

УДК 639.3.043.13:636.087.73

ВПЛИВ ПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ У СКЛАДІ СТАРТОВИХ КОРМІВ НА АКТИВНІСТЬ ТРАВНИХ ЕНЗИМІВ МОЛОДІ РОСІЙСЬКОГО ОСЕТРА (*ACIPENSER GUELLENSTAEDTII*)

Симон М.Ю. – м.н.с.,

Інститут рибного господарства

Національної академії аграрних наук України

Забитівський Ю.М. – с.н.с., заступник директора,

Львівська дослідна станція

Інституту рибного господарства

Національної академії аграрних наук України

Грициняк І.І. – професор, академік, директор,

Інститут рибного господарства

Національної академії аграрних наук України

У статті розглянуто вплив різних концентрацій сухих інактивованих пекарських дріжджів, які додавали до стартового корму для російського осетра, на рівень активності травних ензимів останнього. Представлені результати експериментальної годівлі впродовж різних проміжків часу на рівень активності α -амілази, ліпази та трипсину. Доведена доцільність введення в раціон 5% дріжджів із метою сприяння процесам перетравлення та засвоєння їжі.

Ключові слова: російський осетер, травні ензими, пекарські дріжджі.

Симон М.Ю., Забитивский Ю.М., Грициняк И.И. *Влияние пекарских дрожжей в составе стартового корма на активность пищеварительных энзимов молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*)*

В статье рассмотрено влияние различных концентраций сухих инактивированных пекарских дрожжей, которые добавляли к стартовому корму для русского осетра, на уровень активности пищеварительных энзимов последнего. Представлены результаты экспериментального кормления в течение различных промежутков времени на уровень активности α -амилазы, липазы и трипсина. Доказана целесообразность введения в рацион 5% дрожжей с целью содействия процессам переваривания и усвоения пищи.

Ключевые слова: русский осетр, пищеварительные энзимы, пекарские дрожжи.

Simon M.Yu., Hrytsyniak I.I., Zabytivskiy Yu.M. *The influence of baker's yeast in the starter feed composition on the activity of digestive enzymes of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) fingerlings*

The influence of various concentrations of dry inactivated baker's yeast, which was added to the starter feed for Russian sturgeon, on the level of digestive enzymes activity in its organism was considered in the article. The results of experimental feeding during various time intervals on the activity level of α -amylase, lipase, and trypsin are presented. The expediency of introducing into the diet 5% of yeast with the purpose of promoting the processes of digestion and assimilation of food was proven.

Key words: Russian sturgeon, digestive enzymes, baker's yeast.

Постановка проблеми. Активний розвиток аквакультури дав змогу більшою мірою використовувати зникаючі види осетрових риб як важливого промислового об'єкта, однак інтенсифікація вирощування осетрів та промислова рентабельність вимагають застосування штучних кормів на ранніх етапах їхнього розвитку. Це супроводжується цілою низкою труднощів, пов'язаних з адаптацією травної системи молоді осетрів до інгредієнтів корму, які в природних умовах не зустрічаються. Водночас питання застосування штучних кормів йдуть поруч із пробле-

мою підвищення опірності організму молоді осетрів. Із цією метою актуальними є розробки стартових комбікормів із застосуванням компонентів, які не лише входять до складу необхідних організму нутрієнтів, але також служать для зміцнення опірності організму риб. Відповідно, заслуговують на увагу технологічні заходи, що ґрунтуються на реакції травної системи молоді осетра і які передбачають використання пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, багатих на нуклеїнові кислоти, і як кормового інгредієнту, і з метою підвищення неспецифічної резистентності молоді російського осетра.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Застосування інактивованих дріжджів викликає цікавість науковців, які працюють у галузі аквакультури. Так, досліджено, що застосування нуклеотидів дріжджів як добавок до корму молоді нільської тилapia (*Oreochromis niloticus*) в кількості 0,25% від базового раціону позитивно впливає на ріст і розвиток риб, оскільки підвищує вміст загального білка сироватки крові, альбумінів, загального сироваткового глобуліну, а також кількість лімфоцитів та гранулоцитів. Це також приводить до зменшення співвідношення альбумін/глобулін у сироватці крові дослідних риб. П'ятнадцятиденне споживання такої добавки позитивно впливає також на параметри неспецифічного імунітету у риб, підвищуючи, зокрема, лізоцимну активність, вміст оксиду азоту, рівень IgM та антипротеазну активність [1, с. 285]. Показано також кореляційний зв'язок між вмістом у кормах нуклеотидів дріжджів та вмістом цитокінів, зокрема Інтерлейкіну-1-бета та трансформуючого фактору росту TGF-beta, які безпосередньо беруть участь в імунній відповіді. Окремими дослідниками проведено низку експериментів у галузі годівлі личинок та молоді риб, зокрема із заміною в раціоні рибного борошна на пивні дріжджі, і показано значну ефективність такої заміни, зокрема за умов високоінтенсивного вирощування в рециркуляційних аквакультурних системах (РАС) із високим вмістом у воді бактерій [2, с. 659; 3, с. 193].

