

**УНИВЕРЗИТЕТ СВ. „КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ СКОПЈЕ  
ИНСТИТУТ ЗА СТОЧАРСТВО**

**Магистерски труд**

**ПРОЦЕНКА НА БЛАГОСОСТОЈБАТА НА КАФЕЗНО  
ОДГЛЕДУВАН КРАП ПРИ РАЗНИ КОНЦЕНТРАЦИИ  
НА ДИЕТАЛЕН ПРОБИОТИК**

**Ивица ПАНЧЕВСКИ, др. вет. мед.**

**Скопје, 2022**

**Ментор:**

Проф. д-р Васил Костов, редовен професор при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ -  
Институт за сточарство, Скопје

**Комисија:**

Проф. д-р Васил Костов, редовен професор при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ -  
Институт за сточарство, Скопје

Проф. д-р Родне Настова, редовен професор при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ -  
Институт за сточарство, Скопје

Науч. сор. д-р Александар Цветковиќ, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Факултет  
за ветеринарна медицина, Скопје.

Датум на одбрана: \_\_\_\_\_

Датум на промоција: \_\_\_\_\_

Научна област: Рибарство



## БЛАГОДАРНОСТ

Сакам да изразам посебна благодарност до менторот, **проф. д-р Васил КОСТОВ**, за планирањето и изработката на овој труд, за несебичноста во преносот на знаење и искуство, како и за продуктивните идеи и дискусии.

Се заблагодарувам и на **проф. д-р Родне НАСТОВА** за стручните совети и издвоеното време.

Голема благодарност изразувам и за **д-р Александар ЦВЕТКОВИЌ**, за целокупната поддршка, совети, мотивацијата како и позитивната енергија.

Посебно благодарам до **проф. д-р Весна ЛЕВКОВ**, за посветеноста и толеранцијата, за несебичната помош на секој чекор.

Секако, должам благодарност и до **м-р Ирина МАНЕВСКА**, со која заеднички поминавме многу заеднички терени, за меѓусебната помош и поддршка.

На сите вас Ви благодарам за нештедливоста во преносот на советите, знаењата и помошта.

Оваа магистерска работа ја посветувам на **мојата фамилија**, кои секогаш се безрезервни во поддршката и бодрењето.

## ПАНЧЕВСКИ, И. (2022). ПРОЦЕНКА НА БЛАГОСОСТОЈБАТА НА КАФЕЗНО ОДГЛЕДУВАН КРАП ПРИ РАЗНИ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ДИЕТАЛЕН ПРОБИОТИК

### АПСТРАКТ

Директивата на Советот на ЕУ 98/58/ЕЗ за заштита на животните кои се чуваат за земјоделски цели ги утврдува минималните стандарди за заштита на животните, вклучувајќи риби. Обичниот крап (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), е вид на риба која се одгледува во најголем број. Токму затоа, а со оглед на тоа дека се уште не постои усвоен протокол за испитување на благосостојбата на крапот одгледуван во аквакултура, во овој труд се направи напор да се воспостави соодветен протокол за истото.

Во овој труд се дава преглед на условите и факторите на животната средина, како и преглед на здравствената состојба на одгледуваниот крап, во услови кога тој се исхранува со комерцијална храна, но и храна сиплементирана со експериментален пробиотик, како можни индикатори на благосостојбата на обичниот крап.

Беше спроведена проценка на ризикот за да се добие квантификација на статусот на благосостојба на крапот при аквакултурно одгледување.

Болеста е едно од главните прашања за благосостојбата за време на целиот период на одгледување риби. Во случај на крап тоа е особено поврзано со животната средина. Повеќето патогени на крап се присутни факултативни патогени во околината.

Резултатите од овој труд покажаа не само позитивно влијание на храната суплементирана со експериментален пробиотик врз целокупната благосостојба на рибите, туку и поголемо производство на риба.

**Клучни зборови:** крап, благосостојба на животните, проценка на ризик, одгледување риби, аквакултура, услови на животната средина, биотски фактори, хранење, пробиотици, болест.

**PANCEVSKI, I. (2022). WELFARE ASSESSMENT OF CAGE CULTURED COMMON CARP AT VARIOUS CONCENTRATIONS OF DIETARY PROBIOTIC**

**ABSTRACT**

EU Council Directive 98/58 / EC on the protection of animals kept for agricultural purposes sets minimum standards for the protection of animals, including fish. Common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), is the most widely grown species of fish. That is why, and given that there is still no adopted protocol for examining the welfare of carp raised in aquaculture, in this paper an effort was made to establish an appropriate protocol for it.

In Europe, the two main production systems (monoculture and polyculture of carp) are most commonly practiced. This paper provides an overview of environmental conditions and factors, as well as an overview of the health status of farmed carp, in conditions when it is fed with commercial food, but also food implemented with experimental probiotic, as possible indicators of the welfare of common carp .

A semi-quantitative risk assessment was conducted to quantify the welfare status of carp in aquaculture.

Disease is one of the main issues for the welfare of the entire fish farming period. In the case of carp it is particularly related to the environment. Most carp pathogens present facultative pathogens in the environment.

However, the results of this paper showed not only a positive effect of food supplemented with an experimental probiotic on the overall well-being of fish, but also higher fish production.

**Keywords:** carp, animal welfare, risk assessment, fish farming, aquaculture, environmental conditions, biotic factors, feeding, probiotics, disease.

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни кон-  
центрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

СОДРЖИНА	страна
АПСТРАКТ	4
ABSTRACT	5
<b>1. ВОВЕД</b>	<b>8</b>
1.1. АКВАКУЛТУРА	8
1.2. КРАП ( <i>Cyprinus carpio</i> )	12
1.3. ОДГЛЕДУВАЧКИ СИСТЕМИ ЗА КРАП ВО АКВАКУЛТУРА	16
1.4. ПРОБИОТИЦИ ВО ХРАНА	19
1.4.1. Што е пробиотик?	21
1.4.2. Механизми на делување	22
1.4.2.1. Конкурентско исклучување	23
1.4.2.2. Извор на хранливи материи и ензимски придонес во варењето на храната	24
1.4.2.3. Влијание врз квалитетот на водата	24
1.4.2.4. Зајакнување на имунолошкиот одговор	25
1.4.2.5. Антивирусни ефекти	25
1.4.3. Колонизација	26
1.4.4. Избор на пробиотици	28
1.4.5. Разгледување на прописи за употреба на пробиотици	30
1.4.6. Пробиотски соеви проучени во аквакултура	31
1.5. БЛАГОСОСТОЈБА НА РИБИ	35
1.5.1. Услови на животната средина во проценката на благосостојбата	36
1.5.2. Други индикатори кои се користат за проценка на благосостојбата на рибите	38
1.5.3. Проценка на благосостојбата на рибите во пракса	40
1.5.4. Здравствен преглед на рибите	46
1.5.5. Преглед на одредени органи во рибите	47
1.5.6. Состојба на стрес	48
1.5.7. Однесување на рибите	50
<b>2. ЦЕЛ НА МАГИСТЕРСКИОТ ТРУД</b>	<b>55</b>
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ</b>	<b>57</b>
3.1. Локација	57
3.2. Храна за риби и подготовка на пробиотик	58
3.3. Хемиски анализи на вода	60
3.4. Експеримент	60
3.4.1. Контролно мерење на рибите од експерименталните групи А, В и С	62
3.4.2. Параметри кои се следеа во овој магистерски труд	63
3.4.3. Протокол за проценка на благосостојба	64
<b>4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА</b>	<b>67</b>
4.1. Физичко-хемиски карактеристики на водите во езерото Козјак	67
4.1.1. Температура	68
4.1.2. Растворен кислород	70
4.1.3. Електрохемиска реакција рН	71
4.2. Хемиска анализа на комерцијална храна суплементирана со експериментален пробиотик	72
4.3. Контролни мерења од фаза на одгледување на подмладок	73
4.4. Проценка на благосостојба на кафезно одгледуван крап	77
<b>5. ЗАКЛУЧОК</b>	<b>105</b>
<b>6. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА</b>	<b>108</b>
<b>БИОГРАФИЈА</b>	<b>132</b>



## 1. ВОВЕД

### 1.1. АКВАКУЛТУРА

Денес, аквакултурата е најбрзо растечки сектор за производство на храна во светот, кој постојано се развива, се шири и интензивира. Subasinghe и сор. (2009) наведуваат дека светската аквакултура се развива многу брзо. Производството на риба во 1950 година било помалку од еден милион тони, во 2002 година било 127,8 милиони тони, а во 2021 година биле произведени дури 178,1 милиони тони. Може да се каже дека е индустрија која расте побрзо од кое било друго животинско производство. Според Vostock и сор. (2010), аквакултурата во 2007 година придонесува со своите производи, како храна за човечка исхрана, со 43%. Големиот напредок и развој на аквакултурата, Vostock и сор. (2009) го објаснуваат како последица на комбиниран ефект: стагнација во количината на уловена риба, пораст на светската популација и промени во културата на човековата исхрана, зголемување на богатството и позитивна слика за важноста на храната од аквакултура.

И покрај стабилниот глобален раст, сè уште постои значајна разлика во придонесот на рибните производи од аквакултура во исхраната на луѓето во развиените и земјите во развој, како и во начинот на кој овие производи се користат. Повеќето од разликите се припишуваат на разликите во нивоата на приходи, навиките во исхраната, традициите, достапноста и цената на рибите, социо-економскиот статус и сезоната (Mazur и сор., 2010).

Бројот на различни видови организми кои се одгледуваат во аквакултура постојано се зголемува во светот (Garibaldi, 1996). Pillay (2005) наведува дека дури 465 различни видови организми, 28 фамилии на водни растенија и 107 фамилии на животински организми се одгледуваат во аквакултурата. Tacon и сор. (2010) наведува дека денес во аквакултурата се одгледуваат 340 различни растителни и животински видови, од кои рибите сочинуваат 48,9%, водните растенија 22,7%, мекотелита 20,1% и раковите 7,5% од производството. Овој број на култивирани организми укажува на тоа дека постои голем избор на организми кои можат да се одгледуваат во различни региони во светот, како и голем број производни системи што ги користат одгледувачите.



Производството во аквакултурата е организирано во производни објекти поставени во слатка вода (60%), солена, морска, вода (32%) и брахична, солена вода, (8%) (Swaminathan, 2010).

Светското производство на водни организми постојано расте (Табела 1). Вкупната количина на риби (од аквакултура и риболов) во 2001 година (без водни растенија) изнесува 130,2 милиони тони, од кои 37,9 милиони тони се произведени во аквакултура, додека во 2018 година дури 82,1 милиони тони риби се произведени во аквакултура (FAO, 2020). Најдобрите седум земји според процентот на глобално заловување на риби придонесуваат со речиси 50 проценти од вкупните заловувања, со Кина која произведува 15 отсто од вкупната количина, Индонезија (7 проценти), Перу (7 проценти), Индија (6 проценти), Руската Федерација (5 проценти), Соединетите Американски Држави (5 проценти) и Виетнам (3 проценти) (FAO, 2020).

**Табела 1. Аквакултурно производство во зависност од водената средина (изразено во тони)**

водена средина	1990	1997	2000	2003	2008	2018
слатка вода	7 620 418	16 136 892	18 471 971	22 039 411	31 486 051	60 200 000
морска вода	4 151 007	9 626 991	11 833 004	14 142 479	16 990 899	47 000 000
мешана вода	1 302 675	1 557 996	2 111 135	2 733 212	4 069 255	7 300 000
<b>вкупно производство</b>	13 074 100	27 321 879	32 416 110	38 915 102	52 546 205	114 500 000

Според податоците на FAO (2020), во 2018 година, светско производство на риба од аквакултура достигнало 82,1 милиони тони, на алги 32,4 милиони тони, и на школки 26 000 тони, со што вкупното производство изнесувало 114,5 милиони тони.

Придонесот на светската аквакултура во глобалното производство на риба достигна 46,0 отсто во 2018 година, споредено со 25,7 отсто во 2000 година. На регионално ниво, аквакултурата учествува со 17,9 отсто од вкупното производство на риба во Африка, 17,0 проценти во Европа, 15,7 проценти во Америка и 12,7 проценти во Океанија. Уделот на аквакултурата во производството на риба во Азија (со исклучок на Кина) достигна 42,0 проценти во 2018 година, од 19,3 проценти во 2000 година (FAO, 2020).

На глобално ниво, количината на потрошена риба по глава на жител во 2009 година изнесувала околу 17,2 kg, а оваа количина се предвидува да се зголеми во наредниот период (Swaminathan, 2010). Rana (2007) проценува дека во 2030 година аквакултурата ќе обезбеди половина од потребите за риба и производи од риба, а во 2050 година аквакултурата ќе произведе дури 80 милиони тони.

Секторот аквакултура станува сè поважен фактор во производството на храна, а со тоа и неговиот постојан раст во последните две децении во Европа.

Европските технологии и знаење значително придонесуваат за глобалниот развој. Системите за одгледување, технологиите и претставените култивирани видови се многу разновидни. Значајните истражувања се насочени кон подобрување на ефикасноста на производните системи и квалитетот на произведената риба.

Генерално, аквакултурата во Европа има маргинален придонес за националното вработување и економијата. Вкупните вработувања во аквакултурата моментално се околу 150.000 со полно работно време, а исто толку и со скратено работно време, што може да доведе до значителна економска активност и вработување на локално ниво. Екстензивните и полуинтензивните системи на одгледување вработуваат повеќе луѓе по единица производство отколку интензивните системи (Varadi и сop., 2010).

Аквакултурата како производствен сектор во Европа е многу разновидна. Се движи од традиционално и семејно одгледување риби и ракови, преку средни рибници до мултинационални поморски компании. Применетата технологија во производството покажува и голема разновидност. Сепак, повеќе од 90% од фармите се мали, географски расфрлани низ Европа (Varadi и сop., 2000).

Вкупното рибно производство во Европа во 2008 година, реализирано од улов и одгледување во услови на фарма, достигна капацитет од 15 милиони тони. Со ова производство се класифицира на третиот континент, зад Азија (93.579.337 тони) и Латинска Америка со Карибите (17.703.530 тони). Земајќи го предвид обемот на производството и бројот на жители кои се занимаваат со риболов и земјоделство (околу 640.676), Swaminathn (2010) ја рангираше Европа на прво место со

производство од 23,9 тони по рибар годишно. Следат Океанија (23,1), Северна Америка (18,3), Латинска Америка со Карибите (13,8), Азија (2,4) и Африка со 2 тони годишно.

Во Европа, обемот на производството на аквакултура се зголеми од 1.622.000 тони во 1990, на 3 083 000 тони во 2018, додека вредноста на производството се удвои од 4.076 милиони американски долари на 8.812 милиони американски долари.

**Табела 2. Аквакултурно производство во Европа.**

регион/ земја	1995	2000	2005	2010	2015	2018
<b>Европа (+ Кипар)</b>	1 581 400	2 052 600	2 137 300	2 527 000	2 948 600	3 082 600
<b>Норвешка</b>	277 600	491 300	661 900	1 019 800	1 380 800	1 354 900
<b>ЕУ</b>	1 182 600	1 402 500	1 272 400	1 263 300	1 263 700	1 364 400
<b>остаток од Европа</b>	121 200	158 700	203 100	243 900	304 000	363 200

Во зависност од производството, 27-те земји-членки на Европската унија (ЕУ27) се групирани во три региони: Централна и Источна Европа (крап - *Cyprinus carpio*, калифорниска пастрмка - *Oncorhynchus mykiss*, африкански сом - *Clarias gariepinus*, есетра- *Acipenser ruthenus*), Северна Европа (лосос - *Salmo salar*, калифорниска пастрмка - *O. mykiss* и морска пастрмка - *Salmo trutta trutta*, јагула - *Anguilla anguilla*, школки - *Perna perna*, остриги - *Ostrea edulis*) и Медитеран (бранцин - *Dicentrarchus labrax*, остриги - *O. edulis*, риба лист - *Scophthalmus maximus*, школки - *Mytilus galloprovincialis*, школки - *Chamelea galina*). Земјите кои не се членки на ЕУ 27 со значително развиен сектор за аквакултура и рибарство ја сочинуваат четвртата група.

Република Северна Македонија има одлични услови за развој на аквакултурата. Заводот за рибарство, формиран 1954 година, и другите институции кои биле фомирани во тоа време во Македонија своите активности ги насочиле кон унапредување на техниките за риболов, зголемување на производството на риба, унапредување на технологиите во новите рибници преку ихтиолошки, хидробиолошки и други научни испитувања. На почеток, рибарството во Македонија било застапено на трите природни езера, а по Втората светска војна започнува и интензивен развој на аквакултурата

(Програма за унапредување на рибарство и аквакултура за период 2013-2024, Сл. весник на РМ, 46/2012).

Аквакултурното производство во Македонија, како производна дејност, започнало во почетокот на шеесетите години од минатиот век, со изградбата на првите топоводни рибници „Букри“ и „Бел Камен“ во битолско, и првите пастрмски рибници „Бањани и Вруток“, во гостиварско (Програма за унапредување на рибарство и аквакултура за период 2013-2024, Сл. весник на РМ, 46/2012). Овие пионерски зафати оставија длабока трага во рибопроизводството. Од тогаш па наваму, во нашата земја се изградени повеќе рибници, а во последните петнаесеттина години вниманието и интересот за изградба на нови рибници и кафезни фарми е се поголемо.

Според податоците од извештајот на Државниот завод за статистика (објавен во 2015 година) во периодот од 2008 до 2014 година се забележуваат варијации во производството на риба во Р. С. Македонија. Најголемо производство на риба од 1664 тони е регистрирано во 2010 година од кои 1238 тони е пастрмка, а остатокот отпаѓа на крап, сом и други видови риба. Во 2014 година е регистрирано производство од 1496 тони на риба од кои 1068 тони на пастрмка. Поголем дел од производството на пастрмка, односно 956 тони се обезбедува од аквакултурното производство.

Кафезното производство на риба во нашата земја започнува кон крајот на осумдесеттите години од минатиот век, со изградба на првите кафезни фарми за производство на пастрмка во Мавровското и Дебарското езеро, а покасно и во акумулацијата Стрежево, каде производството било комбинирано (производство на крап во летниот период, и на пастрмка во есенско-зимскиот период) (Програма за унапредување на рибарство и аквакултура за период 2013-2024, Сл. весник на РМ, 46/2012).

## **1.2. КРАП (*Cyprinus carpio*)**

Крапот потекнува од умерените региони на Евроазија. Распространет е во светот и поради предностите во производниот циклус се одгледува во фарми ширум светот. Во

средината на 19 век, тој бил внесен во водите на Северна Америка, каде што и денес е многу распространет. Најраспространет е во еутрофичните води на езерата и реките во Европа и Азија.

Одгледувањето крап во Европа има долга историја. Првите пишани податоци за методите на мрестење датираат од 16 век од Чехот Јан Дубравиус. Денес, многу европски земји имаат развиена методологија за одгледување, па се проценува дека вкупната површина под рибници со крап е околу 390.000 ha (Vogut и сор., 2006).

Телото на крапот е умерено издолжено и странично зарамнето, со заоблен дорзален и вентрален дел. Се карактеризира со силна мускулатура. Расте во должина од повеќе од еден метар и тежи до над 40 килограми. Телото може да биде целосно покриено со големи лушпи, делумно или целосно голо. Бојата значително варира и зависи од околината во која се наоѓа крапот. Во дорзалниот дел од телото на возрасната риба таа е претежно жолтеникаво-златна над маслинесто зелена и кафеава, па дури и црна, додека вентралниот дел е посветол, сребрен до жолт (Симоновиќ, 2001). Долните делови на аналните и опашките перки често се црвеникави. Поради мутации, бојата на дивниот крап може да се промени во бела или црвена, што се искористило во селекција и како краен производ резултирало со добивање на крап со различни бои (кои крап). Основата на грбната перка е долга. Се состои од 17 до 22 краци, од кои првата коска е назабена, неразгранета, тврда и конкавна. Каудалната перка има 6 до 7 меки краци, од кои првата е осифицирана, неразгранета и назабена. Каудалната перка е симетрична, дифузна, а страничната линија е комплетна. Устата е крајно поставена, со два пара кратки мустаќи на аглите на усните. Може да се формира и изросток налик на цевка во кој крапот ја цица храната од калливата површина. Забите се триредни, молариформни и рамни, поставени во форма на коронка и имаат улога во распаѓањето на поголемите зрна.

Чувството за вкус е добро развиено, со бројни рецептори лоцирани на дорзалната страна на усната шуплина. Хранопроводникот е краток и тече директно во цревата, што кај возрасните е 2,5 до 3 пати подолго од должината на телото. Бидејќи нема стомак, нема кисела дигестивна реакција. Според видот на исхраната е омнивор (сештојад) и користи храна од животинско потекло, зоопланктон (ракчиња) и фауна на дно (црви, инсекти, мекотели... и др.). Во природни услови користи и храна од

растително потекло како семиња од водни и копнени растенија, млади ластари, лисја и стебла од водни растенија, но поради зголеменото присуство на целулоза и лигнин, варењето и искористувањето на материјата е многу полошо (Марковиќ, 2010).



Слика 1. Крап (*Cyprinus carpio*). (извор: Wikipedia).

Исхраната е многу важен (ако не и најважен) сегмент во технологијата на одгледување риби (во зависност од системот на одгледување), бидејќи сочинува од 50 до 60% од вкупните трошоци за производство (Okumus и Vascinar, 2001). Одржувањето и растот на рибниот организам и сите нивни активности како што се започнување, производство и репродукција, бараат хранливи материи (кои вклучуваат протеини, масти, јаглехидрати, витамини и минерали), вода и кислород. Едноставно кажано, на рибниот организам му треба храна, кислород и вода (Adamek, 2006). Со оглед на тоа што системот на полуинтензивно одгледување е доминантен облик на производство во светот, односно дека во вкупното светско производство учествува со над 70%, изборот на додадена храна зависи од нутритивните потреби на одгледуваните видови риби, достапноста, цената и квалитетот на храната (Adamek, 2006).

Бројот и големината на оброците во текот на денот зависи од големината на рибата, видот и квалитетот на храната, квалитетот и температурата на водата. Alanãrã и сор. (2001) го опишуваат оброкот како количина на храна потрошена во еден оброк, обично трае помеѓу 30 минути и 2 часа. Оброкот може да биде еден (ако се дава како целина во текот на денот) или составен од неколку поединечни порции во текот на денот, што е подобра опција во однос на искористувањето на храната и растот на рибите. Изборот

и распоредот на хранење треба да се засноваат на знаење за однесувањето на рибите, бидејќи исхраната значително зависи од температурата.

Големината на честичките на храната треба да ја следи големината на рибата. Во почетокот, треба да се користат најмалите честички, високи нутритивни вредности кои се прават во форма на прав или снегулки. Ова е неопходно бидејќи е важно да се обезбеди лесна апсорпција на храната без поголема потрошувачка на енергија, или сите хранливи материи неопходни за непречен раст и развој. Кога големината на рибата дозволува, тие се префрлаат на поголема гранулирана храна, која пропорционално се зголемува како што расте рибата. Пелетите треба да бидат зрнесто соодветни на големината на рибата, лесно сварливи и голтани, за да не губат многу енергија и време за совладување.

Во природата, крапот го населува средниот и долниот тек на бавнотечните реки и езера со калливо тло каде што бреговите се обраснати со водни растенија, макрофити. Исто така, толерира вода што е малку солена, како и алкална вода. Може да се одгледува во вода со соленост до 20 ‰, но покажува намален раст (Воеск и сор., 2000).

Крапот е многу прилагодлива риба, толерантна на големи варијации во екосистемот. Виталните функции на рибите како поиклотермични организми се директно под влијание на температурата на околината во која се наоѓаат, така што температурата на телото на рибата е иста како температурата на водата или се разликува за 0,5–1°C. Кај крапот е јасно видлива сезонноста на животните активности како што се растот, созревањето, мрестот и ембрионалниот развој, што е директно поврзано со температурата на водата во одредени сезони. Оптималните температури на водата за одгледување се во опсег од 20°C до 26°C. При ниски температури речиси сите активности на крапот престануваат. Рибата престанува да јаде, се смирува на дното бидејќи метаболичките активности се сведени на минимум.

Оптималната рН вредност на водата за крапот се двожи од 6,5 до 8,5. Исто така, толерира опсег од 5 до 9 што е неповолно, но не и смртоносно. Наглите промени во рН вредноста предизвикуваат нарушувања на физиолошките процеси кај рибите и може да доведат до смрт. Во услови на кисела водна средина, слузта се акумулира на жабрите

на рибите, додека присуството на посилни киселини и бази предизвикува некротични промени во жабрите (FAO, 2012).

Содржината на кислород во водата за живот и успешно одгледување на крап треба да биде над 5 mg/l. За пократок временски период (неколку часа) може да толерира и пониски вредности, Недостатокот на кислород во рибниците е ограничувачки фактор во производството. Помладите единки се многу почувствителни од возрасните. Недостатокот на кислород во рибниците може да доведе до масовна смрт.

### **1.3. ОДГЛЕДУВАЧКИ СИСТЕМИ ЗА КРАП ВО АКВАКУЛТУРА**

Funge-Smith и Phillips (2001) прецизираат дека според начинот на обезбедување храна за одгледуваните риби, густината на насадот и примената на ихтиотехничките и ихтиосанитарни мерки, во аквакултурата се разликуваат три системи на одгледување: екстензивен, полуинтензивен и интензивен.

**Екстензивниот систем** на одгледување на крап е многу едноставен систем на одгледување со ниско ниво на интервенција. Се карактеризира со тоа што не се дава дополнителна храна и рибите се упатени само на природна храна (Marković и сор., 2009). Се карактеризира со мала густина на насади, ниски трошоци за производство, но и ниски приноси, од 300 до 600 kg/ha.

Иако се карактеризира со значително помал раст во споредба со другите системи, екстензивниот систем за одгледување има свои предности: може да се изведува во постоечки капацитети, можност за користење без потреба од изградба на специјално дизајнирани базени, трошоците за производство се мали.

**Полуинтензивниот систем** е доминантна форма на производство на крап во светот (Tason, 1993). Традиционално е многу често ползуван систем на одгледување во земјите од Централна и Источна Европа (Германија, Полска, Чешка, Унгарија, Австрија, Бугарија, Украина, Хрватска, Србија) и во многу други азиски земји (Кина, Јапонија, Индија, Виетнам).



Езерата каде што се применува полуинтензивен производствен систем најчесто се градат на неквалитетно земјиште кое не може да се користи за други цели, односно за одгледување земјоделски култури (Horvath и сор., 2002). Се заснова на употребата на природна храна од езерца како извор на висококвалитетна протеинска компонента во исхраната на одгледуваниот крап, чиј развој е забрзан со примена на мерки како што се: сушење на рибниците во текот на зимата, третман со супстрати и ѓубрење. За да се задоволат енергетските потреби, во традиционалниот полуинтензивен систем, на рибите им се дава дополнителна храна во облик на житарици (пченка, пченица, овес и јачмен), легуминозни растенија (сточен грашак, соја, грав и др.), а се почесто во производството се ползува готова пелетирана храна

Во полуинтензивен систем на одгледување, приносите се движат од 700 kg/ha до 1.500 kg/ha.

**Интензивниот систем** се карактеризира со одгледување на рибите во висока густина на насади, на релативно мала производна површина, со постојана здравствена контрола и високо ниво на интервенција, каде исхраната се базира исклучиво на дополнителна храна. Одгледувањето на крап во кафези е еден од системите кој е најчесто ползуван во светот, па и кај нас.

Здравјето, растот и репродукцијата на одгледуваните видови риби, без оглед на системот на одгледување, покрај од хемиските и физичките својства на водата зависат и од соодветната исхрана, нејзиниот квалитет и квантитет.

Од економска и еколошка гледна точка, важно е да се обезбеди храна за риби која има ниска стапка на конверзија, висока стапка на раст, добро здравје на одгледуваната риба, висок квалитет на финалниот производ за конзумирање, односно месо од риба и најмало можно оптоварување на водната средина со органска материја, (Hasan, 2001; Jahan и сор., 2003). Од друга страна, производителите на риба во технолошкиот процес се стремат да ги минимизираат загубите на храна и да ја подобрат профитабилноста на производството (Bailey и Alanärä, 2006).

За храна се сметаат сите супстанции од растително, животинско и минерално потекло, како и синтетички супстанции, произведени природно или индустриски, кои, земени

орално, можат да обезбедат една или повеќе од следните функции (Đorđević и Dinić, 2007):

- да обезбеди енергија;
- да обезбеди градежен материјал за ткиво;
- да се обезбеди развој на биохемиски процеси и физиолошки функции;
- да не влијае негативно врз искористувањето на храната;
- дека не се штетни по здравјето на животните, како и на луѓето кои консумираат производи од животинско потекло и прехранбени производи од животинско потекло.

