активности объектов выращивания в зависимости от сезона (нерест, зимовка);

Для хищных видов рыб характерны высокие скорости метаболизма, что обуславливает использование кормов с повышенным содержанием белка;

Кислородный режим. Недостаток или избыток кислорода могут существенно ограничивать ростовые показатели рыбы;

Высокий метаболизм некоторых видов (лосось, форель) требователен к количеству потребляемого корма и чувствителен к недостатку микроэлементов и витаминов.

Полноценность белкового состава корма определяется наличием заменимых и незаменимых аминокислот. В качестве белкового компонента корма могут выступать протеин животного происхождения, имеющий наибольшую биологическую ценность и белки растительного происхождения, являющиеся неполноценными по ряду незаменимых аминокислот. В зависимости от выращиваемого вида рыб количество белкового компонента растительного и животного происхождения может варьировать. Так, для хищных видов рыб предпочтительнее использовать корма с максимальным содержанием белков животного происхождения, однако, возможна замена небольшой части (5-20%) на белковый компонент растительного происхождения, который обладает повышенным содержанием лизина.

Питательная ценность корма, включая качество белкового компонента, может быть достоверно установлена только после апробации кормов при экспериментальном кормлении. Аминокислоты из разных источников обладают различной биодоступностью для организма и не всегда могут быть усвоены в процессе пищеварения. Таким образом, данные химического анализа не всегда могут достоверно обосновать питательную ценность корма.

Для радужной форели потребность в протеине определяется возрастом. Так, для молоди с высокими показателями метаболизма и чуть менее низким уровнем усвояемости белка, количество протеина в кормах должно составлять 40-55%. Для взрослой рыбы достаточно 35-40% белка. При определении состава рациона необходимо обратить внимание на то, что увеличение протеинов в кормах приводит к нарушению энергетического гомеостаза. Недостаток жиров и углеводов, являющихся основными энергетическими субстратами, приводит к использованию протеинов в качестве источника энергии.

Необходимое количество питательных веществ для двух возрастных групп радужной форели представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Требуемое количество основных питательных веществ в кормах для радужной форели в %.

Ингредиенты, %	Молодь форели	Товарная форель
Белки	45-53	38-45
Жиры	11-13	11-20
Углеводы	15-20	25-30
Клетчатка	1,5-2	3,5
Минеральные соли	10-12	10-15
Общая энергия, тыс. ккал/кг	4,5-5	4-4,5
Энергия с учетом усвояемости, тыс. кДж/кг	3-3,5	2,5-3

* по Барулину и др. (2016).

Жиры представляют собой разнородную по строению группу химических органических веществ, общей чертой которых является нерастворимость в воде. Для большинства позвоночных организмов данная группа соединений является основным источником энергии в организме. При недостатке жиров в кормах затраты энергии покрываются за счет белкового компонента, тем самым снижая белковый обмен и рост рыбы. Переизбыток жиров в кормах приводит к развитию ряда патологических процессов, а именно: метаболическому перерождению органов (печени и почек) и ухудшению активности гемоцитопоэза.

Для молоди форели предпочтительно использовать в качестве источников жиров рыбий жир, обладающий более полноценным жирно-кислотным составом. В случае взрослых особей, лучше применять в составе рациона растительные масла и/или фосфатиды, являющиеся природными антиоксидантами, что предохраняет корма от окисления и позволяет им сохраняться в течение длительного времени. Форель способна усваивать до 25% жиров животного происхождения от общего состава корма, однако, несбалансированность жирно-кислотного состава может приводить к развитию алиментарных заболеваний (Хрусталева и др., 2017).

Использование растительных масел в кормах напрямую зависит от их биологической ценности, а именно: от содержания стероидов, жирорастворимых витаминов, фосфолипидов, эфирных масел и других компонентов.

Углеводы являются соединениями, включающими в молекуле как альдегидную, так и кетонную группы, а также несколько гидроксильных групп. Также как и жиры, углеводы в кормах в основном являются источником энергии. Максимальная доля перевариваемых углеводов в кормах для радужной форели не должна превышать 12% или, без учета перевариваемости, 25-30%. У форели углеводный обмен носит характер диабетического, что особенно ярко проявляется у молоди. Для форели малых возрастных групп количество углеводов в кормах не должно превышать 15-20%, что напрямую связано с низкой скоростью выработки инсулина. Было также показано, что отсутствие необходимого количества углеводов в кормах у двухлетков форели приводит к уменьшению темпа роста и увеличению кормового коэффициента. Потребление кормов с увеличенным содержанием углеводов негативно сказывалось на функционировании печени, а также может вызвать повышенный отход (Щербина и др., 2006)

Основными и наиболее оптимальными источниками углеводов в кормах являются злаковые и продукты их переработки (ячмень, пшеница) и дрожжи, обезжиренное молоко.

Макро- и микроэлементы являются необходимыми компонентами любой кормовой смеси, так как они выполняют ряд важных биологических функций в организме, участвуя в биохимических процессах, поддерживая кислотно-щелочной баланс, влияют на эффективность и скорость течения ферментативных процессов (Гамыгин, Е.А, 2001). Для радужной форели необходимыми являются кальций, фосфор, магний, калий, сера и хлор (макроэлементы), и железо, цинк, медь, марганец, кобальт, селен, медь, молибден и хром (микроэлементы). Концентрация макро- и микроэлементов обычно составляет 50 мг на кг массы тела рыб.

Потребность форели в микроэлементах зависит от условий содержания. В условиях морских водоемов, большую часть микроэлементов рыба может получать из окружающей среды и добавление их в корма в больших количествах не требуется. В условиях индустриального выращивания, рыбоводами уделяется значительное внимание микроэлементному составу кормов, так как их недостаток приводит к развитию ряда заболеваний (табл. 2).

Таблица 2 – Симптомы, проявляющиеся у рыб при недостатке поступления с пищей минеральных веществ

Минеральное вещество	Потребность для радужной форели, мг	Симптомы и нарушения при недостатке
P	0,6-0,8	Замедление роста, неравномерное развитие скелетной ткани
Mg	0,05-0,07	Замедление роста, нарушение осморегуляции, конвульсии, повышение содержания кальция
Fe	-	Анемия
Zn	15-30	Замедление роста, эрозия внешних покровов, высокая смертность, нарушение зрительной системы
Mn	12	Замедление роста, неравномерное развитие скелетной ткани
Cu	0,1	Замедление роста
Co	0,1	Замедление роста

* Барулин и др. (2016) и Щербина и Гамыгин (2006).

Более подробное описание физиологических функций микроэлементов и их потребностей для радужной форели приведены в пункте 1.3.2.

Витамины являются разнородной по своему происхождению группой веществ, которые являются жизненно необходимыми для сбалансированного питания. Большая часть витаминов не синтезируется в организме рыб и может поступать только с кормом.

Для достижения максимального экономического эффекта в каждом регионе используются корма, изготавливаемые из наиболее доступных и дешёвых компонентов, при сохранении качественного и количественного состава, пригодного для массового выращивания рыбы. Ключевым недостатком таких кормов является несбалансированность микроэlementного и витаминного состава (Дулина, 2018). Дефицит макро- и микроэлементов в рационе рыб может влиять, не только на скорость роста, и, как следствие, время получения товарной продукции, но и на качество мяса рыб (Гадзаонов и др., 2017). Для коррекции готовых кормов лучше всего использовать хелатные соединения металлов, по причине их высокой биодоступности, что позволяет применять их в значительно

более низких концентрациях, чем минеральные соли (Shao et al., 2010; Buentello et al., 2009; Apines M. J. S. et al., 2003). В стандартных кормах высокое содержание минеральных премиксов может создать ионный дисбаланс в составе собственной микробиоты, который окажет негативное воздействие на процессы роста рыбы и усвояемость кормов (Гамыгин и др., 2001, 2014, 2015; Rimoldi et al., 2018).

Вероятность возникновения алиментарных заболеваний, и как следствие, снижение функции иммунной системы, повышается в условиях бассейнового выращивания, при высоких летних температурах, характерных для центральных и южных регионов РФ, расположенных за пределами естественного ареала лососевых рыб.

Для увеличения количества выращиваемой рыбной продукции в Белгородской области проводится ряд мероприятий, направленных на увеличение объёма производства уже существующих рыбохозяйственных предприятий. На данный момент в России имеется ряд линеек заводских кормов от разных производителей, практически полностью покрывающих все размерные и весовые группы рыб. В рамках данных работ, одним из эффективных способов интенсификации аквакультуры является разработка кормовых добавок, позволяющих существенно улучшить качество используемых кормов. Такого эффекта можно достигнуть, совмещая применение минеральных добавок и пробиотических бактерий, влияющих на усвояемость пищи и оказывающих опосредованное влияние на иммунную функцию клеток кишечника (Бородин и др., 2019).

Строение желудочно-кишечного тракта у хищных рыб, таких как *Oncorhynchus mykiss*, отличается от строения кишечника всеядных рыб (Simakov et al., 2020). По этой причине основная масса бактериальной микрофлоры кишечника сосредоточена в пилорических выростах и ее влияние на процессы усвоения пищи ниже, чем у карповых и осетровых. Следовательно, можно предположить, что эффективные дозы применения пробиотических препаратов, должны быть выше.

В последние годы убедительно показан положительный эффект при введении прудовых рыб в рационы питания (Antipova et al., 2016), что неизбежно приводит к

широкому применению кормовых добавок в виде хелатных соединений микроэлементов и пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* и *Lactobacillus* (Бычкова, 2007; Власов и др., 2018; Ушакова и др., 2012; Raida et al., 2003). Первоначально исследование этих кормовых добавок и их применение началось в животноводстве (Дункель и др., 2008), а позднее, их начали применять и в рыбоводстве. Данные кормовые добавки оказались эффективными на ранних стадиях онтогенеза рыб. Их применение увеличивает коэффициент выживаемости на ранних стадиях развития, способствуют повышению иммунитета и стимулирует прирост массы выращиваемых объектов (Трифенова, 2008). Особенно их применение актуально в регионах, где температурные характеристики существенно выше оптимальных, и как следствие, наблюдается ускоренное развитие патогенной микрофлоры в кишечнике (на примере карповых видов рыб) (Скляр, 2013). Однако, большинство исследовательских работ по влиянию указанных кормовых добавок на рыб выполнено только с одним пробиотическим препаратом. В большинстве работ исследовано либо воздействие хелатов на биологические показатели ациноцитов, либо подробно изучено действие пробиотиков на пищеварительную функцию рыб. Комплексных исследований совместного действия хелатных соединений биогенных элементов и пробиотического препарата ранее не проводилось. Учитывая, что пробиотические добавки имеют различный механизм действия и, значительно повышают эффективность их применения в рыбоводстве и определило актуальность данного исследования.

1.2.1 Влияние кормов на качество мяса получаемой рыбной продукции

Качество корма влияет не только на показатели роста и здоровье рыб, но и на органолептические показатели рыбной продукции. Доброкачественная и свежая рыба должна иметь специфичный запах, прозрачную слизь без примесей крови, отсутствие повреждений и естественную окраску внешних покровов, плотную мышечную ткань, упруго прилегающую к скелету, умеренно упругое брюхо без

вздутия, естественную окраску внутренних органов. На качество рыбы напрямую влияют условия содержания, как следствие качество водной среды, и качество кормов, могут оказывать влияние на повышение заболеваемости гидробионтов. Например, недостаток селена и кобальта, а также витамина Е в кормах могут приводить к деградации мышечной ткани (мышечной дистрофии), что напрямую оказывает влияние на качество готовой продукции (Барулину и др., 2016). Помимо этого, переизбыток энергетических веществ в кормах (жиров, углеводов) приводит к накоплению жировых резервов в тканях рыб, в частности, в мышечной ткани, что отмечается для лососевых видов рыб (Хрусталева и др., 2017).

Наличие в составе корма антипитательных факторов или некачественных компонентов может вызывать появление специфичных запахов на этапе хранения или кулинарной термообработки рыбной продукции (Астренков и др., 2010). При кормлении радужной форели кормами с содержанием растительных компонентов, подвергшихся термической обработке, отмечается положительное влияние на качество мяса рыбы (Мясников, 2020).

Наиболее ярким примером влияния кормления на качество мяса рыб является изменение цвета мяса товарной форели, при использовании в кормах различных пигментных добавок. При искусственном выращивании, для получения необходимого ярко-розового оттенка мяса, производители добавляют в корма натуральные или искусственные красители, среди которых наиболее популярным является астаксантин (Гамыгин, Е.А., 2004). При недостатке красителя или несоблюдении технологии кормления, мясо лососевых приобретает бледную окраску, что снижает потребительские характеристики.

Для определения состояния мышечной ткани целесообразно использовать не только классический органолептический метод, но и применять различные гистологические и цитологические методики, позволяющие получить данные о строении и формировании мышечной ткани в ходе выращивания. Так, в исследовании Козий и Шерман (2011) было показано, что применение в составе рациона карпа гранулированных кормов приводит к увеличению диаметра и уменьшению доли стромы мышечных волокон. Исследование мышечной ткани

рыб, получавших несбалансированные по микроэлементному составу корма, показало деградацию фибриллярной структуры и невосприимчивость ткани к цитоплазматическим красителям и предлагается использовать гистологический метод анализа для оценки экстерьерных показателей рыбы.

В более позднем исследовании было показано, что состав корма влияет на формирование миометрической структуры мышечной ткани белого амура, а именно, увеличение толщины миомеров белых волокон и их сократительной способности (Козий, 2020). Получение рыбой несбалансированных по составу кормов привело к уменьшению количества фибриллярной ткани, что не соответствует требованиям к качеству рыбной продукции.

В работе Гадзаонова и соавторов (2017) было продемонстрировано, что использование в кормлении карпа каньги не приводит к существенному изменению органолептических и потребительских показателей рыбы. Так как заболеваемость (поражение рыбы различными патогенными микроорганизмами) является одной из причин ухудшения морфологических показателей, использование в кормах различных иммуностимулирующих добавок может привести к сохранению товарных качеств рыбы. Так, кормовая добавка Akwa-Biot-Norm привела к уменьшению поражения ленского осетра сапролегнией в условиях индустриального выращивания (Семенов и др., 2019).

Использование коммерческого пробиотического препарата *Bacillus subtilis* в кормах для карпа показало незначительное улучшение товарных качеств (по массе тушки

и убойному выходу) рыбопродукции (Новикова и др., 2022). Однако, использование в кормах комплексного пробиотического препарата на основе двух штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* привело к достоверному увеличению содержания притеина в мышцах осетров (Юрина, 2016). Схожие результаты были получены другими авторами (Федоров 2023; Kurdomanov et al., 2019; Иванова и др., 2012). Следовательно, включение в корм пробиотических препаратов приводит к изменению продукционных показателей рыбного сырья.

Использование при кормлении тилапии кормов с более полноценным

составом питательных веществ позволило не только увеличить скорость роста, но и привело к обогащению мяса (повышению содержания фосфора и калия) (Столяров, 2018). Подобные результаты также были получены при прудовом выращивании карпа (Астренков и др., 2010). Это подтверждает значительную степень влияния состава и качества кормов на товарные качества выращиваемых видов рыб (Тяпугин и др., 2017).

Нутриентному составу мяса уделялось значительное внимание со стороны исследователей в течение длительного периода времени. Анализ литературных данных позволил установить наличие незначительных различий относительного содержания белков, жиров и углеводов в мясе радужной форели в зависимости от условий содержания, кормления и других абиогенных факторов (табл. 3).

Таблица 3 – Пищевая и энергетическая ценность мышечной ткани радужной форели

Нутриент, %	Источник литературы								
	Phillips and Brockwey, 1956	Bud et al., 2008	Celik et al., 2008	Grujić, 2000	Plavša et al., 2000	Savić et al., 2004	Ćirković et al., 2002	Mustafa et al., 2021	
Белки	13.7	21.2	18.8	19.6	20	18.3	17.1	19-20	18.3
Жиры	5.5	3.4	2.9	4.43	3.8	7.6	9.07	2.7	2.2
Вода	77.2	71.5	77.03	71.6	75	73.5	71.95	76.3	77.5
Углеводы	2	3.3	1.15	1.36	1.2	1.28	1.45	1.5	1.8
Энергетическая ценность, ккал/100 г	110.7	117.8	102	130.1	105.2	142.1	151.8	102.3	99.8
Энергетическая ценность, кДж/100 г	452	488.3	422.9	540.3	435.7	593.6	635.1	423.8	417.2

Таким образом, технология кормления и состав корма оказывают непосредственное влияние на качество продуктов рыбоводства, вызывая изменение соотношения белков (аминокислот) и жиров в мышечной ткани, а также аромат и вкус мяса. Это позволяет предположить возможность коррекции

нутриентного состава рыбной продукции, с учетом требуемого нутриентного состава.

1.2.2 Пробиотические и пребиотические добавки

В настоящее время интенсивные методы производства рыбной продукции сопряжены с необходимостью предупреждения и лечения различных вирусных, бактериальных и других заболеваний. Как правило, для лечения бактериальных заболеваний в больших хозяйствах широко используют антибиотики - вещества природного или синтетического происхождения. К вспышкам бактериальных инфекций способствует чрезмерное кормление, когда часть остается не съеденной и приводит к увеличению органического загрязнения водной среды. Такие факторы, как высокая плотность посадки и несовершенство систем фильтрации также способствуют ухудшению качества среды выращивания и увеличивают вероятность распространения инфекции.

Низкое качество воды выступает одной из ключевых причин ослабления иммунитета рыбы, делая их уязвимыми для патогенных и условно-патогенных бактерий, которые постоянно присутствуют в бассейнах выращивания. Такие виды бактерий, как: *Edwardsiella tarda*, *Vibrio alginolyticus*, *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas salmonicida* и *Flavobacterium columnare* являются наиболее распространенными патогенами. Патогенные виды микроорганизмов чаще всего являются мультирезистентными и могут заражать широкий спектр хозяев. Заражение рыб в естественных условиях зависит от абиогенных и биогенных факторов среды обитания. Массовые заболевания в аквакультуре, —могут происходить внезапно и чаще всего проявляются при несоблюдении технологических условий выращивания (плотность посадки, качество водной среды, отсутствие карантина). Например, к числу тяжелых инфекционных заболеваний, выявляемых у рыб в индустриальной аквакультуре, относят фотобактериоз, фурункулез и вибриоз (Юхименко и др., 2022; Воронин и др., 2011). К признакам инфекционного заражения у пораженной рыбы можно отнести:

внутренние кровотечения, изъязвления внешних покровов, изменение их поведения, отказ от корма, пучеглазие и ряд других признаков. Несвоевременное лечение и профилактика заболеваний приводят к существенным потерям рыбной продукции. Особенно опасно развитие данных заболеваний у ремонтно-маточного стада.

Антибиотики и химиотерапевтические препараты, помимо бактерицидного действия на патогенные организмы, оказывают влияние на:

- сапрофитные микроорганизмы водной среды, снижая эффективность биофльтрации;
- способны накапливаться в тканях рыбы, снижая качество рыбной продукции, и попадать в организм человека;
- комменсальные и симбиотические микроорганизмы слизистых оболочек, оказывая влияние на процессы естественных иммунных барьеров и переваривание нутриентов;
- приводят к развитию устойчивых к антибиотикам штаммов, что представляет серьезную угрозу не только для аквакультуры, но и для человека.

Ввиду вышеописанных проблем, во многих странах уже введены запреты на массовое применение антибиотических препаратов в сельском хозяйстве. Активно ведутся исследования по поиску экологически безопасных альтернатив антибиотикам, среди которых препараты, улучшающие состояние микробиоты получили наибольшее внимание и считаются наиболее перспективным средством.

Пробиотики, согласно определению Всемирной организации здравоохранения, являются живыми микроорганизмами, вводимыми в соответствующих дозировках в организм хозяина и оказывающими благоприятное воздействие на его здоровье и иммунные показатели. Verschuere L. и др. (2000) представили более полное определение, которое включает описание экологических взаимодействий между пробиотиками, комменсальной микробиотой и физиологическими процессами хозяина. Механизм действия пробиотиков классически подразделяется на несколько категорий:

1. Антагонистический: бактериоцины вытесняют других представителей микробиоты, в т.ч. патогенных, за счет продуцирования бактериоцидных соединений;
2. Источник питательных веществ и ряда пищеварительных ферментов, способствующих улучшению пищеварения и метаболизма нутриентов;
3. Адгезия и колонизация в слизистой кишечника, что приводит к увеличению конкуренции между комменсальной и условно-патогенной микробиотой, а также модулирует экспрессию факторов, связанных с иммунитетом.

По результатам многолетних исследований пробиотиков на высших позвоночных животных было выделено несколько групп пробиотических препаратов, которые могут оказывать различное действие на хозяина. Так, по количеству и типу микроорганизмов в составе препарата выделяют монокомпонентные (включают только один вид бактерий); поликомпонентные – (несколько видов/штаммов микроорганизмов) сорбционные (помимо пробиотического штамма содержат энтеросорбенты, как эффективные средства для выведения токсиканта и продуктов его метаболизма); метаболические пробиотики (включают в своем составе компоненты клеточной стенки бактерий или метаболиты, способствуя развитию комменсальных микробных сообществ) и синбиотики (препараты комплексного состава, включающие как пробиотический штамм, так и различные биологические активные компоненты, оказывающие влияние на его рост).

Также пробиотические препараты можно разделить по назначению и по форме выпуска. Схема классификации пробиотиков представлена на рисунке 1.

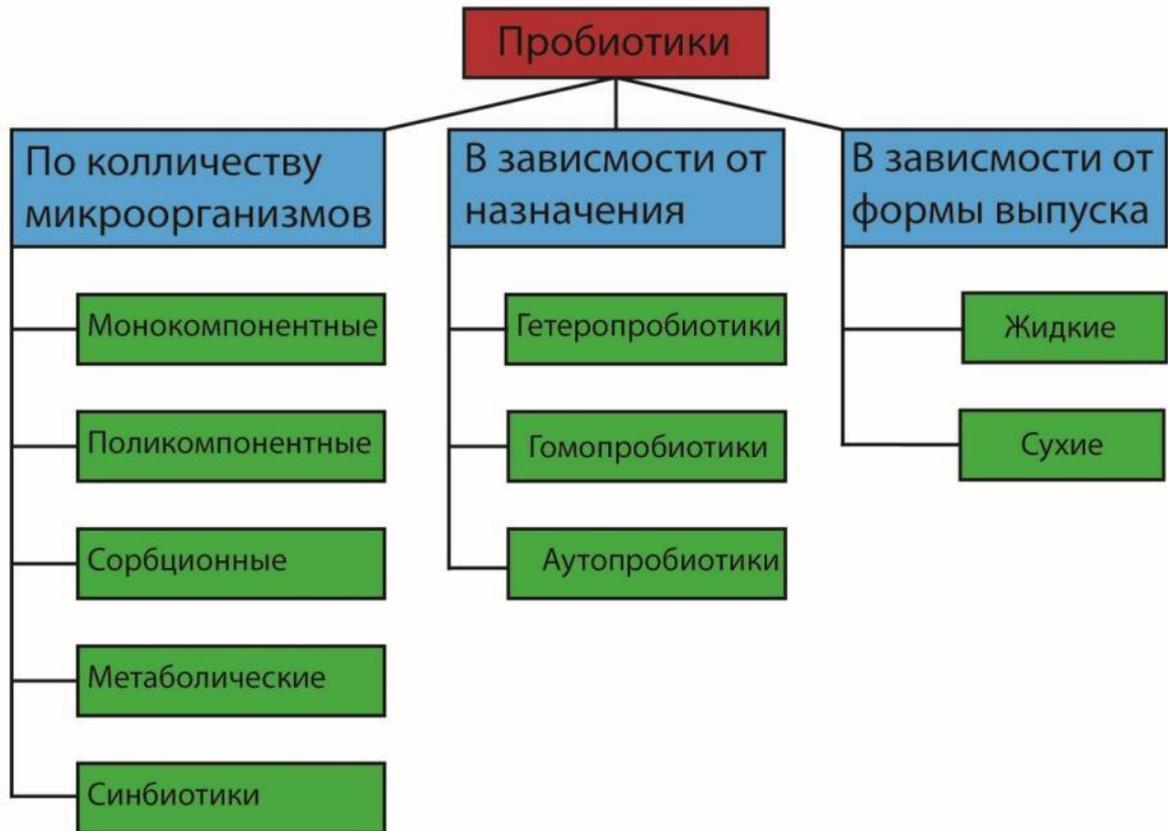


Рисунок 1 – Основная классификация пробиотических препаратов согласно Текебаева и др. (2020)

Представленная выше классификация пробиотических препаратов не может считаться полной, так как активное развитие пищевой и кормовой промышленности привело к созданию огромного множества различных подгрупп, описание которых в данной работе не имеет смысла.

На данный момент имеются многочисленные сведения о влиянии пробиотиков на рыб, зараженных различными патогенными микроорганизмами. Из ранних работ стоит упомянуть об исследовании Smith и Davey (1993), которые выделили штамм *Pseudomonas fluorescens* F19/ 3 и показали его эффективность в ингибировании *Aeromonas salmonicida* путем конкуренции за свободное железо. Свободные микроэлементы являются необходимым компонентом для развития многих микроорганизмов, в том числе патогенных, и отсутствие доступа к питательному субстрату может быть эффективным способом борьбы с ними. Примером бактерицидного действия пробиотических штаммов может выступать *Lactococcus lactis* TW34, выделенный из морской рыбы и способный к выработке

бактерицидного соединения, которое подавляет рост некоторых условно-патогенных штаммов. Авторы указывают, что данный штамм пробиотических бактерий может быть эффективным для профилактики лактококкоза – одного из глобально распространенных заболеваний аквакультуры (Sequeiros et al., 2015).

Bacillus amyloliquefaciens широко применяется в качестве пробиотика в коммерческих кормах и имеет большое количество штаммов, многие из которых проявляют пробиотическую активность. Так, было показано, что штамм *Bacillus amyloliquefaciens* (KF623290) проявляет антагонизм по отношению к трем видам патогенных для рыб видов бактерий: *Vibrio anguillarum*, *Photobacterium damselaе* и *Pseudomonas anguilliseptica* (Dutta et al., 2015). Как продемонстрировал Chen и др. (2016) *Bacillus amyloliquefaciens* приводит к улучшению роста, иммунных параметров и улучшает устойчивость к *Vibrio anguillarum*. Представители родов *Bacillus* и *Lactobacillus* продемонстрировали антимикробные свойства по отношению к таким видам патогенов, как: *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus macerans* и *Bacillus pumilus* (Wuertz et al., 2021).

Среди пробиотиков наибольшее внимание в аквакультуре получают микроорганизмы, относящиеся к молочнокислым бактериям (LAB). В исследованиях за последние 10 лет было показано, что пробиотические препараты на основе *Lactobacillus plantarum* и *Pediococcus pentosaceus*, *Lactocaseibacillus rhamnosus* и *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus subtilis* C-3102 (Dawood et al., 2015, 2016) не только улучшают конверсию корма, но и способствуют улучшению показателей собственного иммунитета, а также обеспечивают антиоксидантную защиту. Многие из данных видов бактерий были получены как из внешних источников (от наземных животных), так и выделены из аквакультурных видов рыб. Улучшение собственного иммунного ответа также может быть одним из способов профилактики бактериальных заболеваний.

При высокой плотности посадки, характерной для индустриальной аквакультуры России, вырастает вероятность заражения бактериальными и паразитарными болезнями (Zhou et al., 2010), для профилактики которых обычно

применяются пробиотические препараты (Martínez-Porchas et al., 2017). Использование пробиотиков *Bacillus spp.* на многих видах рыб, выращиваемых в условиях аквакультуры, продемонстрировало повышение устойчивости к заболеваниям бактериальной природы (Ramos et al., 2017; Ferguson et al., 2010). Эффективность использования пробиотиков зависит от того, по какому пути происходит заражение рыбы патогеном (Buchkova et al., et al., 2020). В частности, бактерии кишечной группы попадают в организм рыбы вместе с некачественным кормом (Ramos et al., 2015). Гарантированное получение товарной продукции форели в таком случае возможно только при применении нескольких компонентов, добавляемых в корма рыбы.

Вторым ингредиентом, исследуемым совместно с хелатными добавками, был пробиотик на основе спор бактерий, представителей штамма *Bacillus subtilis* ВКТМ В-2335. Данный штамм способствует нормализации микрофлоры, предупреждению и коррекции дисбактериоза, и снижению уровня эндогенной интоксикации. Порошковый пробиотик на основе этого штамма является высокоэффективным и применяется для профилактики бактериальных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Эффект препарата определяется способностью этих бактерий подавлять активность патогенной и условно-патогенной микрофлоры кишечника, создавая таким образом благоприятные условия для роста представителей нормальной микрофлоры (бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки). Введение в кормовую добавку пробиотических бактерий стимулирует у молоди карпа сопротивляемость организма к вирусным и бактериальным инфекциям, качественно и количественно нормализует состав микрофлоры пищеварительного тракта (Pereira et al., 2020), а присутствие компонентов молока может позволить усилить такой эффект, с одной стороны, за счет содержания нутриентов, а с другой, за счет формирования пленки на поверхности гранул корма.

В настоящее время пробиотики уже широко применяются в аквакультуре при выращивании карпа и дают положительные результаты (Трифорова et al., 2008). Следует отметить, что бактериальные пробиотические препараты при

выращивании карпа применяются в качестве профилактических препаратов, которые не дают развиваться бактериальной геморрагической септиемии (Юхименко и др., 2009). Таким образом, целью работы Юхименко и соавторов стало исследование комплексного воздействия хелатных соединений биогенных металлов и пробиотического препарата бактерий *Bacillus subtilis* ВКТМ В-2335 на молочной основе на активность пищеварительной функции у молоди карпа и подбор оптимальных соотношений составов и их физико-химических показателей, выявляемых на клеточном уровне по изменению морфометрических показателей гранул зимогена в панкреатоцитах исследуемых особей.

Пробиотики, полученные из разных источников, могут проявлять различную биологическую активность, которая чаще всего видоспецифична. Некоторые исследователи настаивают на том, что в качестве альтернативы антибиотикам лучше всего подходят собственные (автохтонные) микроорганизмы, так как они изначально приспособлены к специфичным условиям внутренней среды организма. Однако, большая часть используемых на данный момент пробиотических штаммов представляет собой организмы аллохтонного происхождения. Литературные данные, приведенные выше позволяют предположить, что у пробиотиков аллохтонного и автохтонного происхождения сравнимая эффективность по отношению к патогенным микроорганизмам, при условии соблюдения необходимых протоколов кормления.

Пробиотические препараты обладают способностью влиять на состав комменсального микробиома, который играет важную роль в защите хозяина от патогенных бактерий. Одним из ключевых механизмов действия пробиотиков на организм хозяина, позволяющим снижать действие патогенных бактерий является снижение возможности колонизации поверхности слизистой. Данный механизм проявляется в прямом взаимодействии между комменсальным микробиомом и патогеном, как конкуренция за питательные вещества и экологические ниши в слизистой кишечника. В ходе коэволюции микробиома и хозяина у комменсальных микроорганизмов выработались эффективные механизмы противодействия другим видам бактерий, обитающим в той же экологической нише (бактериостатики,

токсины и антиадгезивные вещества). Симбиотические и комменсальные представители микробиома также могут изменять условия обитания (рН, ионный состав среды и др.), тем самым способствуя подавлению роста конкурентных/патогенных видов.

Другим, не менее важным, механизмом действия пробиотиков является стимуляция естественного иммунного ответа хозяина. Первым барьером на пути проникновения инфекции в организм хозяина является барьер слизистой кишечника, включающий муциновый слой, эпителиоциты кишечника, а также энтерогематический барьер. Комменсальное микробное сообщество в общем и пробиотические штаммы, в частности, способны усиливать иммунный ответ хозяина, а также укреплять эпителиальный барьер.

Основную роль в узнавании микроорганизмов, населяющих полость кишечника, играют иммуноглобулины, в частности, у рыб таким антителом является IgT. Концентрация IgT и IgM в слизистой кишечника в разы превосходит их количество в сыворотке крови, что говорит об их функции в контроле за состоянием микробного сообщества. Zhang и др. (2010) показали, что именно иммуноглобулины, ассоциированные с муциновым слоем кишечника, играют важную роль в противодействии вторжению патогенов через эпителий. Присутствие патогенных микроорганизмов в дальнейшем приводит к развитию клеточного иммунного ответа, где ключевым сайтом пролиферации В, Т-лимфоцитов является кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань (КАЛТ). Отмечается, что такие антитела, как IgM и IgD, могут связываться только с небольшим числом бактерий, в то время, как IgT «покрывает» большую часть комменсальных микроорганизмов (Perdiguero et al., 2019). Вероятно, механизм действия пробиотиков на собственный иммунитет рыб связан с изменением в составе иммуноглобулинов.

Таким образом, пробиотические препараты способны снижать смертность объектов аквакультуры при заражении патогенными и условно патогенными бактериями за счет колонизации слизистой и изменения собственного иммунного ответа.

1.2.3 Микроэлементные премиксы

Минеральные вещества играют важную роль в кормлении рыб. Обеспечение нормального роста и развитие объектов рыбоводства возможно только при восполнении всех потребностей организма как в органических, так и в минеральных веществах. Биохимические механизмы минерального обмена у рыб на клеточном уровне считаются сходными с таковыми у наземных животных.

Чувствительность различных видов рыб к содержанию макро- и микроэлементов в кормах в условиях индустриальной аквакультуры определяется рядом факторов: соотношение минеральных компонентов в комбикорме, биодоступность микроэлементов для организма, физическая форма их внесения (соли, хелатированные ионы), а также наличие и соотношение данных элементов в воде.

Известно, что минералы взаимодействуют с другими питательными веществами благодаря своей лабильности и склонности к образованию химических связей (O'Dell, 1997). Широко известны прямые положительные взаимодействия между элементами в организме, такие как необходимость меди и железа для образования гемоглобина; кальция, фосфора и магния для образования гидроксиапатита костей и взаимодействие Mn с Zn для правильной конформационной формы молекул РНК в печени. Считается, что антагонистические отношения возникают, когда микроэлементы с аналогичной электронной конфигурацией и ионным радиусом конкурируют за места связывания, например, цинк и кадмий в металлотионеине, а также замещение магний/марганца в активных сайтах ферментов (Erdman et al., 1979).