Введення до раціону дріжджів впливає на бактеріальне населення кишечника, тому важливо підібрати відповідні їх концентрації. Наприклад, доведено, що при заміні дріжджами рибного борошна, яке вносили в корми для молоді райдужної форелі, лише 20% заміни не спричиняло змін у мікрофлорі кишечника, яка включала типи *Firmicutes* і *Proteobacteria*, до складу яких головним чином входили *Leuconostocaceae*, *Lactobacillaceae* і *Photobacterium*. Натомість вищі концентрації дріжджів змінювали співвідношення бактеріального населення, а досить високий його вміст – до 60% – викликав розмноження патогенної мікрофлори, зокрема *Candida albicans* [4, с. 532].

Використання дріжджів у вигляді харчової добавки має безпосередній вплив на травні процеси в кишечнику риб. Так, було показано, що застосування галофільних дріжджів *Sterigmatomyces halophilus* як кормової добавки в кількості 0,55 і 1,10% в годівлі золотистого спара (*Sparus aurata*) позитивно впливає на експресію гена, який відповідає за трипсин, один із головних гідролітичних травних ферментів шлунка та кишечника риб [5, с. 174].

Дослідження вітчизняних та закордонних вчених виявили, що порожнина тонкого кишечника в період активного травлення є важливим депо нутрієнтів, зокрема глюкози, ліпідів та білків, які беруть участь у рециркуляційних обмінних процесах організму [6, с. 245]. Таким чином, активність травних ферментів у порожнині кишечника відіграє важливу роль не лише у гідролізі, а й у транспортних процесах поживних речовин, включаючи рециркуляційні процеси виведення з депо необхідних нутрієнтів. У літературі є обмежена кількість інформації щодо впливу інактивованих пекарських дріжджів на активність травних ферментів у російського

осетра, тому такі дослідження є актуальними і необхідними для кращого розуміння процесів підтримання гомеостазу травної системи.

Постановка завдання. Завданням роботи є з'ясування такої концентрації сухих інактивованих пекарських дріжджів, що вносять у стартові корми для молоді російського осетра, яка б сприяла інтенсифікації травних процесів останнього. Критерієм оптимального підтримання травного гомеостазу за дії дріжджів була обрана збалансованість діяльності головних груп травних гідролаз, що відображається у рівні їхньої активності. Саме вона у поєднанні з такими рибницькими показниками, як приріст маси та смертність, дає змогу оцінити ефективність внесення дослідних концентрацій дріжджів у корми для молоді російського осетра.

Виклад основного матеріалу дослідження. Дослідження були проведені впродовж 2016–2018 рр. на базі ДПДГ «Львівська дослідна станція Інституту рибного господарства НААН». Об'єктом досліджень була молодь російського осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*), яка на стадії передличинки була поміщена в рециркуляційну аквакультурну систему (РАС) та впродовж двох тижнів від початку екзогенного живлення споживала виключно артемію, яку згодовували кожні 2 години, з перервою у 6 годин. У цей період температурний режим підтримували на рівні 19 °С.

Після переходу на штучний корм, який було здійснено після двох тижнів годівлі, а саме на 24 добу після викльову, молодь російського осетра розділили на дослідні групи. В кожну з них вносили різні кількості інактивованих шляхом глибокого заморожування сухих пекарських дріжджів. Було проведено два експерименти з незалежними контрольними групами. В першому дві дослідні групи отримували стартові корми із вмістом дріжджів у них на рівні 10 та 40%, в другому – третя та четверта дослідні групи отримували 5 та 15% дріжджів у складі стартового корму. У кожній групі було по 500 особин молоді. Контрольна група споживала стандартний стартовий комбікорм, виготовлений фірмою «Біомар» – «Ініціо+», без додавання дріжджів. Перший експеримент тривав 7 діб, другий – 21 добу. Протягом періоду годівлі аналізували ріст, смертність, динаміку маси мальків осетра.