Според NRC (Национален совет за истражување), хранливите материи се поделени на: енергетски и протеински хранливи материи, витамински и минерални суплементи и адитиви (суплементи) кои не се нутритивни по природа. Од друга страна, според потеклото, хранливите материи можат да се поделат на: растителни, животински и минерални. Сепак, без оглед на критериумот што се користи за класификација, секогаш постојат одредени хранливи материи кои не ги задоволуваат карактеристиките на ниту една од овие категории или дури ги исполнуваат критериумите на повеќе од една група.

Со цел глобално да се зголеми производството во аквакултурата, постои потреба од воведување на различни компоненти во мешавините (Tacon, 2005; Kraugerud, 2008) и нивно максимално искористување. Од нутриционистичка гледна точка, компонентите од животинско потекло (првенствено рибиното брашно) имаат најдобар нутритивен потенцијал, но се и најскапи, додека компонентите од растително потекло (како брашно од соја) имаат умерени цени и постојано се достапни на пазарот (Storebakken и сoр., 2000). За да се постигне максимална профитабилност во производството, поради високата цена на поединечните компоненти (Aas и сoр., 2011a) како и постигнување подобри производствени карактеристики, важно е да се има добро познавање на потребите на различните видови, или како да ги запознаеме. Во оваа смисла, исхраната и подготовката на храна за риби имаат особено важно место.

#### 1.4. ПРОБИОТИЦИ ВО ХРАНАТА ЗА РИБИТЕ

Во интензивните системи за одгледување на крап, каде што рибите се изложени на стресни услови, честопати се јавуваат проблеми поврзани со болести и влошување на условите во животната средина и резултираат во сериозни економски загуби. Спречувањето и контролата на болестите доведоа, во последните децении, до значително зголемување на употребата на ветеринарни лекови. Сепак, корисноста на антимикробните агенси како превентивна мерка е доведена во прашање, со оглед на обемната документација за еволуцијата на антимикробната резистенција кај патогените бактерии. На глобално ниво, тони антибиотици се дистрибуираат во биосферата за време на антибиотската ера од само околу 60 години. Во Соединетите Држави, 18 000 тони антибиотици произведени секоја година за медицински и земјоделски цели, 12 600 тони се користат за не-терапевтски третмани на добиток со цел да се промовира растот (SCAN, 2003). Во Европската унија и Швајцарија, 1600 тони антибиотици, што претставува околу 30% од вкупната употреба на антибиотици кај земјоделските животни, биле слично искористени за цели за поттикнување на растот во 1997 година (SCAN, 2003). Овие количини на антибиотици извршиле многу силен притисок при селекција кон отпорноста кај бактериите, кои се прилагодиле на оваа ситуација, главно со хоризонтален и промискуитетен проток на гени на резистенција (SCAN, 2003).

Механизмите на антибиотска резистенција може да се појават на еден од двата начина: хромозомски мутации или стекнување плазмиди. Хромозомските мутации не можат да се пренесат на други бактерии, но плазмидите можат брзо да пренесат отпор (Levin, 1992). Неколку бактериски патогени можат да развијат отпор со посредство на плазмиди. Плазмидите што носат гени за отпорност на антибиотици се пронајдени кај морските видови *Vibrio spp.* и тие би можеле да бидат странично разменети. При високите популациски густини на бактерии пронајдени во аквакултурни езерца, трансфер преку плазмиди, трансдукција преку вируси, па дури и директна трансформација од ДНК апсорбирана во честичките во водата или на површината на седиментот, сите би можеле да бидат механизми за генетска размена (Moriarty, 1997) На пример, трансфер на отпорност на повеќе лекови се случи во Еквадор за време на епидемијата на колера (1991–1994) во Латинска Америка и тоа започна кај лица кои работеа на фарми за ракчиња. Иако оригиналниот епидемски вид на *Vibrio cholerae* 01 беше подложен на тестирањето 12 антимикробни агенси, во крајбрежниот Еквадор

стана отпорен на повеќе лекови со пренос на гени на отпорност на не-колера вибриуми кои се патогени за ракчиња (Weber и сор., 1994). Покрај тоа, постојат и други докази за пренос на отпорност помеѓу аквакултурните екосистеми и човекот, кога новиот ген на отпорност на хлорамфеникол floR, во *Salmonella typhimurium* DT104, кој исто така дава отпорност на хлорамфеникол, е речиси идентичен по молекуларна секвенца со генот на отпорност на флорофеникол првпат опишан во *Photobacterium damsela*, бактерија пронајдена во рибите (Angulo, 2000).

Според дефиницијата на Светска Здравствена Организација (WHO), пробиотиците се живи микроорганизми кои кога ќе се внесат во адекватна количина, придонесуваат кон здравјето на организмот примател. Поради важното влијание на водениот екосистем на здравјето на водените организми (рибите), пробиотиците во главно се дефинираат како „живи микробни додатоци“ кои имаат поволни ефекти на домаќинот преку модификација на микробиолошките заедници, како оние кои се врзани за домаќинот, така и за оние кои се во непосредното опкружување. Кога станува збор за апликација на пробиотиците во аквакултура, Merrifield и сор. (2010) истите ги дефинираат како “микробни клетки обезбедени преку исхраната или преку водата и имаат бенефит врз рибите, одгледувачот или конзументот“, обезбедувајќи подобрување на апетитот на рибите, прирастот, искористување на храната, подобрување на квалитетот на месото и неговиот состав и редуцирање на малформациите.



Слика 2. Различни механизми на внес на пробиотици во риби. (извор: <https://www.daily-sun.com/post/396948/Applications-of-probiotics-in-aquaculture>)

Првата забележана употреба на пробиотик во аквакултурата датира од 1986 година (Kozasa, 1986). Истражувањата на Kozasa (1986) покажале дека спорите на *Bacillus toyoi* го редуцирале морталитетот на јапонската јагула која била инфицирана од *Edwardsiella* sp., а истиот додаток го зголемил прирастот и кај други видови риби. Од тогаш користењето на пробиотиците во аквакултурата е во постојан пораст и има низа објавени резултати од изведени експерименти. Првите пробиотици кои се испитувани кај рибите, биле комерцијални препарати наменети за топлокрвните животни (Gatesoupe, 1999). Опортунистичките микроорганизми кај цицачите се во прилично константна средина во гастроинтестиналниот тракт, додека микрофлората кај акватичните организми е секогаш во интеракција со околината, што има големо влијание, како на здравјето на рибите, така и на оптеретувањето на животната средина со бактерии кои се вообичаено присутни во дигестивниот тракт на рибите. Имено, рибите се поикилотермни организми и микробиолошката флора може да варира со температурните промени во средината.

Употребата на пробиотици или корисни бактерии, кои ги контролираат патогените микроорганизми преку различни механизми, се повеќе се смета за алтернатива на третманот со антибиотици. Употребата на пробиотици во исхраната на луѓето и животните е добро документирана (Fuller, 1992; Mulder и сор., 1997; Rinkinen и сор., 2003) и неодамна, тие почнаа да се применуваат во аквакултурата (Gatesoupe, 1999; Gomez -Gil и сор., 2000; Verschuerе и сор., 2000; Irianto and Austin, 2002; Bache`re, 2003, Маневска 2020).

#### **1.4.1. Што е пробиотик?**

Терминот пробиотици генерално се користи за означување на бактерии кои го промовираат здравјето на другите организми. Lilly и Stillwell (1965) ги опишаа како супстанции што се лачат од еден микроорганизам, што го стимулира растот на друг. Експерт од Заедничката организација за храна и земјоделство на Обединетите нации/Светска здравствена организација (FAO/WHO), изјави дека пробиотиците се живи микроорганизми, кои кога се конзумираат во соодветни количини, даваат здравствена корист за домаќинот (FAO/WHO, 2001 ).

Општо земено, пробиотичките соеви се изолирани од домородните и егзогените микробиоти на водни животни. Грам-негативни факултативни анаеробни бактерии како што се *Vibrio* и *Pseudomonas* претставуваат доминантна автохтона микробиота на различни видови морски риби (Onarheim и соp., 1994). За разлика од рибите со солена вода, во домородната микробиота на слатководни видови риби има тенденција да доминираат членовите на родот *Aeromonas*, *Plesiomonas*, претставници на фамилијата *Enterobacteriaceae* и облигатни анаеробни бактерии од родот *Bacteroides*, *Fusibacterium* (Sakata, 1990). Бактериите кои произведуваат млечна киселина, кои се распространети во цревата на цицачи или птици (*Bifidobacterium* кај луѓето, *Lactobacillus* кај свињи, глодари и птици, *Enterococcus* кај месојади), генерално се доминантни кај рибите и во суштина се претставени со родот *Carnobacterium* (Ringø и Vadstein, 1998).

Важно е да се напомене дека популацијата на ендогени микробиоти може да зависи од генетските, нутритивните фактори и факторите на животната средина. Сепак, микроорганизмите присутни во непосредната средина на водните видови имаат многу поголемо влијание врз здравствената состојба отколку кај копнените животни или луѓето. Микробиотата на стомакот на водните животни веројатно е составена од автохтоната микробиота заедно со вештачки високи нивоа на алохтони микроорганизми, така одржувани со нивното постојано внесување од околната вода (Hansen и Olafsen, 1989).

#### **1.4.2. Механизми на делување**

Зголемувањето на отпорноста на колонизација и/или директните инхибиторни ефекти против патогените микроорганизми се важни фактори каде пробиотиците се намалени инциденцата и времетраењето на болестите. Се покажа дека пробиотичките соеви ги инхибираат патогените бактерии и *in vitro* и *in vivo* преку неколку различни механизми.

Неколку студии за пробиотици беа објавени во текот на последната деценија. Меѓутоа, методолошките и етичките ограничувања на студиите врз животни го отежнуваат разбирањето на механизмите на дејство на пробиотиците, а достапни се само делумни објаснувања. Како и да е, некои можни придобивки поврзани со администрирање на пробиотици се веќе сугерирани како: (i) конкурентно исклучување на патогени бактерии (Garrigues и Arevalo, 1995; Moriarty, 1997; Gomez-Gil и соp., 2000; Balca'zar,

2003; Balca'zar и сор., 2004; Vine и сор., 2004a); (ii) извор на хранливи материи и ензимски придонес во варењето на храната (Sakata, 1990; Prieur и сор., 1990; Garrigues и Arevalo, 1995); (iii) директно навлегување на растворен органски материјал со посредство на бактериите (Garrigues и Arevalo, 1995; Moriarty, 1997); и други се уште се испитуваат како: (iv) зајакнување на имунолошкиот одговор против патогени микроорганизми (Andlid и сор., 1995; Scholz и сор., 1999; Rengpipat и сор., 2000; Gullian и Rodr'iguez, 2002; Irianto и Austin, 2002; Balca'zar, 2003; Balca'zar и сор., 2004); (v) антивирусни ефекти (Kamei и сор., 1988; Girones и сор., 1989; Direkbusarakom и сор., 1998).

#### 1.4.2.1. Конкурентско исклучување

Бактерискиот антагонизам е вообичаен феномен во природата; затоа, микробните интеракции играат голема улога во рамнотежата помеѓу конкурентните корисни и потенцијално патогени микроорганизми. Меѓутоа, составот на микробните заедници може да се смени со практиките на сточарство и условите на животната средина кои го стимулираат размножувањето на избраните бактериски видови. Познато е дека микробиотата во гастроинтестиналниот тракт кај водните животни може да се измени, на пример, со внесување на други микроорганизми; затоа, микробиолошката манипулација претставува остварлива алатка за намалување или елиминирање на инциденцата на опортунистички патогени (Balca'zar, 2002).

Првиот извештај за постоење на бактерии во морската вода со инхибиторен ефект против *Vibrio* sp. му се припишува на Gaixa (1889). Потоа, Rosenfeld и Zobell (1947) опишаа студија за морски микроорганизми што произведуваат антибиотици, и оттогаш, истражувањето започна да развива агенци за биолошка контрола.

Во аквакултура, *Thalassobacter utilis* покажа инхибиторни ефекти против *Vibrio anguillarum*. Овој вид го зголеми опстанокот на ларвите на ракот, *Portunus trituberculatus*, а исто така ја намали количината на *Vibrio* sp. во водата што се користи за враќање на ларвите (Nogami и Maeda, 1992; Nogami и сор., 1997). Последователно, беше објавено дека бактериските соеви поврзани со цревната и слузта на кожата на возрасни риба лист (*Scophthalmus maximus* и *Limanda limanda*), го потиснуваат растот на патогенот на рибите *V. anguillarum* (Olsson и сор., 1992) На Употребата на соеви

*Vibrio alginolyticus* како пробиотици е препорачана за да се зголеми преживувањето и растот на пост-ларвите на белите ракчиња (*Litopenaeus vannamei*) во мрестилиштата во Еквадор. Конкурентното исклучување на потенцијалните патогени бактерии ефикасно ја намалува или елиминира потребата за антибиотска профилакса во интензивни системи за ларвикултура (Garrigues и Arevalo, 1995). Неодамна, морскиот бактериски вид, *Pseudomonas* I2, беше изолиран од примероци од околината на утоката, кои произведоа инхибиторни соединенија против патогени видови на ракчиња. Се покажа дека ова антибактериско соединение е со мала молекуларна тежина, топлина стабилно, растворливо во хлороформ и отпорно на протеолитички ензими (Chythanya и соp., 2002).

#### **1.4.2.2. Извор на хранливи материи и ензимски придонес во варењето на храната**

Некои истражувања сугерираат дека микроорганизмите имаат корисен ефект во дигестивните процеси на водните животни. Кај рибите, пријавено е дека *Bacteroides* и *Clostridium* sp. придонесоа за исхраната на домаќинот, особено со снабдување со масни киселини и витамини (Sakata, 1990). Некои микроорганизми како што се *Agrobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Brevibacterium* sp., *Microbacterium* sp., и *Staphylococcus* sp. може да придонесе за нутрициони процеси во арктичкиот лосос (*Salvelinus alpinus* L.) (Ringø и соp., 1995).

Покрај тоа, некои бактерии можат да учествуваат во процесите на варење на бивалвите со производство на екстрацелуларни ензими, како што се протеази, липази, како и обезбедување на неопходните фактори за раст (Prieur и соp., 1990). Слични набудувања се пријавени за микробна флора на возрасни ракчиња од видот *Penaeus chinensis*, каде што се надополнуваат ензимите за варење (Wang и соp., 2000). Микробиота може да послужи како дополнителен извор на храна и микробна активност во дигестивниот тракт може да биде извор на витамини или есенцијални аминокиселини (Dall и Moriarty, 1983).

#### **1.4.2.3. Влијание врз квалитетот на водата**

Подобриот квалитет на водата е особено поврзан со *Bacillus* sp. Образложението е дека грам-позитивните бактерии се подобри конвертори на органска материја назад во



CO<sub>2</sub> отколку грам-негативните бактерии. За време на производствениот циклус, високите нивоа на грам-позитивни бактерии можат да го минимизираат создавањето на растворен и честички органски јаглерод. Пријавено е дека употребата на *Bacillus* sp. го подобри квалитетот на водата, стапките на преживување и раст и го зголеми здравствениот статус на јувенилната форма на *Peneus monodon* и ги намали патогените вибрации (Dalmin и сор., 2001).

#### 1.4.2.4. Зајакнување на имунолошкиот одговор

Неспецифичниот имунолошки систем може да се стимулира со пробиотици. Се покажа дека оралната администрација на бактерии *Clostridium butyricum* на виножитната пастрмка ја зголеми отпорноста на рибите на вибриоза, со зголемување на фагоцитната активност на леукоцитите (Sakai и сор., 1995). Rengpipat и сор. (2000) спомена дека употребата на *Bacillus* sp. (сој S11) обезбеди заштита од болести со активирање на клеточната и хуморалната имунолошка одбрана кај тигарските ракчиња (*P. monodon*). Valca'zar (2003) покажа дека администрацијата на мешавина од бактериски соеви (*Bacillus* и *Vibrio* sp.) Позитивно влијаела врз растот и опстанокот на малолетниците од бели ракчиња и претставувала заштитен ефект против патогените *Vibrio harveyi* и синдром на бели дамки вирус. Оваа заштита се должи на стимулација на имунолошкиот систем, преку зголемување на фагоцитозата и антибактериската активност. Покрај тоа, Nikoskelainen и сор. (2003) покажа дека администрацијата на млечно-киселинската бактерија *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 на ниво од 10<sup>5</sup> cfu g<sup>-1</sup> храна, ја стимулира респирацијата кај виножитна пастрмка (*Oncorhynchus mykiss*).

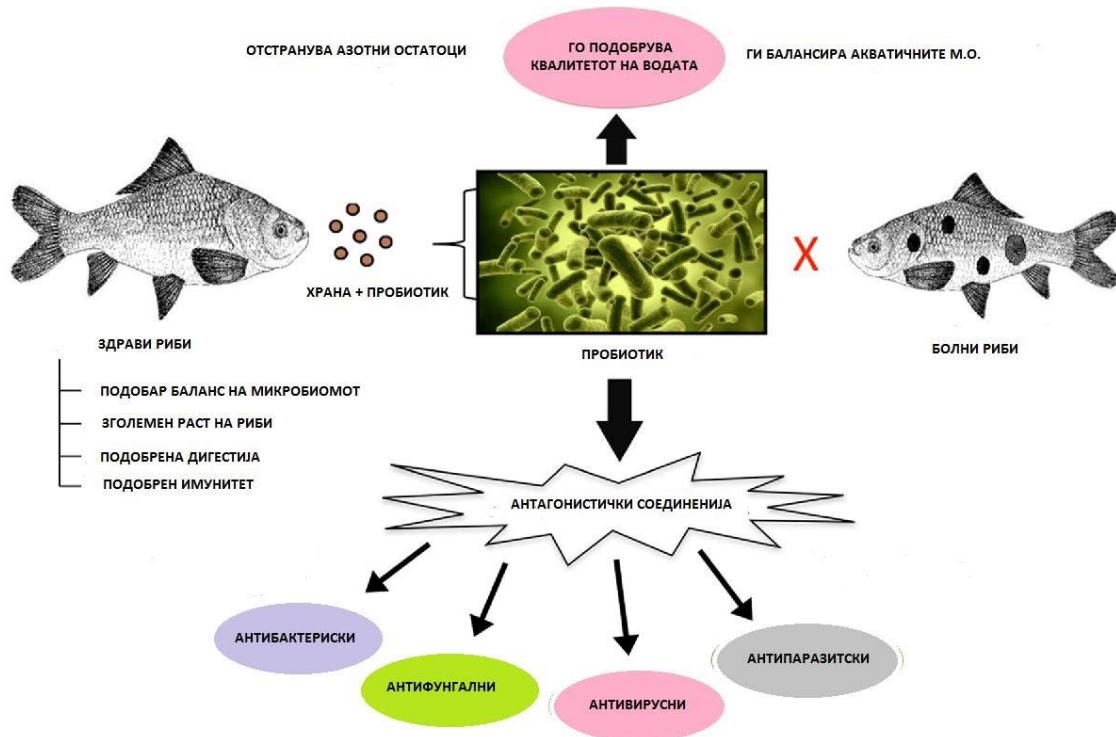
#### 1.4.2.5. Антивирусни ефекти

Некои бактерии што се користат како кандидати пробиотици имаат антивирусни ефекти. Иако не е познат точниот механизам со кој овие бактерии го прават ова, лабораториските тестови покажуваат дека инактивирањето на вирусите може да се случи со хемиски и биолошки супстанции, како што се екстракти од морски алги и екстрацелуларни агенси на бактерии. Пријавено е дека соевите на *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp. и групи на коринеформи изолирани од мрестилишта на салмониди, покажале антивирусна активност против инфективниот вирус на

хематопоетска некроза (IHNV) со повеќе од 50% намалување на плаките (Kamei и сор., 1988). Girones и сор. (1989) објави дека морска бактерија, привремено класифицирана во родот *Moraxella*, покажува антивирусен капацитет, со висока специфичност за полиовирус. Direkbusarakom и сор. (1998) изолира два соја на *Vibrio* spp. NICA 1030 и NICA 1031 од мрестилиште за ракчиња. Овие изолати прикажаа антивирусни активности против вирусот IHNV и *Oncorhynchus masou* (OMV), со проценти на намалување на плаката помеѓу 62 и 99%, соодветно.

### 1.4.3. Колонизација

Колонизацијата на гастроинтестиналниот тракт на животните со пробиотици е можна само по раѓањето, и пред конечната инсталација на многу конкурентна автохтона микробиота. По оваа инсталација, само додавањето високи дози на пробиотик ја провоцира неговата вештачка и привремена доминација. Кај зрелите животни, популацијата на пробиотички организми во гастроинтестиналниот тракт покажува нагло намалување во рок од неколку дена откако престанал внесот на истите (Fuller, 1992).



Слика 3. Различни механизми на делување на пробиотиците во риби.

(извор: Chauhan и Singh, 2018).

Според Conway (1996), микроорганизмот е способен да го колонизира гастроинтестиналниот тракт кога може да опстојува таму долго време, со тоа што има стапка на мултипликација повисока од стапката на исфрлање. На пример, *Vibrio* sp. нормално колонизирање на хепатопанкреасот на младите бели ракчиња; сепак, оваа нормална микрофлора може вештачки да доминира од *Bacillus* sp. (до 50% од вкупниот број) ако се додаде во вода 20 дена (Gullian и Rodriguez, 2002). Процесот на колонизација се карактеризира со привлекување на бактерии на мукозната површина, проследено со асоцијација во мукозниот гел или приврзаност кон епителни клетки. Адхезијата и колонизацијата на мукозните површини се можни заштитни механизми против патогени преку конкуренција за врзување места и хранливи материи (Westerdahl и соp., 1991), или имунолошка модулација (Salminen и соp., 1998).

Факторите за кои се знае дека влијаат на колонизацијата на микроорганизмите може да се групираат на следниов начин: (i) фактори поврзани со домаќинот: телесна температура, нивоа на редокс потенцијали, ензими и генетска отпорност. На пример, бактериите можат да навлезат преку устата, или со вода или со честички од храна, и да поминат низ дигестивниот тракт, и во тој момент некои од нив се задржуваат како дел од постојана микрофлора. Други се уништени од дигестивниот процес или минуваат низ цревата и се елиминираат преку фецесот. Покрај тоа, бактерискиот раст може да биде инхибиран од секое антимикробно соединение произведено од домаќинот. (ii) Фактори поврзани со микроби: ефекти на антагонистички микроорганизми, протеази, бактериоцини, лизозими, водород пероксид, формирање на амонијак, дијацетил и промена на вредностите на рН со производство на органски киселини (Dorazo и соp., 1988; Gram и соp., 1999; Chythanya и соp., 2002; Sugita и соp., 2002; Gullian и соp., 2004). На пример, познато е дека млечно-киселите бактерии произведуваат соединенија како што се бактериоцини кои го инхибираат растот на другите микроорганизми.

Истите методи користени за откривање на бактерии се користат за проучување на колонизацијата. Вообичаените техники вклучуваат имуноанализи, како ELISA техника и молекуларни методи како PCR-амплификација на 16S rDNA (Spanggaard и соp., 2000; Cunningham, 2002; Temmerman и соp., 2003).

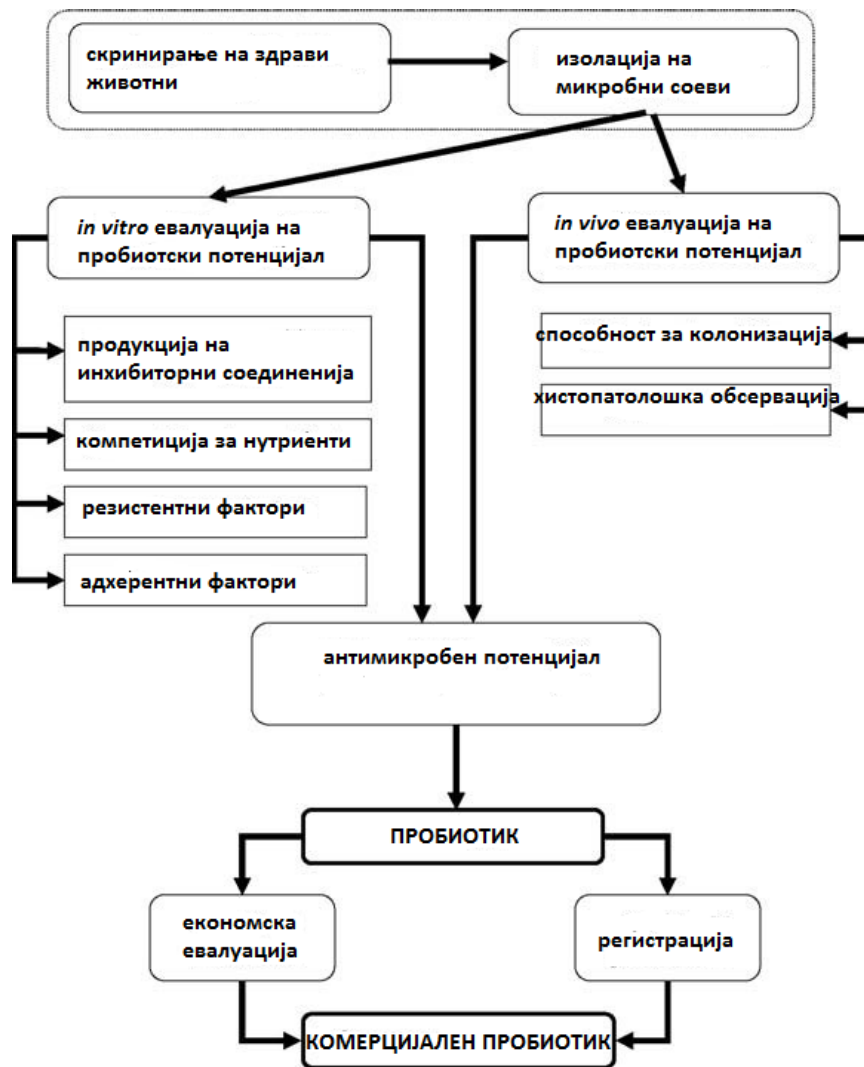
#### 1.4.4. Избор на пробиотици

Вообичаен начин за избор на пробиотици е да се направат ин витро тестови за антагонизам, во кои патогените микроорганизми се изложени на кандидат пробиотици или нивните екстрацелуларни производи во течен (Sotomayor и Balca'zar, 2003; Vine и сор., 2004a) или цврст (Dorazo и сор., 1988; Chythanya и сор., 2002) медиум. Сепак, Gram и сор. (1999) сугерираше дека *in vitro* активноста во анализите за добро дифузија и култури на супа не може да се користи за да се предвиди можен ин vivo ефект. На пример, *in vitro* антагонизам на *Pseudomonas fluorescens* (сој AH2) против *Aeromonas salmonicida* не дава заштита на атлантскиот лосос од фурункулоза, туку е ефикасен пробиотик кај виножитото пастрмка, дава заштита од вибриоза (Gram и сор., 2001). Затоа, од суштинско значење е да се знае потеклото (пожелно е да се користат соеви изолирани од домаќинот), безбедноста (непатогена) и способноста на сојот да преживее до транзит преку гастроинтестиналниот тракт на домаќинот (на пр. отпорност на жолчни соли, на ниска рН вредност и на протеази). Способноста на микроорганизмите да се колонизираат често се смета како еден од главните критериуми за избор на потенцијални пробиотици, односно ефикасно придржување кон цревните епителни клетки за да се намали или спречи колонизација на патогени (Vine и сор., 2004b). Покрај тоа, потенцијалните пробиотици мора да ги остварат своите корисни ефекти (на пример, подобрена исхрана и зголемен имунолошки одговор) кај домаќинот. Конечно, пробиотикот мора да биде одржлив во нормални услови за складирање и технолошки погоден за индустриски процеси (на пример, лиофилизирани).

Како заклучок, методите за избор на пробиотички бактерии за употреба во аквакултура вклучуваат: (i) собирање информации од претходни тестирања; (ii) одбирање потенцијални пробиотици; (iii) евалуација на способноста на потенцијалните пробиотици да бидат компетитивни со патогените соеви; (iv) проценка на патогеноста на потенцијалните пробиотици; (v) евалуација на ефектот на потенцијалните пробиотици кај домаќинот; (vi) анализа на економските трошоци/придобивки (Gomez-Gil и сор., 2000).

Пробиотиците можат да му се дадат на домаќинот или да се додадат во неговата водна средина на неколку начини: (i) додавање преку жива храна (Gomez-Gil и сор., 1998);

(ii) капење (Austin и соp., 1995; Gram и соp., 1999); (iii) додавање во водата за култивирање (Moriarty, 1998; Spanggaard и соp., 2001); (iv) додавање во исхрана (Rengripat и соp., 2000). На пример, беше објавено дека дневните инокулации во базени со бели ракчиња (*L. vananemi*) со пробиотички бактерии со густина од  $10^5$  cfu ml<sup>-1</sup> спречија колонизација од патогени бактерии за време на ларвалната култура (Peeters и Rodr'iguez, 1999).