В желудочно-кишечном тракте антагонистические отношения могут возникать по простому механизму, который включает химическую реакцию при образовании нерастворимого комплекса между минералами, такими как сера, с образованием сульфида меди, или при взаимодействии минерального соединения и пищевого компонента, например, при взаимодействии цинка с фитиновой кислотой с образованием фитата. Также сообщается о ряде возможных

минерально-минеральных и минерально-витаминных взаимодействий у рыб (Hilton et al., 1989).

В рамках данной работы целесообразно рассмотреть биологическую роль, потребность, биодоступность, токсичность и проявление несбалансированности отдельных, наиболее важных микроэлементов для рыб.

Общепризнано, что медь является важным микроэлементом, необходимым для функционирования клеток всех живых организмов. Ионы меди обладают способностью легко принимать и отдавать электроны, что подтверждает их важную роль в защите организма от действия свободных радикалов. Металлоферменты меди участвуют в метаболизме железа, производстве клеточной энергии (цитохром-с-оксидазы), защите клеток от повреждения свободными радикалами (супероксиддисмутаза), синтезе коллагена (лизилоксидаза), нейротрансмиттеров в мозге и производстве меланина (тирозиназа).

Рыба поглощает медь через жабры и пищеварительный тракт, однако, рацион считается основным источником меди для роста, развития и основных физиологических функций. Жабры могут вносить значительный вклад в поглощение меди в зависимости от ее концентрации в воде, особенно при низком потреблении из рациона.

Потребность в меди у рыб относительно низкая, если сравнивать с другими минеральными веществами. Потребность в меди в питании зависит от физиологического состояния животного, концентрации меди в воде, а также от уровня элементов, являющихся метаболическими антагонистами меди, таких как железо, цинк и марганец. Для лососевых количество меди для нормального развития и роста находится в пределах от 3 до 10 мг/кг корма (Lorentzen et al., 1998; Ogino & Yang, 1980).

В отличие от наземных позвоночных, у рыб небольшое количество меди поступает с водой, а также с кормом. Поэтому явные признаки дефицита могут проявиться только в течение длительного периода отсутствия меди в питании. На сегодняшний день показателями, характеризующими недостаток меди в питании, являются замедление роста и снижение иммунитета.

На данный момент существует ограниченная информация о биодоступности меди из корма или кормовых добавок с добавлением меди. Кормовые ингредиенты растительного и животного происхождения имеют различное содержание меди, что является следствием загрязнения почвы или технологии переработки растительных и животных продуктов. Распространенными кормовыми добавками, содержащими медь, и наиболее доступными по цене являются: медный купорос, хлорид меди, карбонат меди, ацетат меди, метионат меди, оксид меди, аминокислотный хелат меди, гидрат, L-лизин/сульфат меди, хелат меди гидрата глицина, хелат меди гидроксиданалога метионина и ряд других.

Железо является одним из наиболее изученных жизненно важных микроэлементов и присутствует во всех клетках тела позвоночных. Оно необходимо для функционирования нескольких биохимических процессов, которые включают реакции переноса электронов, регуляцию генов, связывание и транспорт кислорода, а также регуляцию роста и дифференциации клеток. Наиболее важными Fe-содержащими соединениями являются гемовые белки, гемоглобин, миоглобин и цитохромы. Ферменты, содержащие негемовое железо, такие как белки железосерного кластера (например, никотинамидадениндинуклеотид (NADH) дегидрогеназа, сукцинат дегидрогеназа, ксантиноксидаза), участвуют в энергетическом метаболизме. Другая группа Fe-содержащих ферментов (например, пероксидазы водорода), как известно, действует на реактивные молекулы, возникающие как побочные продукты метаболизма кислорода.

Потребность в железе для некоторых видов рыб колеблется в пределах 30-170 мг на кг корма, за исключением карпа, у которого оптимальное значение потребности превышает по некоторым данным 200 мг/кг.

Хотя информации о поглощении и метаболизме железа у рыб относительно мало, некоторые исследования позволяют предположить, что механизмы поглощения железа из пищеварительного тракта, хранение и выведение могут быть схожи с таковыми у других позвоночных. Общеизвестно, что метаболизм железа включает его всасывание из желудочно-кишечного тракта в организм,

проникновение в клетки, включение в белки и хранение в белковом комплексе в виде ферритина в различных тканях.

Как правило, дефицит железа вызывает анемию и истощение тканей у рыб и других позвоночных. В большинстве случаев корма без добавления железа не влияли на рост рыбы.

Железо в кормах может быть в двух формах - гемовое и негемовое. Кормовые ингредиенты животного происхождения (например, рыбная мука, мясо животных и кровяная мука) являются основными источниками гемового железа. Негемовое железо относится к растительным источникам железа в кормах или неорганическим загрязнителям, образующимся при переработке ингредиентов и/или кормов. В зерне злаков небольшая часть железа может присутствовать в виде комплекса железа с фитином. Известно несколько факторов, влияющих на усвоение железа, включая количество и химическую форму данного элемента (органическая / неорганическая), возраст животного, физиологические условия желудочно-кишечного тракта (например, pH) и другие компоненты рациона (например, фитиновая кислота, аскорбиновая кислота, цитрат).

Цинк - второй по распространенности микроэлемент после железа, необходимый для всех клеток большинства живых организмов. Он имеет множество разнообразных биохимических функций и является предметом обширных исследований, направленных на определение роли цинка на субклеточном уровне в питании и здоровье человека и животных. Большинство знаний, связанных с биохимическими функциями цинка, получено в результате исследований других позвоночных, и эта область еще не до конца исследована с точки зрения рыб. Повсеместное распространение данного элемента среди клеток организма в сочетании с тем, что он является самым распространенным внутриклеточным микроэлементом, привело к идентификации трех специфических функций в биологии позвоночных и растений: (а) каталитической, (б) структурной и (в) регуляторной. Каталитическая роль цинка заключается в том, что он входит в состав более 300 ферментов в качестве кофактора. Как и другие микроэлементы, основные пути поглощения цинка из воды проходят через жабры и желудочно-

кишечный тракт; однако, основным путем поглощения цинка является желудочно-кишечный тракт как у пресноводных, так и у морских рыб.

Минимальная потребность в цинке варьируется в зависимости от возраста, половой зрелости, состава рациона, температуры и качества воды. Для атлантического лосося и радужной форели потребность в цинке составляет 30-67 мг/кг корма (Maage & Julshamn, 1993; Welker et al., 2016).

Открытые признаки дефицита цинка трудно получить в краткосрочных экспериментах из-за повсеместного содержания этого микроэлемента в воде и кормовых ингредиентах. У нескольких видов рыб низкое потребление данного элемента в рационе вызывало уменьшение роста, снижение концентрации цинка в сыворотке крови, печени, чешуе, теле и позвонках. Широко распространены случаи катаракты у лососевых рыб, рацион которых содержал большое количество муки из белой рыбы с низким содержанием цинка.

Известны диетические факторы, влияющие на усвоение цинка: его органическая, или неорганическая форма, растительный или животный источник белка, наличие фитиновой кислоты, дополнительное присутствие Са и Р в рационе рыб. В большинстве исследований в качестве источника цинка применялся сульфат цинка ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) из-за его высокой биодоступности.

Марганец играет важную роль в белковом и энергетическом обмене рыб, минерализации костей, синтезе гликозаминогликанов, защите клеток от свободных радикалов и регуляции метаболизма. Важность роли марганца в вышеперечисленных биохимических процессах основана на его функции регуляции активности ферментов (например, оксидоредуктаз, лигаз, гидролаз, киназ, декарбоксилаз) благодаря вхождению в состав вышеуказанных металлоферментов в качестве кофактора. Многие ферменты, в состав которых входит марганец, могут активироваться и другими металлами, в частности магнием. Однако, есть отдельная группа ферментов, которые демонстрируют специфическую активность только в присутствии марганца.

Потребность рыб в марганце колеблется в пределах от 2,5 до 25 мг/кг рациона. Разница в данных значениях, вероятно, связана с разным уровнем

усвоения марганца из воды и экспериментального корма. Разный уровень потребления марганца был обусловлен формой, в виде которой он входил в состав корма: сульфат марганца – 15,4 мг/кг; глицинат марганца – 11,2 мг/кг; 2-гидрокси 4-(метилтио) бутират марганца – 10,5 мг/кг корма. Усвоение марганца из корма в желудочно-кишечном тракте у карповых обычно низкое. Для использования в кормах для животных/рыбы доступны несколько соединений марганца: хлорид марганца ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$), оксид марганца (MnO), сульфат марганца ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$ или $MnSO_4 \cdot H_2O$), карбонат марганца ($MnCO_3$), ацетат марганца, гидрофосфат марганца ($MnHPO_4 \cdot 3H_2O$), аминокислотный комплекс марганца, метионинат марганца, хелат марганца и протеинат марганца. Однако, проверено присутствие только отдельных соединений марганца и их количество может отличаться в зависимости от формы соединения (добавки в органической форме добавляются в большем количестве по сравнению с неорганической формой вещества) (Кпox et al., 1981).

Кобальт является компонентом витамина B_{12} , называемого "кобаламин". Метилкобаламин и 5-дезоксаденозилкобаламин являются метаболически активными формами этого витамина. Известно, что микробиота пищеварительного тракта жвачных животных и водоросли синтезируют витамин B_{12} из неорганических источников кобальта. Рыбы нуждаются в витамине B_{12} , поскольку у них отсутствует способность синтезировать данный витамин, поступающий из пищевых источников из-за особенностей микробиоты их пищеварительного тракта. У некоторых тепловодных видов рыб, например, у нильской тилляпии, микроорганизмы кишечника способны самостоятельно синтезировать витамин B_{12} , что полностью удовлетворяет потребность данных видов рыб в кобаламине.

Селен является важным микроэлементом в питании лососевых рыб, но также может выступать в качестве токсиканта при поступлении в организм в большом количестве с питьевыми и кормовыми источниками. В настоящее время широко признана необходимость в селене для нескольких видов культивируемых рыб, выращиваемых в пресных и морских водах. Селен встречается в природе в виде четырех неорганических форм: селенат, селенит, элементарный селен и селенид.

Во всех биологических организмах эти формы преобразуются в более биодоступные органические формы, в основном в виде двух селеноаминокислот - селеноцистеина и селенометионина. Селенопротеины отвечают за различные биологические функции, содержат не менее одного иона селена.

Потребность в селене для нескольких видов рыб была определена на основе различных критериев (рост, активность ферментов в печени и плазме/сыворотке крови, содержания селена в организме или отдельных тканях, например, в печени, мышцах). Для кижуча, атлантического лосося и радужной форели суточная потребность в селене составляет 0,15-0,40 мг на кг корма (Prabhu et al., 2020; Du et al., 2021). Однако, данный показатель требуют дальнейшего изучения в части других видов объектов аквакультуры.

Обобщенные данные о потребности в минеральных веществах и необходимом их содержании в кормах для радужной форели приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Потребность радужной форели в минеральных веществах и необходимом их содержании в корме с учетом потерь и биодоступности

Химический Элемент	Суточная потребность для рыбы, мг/кг	Необходимое содержание, мг/кг корма
P	20-66	400-1200
Ca	>700	14000
Mg	15-30	600
Fe	8	160
Zn	5	100
Cu	0,3	6
Mn	0,1	2
Co	0,01	0,1-1,2
I	0,03	0,6-2,8
Se	0,02	0,1-0,25

* Барулин и др., 2016; Хрусталеv и др., 2016; Шербина и Гамыгин, 2006; Мясников, 2020; Складов, 2008; Бородин и др., 2019.

Хелатные соединения металлов способствуют эффективному росту рыбы за счет восполнения дефицита микроэлементов и стимулирования работы пищеварительного тракта, и, следовательно, повышают рентабельность производства рыбной продукции при включении данных соединений в состав

гранулированного корма. (Zhou et al., 2019). Корм для рыб часто бывает несбалансированным по содержанию основных витаминов, микроэлементов и отдельных аминокислот (Li et al., 2017). Для компенсации недостатка микроэлементов в кормах для рыб обычно применяют неорганические соли, которые не всегда могут эффективно усваиваться организмом и способны накапливаться в различных органах и тканях. Несбалансированность такого пищевого рациона может привести к алиментарным заболеваниям (связанным с питанием) и снижению динамики прироста рыбы, что в итоге сказывается на качестве получаемой рыбной продукции (Кононенко и др., 2016). Использование корма с минеральными солями особенно опасно для молоди, так как это приводит к нарушению метаболических процессов, морфогенеза и уменьшению выживаемости сеголеток рыб. Ранние стадии дефицита микроэлементов сложно выявить по изменению морфологических признаков. Однако, они могут выражаться в замедлении ростовых параметров, алиментарных патологиях опорно-двигательной системы, и как следствие, увеличении отхода при интенсивном способе выращивания. В этой связи интересен поиск компонентов для внесения в состав кормовой добавки, способной компенсировать недостаточное количество необходимых микроэлементов в несбалансированных по своему составу кормах. Таким компонентом кормовой добавки может выступать соединение микроэлементов с хелатными комплексами. Микроэлементы в составе хелатных комплексных соединений обладают высокой биодоступностью, ввиду их большей структурной стабильности и меньшего молекулярного веса, по сравнению с неорганическими солями (Simakov et al., 2020). Хелатные соединения, благодаря своей конфигурации, защищают микроэлементы, ограничивая их взаимодействие с другими компонентами корма.

Одной из особенностей данной работы является то, что интенсивность образования гранул зимогена в ациноцитах поджелудочной железы рыбы определялась на гистологическом и цитологическом уровне. Осуществлялся подсчет количества гранул зимогена и исследовались их морфометрические параметры при действии различных концентраций компонентов в кормовой

добавке. В настоящее время опубликовано некоторое количество работ посвященных воздействию отдельных компонентов, включенных в ходе исследований в кормовую добавку на морфологию гранул зимогена и их численности в экзокринных клетках гепатопанкреаса рыб (Khalid et al., 2020), однако их комплексный эффект остается малопонятным. Оценку интенсивности образования профермента в панкреатоцитах можно провести по гистологическим срезам. В этом случае диффузно расположенные участки поджелудочной железы в гепатопанкреасе рыб при окрашивании срезов на морфологию гематоксилин-эозином позволяют выявлять гранулы зимогена, окрашенные оксифильно. Следовательно, для их выявления не требуется применения специальных гистохимических методов (Стегний, 2019).

1.3 Применение комплексных кормовых добавок для формирования пищевой продукции с заданными свойствами

Разработка новых кормовых добавок требует проведения лабораторных и производственных испытаний для оценки их эффективности на аквакультурных видах рыб. Методы оценки биологического эффекта от исследуемых добавок напрямую зависят от их свойств. Наиболее распространенными показателями являются рыбоводно-биологические показатели, так как они напрямую отражают эффект кормовой добавки на скорость роста/кормовой коэффициент. Среди более специфичных методов, применяемых в современной аквакультуре, стоит выделить: гематологические, биохимические, молекулярно-биологические, гистологические и этологические методы исследования.

Гистологические методы исследования представляют собой удобный инструмент оценки влияния различных внешних факторов на здоровье рыбы. Исследование гистологических показателей различных органов нашло свое применение как в токсикологии, где данный метод помогает оценить степень влияния токсиканта на функционирование органов, так и в индустриальной

аквакультуре, при исследовании новых кормовых рецептур или оценке влияния условий выращивания. Также гистологические методы нашли свое применение в мониторинговых и экотоксикологических методах исследования, так как позволяют оценить пролонгированное действие окружающей среды.

При исследовании авторы чаще всего сосредотачивают свое внимание на нескольких органах, которые являются целевыми для изучаемого вида воздействия. Среди таких органов наибольшее внимание получают: печень (как ключевой метаболический центр организма), жабры (как орган газообмена, напрямую контактирующий с водной средой), почки (как один из основных органов осморегуляции и экскреции метаболитов, в т.ч. токсикантов) и кишечник (как орган пищеварения и адсорбции нутриентов). Выбор органов для исследования напрямую диктуется целями работы, а также зависит от исследуемого фактора. Менее «популярные» органы при гистологических исследованиях (селезенка, мозг, мышцы) имеют менее изученное строение и ответные реакции, что не всегда позволяет эффективно использовать их при изучении (Абросимова и др, 2005). Наиболее верным подходом, по-прежнему, остается оценка наибольшего числа органов, так как это позволит максимально точно охарактеризовать воздействие на физиологические функции организма действующего фактора.

Например, при изучении действия кормов и кормовых добавок необходимо сосредоточиться на кишечнике и печени, так как в этих органах вероятнее всего проявляется эффект от применения новых кормовых рецептур (морфологический или цитологический уровень). Среди морфогистологических эффектов, обнаруживаемых в данных органах, при изменении режима кормления можно выделить:

- Увеличение количества или площади бокаловидных клеток. Гипертрофия или гиперплазия клеток является ответом на изменение компонентов корма и может свидетельствовать о содержании антипитательных компонентов в составе корма. Необходимо обращать внимание на выраженность изменений в бокаловидных клетках, так как наличие небольшой стимуляции секреторной

активности, вероятнее всего, будет указывать на наличие в составе рациона биологических активных компонентов. Без соответствующих морфометрических измерений нельзя однозначно трактовать данное отклонение, как патологическое;

- Увеличение количества интраэпителиальных лейкоцитов в слизистой. Подобная реакция слизистой проявляется при замене практически любого компонента корма или кормовой добавки. Высокая частота встречаемости подобных клеток в слизистой может свидетельствовать о наличии признаков воспаления, что всегда требует дальнейших подтверждений (наличие альтерации, пролиферации) гистологическими или иными методами;

- Изменение толщины адсорбирующего эпителия. Данная ответная реакция может проявляться в ответ на применение кормов с неполноценным нутриентным составом, или вследствие увеличения площади эпителиоцитов за счет содержания легкоусвояемых соединений в питании;

- Изменение в цитоплазме гепатоцитов, накопление жировых, гликогеновых, белковых включений, дистрофии. Данные группы изменений являются наиболее распространенными и описываются в работах многих авторов. При обнаружении подобных отклонений всегда стоит обращать внимание на их распространенность и выраженность, так как для большинства рыб в индустриальной аквакультуре, получающих интенсивное питание, метаболическое перерождение печени является нормальным и не может быть однозначно отнесено к патологическим нарушениям.

Описанные выше изменения являются лишь малой частью потенциально обнаруживаемых отклонений в кишечнике и печени рыб. Более полное их описание с объяснением этиологии заболеваний приведено во множестве учебных пособий по патологической анатомии млекопитающих и рыб (Сборник инструкций ..., 1998; Мишанин, 2012; Стегний, 2019).

Анализы крови регулярно используются в качестве прогностических и диагностических методов для оценки здоровья рыбы. Вариации гематобиохимических параметров крови служат индикаторами физиологических изменений, которые коррелируют с изменениями в окружающей среде в ответ на

изменение климата и/или деятельность человека. Некоторые гематологические параметры, а именно содержание гемоглобина, гематокрита, количество эритроцитов и лейкоцитов, количество тромбоцитов, объем упакованных клеток, средний корпускулярный объем эритроцитов, средний корпускулярный гемоглобин, средняя корпускулярная концентрация гемоглобина и т.д. вносят важный вклад в изучение физиологии рыбы. Кроме того, биохимические параметры крови, связанные с метаболизмом, иммунитетом, гормонами, ионами и ионной регуляцией, такие как глюкоза, общий белок, триглицериды, аланин трансаминаза, аспартаттрансаминаза, щелочная фосфатаза, гидроксиддисмутаза натрия, каталаза, лактатдегидрогеназа и т.д. рассматриваются как важные показатели здоровья и физиологии рыбы. Эти параметры используются для мониторинга здоровья рыбы в ответ на изменение питания, состояние болезни и условий окружающей среды.

Формирование заданного состава пищевой продукции является одной из актуальных тенденций в области здорового питания. Создание продуктов с поликомпонентным составом, включающим не только макронутриенты (белки, жиры, углеводы), но и микроэлементы, витамины, а также биологически активные вещества востребовано за счет более полноценного обеспечения потребностей человека и поддержания его здоровья (Надточий и др., 2020). Данные продукты будут весьма актуальными для разных групп населения, так как оказывают благоприятное влияние на здоровье и, вероятно, могут снижать затраты на восстановление человека после болезни или проведение ее профилактики.

Современная пищевая индустрия стремится к оптимизации своих процессов, включая повышение эффективности производства, экономию сырьевых ресурсов и совершенствование технологических процессов. В этом контексте особую важность приобретает использование компьютерных систем в проектировании многокомпонентных пищевых продуктов. Эти системы играют значительную роль в совершенствовании технологий производства пищевых продуктов (Антипова, 2022а, 2022б; Елисеева и др., 2017; Кутина, 2021, 2023). Они позволяют моделировать различные варианты состава продукта, оптимизировать его

питательные характеристики и предсказывать его физические свойства. Это сокращает время и ресурсы, необходимые для разработки новых продуктов и позволяет создавать более точные и инновационные решения. Помимо компьютерного моделирования, важную роль в создании подобных продуктов питания играет формирование их состава на этапе производства/выращивания (Абрамова Л.С., 2007).

Проектирование продуктов питания с заданным составом на основе рыбного сырья представляет собой важную область исследований и разработок в пищевой промышленности. Эта задача включает в себя поиск инновационных подходов к созданию пищевых продуктов, которые сочетают в себе высокое качество, питательность и соответствие определенным требованиям (Абрамова Л.С., 2005). Рыба является ценным источником белка, незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, витаминов и минералов. Однако, в зависимости от вида рыбы и технологии ее выращивания, некоторые питательные компоненты могут быть несбалансированны или представлены в мясе в недостаточном количестве. В таких случаях проектирование продуктов питания позволяет корректировать состав, чтобы получить оптимальное соотношение питательных веществ.

Для достижения оптимального уровня энергетической и питательной ценности рационов всех групп населения с использованием рыбопродукции с заданным составом, особенно важно обеспечение необходимых эссенциальных пищевых веществ. В этом контексте были предложены методы оптимизации рациона питания, которые представлены на рисунке 2 (Пилат и Иванов, 2002).

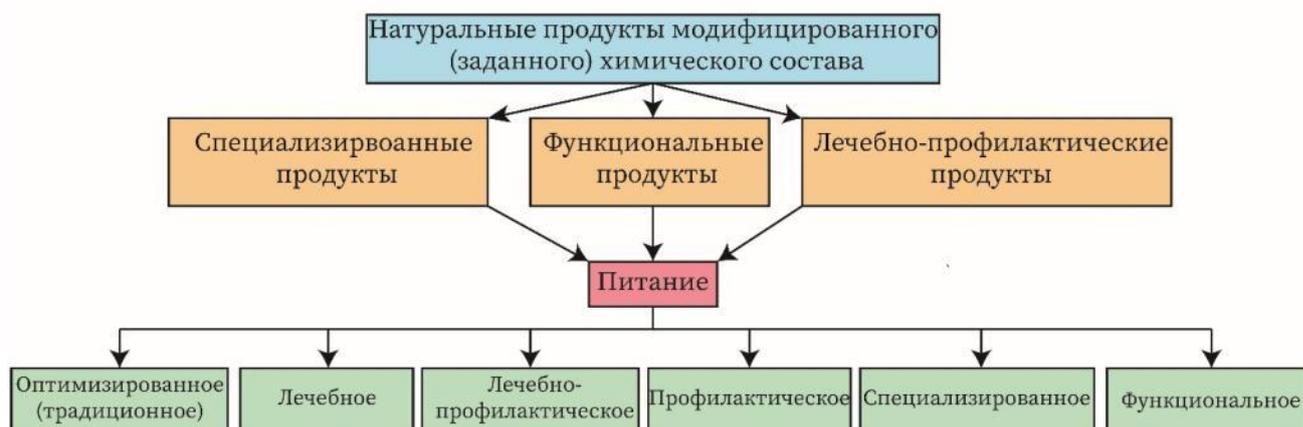


Рисунок 2 – Схема методов оптимизации рационов питания человека на примере продуктов питания с заданным химическим составом. * Пилат и Иванов, 2002

Для достижения заданного состава продукта используются различные методы проектирования, такие как, подбор соответствующих видов рыбы, использование различных частей рыбы (мяса, кожи, костей и др.), а также добавление других ингредиентов для коррекции питательного состава. Например, добавление рыбьего жира может увеличить содержание полиненасыщенных жирных кислот в то время, как добавление рыбного коллагена может повысить содержание белка и улучшить текстуру продукта.

Проектирование продуктов питания из рыбного сырья с заданным составом также включает разработку соответствующих технологических процессов, которые обеспечивают сохранение питательных веществ, текстуры и вкусовых качеств продукта. Это может включать обработку рыбы, фракционирование компонентов, смешивание ингредиентов и оптимизацию процессов термической обработки.

Результатом являются инновационные и питательные продукты, которые удовлетворяют потребностям и предпочтениям потребителей, способствуют здоровому образу жизни и развитию пищевой промышленности в целом.

Аквакультура предоставляет возможность решить проблему прижизненного формирования оптимальных качественных характеристик водных организмов, а, следовательно, и пищевых продуктов, полученных на их основе. Для достижения этой цели проводятся исследования в следующих направлениях (Абрамова, 2008).

- Селекция. Применение селекционных методов позволяет выделить и развивать генетические линии, обладающие желаемыми качествами, такими, как высокая скорость роста, устойчивость к болезням и патогенам, адаптация к различным условиям содержания и др. Это способствует формированию оптимальных качественных характеристик у водных организмов;
- Генная модификация. Применение генной инженерии позволяет внести изменения в генетический материал водных организмов с целью улучшения их характеристик. Это включает устранение генетических дефектов, повышение продуктивности и качества рыбы, а также увеличение ее устойчивости к действию неблагоприятных факторов;
- Кормление. Исследования в области кормления водных организмов направлены на разработку оптимальных рационов, которые обеспечивают достаточное питание, рост и развитие рыбы. Это включает определение оптимального состава корма, его питательной ценности и применение новых ингредиентов, кормовых добавок для улучшения качества и пищевой ценности продуктов;
- Условия содержания. Исследования проводятся для определения оптимальных условий содержания водных организмов, включая параметры воды (температура, pH, содержание кислорода и др.), плотность выращивания, системы фильтрации и очистки воды. Это дает возможность обеспечить комфортные условия для рыбы, снизить уровень стресса и повысить качество пищевых продуктов;
- Условия транспортировки к месту переработки. Важным аспектом производства рыбной продукции является транспортировка живой или охлажденной рыбы к месту ее последующей переработки.

Кормление является одним из ключевых этапов формирования качества мышечной ткани. Корма, которыми питается рыба, в процессе пищеварения могут способствовать образованию специфических питательных веществ и биоаккумуляции соединений, непосредственно влияющих на качество готовой

продукции (Haard, 1992). Так, периоды длительного голодания ввиду отсутствия корма приводят к уменьшению упругости мышечной ткани у свежей рыбы и сокращению сроков хранения у замороженной (King, 1989). Качество мяса приходит в норму только после 3-4 месяцев после возобновления кормления.

Рыбий жир в основном включает триацилглицериды и другие нейтральные липиды (стерины, эфиры воска и др.). Традиционно у рыб, выращенных в условиях аквакультуры, наблюдается большее содержание липидов в мышцах и брюшной полости, по сравнению с дикой. На содержание жира в рыбе также влияют другие факторы, в их числе можно выделить: гидрохимические показатели водной среды, наличие физической активности, пол, возраст и нерестовой цикл. Кормовые добавки могут повысить содержание ω -3 жирных кислот в мясе культивируемой рыбы (Wood et al., 2004) и некоторых сельскохозяйственных животных (De Marzo et al., 2023). Добавление в рацион сома 0, 2, 4 или 6% менгаденового масла приводит к получению мяса, содержащего 3,0, 5,7, 8,4 и 10,1% ω -3 жирных кислот соответственно (Lovell, 1988). Аналогично, добавление в корм тилапии масла сардины приводит к получению мяса с более высокой долей тимнодоновой и цервоновой кислот (Ramachandran & Gopakumar, 1981). Изучение путей обогащения рыбной продукции более полноценным жирно-кислотным составом будет способствовать созданию более здоровых мясных продуктов из рыбы.

Образование нежелательного вкуса и запаха у рыбной продукции, в первую очередь, происходит за счет ферментативных реакций окисления липидов, при несоблюдении технологий хранения. Для борьбы с данным явлением применяются различные методы дезодорации, включающие обезжиривание, применение специальных пищевых добавок и правильная упаковка (Wu et al., 2022). Также возможно использование различных специализированных методов очистки водной среды, способствующих уменьшению и/или уничтожению данных соединений на этапе культивации (Nam Koong, 2020).

Содержание сырого белка — это показатель, характеризующий общий азот в мышцах, перерасчитанный на соответствующий коэффициент. Содержание сырого белка в мышцах рыбы обычно составляет от 18 до 22%, но может быть менее 6%

или более 25% от веса рыбы. Существует информация, позволяющая предположить, что условия выращивания могут влиять на концентрацию специфического белка (белков), связанного с одним или несколькими показателями качества пищи. Как правило, мышцы пелагических рыб содержат больше саркоплазматических белков, чем мышцы донных рыб. Выращенная в садках атлантическая треска имеет мышцы с низким содержанием воды, сравнительно низкой водоудерживающей способностью и мягкой текстурой. По этой причине интересно, что физические упражнения увеличивают содержание саркоплазматического белка миоглобина в темной мышце (Love et al., 1977).

Мышцы рыб обычно содержат практически все минеральные элементы, встречающиеся в водной среде обитания. Рыба также получает значительное количество минералов, в частности фосфора, из корма. Минеральные вещества являются важными компонентами мяса рыбы из-за их питательной ценности, соображений безопасности и их вклада во вкусовые показатели. Концентрация некоторых тяжелых металлов, в зависимости от условий содержания, может увеличиваться с размером и возрастом рыбы. Некоторые данные указывают на различия в минеральных веществах дикой и культивируемой рыбы.

У культивируемых видов рыб обычно наблюдается повышенное содержание микроэлементов в различных тканях. Например, у иглобрюхой рыбы (*Takifugu obscurus*) отмечалось повышенное содержание железа и цинка ($6,6 \pm 1,29$ и $11,88 \pm 0,96$ мг на 100 г) в печени, в сравнении с мышечной тканью (Wang et al., 2012). Накопление микроэлементов также наблюдается у рыб, обитающих в неблагоприятных условиях (Sudrajat et al., 2021). В работе Ye и соавторов (2021) было продемонстрировано, что у рыб, получающих в составе корма большое количество железа (50-250 мг/кг), происходит увеличение накопления магния и цинка в мышечной ткани и меди в печени. В таблице 5 приведены данные сравнения содержания некоторых микроэлементов у диких и культивируемых особей палтуса.

Таблица 5 – Содержание эссенциальных микро-/макроэлементов в мышцах

дикого и культивируемого палтуса

Минеральное вещество	Дикие особи	Культивируемые особи
Макроэлементы (мг/кг)		
K	63,3±3,6	64,4± 6,1
P	25,9±1,2	25,6±0,7
Mg	3,5±0,3	3,5±0,1
Ca	1±0,2	1,3±0,4
Na	5,8±0,5	6±0,6
Микроэлементы (мкг/кг)		
Fe	37,8±9,1	166±15,9
Zn	36,9±8,4	40,4±2,5
Mn	3,4±0,9	5,6±1,9
Cu	3,3±0,2	4,6±0,9
Pd	5,7±,04	5,6±4
Ni	4,7±0,1	4,6±0,3
Cd	1,4±0,2	1,3±0,5

* по данным Sato и соавторов (1978)

Изучение приведённых выше данных показывает, что кормление, а также качественные и количественные характеристики корма являются одним из наиболее важных факторов, оказывающих влияние на нутриентный состав и потребительские качества рыбопродукции.

Пищевая ценность рыбных продуктов определяется степенью обеспечения физиологических потребностей человека в пищевых веществах, энергетической ценностью и органолептическими показателями. Это свойство продукта характеризуется не только его химическим составом, но и усвояемостью. Усвояемость зависит от состояния входящих в продукт веществ, его физических свойств, а также от органолептических и потребительских показателей продукта. Кроме того, качество рыбных продуктов определяется степенью их санитарной доброкачественности, то есть отсутствием посторонних и вредных веществ, таких как продукты белкового распада, окисленный жир, канцерогенные вещества, паразиты, вредители или следы их жизнедеятельности.

Таким образом, пищевая ценность рыбопродукции является комплексным показателем, объединяющим калорийность, биологическую полноценность, усвояемость, санитарно-гигиеническую безопасность, а также товарно-

гастрономические характеристики. Она играет решающую роль в оценке качества продукта.

Система обеспечения качества и безопасности рыбных продуктов включает несколько компонентов. Во-первых, система управления критическими параметрами безопасности продукта в процессе их производства. Во-вторых, система управления качеством продукции, которая направлена на удовлетворение требований потребителя. Третий компонент - система прослеживаемости параметров качества и безопасности сырья и продукции на всех этапах производства, хранения, переработки, транспортировки и реализации. И, наконец, компьютерная информационно-аналитическая система мониторинга происхождения и контроля состава и качества сырья и рыбных продуктов. Все эти меры и системы способствуют обеспечению высокого качества и безопасности рыбных продуктов, что является важным аспектом в пищевой промышленности.

Исходя из этого можно предположить, что рыба, выращенная в условиях аквакультуры является перспективной для создания продукции с прижизненно заданными свойствами. Рыба является ценным источником белка, полезных жирных кислот, витаминов и минералов, необходимых для здорового питания человека. Прижизненное формирование питательных свойств рыбных продуктов позволяет создавать продукты с оптимальным составом и биологической ценностью. Благодаря селекции, генной модификации, улучшению условий содержания и кормления в аквакультуре, можно достичь желаемых характеристик рыбы, таких как высокая питательность, отсутствие вредных веществ и патогенов, адаптация к различным условиям внешней среды и устойчивость к заболеваниям. Рыбная продукция имеет большое значение для различных групп населения, предоставляя им полноценное питание и важные питательные вещества. Включение рыбы в рацион питания является одним из способов поддержания здоровья и обеспечения сбалансированного питания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основная часть теоретических и экспериментальных исследований проводилась в рамках научно-образовательного центра мирового уровня «Инновационные решения в АПК» (Белгородская область) в ходе реализации проекта «Увеличение продукционного потенциала индустриальной аквакультуры Белгородской области за счет внедрения комбикормов направленного действия» (проект рег. № 10 090 706) в период с 2019 по 2023 гг.