Кожних 7 діб після початку експерименту відбирали 1 г личинок із метою аналізу активності травних ферментів. Для цього їх піддавали анестезії 0,2%-м розчином препарату «Пропісцин», а потім відпрепаровували травний тракт та згодом, мірою лінійного росту, проксимальну ділянку кишечника, що розташована після залозистого шлунку, та розміщали зазначені препарати в камеру глибокого заморожування (–80 °С) рідким азотом. Після розморожування здійснювали гомогенізацію тканин, центрифугування та в супернатанті визначали активність основних груп травних ензимів на прикладі α -амілази, ліпаз (стеапсинів) та трипсину.

Активність амілази визначали методом Джінг Фу (1998 р.), використовуючи 2-хлоро-4-нітрофеніл- α -D-мальтотріозу за температури 25 °С [8, с. 141]. Активність ліпаз та трипсину визначали за методикою, модифікованою М. Камашевським [8, с. 1]. Загальний вміст білка визначали за методом Лоурі (1951 р.) [9, с. 270]. Перерахунок активності травних ензимів здійснювали в перерахунок на 1 г білка.

Цифрові дані отриманих результатів опрацьовували методами варіаційної статистики, за допомогою кореляційного і регресійного аналізу, використовуючи комп'ютерні програми «Microsoft Office Excel 2007» та «Statistica-6». Аналіз величин виконано за системою абсолютних значень. Критеріями аналізу показників були їхні середня величина та похибка ($M \pm m$), відхилення (σ), показник мінливості (Cv).

Результати проведених досліджень демонструють залежність між часткою інактивованих дріжджів, що додавали до стартових кормів, та силою її впливу на рівень активності травних ензимів у личинок та молоді російського осетра. Нижче ми розглянемо це твердження на прикладі трьох основних груп ензимів, задіяних у процесі перетравлення їжі, – амілаз, ліпаз та трипсину.

Серед амілаз, тобто ензимів із класу гідролаз, що каталізують гідроліз крохмалю, глікогену і інших споріднених оліго- та полісахаридів, головним чином за 1,4- α -глюкозидним зв'язком, для перевірки нашої теорії була обрана α -амілаза. Вона є найпоширенішим (присутня у тварин, рослин та мікроорганізмів) гідролітичним панкреатичним ензимом, задіяним у гідролізі цукрів, що містять поспіль три або більше залишків глюкози. Цей ензим здатний розщеплювати зв'язки між будь-якими залишками глюкози, причому залишки моносахаридів у місці розриву мають конфігурацію α -А-аномерів. Саме α -амілаза перетворює амілозу крохмалю на глюкозу і мальтозу. Їй притаманні слабокислі властивості та активація йонами Ca^{2+} і Cl^- . На вміст дріжджів у раціоні російського осетра вона реагує доволі швидко: так, зміни рівня активності α -амілази спостерігаються вже за добу (рис. 1, рис. 2).

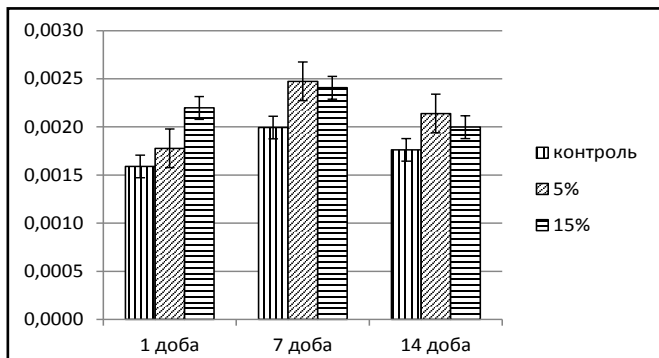


Рис. 1. Рівень активності α -амілази (U/мг білка) за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 5 та 15% у стартовому кормі для осетрів