Слика 4. Дијаграм за избор на пробиотици како биоконтролни агенси во аквакултурата. (извор: Balca'zar и соp., 2006).

Терминот пробиотици обично се користи за означување на бактерии кои го промовираат здравјето на другите организми. Според FAO (FAO- Food and Agriculture Organisation) и WHO (WHO- World Health Organisation) пробиотиците претставуваат

живи микроорганизми, кои кога се конзумираат во соодветни количини, даваат здравствена корист на домаќинот (FAO/WHO, 2001).

#### 1.4.5. Прописи за употреба на пробиотици

Во последните неколку години, во Европската унија беше модифицирано користењето на адитиви во добиточна храна. Во однос на адитивите што се користат во производите за добиточна храна, напорите се насочени кон обезбедување на високо ниво на заштита на здравјето на луѓето, здравјето и благосостојбата на животните, интересите на корисниците на животната средина и потрошувачите. По фазата на употреба на антибиотици како поттикнувачи за растот кај животните, беше објавена Белата книга за безбедност на храната и Регулативата (ЕЗ) бр. 178/2002 на Европскиот парламент, со цел да се воспостави политика за безбедност на храната, а истовремено создаден е и Европскиот орган за безбедност на храна (European Food Safety Authority- EFSA) (Regulation (EC) No. 178/2002). EFSA работи на сите фази на производство и снабдување со храна, од примарно производство до безбедност на добиточна храна, директно преку снабдување на потрошувачите со храна. Овластувањето, пласирањето и употребата на адитиви за добиточна храна во моментов се регулирани според Директивата на Советот 70/524/ЕЕЗ. Пред да може да се пласира или користи адитив за добиточна храна, тој мора да биде авторизиран во согласност со одредбите на Директивата. За да добие авторизација, производителот треба да достави досие кое содржи податоци и студии кои ја покажуваат ефикасноста и безбедноста на производот за животните, потрошувачите и животната средина.

**Табела 3. Листа на микроорганизми кои се одобрени како пробиотици во добиточна храна според Директива 70/524/ЕЕС**

Пробиотици	
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus farciminis</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus infantarius</i>	

Неодамна, одредени микроорганизми се одобрени за употреба како пробиотици во добиточната храна во Европската унија (Табела 3). Исто така, постојат и пробиотици

кои се продаваат на пазарот, но кои се уште не се официјално одобрени според листата на адитиви за добиточна храна објавена од Комисијата (Директива на Советот 70/524/ЕЕЗ, 2004).

Во САД, Администрацијата за храна и лекови (FDA) ги регулира безбедносните, ознаките и здравствените изјави направени за конвенционална храна, медицинска храна, храна за специјална диететска употреба и додатоци во исхраната. Општите барања за петиција се детално наведени во Кодексот за федерални регулативи на САД (CFR, 2005) и продолжуваат на следниов начин. Прво, секое заинтересирано лице може да поднесе барање до FDA да издаде регулатива во врска со здравствено барање. За прелиминарни барања, подносителот на барањето мора да презентира целосно објаснување за тоа како супстанцијата е овластена за употреба во храна. Исто така, треба да постои и научно објаснување и договор меѓу експерти квалификувани за здравствените тврдења и оптимално ниво на одредена супстанција што треба да се конзумира; потенцијални негативни ефекти за одредени групи од населението и други нутриционистички или здравствени фактори кои би можеле да влезат во интеракција со компонентите на храна од интерес. За аналитички податоци, количината на супстанцијата што е присутна во храната мора да се добие од репрезентативни примероци користејќи методи од Асоцијацијата на официјални аналитички хемичари (АОАС), доколку не е достапен метод на АОАС, подносителот на барањето мора да поднесе користен метод на анализа и податоци за утврдување на валидноста.

Покрај тоа, барањето мора да вклучува копии од пребарувања на компјутерска литература направени од подносителот на барањето, копии од сите цитирани написи и сите информации за застапничките последици за секоја група од населението.

Очигледно, пред да може да се подготви и поднесе барање за употреба на одреден пробиотик како адитив во исхраната, потребни се значителни научни докази за здравствените придобивки од производот и безбедноста (Bernet и O'Donnell, 1998).

#### **1.4.6. Пробиотски соеви применети во аквакултура**

Повеќето пробиотици предложени како агенси за биолошка контрола во аквакултурата припаѓаат на млечно-киселите бактерии (*Lactobacillus* и *Carnobacterium*), на родот

*Vibrio* (*V. alginolyticus*), на родот *Bacillus* и на родот *Pseudomonas*, иако се споменуваат и некои други (*Aeromonas* и *Flavobacterium*) (Табела 4).

#### а. Рибини икри и ларви

Фазите на мрестење и раните ларвени фази на рибите може да имаат длабоки импликации за динамиката на микробните заедници. Овие заедници, исто така, можат да бидат под влијание на неоргански и органски соединенија.

Табела 4. Пробиотици кои се користат како биолошки контролни агенси при одгледување на риби.

пробиотик	потекло	се користи кај	начин на аплицирање	извор
<i>Streptococcus lactis</i> и <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	?	риба лист ( <i>Scophthalmus maximus</i> )	обогатување на храна	Garc'ia de la Banda и соp. (1992)
<i>Lactobacillus</i> sp. и <i>Carnobacterium</i> sp.	ротифери ( <i>Brachionus plicatilis</i> )	ларви од риба лист	обогатување	Gatesoupe (1994)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	фарма на школки	лосос ( <i>Salmo salar</i> L.)	бањање во бактериска суспензија	Austin и соp. (1995)
<i>Carnobacterium divergens</i>	дигестивен систем на лосос	моруна	во храна	Gildberg and Mikkelsen (1998)
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. licheniformis</i>	комерцијален производ (Biostart)	сом	се додава во водата од езерцата	Queiroz and Boyd (1998)
<i>Vibrio pelagius</i>	ларви од риба лист	риба лист	се додава во вода	Ringø and Vadstein (1998)
G-probiotic	комерцијален производ	нилска тилапија ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	се додава во храна	Naik и соp. (1999)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	слатководни рибинилски костреж ( <i>Lates niloticus</i> )	виножитна пастрмка ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	се додава во вода	Gram и соp. (1999)
<i>Carnobacterium</i> sp.	дигестивен систем на лосос	лосос	се додава во храна	Robertson и соp. (2000)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 53103	колекција на микроорганизми	виножитна пастрмка ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	се додава во храна	Nikoskelainen и соp. (2001)
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Carnobacterium</i> sp., <i>Micrococcus luteus</i>	дигестивен систем на виножитна пастрмка	виножитна пастрмка	се додава во храна	Irianto and Austin (2002)
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	комерцијален производ (Cernivet)	јагула ( <i>Anguilla anguilla</i> )	се додава во храна	Chang и Liu (2002)
<i>L. rhamnosus</i> JCM 1136	колекција на микроорганизми	виножитна пастрмка	се додава во храна	Panigrahi и соp. (2004)
<i>Roseobacter</i> sp. strain 27-4	ларви од риба лист	риба лист	се додава во вода	Hjelm и соp.



				(2004)
<i>Bacillus circulans</i>	дигестивен систем на <i>Labeo rohita</i>	<i>L. rohita</i>	се додава во храна	Ghosh и соp. (2004)

Веднаш по излегувањето на ларвите, тие доаѓаат во контакт со нивната непосредна околина, што обезбедува колонизација со широк спектар на микроорганизми. Затоа, очигледно е дека здравствениот статус ќе зависи од условите на одгледување, што претставува важен фактор и за воспоставување на автохтониот микробиом.

Составот на микробиомот е под влијание на многу фактори, вклучувајќи ја достапноста на хранливи материи, физиологијата на животните и имунолошките фактори. Во нормални услови, една од основните физиолошки функции на резидентната микробиота е тоа што таа функционира како микробна бариера против микробиолошките патогени и како дополнување на работата на ензимите за варење.

За време на почетниот период на хранење, можно е да се манипулира со воспоставување вештачка доминација на одредена група бактерии во микробиотата поврзана со рибите со додавање на специфичен вид. Значително зголемување на просечната тежина и стапката на преживување на ларвите од риба лист (*S. maximus*) се забележува кога тие се хранети со ротифери збогатени со млечно киселински бактерии, како и заштита од патогени *Vibrio* spp. во споредба со контролни ларви (Gatesoupe, 1994). Слично на ова, додавањето на *Carnobacterium divergens* во храна покажа извесно подобрување на отпорноста на болести предизвикани од *V. anguillarum* кај моруна (*G. morhua*) (Gildberg и Mikkelsen, 1998).

Во една студија за одгледување ларви од риба лист со 34 различни видови на морски бактерии се докажа постоење на *in vitro* антибактериска активност на бактериите кон *V. anguillarum*, *Vibrio splendidus* и *Pseudoalteromonas* spp. Овие морски бактерии беа идентификувани како *Roseobacter* spp., *Vibrio* spp. и *Pseudoalteromonas* spp. Со аплицирање на *Roseobacter* spp. сој 27-4 во храната, во концентрација од  $10^7$  CFU ml<sup>-1</sup> смртноста на ларвите драстично се намалила (Hjelm и соp., 2004).

### б. Јувенилни риби и адултни форми

Во експериментите извршени од Queiroz и Boyd (1998) беше потврдено дека комерцијално подготвена бактериска мешавина од *Bacillus* spp. измешана во вода за одгледување го зголеми преживувањето и производството на американски сом (*Ictalurus punctatus*).

Сој на *Carnobacterium* sp., претходно изолиран од цревата на атлантскиот лосос, аплициран во концентрации од  $5 \cdot 10^7$  клетки  $g^{-1}$  храна се покажал како ефикасен во контрола на инфекции предизвикани од *A. salmonicida*, *Vibrio ordalii* и *Yersinia ruckeri* кај салмонидни риби (Robertson и соp., 2000).

Култури на *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis* и *Carnobacterium* sp. биле користени кај виножитна пастрмка како адитиви во храната при што нивната примена значително ја намалила појавата на фурункулоза (Irianto и Austin, 2002). Исто така, постојат студии кои го покажуваат антифунгалниот ефект на различни пробиотици. На пример, *Aeromonas media* (сој A199), изолиран од свежа вода, додаден во насад со јагули (*Anguilla australis* Richardson), покажува антагонистичка активност против *Saprolegnia* sp. (Lategan и Gibson, 2003).

Испитани биле антибактериските способности на цревни бактерии изолирани од јувенилни форми и ларви на риба-лист (*Paralichthys olivaceus*), при што се утврдило дека 53,3% од изолираните *Vibrio* spp. го инхибираат растот на *Pasteurella piscicida* (Sugita и соp., 2002). Во друга студија, од вкупно сто и шест бактериски изолати, изолирани од цревата на риби клоун (*Amphiprion percula*), пет изолати покажале инхибиторна активност кон широк спектар на патогени како *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. alginolyticus* и *C. piscicola* (Vine и соp., 2004a). Во фекален екстракт од јувенилни форми на риба лист растот на *V. anguillarum* бил инхибиран од соеви на *Carnobacterium* sp. (Olson и соp., 1998).

Видовите кои обично се користат како човечки пробиотици (на пример, лактобацили и ентерококи), исто така, се сметаат за пробиотици кои се безбедни за користење во аквакултурата. Администрација на *L. rhamnosus* во храна со концентрации од  $10^9$  клетки  $g^{-1}$  храна и  $10^{12}$  клетки  $g^{-1}$  кај виножитната пастрмка во времетраење од 51 ден ја намалила смртноста на рибите предизвикана од *A. salmonicida* од 52,6% кај

контролата на 18,9 и 46,3%, соодветно (Nikoskelainen и сор., 2001). Исто така, во студија во која европските јагули (*Anguilla anguilla* L.) намерно биле контаминирани со *Edwardsiella tarda*, докажано е дека стапката на преживување на рибите хранети со *Enterococcus faecium* (сој SF68) била значително повисока од контролните групи (Chang и Liu, 2002).

## 1.5. БЛАГОСОСТОЈБА НА РИБИТЕ

Благосостојбата на одгледуваните риби привлекува посебно внимание на експертите во последниве години. Тоа резултира со значителни промени во индустријата за аквакултура (Berrill и сор., 2010). Овие промени се поврзани со зголемената побарувачка за безбедно рибно месо и производи од риба, и тие се поврзани со зголеменото производство, методологија на хранење, услови за сместување на риба и селективно одгледување (Spasić и сор. (2010). Специфични аспекти во врска со благосостојбата на рибите и безбедноста на храната може да се најдат во трудот на Relić и сор. (2010a).

Истражувањата во областа на благосостојбата се водени од фактите дека рибите можат да чувствуваат болка, страв и страдање, исто како и другите 'рбетници (Ashley и Sneddon, 2008; Braithwaite и Boulcott, 2008; Vučinić и Radisavljević, 2009), и тие реагираат во сличен начин за стрес (Wendelaar Bonga, 1997).

Во одгледувачки капацитети како неповолни фактори се сметаат несоодветен квалитет на водата, несоодветна густина на рибите, храна што квантитативно или квалитативно не е соодветна во однос на физиолошките потреби, како и несоодветно ракување при фаќање на рибите, пренесување во несоодветна средина, несоодветен транспорт. Долготрајната изложеност на овие стресни фактори може негативно да влијае на здравјето и продуктивноста на рибите, па оттаму и на нивната благосостојба.

Имајќи предвид дека механизмот на реагирање на стрес и неговите ефекти врз телото на рибата се слични за рибите и копнените цицачи, проценката на благосостојбата се базира на одредување на степенот на исполнување на основните потреби на организмот (Lembo и Zura, 2010). Концептот за благосостојба на животните се базира на почитување на „петте слободи“ (Poli, 2009): слобода од глад и жед, слобода од

непријатност, слобода од болка, повреда или болест, слобода да се изрази нормално однесување, слобода од страв и вознемиреност. За да се постигнат овие слободи животната средина игра голема улога. Според Broom (1986) благосостојбата на животните може да се дефинира како ниво на адаптивност кон околината. Нивото на благосостојба се оценува врз основа на мерливи индикатори. За време на проценката на благосостојбата, измерените вредности се споредуваат со оние што се сметаат за оптимални за специфични видови и категории животни во одредени услови на размножување. На пример, за атлантскиот лосос кој се одгледува во рибници постојат вакви специфични стандарди (RSPCA, 2007). За останатите комерцијални видови на риби потребни се повеќе податоци за тоа како истите реагираат на различни стимуланти и во различни услови на животната средина.

### **1.5.1. Услови на животната средина во проценката на благосостојбата**

Основните потреби на организмот вклучуваат соодветни физички и хемиски својства на неговата околина. Условите на животната средина влијаат повеќе на рибите во споредба со влијанието врз цицачите и другите копнени животни. На рибите им е потребна вода со соодветна содржина на кислород, без штетни материи, а околината треба да им овозможи заштита од екстремни температури, нормална осморегулација и доволно простор за активности. Покрај тоа, потребите на рибите вклучуваат социјални интеракции, отсуство на предатори, квантитативно и квалитативно специфични диети со цел да се одржи добро здравје. Несоодветното сместување, прекумерната густина на порибување и неуспехите во пренесување на некои технолошки и хигиенски мерки може да придонесат за влошување на квалитетот на водата, што може да предизвика здравствени проблеми и смрт на рибите. Во системи кои се опремени со континуиран прилив на вода и соодветни филтри за третман на водата, можно е да се обезбедат помали варијации на условите на животната средина (Verreth и Eding, 2009; Relić и сар., 2010c).

Параметрите за квалитетот на водата се неизбежни во проценката на благосостојбата на рибите, имајќи го предвид нејзиното влијание врз здравствената состојба, продуктивноста и однесувањето на рибите, опишани во студиите на Svobodova и сар. (1993), MacIntyre (2008), Relić и сар. (2009), и Dulić и сар. (2010). Влијанието на одредени параметри врз различни видови и категории риби не се исти. Во повеќето

случаи неопходно е да се одредат температурата на водата, концентрацијата на растворен кислород, како и количината на слободен амонијак и други азотни соединенија кои се токсични за рибите. Нивото на благосостојба на рибите во една средина се смета за задоволително ако вредностите на овие параметри за квалитетот на водата не отстапуваат од оптималното. Нивните брзи промени се особено неповолни за здравјето на рибите, а со тоа и за нивната благосостојба. Поради оваа причина, параметрите за квалитетот на водата може да се користат за да се одреди проценката на ризик за благосостојбата на рибите, што е опишано во документите на EFSA (2008), Relić и sor. (2010b, v).

Во проценката на ризикот, покрај вредностите на измерените параметри, се зема предвид нивното влијание врз поединецот (особено во однос на предизвикување смрт) и времетраењето на негативните ефекти. Овој систем за евалуација е добар за споредба на условите за сместување од иста категорија и видови риби, во неколку одгледувачки капацитети од ист тип или во ист објект во различни временски периоди. На овој начин, одгледувачот има можност за постојано следење и проценка на условите за домување, особено при примена на некои превентивни мерки опишани во документите на Sadler и Goodwin (2007), Radenković-Damnjanić и Relić (2008), Relić и sor. (2008) и Osman и sor. (2009).

**Табела 5. Параметри за квалитетот на водата кои се погодни за благосостојбата на крапот, одобрени според Директивата 2010/63/EU (2010).**

Параметар	Cyprinus carpio
O <sub>2</sub> (% сатурација)	65-100
азотни соединенија (mg/l)	0.025- 0.1 (NO <sup>2-</sup> ) 0.54- 0.60 (NO <sup>3-</sup> ) <1 NH <sub>3</sub>
pH	6.8-7.75
температура (°C)	22±2
осветлување (h)	12 h светло 12 h темно
густина на насад	0.02-0.07 риби/l
фреквенција на хранење (пати на ден)	1-5

### 1.5.2. Други индикатори кои се користат за проценка на благосостојбата на рибите

Во проценката на благосостојбата на рибите, покрај квалитетот на водата, се користат и бројни параметри кои укажуваат на состојбата на организмот на рибите или пост-смртни промени на трупот, доколку проценката се спроведе за време на колењето.

Според Huntingford и Kadri (2008), нивото на благосостојба на поединците може да укаже на физичката состојба на животните (инциденца на повреди и болести, функционирање на имунолошкиот систем, конверзија на храна, стапка на раст, репродукција), физиолошка состојба (концентрација на одредени метаболити и хормони во крвта и телесните течности, биохемиски промени во мозокот, изразување на одредени гени) или однесување на поединци (знаци на однесување на стрес/страв, појава на стереотипно однесување, природни форми на однесување). Во истражувањата, најчесто се вреднуваат вредностите на параметрите што се менуваат кога организмот е изложен на стрес. Тие вклучуваат ниво на лизозим, глукоза и кортизол во крвта, како што е цитирано во трудовите на Ardó и сор. (2009) и Hristov и сор. (2009), како и вредностите на параметрите кои укажуваат на имунолошкиот статус на поединци (на пример, количина на вкупниот имуноглобулин, активност на леукоцити во дишење, способност за фагоцитоза, хематокрит, леукоцит, итн.).

И покрај употребата на анестетици, ракувањето за време на земање крв предизвикува акутен стрес кај рибите. Затоа, дел од истражувањето за благосостојбата на рибите е насочено кон изнаоѓање неинвазивни методи за собирање потребни податоци, како што е мерење на нивото на метаболити на риба во водата (Ruane и Komen, 2003).

Еден од начините за намалување на стресот до најмала можна вредност е примена на канила директно во крвните садови, најчесто во дорзалната аорта на рибата, како што е опишано во трудот на Omlin и Weber (2010). Tashjian и Hung (2005) во својата студија зборуваат за примена на оваа техника кај лосос, крап, туна, сом, тилапија и други видови риби. Истите автори опишуваат техника на примена на цевка во усната шуплина, хранопроводот или цревата на рибата со цел да се дистрибуираат специфични супстанции во гастроинтестиналниот тракт. На овој начин, овие супстанции стигнуваат до целните органи во различни контролирани интервали, и со

минимална можност за повраќање, вознемирување и стрес на рибите. Слично на тоа, катетеризација на риби се користи за проучување на функциите на бубрезите и мочниот меур.

Споменатите методи даваат детални информации за физиолошките промени на рибите во различни услови на животната средина и влијанието на различните дразби. Меѓутоа, во практика, проценката на нивото на благосостојба најчесто се спроведува врз основа на тежината и стапката на раст на рибата, состојбата на перки и жабри, промени на очите и површината на телото (повреди, губење на крлушка, присуство на паразити, скелетни деформитети), како и за однесувањето на рибите (Avizienius, 2009).

Следењето на однесувањето е наједноставниот начин за добивање податоци, затоа кај животните од фарма овој метод многу често се применува. Во проценката на благосостојбата, врз основа на индикатори за однесување, важно е да се регистрира однесувањето што отстапува од вообичаеното однесување карактеристично за видовите и условите за одгледување. Резултатите од истражувањето во областа на однесувањето на рибите може да се најдат во студијата на Cerutti и Levin (2006).

Во областа на социјалните интеракции меѓу рибите, се заклучува дека некои видови имаат само еден партнер доживотно, што го препознаваат врз основа на изгледот и мирисот. Покрај тоа, рибите имаат способност да учат, да изразат агресија преку одредени ритуали, како и да комуницираат меѓу себе, што укажува на присуство на опасност. Што се однесува до адаптивното однесување и учење, рибите покажуваат специфични способности за ориентација во просторот, прилагодување кон одредени ситуации и временски дејствија, како и различни видови на адаптивно однесување базирани на Павлов рефлекс. На пример, рибите во заробеништво се навикнуваат да добиваат храна секој ден во исто време, исто така, тие се навикнуваат на лицето што дистрибуира храна. Ова може да се манифестира со повторно појавување и приближување, чекање оброк или бегане и преместување во подлабоката вода ако се приближи непознато лице (Köhler, 1976; Maljukova и соp., 1983).

Истражувањето за однесувањето на рибите во група започнало со следење на миграцијата на рибите во отворени води (реки, езера, мориња), за што од средината на минатиот век се користела телеметрија (Trefethen, 1956). Оваа техника е значително

развиена во изминатите децении и често се вклучува употреба на сателитски системи (ГИС-географски информациски системи, ГПС-глобални системи за позиционирање) (Rogers и Bergersen, 1996). Рибите треба да бидат означени со радио или ултразвучни предаватели кои пренесуваат сигнал од одреден опсег или специјализирани уреди кои реагираат на промена на температурата (Schulz и Berg, 1992) или притисок (Baldwin и сор., 2002). Некои автори ги следеле отчукувањата на срцето во телеметриските истражувања (Lucas и сор., 1992, 1993) и фреквенцијата на движење на опашката (Johnstone и сор., 1992), со цел да се одреди енергетскиот капацитет на рибата, употребата на кислород, брзината на пливање и други активности.

Во лабораториски услови, следењето на однесувањето на рибите обично се спроведува во специјални стаклени резервоари или аквариуми, и во значително помал број риби отколку во надворешна вода. Однесувањето се регистрира со различни типови камери и податоците се обработуваат во одредени компјутерски програми. За таа цел, рибите исто така можат да бидат опремени со предаватели, што го олеснува добивањето податоци потребни за физиолошки, здравствени и други параметри на индивидуално ниво. На пример, Suter и Huntingford (2002) добиле податоци за разликите во бојата на склерата кај младите лососи, во зависност од нивниот статус на група, како и за изразувањето на доминација и агресивно однесување.

### **1.5.3. Проценка на благосостојбата на рибите во пракса**

Благосостојбата се дефинира како „Состојба на индивидуата како таа се справува со околината“ (Broom, 1996). Оваа дефиниција за благосостојба има неколку импликации:

- 1) Благосостојбата е карактеристика на животното, а не нешто што му е дадено;
- 2) Благосостојбата варира од многу слаба до многу добра, т.е. индивидуата може да се наоѓа во многу лоша состојба или во добра состојба, од друга страна,
- 3) Благосостојбата може да се мери објективно и независно од моралните размислувања;
- 4) Мерката на неможност животното да се справи или тешко се справува даваат информации за тоа колку благосостојбаа не е или е слабо спроведена;
- 5) Познавање на карактеристиките на животното често дава вредни информации за тоа какви услови треба да се обезбедат кои ќе резултираат со добра



благосостојба, но исто така може да се сроведат и директни мерењата на состојбата на животното во обид да се процени благосостојбата и, ако е потребно, да се подобри;

б) Животните може да користат различни методи кога се обидуваат да се справат со околината.

Постојат различни последици од неуспехот на животните да се справат, така што било која од различните мерки може да укаже на тоа дека благосостојбата е слаба, додека фактот дека една мерка, како што е растот, е нормална, не значи дека благосостојбата е добра (Broom, 1996).

Постојат значителни научни докази, дека повеќето животни, вклучувајќи ги и рибите, се чувствителни суштества. Соодветно на тоа, благосостојбата на животните стана воспоставена како нова научна дисциплина. Масовната колекција и анализата на податоците доведе до голем број валидни и сигурни индикатори за проценка на статусот на благосостојба на животните. Сепак, ситуацијата е покомплицирано кај рибите. Списокот на параметри поврзани со здравјето и благосостојбата на рибите лесно надминува неколку стотици ставки и во голема мера варира помеѓу видовите, животната фаза и производниот систем (Lugert и сор., 2020). Бидејќи благосостојбата на рибите е релативно нова дисциплина и соочена со голем број на мерливи параметри, се чини дека е очигледна потребата од консултација со примена на индикатори за благосостојба кај копнените животни.

Прашањето за благосостојба на рибите има сè поголемо значење во светот повеќе од две децении заедно со зголемувањето на производството и подобрувањето на технологиите во аквакултурата. Потребата за проценка на благосостојбата на фармата се наметнува како резултат на наодите за влијанието на условите за одгледување врз здравјето на рибите, резултатите од производството и квалитетот на месото (Poli, 2009; Relić и сор., 2010).

Проценката на благосостојбата има големо значење за експерти во различни области (биолози, ветеринари, етолози итн.), како и за одгледувачите. Состојбата на рибите во услови кога се одгледуваат во рибници многу години претставува главна цел на многу истражувачки проекти во областа на аквакултурата. Овие истражувања се насочени

кон изнаоѓање соодветни начини за добивање и обработка на податоци што укажуваат на нивото на благосостојба на рибите.

Факт е дека ниту еден од индикаторите, ако се разгледаат одделно, не е доволен за да се одреди нивото на благосостојба на рибите. Најдобро е да се користат што е можно повеќе различни научни и практични методи и заклучокот да се заснова на најзначајните резултати во врска со собраните податоци (Poli, 2009). Затоа, при проценката на благосостојбата, резултатите од студиите за однесување се комбинираат со резултатите од испитувањето на физичките и физиолошките параметри, како и податоци за квалитетот на животната средина.

Атлантскиот лосос (*Salmo salar* L.) претставува еден од најпроучуваните одгледувани видови риби, што резултирало со развој на систем за проценка наречен „Welfaremeter“ (Anonymus, 2010). Овој систем се состои од мерни уреди поставени во центарот на кафезот, рецепторни уреди поставени на одредено растојание од фармата, база на податоци и специјална компјутерска програма за обработка на податоци и соодветна интернет страница. Уредите за мерење регистрираат температура, количина на кислород, соленост, флуоресценција и заматеност на водата на секој половина метар до дното. Податоците се прикажани на внатрешната интернет страница и преку мобилната мрежа (GPRS) се пренесуваат во базата на податоци. Овие податоци понатаму се анализираат во специјална програма, што овозможува проценка на условите на животната средина во кафезот како многу добри, добри или потенцијално штетни за рибите. Индексот на благосостојба се оценува по програма од 0 (многу ниско ниво на благосостојба) до 100 (одлично ниво на благосостојба). Овој индекс се базира на моделирање на метаболички процеси (на пример, способност на лососот да ја извлече потребната количина кислород од водата) и фактори кои влијаат на чувствителноста на лососот на стрес и промени во околината. На овој начин одгледувачите можат да го користат индексот на благосостојба кога планираат специфични технолошки процедури (како што е времето на дистрибуција на храна или количина на храна), и одлучуваат кога треба да се спроведат одредени постапки (на пример, чистење на кафезот).

Други одгледувани видови риби, исто така, се предмет на истражување за подобрување на методот за проценка на нивото на благосостојба, како што може да се најде во работата на Van de Nieuwegiessen и сор. (2008).

Постоењето на стандарди за благосостојба го олеснува развојот на методите за проценка на истата, како што е опишано од Relić и сор. (2010a). Постојат детални стандарди за атлантски лосос (RSPCA, 2010), додека Општите препораки за одгледуваните риби ги дава Советот на Европа (2005). Благосостојбата на рибите при одгледување во фарми, транспорт, колење и лабораториска употреба е исто така предмет на публикациите на водечките светски организации, на пр. FAO, WTO, OIE, The Codex Alimentarius, WVA, WSPA итн. (Anon., 2006; Johansen и сор., 2005). Услови за одгледување за некои комерцијални видови, вклучително и крап (*Ciprinus carpio*), се дискутирани од EFSA (2009).