Достоверность экспериментальных исследований подтверждается трехкратной повторностью результатов, полученных на базе факультета Биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)», а также на рыбоводных хозяйствах ООО «Форелевый рай» и СССПОК «Белфорель» (Белгородская область). Обработка результатов проводилась по общепринятым и специальным методам с применением статистических методов анализа.

Сравнение числовых данных между разными группами производилось с использованием непараметрического метода Крускал-Уоллиса, где переменные не соответствовали нормальному распределению. Для сравнения параметров, подходящих под нормальное распределение, были использованы t-критерий Стьюдента с коррекцией Уэлча.

Уровень достоверности был выбран $p < 0,05$, результаты представлены в виде среднее \pm стандартное отклонение. Обработка статистических данных производилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 8.4 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

В результате проведенного анализа научно-технической литературы был составлен план проведения эксперимента, представленный на рисунке 3.

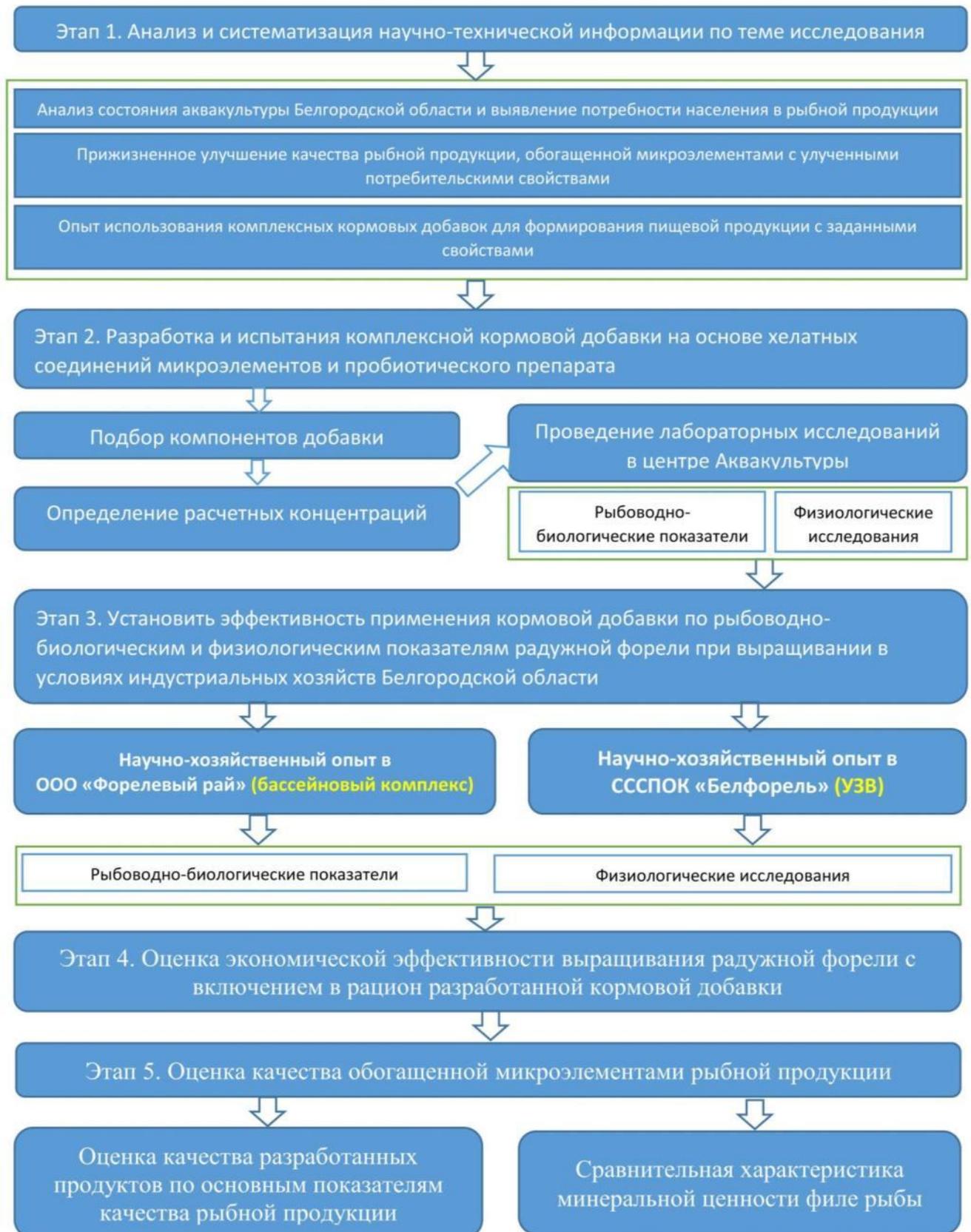


Рисунок 3 – План проведения эксперимента

2.1 Объекты исследований

Объекты исследования: сеголетки и двухлетки радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*); хелатные соединения микроэлементов на основе этилендиаминдигидратной кислоты (ЭДДЯ); пробиотические препараты (*Bacillus subtilis* (ВКМП В-2335) 12×10^7 КОЕ/г (ООО «ВекторЕвро»); *Bacillus subtilis* (OZ-2 ВКМП -11966) + *Bacillus amyloliquefaciens* (OZ-3 ВКМП-11967) $12 \times 10^7 + 10 \times 10^9$ КОЕ/г (ООО «Арлен»); *Lactobacillus acidophilus* (ВКМП В-3235) 20×10^7 КОЕ/г.); мясо рыбного сырья.

В качестве вспомогательного сырья были использованы: рыбная мука (ГОСТ 2116-2000); мука мясокостная (ГОСТ 17536-82); кровяная мука (ГОСТ 17536-82); мука пшеничная (ГОСТ Р 26574-2017); шрот соевый кормовой (ГОСТ Р 53799-2010); растительный жир (ГОСТ 31754-2012); астаксантин.

2.2 Условия содержания и проведения экспериментов

2.2.1 Эксперименты на базе МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)

В период адаптации рыба содержалась в бассейнах УЗВ объемом 3000 л с системами механической и биологической фильтрации с подменой 10% воды в сутки (рис. 1.1, г). Для проведения экспериментов использовались 2 линии бассейнов объёмом 750 литров (рис. 4, а).

Каждая линия включает три экспериментальных емкости, механический фильтр, биофильтр объемом 500 л, а также УФ установки; емкости для содержания рыб объемом 3000 л с системами механической фильтрации (ЕЙСКПОЛИМЕР 402М) и биологической фильтрации (биофильтр объемом 1000 литров) с подменой 10% воды в сутки.



Рисунок 4 – Инфраструктурный ресурс УНУ: Центр «Аквакультуры» факультета биотехнологий и рыбного хозяйства МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ): (а, б) – баки для проведения экспериментальных работ 4+1 линия с баками объемом 750 литров (всего 12 баков), (в, г) – емкости для содержания рыб объемом 3000 л.

На базе факультета функционирует уникальная научная установка (УНУ) НТИРФ рег. №3662433 - "Научно-исследовательский комплекс передовых технологий аквакультуры и гидроэкологии" к инфраструктуре которой относится и Центр «Аквакультуры». Экспериментальная установка, в которой происходила акклиматизация особей радужной форели, перед началом эксперимента, представляет собой «Универсальный мультипрофильный стенд аквабиотехнологий» общим водообъемом 22 м³ – прототип научно-экспериментального оборудования организованный на напорной магистральной водоподаче (5-7% расхода, после заполнения системы водой) и обратном водоснабжении по замкнутой схеме (с системами механической, биологической и бактерицидной очистки (Рис. 5).



Рисунок 5 – Рыбоводный модуль «Универсального мультипрофильного стенда аквабиотехнологий» УНУ, в котором проходила подготовка форели в эксперимент

Стенд представляет собой единый универсальный опытно-экспериментальный комплекс для мультипрофильных исследований, опытов и экспериментов, создания и апробации технологий на модельных аквакультурных растворах, живых гидробионтах, низшей водной растительности и органических отходах жизнедеятельности рыб и гидроэкологических риск-факторах гидробиосистем, специализированных решений для отдельных видов аквакультуры, систем рыбозащиты и биобезопасности.

Контроль за основными гидрохимическими параметрами воды и их соответствие основным рыбоводным нормативам выращивания радужной форели осуществлялся в течение всего времени эксперимента. Полный гидрохимический анализ воды производился раз в 7 суток. Перечень используемых методик определения гидрохимических показателей представлен в таблице 6.

Таблица 6 – Перечень методик определения гидрохимических показателей воды.

Показатель	Код методики	Название методики
Фосфаты	РД 52.24.382- 2019	Методика измерения массовой концентрации фосфат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с молибдатом аммония
Нитраты	РД 52.24.367- 2010	Методика выполнения измерений потенциометрическим методом с ионселективным электродом
Нитриты	ПНД Ф 14.1:2:4.3-95	Методика измерений массовой концентрации нитрит-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с реактивом Грисса
Аммоний	РД 52.24.394- 2012	Методика измерений потенциометрическим методом с ионселективными электродами
Водородный показатель	РД 52.24.495- 2017	Методика измерений потенциометрическим методом

2.2.2 Эксперименты на базе хозяйства на ООО «Форелевый рай»

Первый научно-производственный опыт с полным предварительным эпизоотологическим обследованием рыбоводного участка был выполнен на хозяйстве ООО «Форелевый рай» (х. Пустынка, Белгородской области) (рис. 6).



Рисунок 6 – Открытые бассейны на открытой площадке хозяйства

После широкомасштабной реконструкции и комплекса мероприятий по техническому дооснащению хозяйства, по состоянию на 02.07.2021 задействованы 90 бассейнов, в которых выращивается рыба старших возрастных групп, распределенная в соответствии с нормами посадки по размерно-весовым характеристикам. Основными видами культивируемых рыб являются радужная (лат. *Oncorhynchus mykiss*) и янтарная форель (лат. *Oncorhynchus aguabonita*). Форель имеет большой производственный потенциал и является передовым, перспективным объектом рыбоводства.

Рыбоводно-производственный комплекс ООО «Форелевый рай» спроектирован в виде высокотехнологичного предприятия индустриальной аквакультуры с использованием оборотного водоснабжения с минимальным воздействием на экологическое состояние окружающих территорий.

Водоснабжение осуществляется с помощью подачи воды из скважин с дополнительной аэрацией и рационально расходуется по всему бассейновому комплексу. Отработанная вода с минимальной доочисткой возвращается в технологический процесс.

На территории хозяйства размещен цех подращивания молоди, а также дополнительные рыбоводные емкости для содержания и передержки ремонтного и маточного стада рыб (которые в настоящее время не используются).

Предусмотрены отдельно стоящие емкости-бассейны для проведения лечебных и карантинных мероприятий.

Была проведена предварительная оценка ихтиопатологического состояния выращиваемой рыбы с клиническим и патологоанатомическим осмотром, с паразитологическими и микроскопическими исследованиями наружных и внутренних органов рыб. По показаниям, от рыб с клиническими признаками заболевания радужной форели произведен отбор патологического материала из внутренних органов рыб (печень, почки, селезенка) для микробиологических исследований.

При клиническом осмотре у рыб с открытой площадки выявлен некроз плавников: спинного и хвостового. Наибольший процент рыб с некрозом

плавников наблюдался соответственно в бассейнах с мутной водой. В тех бассейнах, где вода особенно мутная – процент рыб с некрозом плавников выше. У единичных экземпляров рыб отмечался незначительный односторонний и двухсторонний экзофтальм. В целом, рыба была активна, хорошо реагировала на раздражители, имела активный пищевой рефлекс.

Объекты исследования. Молодь *Oncorhynchus mykiss* весом 44 ± 8 г и размеров $14,5 \pm 1,5$ см содержащаяся в бассейнах объёмом 8 м^3 при температуре воды 8 ± 1 °С в рыбноводном хозяйстве «Форелевый рай» (Россия, Белгородская область). До начала проведения эксперимента рыба кормилась стандартным комбикормом, производства ООО «Линкорм».

Ход эксперимента. Исследуемая рыба была разделена три опытные и одну контрольную группы по 100 особей, одинакового размерного и весового состава. Группы рассаживались по бассейнам объёмом 8 м^3 .

Контрольная группа получала корм без добавок. Опытные группы получали корма с различным составом кормовых добавок (табл. 1) состоящих из хелатных соединений биогенных элементов и пробиотика. Выбор концентраций исследуемых кормовых добавок осуществлялся исходя из предыдущих лабораторных исследований. Продолжительность опыта составляла 60 дней.

2.2.3 Эксперименты на базе хозяйства на СССПОК «Белфорель»

Второй научно-производственный опыт с полным предварительным эпизоотологическим обследованием рыбноводного хозяйства был выполнен на территории рыбноводного предприятия СССПОК «Белфорель» (рис. 7).

Данный комплекс также является современным индустриальным рыбноводным хозяйством, с использованием оборотного водоснабжения с минимальным воздействием на экологическое состояние окружающих территорий.



Рисунок 7 – Общий вид бассейнового комплекса СССПОК «Белфорель»

В организации имеется 43 рыбоводных бассейна, в которых выращивается рыба старших возрастных групп, распределенная в соответствии с нормами посадки по размерно-весовым характеристикам. Основными видами культивируемых рыб являются радужная форель (лат. *Oncorhynchus mykiss*).

На территории организации размещен цех инкубации, подращивания молоди, выростные бассейны для культивирования рыбы до товарной массы.

Предусмотрены отдельно стоящие бассейны для проведения лечебных и карантинных мероприятий.

Предварительная оценка ихтиопатологического состояния выращиваемой рыбы с клиническим и патологоанатомическим осмотром, с паразитологическими и микроскопическими исследованиями наружных и внутренних органов рыб. По показаниям, от рыб с клиническими признаками заболевания радужной форели произведен отбор патологического материала из внутренних органов рыб (печень, почки, селезенка) для микробиологических исследований (Лабинская и др., 2016).

Отбор проб патологического материала от рыбы проводили во время патолого-анатомических вскрытий согласно п. 1.8 Сборника инструкций по борьбе с болезнями рыб (Сборник инструкций..., 1998), Кодекса здоровья водных животных (Aquatic Animal Health Code OIE, electronic resource), Руководства диагностических тестов здоровья водных животных (Aquatic Manual, electronic resource, Раздел 10, Части 10.4, 10.6, 10.9, 10.10), методических рекомендаций по

отбору проб (Методические рекомендации по отбору проб ... , 2013). Пробы для исследований формировали из следующих органов: селезенка, головной отдел почки, мозг, печень, сердце, фрагменты жаберных лепестков. Отобранные пробы помещали в стерильные флаконы и помещали на лёд в термос. Для анализа в качестве исходного материала использовали 10 % суспензию из тканей органов. Количество рыб в каждой пробе составляло 15-25 экземпляров.

Бактериологические исследования проводили по технике микробиологических исследований Лабинской А.С. (1978) и Лабинской А.С. с соавторами (2016). Для бактериологических исследований производили отбор патматериала (иссечение кусочков внутренних органов) от рыб и осуществляли их посев на плотные питательные среды для количественной оценки и выявления бактериальных микроорганизмов. Для посевов проб патологического материала использовали плотные питательные среды: 1) сердечно-мозговой агар (СМА) для определения широкого спектра бактерий; 2) среду Эндо – для выявления бактерий кишечной группы; 3) иерсиниозный агар. Идентификацию выявленных микроорганизмов проводили по определителю Берджи (1997).

Паразитологический анализ рыб проводили по общепринятым методикам (Догель, 1983; Быховская-Павловская, 1985). Паразитологическому анализу подвергались внешние и внутренние органы рыб: кожные покровы, плавники, чешуя, ротовая полость, глаза, жабры, мускулатура, брюшная полость, печень, почки, селезенка, сердце, пищеварительный тракт. Для определения видовой принадлежности паразитов использовали «Определитель паразитов ...» (1984; 1987). В паразитологическом исследовании в отдельных случаях использовали компрессионный способ выявления паразитов.

Объекты исследования. Молодь *Oncorhynchus mykiss* весом 44 ± 8 г и размером $19,69 \pm 1,78$ см, содержащаяся в бассейнах объёмом при температуре воды 13 ± 1 °С. До начала проведения эксперимента рыба кормилась стандартным комбикормом, производства ООО «Линкорм».

Ход эксперимента. Исследуемая рыба была разделена на три опытные и одну контрольную группы по 150 особей, одинакового размерного и весового состава.

Контрольная группа получала корм без добавок. Опытные группы получали корма с различным составом кормовых добавок (табл. 1) состоящих из хелатных соединений биогенных элементов и пробиотика. Выбор концентраций исследуемых кормовых добавок осуществлялся исходя из предыдущих лабораторных исследований. Продолжительность опыта составляла 60 дней.

2.3 Используемые кормовые добавки для формирования заданного качества рыбной продукции

2.3.1 Пробиотические препараты

На основании ранее проведенных исследований, с учетом способности пробиотических бактерий к закреплению в составе комменсальной микробиоты кишечника (Nikiforov-Nikishin et al., 2021, 2022a, 2022в; Simakov et al., 2022) выбраны следующие препараты:

- 1 *Bacillus subtilis* (ВКМП В-2335) 12×10^7 КОЕ/г (ООО «ВекторЕвро»);
- 2 *Bacillus subtilis* (OZ-2 ВКМП -11966) + *Bacillus amyloliquefaciens* (OZ-3 ВКМП-11967) $12 \times 10^7 + 10 \times 10^9$ КОЕ/г (ООО «Арлен»);
- 3 *Lactobacillus acidophilus* (ВКМП В-3235) 20×10^7 КОЕ/г.

Пробиотические препараты также вводили в состав корма с дальнейшей грануляцией и сушкой. Для этого использовался метод с применением альгината натрия, как полимерного матрикса, позволяющего сохранить биологическую активность штаммов до момента потребления корма. Для получения исходного раствора пробиотические препараты в исходных концентрациях растворялись в дистиллированной воде с добавлением альгината натрия в количестве 20 мг/мл. Далее раствор тщательно перемешивался и вносился на этапе грануляции методом распыления. Контроль за микробиологической активностью пробиотических штаммов в готовых кормах осуществлялся после приготовления, путем посева на питательные среды (мясопептонный агар). Минимальная численность пробиотических бактерии составляла не менее 80% от номинального показателя титра.

2.3.2 Хелатные соединения микроэлементов

В состав добавки входили следующие компоненты: хелатные соединения микроэлементов, где в качестве хелатирующего агента использовался ЭДДЯ (этилдиметилдиантарная кислота) (табл. 7).

Таблица 7 – Состав экспериментального раствора хелатных соединений микроэлементов.

Микроэлементы	Содержание мг/кг
Железо	10
Марганец	30
Медь	1
Цинк	10
Кобальт	0,1
Селен	0,2
Йод	0,9

Хелатные соединения микроэлементов изготавливали на технологической базе ООО «Юпитер» на основе этилендиаминдиантарной кислоты (ЭДДЯ).

2.4 Приготовление опытных кормов

Опытные корма готовились на базе лаборатории анализа и производства кормов факультета Биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского» методом холодного гранулирования на двухвалковом грануляторе «ZLSP-120» (рис. 8).



Рисунок 8 – Двухвалковый гранулятор «ZLSP-120»

Рецептуры кормов для радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), используемые в исследовании представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Рецептуры кормов для радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), используемые в исследовании.

Компоненты корма (%)	Соответствие	Контрольная рецептура	Опытная рецептура, ОР5 (1 г/кг)
Рыбная мука	ГОСТ 2116-2000	46	46
Мука мясокостная	ГОСТ 17536-82	10	10
Кровяная мука	ГОСТ 17536-82	6,4	6,4
Мука пшеничная	ГОСТ Р 26574-2017	10,6	10,1
Шрот соевый	ГОСТ Р 53799-2010	10	10
Растительный жир	ГОСТ 31754-2012	15	14,5
Астаксантин	-	2	2
Хелатные соединения микроэлементов	-	0	1,0
Питательные свойства (%)			
Сырой протеин	ГОСТ 10385-2014	47	47
Сырой жир	ГОСТ 10385-2014	8	8
БЭВ	ГОСТ 10385-2014	25	25
Клетчатка	ГОСТ 10385-2014	5	5
Минеральные вещества	ГОСТ 10385-2014	10	11

При приготовлении кормов с хелатными соединениями микроэлементов, количество их внесения определялось исходя из количества готового микроэлемента премикса. Так как хелатные соединения отличаются высокой термостабильностью, специальных изменений технологии приготовления кормов не требовалось.

2.5 Определение рыбоводно-биологических показателей

Расчет размерно-весовых коэффициентов радужной форели проводился в начале эксперимента для определения первичных норм кормления и корректировался каждые 30 суток эксперимента после контрольного взвешивания. Всего было произведено 4 контрольных замера. Рыбоводно-биологические показатели форели вычислялись во всех экспериментальных группах по следующим формулам (1-7; Lugert et al., 2016):

$$\text{Относительная скорость роста (ОСР)} = \frac{W_f - W_s}{0,5 * (W_f + W_s)} * 100 \quad (1)$$

$$\text{Удельная скорость роста (УСР)} = \frac{\log(W_f) - \log(W_s)}{N_t(\text{сут.})} * 100 \quad (2)$$

$$\text{Конверсия корма (КК)} = \frac{W_{df}(\text{сухого корма})}{W_f - W_s} \quad (3)$$

$$\text{Абсолютная скорость роста (АСР)} = \frac{L_f - L_s}{t} \quad (4)$$

$$\text{Коэффициент упитанности (КУ)} = \frac{W * 100}{L^3}, \quad (5)$$

$$\text{Среднесуточный прирост массы (СПМ)} = \frac{W_f - W_s}{t} \quad (6)$$

$$\text{Среднесуточная скорость роста (ССР)} = \frac{\text{СПМ}}{W_f} \quad (7)$$

где: W_s и W_f – масса рыбы в начале и в конце эксперимента; N_t – продолжительность эксперимента; W_{df} – количество израсходованного корма; L_s и L_f – длина рыбы в начале и в конце эксперимента; L – длина на момент измерения; t – продолжительность опыта.

2.6 Методы контроля физиологических показателей рыб

2.6.1 Гематологические исследования

Общую морфологическую картину крови оценивали путем подсчета отдельных клеточных элементов. Для каждого препарата крови просматривали не менее 40 полей зрения. Общее количество клеток, подсчитанных для одного препарата, составляло не менее 2500, что обеспечивало необходимый достоверный объем выборки (Иванова, 1983).

Среди общего числа клеток крови определяли следующие показатели: RBC (red blood cell count) – количество красных клеток крови – эритроцитов; LY (lymphocyte) – количество лимфоцитов; NE (neutrophil) – количество нейтрофилов; MO (monocyte) – количество моноцитов; TO (thrombocyte) – количество тромбоцитов; TLC (Total leukocytes count) – общее число лейкоцитов.

Подсчет и определение элементов крови производили согласно общепринятым методикам (Fijan, 2002; Головина, 1996).

Для оценки активности скорости кроветворения использовали мазки селезенки исследуемых рыб. Приготовление мазков и дифференциация клеточных элементов производили согласно методикам, описанным в работе Peters и Schwarzer (1985), также ряда других авторов (Boyle D. и др., 2013; Al-bairuty, Genan, 2018). Отбор биологического материала производили по окончании опыта. Для этого образец ткани селезенки очищали от жира и надрезали. В месте надреза делали несколько мазков-отпечатков на предметном стекле. В дальнейшем изготовленный препарат высушивали на воздухе в течение 24 часов и окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимзе методикой, описанной выше.

Полученные мазки просматривали под световым микроскопом при увеличении $\times 1000$ с иммерсией. Подсчитывали не менее 100 клеток на каждом препарате для определения встречаемости клеток различных типов, степени дифференцировки и выявления аномалий.

Производили подсчет следующих клеточных элементов: эритроциты, эритробласты, нейтрофилы, гемоцитобласты, програнулоциты, лимфоциты и

макрофаго-подобные клетки (анг. macrophage-like cell).

2.6.2 Гистологические исследования

По окончании опыта проводился отбор биологического материала. При отборе руководствовались биоэтическими рекомендациями, описанными в руководстве по уходу и использованию лабораторных животных (англ. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (National Research Council, 2011). Во время патологоанатомического вскрытия рыб осуществлялся ихтиопатологический осмотр состояния основных органов (жабры, печень, кишечник, почки, селезенка, желчный пузырь), согласно стандартным методикам (Мишанин, 2012; Козлов и др., 2000).

После 30 суток выращивания по одной особи из каждой группы вскрывалось для определения состояния внутренних органов и уровня жировых отложений. Также оценивались возможные негативные последствия от использования кормов.

При проведении лабораторных испытаний также проводилась оценка гистоморфологических параметров кишечника, пилорических придатков и печени. Измерялись следующие морфометрические показатели: высота адсорбирующего эпителия кишечника, толщина мускульного слоя, количество бокаловидных клеток на 100 мкм эпителия, площадь бокаловидных клеток, ширина lamina propria, количество интраэпителиальных лейкоцитов на 100 мкм эпителия, площадь ядра гепатоцита, Количество вакуолей на 100 мкм² среза и площадь гепатоцита.

Отбор проб тканей печени, среднего отдела кишечника осуществлялся у трех опытных рыб (n = 3) из каждой группы по окончании эксперимента. Пробы ткани фиксировались в нейтральном растворе Боуэна в течение 12 часов, в дальнейшем они дегидратировались в ряду градуированных спиртов, очищались в ксилоле и заливались в парафин (55-58 °C). Микротомные срезы (3-4 мкм) окрашивались гематоксилином и эозином (H&E) и исследовались на световом микроскопе Olympus BX53 («Olympus Corporation», Япония) с окулярной приставкой Carl Zeiss ERc 5s («Zeiss», Германия) с использованием функциональных возможностей

программного обеспечения ZEN lite («Zeiss», Германия). Приготовление и окраска гистологических препаратов осуществлялась согласно методике Suvarna и др. (2018).

2.7 Оценка потребительских качеств обогащенной микроэлементами рыбы

Для определения влияния разработанной добавки на потребительские качества полученной рыбной продукции из радужной форели проводилась оценка органолептических исследований качества мяса и бульона рыб, находящихся в эксперименте. Определение органолептических показателей производилось согласно ГОСТ 7631-2008 (Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей), а также ГОСТ 11482-96 (Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей) и 7636-85 (Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа).

Согласно СанПиН 2.3.2.1078, органолептические свойства пищевых продуктов определяются показателями вкуса, цвета, запаха и консистенции, характерными для каждого вида продукции, и должны удовлетворять традиционно сложившимся вкусам и привычкам населения.

Органолептическая оценка мяса рыбы осуществлялась комиссией экспертов-испытателей. Комиссию формируют из числа лиц, прошедших проверку на сенсорную чувствительность. В органолептической оценке участвуют основные органы чувств человека, в зависимости от которых методы подразделяется на четыре подгруппы: визуальный, осязательный, обонятельный, вкусовой методы.

После вскрытия рыбы (по 3 на каждую группу), она промывалась чистой питьевой водой, помещалась в сосуды для термической обработки и заливалась питьевой водой в соотношении 1:5. После чего варилась в течение 20 минут. После варки и охлаждения у рыбы вырезались куски спинных мышц весом 5-10 г.

Органолептические показатели образцов после термической обработки оценивали по стандартной методике (Сафронова Т.М., 1998). Данный метод включает оценку следующих показателей по пятибалльной шкале: прозрачность, цвет, вкус, запах, внешний вид. Для проведения исследования было привлечено 8 сотрудников факультета биотехнологии и рыбного хозяйства – испытатели.

2.8 Анализ микроэлементов в мясе рыбы

Мясо рыбного сырья для проведения опытного кормления было отобрано от трех особей из каждой группы нарезалось частями массой 5 г, далее высушивали при температуре 40°C в дегидрататоре AIRHOT FD-16GR в течении 12 часов. В дальнейшем образцы гомогенизировали и предавали в лабораторию для дальнейшего анализа.

Исследование проводили на атомно-адсорбционном спектрофотометре с зеемановской поляризацией Hitachi 180-80 (рис. 9).



Рисунок 9 – Атомно-адсорбционный спектрофотометр с зеемановской поляризацией Hitachi 180-80

Результаты измерений сводили в таблицу для дальнейшего определения удовлетворения суточной потребности в минеральных веществах мяса рыбного сырья в соответствии с МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ».

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ИСПЫТАНИЯ КОМПЛЕКСНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

3.1 Пробиотические препараты

3.1.1 Рыбоводно-биологические показатели

Испытания включали исследование влияния трех пробиотических препаратов на молоди радужной форели по рыбоводно-биологическим и физиологическим показателям.

В результате экспериментов отмечалось увеличение прироста биомассы и уменьшение значения кормового коэффициента в опытных группах. В группе, получавшей пробиотический препарат в составе *Bacillus subtilis* (OZ-2 ВКМП - 11966) и *Bacillus amyloliquefaciens* (OZ-3 ВКМП-11967) прирост биомассы составил 410,5 г (на 12,19%) по отношению к контрольной группе (табл. 9). Дозировка внесения пробиотиков составляла 1г/кг.

Таблица 9 – Рыбоводно-биологические показатели выращивания радужной форели, получавшей в составе корма пробиотические препараты (60 суток)

Показатели	Контроль ОР	Опытные группы		
		ОР + <i>B. subtilis</i> (ВКМП В-2335)	ОР + <i>B. subtilis</i> (OZ-2 ВКМП -11966) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (OZ-3 ВКМП-11967)	ОР + <i>L. acidophilus</i> (ВКМП В-3235)
Средняя начальная масса, г	30±1,5	30±2,1	30±1,3	30±1,1
Средняя конечная масса, г	97,9± 8,8	99,1± 8,6	106,2± 9,1	97,7± 9,3
Абсолютный прирост, г	67,9	69,1	76,2	67,7
Среднесуточный прирост, г	1,13	1,15	1,27	1,13
Кормовой коэффициент	1,14	1,12	1,09	1,17
Выживаемость, %	100	98	100	98
Начальная биомасса, г	1524,5	1495	1529	1565
Конечная биомасса, г	4895	4955	5310	4885
Прирост биомассы, г	3370,5	3460	3781	3320
Количество корма, г	3851,7	3870	4103,4	3870

Применение пробиотической добавки *Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens*, привело к улучшению морфологических показателей тканей

среднего отдела кишечника и пилорических придатков (рис. 10).

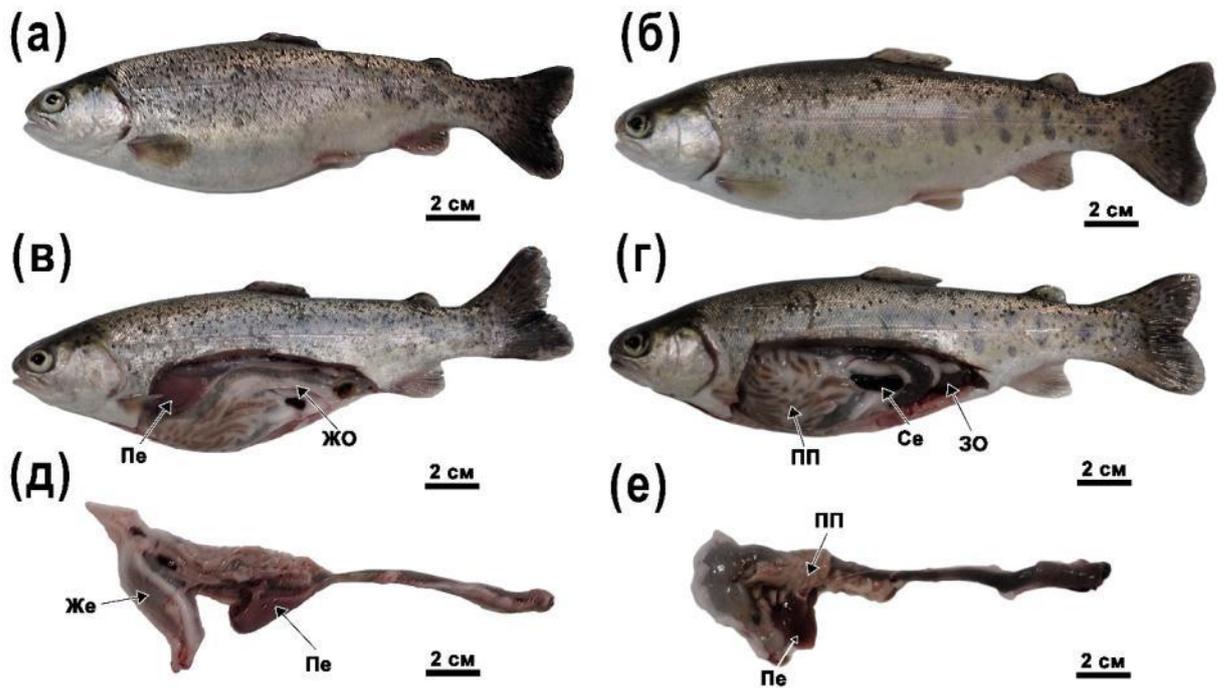


Рисунок 10 – Морфологические и анатомические особенности радужной форели двух опытных групп на 60 сутки эксперимента: (а) – группа ОР; (б) – группа ОР2: Пе – печень; ПП – пилорические придатки; ЖО – жировые отложения; ЗО – задний отдел кишечника; Же – желудок; Се – селезенка

В контрольной группе (контроль; рис. 10, а, в, д) существенных нарушений органов желудочно-кишечного тракта отмечено не было. Желудок и кишечник содержал остатки корма после последнего кормления. Цвет печени и равномерность ее окраски говорят о низкой степени накопления липидов и эффективности метаболизма компонентов кормов (Харенко и др., 2001). Четко выраженная, равномерно окрашенная селезенка позволяет утверждать, что процессы эритропоэза проходят без нарушений.