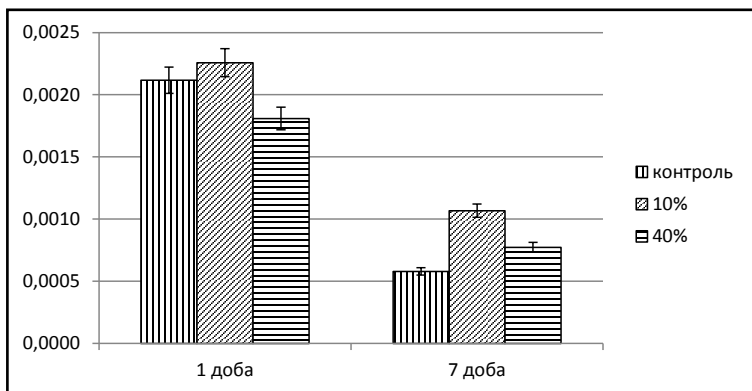


Рис. 2. Рівень активності α -амілази (U/мг білка) за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 10 та 40% у стартовому кормі для осетрів

Отже, вміст інактивованих пекарських дріжджів у раціоні в кількості 5, 10 та 15% впливає на підвищення рівня активності перетравлення вуглеводів у кишечнику молоді російського осетра, але збільшення вмісту до 40% призводить до її зниження. Аналогічна ситуація простежується і після семи діб експериментальної годівлі. Так, найвищий рівень активності α -амілази, порівняно з контрольною групою риб, спостерігається в групі риб, які споживали корми з вмістом дріжджів рівним 5%. Загалом після семи діб експерименту у всіх дослідних групах зареєстрований підвищений рівень активності α -амілази щодо контролю. Однак найбільша різниця в активності цього ензиму помічена в групах, яким згодовували 10 та 5% дріжджів, що перевищувало контрольні показники на 83 та 25% відповідно. За умов продовження експериментальної годівлі була простежена тенденція до збільшення рівня активності α -амілази за умов вживання 5% дріжджів у кормах. Оскільки в складі пекарських дріжджів є близько 40% вуглеводів, зростання їх вмісту у раціоні могло безпосередньо впливати на підвищення активності α -амілази [10, с. 116]. Однак перевищення оптимальної дози справляє прямо протилежний ефект, що свідчить про істотний вплив опосередкованих процесів,

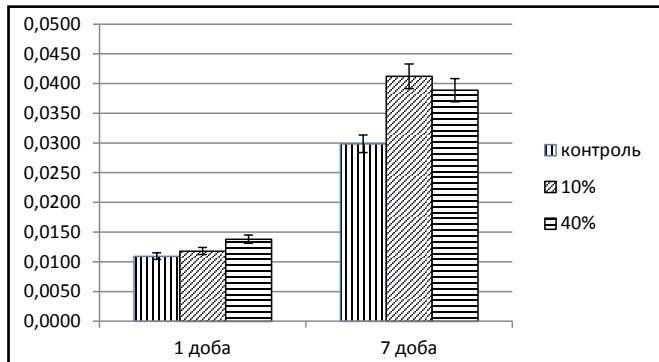


Рис. 3. Рівень активності ліпаз за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 10 та 40% у стартовому кормі для осетрів

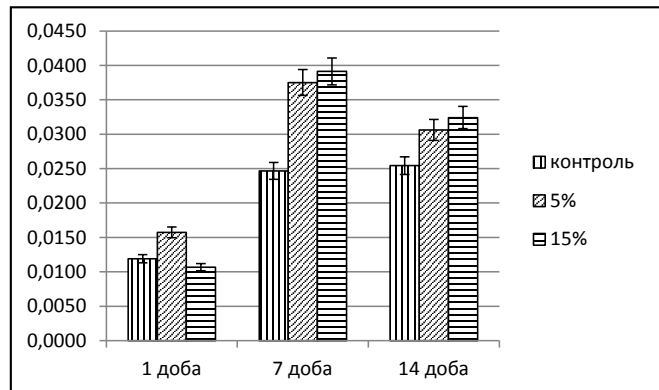


Рис. 4. Рівень активності ліпаз за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 5 і 15% у стартовому кормі для осетрів

які негативно відображаються на гідролітичних характеристиках вуглеводів. Очевидно, це пов'язано зі зрушенням нормального балансу мікрофлори кишечника, що спостерігали інші автори [4, с. 532; 11, с. 49; 12, с. 129].

Іншою важливою групою ензимів є ті, що каталізують ліпіди, серед них ми обрали родину ліпаз (стеапсинів) – водорозчинних естераз (КФ 3.1.–). Вони каталізують гідроліз нерозчинних естерів – ліпідних субстратів, впливаючи на специфічний фрагмент гліцеринового скелета останніх. В організмі молоді російського осетра ці ензими сприяють перетравленню, розчиненню та фракціонуванню жирів. Вплив інактивованих пекарських дріжджів на рівень активності ліполітичних ензимів проілюстрований на рис. 3 і 4.