**Табела 6. Пример за критериуми за благосостојба на риби**  
 (според <https://friendofthesea.org/marine-conservation-projects-and-awareness/fish-welfare/>)

ред. бр.	барање	ниво на важност	индикатор
1	производствените капацитети треба да обезбедат вертикален и хоризонтален простор, за да се оптимизира благосостојбата во однос на густината на насад	суштинско	секогаш треба да постои вертикален и хоризонтален простор
2	во производствените капацитети не треба да има остри предмети, за да не дојде до повреда на рибите	суштинско	отсуство на опасни предмети
3	производствените капацитети, мрежата и опремата треба постојани да се проверуваат во однос на појава на дупки или оштетувања	суштинско	мрежата и опремата треба да е во добра состојба
4	дизајнот на производствените капацитети треба да овозможува добар пристап во секое време	суштинско	просирност на вода, камери...
5	потребно е да се обезбеди оптимален фотопериод врз основа на рибите кои се одгледуваат и нивните побарувања во однос на благосостојбата	суштинско	природен фотопериодизам и тип на риби
6	на располагање треба секогаш да има дополнително осветлување, фиксно или	важно	постојани проверки за постоење на дополнително

	преносливо		светло
7	да постојат резервни мрежи, како и опрема	се препорачува	се проверува состојбата на мрежата и опремата
8	кафезите да бидат сместени така што бучавата да биде сведена на минимум (максималниот звук да изнесува под 150 dB)	важно	отсуство на бучава, бучавата постојано да се следи

Проценката на благосостојбата на рибите во рибниците е важно прашање повеќе од две децении во светот, а последните години и во нашата земја (Cvetković и сор., 2013, Cvetković и сор., 2015). Иако се заснова на истите принципи како и кај копнените животни, проценката на благосостојбата на рибите на фармите е посложена. Воспоставени и добро дефинирани методи постојат за проценка на атлантскиот лосос, додека проценката на благосостојба кај други риби, во различни системи за одгледување сè уште е во тек.

Резултатите од проценката на благосостојбата треба да покажат до кој степен животните се прилагодени на условите за одгледување во производниот систем, како и како условите во системот на производство ги исполнуваат потребите на култивирани видови (Broom, 1996; EFSA, 2008; Lembo и Zura, 2010). Проценката на благосостојбата на одгледуваните риби е основана врз истите принципи како кај животните на копнените фарми. Постојат неколку методи за бодување засновани на некои интегративни нумерички системи или принципи на HACCP. Во основа, вредностите на релевантните индикатори треба да се соберат, да се внесат во соодветната листа за проверка и потоа да се претворат во броеви. За таа цел, се користат вредностите на индикаторите, лесни за утврдување во практични услови (Braske и сор., 1999).

Проценката на нивото на благосостојба на рибите, како и на другите фарми, се заснова на податоци за мерливи индикатори. Единствен систем за проценка на благосостојбата не постои и се уште не е дефиниран. Затоа во последната деценија во светот истражувањето е насочено кон подобрување на методите за собирање податоци, како и изнаоѓање на ефикасен начин за проценка на благосостојбата на рибите при различни услови на одгледување. Имајќи ги предвид разликите што постојат меѓу одгледуваните видови, недостатокот на податоци за одредени видови, прописи и стандарди во областа

на проценка на благосостојба на рибите, се јавува голема потреба за понатамошно истражување во оваа област.

Заштитата на здравјето и болеста ја проучува ихтиопатологијата, која претставува гранка во ветеринарната медицина. Почетоците на проучувањето на ихтиопатологијата датираат од крајот на 19 век. кон почетокот на 20 век во подрачјето на Централна Европа (Фијан, 2006). Интензивно риболовно производство во денешни услови тешко е да се замисли без редовно следење на здравјето статус на одгледувани риби. Големи густини на насад, хранење со мешавини, внесување нова вода во рибникот, аерација, појава на диви риби, птици и цицачи во рибникот/ езерото може да доведе до внесување на некои причинители на болест кои во голема бројност може да доведат до поголем процент на смртни случаи или намалено производство и намален принос.

Поради наведените услови, неопходен е мониторинг на здравствената состојба, навремено дијагностицирање на болести и следење на квалитетот на водата и рибата (Marković и сор., 2004). Секојдневно набљудување на рибата и водата и известување за набљудувањата треба да бидат должност на работниците кои редовно работат на капацитетите за одгледување. Надзорот на овие активности го вршат лица вклучени во одгледување и производство на риба (агрономи, биолози, ветеринари) (Marković и сор., 2004).

При креирањето на шема за проценка на благосостојбата за даден вид риба или животна фаза важно е да се осигураме дека индикаторите за благосостојба ги покриваат сите потреби за благосостојба. Некои показатели за благосостојба засновани на влезни податоци како што се соодветна температура на водата и адекватна концентрација на кислород, лесно се мерат, имаат моментален ефект врз рибата и треба секогаш да бидат вклучени. Следење на сите показатели за благосостојба засновани на влезни податоци кои се потребни за проверка дали се исполнети сите потреби за благосостојба, сепак, е невозможно, но дополнување на овие податоци со индикатори за благосостојба засновани на исход може до одреден степен да го ублажат ова, како што се несоодветните услови за живеење кои во одреден момент ќе резултираат со промени во однесувањето, намален апетит или раст и потенцијално болест или смртност.

Исто така, важно е да се избераат индикатори за благосостојба кои се оперативни и погодни за примена, што значи дека тие се практични за употреба на фармата, додека во исто време даваат валидна индикација за исполнувањето на потребите за благосостојба на рибата. Идеално, фармерот треба да биде способен да го процени и толкува индикаторот за благосостојба на фармата (овие индикатори може да се наречат оперативни индикатори за благосостојба, Operational Welfare Indicators- OWI), но исто така може да користат индикатори кои бараат испраќање на примероци во лабораторија за анализа (наречени Индикатори на благосостојба базирани на лабораторија, Laboratory-based Welfare Indicators- LABWIs), кои се прифатливи доколку даваат информации за благосостојбата на рибите во разумна временска рамка.

#### **1.5.4. Здравствен преглед на рибите**

Интензивирањето на производството во рибарството создава услови кои фаворизираат појава и ширење на болести. Густина на насади, која е често во поликултура, интензивна исхрана во повеќе оброци или во континуитет (хранилки), поретко менување на водата, влијаат на формирањето и ширењето на заразни болести, особено што меѓусебниот контакт на рибите е многу почест од како што е случајот со отворени води или екстензивно одгледување риби.

Како главни причини најчесто се споменуваат:

- Зголемување на ихтиомасата (број и маса) по единица површина.
- Зголемување на бројот на видови риби по единица површина.
- Интензивирање на прихранување, ѓубрење, бојадисување по единица површина.
- Риболов, транспорт, движење на риби.
- Повремено ниска концентрација на кислород, промена на рН вредноста, амонијак.

Овие причини влијаат на појава на стрес и пад на имунитетот што создава поволни услови за појава и развој на болеста (Фијан, 2006). Испитувањето се врши преку определување на должината, тежината, состојбата и изгледот на рибата.

За да се утврди дијагнозата на болеста, потребно е прво да се изврши надворешна инспекција. Овој преглед опфаќа преглед на телото, кожата, перките, жабрите и внатрешните површини на навлаките на жабрите, преглед на очите и аналниот отвор. На преглед може да се утврди присуство на ектопаразити, промени на кожата, жабри, очи како и зголемување на абдоменот. Дневните инспекции вклучуваат надворешна инспекција на рибата со посебен осврт на изгледот на кожа, очи, жабри, луспи, гениталии. На споменатите органи на рибите лоцирани се таканаречените рецептори за заштита на рибите, кои реагираат на најмала промена и соодветно реагираат. Присуството на слуз, заматеност, крварење укажува на нарушување нормални услови за растење.

### **1.5.5. Преглед на одредени органи во рибите**

Надворешното испитување на рибите може да доведе до основни здравствени концепти за состојбата на рибите заснована на фактот дека поединечните органи и нивниот изглед се показатели за општото здравствената состојба. Интензитетот на промените зависи од возрастната категорија, така што поинтензивни промени има кај помладите категории.

**Очи** - Во зависност од карактеристиките на видовите риби, очите мора да бидат правилно поставени. Кај предатори (штука, костур) очите се поголеми бидејќи се користат за визуелно пребарување на плен. Рибите кои живеат на дното (сом, јагула, цуцест сом) имаат мали и неразвиени очи. Доколку очите се воспалени во внатрешноста на орбитите, тоа укажува на нарушена здравствена состојба. Како показател за здравјето, бистрината на очите исто така игра важна улога за општата состојба. Испакнати, вдлабнати очи, недостаток на едно или двете очи, заматени очи, видливи дамки, паразити и крварење се показатели за промени во очите и промените во здравјето. Недостатокот на кислород се изразува кај очите во форма на испакнатини.

**Жабри и жабрени навлаки** - укажуваат на здравствена состојба во која се посветува внимание на големината, нормалната форма, бојата, како и на можните дефекти на жабрените навлаки. Присуство на крв, слуз или трулење на жабрите, недостаток на

навлаки, навлаки со нееднаква должина, видливи паразити на жабрените навлаки доведуваат до промени во здравјето на рибите.

**Крлушки и кожа** - недостаток на луспи, оштетување на кожата, бледило, недостаток на природен сјај и слуз се показатели за непожелни промени, како и посветла или потемна боја на кожата од нормалната и поинтензивна или бледа пигментација на кожата. Служта има значајна улога во заштита од надворешни патогени и секое задржување на суво, како и груба манипулација со рибите ја зголемува можноста за пенетрација на патогенот во телото. Секоја повреда на кожата (предизвикани од болест, механички повреди, предатори) и отстранување на служта претставува „влезна врата“ за многу патогени.

**Перки и опашка** - искинати, оштетени перки, со делови што недостасуваат, како и видливи паразити, појава на бели точки, укажуваат на непожелни промени во перките и опашката.

**Полов отвор** - оток и црвенило на гениталниот отвор, во некои случаи и истекување на несварената храна (Фијан, 2006) укажува на промени во здравствената состојба на рибите.

### **1.5.6. Состојба на стрес**

Развојот на аквакултурата неминовно предизвика големи промени во биотичките и абиотичките фактори со што се нарушуваат сите нивни сложени односи. Интензивното производство се заснова на зголемување на бројот на единки по единица волумен, како и примена на интензивна исхрана. Високата густина на риби со интензивни услови за хранење предизвикува формирање на големи количини на метаболички производи и неискористена храна чие распаѓање значително го влошува квалитетот на водата и хигиенските услови во езерцето/рибникот.

Таквата состојба ја доведува одгледуваната риба во состојба на стрес со што се создава соодветна средина за развој на голем број патогени и нивно ширење (Treeг и сор., 1995). Состојба на стрес кај рибите е најчеста во системот на интензивно одгледување. Нарушување на условите на околината и исхраната предизвикуваат физиолошки



одговор, бидејќи рибата има тенденција да се прилагодува на новоформираните услови. Ако дејството на негативните фактори продолжи, се намалува способноста на телото да се прилагоди, со што се зголемува подложноста на болести.

Стресните фактори кај рибите може да се поделат на (Фијан, 2006):

а. Физички стресори:

- Промена на температурата
- Светло со поголем интензитет
- Боја која е премногу иритирачка
- Гласни звуци

б. Биолошки стресори:

- Несоодветна густина на насад
- Социјални односи (меѓусебно нетолерантни видови, страв од предатори, чести улов и нарушување на структурата на јатото во внатрешноста на кафезот)
- Нарушување на основната средина (физичко-хемиските својства на водата, т.е. промени на рН режим, кислород, амонијак, загадување)
- Манипулација со риби (ловење, сортирање, транспорт, вештачки мрест)
- Храна со несоодветен состав и квалитет: лошо избалансирана храна, погрешно избрана големина на гранули, поголеми количини прашина, расипана храна

в. Хемиски стрес фактори:

- Несоодветен состав и нагли промени во својствата на водата (нарушена рН вредност, амонијак, кислород...) загадување на водата предизвикано од внесување на штетни материи или хемикалии реакции во езерцето
- Ненадејна промена и несоодветен состав на дополнителна храна
- Третмани (бања)

При интензивно размножување најчесто стресот се јавува поради комбинирано дејство на повеќе фактори (стресори), кои секако вклучуваат механички повреди (трауматизација) предизвикани од неадекватна манипулација или повреди

предизвикани од предатори. Повредите (лезиите) кои се јавуваат можат да бидат надворешни или внатрешни.

### **1.5.7. Однесување на рибите**

Ова е еден од основните начини на кои можеме да ја одредиме општата состојба на рибите во одгледувачките капацитети. При тоа, кај рибите се следи: групирање и индивидуален пристап до површината или долж брегот, собирање во пределот на доток на свежа вода, мирна состојба на рибата, ненормална положба на телото, гребење по предмети во вода, собирање во круг, брзо краткотрајно пливање, нејадење, излегување на рибите на површината од водата.

Според Фијан (2006), однесувањето на рибите кога се болни се карактеризира со: возбуда, смиреност, ненормално пливање, престој покрај брегот или работ на базенот, проблеми во одржувањето на рамнотежата, промена на бојата, промени во количината на слуз, надуеност или губење на тежината, појава на туѓи тела на површината на телото (паразити), послаб внес или прекин на внесот на храна (загуба на апетит), забрзано или забавено дишење, пристигнување на риба во свежа вода или излез од водена површина.

Реакцијата на здрави риби кон послаби хемиски и физички услови се манифестира со нивно поместување до делот каде што овие услови се непроменети (пример, движење на рибите кон крајбрежниот дел обраснат со трска поради заштита од повисоки рН нивоа) што е карактеристично за пролетта. Нерамномерна распределба на рибите во кафез или на површината на водата (собирање во одделни групи – јата) може да биде последица на покачени концентрации на амонијак при прекин на дополнителен внес на храна во летните месеци; во подлабоките делови на езерцето е последица на топлинска стратификација вода (поради високите температури без ветер) што доведува до влошување на условите за живот под термоклимата. Рибите кои ги покажуваат наведените симптоми треба да се изолираат што е можно поскоро за да се испитаат и да се утврди причината за тоа, како и да се спречи можното ширење на инфекцијата.

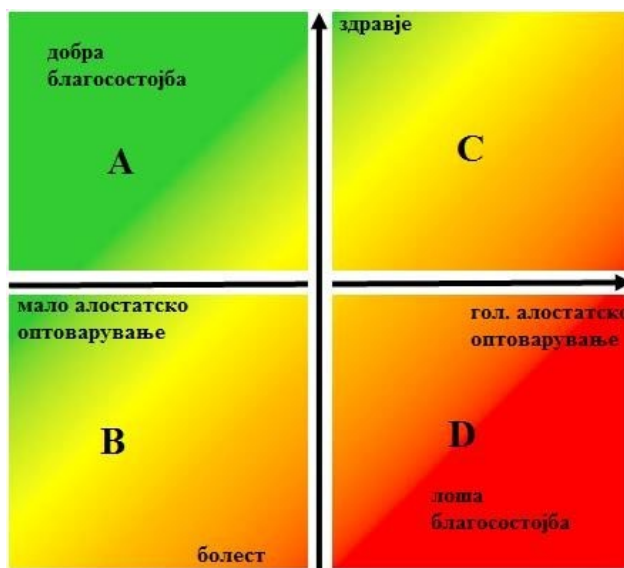
Во аквакултурата, терминот „здравје“ често се толкува како „отсуство на очигледна болест“, и на тој начин, акцент е даден на превенцијата и искоренувањето на болеста

(Broom, 2007). Здравје, од оваа перспектива, значи способност на животното да вршат нормални физиолошки функции и да одржува хомеостаза, а со тоа ја поддржува нејзината способност да издржат инфективни и неинфективни стресори. Како такво, доброто здравје е од суштинско значење (но сè уште не доволно) за добра благосостојба (Ashley, 2007; Duncan, 2005). Лошата здравствена состојба, односно намалената способност на животно да врши нормално функционирање, да се прилагоди на стресни состојби подразбира лоша благосостојба на животното.

Стресори (на пр. несоодветно ракување, несоодветни услови за одгледување, како што е густ насад, што води кон нагласени социјални интеракции, лош квалитет на водата и појава на патогени) присутни во системите за одгледување претставуваат потенцијални закани за благосостојбата на животните, а со тоа и за здравјето на животните (Huntingford и сор., 2006), бидејќи се наметнуваат на алостатско оптоварување на животното, кое гледано краткорочно ќе ја наруши неговата физиолошка хомеостаза, додека гледано долгорочно ќе ја наруши неговата состојба и здравствениот статус (Broom и Corke, 2002; Roger, 2008). Блиската врска помеѓу здравјето и благосостојбата е видливо и од развиениот „концепт за петте слободи“, кој е развиен и воведен со цел да се обезбеди благосостојба. Овој концепт вклучува слобода од жед, глад и неухранетост, слобода од непријатност преку обезбедување на соодветна животна средина, слобода од неволја преку обезбедување на соодветни услови за живот и слобода од болест.

На пример, кога животното нема пристап до храна, неговата благосостојба („слобода од глад“) е нарушена, но во исто време, гладот ги изложува рибите на ризик од развој на метаболички проблеми (слика 5, квадрант C) и евентуално метаболички болести и инфекции, кои се здравствени проблеми (слика 5, квадрант D). Во ова сценарио, лошата благосостојба претходи на слабото и нарушено здравје на рибите. На сликата, квадрант A, риба одгледувана во оптимална средина, определена според биологијата на рибата, има минимално алостатско оптоварување и не покажува знаци на нарушено здравје, додека благосостојбата е максимизирана. Сепак, сите здрави риби може да бидат погодени од акутна инфекција која ја намалува благосостојбата на рибата (слика 5, квадрант B), сценарио кое ќе доведе до лошо здравје и лоша благосостојба. Врската помеѓу здравјето и благосостојбата е дополнително нагласена од Dawkins (2006) кој сугерира дека благосостојбата на животното може да се карактеризира со прашањето

„дали животното го добива она што го сака“ и „дали животното е здраво?“ Така, иако постојат блиски и меѓусебни врски помеѓу благосостојбата и здравјето, знаењето за тоа како промените во хомеостазата и здравствената состојба се претвораат во благосостојба на рибата и обратно во моментов е прилично ограничено.



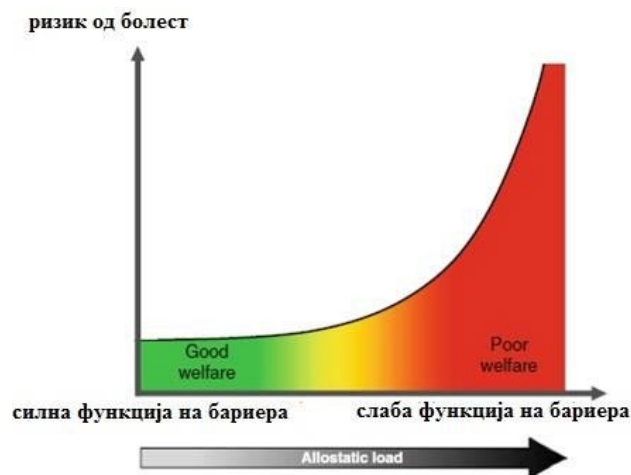
Слика 5. Графикот ги визуелизира разликите и врските помеѓу концептите на здравје и благосостојба. При исцртување на здравјето наспроти алостатското оптоварување, четири различни услови што може да ги искушат рибите се воочливи (квадранти А, В, С и D). Риби кои се во оптимална физичка средина со ниско ниво на стресни фактори, додека во исто време се здрави- благосостојбата се дефинира како добра (квадрант А). Во квадрант В алостатското оптоварување е мало, но присутна е болест предизвикана од патоген- како последица на тоа, благосостојбата е намалена кај заразената риба поради симптоми на болеста. Во квадрант С интензитетот на стрес факторот е поголем, што влијае на здравјето и способноста на рибата да се справи со својата околина, но интензитетот сè уште не е доволно силен за да предизвика болест - ситуацијата е прифатлива благосостојба. Сепак, постои ризик од зголемена подложност на болеста - тоа по дефиниција е состојба на намалена благосостојба. Во квадрант D постои високо алостатско оптоварување како и различни болести, кои води до дефинирање на постоење на најлоша благосостојба на рибите. (извор Segner и сор., 2012).

Главната разлика помеѓу алостаза и хомеостаза е тоа што алостаза претставува процес на одржување на хомеостаза, додека хомеостаза е состојба на постојани внатрешни физички и хемиски состојби кои го одржуваат организмот.

Предност на проценката на здравјето во широка смисла, вклучувајќи ги и патолошките промени и болеста, е дека обезбедува прагматичен пристап кон оценувањето на благосостојбата на рибите во ситуации кога тие се одгледуваат.

Емпириски, докажано е дека стандардните практики на аквакултурата може да резултираат со зголемени чувствителност на рибите кон болести (Mazur и Iwama, 1993; Conte, 2004; Dror и соp., 2006). Примарните и секундарните реакции на стрес се поврзани со значителни енергетски трошоци и особено во услови на повторен и хроничен стрес, ова ќе доведе до терциерни стресни реакции, како намален раст, намален капацитет за пливање, нарушена отпорност на болести или помала активност на хранење (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002).

Првите линии на одбрана се примарните бариери, т.е. слузта и епидермалните површини во кожата, жабрите и цревата, кои го сочинуваат контактот помеѓу рибата и надворешниот свет. Овие бариери регулираат, на пример, размена на јони, вода и гас со околината, тие се почетните места на влез на патогенот во рибата, а во случај на штетни супстанции, бариерите се почетни места на навлегување и дејството на овие супстанции.



**Слика 6. Графикот ја визуелизира врската помеѓу зголемувањето на алостатско оптоварување, намалена функција на бариера и зголемен ризик од болест, во контекст на благосостојба на риби. (извор Segner и соp., 2012).**



## 2. ЦЕЛ НА МАГИСТЕРСКИОТ ТРУД

Целта на истражувањето во овој труд е да се процени влијанието на пробиотикот врз благосостојбата на крапот одгледуван во кафези и хранет со комерцијална храна суплементирана со експериментален пробиотик.

За остварување на целта, за прв пат, беше дизајниран протокол за дефинирање на параметри за проценка на благосостојба на кафезно одгледуван крап и поставени се следниве задачи:

- да се определи прирастот на рибите;
- да се определи кондициониот фактор;
- да се определи конверзијата на храната;
- да се определат и следат здравствените параметри (повреди на кожа, повреди на перки, процент на преживување)
- врз основа на сите претходно наведени параметри- да се определи благосостојбата на крап одгледуван во кафези



# МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ



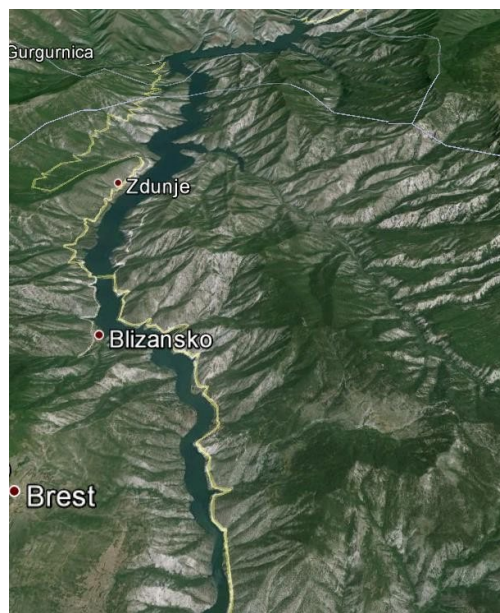
### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

#### 3.1. Локација

Експериментот се изведуваше на регистриран производствен објект “МИА ЕКОФИШ ДОО”, кафезна фарма, која се наоѓа во акумулацијата “Козјак”. Акумулацијата "Козјак" е најголемо вештачко езеро по површина, длабочина и по должина во нашата земја, а пред се по вкупното количество вода во него.

„Козјак“ е акумулационо езеро долго 32 километри, со максимална длабочина од 135 метри, а растојание од едниот до другиот брег над 500 метри. Се наоѓа на надморска височина од неполни 300 метри. Тоа е најдолго вештачко езеро во државава. Вкупниот бруто волумен на акумулацијата изнесува 550 милиони  $m^3$  вода, а има корисен волумен од 260 милиони  $m^3$ . Езерото се наоѓа на околу 25 км. низводно од вливот на реката Треска во реката Вардар.

Водата од акумулацијата се користи првенствено за хидроенергетски цели, но претставува и регулирана вода за низводните хидроцентрали како и вода за наводнување на Скопско Поле.



Слика 7. 3D приказ на акумулација Козјак.

За изведување на истражувањето сопственикот на рибникот одвои три прегради/кафези со димензии 5x5x5 м, односно 3x125м<sup>3</sup> волумен од рибникот (А, В и С).



**Слика 8. Кафезна фарма Козјак „МИА ЕКОФИШ ДОО“.**

### **3.2. Храна за риби и подготовка на пробиотик**

Како основа во исхраната на крапот во експериментот, се ползуваше готова комерцијална, пелетирана храна од реномиран производител „Аqua“ од Австрија, со големина на пелети од 2 - 6 mm.

Табела 7. Хемиски состав на комерцијалната храна која се употребува во експериментот.

компонента	застапеност (%)
протеини	30
масти	10
сурови влакна	4,5
сурова пепел	6,5
калциум (Ca)	0,90
натриум (Na)	0,25
фосфор (P)	1,10

На основната храна, која беше во облик на пелети, со посебна постапка беше додадена бактериска култура - пробиотик *Paenibacillus alvei* DZ-3, во строго дефинирани количини. Производството и подготовката на пробиотикот се изведуваше во лабораторијата при Катедрата за микробиологија и микробна биотехнологија на Природно-математичкиот Факултет во Скопје.

Подготовката на пробиотикот беше изведена преку следната постапка: пробиотската бактерија *Paenibacillus alvei* DZ-3 се умножуваше во NB (хранлив бујон) на 37°C/24h/180 rpm. Биомасата се собираше на 4000 rpm/15 min., а потоа се промиваше со 5 ml PBS (фосфатен пуфер) (pH=7,2) два пати последователно. Потоа биомасата се растворише во PBS до  $1,5 \cdot 10^8$  CFU/ml (=Mcfarland 0,5). Во експериментот пробиотикот се аплицираше во две концентрации: 1 ml/kg и 2 ml/kg храна.

Подготовката на храната со додаден пробиотик се одвиваше на следниот начин: Пробиотикот во течна состојба, со распрснување се аплицираше врз пелетираната храна во мешалка во времетраење од 3 минути. Потоа истата се мешаше во мешалка, во времетраење од 5 минути. Измешаната храна со додадениот пробиотик, се нанесуваше рамномерно распоредена во слој од 2 см, на суво, проветрено место да се суши во времетраење од 2 часа.

Храната со пробиотик за експерименталните групи А и В, се приготвуваше на секои две недели, а дневните дајби се одредуваа согласно пропишаната таблица од производителот на храната, во зависност од температурата на водата и телесната тежина на рибите.

### 3.3. Хемиски анализи на вода

Во текот на експериментот беа следени основните физичко-хемиски параметри значајни за определување на благосостојбата на рибите, а направена е и комплетна физичко-хемиска анализа на водата со сезонска динамика. Температурата беше мерена секој ден на длабочина од еден и од два метри со дигитални термометри со сонда кои беа поставени во водата и тоа во кафезите каде се изведуваше експериментот. Растворен кислород и рН на водата се мереа во деновите кога се вршеа контролните риболови. Кислородот се мереше со мобилен оксиметар марка YSI DO200, а рН на водата се мереше со мобилен рН-метар марка YSI pH100. Концентрацијата на амонијак во водата и другите физичко-хемиски параметри се мереа спектрофотометриски во лабораторијата на УКИМ Институт за сточарство. Користен е спектрофотометар “Novaspec II“ и китови за анализа на вода “Palintest – Novaspec II - Water Analysis System” од производителот “Amersham Pharmacia Biotech AB” од Шведака. Од физичките параметри покрај температура беа испитувани: провидност на водата (cm Secchi disc), видлива и измерена боја (Pt-Co) и мирис на водата. Од хемиските параметри покрај кислород и електрохемиса реакција беа следени: слободен CO<sub>2</sub> (mg/l), алкалитет (mg/l CaCO<sub>3</sub>), биолошка потрошувачка на кислород (БПК<sub>5</sub>), хемиска потрошувачка на кислород како потрошувачка на KMnO<sub>4</sub>, суспендирани материи (mg/l), сув испарен остаток на 105°C (mg/l), амониум (mg/l), нитрити (mg/l), нитрати (mg/l), фосфати (mg/l PO<sub>4</sub>), растворен јаглороден двооксид CO<sub>2</sub> (mg/l).

### 3.4. Експеримент

Експериментот траеше една одгледувачка технолошка сезона (од 16.04.2018 до 30.09.2018 година), а се одвиваше во две фази.