Внешних повреждений у контрольной и опытной группы отмечено не было. Жабры всех исследуемых особей обладали нормальной красной окраской, без признаков ослизнения. Степень жировых отложений была одинаковой у контрольных и опытных особей. Исследования органов ЖКТ не выявило существенных нарушений (рис. 10, г). Стоит отметить нормальное развитие пилорических придатков во всех экспериментальных группах, без признаков

воспаления (рис. 10, е). Высокие темпы роста радужной форели, получавшей экспериментальные корма, не привели к развитию жировой дегенерации печени. Это позволяет предположить о сбалансированности состава готовых кормов в группе О2, полностью соответствующей физиологическим потребностям рыбы.

В результате проведенных исследований доказано, что наиболее эффективным пробиотическим составом, способствующим улучшению рыбопродуктивных показателей и состояния ЖКТ является комбинация из *Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens* в концентрации $12 \times 10^7 + 10 \times 10^9$ КОЕ/кг.

3.1.2 Физиологические показатели

По окончании эксперимента детальному изучению подвергались отделы желудочно-кишечного тракта, для оценки влияния пробиотических препаратов на гистологические показатели, которые, в свою очередь, характеризуют эффективность процессов пищеварения на тканевом и клеточном уровне.

Исследования гистологической структуры среднего отдела кишечника показало отсутствие серьезных патологических отклонений во всех исследуемых группах. В контроле отмечено незначительное расширение lamina propria у некоторых ворсинок (рис. 11, а), а также нормальная организация призматического эпителия и бокаловидных клеток.

В группе О1 у большинства ворсинок толщина собственной слизистой оболочки кишечника была близка к контролю. Количество интраэпителиальных лейкоцитов было достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем в контрольной группе. Также в данной группе было отмечена наибольшая площадь бокаловидных клеток (рис. 11, с), достоверно отличная от контроля ($p < 0,05$) при этом их количество на 100 мкм призматического эпителия также достоверно отличалось ($p < 0,05$) от контроля.

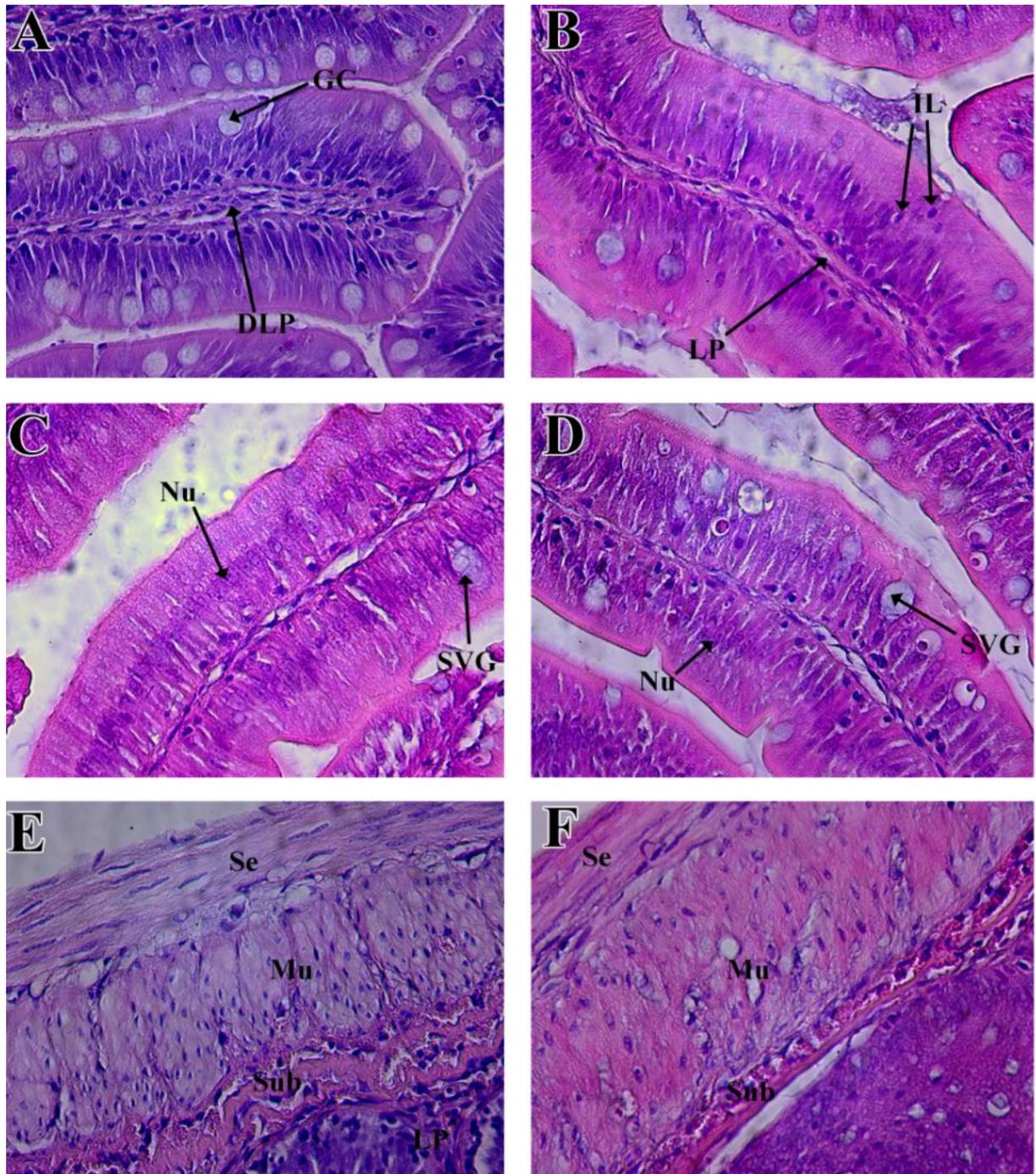


Рисунок 11 – Гистология среднего отдела кишечника рыб и результаты морфометрических измерений. А – Контрольная группа; В – группа O1; С – группа O2; D – группа O3; E – контрольная группа; F – группа O2; G' – ширина *Lamina propria*; H' – количество интраэпителиальных лимфоцитов на 100 мкм призматического эпителия; I' – толщина мускульной пластины. GC – бокаловидная клетка; DLP – расширенная *Lamina propria*; IL – интраэпителиальные лимфоциты; LP - *Lamina propria*; Nu – ядро эндотелиоцита; SVG – расширенная бокаловидная клетка; Se – серозная оболочка (serosa); Mu – мускульная оболочка (muscular layer); Sub - подслизистая основа (submucosa)

Толщина *lamina propria* в группе О2 была достоверно меньше ($p < 0,05$), чем в контроле. Структура ворсинок в данной группе не отличалась от нормы, можно было различить отдельные ядра призматических эпителиоцитов, а также бокаловидные клетки, которые на некоторых ворсинках были раздуты. В данной группе отмечена наименьшая плотность бокаловидных клеток (рис. 11, в), при этом их площадь была близка к контролю.

Состояние среднего отдела кишечника в группе О3, также можно было характеризовать как нормальное. Максимальным колебаниям подвержен параметр толщины *lamina propria*, при этом среднее значение этого признака достоверно меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Как и в других опытных группах, группа О3 показала уменьшение плотности бокаловидных клеток на 100 мкм призматического эпителия ($p < 0,05$), по сравнению с контролем. При этом их площадь оставалась неизменной.

Изучение гистологических препаратов позволяет утверждать, что во всех экспериментальных группах структура организации мышечного слоя среднего отдела кишечника не имеет видимых нарушений, которые могли бы повлиять на процессы пищеварения (рис. 11, е). Во всех исследуемых группах показана тенденция к уменьшению толщины мышечной пластины среднего отдела кишечника, при этом в группе О3 на некоторых участках препарата она утолщается до нормальных значений, но среднее значение все равно достоверно ниже контроля ($p < 0,05$).

Исследование гистологических срезов пилорических придатков показало отсутствие видимых патологических отклонений во всех исследуемых группах. Плотность бокаловидных клеток на 100 мкм призматического эпителия была одинаковой во всех группах. В контрольной группе была зафиксирована дилатация собственной слизистой оболочки у большей части ворсинок, а также большое количество интраэпителиальных лимфоцитов (рис 11). По всей площади призматического эпителия были распространены абсорбирующие вакуоли.

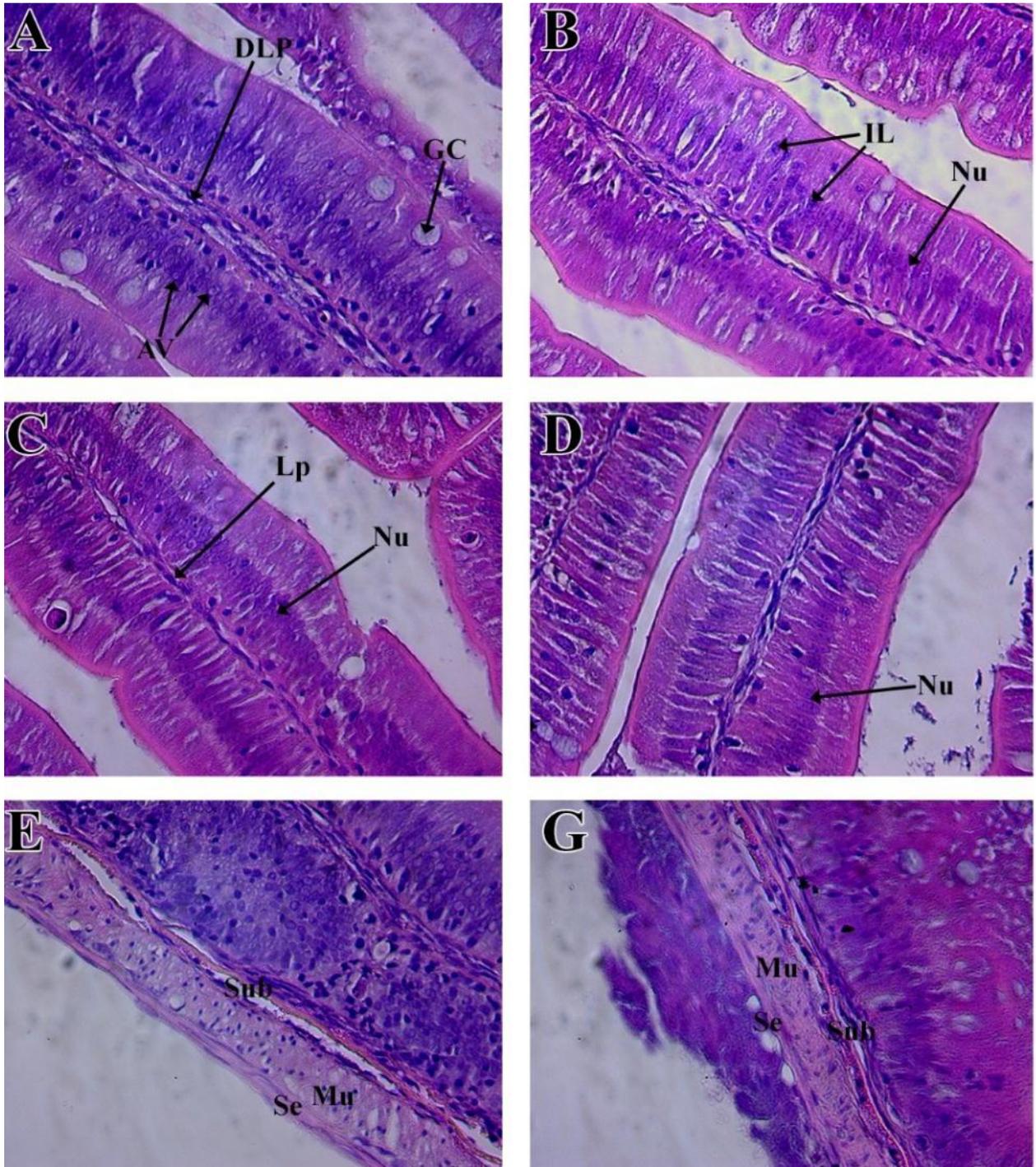


Рисунок 12 – Гистология пилорических придатков рыб и результаты морфометрических измерений. А – Контрольная группа; В – группа O1; С – группа O2; D – группа O3; E – контрольная группа; F – группа O2; G' – количество интраэпителиальные лимфоциты на 100 мкм призматического эпителия; H' – ширина Lamina propria количество; I' – толщина мускульной пластины. GC – бокаловидная клетка; DLP – расширенная Lamina propria; AV – абсорбирующие вакуоли; IL – интраэпителиальные лимфоциты; LP - Lamina propria; Nu – ядро эндотелиоцита; SVG – расширенная бокаловидная клетка; Se – серозная оболочка (serosa); Mu – мускульная оболочка (muscular layer); Sub – подслизистая основа (submucosa)

Группа О1 отличалась нормальным строением тканей кишечника (рис. 12, в): большая часть призматических эпителиоцитов обладали ярко выраженными ядрами, ширина собственной слизистой оболочки была близка к контрольному значению, площадь бокаловидных клеток была достоверно меньше, чем в контроле ($p < 0,05$). В данной группе отмечалось достоверное уменьшение интраэпителиальных лимфоцитов ($p < 0,05$), по сравнению с контролем.

Lamina propria группы О3 была достоверно меньше ($p < 0,05$), чем без использования пробиотических препаратов. Достоверные отличия от контроля также продемонстрировали показатели ($p < 0,05$): высоты призматического эпителия ворсинок (рис. 12 а) и количества интраэпителиальных лимфоцитов (рис. 2 G), оба данных показателя были меньше контрольных значений.

Наименьшее количество интраэпителиальных лимфоцитов было зафиксировано в опытной группе О3, достоверно отличающиеся от контрольных значений ($p < 0,05$). На большей части ворсинок данной группы можно было отметить нормальную структуру призматического эпителия (рис. 12 d), с хорошо окрашенными ядрами, а также близкой к норме ширину собственной слизистой оболочки, достоверно меньшей, чем в контроле ($p < 0,05$). Добавление в корм пробиотика на основе *Lactobacillus acidophilus* не оказало влияния на площадь бокаловидные клеток, однако привело к значимому уменьшению ($p < 0,05$) высоты эпителиоцитов.

Стенки пилорических придатков имеют нормальную гистологическую структуру на всех исследуемых препаратах (рис. 12 (E, G)): можно различить все три слоя включая, serosa, muscularis и submuscularis оболочки. Толщина мускульного слоя во всех опытных группах была достоверно ниже контроля ($p < 0,05$).

В контроле и во всех сериях опытов печень сохраняла нормальную гистологическую структуру. В контроле структура гепатоцитов не имела отклонений, у которых можно было различить ядра без признаков некроза, а также слегка расширенный синусоидный капилляр.

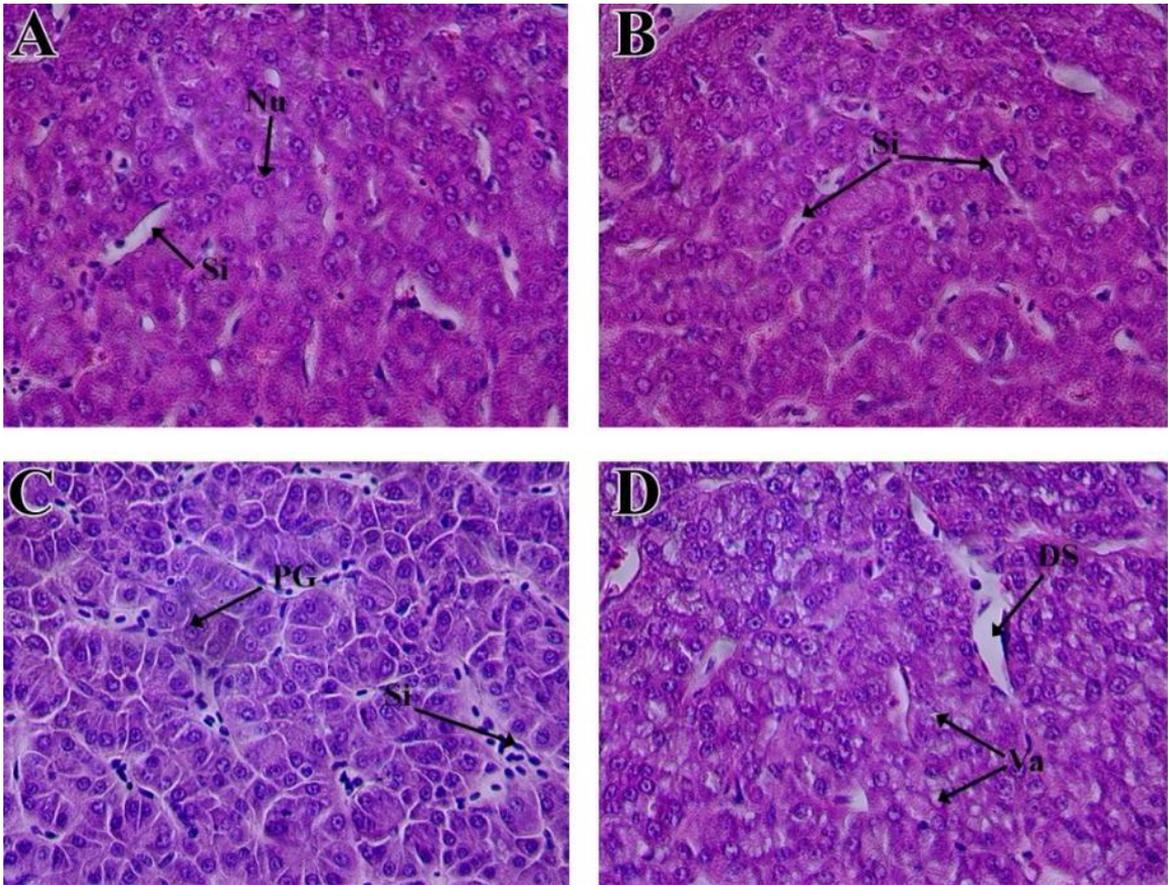


Рисунок 13 – Гистология печени рыб и результаты морфометрических измерений. А – Контрольная группа; В – группа O1; С – группа O2; D – группа O3; E' - количество вакуолей на 1000 мкм² паренхимы печени –; F' – площадь вакуолей гепатоцитов; Nu – ядро гепатоцита; Si – синусoidalный капилляр; PG – полиплоидный гепатоцит; DS – расширенный синусoidalный капилляр; Va – вакуолизация

При применении пробиотического препарата на основе *Bacillus subtilis* (группа O2), появляются признаки начальной степени вакуолизации, а сами вакуоли имеют достоверно ($p < 0,05$) наиболее крупные размеры среди всех исследуемых групп. Кроме этого, в данной группе синусоиды печени имели нормальный размер.

В группе O2 паренхима печени наиболее соответствовала норме: можно различить отдельные гепатоциты с нормальными ядрами, четко видна балочная структура печени, а также кровенаполнение синусоиды (рис. 13 с). Также были отмечены некоторые полиплоидные гепатоциты.

Результаты морфометрических измерений различных гистологических параметров у контрольных и опытных рыб представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты морфометрических измерений различных гистологических параметров у контрольных и опытных рыб. Значения представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Показатели, за которыми следуют буквы надстрочного индекса (a, b, ab), достоверно различались.

	Контроль	OP1	OP2	OP3
Средний отдел кишечника				
Высота эпителия кишечника (мкм)	42,93 \pm 8,18 ^a	43,11 \pm 8,35 ^a	52,07 \pm 8,11	46,77 \pm 9,35 ^a
Толщина мускульного слоя (мкм)	108,4 \pm 11,96	91,03 \pm 16,4 ^a	66,76 \pm 20 ^{ab}	83,73 \pm 36,65 ^a
Количество бокаловидных клеток на 100 мкм эпителия	4,57 \pm 1,74	2,238 \pm 0,88 ^a	0,9524 \pm 0,8 ^{ab}	1,524 \pm 1,25 ^a
Площадь бокаловидных клеток (мкм ²)	81,58 \pm 15,99 ^a	150,6 \pm 56,68	122,1 \pm 61,99	120,1 \pm 49,83
Ширина lamina propria (мкм)	13 \pm 2,76	13,07 \pm 2,86	9,232 \pm 1,59 ^a	8,272 \pm 3,38 ^a
Количество интраэпителиальных лейкоцитов на 100 мкм эпителия	15,95 \pm 5,04	7,19 \pm 2,18 ^a	7,524 \pm 2,18 ^a	8,857 \pm 2,67 ^a
Пилорические придатки				
Высота эпителия кишечника (мкм)	60,31 \pm 8,13	45,05 \pm 7,45 ^{ab}	53,6 \pm 6,83 ^a	44,18 \pm 5,14 ^{ab}
Толщина мускульного слоя (мкм)	34,74 \pm 4,87	23,41 \pm 5,48 ^{ab}	30,08 \pm 5,14 ^a	23,23 \pm 6,74 ^{ab}
Количество бокаловидных клеток на 100 мкм эпителия	1,619 \pm 1,24	1,238 \pm 0,76	1 \pm 0,7746	1,476 \pm 1,03
Площадь бокаловидных клеток (мкм ²)	128,9 \pm 40,33	51,13 \pm 18,68 ^{ab}	64,87 \pm 16,6 ^{ab}	104,9 56,19
Ширина lamina propria (мкм)	15,78 \pm 2,27	14,94 \pm 4,536	11,93 \pm 4,03 ^{ab}	8,118 \pm 1,68 ^{ab}
Количество интраэпителиальных лейкоцитов на 100 мкм эпителия	15,52 \pm 3,8	9,286 \pm 3,02 ^a	6,762 \pm 1,7 ^{ab}	5,81 \pm 1,8 ^{ab}
Печень				
Площадь ядра гепатоцита (мкм ²)	30,66 \pm 6,44 ^a	31,41 \pm 5,53 ^a	27,37 \pm 2,26 ^a	41,08 \pm 8,63
Количество вакуолей на 100 мкм ²	1,55 \pm 1,66 ^a	0,5 \pm 0,68 ^a	0,1 \pm 0,3 ^{ab}	4,45 \pm 2,78
Площадь гепатоцита (мкм ²)	22,18 \pm 7,92 ^a	47,79 \pm 19,7	17,84 \pm 13,2 ^a	26,29 \pm 8,48 ^a

В группе, где использовался препарат на основе *Lactobacillus acidophilus* (группа ОЗ), в печени появляются признаки мелкокапельной вакуолизации. Количество вакуолей на 1000 мкм² достоверно больше контроля ($p < 0,05$). Также, в данной группе зафиксировано достоверное ($p < 0,05$) увеличение площади ядер гепатоцитов.

По завершении опыта и анализа гистологических показателей кишечника, пилорических придатков и печени у опытных особей форели исследовались изменения в морфологическом составе периферической крови.

Анализ полученных данных показал отсутствие достоверных отличий между опытными группами. Относительное количество форменных клеточных элементов крови находилось на нормальном уровне для рыб данного размера и возраста. Незначительное уменьшение числа лимфоцитов наблюдалось в опытных группах ОР2 и ОР3 и составило $2,03 \pm 0,11$ и $2,14 \pm 0,41\%$ от общего числа клеток соответственно (табл. 11).

Таблица 11 – Элементный состав периферической крови радужной форели четырех опытных групп при кормлении пробиотиком по окончании эксперимента.

Показатель (%)	Контроль	ОР1	ОР2	ОР3
Красные клетки крови	$95,57 \pm 0,39$	$95,92 \pm 0,30$	$96,60 \pm 0,29$	$95,7 \pm 0,56$
Лимфоциты	$2,56 \pm 0,39$	$2,38 \pm 0,12$	$2,03 \pm 0,11$	$2,14 \pm 0,41$
Нейтрофилы	$0,03 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,00$	$0,04 \pm 0,02$
Моноциты	$0,09 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$
Тромбоциты	$1,72 \pm 0,07$	$1,51 \pm 0,21$	$1,18 \pm 0,33$	$1,98 \pm 0,22$
Общее число лейкоцитов	$2,69 \pm 0,40$	$2,56 \pm 0,11$	$2,20 \pm 0,10$	$2,31 \pm 0,38$

Значительных вариаций по количеству нейтрофилов и моноцитов зафиксировано не было. Количество также существенно не отличалось между всеми опытными группами (рис. 14). Максимальное число тромбоцитов было отмечено в группе ОР3 и составило $1,98 \pm 0,22\%$.

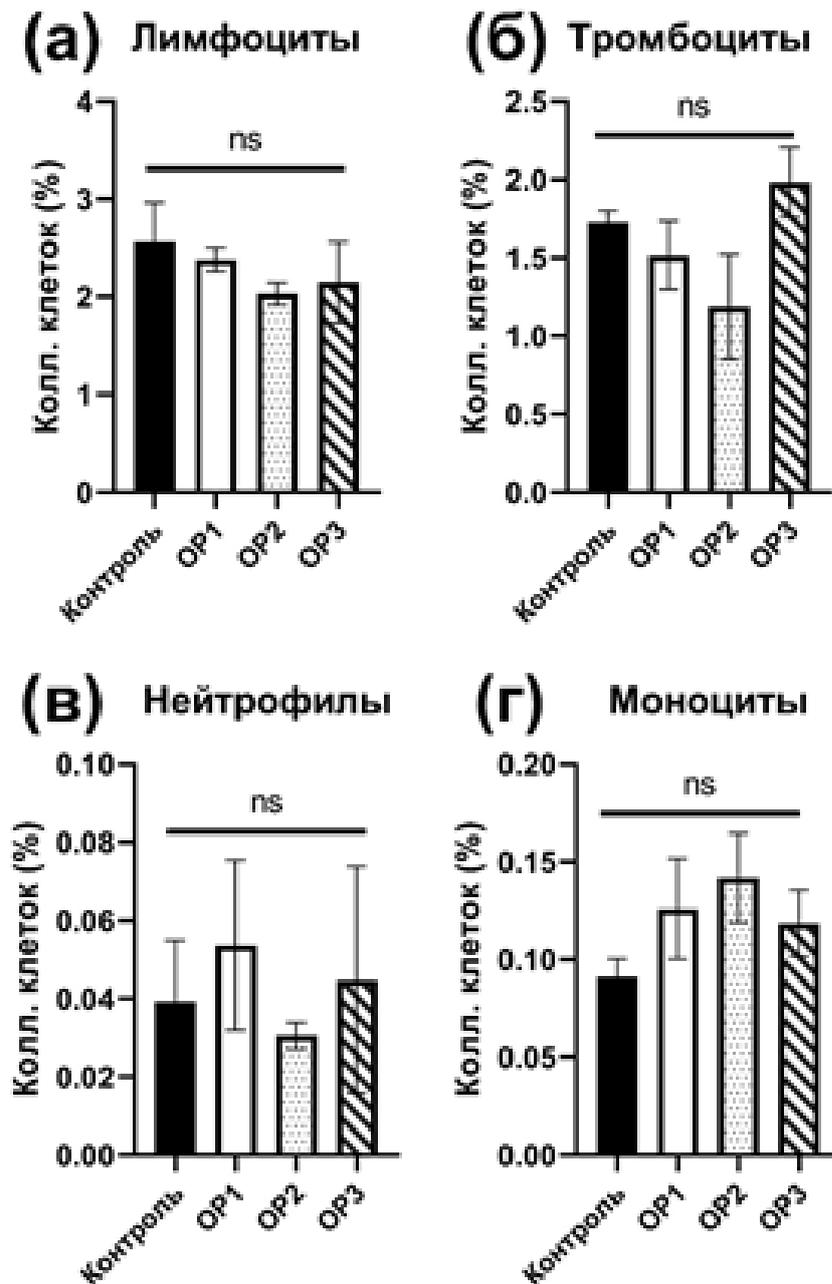


Рисунок 14 – Сравнение элементного состава периферической крови радужной форели при кормлении пробиотическим препаратом по окончании эксперимента

Полученные в результате исследования физиологических показателей радужной форели данные дают возможность утверждать, что пробиотические составы оказывают достоверное влияния на некоторые гистоморфологические показатели среднего отдела кишечника и пилорических придатков. Пробиотические препараты не оказывают влияния на морфологическую картину

периферической крови, что сходится с литературными данными.

Таким образом, пробиотический препарат ОР2, включающий *B. subtilis* (OZ-2 ВКМП -11966) + *B. amyloliquefaciens* (OZ-3 ВКМП-11967) оказал наибольшее положительное влияние на рыбоводно-биологические показатели и гистоморфологические показатели органов пищеварения и может быть использован в составе комплексной кормовой добавки для радужной форели.

3.2 Хелатные соединения микроэлементов

3.2.1 Рыбоводно-биологические показатели

Были сформированы три опытные группы молоди рыб, для которых использовали корма с различным количеством хелатных соединений микроэлементов: 0,5, 1 и 2 г на один кг корма. Данные концентрации определены исходя из литературных данных о физиологических потребностях радужной форели в микроэлементах и предыдущих исследований (Бородин и др., 2019, Хрусталеv и др., 2017; Скляров, 2008).

Согласно данным таблицы 12, внесение хелатных соединений микроэлементов в состав кормов для радужной форели показало достоверное увеличение скорости роста в экспериментальных группах. Минимальное значение кормового коэффициента было зафиксировано в группе с добавлением 1 г/кг хелатов и составило 1,15 ед., при этом конечная биомасса в данной группе превосходила контрольную на 9,85%. Увеличение концентрации хелатных соединений до 2 г/кг в группе ОР + хелаты 2 г/кг привело к снижению скорости роста рыб в сравнении с группой ОР + хелаты 1 г/кг. Существенных различий по показателю выживаемости выявлено не было.

Таблица 12 – Рыбоводно-биологические показатели выращивания радужной форели при включении в корма хелатных соединений микроэлементов (60 суток)

Показатели	Контроль	Опытные группы		
	Основной рацион (ОР)	ОР + хелаты 0,5 г/кг	ОР + хелаты 1 г/кг	ОР + хелаты 2 г/кг
Средняя начальная масса, г	845±75	815±80	830±85	825±75
Средняя конечная масса, г	1320±131	1290±127	1353±129*	1321±133
Абсолютный прирост, г	475	475	523	496
Относительный прирост, %	56,21	58,28	63,01	60,12
Среднесуточный прирост, г	7,92	7,92	8,72	8,27
Среднесуточная скорость роста, %	0,94	0,97	1,05	1,00
Кормовой коэффициент	1,32	1,20	1,15	1,19
Выживаемость, %	97	100	99	99
Начальная биомасса, кг	84,5	81,5	83	82,5
Конечная биомасса, кг	128,04	129,00	133,95	130,78
Прирост биомассы, кг	43,54	47,50	50,95	48,28
Прирост биомассы, %	51,53	58,28	61,38	58,52
Количество корма, кг	57,39	56,84	58,58	57,59

* $P > 0,99$

Динамика прироста биомассы в зависимости от концентрации хелатных соединений микроэлементов в корме представлена на рисунке 15.

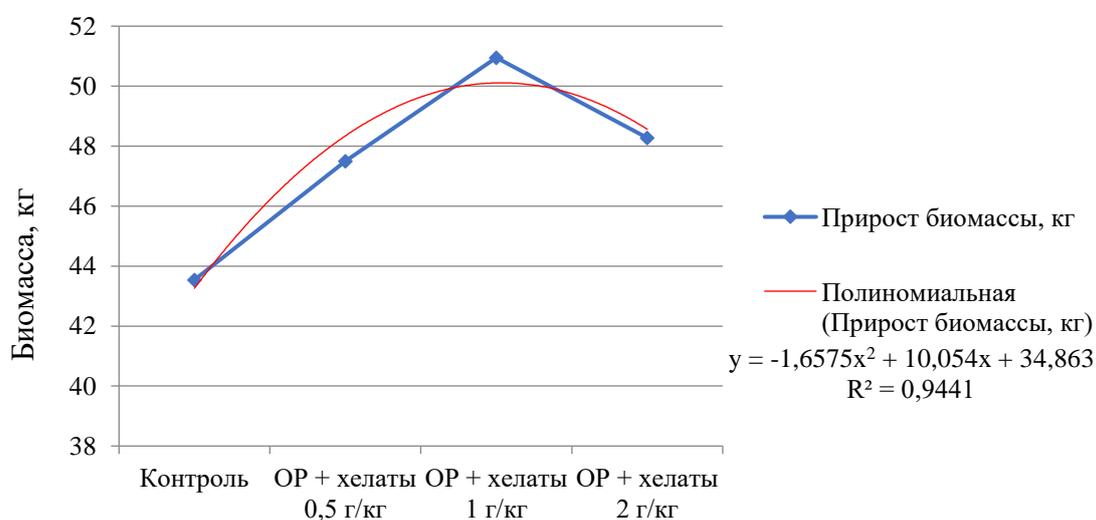


Рисунок 15 – Кинетика прироста биомассы в зависимости от концентрации хелатных соединений микроэлементов в корме, кг

Влияние рецептуры корма с хелатными соединениями на изменение общей биомассы радужной форели, представленное на рисунке 15, позволяет сделать вывод о том, что увеличение дозировки превышающей 1 г/кг корма является излишним и приводит к снижению темпов прироста биомассы.

3.2.2 Физиологические показатели

Гистологические показатели являются универсальным маркером, способным выявить нарушения на начальных стадиях развития патологического процесса, а также упростить определение этиологии заболеваний (Phrompanya et al., 2021; Van der Oost et al., 2003).

На рисунке 16 представлены микрофотографии гистологических срезов среднего отдела кишечника форели в эксперименте по окончании опыта. В контрольной группе морфология тканей кишечника соответствует норме для данного вида рыб. Кишечник радужной форели включает несколько оболочек, которые можно различить на продольных срезах: слизистая оболочка, мышечная оболочка и серозный слой. Слизистая оболочка формирует выступы, называемые ворсинками, которые выстланы столбчатым эпителием, бокаловидными и другими энтероэндокринными клетками. В основании ворсинки располагается собственная пластинка слизистой оболочки (LP; рис. 16, а).