Таким чином, вищенаведені графічні дані відображають зростання рівня загальної ліполітичної активності вже після 7 діб експерименту. Ми можемо стверджувати, що її підвищенню сприяє саме введення сухих інактивованих пекарських дріжджів до раціону молоді російського осетра. Так, використання частки дріжджів рівної 5% у складі стартового корму індукує зростання рівня активності ліпаз на 51,8%. Однак цей показник практично не відрізняється від такого для

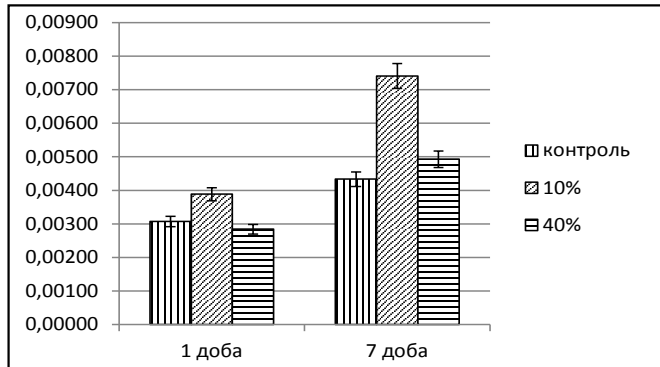


Рис. 5. Рівень загальної активності трипсину за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 10 та 40% у стартовому кормі для осетрів

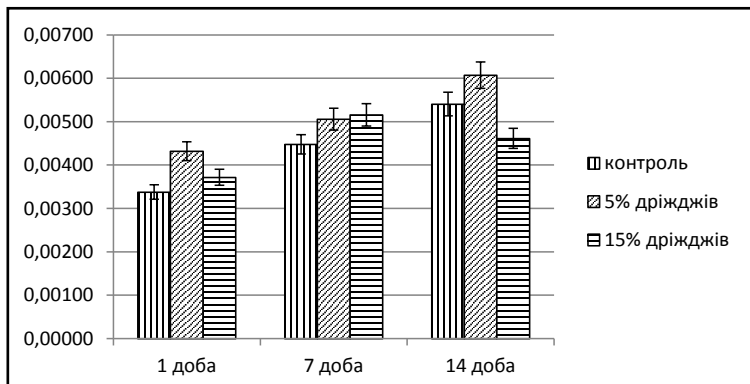


Рис. 6. Рівень загальної активності трипсину за умов вмісту інактивованих пекарських дріжджів 5 і 15% у стартовому кормі для осетрів

15%-ї частки. У разі порівняння 10 та 40% вмісту дріжджів у кормі спостерігається прямий вплив на жиророзчинні процеси в організмі, проте він є більш оптимальним за меншої концентрації. Тобто найбільш ефективними є введення 5 або 10% дріжджів у раціон молоді російського осетра.

Вплив пекарських дріжджів у раціоні російського осетра на рівень активності протеолітичних ферментів останнього ми простежили на прикладі трипсину (КФ 3.4.21.4) – ензиму з класу гідролаз, серинової протеази. Здебільшого він каталізує пептидні зв'язки на карбоксильній стороні амінокислот лізину і аргініну, крім випадків, коли за ними слідує пролін. Загалом його діяльність пов'язана з розщепленням білків до коротких молекул – олігопептидів та амінокислот, які в організмі молоді російського осетра потрібні у великих кількостях, оскільки, своєю чергою, виконують структурну функцію. Зокрема, відомо, що на ранніх етапах свого розвитку, після переходу на екзогенне живлення, російський осетер демонструє прирости, що сягають 15–35% від маси його тіла за добу [13, с. 117]. При введенні пекарських дріжджів до раціону молоді російського осетра за першу добу не спостерігається істотних змін у рівні активності трипсину (рис. 5 і 6). Однак на сьому добу експерименту зареєстровано стрімке підвищення рівня його гідролітичної активності, особливо за умов споживання корму з 5, 10 і 15% дріжджів.