Пред почеток на експериментот, на 16.04.2018 година се изврши сортирање и избор на биолошкиот материјал (единки подмладок крап), потребни за формирање на трите експериментални групи. Сортираните и одвоени единки беа со просечна телесна маса од 170 g. Во секој кафез насадени се ист број на единки крап, со просечна телесна маса

од 170 грама. По насадувањето на рибите во одделни групи, беше одредена вкупната ихтиомаса во секоја група, која ја претставуваше иницијалната тежина на групите.

Во првата преграда беше насадена првата експериментална група со 323 единки крап, со просечна телесна маса од 172,8 g и вкупна ихтиомаса од 55800 g. Истата ја репрезентира групата „А“, која беше третирана со пробиотик со пониска концентрација.

Во втората преграда, беше насадена втората експериментална група, со 323 единки крап, со просечна телесна маса од 172,4 g и вкупна ихтиомаса од 55700 g. Истата ја репрезентира групата „В“, која беше третирана со пробиотик со повисока концентрација. Третата преграда беше насадена со 323 единки крап, со просечна телесна маса од 172,1 g и вкупна ихтиомаса од 55600 g. Оваа група ја претставува групата „С“ која е контролна и рибите од истата беа хранети со комерцијална храна, без пробиотик.



**Слика 9. Почетно насадување на експериментални групи.**

Во храната за првата експериментална група (А) беше додаден пробиотик во количина од 1 ml/kg храна, со концентрација од  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml.

Во храната за втората експериментална група (В), беше додаден пробиотик во количина од 2 ml/kg храна, со концентрација од  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml.

Третата група (С) беше означена како контролна груп и во истата рибите беа хранети со комерцијална храна без употреба на пробиотик.

Примероците во сите три групи се исхрануваа во тек на 24 часа со автоматски хранилки, а исхраната беше согласно таблица, препорачана и дефинирана од страна на производителот на храната.



**Слика 10. Експериментален кафез со автоматски хранилки во прва фаза.**

### **3.4.1. Контролно мерење на рибите од експерименталните групи А, В и С**

Експериментот се одвиваше во временски период од 5 месеци, кога беа направени едно почетно и пет контролни мерења. Експериментот беше поделен на две фази. Првата фаза е означена како „одгледување на подмладок“ и траеше 2,5 месеци. На определен период (11 до 16 дена) вршени се мерења на определен еднаков број на единки, од секоја експериментална група (30– 50) единки. Втората фаза започна во јуни 2018 а

заврши на 30.09.2018 година. Во тој период направено е едно почетно мерење и едно мерење на крајот на одгледувачката сезона на 30.09.2018 година.

Првото мерење и насадување на 16.04.2018 година е определено како стартно мерење и претставуваше контрола на рибите пред додавање на пробиотик во храната. По принцип на случаен избор на 28.04.2018 беа одбрани и измерени по 30 единици од секоја експериментална група. Тоа е првото мерење во експериментот. Во периодот од 16.04.2018 до 28.04.2018 година рибите се исхрануваа со комерцијална храна без додавање на пробиотик. Првата храна со пробиотик е дадена на рибите на 28.04.2018 година. Од тогаш и почнува експерименталната фаза на определување на влијанието на пробиотикот врз благосостојбата на рибите.

Активности кои се спроведоа во текот на експериментот:

- се подготвуваше храна со пробиотик;
- беше следено однесувањето на рибите во кафезите
- беа определувани основните физичко-хемиски параметри на водата;
- се следеше потрошувачката на храна;
- беше одредувана конверзија на храна;
- се мереше вкупната ихтиомаса во секој кафез на експерименталните групи;
- се следеа промените кај рибите;
- се следеа здравствените параметри;
- се вршеше проценка на благосостојбата на рибите.

### **3.4.2. Параметри кои се следеа во овој магистерски труд**

Со цел да се согледаат ефектите од применување на пробиотик како додаток на храната за крапот и да се определи благосостојбата на рибите, се следеа следниве параметри: конверзија на храна, коефициент на кондиција, здравствени параметри.

**Конверзија на храна** - Количеството на храна, во килограми, потребно за прираст на рибата од еден килограм. Конверзијата беше определувана според формулата (Singh и сор., 2011):

$$FCR = \text{потрошена храна (g)} / \text{прираст на риби (g)}$$

**Кондиција на рибите** - се следеше преку определување на факторот на кондиција - Фултоновиот коефициент (F), според формулата (Fulton, 1904):

$$F = W(g) / L^3(sm) \times 100.$$

каде W – маса на рибите во грами и L – должина на рибите во сантиметри.



Слика 11. Димензии кои се користат за пресметување на одредени параметри.

**Здравствени параметри** - Од здравствените параметри беа следени сите промени кои се настанати на телото на рибите. Посебно се определуваа повредите на телото кај рибите настанати од еритродерматитис и настанатите промени од механички повреди. Од добиените податоци беше определуван процентот на повредени риби (или процент на болни), како и процентот на заздравени единки. Беше определуван и процентот на преживување и процентот на смртност во секоја од фазите на одгледување.

### 3.4.3. Протокол за проценка на благосостојба

Со оглед на тоа дека во нашата држава не постои протокол за дефинирање на параметри за проценка на благосостојба на кафезно одгледуван крап, за прв пат во оваа



магистерска теза, направен е обид истиот да се дизајнира и да се користи во текот на експериментот.

Во дизајнирањето на протоколот за проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап, како основа, се користеше т.н. „Ликертова скала од пет нивоа за рангирање на статусот на благосостојба“ (Bracke и сор., 1999; Vagias, 2006). Можните опсези на вредности за одреден параметар се класифицирани во категории. За производните и здравствени параметри воведени се пет (од 1 до 5), додека за параметрите за квалитет на водата воведени се шест категории (од 0 до 5). Во принцип, за најнепосакуваните вредности на квалитетот на водата се дава нула (0) поени. Ако измерената вредност на кој било параметар е оптимална, се дава пет (5) поени.

Вкупниот резултат потоа се дели со бројот на параметри и според вредноста добиениот статус на благосостојба се квантифицира во категорија (статус) од 1 до 5 и се опишува како: „неприфатлив“ (< 1,80), „прифатлив“ (1,81 - 2,60), „добар“ (2,61 - 3,40), „многу добар“ (3,41 - 4,20) и „одличен“ (4,21 - 5,00) (Not Acceptable (NA), Acceptable (A), Good (G), Very Good (VG), Excellent (E) (прикажано во табела 8).

**Табела 8. Квантифицирање на статус на благосостојба**

ознака	опис на статусот	меѓународна ознака
<b>1 (&lt;1,80)</b>	неприфатлив	Not Acceptable (NA)
<b>2 (1,81 - 2,60)</b>	прифатлив	Acceptable (A)
<b>3 (2,61 - 3,40)</b>	добар	Good (G)
<b>4 (3,41 - 4,20)</b>	многу добар	Very Good (VG)
<b>5 (4,21 - 5,00)</b>	одличен	Excellent (E)

Проценката на благосостојбата на рибите, согласно дизајнираниот протокол, е направена за секоја фаза од одгледувањето на крапот во кафезниот рибник и тоа за секоја експериментална група. На крајот на првата фаза од експериментот е направена проценка на благосостојбата на рибите и проценето е влијанието на пробиотикот врз благосостојбата на рибите. Истото е направено и на крајот на одгледувачката сезона на 30.09.2018 година.



# РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

#### 4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

##### 4.1 Физичко-хемиски карактеристики на водата во езерото „Козјак“

Физичко-хемиските карактеристики на водата од езеро Козјак дадени се во табела 9.

Табела 9. Основни физичко-хемиски карактеристики на водата во езерото Козјак.

Параметар	Април	Мај	Јуни	Септември
Боја	нема	нема	нема	нема
Мирис	нема	нема	нема	нема
Провидност (cm)	280	650	720	810
Спроводливост [uS/cm]	368	305	315	299
Алкалитет [mg/l CaCO <sub>3</sub> ]	230	205	201	143
Растворен кислород [mg O <sub>2</sub> /l]	10.8	8.9	8.4	7.8
Растворен јаглероден двооксид [mg O <sub>2</sub> /l]	1,6	2.1	2.3	1.8
БПК <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> /l]	3.50	1.28	1.43	2.76
ХПК-КМnO <sub>4</sub> [mg O <sub>2</sub> /l]	1.29	1.63	1.69	1.41
NH <sub>4</sub> [mg N/l]	0.0016	0.0200	0.0300	0.0048
NO <sub>2</sub> [mg N/l]	0.0055	0.0070	0.0060	0.0070
NO <sub>3</sub> [mg N/l]	0.6826	0.2100	0.2800	0.0070
Фосфати PO <sub>4</sub> [mg PO <sub>4</sub> /l]	0.0300	0.0170	0.0150	0.0160

Од направените физичко-хемиски анализи на водата од акумулацијата Козјак, на кафезната фарма „МИА ЕКОФИШ“, каде се изведуваше експериментот, може да се констатира дека станува збор за вода со исклучително добар квалитет. Ниту еден од испитуваните параметри не отстапува од граничните вредности за одгледување на крап. Сите вредности на анализираните параметри се карактеристични за води со квалитет кој е во прва или втора категорија.

Провидноста на водата е поголема во летните месеци и се искачува до над 7 метри. Растворениот кислород е редовно висок и во вредности за води од прва класа. Интересно е и тоа што иако станува збор за интензивно одгледување на риби, каде се додаваат големи количини на храна во текот на одгледувачката сезона, нема појава на зголемени концентрации на амониум јони (амонијак) нитрити, нитрати или фосфати.

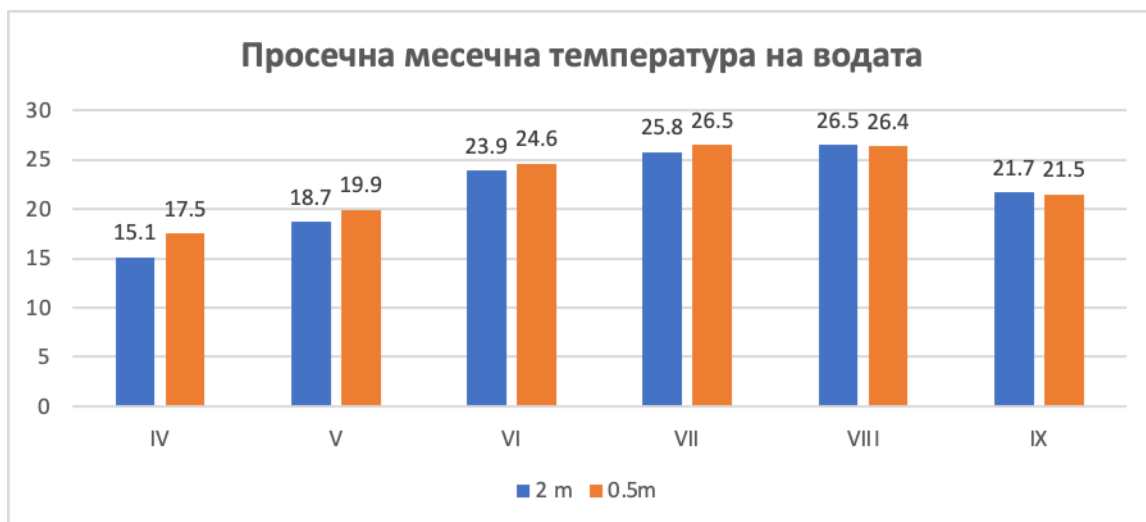
Ова укажува на тоа дека голем дел од нутриентите кои потекнуваат од метаболитичките процеси на рибите брзо се раствараат во водата и се лоцираат во долните слоеви на водата, под кафезите, кон дното. На тој начин немаат негативни влијанија врз рибите кои се одгледуваат во кафезите.

#### **4.1.1. Температура**

Повеќето видови риби не можат да генерираат и задржат доволно ендогена температура за одржување на телесната температура. Температурата директно влијае на хемиските реакции, кои ја координираат функцијата на протеините и биолошките мембрани. Температурата на водата има директен ефект врз физиологијата, хематологијата и биохемијата на рибите, така што наглиот промени во температурата може да имаат сериозни последици кај истите. Наједноставната форма за справување со термичкиот стрес е избегнување на стресните температури. Кога рибите се наоѓаат во средина со температури надвор од нивната оптимална топлинска зона, тоа може да се толкува како стрес, при што се нарушува хомеостазата. При тоа, акутната експозиција резултира со стрес одговор, додека хроничната изложеност резултира со одговор на аклиматизација. Одговорите на термичкиот стрес се: (1) зголемување на хормоните на стрес (кортизол, адреналин и норадреналин); (2) промени во кардиоваскуларните функции и метаболизам; (3) модификации на перформансите и (4) рана реакција на клеточниот стрес со промени во производството и генетска експресија (Evans и сор., 2014).

Температурата на водата во стагнантните живеалишта како што е акумулацијата “Козјак”, е еден од најважните еколошки фактори и параметри на квалитетот на водата. Таа зависи од географската широчина, годишното време, длабочината, движењето на водата и во текот на годината може да варира во широк интервал. Од рибарско-биолошки аспект температурата е еден од најзначајните физички показатели. Влијанието на температурата врз живиот свет е големо и комплексно. Од температурата зависат низа биохемиски процеси кои се одвиваат во водата, како и физиолошки процеси кои се одвиваат во живите организми што живеат во водата. Зголемувањето на температурата води кон забрзување на физиолошките процеси во организмите (посебно поикилотермните) до зголемување на обемот на дишење и исхрана, го забрзува растот и развитокот, циклусот на развој се скратува и бројот на

генерации може да биде поголем. Промените на температурата на водата може да делуваат како сигнал за започнување и одвивање на значајни промени во живите организми. Кај рибите промената на температурата е сигнал за започнување на мрестот. Постои висока зависност помеѓу температурата и исхраната. Со зголемувањето на температурата се намалува растворливоста на гасовите во водата. Тоа во екстремни случаи може да доведе до загрозување на живиот свет во водата како резултат на недоволното присуство на кислород. Вертикалната и хоризонталната дистрибуција на температурата најмногу зависат од морфометријата на акумулацијата и климатските услови од кои најважни се температурата на воздухот и зачестеноста и силината на ветерот. Од термичкиот режим зависат сите сложени процеси кои влијаат на квалитетот на водата во акумулацијата.



**Слика 12. Просечна месечна температура на водата од акумулацијата Козјак мерена на два метри и пола метар длабочина.**

Повеќето видови риби не можат да генерираат и задржат доволно ендогена температура за одржување на телесната температура. Температурата директно влијае на хемиските реакции, кои ја координираат функцијата на протеините и биолошките мембрани. Температурата на водата има директен ефект врз физиологијата, хематологијата и биохемијата на рибите, така што наглите промени во температурата може да имаат сериозни последици кај истите. Наједноставната форма за справување со термичкиот стрес е избегнување на стресните температури. Кога рибите се наоѓаат во средина со температури надвор од нивната оптимална топлинска зона, тоа може да се толкува како стрес, при што се нарушува хомеостазата. При тоа, акутната

експозиција резултира со стрес одговор, додека хроничната изложеност резултира со одговор на аклиматизација. Одговорите на термичкиот стрес се: (1) зголемување на хормоните на стрес (кортизол, адреналин и норадреналин); (2) промени во кардиоваскуларните функции и метаболизам; (3) модификации на перформансите и (4) рана реакција на клеточниот стрес со промени во производството и генетска експресија (Evans и соp., 2014).

На Слика 12 се претставени вредностите за просечната температура на водата од акумулацијата “Козјак”, мерена на 2 и на 0,5 метри длабочина, во периодот април – септември 2018 година, мерена во кафезите каде се изведуваше експериментот. Од табелата и од приложените графикони може да се види дека температурата на водата од акумулацијата “Козјак” во периодот на изведување на експериментот се двожи од 15,1°C во април до 26,5 °C во јули и во август.

#### 4.1.2. Растворен кислород

Кислородот е еден од параметрите со извонредно значење за опстанок на поголем број водени организми. Тој во водата доаѓа од воздухот со дифузија и се создава во текот на процесот фотосинтеза од страна на водените растенија (алги и виши растенија).



Слика 13. Концентрација на кислород (mg O<sub>2</sub>/l) во водата од акумулацијата Козјак мерена за време на експериментот.

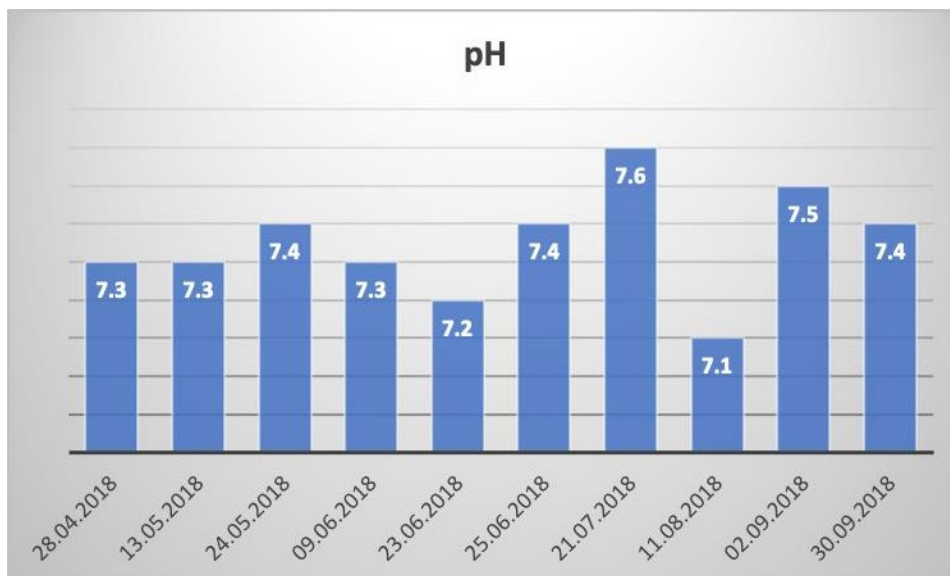
Количеството на растворен кислород во водата зависи од низа фактори и тоа во прв ред од температурата, потоа од количеството на соли и притисокот. Во површинските слоеви на водата, кислородот постојано се обновува како резултат на фотосинтетските активности на алгите и вишите растенија. Во летните месеци може да дојде и до презаситеност. Во подлабоките слоеви на водата кислородот постојано се троши во процесите на минерализација, па го има помалку. Тогаш се забележува изразена кислородна стратификација. За време на зимските месеци копнените води можат да замрзнат. Тогаш кислородот не може да се обновува, го трошат живите организми во процесот дишење, а се троши и во процесите на разложување на органските материи, па може да дојде до ситуации наполно да го снема. Во услови кога има кислороден дефицит доаѓа до помор на рибите, најпрво на оние кои се најчувствителни на намалување на концентрациите на растворен кислород во водата, а подоцна, доколку состојбата продолжи и на оние кои се одликуваат со поширока еколошка валенца во однос на еколошкиот фактор содржина на растворен кислород (Костов, 2006).

Кислородниот режим во водата на акумулационото езеро "Козјак" е претставен на Слика 13. Во текот на 2018 година најниски вредности на концентрациите на растворен кислород се установени во летните месеци јули и август (7,9 и 7,3 mg/l O<sub>2</sub>), а највисоки вредности во април (10,8 mg/l O<sub>2</sub>).

Генерално, концентрациите на растворен кислород во акумулационото езеро "Козјак" во текот на изведувањето на експериментот, во кафезната фарма МИА ЕКОФИШ имаа релативно високи вредности. Според овој параметар, водата од акумулацијата "Козјак" најчесто се вбројува во прва категорија.

#### **4.1.3. Електрохемиска реакција рН**

Вредностите на рН на водата, од акумулационото езеро "Козјак", се претставени на Слика 14. Од прилогот се гледа дека рН вредностите на водата не покажуваат некои позначителни варирања. Во текот на испитуваниот период рН се движи во рамките од 7,1 (11.08.2018) до 7,6 (21.07.2018). Според овие податоци водата во акумулацијата може да се окарактеризира како неутрална до слабо алкална и најчесто е во рамките на вредностите за прва класа.



Слика 14. Вредности на рН на водата од акумулационото езеро "Козјак".

#### 4.2. Хемиска анализа на комерцијална храна суплементирана со експериментален пробиотик

Со оглед на тоа дека целта на истражувањето во овој труд е да се процени благосостојбата на крап одгледуван во кафези и хранет со комерцијална храна, како и комерцијална храна суплементирана со експериментален пробиотик, пред почетокот на експериментот беше направена хемиска анализа на користените видови на храна.

При тоа, кај комерцијалната храна за суплементација се користеше експериментален пробиотик додаден во две различни концентрации, и тоа храна во која се додаваше 1 ml/kg храна (со концентрација од  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml), и храна во која се додаваше 2 ml/kg храна (со концентрација од  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml).

Табела 10. Резултати од хемиска анализа на комерцијална храна без пробиотик и со додаден пробиотик.

параметар (%)	комерцијална храна, без пробиотик	комерцијална храна, суплементирана со 1 ml/kg храна пробиотик	комерцијална храна, суплементирана со 2 ml/kg храна пробиотик
влага	7,27	11,35	10,36
суви материи	92,73	88,65	89,64
сурови	31,13	31,00	30,97



протеини			
сурово влакно	4,94	4,85	4,86
сурова пепел	6,13	5,85	5,91
сурови масти	8,74	8,60	8,60

Од направените анализи на храната може да се констатира дека со додавањето на пробиотикот нема промени на нутритивните вредности на храната. Процентите на сурови масти и сурови протеини во храната се не променети. Одредени промени има во процентот на влага што е и за очекување од причини што пробиотикот е додаван како суспендиран во вода. Иако храната беше сушена во определен временски период, сепак храната во која беше додаден пробиотик имаше зголемени вредности за влага. Кај комерцијалната храна без пробиотик влагата беше под 10% додека кај храната во која беше додаван пробиотик влагата покажа вредности над 10%.

#### 4.3. Контролни мерења од фаза на одгледување на подмладок

За време на одгледување на подмладокот, започнувајќи од 28.04.2018 год. до 23.06.2018 год., беа следени сите промени кои се случуваа кај рибите и нивното однесување, потоа параметрите на раст кај рибите, како и количината на конзумирана храна во дадениот период.

**Табела 11. Вкупна почетна маса, вкупен број на единици, просечна маса (g) на единица и почетна маса на 30 измерени единици при насадување (прва фаза).**

група	вкупна почетна маса (kg) по група	број на единици во група	просечна маса на единица (kg)	почетна маса на 30 риби (kg)
А (пробиотик 1 ml/kg)	55800	323	172,8	5184
В (пробиотик 2 ml/kg)	55700	323	172,4	5172
С (без пробиотик-контролна група)	55600	323	172,1	5163

На следната табела дадени се средните вредности на тежина за секоја група поединечно за секој мерен период, како и вкупната маса на сите мерени и анализирани експериментални единици.

Табела 12. Приказ на мерни вредности на масата (g) од одреден број единки, на три експериментални групи А, В и С.

група	мерење	n	средна вредност (g)	$\Sigma$ (g)
група А (храна со пробиотик 1 ml/kg)	I (28.04.2018)	30	174.2	5184
	II (13.05.2018)	30	222.67	6680
	III (24.05.2018)	50	289.6	8688
	IV (09.06.2018)	50	408.57	12257
	V (23.06.2018)	200	483.47	15696
група В (храна со пробиотик 2 ml/kg)	I (28.04.2018)	30	179.13	5172
	II (13.05.2018)	30	197.7	6520
	III (24.05.2018)	50	266.53	7996
	IV (09.06.2018)	50	372.3	11169
	V (23.06.2018)	259	500	14224
група С (контролна група)	I (28.04.2018)	30	194.57	5163
	II (13.05.2018)	30	219.37	6581
	III (24.05.2018)	50	254.43	7633
	IV (09.06.2018)	50	335.33	10060
	V (23.06.2018)	200	370.77	12328

Од дадените податоци во горната табела се забележува континуираното зголемување на тежината на мерените единки крап, при што кај рибите од експерименталната група В се забележува најголем тренд на пораст на масата, следено со единките од експерименталната група А, додека контролната група С покажува најмало зголемување на масата.

Заради одредување на конверзијата на храната кај рибите, како еден од параметрите кои се од голема важност за одредување на благосостојбата на рибите, се следеше и потрошувачката на храна во текот на експериментот, поединечно и вкупно, на крај од периодот на одгледување на подмладокот и на крај на одгледувачката сезона.

Табела 13. Вкупна количина на потрошена храна (g) во текот на периодот на одгледување.

I (28.04.2018) (g)	II (13.05.2018) (g)	III (24.05.2018) (g)	IV (09.06.2018) (g)	IV (23.06.2018) (g)	Вкупно потрошена храна во прва фаза	Вкупно потрошена храна на крај
Почеток на исхрана	2590	2770	5060	5810	16230	362500

Во табела 13 претставена е вкупната количина на потрошена храна во секоја од групите заедно (A, B и C). Вкупната количина на потрошена храна (g) во текот на периодот на одгледување на подмладокот кај трите групи на тестирани риби изнесува 16230g, а на крајот на експериментот 362500 грами.

Врз основа на количината на потрошена храна одредена е и конверзијата на храна кај рибите од експерименталните групи и контролната група. Конверзијата на храната во основа го покажува количеството на храна (kg) потребно за прираст на рибата од еден килограм. Овој параметар беше определуван според формулата на Singh и sor. (2011):

Табела 14. Конверзија на храна во текот на периодот на одгледување

група	I старт	II	III	IV	V	VI
	28.04	13.05	24.05	09.06	23.06	30.09
A	-	1,7	1,4	1,4	1,7	1,4
B	-	1,9	1,9	1,6	1,9	1,5
C	-	1,8	2,6	2,1	2,6	1,7

Ако се спореди факторот на конверзија на храна кај сите експериментални групи, ќе се забележи дека истиот постојано е помал кај експерименталните групи A и B во споредба со факторот кај групата C, што значи дека со помал внес на храна кај рибите се добива поголема биомаса. Притоа, најдобра конверзија е постигната кај рибите од експерименталната група A, каде храната е суплементирана со пониска концентрација со пробиотик.

Кондицијата на рибите се следи преку определување на факторот на кондиција, односно Фултоновиот коефициент (F), кој се определува според следната формула:

$$F = W(g) / L^3(cm) \times 100$$

каде  $W$  – маса на рибите (g) и  $L$  – должина на рибите (cm).

Според погоре дадената формула, за нејзино одредување најпрво е потребно да се одредат параметрите за маса и должина на рибите.

**Табела 15. Вредности за масата и должината на рибите од експерименталните групи А, В и С, како и вредности за Фултонов-иот коефициент, во текот на периодот на одгледување на подмладокот.**

група	мерење	средна вредност просечна маса (g)	средна вредност (cm)	Фултонов коефициент (F)
група А (храна со пробиотик 1 ml/kg)	I (28.04.2018)	174.2	232.90	1,37
	II (13.05.2018)	222.67	240.97	1,59
	III (24.05.2018)	289.6	247.68	1,82
	IV (09.06.2018)	408.57	272.64	1,98
	V (23.06.2018)	483.47	299.37	1,89
	VI (30.09.2018)	1670.00	445.00	1.91
група В (храна со пробиотик 2 ml/kg)	I (28.04.2018)	179.13	232.40	1,42
	II (13.05.2018)	197.7	231.80	1,58
	III (24.05.2018)	266.53	247.92	1,75
	IV (09.06.2018)	372.3	272.10	1,87
	V (23.06.2018)	500	299.01	1,86
	VI (30.09.2018)	1660	443.00	1.92
група С (контролна група)	I (28.04.2018)	194.57	239.03	1,41
	II (13.05.2018)	219.37	236.37	1,66
	III (24.05.2018)	254.43	245.78	1,78
	IV (09.06.2018)	335.33	272.58	1,72
	V (23.06.2018)	370.77	290.71	1,49
	VI (30.09.2018)	1350	444.00	1.54

Од добиените параметри за масата и должината се анализираа вредностите на пресметаниот кондициски фактор (Фултонов коефициент- F) или факторот на здравје на рибите.

Од Табела 15 јасно се гледа дека се работи за риби кои се со добар Фултон-ов коефициент кај сите три експериментални групи, но како група која се истакнува со најдобри резултати повторно се издвојува група А, каде коефициентот е најголем. Кондициониот фактор (F) на рибата ги одразува физичките и биолошките околности и

флукуации преку интеракција помеѓу условите за хранење, паразитски инфекции и физиолошки фактори. Тоа укажува и на промените во резервите на храна и затоа е показател за општата состојба на рибите. Згора на тоа, состојбата на телото обезбедува алтернатива на скапите *in vitro* анализи на ткивата (Sutton и сор., 2000). Вредностите на кондициониот фактор поголеми од 1,00 ја покажуваат благосостојбата на рибите. Овие вредности се поголеми кај група А и В, за разлика од контролната група С, што сугерира дека рибите хранети со храна суплементирана со пробиотик е подобра од обична храна. Резултатите се во согласност со студијата на Chandra и Jhan (2010) кои исто така забележале поголеми вредности на Фултоновиот коефициент кај рибите кои се хранети со експериментална храна, за разлика од рибите кои се хранети со комерцијалната храна.