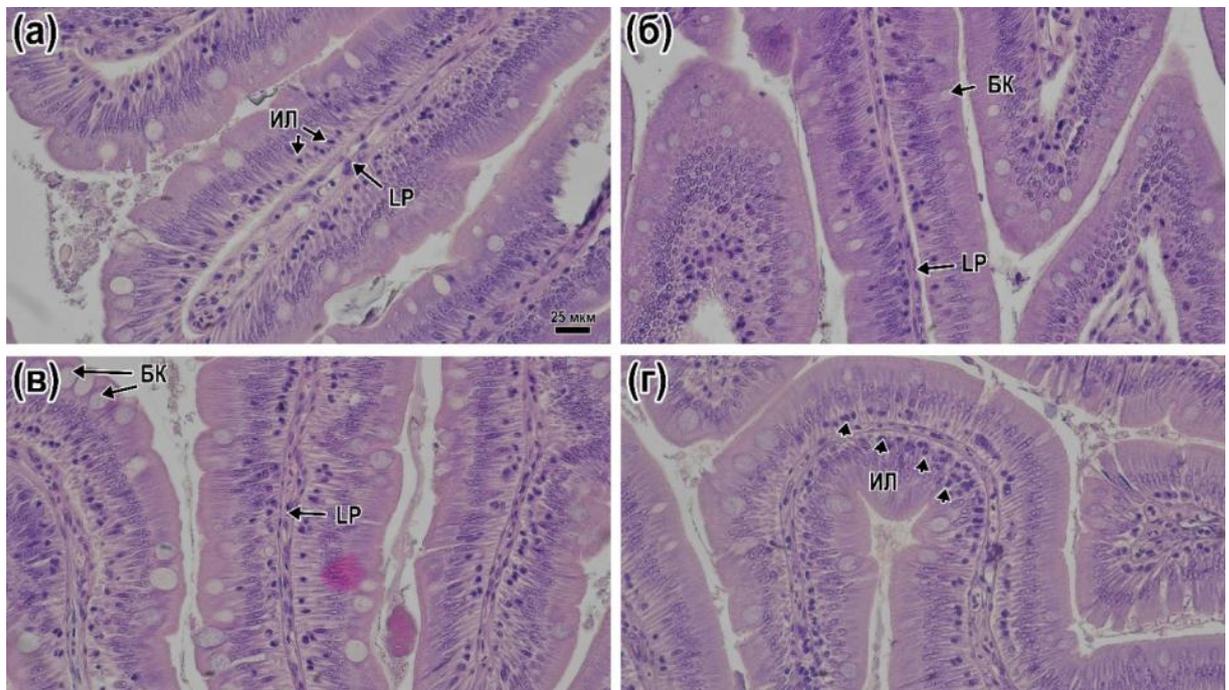


Рисунок 16 – Продольные гистологические срезы среднего отдела кишечника опытных рыб на 30 сутки опыта: (а) – Контроль; (б) – ОР0,5; (в) – ОР1; (г) – ОР2. Се – серозная оболочка; Mc – мускульный слой; LP – собственная пластинка слизистой оболочки (lamina propria); БК – бокаловидная клетка; ИЛ – интраэпителиальные лимфоциты. Увеличение 400х, шкала масштаба 25 мкм

На некоторых ворсинках контрольной группы отмечались незначительные увеличения толщины *Lamina propria*, а также скопления интраэпителиальных лейкоцитов. В группе OP0,5 наблюдались схожие изменения (рис. 16, б). Увеличенное число интраэпителиальных лейкоцитов и дилатация собственной пластинки в группах OP1 и OP2 встречались по всей площади слизистой кишечника (рис. 16, в, г).

Изучение гистологических показателей таких органов, как печень, почки и кишечник широко используется при исследовании новых кормовых рецептов (Simakov et al., 2020; Bruce et al., 2018; Rašković et al., 2016).

Данные изменения, вероятно, являются адаптивной реакцией к новой кормовой рецептуре. Подобные морфологические отклонения отмечались другими авторами, в работах посвященных замене части белковой составляющей корма растительными компонентами (Bruce et al., 2018; Penn et al., 2011). Появление в слизистой оболочке большого числа интраэпителиальных лейкоцитов и её расширение также обнаруживается при включении в корма различных пробиотических бактерий (Wuertz et al., 2021; Pirarat et al., 2011). Также отмечается, что использование пробиотических препаратов в кормах способно значительно повысить эффективность кормления, при использовании рецептов с несбалансированным составом (Блинов и др., 2011; Артюхова и др., 2010; Юхименко и др., 2009).

Изменения, выявленные в опытных группах, вероятно, являются адаптивной реакцией рыб к новой кормовой рецептуре. Подобные морфологические отклонения отмечались другими авторами в работах, посвященных замене части белковой составляющей корма растительными компонентами (Bruce et al., 2018; Penn et al., 2011). Появление в слизистой оболочке большого числа интраэпителиальных лейкоцитов и её расширение также обнаруживается при включении в корма различных пробиотических бактерий (Wuertz et al., 2021; Pirarat et al., 2011). Также отмечается, что использование кормов с несбалансированным составом жирных кислот способно приводить к морфологическим изменениям в кишечнике (Блинов и др., 2011; Артюхова и др., 2010; Юхименко и др., 2009).

Стоит отметить, что морфологические изменения в кишечнике могут являться ответом слизистой на компоненты опытных кормов, так как полноценная адаптация к кормовой рецептуре происходит не менее, чем за 60 суток (Nikiforov-Nikishin et al., 2022; Simakov et al., 2022).

Оценка состояния печени является одним из наиболее важных этапов оценки новых кормовых рецептур. Печень выполняет множество физиологических функций в организме и кормление рыб кормами с несбалансированным составом приводит к ряду патологических изменений в органе.

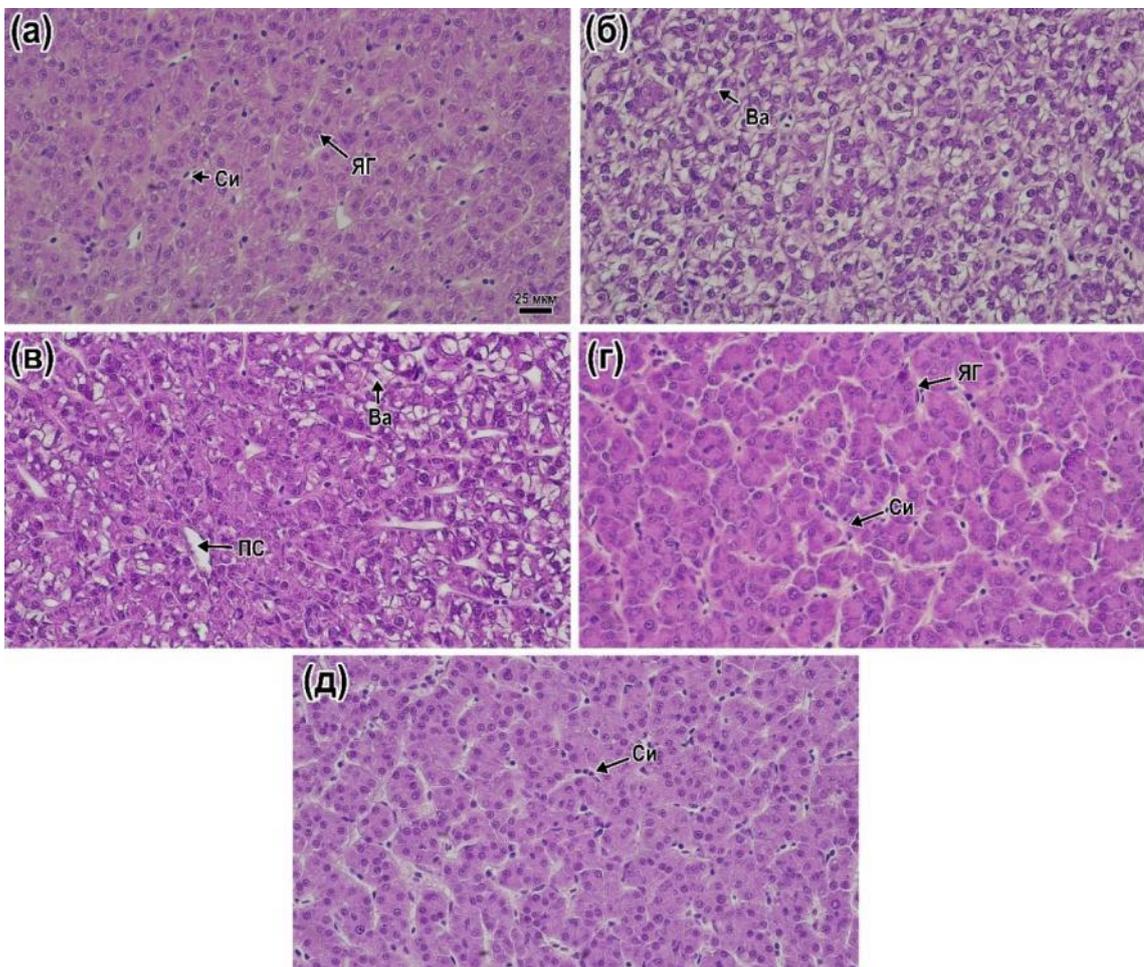


Рисунок 17 – Гистологические срезы печени контрольных и опытных рыб по окончании опыта: (а) – Контроль; (б) – ОР0,5; (в) – ОР1; (г) – ОР2. Си - синусоидный капилляр; ЯГ – ядро гепатоцита; Ва – вакуолизация, ПС – портальный сосуд печени. Увеличение 400х, шкала масштаба 25 мкм

На гистологических срезах печени радужной форели можно увидеть моно- и полинуклеарные гепатоциты, разделенные капиллярами и образующие

анастомотические дольки, составляющие основу гистоархитектоники органа (рис. 17, а). Во всех экспериментальных группах цитоплазма гепатоцитов обладала равномерной окраской с небольшими включениями липидной и / или гликогеновой природы.

В контрольной группе ОР0,5 наблюдались участки с вакуолизацией (рис. 17, б). Данные участки располагались фокально и ядра гепатоцитов не обладали признаками плеоморфизма. Также, на таких участках не обнаруживалось скопления клеточных элементов лейкоцитарного ряда. У рыб, получавших опытные корма ОР2 участки с вакуолизацией, встречались в равной степени (рис. 17, в).

У группы ОР1 вакуолизации в строме органа не наблюдалось (рис. 17, г, д). Гепатоциты обладали равномерной окраской с хорошо различимыми ядрами. На отдельных участках органа было выявлено незначительное расширение синусоидных капилляров, не сопровождавшееся инфильтрацией.

В целом, можно утверждать, что контрольные и опытные корма не оказывают влияния на гистологические показатели печени групп ОР0,5 и ОР1.

Жировое / гликогеновое перерождение органа развивается как при токсическом воздействии (например, под действием тяжелых металлов; Dane et al., 2020), так и при кормлении кормами с несбалансированным составом (Абросимова и др., 2006; Папуниди и др., 2008; Андервуд и др., 1971). Подобные изменения могут быть ассоциированы с токсическим действием. Так, во многих работах отмечается нарушение работы печени при действии пестицидов, тяжелых металлов, а также метаболитов бактерий и грибов (da Cunha et al., 2020; Al-Bairuty et al., 2013). При изучении рыб в индустриальной аквакультуре увеличение вакуолизации печени встречается повсеместно и не трактуется как патологическое отклонение (Wolf et al., 2015).

Таким образом, изучение гистологической структуры печени экспериментальных рыб позволило установить, что процессы усвоения и метаболизма корма происходят на нормальном уровне. Обнаруженные морфологические отклонения говорят о накоплении запаса питательных веществ,

которые будут использованы далее по мере роста рыбы.

Исследование морфологического состава крови по окончании эксперимента проводилось с целью оценки физиологического статуса рыб. Исследование мазков крови *Oncorhynchus mykiss* показало, что количество элементов белой крови находится в пределах установленных физиологических норм во всех опытных группах и говорит об отсутствии течения воспалительных процессов или нарушения гемоцитопоза.

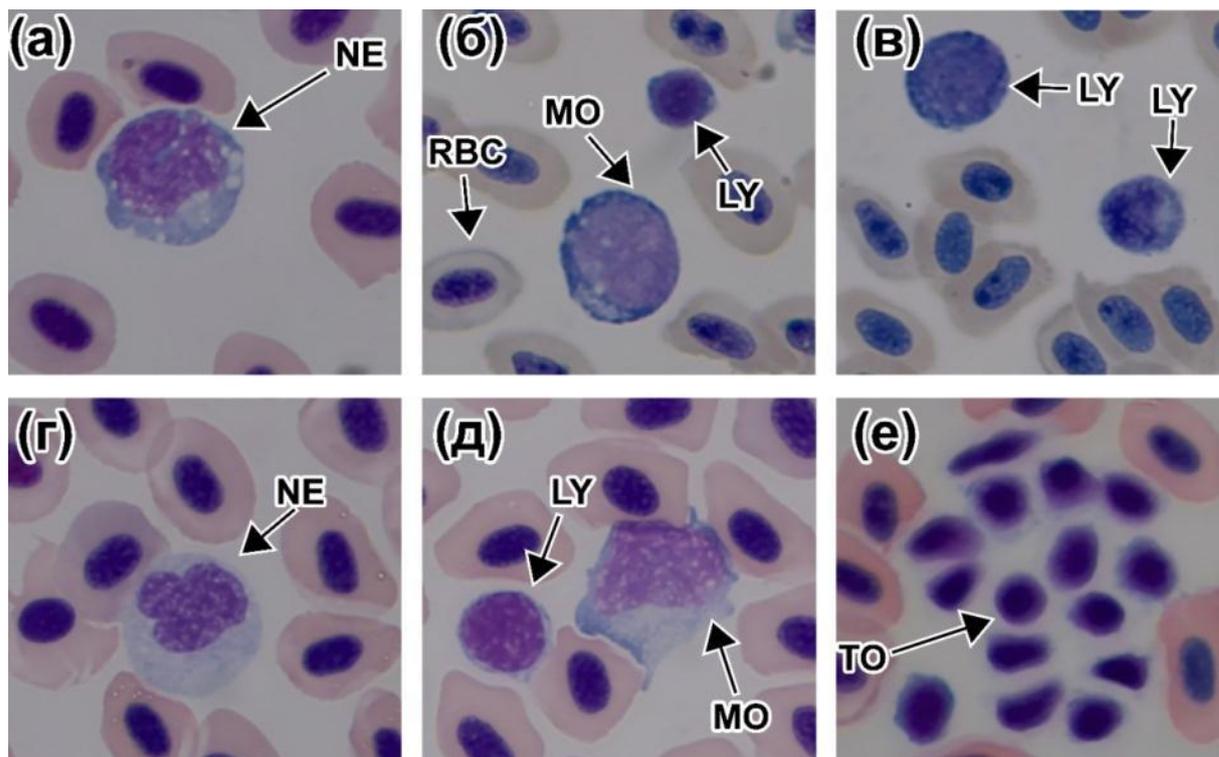


Рисунок 18 – Форменные элементы крови *Oncorhynchus mykiss* в эксперименте: (а) - нейтрофил (NE) в группе; (б) - эритроцит (RBC), моноцит (МО) и лимфоцит (LY); (в) -лимфоциты; (г) - нейтрофил в группе КЗ на 60 сутки; (д) - лимфоцит и моноцит ; (е) - агрегация тромбоцитов в группе

На рисунке 18 представлены обнаруженные в ходе исследования форменные элементы крови радужной форели. Удалось установить достоверные различия по относительному количеству лимфоцитов в группе ОП1 (рис. 18, $p < 0,05$). При этом достоверных различий по другим клеточным элементам периферической крови установлено не было. Общее число клеток лейкоцитарного ряда также достоверно отличалось в группе (табл. 13; $p < 0,05$), получавшей в составе корма хелатные соединения микроэлементов в концентрации 1 г/кг корма (рис. 19).

Таблица 13 – Элементный состав периферической крови радужной форели трех опытных и контрольной группы при кормлении хелатными соединениями микроэлементов по окончании эксперимента.

Показатель (%)	Контроль	OP0,5	OP1	OP2
Красные клетки крови	94,73±0,69	95,14±0,45	94,44±0,54	95,07±0,22
Лимфоциты	1,475±0,16	1,452±0,23	2,005±0,28	1,539±0,07
Нейтрофилы	0,119±0	0,081±0,04	0,079±0,04	0,097±0,01
Моноциты	0,106±0,02	0,085±0,06	0,103±0,02	0,124±0,04
Тромбоциты	1,858±0,34	1,618±0,48	1,181±0,2	1,401±0,08
Общее число лейкоцитов	1,7±0,19	1,61±0,24	2,18±0,27	1,76±0,1

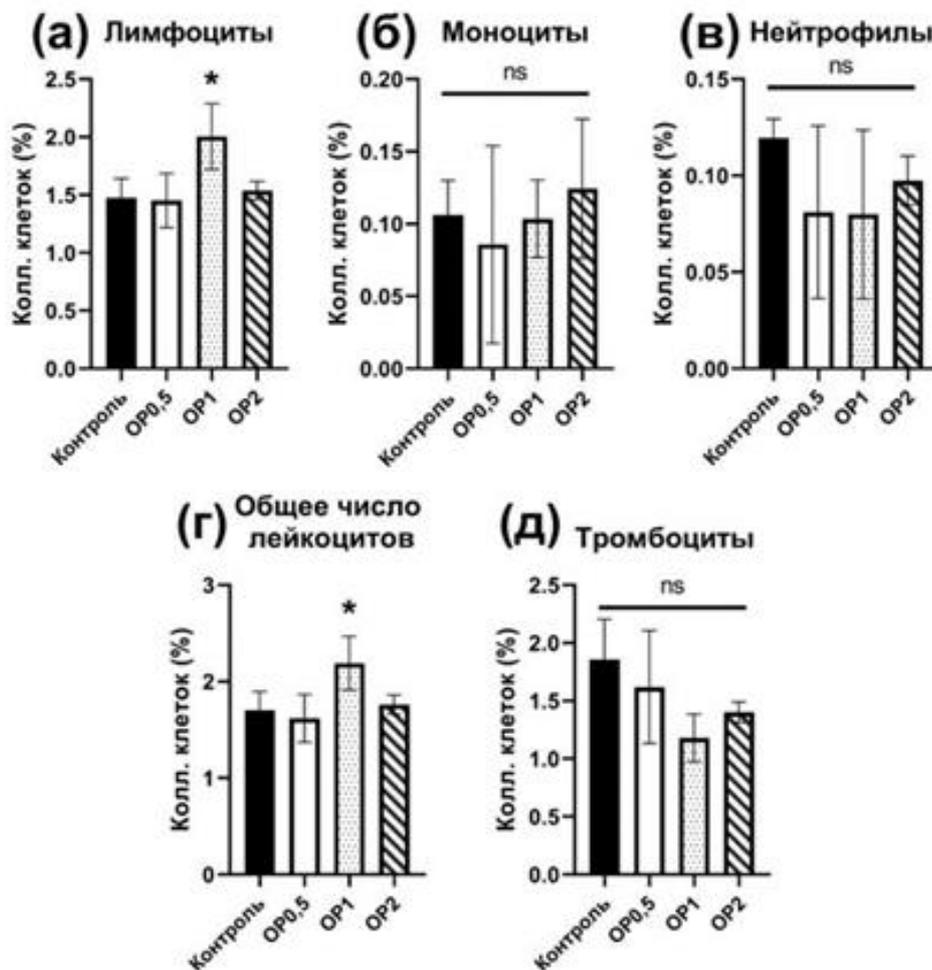


Рисунок 19 – Сравнение элементного состава периферической крови радужной форели трех опытных и контрольной группы при кормлении хелатными соединениями микроэлементов по окончании эксперимента, %

Лимфоциты периферической крови рыб играют важную роль в неспецифическом иммунном ответе рыб (Yu et al., 2020; Clark et al., 2018; Boyle et al.,

2013). Было показано, что увеличение клеток лейкоцитарного ряда, в первую очередь, индуцируется различными стресс-факторами, в том числе, изменением гидрохимических параметров, режима кормления и состава корма, а также токсическим действием (Козлов и др., 2004). Незначительные различия встречаемости лимфоцитов в опытных группах могут быть обусловлены индивидуальными особенностями рыб.

В составе хелатных соединений микроэлементов преобладают железо и цинк, оказывающие влияние на физиологическую активность кроветворения. По этим причинам для экспериментальных особей, получавших в составе корма хелатные соединения микроэлементов, проводилась оценка активности гемоцитопоеза по препаратам селезенки. Для оценки влияния исследуемых кормов на активность гемоцитопоеза производилось приготовление мазков селезенки исследуемых рыб по окончании эксперимента.

В результате исследования мазков селезенки опытных и контрольных рыб можно отметить, что наиболее представленным элементом гемопоэтической ткани являются эритроциты (Witeska, 2013). В среднем их представленность в группах К и ОР1 составляла $86,31 \pm 1,94$ (табл. 14, рис. 20), соответственно.

Таблица 14 – Представленность основных клеточных элементов гемопоэтической ткани радужной форели в эксперименте.

	Контроль	ОР0,5	ОР1	ОР2
Эритроцит	$86,31 \pm 1,94$	$85,55 \pm 2,5$	$83,6 \pm 1,45$	$82,83 \pm 1,64$
Эритробласт	$6 \pm 0,82$	$6,67 \pm 2,14$	$7,64 \pm 1,57$	$8,13 \pm 1,05$
Нейтрофил	$1,92 \pm 0,41$	$1,75 \pm 0,41$	$1,74 \pm 0,33$	$2,03 \pm 0,06$
Гемоцитобласт	$2,39 \pm 0,28$	$2,5 \pm 0,31$	$2,85 \pm 0,47$	$2,7 \pm 0,6$
Програнулоцит	$0,95 \pm 0,35$	$0,99 \pm 0,39$	$0,86 \pm 0,33$	$0,9 \pm 0,4$
Лимфоцит	$2,17 \pm 0,11$	$2,21 \pm 0,56$	$3,07 \pm 0,48$	$3,16 \pm 0,34$
Макрофаго-подобная клетка	$0,22 \pm 0,39$	$0,3 \pm 0,52$	$0,2 \pm 0,36$	$0,21 \pm 0,37$

В опытных группах содержание эритроцитов не отличалось от контроля и минимальное значение отмечалось в группе ОР2 и составило в среднем

82,83±1,64%. У костистых рыб эритропозз преимущественно сосредоточен в селезенке (Kondera, 2019), что объясняет высокую встречаемость данного клеточного элемента в органе. Достоверных отличий по встречаемости эритроцитов между контрольными и опытными группами установлено не было.

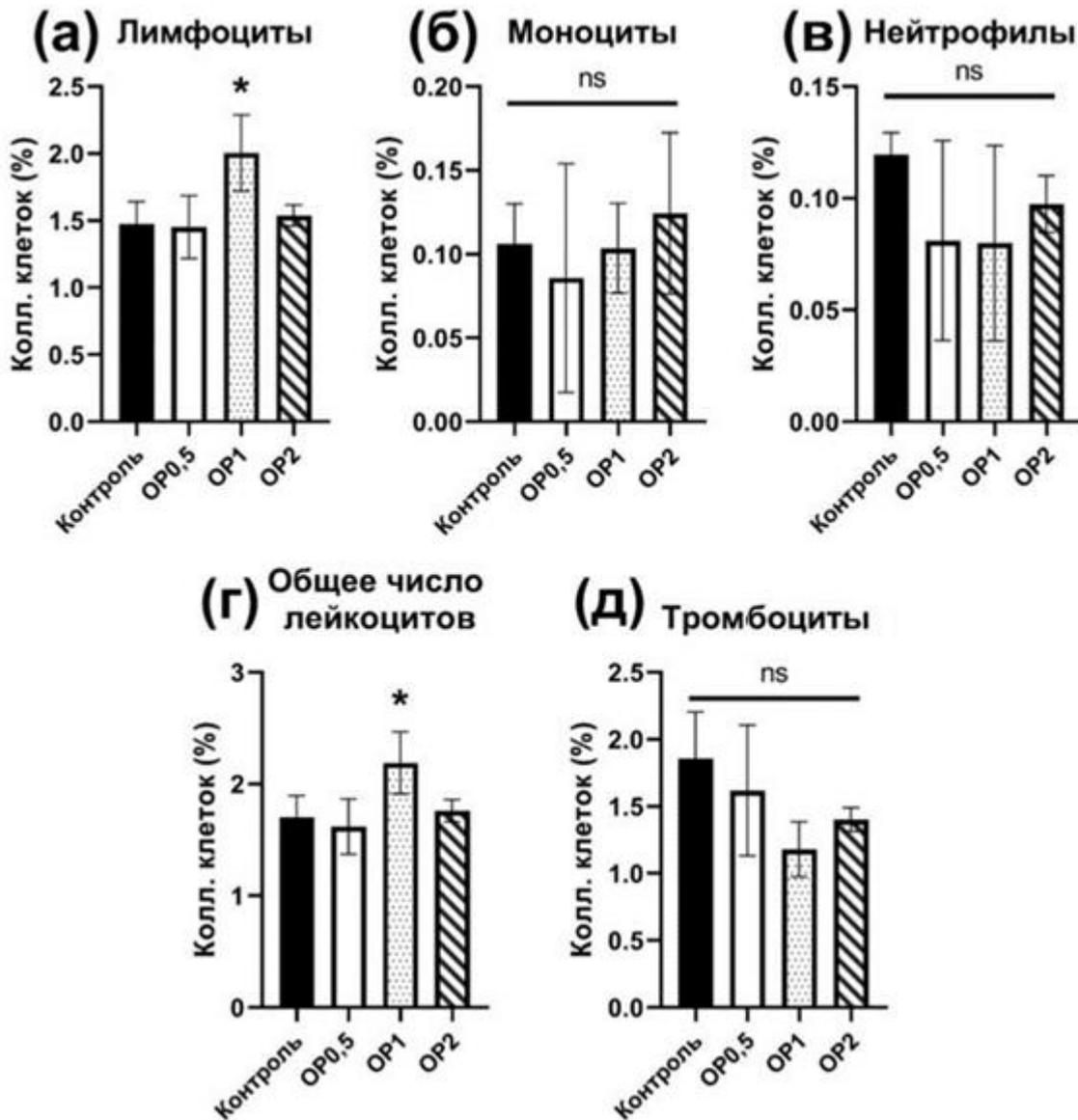


Рисунок 20 – Основные клеточные элементы гемопоэтической ткани радужной форели в эксперименте. ns – статистически не достоверно; * - статистически достоверная разница, %

Эритробласт является предшественником эритроцитов, преимущественно депонируясь в селезенке. На препарате селезенки эритробласт представляет собой

крупную, слегка овальную клетку с круглым ядром и базофильной цитоплазмой (рис. 21, а).

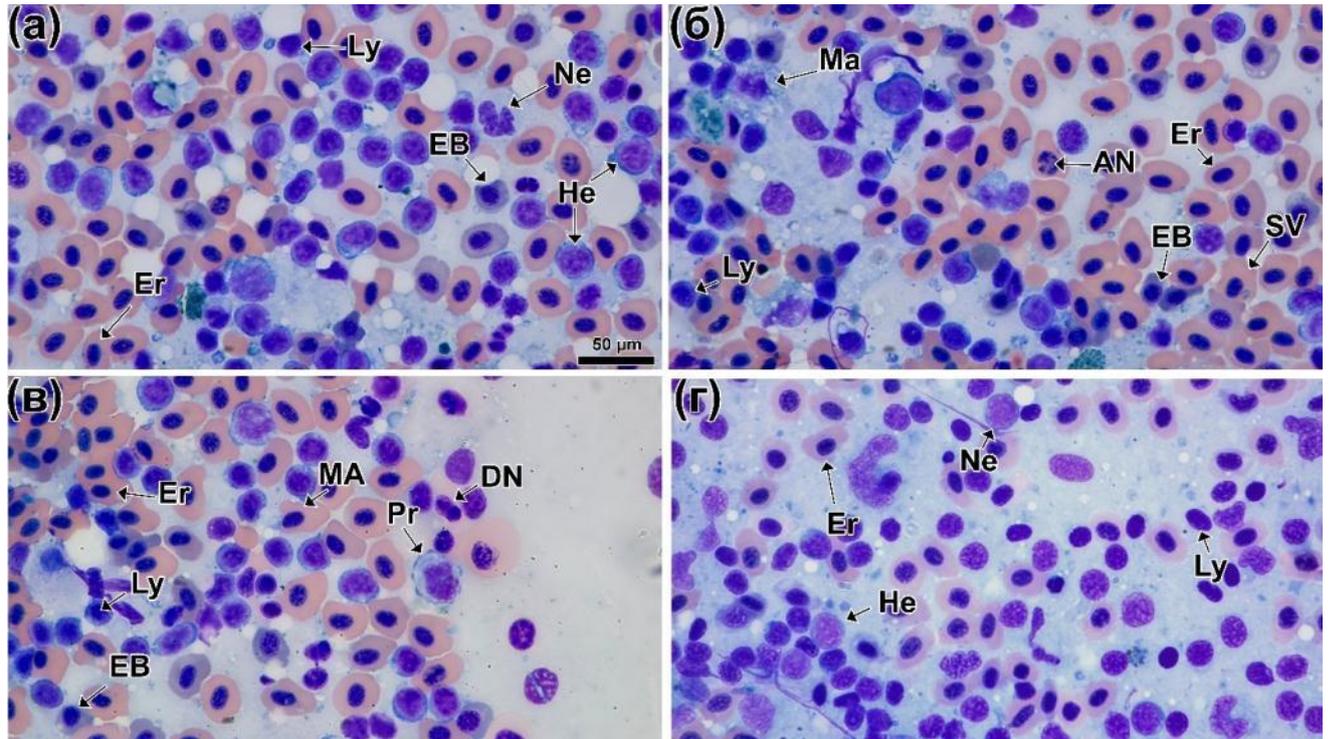


Рисунок 21 – Клеточные элементы гемопоэтической ткани радужной форели в контроле и опытных группах: (а) – К2; (б) – О2; (в) – К1; (г) – О1. Er – эритроцит; EB – эритробласт; Ne – нейтрофил; He – гемоцитобласт; Pr – програнулоцит; Ly – лимфоцит; Ma - макрофаго-подобная клетка. Увеличение 1000х, шкала масштаба 50 мкм

Бластные формы эритроцитов обладают большей базофилией по сравнению со зрелыми эритроцитами, что является их отличительным признаком. У рыб групп ОР2 представленность эритробластов была значительно выше, чем в контроле ($p < 0,05$, рис. 20). Это вероятно связано с различной активностью гемоцитопоэза у особей, получавших в составе корма хелатные соединения микроэлементов.

Такие клеточные элементы как нейтрофилы, гемоцитобласты и програнулоциты присутствуют в гемопоэтической ткани в небольших количествах. Гемоцитобласт (или гемобласт) является крупной клеткой с ярко базофильной цитоплазмой и большим ядром, занимающим большую часть клетки (рис. 21, г). Програнулоцит, в свою очередь, имеет большее соотношение

ядра/цитоплазмы и меньшее сродство к щелочным красителям (рис. 21, в). Согласно литературным данным, основным местом дифференцировки предшественников иммунных клеток у рыб является головная почка (Mokhtar & Abdelhafez, 2021). Достоверных различий по недифференцированным форм клеткам селезенки не наблюдалось.

Лимфоциты, широко представленные в периферической крови, могут дифференцироваться как в селезенке, так и в головной почке. Их количество достоверно отличалось в группах OP1 и OP2 (рис. Т. $p < 0,05$). Макрофагоподобные клетки встречались на препаратах селезенки в единичных экземплярах и, скорее всего, представляют собой тканеспецифичные макрофаги.

Полученные результаты показывают, что исследуемая кормовая добавка не оказывает воздействия на гемоцитопоз в селезенке исследуемых рыб. Контрольные значения форменных элементов гемопоэтической ткани рыб соответствуют показателям, полученным ранее в других исследованиях (Genan, 2018; Clark, 2018), что говорит об отсутствии нарушений функций кроветворных органов. Небольшая стимуляция эритропоэза, наблюдаемая в группе O1, вероятно, связана с большей скоростью роста и, как следствие, метаболическими реакциями.

Патологоанатомическое вскрытие позволило отметить высокую упитанность и равномерность жировых отложений в брюшной полости, отсутствие видимых патологий печени, кишечника и других отделов ЖКТ (рис. 22). У рыб контрольной и опытной групп не было выявлено повреждения внешних покровов, чешуи и изменения окраски тела. Состояние ЖКТ контрольных и опытных рыб по окончании опыта находилось в пределах физиологической нормы, без видимых патологических нарушений.

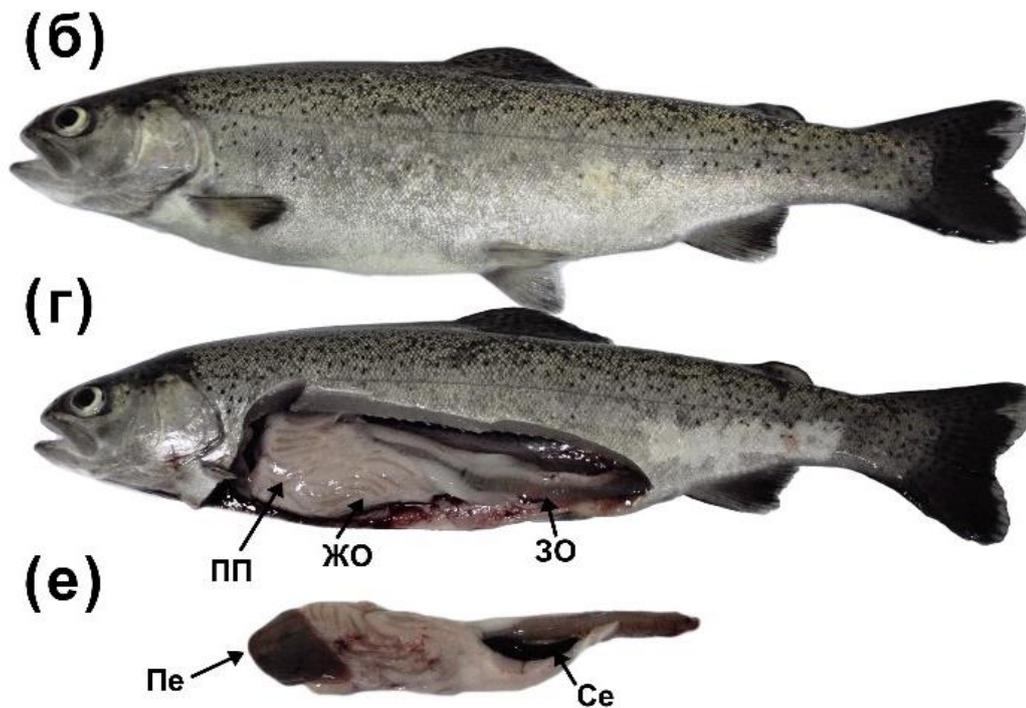


Рисунок 22 – Экстерьерные показатели и патологоанатомическое вскрытие радужной форели опытных групп, получавших в составе корма пробиотический препарат (а, в, д) и хелатные соединения микроэлементов (б, г, е). Се – селезенка; Пе – печень; ПП – пилорические придатки; ЗО – задний отдел; ЖО-жировые отложения

Отмечалось еще большее развитие жировых отложений, занимающих большую часть брюшной полости (4,5 балла). Желчный пузырь опытных особей был незначительно увеличен и наполнен содержимым отчетливо зеленого цвета, что говорит о эффективном синтезе желчного секрета и ферментов для переваривания пищи. Печень обладала слегка светлым окрасом, при этом ее структура была плотной и равномерной. Плавательный пузырь и почки без видимых патологических изменений. Можно отметить незначительные воспалительные процессы, преимущественно в заднем отделе кишечника. Отсутствие геморагии и изъязвления слизистой не позволяют отнести данные изменения к патологическим нарушениям. По окончании опыта, различий в экстерьерных показателях и состоянии внутренних органов между опытными и контрольными особями не было выявлено. Все рыбы соответствовали требованиям, предъявляемым к товарной продукции аквакультуры.