Не виявлено суттєвої різниці між застосуванням 5 і 15% дріжджів у раціоні молоді російського осетра впродовж семи діб. Так, зазначені дози сприяють підвищенню рівня активності трипсину на 12,9 та 15,2% щодо контрольної групи. Під час експериментальної годівлі за 14 діб було виявлено, що вміст 5% дріжджів у кормах підвищує рівень активності трипсину щодо контрольної групи на 12,2%. Варто підкреслити, що застосування 15% дріжджів індукує зниження рівня активності цього ензиму на 14,8%. Останнє можна пояснити тим, що хоча в дріжджах є велика кількість протеїну, він переважно перебуває у вигляді олігопептидів та амінокислот, які є об'єктами ди- та три-пептидаз, які беруть участь не лише в гідролізі, але й у транспорті нутрієнтів. Тому висока присутність дріжджів у кормі у більших кількостях не збільшує активності трипсину в кишечнику російського осетра, а навпаки, призводить до втрати його функціональності. З цього випливає, що більш доцільним є використання 5%-го вмісту інактивованих пекарських дріжджів у стартових кормах для молоді російського осетра. Зазначені дози не порушують збалансованого перебігу травних процесів, а сприяють як опірності організму, так і його росту.

Висновки і пропозиції. З метою оптимального функціонування травного тракту молоді російського осетра, зокрема підтримання високого рівня активності травних ферментів із класу гідролаз (на прикладі амілаз, ліпаз та трипсину), доведена доцільність використання інактивованих пекарських дріжджів у кількості 5% від маси основного корму. Зазначена концентрація сприятиме підвищенню активності вищезгаданих ензимів на 25%, причому для ліпаз цей показник становить 51%, а для трипсину – 12,2%. Отже, введення у раціон молоді російського осетра на ранніх етапах постембріонального розвитку пекарських дріжджів сприяє підвищенню ефективності роботи травної системи риб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Effect of dietary nucleotide on antioxidant activity, non-specific immunity, intestinal cytokines, and disease resistance in Nile Tilapia / Rasha M. Reda et al. *Fish & Shellfish Immunology*. 2018. Vol. 80. P. 281–290.

2. Comparative evaluation of Brewer's yeast as a replacement for fishmeal in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*), reared in clear water or biofloc environments / Nguyen Huu Yen Nhi et al. *Aquaculture*. 2018. Vol. 495. P. 654–660.
 3. Evaluation of dried yeast and threonine fermentation bioass as partial fish meal replacements in the diet of red drum (*Sciaenops acellatus*) / Rosales M. et al. *Animal Feed Science and Technology*. 2017. Vol. 232. P. 190–197.
 4. Effects of dietary inclusion of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* on gut microbiota of rainbow trout / Huyben D. et al. *Aquaculture*. 2017. Vol. 473. P. 528–537.
 5. Dietary yeast *Sterigmatomyces halophilus* enhances mucosal immunity of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) / Reyes-Becerril M. et al. *Fish & Shellfish Immunology*. 2017. Vol. 64. P. 165–175.
 6. Гальперин Ю.М., Лазарев П.И. Пищеварение и гомеостаз. Москва: Наука, 1986. 304 с.
 7. Ying Foo A., Bais R. Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltotrioxide as substrate. *Clinica Chimica Acta*. 1998. № 272. P. 137–147.
 8. Effects of *Artemia* sp. with essential fatty acids on functional and morphological aspects of the digestive system in *Acipenser gueldenstaedtii* larvae / Kamaszewski M. et al. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2014. № 14. P. 1–2.
 9. Protein measurement with the folin phenol reagent / Lowry O. H. et al. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951. №193. P. 265–275.
 10. Симон М.Ю. Використання кормових дріжджів у годівлі осетрових (*Acipenserinae*) видів риб (огляд). *Рибогосподарська наука України*. 2015. № 4(34). С. 100–126.
 11. Шипулин С.В., Волкова И.В., Ершова Т.С. Особенности реализации пищеварительной функции у осетровых рыб. *Успехи современного естествознания*. 2007. № 10. С. 49–50.
 12. Симон М.Ю. Особливості травлення осетрових видів риб (*Acipenseridae*) на годівлю штучними кормами в УЗВ (огляд). *Рибогосподарська наука України*. 2016. № 3(37). С. 123–144.
 13. Симон М.Ю. Особливості переходу ранньої молоді осетрових риб (*Acipenseridae*) на годівлю штучними кормами в УЗВ (огляд). *Рибогосподарська наука України*. 2016. № 1(35). С. 106–126.
-