#### 4.4. Проценка на благосостојба на кафезно одгледуван крап

Во текот на експериментот, земани се примероци од риба од секоја група во која одгледуваните риби се хранеа со различни типови храна, за анализа и испитување на нивната здравствена состојба. Испитувањето се состоеше од макроскопско испитување на изменети делови и повреди на кожата и перките, како и пресметување на процентот на преживување и смртност на единките. Исто така беше следено и заздравувањето на единките и претставен е процентот на заздрави единки.

Во следните табели даден е приказ на смртноста, повредите, како и типот на повредите и бројноста на оздрави единки за секој период посебно, од првата фаза, кај сите три тестирани групи.

**Табела 16. Приказ на смртност кај рибите во текот на експериментот за време на прва фаза.**

параметар	вк. бр. на единки	бр на прегледани единки	% смртност	% преживување
<b>28.04.2018</b>				
<b>A</b>	323	30	0	100
<b>B</b>	323	30	0	100
<b>C</b>	323	30	0	100

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

<b>13.05.2018</b>				
<b>A</b>	323	30	0	100
<b>B</b>	323	30	0	100
<b>C</b>	323	30	0	100
<b>24.05.2018</b>				
<b>A</b>	323	50	0	100
<b>B</b>	323	50	0	100
<b>C</b>	323	50	0	100
<b>09.06.2018</b>				
<b>A</b>	323	50	0	100
<b>B</b>	323	50	0	100
<b>C</b>	323	50	0	100
<b>23.06.2018</b>				
<b>A</b>	323	323	0	100
<b>B</b>	323	323	0	100
<b>C</b>	323	323	0	100
<b>30.09.2018</b>				
<b>A</b>	323	318	2	98
<b>B</b>	323	320	1	99
<b>C</b>	323	298	8	92

Од горната табела јасно се гледа дека во текот на експерименталниот период на одгледување на подмладок не се забележа смртност кај рибите во ниту еден од кафезите, што укажува на добрите услови за одгледување кои се воспоставени во производствениот објект “МИА ЕКОФИШ ДОО”.

Во периодот на одгледување на конзумна риба констатирана е одредена смртност и тоа: во групата А смртност од 2%, во групата В смртност од 1%, а во контролната група која не се исхрануваше со пробиотици констатирана е смртност од 8%. Станува збор за релативно ниска смртност во сите одгледувачки базени, но евидентно е дека истата е најголема во контролната група која не е исхранувана со пробиотици.

Во табелите 17-20 прикажани се бројот и видот на макроскопски лезии кои се предизвикани од појава на еритродерматитис, како и констатирани механички повреди и деформитети на телото. Промените на кожата кои се предизвикани од еритродерматитис и сапролегнија се во групата на промени кои се предизвикани од болести. Промените кои се настанати како резултат со манипулација на рибите се опишани како механички повреди, а промените кои се опишани како деформитети на телото се генетски и наследни и не се земени во предвид при проценката на благосостојбата на рибите.

Како најчести лезии кои беа забележани кај испитуваните единки беша промените кои се настанати како резултат на појава на еритродерматитот. Ова е за очекување и „нормално“ имајќи во предвид дека одгледувањето на крап се врши во кафези поставени во отворена вода каде има постојан контакт на одгледуваната риба со „дивата“ риба од акумулацијата која се појавува како вектор и пренесувач на низа болести, а меѓу нив и на еритродерматитисот како најчесто присутна болест во отворените води.

Eritrodermatitis-от кај крап претставува инфективна болест со бактериска етиологија која се појавува во субакутна или хронична форма, а се манифестира со карактеристични промени на кожата во вид на ерозии со прогресивен карактер. Ова е болест за прв пат опишана од Шеперклаус во 1928 година како болест предизвикана од *Aeromonas punctata*. Болеста е раширена во сите европски земји, како во рибници, така и во отворени води (Христовски и Стојановски, 2005). Денес се знае дека главен причинител е *A. salmonicida* spp. *nova*, која претставува атипична група на *A. salmonicida*. Од оваа болест најчесто заболува крапот, но можат да бидат нападнати и други ципринидни и топловодни риби како карас, златен карас, штука. Лињак, костеш и калифорниска пастрмка се сметаат за отпорни на оваа инфекција.

Возраста на рибите не влијае на појавувањето на болеста, иако болеста почесто се појавува кај подмладокот по изловувањето и сортирањето. Температурата на водата и кондицијата на рибата, исто така, немаат значење за појавувањето, но сепак влијаат на текот и исходот на болеста. Крапвите со подобра кондиција и конституција реагираат на инфекцијата со посилна инфламаторна реакција, но побргу и во поголем процент оздравуваат.

Механичките оштетувања на кожата, а веројатно и оштетувањата од ектопаразитите, во голема мера ја олеснуваат инфекцијата. Поради тоа, болеста во најголем број случаи се развива по одредени манипулативни зафати со рибите. При температура од 20<sup>0</sup>С болеста се развива брзо, но под поволни услови рибите побрзо оздравуваат, без некои поголеми загуби. Клиничките симптоми се најизразени при температури на водата над 22<sup>0</sup>С. При пониски температури на водата развојот на болеста е побавен, додека угинувањата се поголеми.

Примарен извор на еритродерматитис кај крапот се веќе заболени риби кои живеат во отворени води. Болеста во отворени води по правило има поблаг тек. Во ширењето на инфекцијат голема улога имаат и контаминираниот прибор, алат, опрема и персоналот на рибникот. За пренесување на инфекцијата многу придонесува и блискиот контакт меѓу рибите во текот на манипулативните зафати (Христовски и Стојановски, 2005).

По навлегувањето во кожата, причинителот се задржува во епителот, при што се локализира во сврзното ткиво под оштетениот епител. Со своето присуство доведува до примарна промена на крвните садови, како последица на тоа се јавува хиперемија, едем, крварење, и некротични и инфламаторни алтерации. Инфламаторните промени се шират по кожата до мускулите, па дури и до коските, потпомогнати со секундарни бактериски инфекции. Во одредени случаи доаѓа и до септикемија, особено кога причинителот ќе дојде до внатрешните органи (особено бубрезите) (Христовски и Стојановски, 2005). Ова е проследено со хидропсија на организмот (собирање на течност во органи и ткива).

Инфекцијата започнува како едно или повеќе помали локални запаленија на местото на механичкото оштетување на кожата. Најчести места за нивна појава се перките и опашката. Алтерациите се развиваат во форма на циркулаторно-инфламаторни нагризувања на кожата со некротично ткиво со сино-жолта боја, опкружени со црвена зона. Центарот на промените брзо некротизира, а работ на лезијата е хеморагично воспален. Некротичниот процес оди во длабочина, ова резултира со создавање на ерозии и улцерации. Улцерациите главно се локализирани дорзално, во пределот на главата до опашната перка, и имаат светол раб. Доколку рабор добие црна боја, лезиите започнале да заздравуваат (Христовски и Стојановски, 2005).



Етиолошкиот агенс на еритродерматитисот не го напаѓа мускулното ткиво, што значи дека ерозиите и улцерациите се јавуваат како резултат на секундарна бактериска инфекција. Некротичната компонента на алтерација повеќе е застапена кај риби со послаба кондиција и при пониски температури на водата, додека инфламаторната компонента е повеќе застапена кај риби со добра кондиција и при повисоки температури на водата.

Понатаму, во процесот доаѓа до заздравување и исполнување на дефектот на ткивото со сврзно ткиво-цикатризација (Христовски и Стојановски, 2005). Често пати, и покрај заздравувањата, остануваат одредени нарушувања во вид на деформации на устат и перките.

И покрај промените на кожата, краповите нормално се однесуваат и примаат храна, но забавено растат, слабеат и се анемични.

Морталитетот при еритродерматитис е обично низок, и се движи максимум околу 20%, во зависност од условите на надворешната средина и здравствениот статус на рибите.

Дијагнозата најчесто се поставува врз основа на клиничката слика и патоморфолошкиот наод. Се препорачува да се изведе бактериолошка идентификација и антибиограм. Како терапија најчесто се препорачуваат антибиотици, интраперитонеално или во форма на капење, или пак во храна обогатена со истите. (Христовски и Стојановски, 2005).

**Табела 17. Број и вид на макроскопски лезии кај рибите во текот на експериментот до 28.04.2018 година**

параметар	бр на прегледани единки	број на повредени и болни	% на повредени и болни	број на оздравени	% на оздравени	опис на повреда
<b>28.04.2018</b>						
А	30	3	10	нема	нема	Еритродерматит и рани на кожа
		1	3.3			Механичка повреда
		1	3.3			Риби со деформитет
В	30	1	3,3	нема	нема	Еритродерматит и рани на кожа

**Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд**

		1	3.3			Риби со деформитет
С	30	2	6.6	нема	нема	Механичка повреда

Од табела 17 може да се согледа дека во текот на првото мерење во првата група (А) констатирани се вкупно три единки (3) со надворешно видливи промени на кожата, што е изразено во проценти 10%. Констатирани се промени од еритродерматит како отворена рана под грбна перка и отворена рана на каудален дел. Констатирана е една риба со механичка повреда и една со деформитет. Во групата В констатирана е една единка со еритродерматит, изразено во проценти тоа е 3.3%. Во контролната група С не се забележани единки со промени предизвикани од еритродерматит. Има две риби со механички повреди.

**Табела 18. Број и вид на макроскопски лезии кај рибите во текот на експериментот до 13.05.2018 година**

параметар	бр на прегледани единки	број на повредени и болни	% на повредени и болни	број на оздравени	% на оздравени	опис на повреда
<b>13.05.2018</b>						
А	30	4	13,3	нема	нема	Еритродерматит и рани на кожа
		2	2			Механичка повреда на перка
В	30	3	10	нема	нема	Еритродерматит и рани на кожа
		1	3.3			Мехнички повреди
		1	3.3			Риби со деформитет
С	30	4	13,3	нема	нема	<i>Saprolegnia</i> sp.
		1	3.3			Механичка повреда

Во текот на второто контролно мерење во групата А констатирани се четири ново повредени единки, со еритродерматит, рани на кожата и цисти на опашната перка. Изразено во проценти 13,3% и две риби со мехнички повреди на телото. Во групата В констатирани се три единки со нови повреди предизвикани од еритродерматит и тоа рани на тело под грбна перка и рани на тело кај опашна перка, како и една риба со деформитет и една риба со мехнички повреди на телото. Во контролната група

констатирани се четири единки со клинички знаци на сапролегнија и една риба со механичка повреда. Не се констатирани риби со знаци на појава на еритродерматитис.

**Табела 19. Број и вид на макроскопски лезии кај рибите во текот на експериментот до 24.05.2018 година**

параметар	бр на прегледани единки	број на повредени и болни	% на повредени и болни	број на оздравени	% на оздравени	опис на повреда
<b>24.05.2018</b>						
<b>A</b>	50	3	6	6	12	еритродерматит, рани на опашна и дорзална перка, отворени дорзални рани
		4	8	-	-	Механички повреди
<b>B</b>	50	1	2	2	4	Еритродерматит со рана на латерален дел
		3	6	-	-	Механичка повреда
		1		-	-	Риби со деформитет
<b>C</b>	50	15	30	нема	нема	Еритродерматит отворени рани на кожа
		1	2	-	-	Механичка повреда

Во третата контрола направена на 24.05.2018 година кај три единки во групата А е констатирано присуство на еритродерматит, рани на опашна и дорзална перка и отворени дорзални рани. Во проценти изразено тоа е 8% од прегледани 50 единки. Во групата В констатирана е една единка со рана на латералниот дел на телото. Во контролната група С констатирани се 15 единки со разни видови на рани по телото предизвикани од еритродерматитис. Овде за прв пат се појавува зголемен процент на повреди од еритродерматит и тоа 30%. Од ова може со сигурност да се констатира дека во контролната група има изразено поголем број на единки со видливи надворешни повреди. Ова уажува на фактот дека единките кои се исхранувани со храна во која е додаден пробиотик имаат зголемена отпорност кон присутните болести и како резултат на тоа имаат релативно помали вредности на констатирани едини со промени. Во истата фаза, во групата А, се констатира и присуство на 6 единки кај кои има целосно

здравување на еритродерматитните рани. Во групата В има две оздравени единки, а во групата С нема единки кај кои е констатирано здравување.

**Табела 20. Број и вид на макроскопски лезии кај рибите во текот на експериментот до 09.06.2018 година**

параметар	бр на прегледани единки	број на повредени и болни	% на повредени и болни	број на оздравени	% на оздравени	опис на повреда
<b>09.06.2018</b>						
<b>А</b>	50	3	6	10	20	Еритродерматит, промени на кожа
		2	4	-	-	Риби со деформитет
<b>В</b>	50	1	2	2	4	Еритродерматит краен стадиум
		2	4	-	-	Риби со деформитет
<b>С</b>	50	13	26	5	10	Еритродерматит, разни видови рани
		2	4	-	-	Механички повреди
		1	2	-	-	Риби со деформитет

Во четвртата контрола од првата фаза, во групата А констатирани се три единици со нови еритродерматитни промени, но во исто време констатирани се и 20% единки кај кои има видливи здравувања на еритродерматитните рани. Во групата В нема констатирано нови повредени риби, а во контролната група се констатирани 13 единки или 26% од контролираните риби со нови повреди и видливи промени на телото предизвикани од еритродерматитис.

На фотографиите кои следат (слика 15-18) претставени се различни форми на промени кои се забележаа кај испитуваните риби во текот на изработката на оваа магистерска работа.



Слика 15. Риби со промени на кожа предизвикани од еритродерматит.



Слика 16. Риби со различни деформитети.





Слика 17. Риби со промени на кожа предизвикани од механичка повреда.

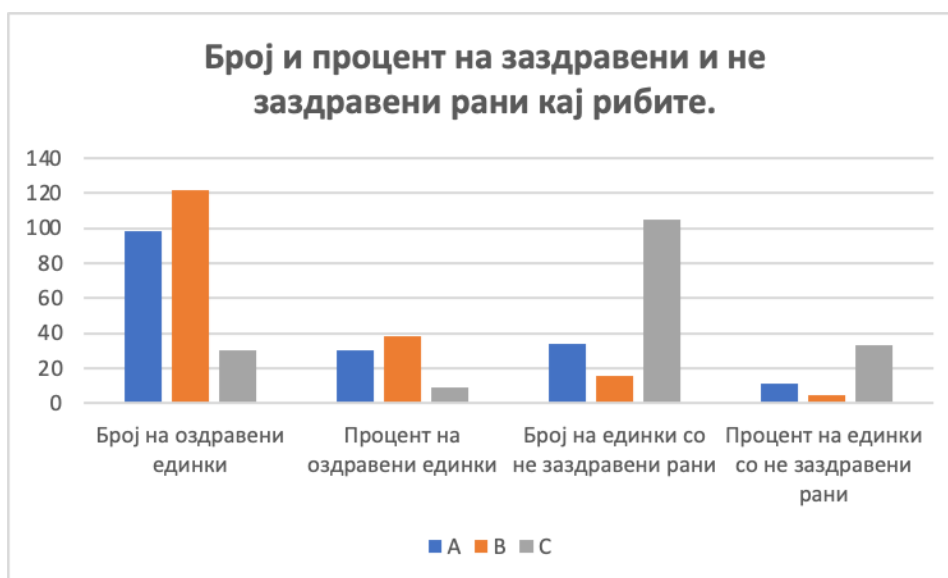


Слика 18. Риби со зараснати рани на кожа предизвикани од еритродерматит.

Во последната контрола направена на 23.06.2018 година направен е пресек и се мерени и контролирани сите единки во кафезите. Мерени и контролирани се по 323 единки во секој кафез. Резултатите од извршените мерења се претставени на Табела 21 и Слика 19.

**Табела 21. Број и процент на заздрави и нездравени рани кај рибите на 23.06.2018.**

Групи	Број на прегледани единки	Број на оздравени единки	Процент на оздравени единки (%)	Број на единки со не заздрави рани	Процент на единки со не заздрави рани (%)
A	323	98	30	34	11
B	323	122	38	16	5
C	323	30	9	105	33



**Слика 19. Број и процент на заздрави и нездравени рани кај рибите на 23.06.2018.**

Во табела 21 и слика 19 прикажани се резултатите од бројот и видот на лезии и надворешни промени кај рибите за време на експерименталниот период, кај трите групи поодделно, како и бројот на зараснати и оздравени риби, кај рибите хранети со комерцијална храна, но и храна суплементирана со пробиотик.

Од табелата може да се согледа дека во првата група има 34 единки кои се со нездравени рани предизвикани од еритродерматитис и механички повреди, односно



11% од вкупниот број на испитувани единки. Во исто време во првата група има 98 единки кај кои се констатирани целони зараснувања на промените предизвикани од еритродерматитис и механички повреди. Во втората група констатирани се 16 единки или 5% од вкупниот број анализирани единки кои не се заздрави, односно имаат активни рани. Во истата група се констатирани 122 единки или 38% кои се со целосно заздрави рани. Во третата, контролна група констатирани се 105 единки кај кои раните не се заздрави (33%). Во истата група има 30 единки кои се со целосно заздрави рани односно 9% од испитаните и анализирани примероци.

Од табелата може да се заклучи дека во групата В, каде единките се хранети со храна суплементирана со пробиотик во концентрација од 2 ml/kg, има најголем процент на заздрави риби, а најмал процен на заздрави риби има во контролната група која е хранета со комерцијална храна без додавање на пробиотици. Во исто време во контролната група (С) има најголем процент на риби со активни и незаздрави рани. Овој процент е најмал во групата В (5%), а релативно поголем во групата А (11%), но многу помал од контролната група (33%).

Може да се види ефектот на суплементираната храна врз процентот на заздравување на раните кај повредените риби. Имено, храната суплементирана со пробиотик во концентрација 2 ml/kg храна се покажа како подобра за благосостојбата на рибите за разлика од храна која е суплементирана со 1 ml/kg храна во однос на бројот на новопојавени лезии кај рибите, но и во процесот на заздравување на лезиите. Исто така, оваа храна покажа и пролонгиран ефект, при што еднаш оздравените риби не појавија повторно лезии по телото.

**Табела 22. Број и процент на заздрави и незаздрави рани кај рибите на 30.09.2018**

Групи	Број на прегледани единки	Број на оздравени единки	Процент на оздравени единки (%)	Број на единки со не заздрави рани	Процент на единки со не заздрави рани (%)
<b>А</b>	318	93	29	0	0
<b>В</b>	320	119	37	0	0
<b>С</b>	298	5	1.7	0	0

Во табела 22 се претставени резултатите од анализата на рибите извршена на 30.09.2018 година, на крајот на одгледувачката сезона. Процентот на заздрави

## Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

единки на крајот на одгледувачкиот период во групата А изнесува 29%, во групата В изнесува 37%, а во контролната група 1.7%. На крајот на експериментот на 30.09.2018 година не се констатирани единки со нови или активни промени предизвикани од еритродерматит или механички повреди. Во текот на целиот период на одгледување во рибникот има незначителна смртност, што укажува на добрите практики на одгледување и благосостојба на рибите.

Врз основа на добиените параметри кои се добија при ова истражување се пристапи кон одредување на благосостојбата на кафезно одгледуваниот крап, при услови кога тој се исхранува со комерцијална храна, комерцијална храна суплементирана со пробиотик во концентрација од 1 ml/kg храна, и во концентрација од 2 ml/kg храна. За таа цел се користеше т.н. Ликертовата скала од „пет нивоа“ (Bracke и сор., 1999; Vagias, 2006) за рангирање на статусот на благосостојба според резултатот кој се добива. Можните опсези на вредности за одреден параметар се класифицирани во категории. За производните и здравствени параметри воведени се пет (од 1 до 5), додека за параметрите за квалитет на водата воведени се шест категории (од 0 до 5).

Во следните табели даден е приказ на благосостојбата на испитуваните риби, за секој мерен период посебно, како за периодот на одгледување на подмладокот, така и за комерцијалната фаза.

**Табела 23. Статус на благосостојба на испитуваните риби (28.04.2018).**

Параметар 28.04.2018	Гранични вредности	Поени	Измерени вредности			Оценка		
			А	В	С	А	В	С
температура (°C)	22,00-25,99	5						
	19,00-21,99	4						
	17,00-18,99	3						
	15,00-16,99 или >27	2	15.1	15.1	15.1	2	2	2
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	>= 8,00	5	10.8	10.8	10.8	5	5	5

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

	7,00-7,99	4						
	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5	7.3	7.3	7.3	5	5	5
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4						
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						
	4-4.5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.0016	0.0016	0.0016	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5						
	1,60-1,79	4						
	1,40-1,59	3		1.42	1.41		4	4
	1,20-1,39	2	1.37			3		
	<1,20	1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5						
	1,40-1,59	4						
	1,60-1,79	3	1.7			3		
	1,80-1,99	2		1.9	1.8		2	2
	>=2,00	1						
% на преживување	> 99.00	5	100	100	100	5	5	5
	95.00 – 99.00	4						
	90.00 – 94.99	3						
	80.00 – 89.99	2						
	< 80.00	1						
% на болни	< 5	5						
	5 – 9.99	4		9.9	6.6		4	4
	10 – 19.99	3	13.3			3		
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1						
квантификација на статусот на благосостојба						3.87	4.00	4.00
опис на статусот на благосостојба						VG	VG	VG

Од табелата може да се согледа дека согласно параметрите за квантификација на статусот на благосостојба на рибите, во сите групи статусот на благосостојба е „многу добар“. Станува збор за прво контролно мерење кое е извршено на 16 дена од насадување на рибите во експерименталните базени. Од тие причини при проценката на статусот на благосостојба не е земен во предвид критериумот „оздравени риби“. Овој критериум се зема во предвид во наредните контролни мерења кога во групите се појавуваат првите единки кои имаат знаци на заздравување на промените предизвикани од еритродерматит и механичките повреди.

Табела 24. Статус на благосостојба на испитуваните риби (13.05.2018).

Параметар 23.06.2018	Гранични вредности	Поени	Измерени вредности			Оценка		
			А	В	С	А	В	С
температура (°C)	22,00-25,99	5						
	19,00-21,99	4						
	17,00-18,99	3	18.7	18.7	18.7	3	3	3
	15,00-16,99 или >27	2						
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	>= 8,00	5	9.4	9.4	9.4	5	5	5
	7,00-7,99	4						
	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5	7.3	7.3	7.3	5	5	5
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4						
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						
	4-4.5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.0020	0.0020	0.0020	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5						
	1,60-1,79	4			1.66			4
	1,40-1,59	3	1.59	1.58		3	3	
	1,20-1,39	2						
	<1,20	1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5		1.9				
	1,40-1,59	4	1.4			4		
	1,60-1,79	3						
	1,80-1,99	2		1.9			2	
	>=2,00	1			2.6			1
% на преживување	> 99.00	5	100	100	100	5	5	5
	95.00 – 99.00	4						
	90.00 – 94.99	3						
	80.00 – 89.99	2						
	< 80.00	1						
% на болни	< 5	5						
	5 – 9.99	4						
	10 – 19.99	3	15.3	13.3	16.6	3	3	3
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1						
квантификација на статусот на благосостојба						4.75	4.50	4.50
опис на статусот на благосостојба						Е	Е	Е

Од табелата може да се види дека статусот на благосостојба на рибите во сите три групи, при втората контрола е „одличен“, со незначително повисоки вредности во групата А.

Табела 25. Статус на благосостојба на испитуваните риби (24.05.2018).

Параметар 24.05.2018	Гранични вредности	Поени	Измерени вредности	Оценка

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

			A	B	C	A	B	C
температура (°C)	22,00-25,99	5						
	19,00-21,99	4	19.9	19.9	19.9	4	4	4
	17,00-18,99	3						
	15,00-16,99 или >27	2						
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	>= 8,00	5	9.1	9.1	9.1	5	5	5
	7,00-7,99	4						
	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5						
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4	7.4	7.4	7.4	4	4	4
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						
	4-4.5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.002	0.002	0.002	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5	1.82			5		
	1,60-1,79	4		1.75	1.78		4	4
	1,40-1,59	3						
	1,20-1,39	2						
	<1,20	1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5						
	1,40-1,59	4	1.4			4		
	1,60-1,79	3		1.6			3	
	1,80-1,99	2						
	>=2,00	1			2.1			1
% на преживување	> 99.00	5	100	100	100	5	5	5
	95.00 – 99.00	4						
	90.00 – 94.99	3						
	80.00 – 89.99	2						

	< 80.00	1						
% на болни	< 5	5						
	5 – 9.99	4		8			4	
	10 – 19.99	3	14			3		
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1			32			1
квантификација на статусот на благосостојба						4.62	4.37	3.37
опис на статусот на благосостојба						E	E	G

При третото контролно мерење и определување на статусот на благосостојба на рибите во групите А и В статусот на благосостојба е „одличен“, додека во контролната група С статусот на благосостојба е „добар“. Ова се должи на големиот број на единки кои имаат активни рани предизвикани од еритродерматитис и механички повреди.

Табела 26. Статус на благосостојба на испитуваните риби (09.06.2018).

Параметар 09.06.2018	Гранични вредности	Посни	Измерени вредности			Оценка		
			A	B	C	A	B	C
температура (°C)	22,00-25,99	5	23.9	23.9	23.9	5	5	5
	19,00-21,99	4						
	17,00-18,99	3						
	15,00-16,99 или >27	2						
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	≥ 8,00	5	8.6	8.6	8.6	5	5	5
	7,00-7,99	4						
	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5	7.2	7.2	7.2	5	5	5
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4						
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

	4-4,5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.03	0.03	0.03	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
	Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5	1.98	1.87		5	5
1,60-1,79		4			1.72			4
1,40-1,59		3						
1,20-1,39		2						
<1,20		1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5						
	1,40-1,59	4						
	1,60-1,79	3	1.7			3		
	1,80-1,99	2		1.9			2	
	>=2,00	1			2.6			1
% на преживување	> 99.00	5	100	100	100	5	5	5
	95.00 – 99.00	4						
	90.00 – 94.99	3						
	80.00 – 89.99	2						
	< 80.00	1						
% на болни	< 5	5		2			5	
	5 – 9.99	4	6			4		
	10 – 19.99	3						
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1			30			1
квантификација на статусот на благосостојба						4.62	4.62	3.87
опис на статусот на благосостојба						E	E	VG

Од табелата може да се констатира дека рибите во групите А и В се со статус на благосостојба „одличен“ додека статусот на благосостојба кај рибите од контролната група С е „многу добар“.



Табела 27. Статус на благосостојба на испитуваните риби (23.06.2018).

Параметар 23.06.2018	Гранични вредности	Посни	Измерени вредности			Оценка		
			А	В	С	А	В	С
температура (°C)	22,00-25,99	5	24.6	24.6	24.6	5	5	5
	19,00-21,99	4						
	17,00-18,99	3						
	15,00-16,99 или >27	2						
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	>= 8,00	5	8.6	8.6	8.6	5	5	5
	7,00-7,99	4						
	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5	7.2	7.2	7.2	5	5	5
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4						
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						
	4-4.5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.03	0.03	0.03	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5	1.89	1.86		5	5	
	1,60-1,79	4						
	1,40-1,59	3			1.49			3
	1,20-1,39	2						
	<1,20	1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5						
	1,40-1,59	4						

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

	1,60-1,79	3	1.6			3		
	1,80-1,99	2		1.9			2	
	>=2,00	1			2.3			1
<b>% на преживување</b>	> 99.00	5	100	100	100	5	5	5
	95.00 – 99.00	4						
	90.00 – 94.99	3						
	80.00 – 89.99	2						
	< 80.00	1						
<b>% на болни</b>	< 5	5		5			5	
	5 – 9.99	4						
	10 – 19.99	3	11			3		
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1			33			1
<b>квантификација на статусот на благосостојба</b>						4.55	4.66	3.55
<b>опис на статусот на благосостојба</b>						<b>E</b>	<b>E</b>	<b>VG</b>

Како што е прикажано на табела 27, најдоброто рангирање на статусот на благосостојба е констатирано во групата В. Статус на благосостојба во оваа група по истекот на експериментот беше опишан како „одличен“, со највисока оценка од 4,66. Исто така, со статус „одличен“ се покажа и групата А, додека контролната група покажа најмала оценка од 3,55 и е со статус „многу добар“.