Таким образом, проведенная оценка физиологических показателей опытных особей радужной форели, получавших в составе корма хелатные формы микроэлементов, позволила установить: отсутствие патологических отклонений ЖКТ и печени у всех опытных групп на гистологическом и органном уровне, положительное влияние концентрации 1 г/кг на площадь адсорбирующего эпителия кишечника, увеличение относительного количества лимфоцитов при концентрации 1 и 2 г/кг, а также положительное влияние на гемоцитопоз по показателям количества лимфоцитов и эритробластов в селезенке.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

4.1 Научно-хозяйственный опыт в ООО «Форелевый рай»

Проведенные в лабораториях исследования по опытному кормлению радужной форели позволили установить оптимальные концентрации компонентов кормовой добавки и предполагали дальнейшие научно-хозяйственные опыты в рыбоводных хозяйствах в 2020-2022 годах. Корма для опытного кормления изготавливались на базе кормоцеха ООО «Форелевый рай». Так как исследования проводились параллельно, то в 2020-2021 году проводилось экспериментальное промышленное кормление.

Состав разработанной комплексной кормовой добавки для радужной форели представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Компонентный состав разработанной комплексной кормовой добавки для радужной форели

Компонент	Концентрация
Пробиотический препарат	
Bacillus subtilis, КОЕ/кг	12×10^7
Bacillus amyloliquefaciens, КОЕ/кг	10×10^9
Хелатные соединения микроэлементов	
Fe ЭДДЯ мг/кг	10
Mn ЭДДЯ мг/кг	30
Cu ЭДДЯ мг/кг	1
Zn ЭДДЯ мг/кг	10
Co ЭДДЯ мг/кг	0,1
Se мг/кг	0,2
I мг/кг	0,9

Апробация кормовой добавки в бассейновом хозяйстве позволила установить существенное увеличение скорости роста радужной форели при применении опытного корма (табл. 16).

Таблица 16 – Рыбоводно-биологические показатели выращиваемой форели при апробации комплексной кормовой добавки на форелевом хозяйстве ООО «Форелевый рай» (Белгородская область, 2020 г) (60 суток).

Показатель	Группа		Изменение	
	Контроль	Опытная группа	абс.	отн.
Средняя начальная масса, г	44,54±7,71	43,16±7,85	-1,38	96,90
Средняя конечная масса, г	119,86±29,19	147,04±27,37*	27,18	122,68
Начальная биомасса, г	13363,33±2300,93	12950±2341,9	-413,33	96,91
Конечная биомасса, г	34042,13±8244,28	42936,97±7948,25	8894,84	126,13
Выживаемость, %	0,95	0,97	0,03	-
Кормовой коэффициент, ед	1,35	0,90	-0,45	-
Коэффициент упитанности, ед	1,23	1,46	0,23	-
Абсолютный прирост, г	20678,80	29986,97	9308,17	-
Относительный прирост, %	87,24	107,31	20,07	-
Среднесуточный прирост (удельная скорость роста), %	1,45	1,78	0,33	-
* при $\alpha=0,99$, $f=178$, t -кр. - $2,6048 \leq t$ -рас. - $6,4429$				

Анализ полученных данных позволяет утверждать, что использование в рационе радужной форели комплексной кормовой добавки в комплексе с пробиотическим препаратом оказывает положительное влияние на рыбоводно-биологические показатели. Была зафиксирована большая выживаемость в опытной группе, которая составила 97% (в контроле 95%). Вероятно, большая выживаемость может быть объяснена стимуляцией иммунитета рыбы, за счет получения более полноценного рациона по составу микроэлементов. Так же, как было показано в ходе лабораторных испытаний, добавка, приводит к стимуляции неспецифического иммунного ответа.

В опытной группе наблюдалась достоверно большая средняя масса рыбы по окончанию эксперимента (табл. 16; $p < 0,05$). Итоговая масса в группе, получавшей

в составе корма комплексную кормовую добавку, составила $147,04 \pm 27,37$ г, что больше контрольных значений на 22,68% (рис. 23).

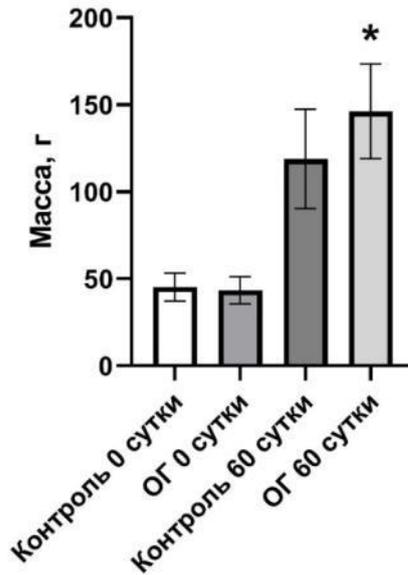


Рисунок 23 – Средняя масса радужной форели в начале и конце эксперимента на форелевом хозяйстве ООО «Форелевый рай»

Достоверные отличия также были зафиксированы по значению конечной биомассы, которая в опытной группе составила $14,2 \pm 0,46$ кг, превышая контрольные показатели на 26,13% (рис.24).

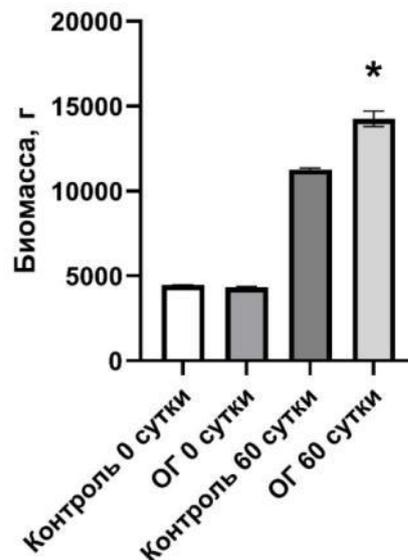


Рисунок 24 – Средняя биомасса радужной форели в начале и конце эксперимента на форелевом хозяйстве ООО «Форелевый рай», г

Показатель кормового коэффициента в опытной группе находился на уровне 0,9, что советует рыбоводным стандартам для радужной форели данной весовой группы. Отличия кормового коэффициента от контроля составило 30,7%. Существенных различий по показателю коэффициента упитанности установлено не было. Стоит отметить, что при анализе изменения длины рыбы, имеется соответствие длины опытной и контрольной группы рыб. Таким образом, подтверждаются данные об увеличении упитанности рыб на 0,23 ед.

Также отмечено увеличение показателей относительного и среднесуточного прироста. Среднесуточный прирост в группе, получавшей в составе корма комплексную кормовую добавку, составил 1,78%, при этом в контроле данное значение было на уровне 1,45%.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что во всех трех повторностях опытной группы наблюдается превышение массы опытных рыб над контрольной группой.

Полученные в ходе исследования рыбоводно-биологические характеристики радужной форели, получавшей в составе корма комплексную добавку, показывают значительно улучшение скорости роста и использования кормов. Значительный эффект от применения добавки наблюдается по показателю итоговой биомассы, который в опытной группе значительно превосходит контрольные значения. Помимо этого, важным является значимое снижение кормового коэффициента до 0,9 ед., которые отражает увеличение эффективности потребления кормов.

После окончания опыта также оценивалось состояние внутренних органов и качество мяса экспериментальных особей радужной форели. Качества товарной рыбы было высоким, рыба не имела внешних повреждений (разрывов плавников, изменений в окраске, помутнений роговицы), что говорит о хороших условиях содержания и качестве воды и кормосмеси. В результате исследований структуры мяса было установлено, что плотность мышечной ткани у контрольной и опытной рыбы была достаточно высокой, плотно прилегала к костям и имела розовую окраску, характерную для радужной форели. При этом, выявлено, что в опытной группе, визуально, окрашивание было более ярким (рис. 25).



Рисунок 25 - Состояние мышечной ткани радужной форели двух опытных групп на 60 сутки эксперимента в контрольной (а) и опытной группе (б)

Проведенные в 2020-2021 году исследования на форелевом хозяйстве ООО «Форелевый рай» и лабораторные исследования выявили положительное влияние разработанной кормовой добавки. Зафиксировано достоверное увеличение рыбоводно-биологических показателей, а также показано улучшение качественных характеристик мяса.

4.2 Научно-хозяйственный опыт в СССПОК «Белфорель»

Предварительно проведенный научно-хозяйственный опыт на ООО «Форелевый рай» в 2020-2021 году потребовал проведения второго научно-хозяйственного опыта в условиях индустриального выращивания на установках замкнутого водоснабжения, за счет возможного негативного эффекта от микроэлементов при рециркуляции воды.

Рыбоводно-биологические показатели апробации комплексной кормовой добавки на форелевом хозяйстве СССПОК «Белфорель» (Белгородская область) представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Рыбоводно-биологические показатели выращиваемой форели при апробации комплексной кормовой добавки на форелевом хозяйстве СССПОК «Белфорель» (Белгородская область)

Показатель	Группа		Изменение	
	Контроль	Опытная группа	абс.	отн.
Средняя начальная масса, г	120,75±29,04	117,43±21,71	-3,32	97,25
Средняя конечная масса, г	282,85±63,37	300,04±45,12*	17,19	106,08
Начальная биомасса, г	54339±12999,32	52845±9718,34	-1494,00	97,25
Конечная биомасса, г	121345,03±27034,68	132019,55±19746,35	10674,52	108,80
Выживаемость, %	95,33	97,78	2,44	-
Кормовой коэффициент, ед	1,45	1,20	-0,25	-
Коэффициент упитанности, ед	1,49	1,51	0,02	-
Абсолютный прирост, г	67006,03	79174,55	12168,52	-
Относительный прирост, %	76,28	85,65	9,37	-
Среднесуточный прирост (удельная скорость роста), %	1,27	1,42	0,15	-
* при $\alpha=0,95$, $f=178$, $t\text{-кр.} - 1,9739 \leq t\text{-рас.} - 2,096$				

Внесение разработанной добавки в производственные корма также позволило повысить выживаемость на 2,45% и относительный прирост биомассы на 9,37%.

Размерно-весовые характеристики рыбы представлены на рисунках 26 и 27.

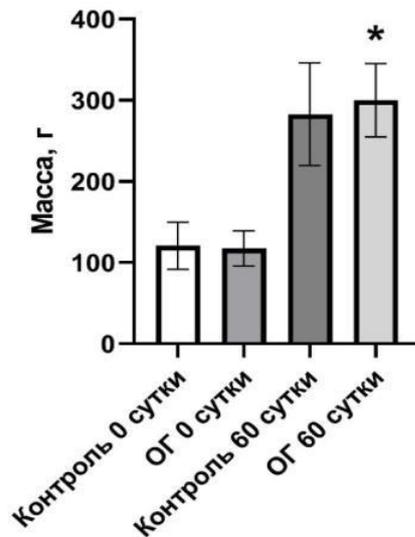


Рисунок 26 – Средняя масса радужной форели в начале и конце эксперимента на форелевом хозяйстве СССПОК «Белфорель». ОГ – опытная группа

Было установлено достоверное отличие по средней массе по окончанию эксперимента (табл. 17; $p < 0,05$), которая в опытной группе составила $300,04 \pm 45,12$ превышая контрольные значение на 6,08%. Также было зафиксировано снижение кормового коэффициента при применении разработанной кормовой добавки на 0,25 единиц.

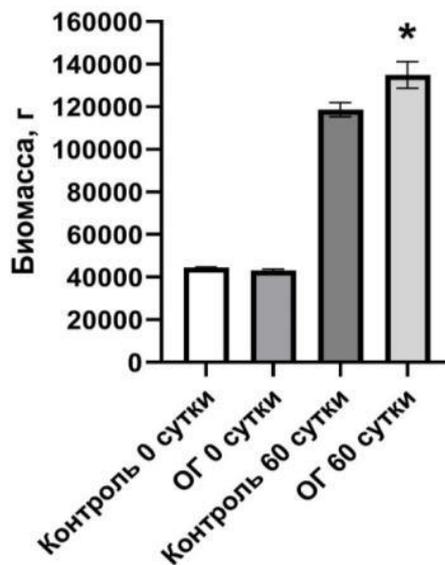


Рисунок 27 – Средняя биомасса радужной форели в начале и конце эксперимента на форелевом хозяйстве СССПОК «Белфорель». ОГ – опытная группа

Согласно полученным данным, представленным на рисунке 27, конечная биомасса в опытной группе достоверно превышала контрольные значения (рис. Т; $p < 0,05$). Абсолютный прирост биомассы в группе с внесением в корма разработанной добавки составил 79,17 кг, превосходя контрольные показатели на 12,16 кг. Различия между рецептурами кормов также наблюдались по показателям относительного и абсолютного прироста массы рыбы (табл. 17). Итоговое значение среднесуточного прироста в опытной группе составило 1,48%, при этом в контроле оно составило 1,27%.

Таким образом было установлено, что применение комплексной кормовой добавки способствовало увеличению рыбоводно-биологических показателей радужной форели в условиях форелевого хозяйства СССПОК «Белфорель». Наибольший эффект от применения добавки был выражен в увеличении биомассы и выходе товарной продукции. Помимо этого, было продемонстрировано снижение кормового коэффициента, что позволяет снизить стоимость выращивания рыбы. Экономический эффект от применения разработанной кормовой добавки рассмотрен в пункте 4.3.

Увеличение скорости роста рыбы, наблюдаемое в опыте, может приводить к сокращению срока выращивания и экономии ресурсов. Дальнейшее увеличение выхода продукции будет требовать значительного пересмотра технологии выращивания за счет увеличения использования водных ресурсов и расширения материальной базы хозяйства.

При предварительном клиническом осмотре сеголеток радужной форели из бассейнов, полученной из американской икры выявлено, что кожные покровы без повреждений, изменения цвета кожи не отмечено. У 30% обследованных рыб выявлено недоразвитие жаберных крышек (рис. 28), у отдельных рыб отмечался незначительный некроз спинного плавника, слизеотделение кожи и жабр в пределах нормы. Других клинических изменений у обследованной рыбы не выявлено.



Рисунок 28 – Недоразвитие жаберных крышек радужной форели, некроз спинного плавника

При клиническом осмотре у 2-х рыб, из 6 обследованных выявлено, что концы жаберных лепестков частично некротизированы, цвет жабр в пределах нормы (рис. 28), у 1-й рыбы отмечено кровоизлияние в жировой плавник.

При патологоанатомическом вскрытии рыб из выявлено, что внутренние органы без видимых патологоанатомических изменений (рис. 29-30).

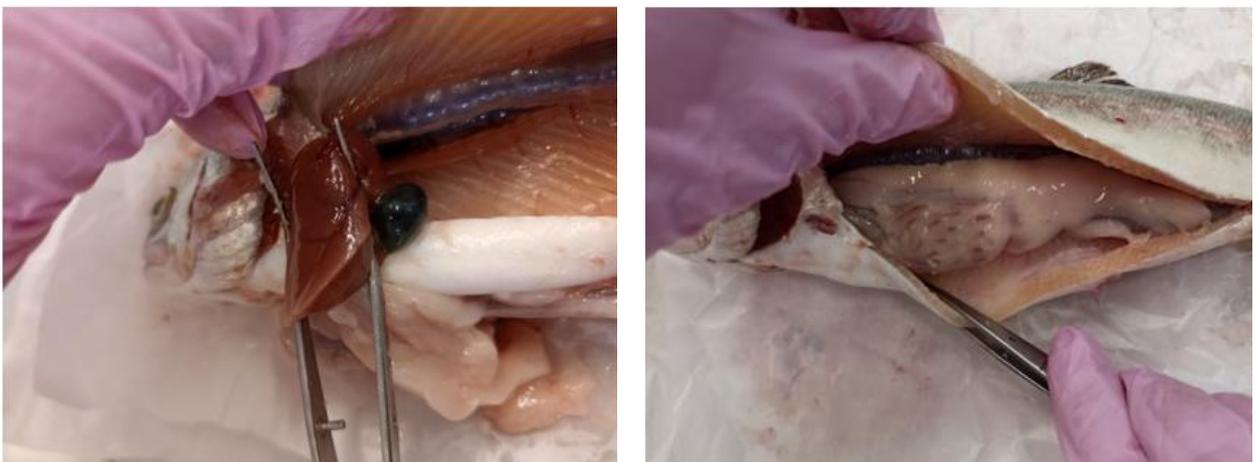


Рисунок 29 – Проведение патологоанатомического вскрытия рыбы



Рисунок 30 – Проведение патологоанатомического вскрытия рыбы

Бактериологическая экспертиза проб внутренних органов рыб проводилась в специализированной микробиологической лаборатории центра «Аквакультуры» факультета «Биотехнологий и рыбного хозяйства».

Для бактериологической оценки были отобраны пробы патологического материала из внутренних органов (печень, почки) рыб.

Посев отобранного материала от рыб производился на сердечно-мозговой агар, среду Эндо и йерсениозную среду (рис. 31, табл. 18).



А.



Б.

Рисунок 31 – Посев проб из патологического материала от рыб на плотные питательные среды: А – среда Эндо (для выявления бактерий кишечной группы; Б – сердечно-мозговой агар (для выявления широкого спектра бактерий)

В посевах внутренних органов рыб, единичный рост бактериальной флоры отмечался у 8 рыб (38%). У остальных рыб рост бактериальной флоры не отмечался. В результате бактериологических исследований выявлены следующие бактерии: неферментирующие щелочеобразующие бактерии (НФЩ) *Acinetobacter sp.* - 5 культур, 6 культур *E. coli*, в том числе с бронзовым блеском, затем 4 культуры рода *Aeromonas*, 2 культуры *C. freundii* и 2 культуры *Proteus mirabilis*.

У всех контаминированных рыб отмечался единичный рост различных бактерий: неферментирующих щелочеобразователей (НФЩ) *Acinetobacter sp.*, бактерий группы кишечной палочки (БГКП), в том числе *Escherichia coli* с бронзовым блеском, протей. Преобладание кишечных бактерий, протей и неферментирующих щелочеобразователей свидетельствует о высоком органическом загрязнении воды и может способствовать ухудшению эпизоотической ситуации выращиваемой форели.

Таблица 18 – Микробиоценоз рыб форелевого хозяйства СССПОК «Белфорель»

Внутренние органы, № пробы	Сердечн-мозговой агар	Среда Эндо	Йерсиниозная среда	Микробиоценоз
Проба №1 - печень	ед./р	-	-	<i>Acinetobacter sp.</i> (НФЩ), БГКП
Проба №1 - почки	ед./р	-	-	<i>Acinetobacter sp.</i> (НФЩ)
Проба №5 - печень	ед./р	ед./р	-	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>A.sp.6</i> , БГКП, <i>E. coli</i> , в том числе с бр.блеском
Проба №5 - почки	ед./р	ед./р	-	<i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> , в том числе с бр.блеском <i>Acinetobacter sp.</i> (НФЩ)
Проба №10 - печень	ед./р	ед./р	-	<i>Proteus mirabilis</i>
Проба №10 - почки	ед./р	ед./р	-	<i>Proteus mirabilis</i>
Проба №11 - печень	ед./р	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
Проба №16 - печень	-	ед./р	-	<i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> в том числе с бр.блеском
Проба №16 - почки	ед./р	ед./р	-	<i>E. coli</i> в том числе с бр.блеском

Примечание:

БГКП – бактерии группы кишечной палочки;

НФЩ - неферментирующие щелочеобразующие бактерии;

ед./р – единичный рост; ум./р – умеренный рост; об./р – обильный рост.

Одновременно с указанными бактериями отмечался также единичный рост эпизоотически - значимых бактерий: р. *Aeromonas* и *Citrobacter freundii* (табл. 18), но они обнаружены в незначительном количестве, вместе с другими группами бактерий, не являются доминирующими бактериями в микробном пейзаже рыбы и этиологической роли в развитии бактериальных болезней на данный момент не имеют.

Микроскопические и паразитологические исследования. У всех исследуемых рыб были взяты соскобы слизи с поверхности тела, плавников и жабр (рис. 32). Полученные препараты просмотрены под микроскопом при разном увеличении - $\times 4$, $\times 10$ и $\times 40$.

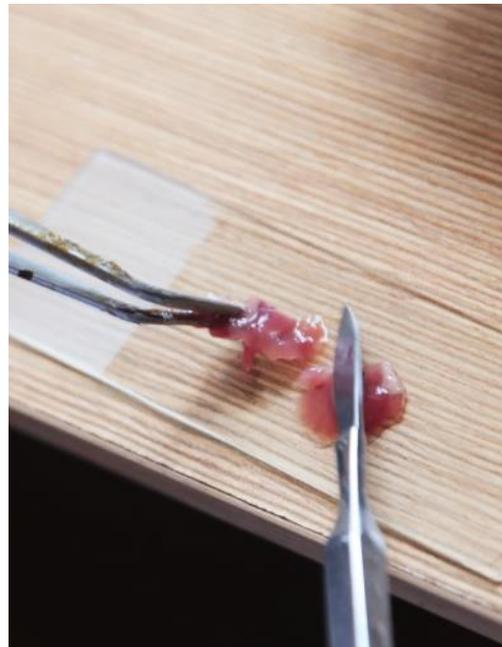


Рисунок 32 – Взятие соскоба слизи с поверхности жабр

При просмотре препаратов с кожи и жабр у сеголеток стальноголового лосося в единичном количестве выявлены эктопаразиты – ресничные инфузории р. *Chilodonella* и жгутиконосцы *Ichthyobodo* (*Costia*) *necatrix*. Указанные паразиты на рыбе выявлены в виде носительства и этиологической роли в момент исследования не играют.

При микроскопии соскобов с жабр, кожи и плавников сеголеток стальноголового лосося, 31.03.2022 г. и у других исследованных рыб отмечено наличие большого количества органических взвесей, что свидетельствовало о загрязнении водной среды органическими веществами.

Проведённый анализ эпизоотологических, клинических, патологоанатомических, микробиологических и паразитологических исследований не выявил опасных возбудителей для культивируемой форели.

Несмотря на то, что на обоих хозяйствах был продемонстрирован значительный эффект по рыбоводно-биологическим показателям от применения разработанной комплексной кормовой добавки, в условиях хозяйства ООО «Форелевый рай» были получены более лучшие показатели роста рыбы. Основной причиной различий является то, что в опытных группах исследовалось влияние комплексной кормовой добавки различного весового и возрастного состава. Особи меньшей весовой группы за счет ускоренного метаболизма интенсивнее реагировали на изменения потребляемого рациона. Также следует учесть различия в технологических процессах двух предприятий, так одно из них каскадного типа (ООО «Форелевый рай»), а второе представляет собой классическое УЗВ (СССПОК «Белфорель»), где водообмен значительно меньше.

4.3 Оценка экономической эффективности при введении в рацион разработанной добавки

Для оценки экономической эффективности использования разработанной кормовой добавки в составе продукционных кормов для форели был произведен дополнительный анализ на стадии научно-хозяйственных опытов.

Себестоимость молоди *Oncorhynchus mykiss* на хозяйстве ООО «Форелевый рай» (масса 44 ± 8 г, размер $14,5 \pm 1,5$ см), которая принимала участие в эксперименте, была оценена 1300 рублей за 1 килограмм рыбопосадочного материала представленной навески с учетом ретроспективного (оценочного) анализа. Итоговые суммы себестоимости рыбопосадочного материала рассчитаны

следующим образом:

$$\text{Себестоимость посадочного материала} = \text{масса в начале опыта} \times 1,3 \quad (8)$$

В соответствии с рыночной конъюнктурой и отсутствием импорта на территории Белгородской области, закупочная стоимость отечественных кормов для форели составляет 180 рублей за кг. Следовательно, стоимость комбикорма представлена произведением количества корма и 0,18.

Стоимость пробиотического препарата *Bacillus subtilis* (OZ-2 ВКМП -11966) + *Bacillus amyloliquefaciens* (OZ-3 ВКМП-11967) производства ООО «Арлен» (на май 2023 г.) составляет около 1,3 тыс. рублей за 1 кг.

Хелатные соединения микроэлементов (производства ООО «Юпитер») согласно разработанной рецептуре имеют закупочную стоимость 3,5 тыс. рублей за 1 л.

Дозировка внесения пробиотического препарата и хелатных соединения микроэлементов составляет 0,1%.

Таким образом, стоимость разработанной добавки представлена следующим расчетом:

$$(1,3 \times 1/100 + 3,5 \times 1/100) \times 27,2 = 1,31 \text{ тыс. руб.} \quad (9)$$

Проведенный анализ рынка продовольственных ретейлеров (Х5ритейл, Лента) позволили определить среднюю стоимость реализации в размере 900 рублей за килограмм живой рыбы.

В связи с тем, что рыба опытной группы более интенсивно росла в сравнении с рыбой контрольной группы, то результаты первого научно-хозяйственного опыта (на базе ООО «Форелевый рай») показали абсолютный прирост живой массы в 29,99 кг в сравнении с контрольной группой – 20,68 кг. Расчет экономической эффективности представлен в таблице 19.

Таблица 19 – Экономическая эффективность выращивания радужной форели

в ООО «Форелевый рай»

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Масса в начале опыта, кг	13,36	12,95
Масса в конце опыта, кг	34,04	42,94
Прирост, кг	20,68	29,99
Стоимость посадочного материала, тыс. руб.	17,37	16,84
Затраты кормов на 1 кг прироста, кг	1,36	0,91
Количество корма, кг.	28,06	27,20
Стоимость комбикорма, тыс. руб.	5,05	4,90
Стоимость добавки, тыс. руб.		1,31
Выручка от реализации рыбы, тыс. руб.	30,64	38,64
Себестоимость рыбы, тыс. руб.	22,42	23,04
Прибыль от реализации рыбы, тыс. руб.	8,21	15,60
Дополнительно полученная прибыль от реализации, тыс. руб.		7,39
Рентабельность, %	26,81	40,38

Использование добавки не оказало существенного влияния на затраты по кормлению и позволило повысить рентабельность выращивания рыбы на 13,57%, без учета фонда оплаты труда.

Результаты второго научно-хозяйственного опыта на базе СССПОК «Белфорель» также показали превышение абсолютного прироста живой массы на 12,17 кг в сравнении с контрольной группой.

Расчет экономической эффективности представлен в таблице 20. Показатели себестоимости для СССПОК «Белфорель» рассчитаны аналогично согласно формулам 8,9.

Таблица 20 – Экономическая эффективность выращивания радужной форели в СССПОК «Белфорель»

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Масса в начале опыта, кг	54,34	52,85
Масса в конце опыта, кг	121,35	132,02
Прирост, кг	67,01	79,17
Стоимость посадочного материала, тыс. руб.	70,64	68,70
Затраты кормов на 1 кг прироста, кг	1,46	1,20
Количество корма, кг.	97,81	95,12
Стоимость комбикорма, тыс. руб.	17,61	17,12
Стоимость добавки, тыс. руб.		4,57
Выручка от реализации рыбы, тыс. руб.	109,21	118,82
Себестоимость рыбы, тыс. руб.	88,25	90,39
Прибыль от реализации рыбы, тыс. руб.	20,96	28,43
Дополнительно полученная прибыль от реализации, тыс. руб.		7,47
Рентабельность, %	19,20	23,93

Использование добавки во втором опыте также не оказало существенного влияния на затраты по кормлению и позволило повысить рентабельность выращивания рыбы на 4,73%, без учета фонда оплаты труда. Более низкий уровень рентабельности обусловлен увеличением стоимости рыбопосадочного материала в 2022 году.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ОБОГАЩЕННОЙ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

4.1 Оценка качества разработанных продуктов по основным показателям качества рыбной продукции

После окончания опытного кормления проводилась органолептические оценка рыбной продукции непосредственно после вылова, а также органолептическое исследование мяса рыбного сырья и бульона.

По органолептическим показателям живые особи опытных образцов радужной форели соответствовали требованиям, указанным в ГОСТ 24896-2013 «Рыба живая. Технические условия» (табл. 21).

Таблица 21 – Органолептические показатели живой рыбы опытных групп

Наименование показателя	Характеристика в соответствии с ГОСТ 24896-2013 «Рыба живая. Технические условия»	Опытный образец ООО «Форелевый рай»	Опытный образец СССПОК «Белфорель»
Состояние рыбы	Проявляет признаки жизнедеятельности, с естественными движениями тела, челюстей, жаберных крышек, плавает в воде	соответствует	соответствует
Внешний вид	Поверхность чистая, естественной окраски, присущей данному виду рыбы, с тонким слоем слизи; признаки заболеваний отсутствуют. Может быть незначительное покраснение поверхности тела	соответствует	соответствует
Наружные повреждения	Механические повреждения отсутствуют.	соответствует	соответствует
Цвет жабр	Красный	соответствует	соответствует
Состояние глаз	Светлые, прозрачные, без повреждений	соответствует	соответствует
Запах	Свойственный живой радужной форели, без посторонних запахов.	соответствует	соответствует

В ходе опроса испытателей было установлено, что особи радужной форели из всех исследуемых групп обладали нормальным внешним видом, без признаков повреждений (трещин, надрывов), мясо имело равномерную окраску и в нем не встречались включения (табл. 21). Испытатели отмечали наличие более равномерной окраски у рыб из опытных групп. Так подавляющее большинство опрошенных определило цвет мяса рыб из хозяйства СССПОК «Белфорель», как более характерный для лососевых видов рыб. Также у особей, получавших в составе корма экспериментальную добавку отмечалось меньшее количество жировых включений.

Испытатели выявили различия по показателям вкуса и цвета рыбы опытных групп, которые соответствовали рыбной продукции без посторонних примесей.

Органолептические показатели являются важным этапом оценки качества товарной рыбы и позволяют определять пригодность и привлекательность готовой рыбопродукции. Мясо рыбного сырья опытных рыб после термической обработки отличалось светло-розовой окраской, естественным рыбным запахом, без посторонних привкусов. Всеми испытателями отмечена хорошая текстура мышечной ткани без значительных жировых включений и соединительной ткани. Высокая итоговая оценка качества мяса контрольной группы рыб была получена в результате использования качественных кормов за все время проведения эксперимента и стабильных показателей гидрохимического режима, которые также влияют на качество готовой рыбной продукции.

Установлено, что органолептические показатели живой рыбы и всех образцов рыбного мяса находятся в пределах нормы и соответствуют требованиям ГОСТ 7631-2008 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей» (табл. 21, 22).

Таблица 22 – Оценка органолептических показателей мяса рыбного сырья без термической обработки.

Показатель	Контрольный образец	Опытный образец ООО «Форелевый рай»	Опытный образец СССПОК «Белфорель»
Внешний вид	Слабо-розовое равномерно окрашенное, без костей и включений соединительной ткани, без трещин и надрывов	Розовое равномерно окрашенное, без костей и включений соединительной ткани, без трещин и надрывов	Характерного лососевого цвета, равномерно окрашенное, без костей и включений соединительной ткани, без трещин и надрывов
Консистенция	Упругая, возвращает изначальную форму при надавливании	Упругая, возвращает изначальную форму при надавливаниях, без жировых включений	Упругая, возвращает изначальную форму при надавливаниях, без жировых включений
Запах	Характерный рыбный запах, без постороннего запаха	Характерный рыбный запах, без постороннего запаха	Характерный рыбный запах, без постороннего запаха
Вкус	Характерный рыбный вкус, без постороннего привкуса	Характерный вкус запах, без постороннего привкуса	Характерный рыбный вкус, без постороннего привкуса

Результаты органолептической оценки мяса и бульона опытных и контрольных рыб представлены на профилограмме органолептических показателей качества (рис. 33). Испытатели отмечали улучшение вкуса, запах и консистенции рыбного мяса после термической обработки опытных групп. Также было установлено незначительное улучшение органолептических показателей бульона из опытных особей радужной форели. Органолептическая оценка бульона рыб производилась параллельно с оценкой качества мяса. В опытной группе бульон имел характерный рыбный вкус без привкусов комбикормов, высокую прозрачность с минимальными жировыми вкраплениями.

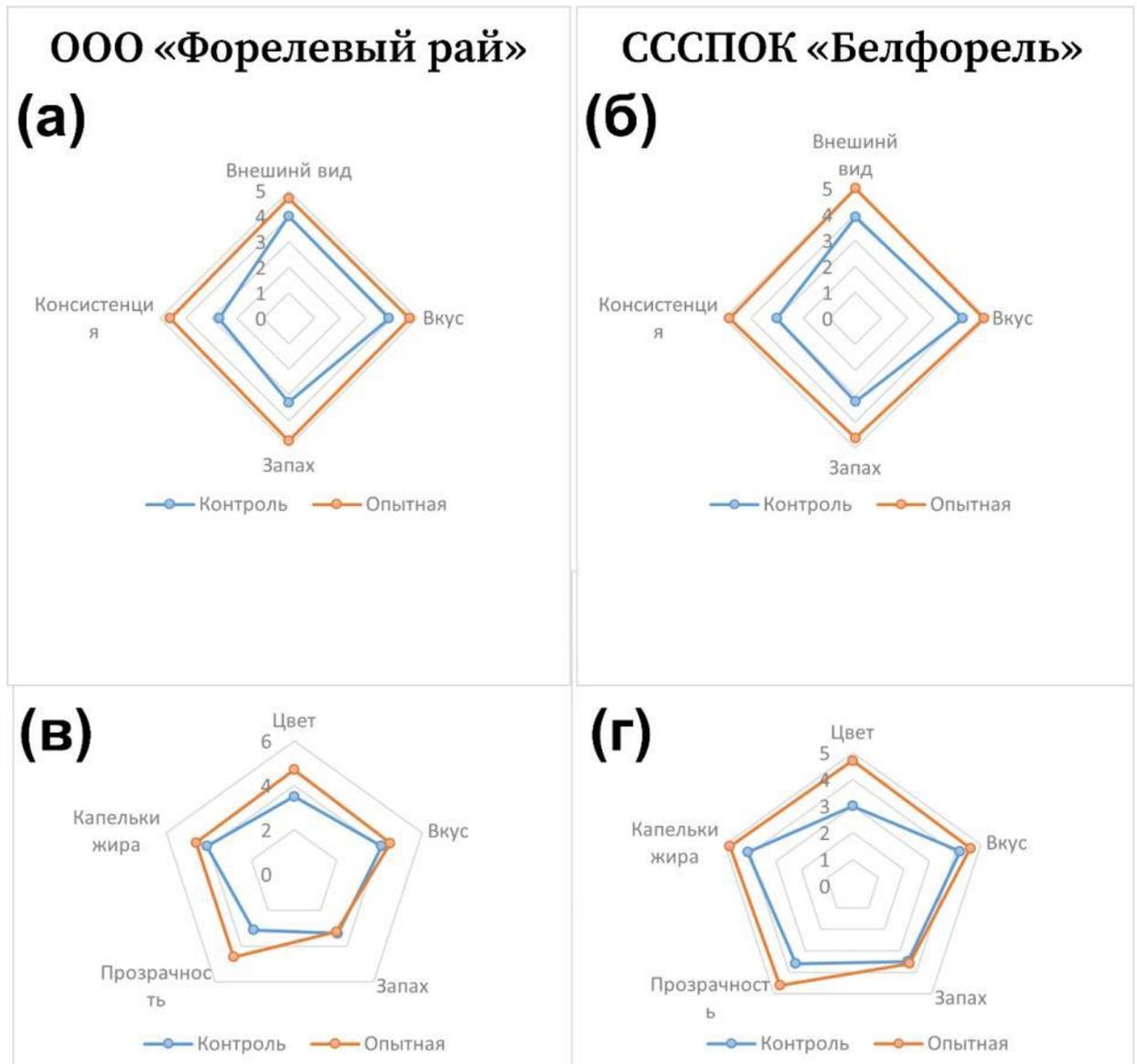


Рисунок 33 – Результаты оценки органолептических показателей мяса и бульона радужной форели при использовании исследуемой кормовой добавки

Таким образом, проведенные органолептические исследования свежей рыбной продукции, а также мяса рыбного сырья после термической обработки (мясо, бульон), показали улучшение ряда показателей у продукции, полученной от опытной рыбы.

4.2 Сравнительная характеристика пищевой ценности обогащённого микроэлементами мяса рыбного сырья

При изучении пищевой ценности состава радужной форели существенных отличий от контрольных образцов установлено не было. Среднее относительное содержание белков в опытных образцах рыбы в 100 г продукции составляло 18,6% (табл. 23).

Таблица 23 – Пищевая и энергетическая ценность образцов мяса рыбного сырья из различных экспериментальных групп

Химический состав, г/100 г	Контрольный образец	Опытная рыба из ООО «Форелевый рай»	Опытная рыба из СССПОК «Белфорель»
Белки	18,9±0,51	18,6±1	18,63±0,55
Жир	4,73±0,32	4,63±0,15	4,96±0,32
Вода	74,94±0,22	75,15±0,96	74,93±0,81
Углеводы	1,42±0,19	1,61±0,1	1,46±0,15
Энергетическая ценность ккал/100 г	123,52±1,69	122,15±4,3	124,73±4,51
Энергетическая ценность кДж/100 г	516,33±7,1	510,58±17,99	521,38±18,88

Количество жиров и углеводов в опытных группах также значительно не отличалось от контроля. У опытных особей радужной форели из хозяйства ООО «Форелевый рай» процентное содержание жиров было несущественно ниже, чем в контроле и опытной группе из хозяйства СССПОК «Белфорель» и составляло 4,63±0,15% (рис. 34).

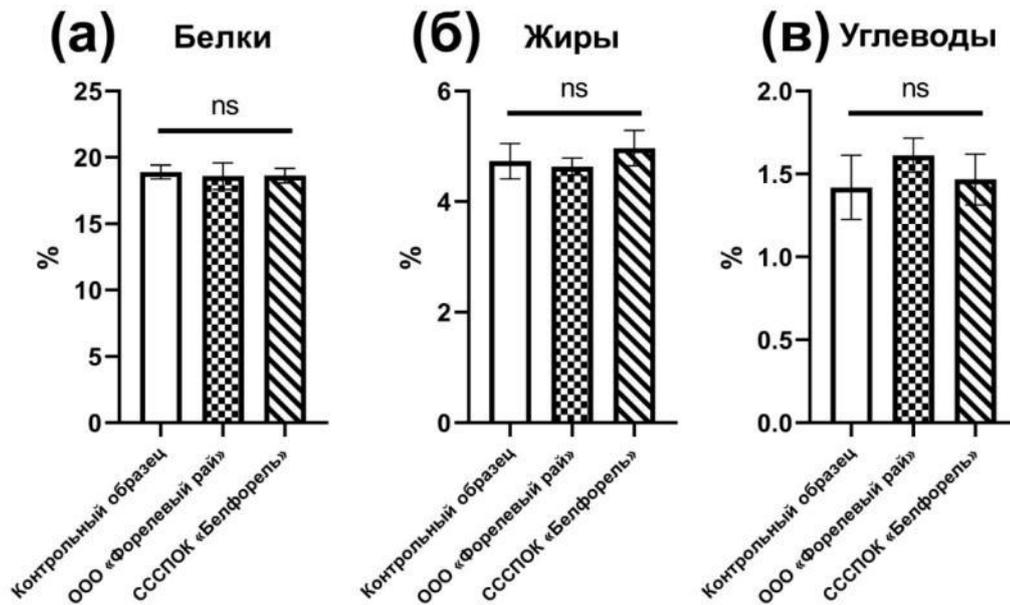


Рисунок 34 – Пищевая ценность образцов мяса рыбного сырья из различных экспериментальных групп, %

Это может быть связано с тем, что в данном рыбноводном хозяйстве итоговая средняя масса рыбы составила $147,04 \pm 27,37$ г, при которой характерно использование жиров и углеводов на пластический обмен.

Расчет энергетической ценности подтвердил отсутствие различий между опытными и контрольным особями (рис. 35).

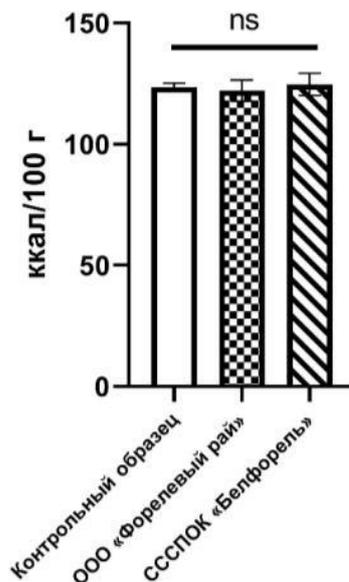


Рисунок 35 – Сравнение энергетической ценности мяса рыбного сырья из различных экспериментальных групп, ккал/100г

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что использование в кормлении комплексной кормовой добавки не оказывает влияния на пищевую и энергетическую ценность обогащённого мяса рыбного сырья.

4.3 Сравнительная характеристика минеральной ценности мяса рыбного сырья

Изучение содержания отдельных микроэлементов в мясе рыбного сырья из разных хозяйств позволило установить наличие существенных отличий между опытными и экспериментальными особями. Характеристика минерального состава образцов мяса представлена в таблице 24. Среди исследуемых микроэлементов наибольшее содержание было установлено для цинка и железа, количество которых в контроле составило $7,1 \pm 0,88$ и $9,16 \pm 1,25$ мг. Полученные результаты сходятся с данными, представленными в других исследованиях ранее (Степанцова и др., 2018).

Таблица 24 – Содержание минеральных веществ в мясе рыбного сырья контрольной и опытных групп из разных хозяйств.

Показатели	Контрольный образец	Опытная рыба из ООО «Форелевый рай»	Опытная рыба из СССПОК «Белфорель»
Железо, мг/кг	$7,1 \pm 0,88$	$11,33 \pm 0,85$	$9,83 \pm 0,45$
Марганец, мг/кг	$1,71 \pm 0,08$	$1,39 \pm 0,14$	$1,29 \pm 0,32$
Медь, мг/кг	$0,37 \pm 0,31$	$0,61 \pm 0,07$	$0,52 \pm 0$
Цинк, мг/кг	$9,16 \pm 1,25$	$14,66 \pm 0,57$	$15 \pm 1,10$
Кобальт, мг/кг	$0,01 \pm 0$	$0,02 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0$

Содержание других исследуемых микроэлементов в мясе контрольных особей наделось в пределах $0,01$ и $1,71$ мг/кг, что также сходится с результатами, полученным ранее.

Оценка микроэлементного состава мяса рыбного сырья опытных особей радужной форели, получавшей в составе корма комплексную добавку, позволила установить наличие достоверных отличий по содержанию: железа, цинка и меди

(рис. 36; $p < 0,05$).

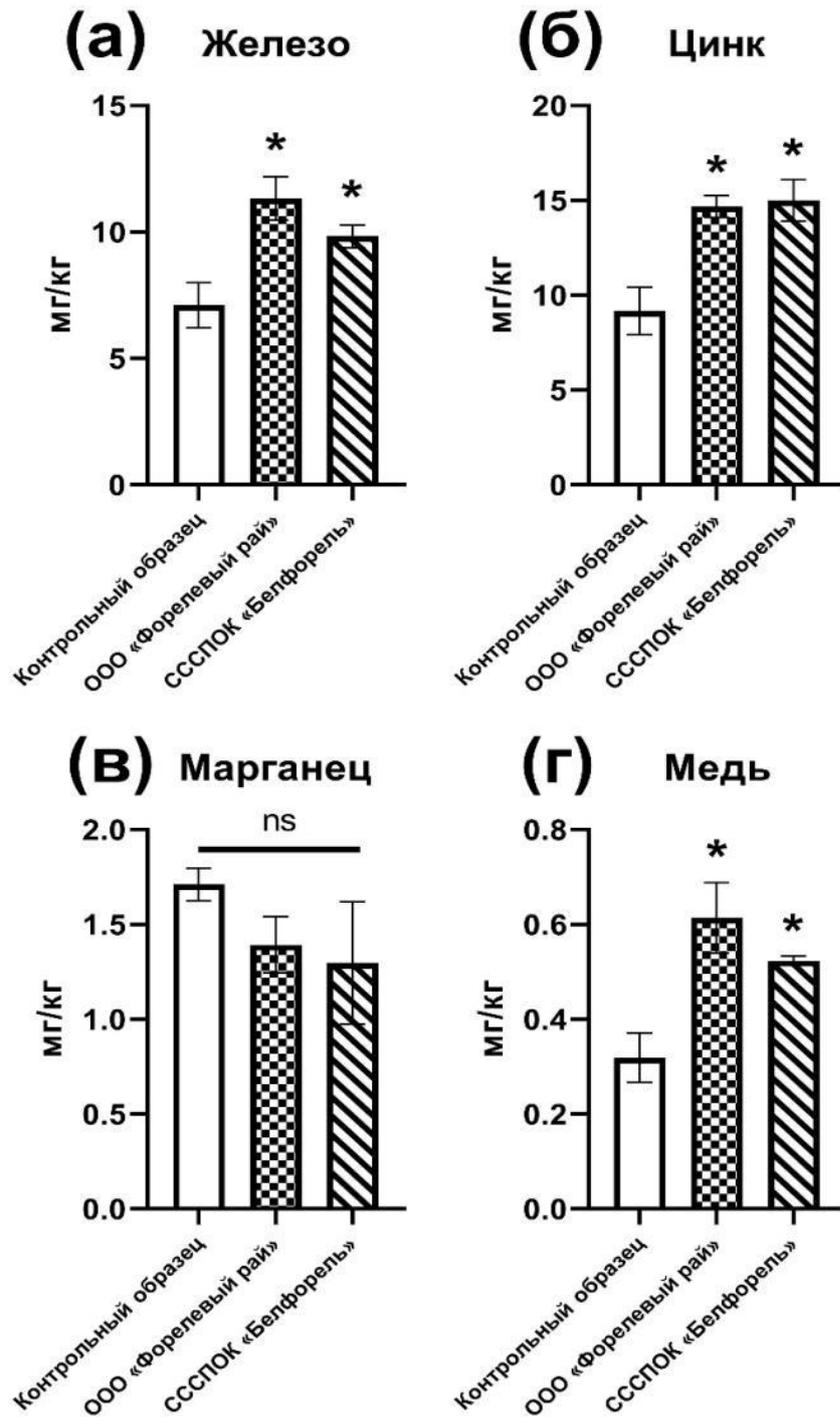


Рисунок 36 – Сравнение содержания минеральных веществ в мясе рыбного сырья контрольной и опытных групп из разных хозяйств

Так содержание железа в мясе рыбного сырья из опытных групп составляло $11,33 \pm 0,85$ и $9,83 \pm 0,45$ мг/кг, что достоверно превосходит контрольные значения

на 59,5 и 38,4%. Содержание цинка также существенно увеличилось в опытных группах, достигая максимума в мясе из хозяйства СССПОК «Белфорель» ($15 \pm 1,1$ мг/кг). Помимо этого, было установлено увеличение относительного содержания данных элементов.

Существенное увеличение содержание меди в обеих опытных группах (ООО «Форелевый рай» и СССПОК «Белфорель») составило 56,7 и 43,2% относительно контрольной группы рыб. Стоит отметить незначительное снижение содержания марганца у опытных групп рыб, которое, вероятно, связано с увеличением метаболизма данного микроэлемента рыбой.

Из представленных на рисунке 36 данных видно, что степень накопления микроэлементов в опытной группе из хозяйства ООО «Форелевый рай» несущественно выше, чем в опытной группе из хозяйства СССПОК «Белфорель». Данное явление связано с более интенсивным ростом рыбы и процессом анаболизма, что могло повлиять на степень биоаккумуляции минеральных веществ. Данное явление наиболее четко заметно по содержанию железа и марганца.

Таким образом, можно заключить, что внесение разработанной добавки оказывает влияние на изменение минерального состава мяса опытных образцов рыбы, приводя к достоверному увеличению железа, цинка и меди и не оказывая существенного влияния на накопление других исследуемых микроэлементов.

На основании содержания микронутриентов в образцах мяса и МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ» были определены проценты удовлетворения рекомендуемой суточной потребности в минеральных веществах при употреблении 100 г мяса рыбного сырья (табл. 25).

Таблица 25 – Процент удовлетворения суточной потребности в минеральных веществах при употреблении 100 г продукта (мяса рыбного сырья)

Показатели	Суточная потребность по МР 2.3.1.0253-21	% удовлетворения суточной потребности		
		Контрольный образец	Опытная рыба из ООО «Форелевый рай»	Опытная рыба из СССПОК «Белфорель»
Железо, мг*	10/18	7,1/3,94	11,33/6,29	9,83/5,46
Марганец, мг	2,00	8,55	6,97	6,48
Медь, мг	1,00	3,19	6,14	5,24
Цинк, мг	12,00	7,64	12,22	12,50
Кобальт, мг	0,01	13,33	20,00	16,67

* для мужчин/для женщин

Установлено, что при употреблении 100 г обогащенного мяса рыбного сырья суточная потребность в железе покрывается от 6,29 и 5,46% (для женщин) до 11,33 и 9,83% (для мужчин). Содержание цинка в опытном рыбном мясе позволяет удовлетворить потребность в данном элементе на 12,22 и 12,50%, что превосходит значения контрольного образца (7,64%). Потребность в меди для взрослого человека составляет 1 мг/сутки и при потреблении полученной в исследовании обогащенной рыбной продукции может быть удовлетворена на 6,14%, что существенно превышает контрольные показатели (3,19%). Существенной разницы по удовлетворению потребности в других минералах между контрольным и опытным мясом рыбного сырья не установлено.

Полученные в ходе исследования данные о накоплении некоторых минеральных веществ в мясе рыбного сырья радужной форели, получавшей в составе корма разработанную комплексную кормовую добавку, позволяют заключить, что выращенная в хозяйствах опытная группа рыб является обогащенной по содержанию железа, цинка и меди.

Процентные показатели удовлетворения суточной потребности человека, в

соответствии с нормативной документацией, показывают, что при потреблении данной продукции может быть компенсирован недостаток микроэлементов у отдельных групп потребителей Белгородской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы доказана возможность прижизненного формирования обогащенного микроэлементами мяса радужной форели с улучшенными потребительскими свойствами. Для реализации этой задачи было необходимо существенно пересмотреть отдельные этапы биотехнологии выращивания форели в условиях Белгородской области, проведены рыбоводно-биологические исследования для оценки технологии содержания по следующими показателям: плотность и однородность мышечной ткани, органолептические свойства мяса и бульона, а также количественный анализ накопления полезных для здоровья микроэлементов, что дало возможность отнести ее к обогащенной продукции. По результатам проведенного опытного кормления на рыбоводных предприятиях, разработаны технологические рекомендации по прижизненному формированию обогащенной микроэлементами радужной форели.

Контроль за качеством выращивания рыбы производился в течение всего срока культивации и включал в себя широкий перечень оцениваемых показателей. В частности, из биологических функций объекта выращивания оценивалось: рыбоводно-биологические показатели, физиологические параметры выращивания рыбы, состояние ее органов и тканей. Это позволило разработать состав кормовой добавки в лабораторных условиях, установив необходимые дозировки внесения пробиотических штаммов и микроэлементов в хелатной форме.

После приготовления опытных партий кормов с учетом изменения технологии внесения пробиотического препарата, для сохранения жизнеспособности штаммов в течение всего срока хранения, корма передавались в рыбоводные хозяйства Белгородской области. В данных хозяйствах в рамках реализации проекта НОЦ мирового уровня «Инновационные решения в АПК» Белгородской области удалось экспериментально доказать, что разработанная кормовая добавка приводит к достоверному увеличению конечной массы на 26,13% в хозяйстве ООО «Форелевый рай» и на 9,37% в хозяйстве СССПОК «Белфорель».

Проведенный экономический анализ позволил определить стоимость разработанной добавки в размере 4,8 тыс. руб. Апробация разработанной добавки позволила установить наличие экономического эффекта. Так её использование позволит увеличить рентабельность рыбоводных предприятий по выращиванию радужной форели на 4,73-13,57 %.

Полученная товарная продукция оценивалась с точки зрения потребительских свойств и степени накопления микроэлементов для определения возможности отнесения, полученной рыбной продукции к обогащенным продуктам питания.

Характеристика пищевой и энергетической ценности обогащенной рыбы не выявила достоверных отличий от контрольных образцов.

Удалось доказать достоверное биоаккумуляции таких элементов как железо и цинк, не превышая рекомендуемую суточную потребность для человека. Количество других микроэлементов не снижалось, также соответствуя потребностям человека. Оценка органолептических показателей полученной продукции показала, что мяса рыб, получавших в составе корма разработанную кормовую добавку, имела более привлекательные вкусовые качества, внешний вид, а также запах и консистенцию. На улучшение части данных параметров повлияло изменения технологий кормления и состава кормов, за счет внесения дополнительных микроэлементов в хелатной форме. Улучшение иммунитета рыбы за счет использования мультикомпонентного пробиотического препарата снизило влияние биогенных факторов среды на рыбу и вероятно повлияло на органолептические показатели мяса.

Полученные в работе данные позволяют заключить, что использования разработанной кормовой добавки для радужной форели в условиях аквакультуры Белгородской области дает рыбоводно-биологический, экономический эффекты и позволяет улучшать потребительский свойства рыбной продукции, как по нутриентным и органолептическим показателям, так и по микроэлементному составу.

Подтверждением качеств полученной рыбной продукции является спрос на

полученную товарную форель со стороны рыбоперерабатывающих предприятий, для производства слабосоленого филе и копченой рыбопродукции.

ВЫВОДЫ

1. Анализ научно-технической информации позволил оптимизировать подходы по формированию состава комплексной добавки, способов контроля безопасности и технологии получения обогащенной микроэлементами рыбной продукции.

2. Установлены наиболее эффективные и безопасные концентрации пробиотиков и хелатных соединений микроэлементов (*Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens* в концентрации $12 \times 10^7 + 10 \times 10^9$ КОЕ/кг; хелатные соединения микроэлементов в концентрации 1 г/кг рыбного корма) в составе продукционных кормов для радужной форели

3. Анализ эффективности применения кормовой добавки по рыбоводно-биологическим показателям радужной форели при интенсивном выращивании в условиях аквакультуры Белгородской области показал увеличение конечной биомассы в хозяйстве ООО «Форелевый рай» на 22,68% в сравнении с контрольной группой; в хозяйстве СССПОК «Белфорель» - на 8,8%

4. Анализ экономической эффективности выращивания радужной форели при включении в состав основного корма разработанной кормовой добавки свидетельствует об экономической рациональности, подтвержденной расчетами основных технико-экономических показателей в условиях научно-хозяйственного опыта. Так использование кормовой добавки позволит увеличить рентабельность рыбоводных предприятий в части выращивания радужной форели на 4,73-13,57%.

5. Сравнение органолептических и физико-химических показателей обогащенной микроэлементами опытной группы рыбной продукции выявило улучшение показателей вкуса и цвета рыбы во всех опытных группах, которые соответствовали ГОСТ 24896-2013 «Рыба живая. Технические условия» и ГОСТ 7631-2008 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей».

6. Оценка потребительских свойств обогащённого мяса рыбного сырья выявила, что использование в кормлении комплексной кормовой добавки не

оказывает влияния на пищевую и энергетическую ценность. Анализ минеральной ценности обогащенной микроэлементами рыбной продукции достоверно подтвердил данные о накоплении в мясе рыб из опытных групп, в сравнении с контрольной группой, содержания железа (на 59,5 и 38,4%), цинка (на 60,0 и 63,7%) и меди (на 56,7 и 43,2%).

Рекомендации по практическому использованию результатов исследования

Для формирования обогащенной микроэлементами мяса рыбного сырья необходимо соблюдение следующих условий (рис. 37):

1. Вода, поступающая в выростные бассейны, должна соответствовать требованиям нормативной документации (ОСТ 15.372-87 Вода для рыбоводных хозяйств. Общие требования и нормы). Показатель растворенного кислорода не должен опускаться ниже 8 мг/л. Для поддержания постоянного уровня растворенного кислорода возможно использование кислородных концентраторов, оксигенаторов.

2. Соблюдение плотности посадки, соответствующей массы выращиваемой рыбы.

3. В случае отсутствия возможности включения добавки в рецептуру корма на моменте производства, допустимо включение добавки в составе биологических матриц, например с использованием альгината натрия и др. Для этого приготавливается суспензия из связующего субстрата, после чего в нее вносится требуемая концентрация кормовой добавки. Далее данная смесь наносится на корм методом опрыскивания с дальнейшей сушкой. Стоит заметить, что при использовании подобной методики сокращается срок хранения корма, что требует постоянного приготовления небольших партий.

4. Для финального этапа необходимо провести выборку здоровой рыбы, без видимых повреждений в соответствии с желаемыми размерно-весовыми характеристиками получаемой рыбной продукции.

5. Полный гидрохимический мониторинг осуществляется с периодичностью в 7 суток, частичный два раза в сутки (растворенный кислород, рН и температура).

6. По ходу выращивания, раз в 14 суток, производятся контрольные замеры размерно-весовых показателей рыбы, для определения скорости роста и нормы кормления.

7. При контрольных обловах, для части рыб, проводится ветеринарно-

санитарная экспертиза и контроль физиологических параметров.

8. Окончательным этапом является контроль органолептических показателей, нутриентного состава и микроэлементной композиции рыбной продукции. При соответствии выявленных характеристик нормативным документам (ГОСТ 24896-2013 «Рыба живая. Технические условия» и ГОСТ 7631-2008 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей») производится забой рыб для дальнейшей переработки или передачи в розничную сеть.



Рисунок 37 – Основные технологические этапы производства обогащенной рыбной продукции

Представленные технологические этапы оптимизированы под все формы индустриального рыбоводства на территории Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова Л.С. Поликомпонентные продукты питания на основе рыбного сырья. - М.: Изд-во ВНИРО, 2005.- 175 с.
2. Абрамова, Л.С. Роль аквакультуры в решении проблемы прижизненного формирования качества пищевых продуктов. (2007). [Электронный ресурс] – URL: <http://dspace.vniro.ru/xmlui/bitstream/handle/123456789/2697/Абрамова.pdf>
3. Абросимова, Н.А. Влияние микробного населения кишечника на биологическое и продуктивное действие стартового корма / Абросимова Н.А., Абросимова К.С. // Материалы докладов IV Международной научнопракт. Конф.: Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития.- Астрахань, 2006. - С.217-219.
4. Абросимова, Н.А. Кормовое сырье и добавки для объектов аквакультуры / Н.А. Абросимова, С.С. Абросимов, Е.Н. Саенко.- Ростов-на-Дону: Эверест, 2005.- 144 с.
5. Антипова, Л. В. Биотехнологический потенциал веслоноса в получении продуктов питания функционального назначения / Л. В. Антипова, А. Ю. Сетькова // Новое в технологии и технике функциональных продуктов питания на основе медико-биологических воззрений : Сборник научных статей и докладов X Международной научно-технической конференции, Воронеж, 01–02 июля 2022 года / Воронежский государственный университет инженерных технологий. – Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2022. – С. 325-329.
6. Антипова, Л. В. Применение веслоноса в технологиях новых отечественных рыбопродуктов / Л. В. Антипова // Материалы LX отчетной научной конференции преподавателей и научных сотрудников ВГУИТ за 2021 год : В 3 частях, Воронеж, 08–09 февраля 2022 года / под ред. О.С. Корнеевой; Воронеж. гос. ун-т инж. технол.. Том Часть 1. – Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2022. – С. 67.
7. Астренков А. В. и др. Влияние разнокачественных кормов на

биохимические показатели выращенной рыбы// Животноводство и ветеринарная медицина. – 2010. – №3. – С. 292-294.

8. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. М.: Наука, 1985. - 118 с.

9. Бычкова, Л.И. Пробиотический препарат «Суб-Про» (Субалин): профилактика и лечение бактериальных болезней рыб / Л. И. Бычкова, Л. Н. Юхименко, А. Г. Ходак // Рыбоводство. — 2007. — № 2. — С. 33–35.

10. Власов В.А, Ельшов А.В., Кулькова И.С. Использование биологически активных добавок в кормлении рыб // Рыбоводство и рыбное хозяйство №6, 2018, С. 14-18.

11. Воронин В.Н., Кузнецова Е.В., Стрелков Ю.А., Чернышева Н.Б. Болезни рыб в аквакультуре России: практическое руководство. СПб. : ГосНИОРХ, 2011. 265 с.

12. Гадзаонов Р. Х. и др. Влияние нетрадиционных кормов на качество мяса рыбы //Достижения науки-сельскому хозяйству. – 2017. – С. 161-163.

13. Гамыгин, Е. А. Проблема обеспечения стартовыми кормами отечественного производства рыбохозяйственных предприятий РФ / Е. А. Гамыгин, А. М. Багров, Б. Г. Житний // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2015. – № 10. – С. 55-59.

14. Гамыгин, Е.А. Итоги работы по созданию новых кормов для ценных объектов аквакультуры / Е.А. Гамыгин, М.А. Щербина, А.А. Передня // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство.- 2004. - № 2. – С. 55-61.

15. Гамыгин, Е.А. Некоторые аспекты проблемы кормов и кормопроизводства в аквакультуре / Е.А. Гамыгин // Материалы междунар. конф.: Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России. - Адлер, Краснодар, 2001. - С. 158-159.

16. Гамыгин, Е.А. Некоторые аспекты проблемы кормов и кормопроизводства для рыб на современном этапе / Е.А. Гамыгин, А.М. Багров // Рыбоводство и рыбное хозяйство.- 2014. - №2.-С. 62-67.

17. Гамыгин, Е.А. Новый источник бета-каротина в комбикормах для рыб / Е.А. Гамыгин, В.А. Тюренков, А.А. Тюренков, Е.Н. Черных, В.В. Чикова, О.С. Денисенко // Материалы докладов III междунар. научнопракт. конф.: Аквакультура осетровых: достижения и перспективы развития. - Астрахань, 2004. - С.241-243.

18. Головина, Н. А. Морфофункциональная характеристика крови рыб - объектов аквакультуры: специальность 03.00.10: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Головина Нина Александровна. – Москва, 1996. – 53 с..

19. ГОСТ 11482-96. Рыба холодного копчения. Технические условия. Введ. 1998-01-01. М.: Стандартиформ. – 2007. – 14с.

20. ГОСТ 7631-2008. Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей. Введ. 2009-01-01. М.: Стандартиформ. – 2008. – 12с.

21. ГОСТ 7636-85. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. Введ. 1986-01-01. М.: Стандартиформ. – 2010. – 123 с.

22. Государственная программа «Развитие сельского хозяйства и рыбоводства в Белгородской области на 2014–2020 годы» (в ред. постановлений Правительства Белгородской области от 24.02.2014 № 55-пп, от 30.06.2014 № 235-пп, от 15.07.2014 № 258 пп).

23. Догель В.А. Зоология беспозвоночных. – Л.: Высшая школа, 1983. - 606 с.

24. Дулина А. С. Разработка технологии кормления рыб комбикормами на основе регионального кормового сырья при товарном выращивании // Прикаспийский международный молодёжный научный форум агропромтехнологий и продовольственной безопасности 2018. – 2018. – С. 87-90.

25. Дункель, З., Клуге Х., Шпильке И., Эдер К. Применение хелатов в животноводстве. Университет Мартин Лютера, Германия, № 1. 2008, С. 77-80.

26. Елисеева Л. Г. и др. Проектирование поликомпонентных пищевых продуктов с заданными свойствами на основе ягодного сырья Центрально-

Черноземного региона // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК–продукты здорового питания. – 2017. – №. 5 (19). – С. 81-88.

27. Иванова А.Б. Перспективы применения бактериальных препаратов и пробиотиков в рыбоводстве. / А.Б. Иванова, Б.Т. Сариев, Г.А. Ноздрин и др. // Вестник НГАУ — 2012. — 2-2(23) . — с. 58-61.

28. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб: сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. – Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 80 с.

29. Инновационные кормовые добавки при выращивании молоди рыб / С. И. Кононенко, Н. А. Юрина, Е. А. Максим, Е. В. Чернышов // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2016. – Т. 53, № 1. – С. 30-34.

30. Козий М. С. Микроанатомическая оценка степени влияния состава кормов на структуру мышечной ткани белого амура (*Stenopharyngodon idella valenciennes*, 1844). //Водні біоресурси та аквакультура. – 2020. – №. 3. – С. 132-136.

31. Козий М. С., Шерман И. М. Гистологическая оценка степени влияния состава кормов на интерьерные показатели рыб (на примере мышечной ткани) //Рибогосподарська наука України. – 2011. – №. 1. – С. 80-85.

32. Козлов В. И. Аквакультура: учеб. для студентов вузов, обучающихся по специальности "Вод. биоресурсы и аквакультура" / В. И. Козлов, А. Л. Никифоров-Никишин, А. Л. Бородин; В. И. Козлов, А. Л. Никифоров-Никишин, А. Л. Бородин. – Москва: МГУТУ, 2004. – 433 с. – ISBN 5-85941-043-3.

33. Кутина О.И. Разработка функциональных кулинарных рыбных изделий с заданными показателями отличительных свойств / О. И. Кутина // Инновации в науках о жизни: Сборник материалов III международного симпозиума, Белгород, 27–28 мая 2021 года. – Белгород: Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2021. – С. 315-316.

34. Кутина О.И. Создание функциональных продуктов питания с заданными потребительскими свойствами / О. И. Кутина // Актуальные проблемы современной науки, техники и образования : Тезисы докладов 81-й международной

научно-технической конференции, Магнитогорск, 17–21 апреля 2023 года. Том 2. – Магнитогорск: Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова, 2023. – С. 260.

35. Щербина М.А., Гамыгин Е.А.. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. - М.: Изд-во ВНИРО, 2006.- 360 с.

36. Мишанин, Ю. Ф. Ихтиопатология и ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы / Ю. Ф. Мишанин. – 1-е, Новое. – Санкт-Петербург : Издательство Лань, 2012. – 560 с. – ISBN 978-5-8114-1295-2.

37. Мясников, Г. Г. Корма и технология кормления рыб: курс лекций – Горки : БГСХА, 2020. – 221 с. ISBN 978-985-882-022-0.

38. Надточий Л.А., Чечеткина А.Ю., Лепешкин А.И. Проектирование состава продуктов питания с заданными свойствами: Учеб. – метод. пособие. – СПб. Университет ИТМО, 2020. – 46 с.

39. Новикова Т. В., Долгих О. С., Кудрявцев В. В. Воздействие кормовой добавки на энергию роста карпа //Научные разработки и инновации в решении приоритетных задач современной зоотехнии. – 2022. – С. 102-106.

40. О развитии и поддержке аквакультуры (рыбоводства) в Российской Федерации: информ. изд. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2020. – 164 с.

41. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина [и др.]. – Санкт-Петербург : Издательство "Лань", 2016. – 588 с. – ISBN 978-5-8114-2162-6.

42. Определитель Бактерий Берджи /Под редакцией Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли и С.Уильямса, девятое издание, в двух томах, М., «Мир», 1997.

43. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 1. Паразитарные простейшие. Л.: Наука, 1984.

44. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 3. Паразитарные многоклеточные (Вторая часть). Л.: Наука, 1987.

45. Павлов К. В., Андреева И. Г., Метелева М. Г. Современное состояние и перспективы развития аквакультуры: федеральный и региональный аспекты

//Россия: тенденции и перспективы развития. – 2019. – №. 14-1. – С. 337-342.