**Табела 28. Статус на благосостојба на испитуваните риби (30.09.2018).**

Параметар 23.06.2018	Гранични вредности	Поени	Измерени вредности			Оценка		
			А	В	С	А	В	С
температура (°C)	22,00-25,99	5	21.5	21.5	21.5	5	5	5
	19,00-21,99	4						
	17,00-18,99	3						
	15,00-16,99 или >27	2						
	13,00-14,99 или >29	1						
	<13,00 или >30	0						
DO (mg/L)	>= 8,00	5	8.4	8.4	8.4	5	5	5
	7,00-7,99	4						

Проценка на благосостојбата на кафезно одгледуван крап при разни концентрации на диетален пробиотик - Магистерски труд

	6,00-6,99	3						
	5,00-5,99	2						
	4,00-4,99	1						
	<4,00	0						
pH	6.8 - 7.3	5	7.4	7.4	7.4	5	5	5
	6 - 6.8 или 7.3 - 8	4						
	5.6 - 6.7 или 8 - 8.5	3						
	4.5-5.5 или 8.5 - 8.7	2						
	4-4.5 или 8.7-9	1						
	< 4 и >9	0						
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	<0,05	5	0.0048	0.0048	0.0048	5	5	5
	0,05-0,10	4						
	0,11-0,15	3						
	0,16-0,20	2						
	0,20-0,25	1						
	>0,25	0						
Fulton-ов коефициент	>= 1,80	5	1.91	1.92		5	5	
	1,60-1,79	4						
	1,40-1,59	3			1.54			3
	1,20-1,39	2						
	<1,20	1						
Фактор на конверзија на храна	<1,40	5						
	1,40-1,59	4	1.42	1.51		4	4	
	1,60-1,79	3			1.72			3
	1,80-1,99	2						
	>=2,00	1						
% на преживување	> 99.00	5		99			5	
	95.00 – 99.00	4	98			4		
	90.00 – 94.99	3			92			3
	80.00 – 89.99	2						
	< 80.00	1						
% на болни	< 5	5	0	0	0	5	5	5
	5 – 9.99	4						
	10 – 19.99	3						
	20 – 29.99	2						
	≥ 30	1						
квантификација на статусот на благосостојба						4.77	4.88	4.33
опис на статусот на благосостојба						E	E	E

Проценката на статусот на благосостојба на крајот на експериментот покажува дека сите групи се со статус „одличен“, што повторно укажува на добрата одгледувачка практика во рибникот. Овие резултати ја потврдуваат и констатацијата дека рибите кои се хранети со храна збогатена со пробиотик имаат повисоки вредности за благосостојба. Овие резултати ја потврдуваат претходно искажаната констатација дека храната суплементирана со пробиотик во концентрација 2 ml/kg се покажа за нијанса подобра во однос на одржувањето на благосостојбата на рибите за разлика од храна која е суплементирана со 1 ml/kg, а далеку со подобар ефект во однос на комерцијалната храна без додаден пробиотик.

Денес, употребата на пробиотици или корисни бактерии, кои ги контролираат патогените микроорганизми преку различни механизми, се повеќе се смета за алтернатива на третманот со антибиотици. Употребата на пробиотици во исхраната на луѓето и животните е добро документирана (Fuller, 1992; Mulder и соработници, 1997; Rinkinen и соработници, 2003) и неодамна, тие почнаа да се применуваат во аквакултурата (Gatesoupe, 1999; Gomez-Gil и соработници, 2000; Verschuere и соработници, 2000; Irianto and Austin, 2002; Bache`re, 2003).

Зголемувањето на отпорноста на колонизација и/или директните инхибиторни ефекти против патогените микроорганизми се важни фактори каде пробиотиците ја намалуваат инциденцата и времетраењето на болестите. Се покажало дека пробиотичките соеви ги инхибираат патогените бактерии и *in vitro* и *in vivo* преку неколку различни механизми.

Неколку потенцијални придобивки поврзани со администрирање на пробиотици се сугерирани, како: (i) конкурентно исклучување на патогени бактерии (Garrigues и Arevalo, 1995; Moriarty, 1997; Gomez-Gil и соработници, 2000; Balca`zar, 2003; Balca`zar и соработници, 2004; Vine и соработници, 2004a); (ii) извор на хранливи материи и ензимски придонес во варењето на храната (Sakata, 1990; Prieur и соработници, 1990; Garrigues и Arevalo, 1995); (iii) директно навлегување на растворен органски материјал со посредство на бактериите (Garrigues и Arevalo, 1995; Moriarty, 1997); и други се уште се испитуваат како: (iv) зајакнување на имунолошкиот одговор против патогени микроорганизми (Andlid и соработници, 1995; Scholz и соработници, 1999; Rengpipat и соработници, 2000; Gullian и Rodr`iguez, 2002; Irianto

и Austin, 2002; Balca'zar, 2003; Balca'zar и соp., 2004); (v) антивирусни ефекти (Kamei и соp., 1988; Girones и соp., 1989; Direkbusarakom и соp., 1998).

Поновите истражувања сугерираат на придобивки како профилакса на болеста, спречување на ширење на болеста, но и подобрување на ефикасноста на конверзија на храна и зголемување на растот на одгледуваните риба преку зголемување на антиоксидативна активност и промовирање на пролиферација на здрава цревна микробиота, при што сите овие придобивки допринесуваат за подобрување на имунитетот и намалување на одговорот на рибите кон стрес (Soltani и соp., 2019; Paray и соp., 2021; Hassani и соp., 2020). Како резултат на тоа, потенцијалните придобивки од третманот со пробиотици може да се забележат врз растот и ефикасност на хранењето, како и кај еколошките параметри и загадувањето од аквакултурата. Пробиотско управување со болести и профилакса, на пример, исто така може да ја намали потребата на антибиотици, што придонесува до решавање на еден од најзначајните еколошки проблеми во аквакултурата. Исто така, со употреба на пробиотици во храна се постигнува и пониска стапка на конверзија на добиточна храна бидејќи пробиотиците го подобруваат варењето со производство на дигестивни ензими, како што се протеаза, амилаза и целулаза, а поради поефикасното варење, органското оптоварување на рибните фарми се намалува (Modanloo и соp., 2017; Merrifield и Carnevali, 2014; Sugimura и соp., 2011).

Потенцијалните придобивки од пробиотиците врз здравјето на рибите, исто така, придонесуваат за подобрување на растот, ефикасноста на конверзија на добиточната храна и квалитетот на водата кај слатководните видови риби. Пробиотиците може да ги модулираат и локалните мукозни и системски имунолошки реакции кај одгледуваните риби (Hai, 2015; Melo-Bolívar и соp., 2021; Verschuere и соp., 2020), а со тоа се подобрува и одржува здравјето на рибите, се зачувува интегритетот на епителот на цревата, произведувајќи антивирулентни фактори и секретирајќи антиоксидативни ензими, што резултира со намалување на оксидативен стрес и оштетување на клетките, како и намалување на воспаление на цревата (Merrifield и Carnevali, 2014; Sugimura и соp., 2011). *B. probiotica* се користеше како додаток на добиточна храна и беше докажано дека има резултат во зголемување на растот на различни видови риби (Mohammadi и соp., 2021; Mohammadi и соp., 2020). Дополнително, видови од родот *Bacillus* се покажа дека се корисни и за животната средина бидејќи го намалуваат

нивото на амонијак и го редуцираат штетното цветање на алгите (Mahmud и соp., 2016).

Покрај нутритивните параметри на пробиотиците, нивната примена може да доведе до намалување на употребата на антибиотици во аквакултурата бидејќи пробиотиците имаат способност да ја модулираат цревна микробиота, со што се спречува воспаление на цревата и се намалува потребата за третман на цревни патолошки проблеми (Yanbo и Zirong, 2006; Modanloo и соp., 2017).

Здравјето на рибите е значаен параметар за благосостојбата на одгледуваните риби (Segner и соp., 2012; Sealey и соp., 2015). Здравствена состојба на цревата и субакутните патолошки нарушувања се актуелни прашања за благосостојбата кои претставуваат главна пречка за одржливост и развој на аквакултурата (Sealey и соp., 2015). Истражувањата за подобрување на режим на хранење и развој на нови храни со оптимална сварливост и метаболизам (Shafique и соp., 2021; Panteli и соp., 2021) се предуслов за одржлив раст во аквакултурата. На пример, обогатување на храна со *S. cerevisiae* резултираше со поголем раст и подобра конверзија на храната, со што се илустрира како пробиотиците можат да го подобрат здравјето на рибите, искористувањето на храната и растот на рибите (Islam и соp., 2021).

Пробиотиците нудат поеколошки одржлив пристап кон резервите на храна за риби кои ја олеснуваат превенцијата на болеста, и го минимизираат влијанието врз околните еколошки системи (Paray и соp., 2021; Soltani и соp., 2019). Пробиотиците додадени во кафези со одгледувани риби резултираат со подобрување на растот и зголемување на бројот на млечно-кисели бактерии во водата и во цревниот тракт, како и со подобрен имунолошки одговор и отпор против *Aeromonas hydrophila* (Islam и соp., 2021). Физиолошките механизми на оваа заштита од патогени ја вклучуваат конкуренцијата помеѓу пробиотиците и патогените на екстрацелуларните сврзувачки места на мукозниот епител (Sealey и соp., 2015; Hai, 2015), што доведува до промени на екстрацелуларната рН вредност (Jahangiri и Esteban, 2018) и производство на молекули со антибиотски својства (Moriarty, 1998) кои можат да ја спречат пролиферацијата на патогенот. Дополнително, може да се покажат подобрени имунолошки реакции, на пример, предизвикан од *Clostridium butyricum*, подобрување на фагоцитната активност

на леукоцитите, што резултира со зголемување на отпорноста кон вибриоза кај одгледувана виножитна пастрмка (Sakai и сор., 1995).

Благосостојбата е сложена концепција на човечката свест за страдањето на животните. Грижата за животните во синцирот на производство стана сè поголема грижа кај производителите, научниците, но и кај пошироката јавност. Кога се споменува темата за благосостојба на рибите често има одредено колебање. Сепак, постои голема потреба од поконкретни упатства за следење на здравјето и благосостојбата кај рибите. Стресот е директна последица на слабата благосостојба и предизвикува многу важни промени во организмот на рибите, како намалување на имунолошките функции, репродуктивни проблеми и ниската стапка на раст (Harper и Lawrence, 2011).

Резултатите во табелите 23-28 може да се толкуваат на корисен практичен начин за одгледувачите на крап. Имено, оценките за процентот на повредени риби покажуваат дека ракувањето за време на експериментот било внимателно. Оценките за параметрите претставени во табелите: Fultonov-иот коефициент, факторот на конверзија на храна укажуваат на задоволителни производствени резултати, освен кај контролната група. Сепак, рибите во сите три испитувани групи покажаа 100% стапка на преживување. Тоа се должи на добрите амбиентални услови во кои се наоѓа рибникот МИА ЕКОФИШ, добриот квалитет на водата и секако како резултат на одлично спроведените ихтиотенички мерки на рибникот.





## 5. ЗАКЛУЧОК

Во македонската научна литература не постојат податоци за дефинирање на параметри за проценка на благосостојба на кафезно одгледуван крап. Токму ова претставуваше стимул за да се направи една ваква студија, за прв пат во нашата земја, која ќе даде патоказ и ќе помогне за понатамошно развивање на слични студии за одредување на благосостојбата на кафезно одгледуваните риби во Р. С. Македонија.

Паралелно, во овој труд се следеше и примената на пробиотици во исхраната на крапот во кафезен систем во отворени води, во насока на нивното влијание врз здравствената состојба на одгледуваниот крап, производствените перформанси и врз неговата благосостојба.

Од спроведените истражувања во овој магистерски труд, а врз основа на добиените резултати, може да се извлечат повеќе заклучоци:

- Употребата на пробиотикот *Paenibacillus alvei* DZ-3 во исхраната на крапот, во групите А (1ml/kg храна) и В (2ml/kg храна) покажа позитивен ефект врз производните карактеристики на крапот, споредено со контролната група С.
- Најдобра конверзија (одредена преку фактор на конверзија на храна) е постигната во експерименталната група А, каде храната е суплементирана со пониска концентрација со пробиотик, за разлика од група В и С (1,6, 1, 9 и 2,3, соодветно).
- Морфометриските карактеристики укажуваат на ефектот на експерименталниот пробиотик кој делува во насока на побрзо растење во должина на крапот од група А, за разлика од рибите во група В и С.
- Вредностите на кондициониот фактор се поголеми кај група А и В, за разлика од контролната група С, што сугерира дека рибите хранети со храна суплементирана со пробиотик е подобра од обична храна.

- Храната суплементирана со пробиотик во концентрација 2 ml/kg се покажа како подобра за благосостојбата на рибите за разлика од храна која е суплементирана со 1 ml/kg храна во однос на бројот на новопојавени лезии кај рибите, но и во процесот на заздравување на лезиите. Исто така, оваа храна покажа и пролонгиран ефект во однос на заштита на рибите од повторна појава на лезии по телото.
- Преку додавање на пробиотици во исхраната се влијае на целокупниот организам на рибите што резултира со производство на здрав и еколошки производ.
- За прв пат се направи обид да се рангира статусот на благосостојба на кафезно одгледуван крап со квантифицирање на одредени параметри кои се однесуваат на производните и здравствени карактеристики на крапот, како и на квалитет на водата во која истиот се одгледува.

**Спроведеното истражување би требало да овозможи зголемување на интересот на одгледувачите за вклучување на пробиотиците во секојдневната исхрана на крапот со цел подобрување на здравствената состојба, благосостојбата и намалување на користењето на антибиотици.**



**КОРИСТЕНА  
ЛИТЕРАТУРА**

## 6. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. Aas, T.S., Oehme, M., Sørensen, M., He, G., Lygren, I. & A sga rd, T. (2011a). Analysis of pellet degradation of extruded highenergy fish feeds with different physical quality in a pneumatic feeding system. *Aquacult. Eng.*, 44, 25–34.
2. Adamek, Z. (2006). *Uzgoj salmonidnih riba*. Ribogojstvo. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 523 str.
3. Alanärä, A., Kadri, S., Paspatis, M. (2001). Feeding management. In: *Food Intake in Fish* (Houlihan, D., Jobling, M., Boujard, T., eds.). Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 332–353.
4. Almeida, D., A. Almodóvar, G.G. Nicola, B. Elvira (2008). Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp, *Aquaculture*, 279(1-4), 120-125.
5. Angulo, F., 2000. Antimicrobial agents in aquaculture: potential impact on public health. *APUA Newslett.*, 18, 1-4.
6. Andlid, T., Va'zquez-Jua'rez, R.V., Gustafsson, L. (1995). Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *Microb. Ecol.* 30, 321–334.
7. Anonymus (2006). A Review of Current Welfare Arrangements for Finfish in Australia. Final Report. Australian Animal Welfare Strategy, Aquatic Animal Working Group.  
[http://www.daff.gov.au/\\_data/assets/pdf\\_file/0017/152108/aaws\\_stocktake\\_aquatic.pdf](http://www.daff.gov.au/_data/assets/pdf_file/0017/152108/aaws_stocktake_aquatic.pdf)
8. Anonymus (2010). Welfaremeter. Animal welfare group. Institute of Marine Research, Bergen, Norway. <http://www.imr.no/welfaremeter/about.htm>.
9. Ardó, L., Relić, R., Csengeri, I., Jeney, Z., Jeney, G. (2009). Effect of fish feeds with different fatty acid contents on stress response of common carp (preliminary results). Conference Proceedings- IV International Conference “Fishery”, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun, pp. 191-196.
10. Ashley, P.J. (2007). Fish welfare: current issues in aquaculture, *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104:199–235.

11. Ashley, P.J., Sneddon, L.U. (2008). Pain and fear in fish. In: Branson, E.J. (Ed.), Fish welfare. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 46-77.
12. Austin, B., Stuckey, L., Robertson, P., Effendi, I., Griffith, D. (1995). A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *J. Fish Dis.* 18, 93–96.
13. Avizienius, J. (2009). On-farm assessment of fish welfare. Norecopa, Gardemoen, Oslo. <http://www.rspca.org.uk>.
14. Bache`re, E. (2003). Anti-infectious immune effectors in marine invertebrates: potential tools for disease control in larviculture. *Aquaculture* 227, 427–438.
15. Bailey, J., Alan`r`a, A. (2001). A test of a feed budget model for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 32, 465–469.
16. Balca`zar, J.L. (2003). Evaluation of probiotic bacterial strains in *Litopenaeus vannamei*. Final Report, National Center for Marine and Aquaculture Research, Guayaquil, Ecuador.
17. Balca`zar, J.L. (2002). Use of probiotics in aquaculture: general aspects. In: de Blas, I. (Ed.), *Memorias del Primer Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura*, Zaragoza, Spain.
18. Balca`zar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Muzquiz, J.L. (2004). Probiotics: a tool for the future of fish and shellfish health management. *J. Aquacult. Trop.* 19, 239–242.
19. Baldwin, C.M., Beauchamp, D.A., Gubala, C.P. (2002). Seasonal and diel distribution and movement of cutthroat trout from ultrasonic telemetry. *Transactions of the American Fisheries Society* 131:143-158.
20. Barton B.A. (2002). Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr Comp Biol* 42:517–525
21. Berner, L.A., O`Donnell, J.A. (1998). Functional foods and health claims legislation: applications to dairy foods. *Int. Dairy* 8, 355– 362.
22. Berrill, I.K., Cooper, T., MacIntyre, C.M., Ellis, T., Knowles, T.G., Jones, E.K.M., Turnbull, J.F. (2010). Achieving consensus on current and future priorities for farmed fish welfare: a case study from the UK. *Fish Physiology and Biochemistry* Vol. 36. <http://www.springerlink.com/content/2141333840142w2p/fulltext.pdf>.

23. Boeck De G., Vlaedeminck, A., Van der Linden, A., Blust, R. (2000). Salt stress and resistance to hypoxic challenges in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Fish Biology* 57, 761–776.
24. Bogut, I., Horvath, L., Adamek, Z., Katavić, I. (2006). Ribogojstvo. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 523 str.
25. Bondad-Reantaso, M.G. and Subasinghe, R.P. (2008). Meeting the future demand for aquatic food through aquaculture: The role of aquatic animal health. In: K. Tsukamoto, T. Kawamura, T.D. Beard, Jr., and M.J. Kaiser (eds). *Fisheries for Global Welfare and Environment*, 5th World Fisheries Congress 2008. Terrapub 2008. Tokyo, Japan, 470 pp.
26. Bostock, J., McAndrew, B., Richards, R. K., Jauncey, T., Telfer, K., Lorenzen, D., Little, L., Ross, N., Handisyde, Gatward, I., Corner R. (2010). Aquaculture: global status and trends. *Philosophical Transactions of Royal Society B: Biological Sciences* 365, 2897–2912.
27. Bostock, J., Murray, F., Muir, J., Telfer, T., Lane, A., Papanikos, N., Papegeorgiou, P., Alday-Sanz, V. (2009). European aquaculture competitiveness: limitations and possible strategies. Directorate general for internal policies policy department B: structural and cohesion policies, No. 142.
28. Bracke, M., Metz, M., Spruijt, B.M. (1999). Overall animal welfare reviewed. Part 2: Assessment tables and schemes. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 47:293-305.
29. Braithwaite, V., Boulcott, P. (2008). Can fish suffer? In: Branson, E.J. (Ed.), *Fish welfare*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 78-92.
30. Branson, E.J., *Fish Welfare*. Garsington Road, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2008
31. Broom DM (2007). Welfare in relation to feelings, stress and health. *REDVET: 2007*, vol VIII, No 12B, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121207B/BA018ing.pdf>
32. Broom DM, Corke MJ (2002). Effects of disease on farm animal welfare. *Acta vet Brno* 71:133–136
33. Broom, D.M. (1986). Indicators of poor welfare. *Br. Vet. J.* 142:524-526.
34. Broom, D.M. (1996). Animal welfare defined in term of attempts to cope with environment, *Acta Agric Scand Suppl*, 27:22-28.

35. Brydges, N.M., P. Boulcott, T. Ellis, and V.A. Braithwaite (2009). Quantifying stress responses induced by different handling methods in three species of fish, *Applied Animal Behaviour Science*, 116(2-4), 295-301.
36. Buyukcapar H. M., Kamalak, A. (2006). Raw and heat-treated culban (*Vicia peregrina*) seed as protein source for mirror carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *South African Journal of Animal Science* 36, 235–242.
37. Cao, L., Diana, J., Keoleian, G. A., Lai, Q. (2011). Life Cycle Assessment of Chinese Shrimp Farming Systems Targeted for Export and Domestic Sales. *American Chemical Society. Environmental Science and Technology* 45, 6531–6538.
38. Carvalho, C.S. and M.N. Fernandes (2006). Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH, *Aquaculture*, 251(1), 109-117.
39. Cerutti, D.T., Levin, E.D. (2006). Cognitive impairment models using complementary species. In: Levin, E.D., Buccafusco, J.J. (Eds.), *Animal models of cognitive impairment, frontiers in neurosciences*. Boca Raton (FL): CRC Press, 400 pp.
40. CFR, (2005). Subpart E-Specific Requirements for Health Claims. Code of Federal Regulations. US Government Printing Office, 21 CFR §101.70, pp. 126–129.
41. Chandra R, Jhan N. (2010). The analysis of length-weight relationship of *Channa punctata* with relative physico-chemical parameters. *J Exp Sci.* 1(5):4–5.
42. Chang, C.I., Liu, W.Y., (2002). An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *J. Fish Dis.* 25, 311–315.
43. Chauhan A, Singh R (2018). Probiotics and their applications in aquaculture. In: Sharma D, Saharan BS (eds) *Microbial cell factories*, 1edn. Taylor & Francis, New York, pp 321–338
44. Christofilogiannis, P. (2000). Codes of practice in southern Europe. <http://www.lifesciences.napier.ac.uk/maraqua/christo.htm>
45. Chythanya, R., Karunasagar, I., Karunasagar, I., (2002). Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain. *Aquaculture* 208, 1–10.
46. Conte FS (2004). Stress and the welfare of cultured fish. *Appl Anim Behav Sci* 86:205–223
47. Conway, P.L., (1996). Development of intestinal microbiota. In: Mackie, R.I., White, B.A., Isaacson, R.E. (Eds.), *Gastrointestinal Microbiology*. Chapman and Hall, New York

48. Cunningham, C.O., (2002). Molecular diagnosis of fish and shellfish diseases: present status and potential use in disease control. *Aquaculture* 206, 19–55.
49. Cvetkovikj A., Radeski M., Blazhekovikj-Dimovska D., Kostov V. and Stevanovski V. (2013). Fin damage of farmed rainbow trout in the Republic of Macedonia. *Macedonian Veterinary Review* 36 (2), 73-83.
50. Cvetkovikj A., Radeski M., Blazhekovikj-Dimovska D., Kostov V. and Stevanovski V. (2015). Factors affecting fin damage of farmed rainbow trout. *Macedonian Veterinary Review* 38 (1), 61-71.
51. Dall, W., Moriarty, D.J.W., (1983). Functional aspects of nutrition and digestion. In: Mantel, L.H. (Ed.), *The Biology of Crustacea*, vol. 5, Internal Anatomy and Physiological Regulation. Academic Press.
52. Dalmin, G., K. Kathiresan, A. Purushothaman, (2001). Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian J. Exp. Biol.*, 39, pp. 939-942
53. Damsgård, B., Sørum, U., Ugelstad, I., Eliassen, R.A., Mortensen, A. (2004). Effects of feeding regime on susceptibility of Atlantic salmon (*Salmo salar*) to cold water vibriosis. *Aquaculture*, 239:37–46.
54. Dawkins MS (2006) A user's guide to animal welfare science. *TREE* 2:77–82
55. Directive 2010/63/EU (2010) European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.
56. Direkbusarakom, S., Yoshimizu, M., Ezura, Y., Ruangpan, L., Danayadol, Y., (1998). *Vibrio* spp. the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses. *J. Mar. Biotechnol.* 6, 266–267.
57. Dopazo, C., Lemos, M., Lodeiros, C., Bolinches, J., Barja, J., Toranzo, A., (1988). Inhibitory activity of antibiotic-producing marine bacteria against fish pathogens. *J. Appl. Bacteriol.* 65(2):97-101
58. Đorđević, N., Dinić, B. (2007): *Hrana za řivotinje*. Cenzone tech–Europe, 734 str.
59. Drecun Đ., (1981). Izgradnja malih pastrmskih ribnjaka, *Poljopriveda i sumarstvo*, XXVII, 3, 85-91, Titograd.
60. Dror M, Sinyakov MS, Okun E, Dym M, Sredni B, Avtalion RR (2006) Experimental handling stress as infection facilitating factor for the goldfish ulcerative disease. *Vet Immunol Immunopathol* 109:279–287



61. Dulić, Z., Subakov-Simić, G., Ćirić, M., Relić, R., Lakić, N., Stanković, M., Spasić, M., Marković, Z. (2010). Water quality in semi-intensive carp production system using three different feeds. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 16:266-274.
62. Duncan IJ (2005). Science-based assessment of animal welfare: farm animals. *Rev Sci Tech* 24:483–492
63. EFSA (2008). Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed fish: Carp. Minority opinion – common carp welfare. *The EFSA Journal*, 843-Annex II, 1-19.
64. EFSA (2009). Statement of EFSA prepared by the AHAW Panel on: knowledge gaps and research needs for the welfare of farmed fish. *The EFSA Journal*, 1145:1-7.
65. Eriksen, M.S., A. Espmark, B.O. Braastad, R. Salte, and M. Bakken (2007). Long- term effects of maternal cortisol exposure and mild hyperthermia during embryogeny on survival, growth and morphological anomalies in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* offspring, *Journal of Fish Biology*, 70(2), 462-473.
66. Erikson, U. and E. Misimi (2008). Atlantic Salmon Skin and Fillet Color Changes Effected by Perimortem Handling Stress, Rigor Mortis, and Ice Storage, *Journal of Food Science*, 73(2), C50-C59.
67. Evans, D.H., J.B. Claiborne, and S. Currie, *The physiology of fishes*. New York, USA: Crc Press, 2014
68. FAO (2008). World review of fisheries and aquaculture, part 1. [www.fao.org/fishery/sofia/en](http://www.fao.org/fishery/sofia/en)
69. FAO (2010a). Aquaculture Production 1950–2010. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>
70. FAO (2012). Fisheries and Aquaculture Department. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cyprinus\\_carpio/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cyprinus_carpio/en)
71. FAO (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
72. FAO/WHO (2001). Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina.
73. FEAP (2009). EU Aquaculture Policy. Where are we and where are we heading? Fishes, Systematics, Biology and Exploitation. Chapman & Hall, London, pp. 590– 622.

74. Filipović P., Milosavljević N., (2005). Principi projektvanja i izgradnje prastrmskih ribnjaka, 8<sup>th</sup> Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, 219-221, Nis.
75. Flajšhans, M., Hulata, G. (2007). Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shell fish, and their impacts on wild populations of Common carp - *Cyprinus carpio*. In: Genetic impact of aquaculture activities on native populations (Svasand, T., Crosetti, D., Garcia- Vazquez, E., Verspoor, E., eds). Genimpact final scientific report (EU contract n. RICA-CT-2005-022802), pp. 32- 39.
76. Francis, G., Makkar H. P. S., Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-228.
77. Fuller, R., 1992. History and development of probiotics. In: Fuller, R. (Ed.), *Probiotics: The Scientific Basis*. Chapman and Hall, London, pp. 1-8.
78. Fulton, T. W. (1904). The rate of growth of fishes. Annual Report No. 22. Fisheries Board of Scotland, UK, pp. 141-241.
79. Funge-Smith, S., Phillips, M. J. (2001). Aquaculture systems and species. In: *Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium*, Bangkok, Thailand (Subasinghe R. P., Bueno, P., Phillips, M. J., Hough, C., McGladdery, S. E., Arthur, J. R., eds.). NACA, Bangkok and FAO, Rome, pp. 129-135.
80. Gaixa, D.E., (1889). Ueber das Verhalten einiger pathogener mikroorganismen in meerwasser. *Z. Hyg. Infektionskr.* 6, 162-225 (in German).
81. Garcí'a de la Banda, I., Chereguini, O., Rasines, I. (1992). Influencia de la adicio'n de bacteria la'cticas en el cultivo larvario del rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 8, 247-254.
82. Garibaldi, L. (1996). List of animal species used in aquaculture. FAO Fisheries Circular No. 914 FIRI/C914. <http://www.fao.org/docrep/w2333e/w2333e00.htm>
83. Garriques, D., Arevalo, G. (1995). An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus vannamei* post- larvae in Ecuador. In: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (Eds.), *Swimming through troubled water. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture'95*. Baton Rouge, World Aquaculture Society, pp. 53-59.

84. Gatesoupe, F.J., (1994). Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*. *Aquat. Living Resour.* 7, 277–282.
85. Gatesoupe, F.J., (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147–165
86. Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., (2004). Growth and survival of rohu *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, *Bacillus circulans*. *Acta Ichthyol. Piscat.* 34, 155–165.
87. Gildberg, A., Mikkelsen, H., (1998). Effect of supplementing the feed of Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immunostimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture* 167, 103–113.
88. Girones, R., Jofre, J.T., Bosch, A. (1989). Isolation of marine bacteria with antiviral properties. *Can. J. Microbiol.* 35, 1015–1021.
89. Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M., Abreu-Grobois, F., Roque, A. (1998). Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2318–2322.
90. Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F. (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191, 259–270.
91. Gram, L., Løvold, T., Nielsen, J., Melchiorson, J., Spanggaard, B. (2001). In vitro antagonism of the probiont *Pseudomonas fluorescens* strain AH2 against *Aeromonas salmonicida* does not confer protection of salmon against furunculosis. *Aquaculture* 199, 1–11.
92. Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, T., (1999). Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* strain AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 969–973.
93. Gullian, M., Rodr'iguez, J., (2002). Immunostimulant qualities of probiotic bacteria. *Global Aquacult. Advocate* 5, 52–54.
94. Gullian, M., Thompson, F., Rodr'iguez, J., (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233, 1–14.
95. Hai, N.V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *J. Appl. Microbiol.* 119, 917–935.