46. Пилат Т.Л., Иванов А.А. Биологически активные добавки к пище (теория, производство, применение).- М.: Авваллон, 2002.- 710 с.

47. Рекомендации по выращиванию рыбопосадочного материала радужной форели в рыбоводных индустриальных комплексах (с временными нормативами) / Н. В. Барулин [и др.]. – Горки: БГСХА, 2016. – 180 с.

48. Сафронова Т.М. Справочник дегустатора рыбы и рыбной продукции. – М.: ВНИРО. – 1998. – 224 с.

49. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. – 310 с.

50. Эффективность применения биогенной кормовой добавки Akwa-Biot-Norm в рыбоводстве / В. Г. Семенов, Н. И. Косяев, Д. А. Никитин, А. П. Никитина // Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной и зоотехнической наук: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Чебоксары, 22 ноября 2019 года. – Чебоксары: Чувашская государственная сельскохозяйственная академия, 2019. – С. 155-160.

51. Скляров В. Я. и др. Аквакультура юга России, перспективы развития //Труды ВНИРО. – 2013. – Т. 150. – С. 50-56

52. Стегний Н. М., Федышин П. М. Морфологические особенности печени и почки карпа. – 2019

53. Степанцова Г. Е. и др. Изучение влияния микроэлементов на физиолого-биохимические показатели радужной форели //Вестник науки и образования Северо-запада России. – 2018. – Т. 4. – №. 2. – С. 128-135.

54. Столяров В. П. Выращивание товарной тилляпии в установке замкнутого водоснабжения // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2018. – №2. – С. 41-46.

55. Стратегия развития аквакультуры Российской Федерации на период до 2030 года. – М., 2017. – 35 с.

56. Текебаева Ж. Б. и др. Пробиотики и их применение в аквакультуре //News of Kazakhstan Science/Novosti nauki Kazahstana. – 2020. – №. 4.

57. Технологии использования кормов и кормовых добавок в аквакультуре / А. Л. Бородин, Л. И. Бычкова, К. В. Гаврилин [и др.]. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью «Торговый Дом «ДеЛи», 2019. – 154 с. – ISBN 978-5-6042712-5-4.

58. Трифонова Е.С. Новый подход к увеличению сохранности и повышению продуктивности (опыт применения "Суб:Про" (Субалин) в рыбных хозяйствах) // Рыбоводство и рыбное хозяйство, № 7. 2008, С. 20 -22.

59. Тяпугин, В. В. Результаты использования отечественного и зарубежных кормов в садковом хозяйстве ООО "РК "Акватрейд" / В. В. Тяпугин, Ю. В. Алымов, Э. В. Бубунец // Рыбное хозяйство. – 2017. – № 6. – С. 78-84.

60. Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г., Кравцова Л.З., Бобровская О.И., Павлов Д.С. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 184-192.

61. Федоров Н. М. Ветеринарно-санитарная оценка карпа при использовании пробиотического препарата //Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – №. 1 (127). – С. 107.

62. Экспериментальные исследования воздействия кормовых компонентов на объекты аквакультуры в условиях научно-исследовательских УЗВ [Текст]: отчет о НИР: филиал по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»); рук. П.П. Головин; испол. Л.Н. Юхименко [и др.]. – М., 2019. – 14 с

63. Юрина Н. А. Сравнительная оценка влияния скармливания пробиотиков и антибиотика в рационах молоди осетровых рыб //Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2016. – Т. 5. – №. 1. – С. 81-85.

64. Юхименко Л. Н., Токарева С. Б. Бактериальные болезни рыб и методы их профилактики //Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. – 2022. – С. 152-162.

65. Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Зюкин А.Н., Климов В.А. Профилактика бактериальной геморрагической септемии с использованием *Bacillus subtilis* (на

примере «Бисеровский рыбокомбинат»)// Рыбное хозяйство. № 1, 2009, С.:86-88.

66. Al-Bairuty G. A. Haematopoietic observation on spleen prints from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following dietary or waterborne exposure to TiO₂ nanoparticles.

67. Antipova, L.V. et al. Pond fishes in the improvement of the structure of population's nutrition: Hygienic aspects // *Gigiena i Sanitariya*, 2016, 95(1), P. 84-90

68. Apines M. J. S. et al. Availability of supplemental amino acid-chelated trace elements in diets containing tricalcium phosphate and phytate to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Aquaculture*. – 2003. – Т. 225. – №. 1-4. – С. 431-444.

69. Aquatic Animal Health Code OIE/20th Edition, 2017. [Электронный ресурс] – URL: <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/> (дата обращения 15.09.2022)

70. Aquatic Manual /7th Edition, 2016. [Электронный ресурс] – URL: <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/> (дата обращения 15.09.2022)

71. Boyle D. et al. Critical comparison of intravenous injection of TiO₂ nanoparticles with waterborne and dietary exposures concludes minimal environmentally-relevant toxicity in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // *Environmental Pollution*. – 2013. – Т. 182. – С. 70-79.

72. Bud I. et al. Study concerning chemical composition of fish meat depending on the considered fish species // *Lucrări Științifice-Zootehnie și Biotehnologii, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului Timișoara*. – 2008. – Т. 41. – №. 2. – С. 201-206.

73. Buentello J. A., Goff J. B., Gatlin III D. M. Dietary zinc requirement of hybrid striped bass, *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*, and bioavailability of two chemically different zinc compounds // *Journal of the World Aquaculture Society*. – 2009. – Т. 40. – №. 5. – С. 687-694.

74. Bychkova L. I. et al. Evaluating the UV radiation effectiveness in industrial aquaculture // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – IOP Publishing, 2020. – Т. 548. – №. 4. – С. 042046.

75. ÇELİK M., GÖKÇE M. A. L. İ. Determination of fatty acid compositions of five different tilapia species from the Çukurova (Adana/Turkey) region //Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences. – 2003. – T. 27. – №. 1. – C. 75-79.

76. Chen Y. et al. Isolation and characterization of *Bacillus* spp. M 001 for potential application in turbot (*S cophthalmus maximus* L.) against *V ibrio anguillarum* //Aquaculture Nutrition. – 2016. – T. 22. – №. 2. – C. 374-381.

77. Clark N. J., Shaw B. J., Handy R. D. Low hazard of silver nanoparticles and silver nitrate to the haematopoietic system of rainbow trout //Ecotoxicology and environmental safety. – 2018. – T. 152. – C. 121-131

78. Dawood M A, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S. Interaction Effects of Dietary Supplementation of Heat-Killed *Lactobacillus Plantarum* and β Glucan on Growth Performance, Digestibility and Immune Response of Juvenile Red Sea Bream, *Pagrus Major*. *Fish. Shellfish Immunol* (2015) 45:33–42. doi: 10.1016/j.fsi.2015.01.033

79. De Marzo D. et al. Enrichment of Dairy-Type Lamb Diet with Microencapsulated Omega-3 Fish Oil: Effects on Growth, Carcass Quality and Meat Fatty Acids //Life. – 2023. – T. 13. – №. 2. – C. 275.

80. Dimitrovski Z., Oljaca M., Gligorevic K. Nova regulativa u vezi inspekcije masina za aplikaciju pesticida u Republici Makedonije. – 2014.

81. Du L. et al. Dietary selenium requirement of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* W.) alevins //Aquaculture International. – 2021. – T. 29. – C. 2291-2304.

82. Erdman J. W. Oilseed phytates: nutritional implications //Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1979. – T. 56. – №. 8. – C. 736-741.

83. Ferguson R. M. W. et al. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*) //Journal of applied microbiology. – 2010. – T. 109. – №. 3. – C. 851-862

84. Fijan N. Morphogenesis of blood cell lineages in channel catfish //Journal of fish biology. – 2002. – T. 60. – №. 4. – C. 999-1014

85. Haard N. F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish //Food research international. – 1992. – T. 25. – №. 4. – C. 289-307.

86. Hilton J. W. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the

diet of fish //Aquaculture. – 1989. – T. 79. – №. 1-4. – C. 223-244.

87. Khalid H. Kadhim, Abdulkarim J. Karim and Khalid K. Kadhim. Histological and histochemical study of the liver and gall bladder of adult male common carp *Cyprinus carpio* // Plant Archives Vol. 20, Supplement 1, 2020 pp. 438-442.

88. King I. B. The Food Fishes: Their Intrinsic Variation and Practical Implications //Journal of the American Dietetic Association. – 1989. – T. 89. – №. 7. – C. 1014-1015.

89. Knox D., Cowey C. B., Adron J. W. Studies on the nutrition of salmonid fish. The magnesium requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) //British Journal of Nutrition. – 1981. – T. 45. – №. 1. – C. 137-148.

90. Kondera E. Haematopoiesis and haematopoietic organs in fish //Rocz Nauk Pol Tow Zootech. – 2019. – T. 15. – C. 9-16.

91. Kurdomanov A. et al. The effect of diet supplemented with Proviotic® on growth, blood biochemical parameters and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultivated in recirculation system //Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation. – 2019. – T. 12. – №. 2. – C. 404-412.

92. Li S. et al. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure //Aquaculture. – 2017. – T. 477. – C. 62-70.

93. Lorentzen M., Maage A., Julshamn K. Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentrations //Aquaculture Nutrition. – 1998. – T. 4. – №. 1. – C. 67.

94. Love R. M., Munro L. J., Robertson I. Adaptation of the dark muscle of cod to swimming activity //Journal of Fish Biology. – 1977. – T. 11. – №. 5. – C. 431-436.

95. Lovell T. Increasing omega-3 fatty acids in farmed catfish //Aquaculture Magazine. – 1988. – T. 14. – №. 5. – C. 54-55.

96. Lugert V. et al. A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application //Reviews in aquaculture. – 2016. – T. 8. – №. 1. – C. 30-42.

97. Maage A., Julshamn K. Assessment of zinc status in juvenile Atlantic salmon

(*Salmo salar*) by measurement of whole body and tissue levels of zinc //Aquaculture. – 1993. – T. 117. – №. 1-2. – C. 179-191.

98. Martínez-Porchas M., Vargas-Albores F. Microbial metagenomics in aquaculture: a potential tool for a deeper insight into the activity //Reviews in Aquaculture. – 2017. – T. 9. – №. 1. – C. 42-56.

99. Mokhtar D. M., Abdelhafez E. A. An overview of the structural and functional aspects of immune cells in teleosts. – 2021

100. Mustafa Ö. Z., Tatil T., Dikel S. Effects of boric acid on the growth performance and nutritional content of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) //Chemosphere. – 2021. – T. 272. – C. 129895.,

101. Nam Koong H. Water treatment in Recirculating Aquaculture Systems (RAS) by ultrasonically induced cavitation : дис. – Dissertation, Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2020, 2020.

102. National Research Council; Division on Earth and Life Studies; Institute for Laboratory Animal Research. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. In Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2011; ISBN 9780309386296.

103. O'Dell B. L. Mineral-ion interaction as assessed by bioavailability and ion channel function //Handbook of nutritionally essential mineral elements. – CRC Press, 1997. – C. 641-660.

104. Ogino C., Yang G. Y. Mineral requirements in fish. 10. Requirements of carp and rainbow-trout for dietary manganese and copper //Bulletin of the Japanese society of scientific fisheries. – 1980. – T. 46. – №. 4. – C. 455-458.

105. Perdiguero P. et al. Teleost IgD⁺ IgM[–] B cells mount clonally expanded and mildly mutated intestinal IgD responses in the absence of lymphoid follicles //Cell Reports. – 2019. – T. 29. – №. 13. – C. 4223-4235. e5

106. Pereira S. A. et al. The Chelating Mineral on Organic Acid Salts Modulates the Dynamics and Richness of the Intestinal Microbiota of a Silver Catfish *Rhamdia quelen* //Current microbiology. – 2020

107. Peters G., Schwarzer R. Changes in hemopoietic tissue of rainbow trout under

influence of stress //Diseases of Aquatic Organisms. – 1985. – T. 1. – №. 1. – C. 1-10.

108. Phillips Jr A. M., Brockway D. R. The nutrition of trout: II. Protein and carbohydrate //The Progressive Fish-Culturist. – 1956. – T. 18. – №. 4. – C. 159-164.

109. Prabhu P. A. J. et al. Dietary selenium required to achieve body homeostasis and attenuate pro-inflammatory responses in Atlantic salmon post-smolt exceeds the present EU legal limit //Aquaculture. – 2020. – T. 526. – C. 735413.

110. Raida M. K. et al. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B) //Journal of Fish diseases. – 2003. – T. 26. – №. 8. – C.

111. Ramachandran Nair K. G., Gopakumar K. Influence of sex, spawning, starvation and water temperature on fatty acid composition in *Tilapia mossambica*. – 1981.

112. Ramos M. A. et al. Commercial *Bacillus* probiotic supplementation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*): growth, immune responses and intestinal morphology //Aquaculture Research. – 2017. – T. 48. – №. 5. – C.

113. Ramos M. A. et al. Growth, immune responses and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented with commercial probiotics //Fish & Shellfish Immunology. – 2015. – T. 45. – №. 1. – C. 19-26.

114. Rimoldi S. et al. Next generation sequencing for gut microbiome characterization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed animal by-product meals as an alternative to fishmeal protein sources //PLoS One. – 2018. – T. 13. – №. 3. – C. e0193652.

115. Sato, B., Sasaki, Y. & Abe, S. Developing Technology of Utilization of Small Pelagic Fish// Fisheries agency Japan. – 1978 – C. 105516.

116. Sequeiros C. et al. Potential aquaculture probiont *Lactococcus lactis* TW34 produces nisin Z and inhibits the fish pathogen *Lactococcus garvieae* //Archives of microbiology. – 2015. – T. 197. – C. 449-458.

117. Shao X. et al. Effects of dietary copper sources and levels on performance,

copper status, plasma antioxidant activities and relative copper bioavailability in *Carassius auratus gibelio* //Aquaculture. – 2010. – T. 308. – №. 1-2. – C. 60-65.

118. Simakov G, Nikiforov-Nikishin A, Nikiforov-Nikishin D, Beketov V, Kochetkov N and Klimov V 2020. Histological changes in the liver, intestines and kidneys of *Clarias gariepinus* when using feed with chelated compounds. International Journal of Pharmaceutical Research, 12(03). [Электронный ресурс] - URL: <http://dx.doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.331>

119. Smith P. R. et al. Evidence for the competitive exclusion of *Aeromonas salmonicida* from fish with stress-inducible furunculosis by a fluorescent pseudomonad //Journal of Fish Diseases. – 1993. – T. 16. – №. 5. – C. 521-524

120. Sudrajat L., Kartika R., Prahastika W. Microelement Analysis In Edible Muscle Of *Oreochromis Niloticus* From Two Different Age Of Reclaimed Post Coal Mining Ponds East Kalimantan Using Sem-Edx// International journal of scientific & technology research. – 2021. – T.10. – C. 51-63.

121. Suvarna K. S., Layton C., Bancroft J. D. (ed.). Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book. – Elsevier health sciences, 2018.

122. Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P. and Verstraete W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture // Microbiology and Molecular Biology Reviews. - 2000. - No 64. - P. 655-671.

123. Vranić D., Đinović-Stojanović J., Spirić A. Rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) from aquaculture—meat quality and importance in the diet //Scientific journal "Meat Technology". – 2011. – T. 52. – №. 1. – C. 122-133.

124. Wang L. Y., Tao N. P. Analysis and evaluation of nutritional composition of farmed male puffer fish (*Takifugu obscurus*) //J Food Compos Anal. – 2012. – T. 28. – C. 40-45.

125. Welker T. et al. Optimizing zinc supplementation levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed practical type fishmeal-and plant-based diets //Aquaculture nutrition. – 2016. – T. 22. – №. 1. – C. 91-108.

126. Witeska M. The effect of toxic chemicals on blood cell morphology in fish //Fresenius Environmental Bulletin. – 2004. – T. 13. – №. 12. – C. 1379-1384.

127. Wood J. D. et al. Effects of fatty acids on meat quality: a review //Meat science. – 2004. – T. 66. – №. 1. – C. 21-32.
128. Wu T. et al. Advances in the Formation and Control Methods of Undesirable Flavors in Fish //Foods. – 2022. – T. 11. – №. 16. – C. 2504.
129. Wuertz S., Schroeder A., Wanka K. M. Probiotics in fish nutrition—long-standing household remedy or native nutraceuticals? //Water. – 2021. – T. 13. – №. 10. – C. 1348.
130. Ye C. X. et al. Effect of dietary iron supplement on growth, haematology and microelements of juvenile grouper, *Epinephelus coioides* //Aquaculture Nutrition. – 2007. – T. 13. – №. 6. – C. 471-477.
131. Zhang Y. A. et al. IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity //Nature immunology. – 2010. – T. 11. – №. 9. – C. 827-835.
132. Zhou C. et al. Evaluation of fish feeding intensity in aquaculture using a convolutional neural network and machine vision //Aquaculture. – 2019 –T. 507 – C. 457-465
133. Zhou Q. C., Buentello J. A., Gatlin III D. M. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) //Aquaculture. – 2010. – T. 309. – №. 1-4. – C. 253-257.

Список сокращений и условных обозначений

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

УЗВ – установка замкнутого водоснабжения

КОЕ – колониеобразующие единицы

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

НФЩ - неферментирующие щелочеобразующие бактерии

ПРИЛОЖЕНИЯ

**Приложение А (обязательное). Акты внедрения результатов
диссертационного исследования**

***Общество с ограниченной ответственностью
«Форелевый рай»***

309290, Белгородская Область, г. Шебекино, ул. Тимирязева, д. 59а

Акт результатов производственных испытаний

Новооскольский городской округ,
хутор Пустынка

24.11.2020 г.

Мы нижеподписавшиеся рыбовод ООО «Форелевый рай» Кичигин Владимир Иванович и научный сотрудник факультета Биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» Климов Виктор Александрович произвели контрольные замеры в бассейнах №6,8,9 (опытные группы) и № 15 (контрольная группа).

По результатам контрольного взвешивания от 16.10.2020 г. выявлено увеличение средней навески в опытных группах по сравнению с контрольной. Результаты контрольного взвешивания представлены в рыбоводном журнале.

Рыбовод ООО «Форелевый рай»



Кичигин В.И.

Научный сотрудник факультета
Биотехнологий и рыбного хозяйства
ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)»



Климов В.А.

Рисунок А.1 - Акт результатов производственных испытаний в ООО «Форелевый рай»

Общество с ограниченной ответственностью**«Форелевый рай»**

309290, Белгородская Область, г. Шебекино, ул. Тимирязева, д. 59а

Акт проведения опытного кормления

Настоящий акт составлен в том, что с 10 августа 2020 года на базе бассейнового комплекса ООО «Форелевый рай», расположенного в хуторе Пустынка было произведено опытное кормление радужной форели с кормовой добавкой разработки ФГБОУ ВО «МГУТУ имени К.Г. Разумовского (ПКУ)» в рамках реализации проекта «Увеличение продукционного потенциала индустриальной аквакультуры Белгородской области за счет внедрения комбикормов направленного действия».

Разработанная добавка оказала положительное влияние на рыбоводно-биологические показатели повысив прирост рыбы и выживаемость.

16.10.2020 г.

Директор ООО «Форелевый рай»

Канищев И.А. /

Рисунок А.2 - Акт проведения опытного кормления в ООО «Форелевый рай»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ
НАУЧНОГО СОВЕТА НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПЛАТФОРМЫ
Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов

Научно-образовательного центра «Инновационные решения в АПК»

22 апреля 2021 г.

г. Белгород

Название проекта	«Увеличение производственного потенциала индустриальной аквакультуры Белгородской области за счет внедрения комбикормов направленного действия»
Руководитель проекта (Ф.И.О., должность, место работы)	Никифоров-Никишин Алексей Львович Институт «Биотехнологий и рыбного хозяйства» ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)»
Место выполнения проекта	ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ Белгородская область, Белгородский район, п. Майский, ул. Вавилова 1; Институт «Биотехнологий и рыбного хозяйства» ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)», г. Москва, ул. Шаболовка, д. 14, стр. 9 Площадки индустриальных партнеров: ООО «Форелевый рай», Белгородская область, г. Шебекино, ул. Тимирязева, дом 59а; СССПОК «Белфорель» Белгородская область, Яковлевский район, с. Пушкарное, ул. Октябрьская, д. 38а; ООО «НТЦ БИО» Белгородская область, г. Шебекино, ул. Докучаева, дом 2.
Документы, представленные для проведения экспертизы	<ol style="list-style-type: none"> 1. Заявка на участие в конкурсном отборе. 2. Приложения к заявке: <ol style="list-style-type: none"> 2.1. Анкета заявителя проекта полного цикла, 2.2. Анкета научной организации (партнера), 2.3. Паспорт проекта полного цикла, 2.4. ТЭО затрат на реализацию проекта полного цикла, 2.5. Выписка из Единого государственного реестра юридических лиц, 2.6. Сведения о государственной регистрации права собственности на производственные помещения, использование которых предусматривается при реализации проекта, либо о договоре аренды таких производственных помещений, 2.7. Копия учредительного документа, 2.8. Согласие на публикацию (размещение) в информационно-телекоммуникационной сети Интернет информации об участнике конкурсного отбора (конкурса), 2.9. Согласие на обработку персональных данных лиц, участвующих в конкурсном отборе (конкурсе), 2.10. Справка, подтверждающая отсутствие у инициатора на 1-е число месяца, предшествующего отбору (конкурсе), просроченной задолженности по возврату в бюджет Белгородской области субсидий,

Рисунок А.3 – Заключение научного совета научно-производственной платформы «Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов» НОЦ «Инновационные решения в АПК»

	<p>бюджетных инвестиций, предоставленных в том числе в соответствии с иными правовыми актами, и иной просроченной задолженности перед бюджетом области,</p> <p>2.11. Справка налогового органа, подтверждающая отсутствие у участника отбора на 1-е число месяца предшествующего месяцу, подачи документов для участия в конкурсном отборе (конкурсе), неисполненных обязанностей по уплате налогов, сборов, страховых взносов, пеней, штрафов и процентов, подлежащих уплате в соответствии с законодательством Российской Федерации о налогах и сборах,</p> <p>2.12. Справка о том, что заявитель не является иностранным юридическим лицом, а также российским юридическим лицом, в уставном (складочном) капитале которого доля участия иностранных юридических лиц, местом регистрации которых является государство (территория), включенное в утверждаемый Министерством финансов Российской Федерации перечень государств и территорий, предоставляющих льготный налоговый режим налогообложения и (или) не предусматривающих раскрытия и предоставления информации при проведении финансовых операций (офшорные зоны), в совокупности превышает 50 процентов, подписанная руководителем организации или иным уполномоченным лицом, главным бухгалтером или иным должностным лицом, на которое возлагается ведение бухгалтерского учета,</p> <p>2.13. Справка о том, что на 1-е число месяца, предшествующего месяцу подачи документов для участия в конкурсном отборе (конкурсе), заявитель не находится в процессе ликвидации, реорганизации или банкротства, деятельность участника конкурсного отбора не приостановлена в порядке, предусмотренном законодательством Российской Федерации, подписанная руководителем организации или иным уполномоченным им лицом, главным бухгалтером или иным должностным лицом, на которое возлагается ведение бухгалтерского учета,</p> <p>2.14. Справка о том, что участник конкурсного отбора (конкурса) не получает в текущем финансовом году средства из бюджета Белгородской области в соответствии с иными правовыми актами на цели установленные правилами предоставления грантов в форме субсидий из областного бюджета,</p> <p>2.15. Справка о том, что сведения о руководителе, членах коллегиально-исполнительного органа и главном бухгалтере участника конкурсного отбора (конкурса), являющегося юридическим лицом, об индивидуальном предпринимателе, являющемся участником конкурсного отбора, не внесены в реестр дисквалифицированных лиц.</p>
--	---

№	Вопросы для оценки соответствия проекта критериям отбора
1.	Цель и задачи проекта

Рисунок А.4 – Заключение научного совета научно-производственной платформы «Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов» НОЦ «Инновационные решения в АПК» (продолжение)

	1.1. цель и задачи проекта соответствуют направлению научно-производственной платформы	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	1.2. цель и задачи могут быть достигнуты (решены) в рамках реализации проекта	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
2.	Потенциал заказчика и участников проекта и имеющийся задел для его реализации		
	2.1. опыт и квалификация заказчика и участников проекта позволяют обеспечить выполнение поставленных задач проекта	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	2.2. материально-техническая база (имеющаяся или создаваемая) достаточна для реализации проекта	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
3.	Научный потенциал проекта		
	3.1. обоснована актуальность и научная новизна проекта (актуальность и новизна проекта отвечает целям и задачам Национального проекта «Наука»)	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	3.2. проект соответствует направлению Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	3.3. проведен полный анализ современного состояния исследований (приведен обзор исследований в данной области со ссылками на публикации в научной литературе)	<input type="checkbox"/>	ДА
		<input checked="" type="checkbox"/>	НЕТ
	3.4. имеется научная новизна проекта (сформулирована идея, поставлена задача и предложено решение заявленной проблемы)	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	3.5. имеются публикации в периодических изданиях (Scopus, Web of Science, ВАК) по тематикам заявленного проекта	<input type="checkbox"/>	ДА
		<input checked="" type="checkbox"/>	НЕТ
4.	Коммерческий потенциал проекта		
	4.1. финансово-экономическая эффективность отражает соответствие планируемых затрат и ожидаемых результатов работы целям проекта	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	4.2. разрабатываемая продукция конкурентоспособна, планы по ее производству и реализации реализуемы	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	4.3. общий план реализации проекта свидетельствует о реализуемости заявленного проекта	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
	4.4. предлагаемые подходы и методы, их обоснование соответствуют реализации цели и достижению задач проекта (развернутое описание в произвольной форме свидетельствует о соответствии подходов и методов поставленным целям и задачам проекта)	<input checked="" type="checkbox"/>	ДА
		<input type="checkbox"/>	НЕТ
Выводы			

Рисунок А.5 – Заключение научного совета научно-производственной платформы «Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов» НОЦ «Инновационные решения в АПК» (продолжение)

<p><i>Заявленный проект направлен на фундаментальные, поисковые и прикладные исследования, позволяющие увеличить производственный потенциал индустриальной аквакультуры Белгородской области за счет внедрения новых комбикормов направленного действия для лососевых рыб. В настоящее время в Белгородской области отсутствует производство специализированных кормов для рыб. Реализация данного проекта обеспечит импортозамещение, окажет положительное влияние на развитие производственного потенциала индустриальной аквакультуры Белгородской области.</i></p> <p><i>По результат данного проекта авторы планируют опубликовать 12 статей в научных изданиях, индексируемых в международных базах Scopus, WoS, получить два патента на изобретение.</i></p> <p><i>Данный проект соответствует приоритетным направлениям Стратегии научно-технологического развития РФ, является значим для разработки, испытаний и последующего внедрения.</i></p>	
<p>Решение НАУЧНОГО СОВЕТА НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПЛАТФОРМЫ</p>	
<input checked="" type="checkbox"/>	Рекомендуется согласовать проект для реализации в рамках научно-производственной платформы
<input type="checkbox"/>	Не рекомендуется согласовывать проект для реализации в рамках научно-образовательного центра «Инновационные решения в АПК»
<input type="checkbox"/>	Рекомендуется повторно рассмотреть проект после устранения замечаний в рамках научно-производственной платформы

Руководитель научно-
производственной платформы



Е.М. Серба

Рисунок А.6 – Заключение научного совета научно-производственной платформы «Здоровьесберегающие технологии: производство продовольствия и ветпрепаратов» НОЦ «Инновационные решения в АПК» (продолжение)

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГИЙ И
УПРАВЛЕНИЯ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)



Институт «Биотехнологий и рыбного хозяйства» (БиРХ)

Акт испытания микроэлементной кормовой добавки направленного действия на объектах аквакультуры

Таблица 1 – Компонентный состав разработанной микроэлементной кормовой добавки для радужной форели

Компонент	Концентрация
Fe ЭДДЯ мг/кг	10
Mn ЭДДЯ мг/кг	30
Cu ЭДДЯ мг/кг	1
Zn ЭДДЯ мг/кг	10
Co ЭДДЯ мг/кг	0,1
Se мг/кг	0,2
I мг/кг	0,9

Таблица 2 – Рыбоводно-биологические показатели выращивания радужной форели при включении в корма хелатных соединений микроэлементов. (60 суток)

Показатели	Контроль	Опытные группы		
	ОР	ОР + хелаты 0,5 г/кг	ОР + хелаты 1 г/кг	ОР + хелаты 2 г/кг
Средняя начальная масса, г	845±75	815±80	830±85	825±75
Средняя конечная масса, г	1320±131	1290±127	1353±129	1321±133
Абсолютный прирост, г	475	475	523	496
Относительный прирост, %	56,21	58,28	63,01	60,12
Среднесуточный прирост, г	7,92	7,92	8,72	8,27
Среднесуточная скорость роста, %	0,94	0,97	1,05	1,00
Выживаемость, %	97	100	99	99
Начальная биомасса, кг	84,5	81,5	83	82,5
Конечная биомасса, кг	128,04	129,00	133,95	130,78

Следует отметить уменьшение кормового коэффициента опытной группы кормов. Можно рекомендовать для промышленного использования данный состав микроэлементной добавки. Включение добавки в рацион обеспечивает рост сравнимый с зарубежными кормами, при этом не вызывая патологических изменений в структуре желудочно-кишечного тракта рыбы и других патологий. Также стоит отметить, что мышечная ткань рыб приобретала более яркую окраску и плотную структуру в опытных группах, что требует дополнительных исследований.

Руководитель Российско-Скандинавского
центра аквакультуры, д.б.н., проф.

Симаков Ю.Г.

Директор института «Биотехнологий и рыбного хозяйства»
МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ), д.б.н., проф.

«23 Сент» 2021г.

Никифоров-Никишин А.Л.

Рисунок А.7 – Акт испытаний микроэлементной кормовой добавки
направленного действия



Россия, 170005, г. Тверь, а/я 0559
Тел. (4822) 47-57-71

e-mail: delta.52@mail.ru, info@helavit-jupiter,
http://helavit-jupiter

Паспорт

На кормовую минеральную добавку

СТО № 74384803-0001-2006

Хелавит А (радужная форель)

Дата изготовления 08.2020

Объем 5 л.

Номер партии 001

Кол-во ед.продукции 1

Срок хранения 3 года

Кол-во мест 1

Показатели	Норма	Фактически
Внешний вид, цвет, запах	Жидкость, тёмно-коричневого цвета, без запаха	соответствует
pH 50% водного раствора	6,0-8,0	соотв.
Содержание железа, г/л	10,0	соотв.
Содержание марганца, г/л	30,0	соотв.
Содержание меди, г/л	1,0	соотв.
Содержание цинка, г/л	10,0	соотв.
Содержание кобальта, г/л	0,1	соотв.
Содержание селена, г/л	0,2	соотв.
Содержание йода, г/л	0,9	соотв.

Температура хранения от минус 20°C до 30°C

Вывод: кормовая добавка соответствует показателям СТО № 74384803-0001-2006.

Дата выдачи: 28.08.2020

Директор

Пудикова Н.И.

Рисунок А.8 – Паспорт разработанной микроэлементной кормовой добавки направленного действия



**АКТ
о внедрении результатов
научной и инновационной деятельности**

Корм экспериментальный производственный разработки ФГБОУ ВО МГУТУ им. К.Г. Разумовского, предоставленный в объеме 85 кг, получен.

С 14.9 по 19 ноября 2022 года было произведено экспериментальное кормление.

Председатель СССПОК
«Белфорель»




И.Б. Боровский

Рисунок А.9 – Акт о внедрении результатов научной и инновационной деятельности в СССПОК «Белфорель»



АКТ

внедрения результатов

диссертационной работы Климова Виктора Александровича на соискание
ученой степени кандидата технических наук

Настоящим актом подтверждаем, что результаты научно-исследовательской работы научного сотрудника центра Аквакультуры факультета Биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» Климова Виктора Александровича, выполненные в рамках диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук, посвященной прижизненному формированию обогащенной микроэлементами рыбной продукции представляют практический интерес и внедрены на СССПОК «Белфорель».

Разработанная кормовая добавка используется при производстве специализированных производственных кормов направленного действия.

15.05.2023 г.

Председатель СССПОК
«Белфорель»



И.Б. Боровский

Рисунок А.10 – Акт внедрения результатов диссертационного исследования
на СССПОК «Белфорель»

СПРАВКА ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ
ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ КЛИМОВА ВИКТОРА
АЛЕКСАНДРОВИЧА НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА ТЕХНИЧЕСКИХ НАУК

Настоящая справка подтверждает, что результаты научно-исследовательской работы (основные выводы, рецептура кормовой добавки) научного сотрудника центра Аквакультуры факультета Биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» Климова Виктора Александровича, выполненные в рамках диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук, посвященной прижизненному формированию обогащенной микроэлементами рыбной продукции, приняты к учету при выполнении научно-исследовательской и опытно конструкторской работы в рамках исследований по оптимизации составов комбикормов для объектов аквакультуры и разработке технологии их производства в Филиале по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»).

Руководитель филиала по

пресноводному рыбному хозяйству

ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»)

«06» 06 _____ 2023 г.

Мышкин Алексей Владимирович

М.П.



Рисунок А.11 – Справка об использовании результатов диссертационной работы

**Приложение Б (обязательное). Акт использования материалов
диссертационного исследования в учебном процессе**

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет технологий и управления
им. К.Г. Разумовского (ПКУ)»

д.и.н. Володихин Д.М.

«__» _____ 2023 г.



10.04.2023 г.

г. Москва

АКТ

о внедрении результатов диссертационного исследования
в учебный процесс

Настоящий акт подтверждает, что основные результаты диссертационного исследования Климова Виктора Александровича на тему: «Прижизненное формирование обогащенной микроэлементами рыбной продукции в условиях аквакультуры Белгородской области» используются при проведении лекционных, практических и лабораторных занятий по дисциплинам:

«Кормовая база, корма и кормление рыб» (направление подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура);

«Кормопроизводство в аквакультуре» (направление подготовки 35.04.07 Водные биоресурсы и аквакультура).

Заведующий кафедрой
«Ихтиологии и рыбоводства»
д. с.-х. н., доцент,

А.А. Бахарева

Рисунок Б.1 – Акт использования материалов диссертационного исследования
в учебном процессе