96. Handeland, S.O., A.K. Imsland, and S.O. Stefansson (2008). The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts, *Aquaculture*, 283(1-4), 36-42.
97. Hansen, G.H., Olafsen, J.A., (1989). Bacterial colonization of cod (*Gadus morhua* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1435– 1446.
98. Harper, C. and C. Lawrence, *The laboratory zebrafish*. New York, USA: Crc Press, 2011
99. Hasan, M. R. (2001). Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. In: *Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium*, Bangkok, Thailand, 20–25 February 2000 (Subasinghe, R. P., Bueno, P., Phillips, M. J., Hough, C., McGladdery, S. E., Arthur, J. R., eds.). NACA, Bangkok and FAO, Rome, pp. 193–219.
100. Hassani, M.H.S., Jourdehi, A.Y., Zelti, A.H., Masouleh, A.S., Lakani, F.B. (2020). Effects of commercial superzist probiotic on growth performance and hematological and immune indices in fingerlings *Acipenser baerii*. *Aquac. Int.* 28, 377–387.
101. Hill, C.; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G.R.; Merenstein, D.J.; Pot, B.; Morelli, L.; Canani, R.B.; Flint, H.J.; Salminen, S. (2014). Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 11, 506–514.
102. Hjelm, M., Bergh, Ø., Riaza, A., Nielsen, J., Melchiorsen, J., Jensen, S., Duncan, H., Ahrens, P., Birkbeck, H., Gram, L., (2004). Selection and identification of autochthonous potential probiotic bacteria from turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) rearing units. *System. Appl. Microbiol.* 27, 360–371.
103. Horvath, L., Tamas, G., Seagrave, C. (2002). *Carp and Pond Fish Culture*. Fishing News Books, Blackwell Science, pp. 170.
104. Hristov, S., Relić, R., Poleksić, V., Marković, Z. (2009). Establishment of fish stress studies within the Center for fishery and applied hydrobiology at the Faculty of agriculture University of Belgrade. *Book of abstracts of the Conference “Aquaculture Europe 2009”*, Trondheim, Norway, pp. 269-270.
105. [http://ec.europa.eu/fisheries/publications/studies/evaluation\\_markets\\_summary\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/fisheries/publications/studies/evaluation_markets_summary_en.pdf)

106. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>.
107. <http://www.hehd.clemson.edu/PRTM/trmcenter/scale.pdf>
108. Huntingford FA, Adams C, Braithwaite VA, Kadri S, Pottinger TG, Sandoe P, Turnbull JF (2006). Current issues in fish welfare. *J Fish Biol* 68:332–372
109. Huntingford, F.A., Kadri, S. (2008). Welfare and fish. In: Branson, E.J. (Ed.), *Fish welfare*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 19-31.
110. Irianto, A., Austin, B. (2002). Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 25, 333–342.
111. Islam, S.M.; Rohani, F. Shahjahan (2021). Probiotic yeast enhances growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through morphological modifications of intestine. *Aquac. Rep.* 21, 100800
112. Israeli-Weinstein, D. and E. Kimmel (1998). Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress, *Aquaculture*, 165(1-2), 81-93.
113. Jahan, P., Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S. (2003). Improved carp diets based on plant protein sources reduce environmental phosphorus loading. *Fisheries Science* 69, 219–225.
114. Jahangiri, L.; Esteban, M. (2018). Administration of Probiotics in the Water in Finfish Aquaculture Systems: A Review. *Fishes* 3, 33.
115. Johansen, R., Knudsen, G., Smith, A. (2005). Acts and Regulations concerning the Care and Use of fish in Norwegian Research. 1st Edition. The Norwegian School of Veterinary Science. Oslo, Norway. <http://oslovet.norecopa.no/FishLaws.pdf>
116. Johnstone, A.D.F., Lucas, M.C., Boylan, P., Carter, T.J. (1992). Telemetry of tail-beat frequency of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during spawning. In: Priede, I.G., Swift, S.M. (Eds.), *Wildlife telemetry: remote monitoring and tracking of animals*. Ellis Horwood, London, pp. 456-465.
117. Kamei, Y., Yoshimizu, M., Ezura, Y., Kimura, T., (1988). Screening of bacteria with antiviral activity from fresh water salmonid hatcheries. *Microbiol. Immunol.* 32, 67–73.
118. Kestemont, P. (1995). Different systems of carp production and their impacts on the environment. *Aquaculture* 129, 347–372.
119. Kittilsen, S., J. Schjolden, I. Beitnes-Johansen, J.C. Shaw, T.G. Pottinger, C. Sorensen, et al, (2009). Melanin-based skin spots reflect stress responsiveness in salmonid fish, *Hormones and Behavior*, 56(3), 292-298.

120. Kleingeld Dirk Willem, Johanna Moritz, Stefan Reiser, Dieter Steinhagen, Helmut Wedekind (2018). "Animal Welfare Indicators" Guidelines with recommendations for the implementation of self-monitoring in accordance with Sec. 11 (8) of the German Animal Welfare Act in aquaculture establishments. Technical Report.
121. Köhler, D. (1976). The interaction between conditioned fish and naive schools of juvenile carp (*Cyprinus carpio*, pisces). Behavioural Processes 1(3):267-275.
122. Kord, M.I.; Maulu, S.; Srour, T.M.; Omar, E.A.; Farag, A.A.; Nour, A.A.M.; Hasimuna, O.J.; Abdel-Tawwab, M.; Khalil, H.S. (2022). Impacts of water additives on water quality, production efficiency, intestinal morphology, gut microbiota, and immunological responses of Nile tilapia fingerlings under a zero-water-exchange system. Aquaculture 547, 737503.
123. Kozasa M. (1986). Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promoter for animal feeding. *Microbiological Alimentary Nutrition* 4; 121-35.
124. Kraugerud, O. F. (2008). Physical and nutritional properties of polysaccharides in extruded fish feed. Norwegian University of Life Sciences, PhD Thesis.
125. Kumar, V.; Fawole, F.J.; Romano, N.; Hossain, S.; Labh, S.N.; Overturf, K.; Small, B.C. (2021). Insect (black soldier fly, *Hermetia illucens*) meal supplementation prevents the soybean meal-induced intestinal enteritis in rainbow trout and health benefits of using insect oil. Fish Shellfish. Immunol. 109, 116–124.
126. Lategan, M.J., Gibson, L.F., (2003). Antagonistic activity of *Aeromonas media* strain A199 against *Saprolegnia* sp., an opportunistic pathogen of the eel, *Anguilla australis* Richardson. J. Fish Dis. 26, 147–153.
127. Le Cren ED. (1951). The length-weight relationships and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*) J Anim Ecol. 20:201–219. doi: 10.2307/1540.
128. Lembo, P. and Zupa, W. (2010). Fish welfare - a key issue for organic system standards. [www.ifoam-eu.org](http://www.ifoam-eu.org)
129. Lewbart, G.A. (2009). Fish Medicine Handbook (North Caroline, USA: Zoological Education Network
130. Lilly D. M. and R. H. Stillwell, "Probiotics: Growth- Promoting Factors Produced by Microorganisms," Science, Vol. 147, No. 3659, 1965, pp. 747-748. doi:10.1126/science.147.3659.747

131. Lin, H. R., Peter, R. E. (1991). Aquaculture. In: Cyprinid Fishes: Systematics, Biology, and Exploitation (Winfield, I. J., Nelson, J. S., eds). Chapman and Hall, London, pp. 590–622.
132. Lucas, M.C., Johnstone, D.F., Priede, I.G. (1993). Use of physiological telemetry as a method of estimating metabolism of fish in the natural environment. Transactions of the American Fisheries Society 122:822-833.
133. Lucas, M.C., Urquhart, G.G., Johnstone, A.D.F., Carter, T.J. (1992). A portable 24-hour recording system for field telemetry: first results from continuous monitoring of heart rate of adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during the spawning migration. In: Priede, I.G., Swift, S.M. (Eds.), Wildlife telemetry: remote monitoring and tracking of animals. Ellis Horwood, London, pp. 466-473.
134. Lugert, Vincent, Dieter Steinhagen, Stefan Reiser. (2020). Lack of knowledge does not justify a lack of action: the case for animal welfare in farmed fish. J Sustainable Organic Agric Syst. 70(1): 31–34.
135. MacIntyre, C.M. (2008). Water quality and welfare assessment on United Kingdom trout farms. Chapter 2. Influences of water quality on the welfare of farmed rainbow trout. PhD thesis. Institute of Aquaculture, University of Stirling, UK
136. Mahmud, S.; Ali, M.L.; Alam, M.A.; Rahman, M.M.; Jørgensen, N.O. (2016). Effect of probiotic and sand filtration treatments on water quality and growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and pangas (*Pangasianodon hypophthalmus*) in earthen ponds of southern Bangladesh. J. Appl. Aquac. 28, 199–212.
137. Malyukova, I.V., Rakich, L., Kovachevich, N. (1983). Conditioned motor reactions in free-moving elasmobranchs and bony fishes. Neuroscience and Behavioral Physiology 13(6):482-485.
138. Marković, Z. (2010). Šaran, Gajenje u ribnjacima i kaveznim sistemima. Prof. dr Zoran Marković, 152 str.
139. Marković, Z., Poleksić, V., Tivić, I., Stanković M., Čuk, D., Spasić M., Dulić, Z., Rašković, B., Čirić, M., Bošković, D., Vukojević, D. (2009). Stanje ribarstva u Srbiji. IV Međunarodna konferencija Ribarstvo, Institut za zootehniku, Poljoprivrednog fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut Nofima–Marin, Norveška i Institut Haki, Mačarska. Zbornik predavanja, str. 30–38.
140. Mavraganis, T.; Constantina, C.; Kolygas, M.; Vidalis, K.; Nathanailides, C. (2020). Environmental issues of aquaculture development. Egypt. J. Aquat. Biol. Fish. 24, 441–45

141. Mazur CF, Iwama GKK (1993). Handling and crowding stress reduces the number of plaque-forming cells in Atlantic salmon. *J Aquat Animal Health* 5:98–101
142. Mazur, K., Curtotti, R., Perks, C., Vieira, S., Pham, T., George, D. (2010). Australian fisheries—the global context. ABARE project 3219, 22 pp. [http://www.abare.gov.au/outlook/\\_download/a3.pdf](http://www.abare.gov.au/outlook/_download/a3.pdf)
143. Melo-Bolívar, J.F.; Pardo, R.Y.R.; Hume, M.E.; Díaz, L.M.V. (2021). Multistrain probiotics use in main commercially cultured freshwater fish: A systematic review of evidence. *Rev. Aquac.* 13, 1758–1780.
144. Merrieffield DL, Dimitroglou A, Foey A, Davies SJ, Baker RMT, Bogwald J, Castex M. & Ringo E. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302: 1-18.
145. Merrifield, D.L.; Carnevali, O. (2014). Probiotic modulation of the gut microbiota of fish. In *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, pp. 185–222.
146. Modanloo, M.; Soltanian, S.; Akhlaghi, M.; Hoseinifar, S.H. (2017). The effects of single or combined administration of galactooligosaccharide and *Pediococcus acidilactici* on cutaneous mucus immune parameters, humoral immune responses and immune related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Fish Shellfish. Immunol.* 70, 391–397.
147. Mohammadi, G.; Adorian, T.J.; Rafiee, G. (2020). Beneficial effects of *Bacillus subtilis* on water quality, growth, immune responses, endotoxemia and protection against lipopolysaccharide-induced damages in *Oreochromis niloticus* under biofloc technology system. *Aquac. Nutr.* 26, 1476–1492.
148. Mohammadi, G.; Rafiee, G.; Tavabe, K.R.; Abdel-Latif, H.M.; Dawood, M.A. (2021). The enrichment of diet with beneficial bacteria (single-or multi-strain) in biofloc system enhanced the water quality, growth performance, immune responses, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 539, 736640.
149. Moriarty, D., (1997). The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 151, 333–349.
150. Moriarty, D., (1998). Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164, 351–358.
151. Mulder, R.W., Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H. (1997). Intervention strategies: the use of probiotics and competitive exclusion microfloras against contamination with



- pathogens in pigs and poultry. In: Fuller, R. (Ed.), Probiotics 2: Applications and practical aspects. Chapman and Hall, London, pp. 187–207.
152. Naik, A.T.R., Murthy, H.S., Ramesha, T.J. (1999). Effect of graded levels of G-probiotic on growth, survival and feed conversion of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Fish. Technol. 36, 63–66.
153. Nikoskelainen, S., Ouwehand, A., Bylund, G., Salminen, S., Lilius, E.M. (2003). Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish Shellfish Immunol. 15, 443–452.
154. Nikoskelainen, S., Salminen, S., Bylund, G., Ouwehand, A. (2001). Characterization of the properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. Appl. Environ. Microbiol. 67, 2430–2435.
155. Noble C, Nilsson J, Stien LH, Iversen MH, Kolarevic J, Gismervik K. (2018). Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. 328 p. isbn:978-82-8296-531-6
156. Nogami, K., Hamasaki, K., Maeda, M., Hirayama, K., (1997). Biocontrol method in aquaculture for rearing the swimming crab larvae *Portunus trituberculatus*. Hydrobiologia 358, 291–295.
157. Nogami, K., Maeda, M., (1992). Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49, 2373–2376.
158. Ogunji, J. O., Nimptsch, J., Wiegand, C., Schulz, C., Rennert, B. (2011). Effect of housefly maggot meal (maggmeal) diets on catalase, and glutathione S-transferase in the liver and gills of carp *Cyprinus carpio* fingerling. International Aquatic Research 3, 11–20.
159. Okumus, I., Bascinar, N. (2001). The effect of different numbers of feeding days on feed consumption and growth of rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)]. Aquaculture Research 32, 365–367.
160. Olson, Mark H. , Stephen R. Carpenter, Paul Cunningham, Sarig Gafny, Brian R. Herwig, Nathan P. Nibbelink, Tom Pellett, Christine Storlie, Anett S. Trebitz, Karen A. Wilson (1998). Managing Macrophytes to Improve Fish Growth: A Multi-lake Experiment. Fisheries Magazine, Vol. 23, Issue2, 6-12.
161. Olsson, J.C., Westerdahl, A., Conway, P.L., Kjelleberg, S. (1992). Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*) and dab (*Limanda limanda*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. Appl. Environ. Microbiol. 58, 551–556.

162. Omlin, T., Weber, J.M. (2010). Hypoxia stimulates lactate disposal in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* 213:3802-3809.
163. Onarheim, A.M., Wiik, R., Burghardt, J., Stackebrandt, E. (1994). Characterization and identification of two *Vibrio* species indigenous to the intestine of fish in cold sea water; description of *Vibrio iliopiscarius* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 17, 370–379.
164. Osman, K.M., Mohamed, L.A., Abdel Rahman, E.H., Soliman, W.S. (2009). Trials for vaccination of *Tilapia* fish against *Aeromonas* and *Pseudomonas* infections using monovalent, bivalent and polyvalent vaccines. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1(4):297-304.
165. Ostaszewska, T.; Dabrowski, K.; Kamaszewski, M.; Grochowski, P.; Verri, T.; Rzepkowska, M.; Wolnicki, J. (2010). The effect of plant protein-based diet supplemented with dipeptide or free amino acids on digestive tract morphology and PepT1 and PepT2 expressions in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 157, 158–169.
166. Øverland, M.; Sørensen, M.; Storebakken, T.; Penn, M.; Krogdahl, Å.; Skrede, A. Pea protein concentrate substituting fish meal or soybean meal in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) (2009). Effect on growth performance, nutrient digestibility, carcass composition, gut health, and physical feed quality. *Aquaculture* 288, 305–311.
167. Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H. (2004). Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102, 379–388.
168. Panteli, N.; Mastoraki, M.; Lazarina, M.; Chatzifotis, S.; Mente, E.; Kormas, K.; Antonopoulou, E. (2021). Configuration of Gut Microbiota Structure and Potential Functionality in Two Teleosts under the Influence of Dietary Insect Meals. *Microorganisms* 9, 699.
169. Paray, B.A.; El-Basuini, M.F.; Alagawany, M.; Albeshr, M.F.; Farah, M.A.; Dawood, M.A.O. (2021). *Yucca schidigera* Usage for Healthy Aquatic Animals: Potential Roles for Sustainability. *Animals* 11, 93.
170. Peeters, M., Rodríguez, J. (1999). Problemas bacterianos en la industria camaronera ecuatoriana, practicas de manejo y alternativas de control. *El Mundo Acuicola* 5, 13–18 (in Spanish).

171. Penn, M.H.; Bendiksen, E.; Campbell, P.; Krogdahl, Å. (2011). High level of dietary pea protein concentrate induces enteropathy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 310, 267–273.
172. Piato, A. L., K.M. Capiotti, A.R. Tamborski, J.P. Oses, L.J.G. Barcellos, M.R. Bogo, et. al. (2011). Unpredictable chronic stress model in zebrafish (*Danio rerio*): Behavioral and physiological responses, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(2), 561-567.
173. Pillay, T. V. R. (2004). *Aquaculture and the Environment*. Blackwell Publishing Ltd., 196 pp.
174. Pillay, T. V. R. (2005). *Aquaculture: Principles and Practices*, 2nd edn. Blackwell, Oxford, 624 pp.
175. Poli, B.M. (2009). Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. *Italian Journal of Animal Sciences*, 8:139-160.
176. Prieur, G., Nicolas, J.L., Plusquellec, A., Vigneulle, M., (1990). Interactions between bivalves molluscs and bacteria in the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 28, 227–352.
177. Putra, A.N.; Mustahal, M.; Syamsunarno, M.B.; Hermawan, D.; Fatimah, D.G.; Putri, P.B.; Sevia, S.; Isnaeni, R.; Herjayanto, M. (2021). Dietary *Bacillus* NP5 supplement impacts on growth, nutrient digestibility, immune response, and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Biodiversitas J. Biol. Divers.* 22, 253–261.
178. Queiroz, F., Boyd, C., (1998). Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. *J. World Aquacult. Soc.* 29, 67–73.
179. Radenković-Damnjanović, B., Relić, R. (2008). Sanitarne mere u akvakulturi. Zbornik radova XIX Savetovanja DDD u zaštiti zdravlja ljudi i životinja sa međunarodnim učešćem, Prolom Banja, pp. 93-111
180. Rahman, M. M, Verdegem, M. C. J. (2007). Multi-species fishpond and nutrients balance. In: *Fishponds in farming systems* (ven der Zijpp, A. J., Verreth, A. J. A., Tri, L. Q., Ven Mensvoort, M. E. F., Bosma, R. H., Beveridge, M. C. M., eds). Wageningen Academic, Wageningen, pp. 79–88.
181. Rahman, M. M., Verdegem, M. C. J., Nagelkerke, L. A. J., Wahab, M. A., Verreth, J. A. J. (2008). Swimming, grazing and social behaviour of rohu *Labeo rohita* (Hamilton) and common carp *Cyprinus carpio* (L.) in tanks under fed and non-fed conditions. *Applied Animal Behaviour Science* 113, 1–3.

182. Rana, K. J. (2007). Regional review on aquaculture development. 6. Western-European region-2005. FAO Fisheries Circular No. 1017/6.
183. Randall, D.J. and T.K.N. Tsui (2002). Ammonia toxicity in fish, Marine Pollution Bulletin, 45(1-12), 17-23
184. Regulation (EC) and No. 178/2002, (2002). Regulation of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Off. J. Eur. Communities L31, 1- 23.
185. Relić, R., Ćirić, M., Radenković-Damnjanović, B., Vučinić, M. (2009). Kvalitet vode i dobrobit riba. Zbornik radova XX Savetovanja "Dezinfekcija, dezinfekcija i deratizacija u zaštiti zdravlja životinja i ljudi" sa međunarodnim učešćem, Divčibare, pp. 199-206.
186. Relić, R., Hristov, S., Vučinić, M., Poleksić, V., Marković, Z. (2010a). Principles of fish welfare assessment in farm rearing conditions. Journal of Agricultural Sciences, Vol. 55, 3:273-282.
187. Relić, R., Poleksić, V., Dulić, Z., Spasić, M., Ćirić, M., Stanković, M., Hristov, S., Bošković, D., Vukojević, D., Rašković, B., Marković, Z. (2010c). Dobrobit šarana u recikularnim sistemima: iskustva Centra za ribarstvo i primenjenu hidrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Zbornik radova, 4. Međunarodni znanstveno-stručni skup o ribarstvu "Hrvatsko ribarstvo kako i kuda dalje? Ribarstvo i zaštita zdravlja riba", Vukovar, pp. 29-35.
188. Relić, R., Vučinić, M., Radenković-Damnjanović, B. (2010). Fish welfare from the aspect of food safety (in Serbian). Zbornik radova XXI Savetovanja DDD u zaštiti zdravlja životinja i ljudi sa međunarodnim učešćem, 27. do 30. maj 2010, Vrnjačka Banja, 155-161.
189. Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., Menasa-veta, P. (2000). Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). Aquaculture 191, 271-288.
190. Ringø, E., Vadstein, O. (1998). Colonization of *Vibrio pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. J. Appl. Microbiol. 84, 227-233.

191. Rinkinen, M., Jalava, K., Westermarck, E., Salminen, S., Ouwehand, A.C. (2003). Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization? *Vet. Microbiol.* 92, 111–119
192. Robertson, P., O' Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B., 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) *Aquaculture* 185, 235–243.
193. Roger PA (2008). The impact of disease and disease prevention on sheep welfare. *Small Rumin Res* 76:104–111
194. Rogers, K.B., Bergersen, E.B. (1996). Application of geographic information systems in fisheries: habitat use by northern pike and largemouth bass. In: Miranda, L.E., DeVries, D.R. (Eds.), *Multidimensional Approaches to Reservoir Fisheries*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA. Vol. 16, pp. 315-323.
195. Roh, H.; Park, J.; Kim, A.; Kim, N.; Lee, Y.; Kim, B.S.; Vijayan, J.; Lee, M.K.; Park, C.-I.; Kim, D.-H. (2020). Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals* 10, 1499.
196. Rosenfeld, W.D., Zobell, C.E., (1947). Antibiotic production by marine microorganisms. *J. Bacteriol.* 54, 393–398.
197. RSPCA (2010). Welfare standards for farmed Atlantic salmon. [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/animalwelfare/RSPCA\\_welfare\\_standards\\_for\\_farmed\\_Atlantic\\_salmon\\_July\\_2010.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/animalwelfare/RSPCA_welfare_standards_for_farmed_Atlantic_salmon_July_2010.pdf)
198. Ruane, N.M., Komen, H. (2003). Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 218(1-4):685-693.
199. Rurangwa, E.; Verdegem, M. (2015). Microorganisms in recirculating aquaculture systems and their management. *Rev. Aquac.* 7, 117–130.
200. Sadler, J., Goodwin, A. (2007). Disease prevention on fish Farms. SRAC Publication No. 4703. <http://www.ustfa.org/>.
201. Sakai, M.; Yoshida, T.; Atsuta, S.; Kobayashi, M. (1995). Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of *Clostridium butyricum* bacterin. *J. Fish Dis.* 18, 187–190
202. Sakata, T., 1990. Microflora in the digestive tract of fish and shell- fish. In: Lesel, R. (Ed.), *Microbiology in Poecilotherms*. Elsevier, Amsterdam, pp. 171–176.

203. Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M., Cumming, J., Franck, A., Gibson, G., Isolauri, E., Moreau, M., Roberfroid, M., Rowland, I., (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br. J. Nutr.* 80, S147–S171.
204. SCAN, (2003). Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the criteria for assessing the safety of microorganisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General.
205. Scholz, U., Garcia-Diaz, G., Ricque, D., Cruz-Suarez, L.E., Vargas-Albores, F., Latchford, J., (1999). Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture* 176, 271–283.
206. Schulz, U., Berg, R. (1992). Movements of ultrasonically tagged brown trout (*Salmo trutta* L.) in lake Constance. *Journal of Fish Biology* 40:909-917.
207. Sealey, W.M.; Conley, Z.B.; Bensley, M. (2015). Prebiotic Supplementation has Only Minimal Effects on Growth Efficiency, Intestinal Health and Disease Resistance of Westslope Cutthroat Trout *Oncorhynchus clarkii lewisi* Fed 30% Soybean Meal. *Front. Immunol.* 6, 396.
208. Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Snuttan Sundell, K., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., Vaughan, L. (2012). Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiol Biochem* 38:85–105.
209. Shafique, L.; Abdel-Latif, H.M.; Hassan, F.U.; Alagawany, M.; Naiel, M.A.; Dawood, M.A.; Yilmaz, S.; Liu, Q. (2021). The feasibility of using yellow mealworms (*Tenebrio molitor*): Towards a sustainable aquafeed industry. *Animals* 11, 811.
210. Simonović, P. (2001). Ribe Srbije. Zavod za zaštitu prirode Srbije i Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija, 1247 str.
211. Singh, P., Maqsood, S., Samoon, M. H., Phulia, V., Danish, M., Chalal, R. S. (2011). Exogenous supplementation of papain as growth promoter in diet of fingerlings of *Cyprinus carpio*. *International Aquatic Research* 3, 1–9.
212. Soltani, M.; Ghosh, K.; Hoseinifar, S.H.; Kumar, V.; Lyubery, A.; Roy, S.; Ringø, E. (2019). Genus bacillus, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 27, 331–379.

213. Sotomayor, M.A., Balca'zar, J.L., (2003). Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by mixture of probiotic strain. *Rev. Aquat.* 19, 9– 15.
214. Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Nielsen, T., Appel, K.F., Gram, L., (2000). The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. *Aquaculture* 182, 1–15.
215. Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Sick, E., Pipper, C., Martinussen, T., Slierendrecht, W., Gram, L., (2001). The probiotic potential against vibriosis of the indigenous microflora of rainbow trout. *Environ. Microbiol.* 3, 755–765.
216. Spasić, M., Poleksić, V., Stanković, M., Dulić, Z., Rašković, R., Živić, I., Vukojević, D., Bošković, D., Ćirić, M., Relić, R., Marković, Z. (2010). Primena metode selekcije familija na šarana (*Cyprinus carpio* L.) u Srbiji. 1. Međunarodni simpozij ribarstva i ribolovnog turizma. Centar za ribarstvo "Neretva" Konjic, Boračko jezero, Bosna i Hercegovina. Zbornik radova, pp. 157- 164.
217. Stanković, M., Marković, Z., Dulić, Z., Rašković, B., Ćivić, I., Lakić, N (2010). Effect of feeding frequencies on carp growth rate—preliminary results. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 16, 317–321.
218. Storebakken, T., Refstie, S., Ruyter, B. (2000). Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: *Soy in Animal Nutrition* (Drachley, J.K., ed.). FASS Savoy, IL, USA, pp. 127–170.
219. Strand, Å., Magnhagen, C., Alanärä, A. (2011). Growth and Energy Expenditures of Eurasian Perch *Perca fluviatilis* (Linnaeus) in Different Temperatures and of Different Body Sizes. *Journal of Aquaculture Research & Development* 2, 114.
220. Subasinghe, R., Soto, D., Jia, J. (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture* 1, 2–9.
221. Sugimura, Y.; Hagi, T.; Hoshino, T. (2011). Correlation between in vitro mucus adhesion and the in vivo colonization ability of lactic acid bacteria: Screening of new candidate carp probiotics. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75, 511–515.
222. Sugita, H., Okano, R., Suzuki, Y., Iwai, D., Mizukami, M., Akiyama, N., Matsuura, S., (2002). Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. *Fish. Sci.* 68, 1004–1011.
223. Sullivan Miriam, Dominique Blache (2012). Developing Monitoring Guidelines For Fish Welfare. Conference ANZZCART. full proceedings at <http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/publications/event.html>

224. Suter, H.C., Huntingford, F.A. (2002). Eye colour in juvenile Atlantic salmon: effects of social status, aggression and foraging success. *Journal of Fish Biology* 61:606-614.
225. Sutton SG, Bult TP, Haedrich RL. (2000). Relationships among fat weight, body weight, water weight and condition factors in wild Atlantic salmon parr. *T Am Fish Soc.* 129:527–538.
226. Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J., Vykusova, B. (1993). Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper. No. 54. Rome, FAO, 1993, 59 pp.
227. Swaminathan, M.S. (2010). Keynote Address I. Aquaculture and Nutritional Security in a Warming Planet. Book of Abstracts, Global Conference on Aquaculture 2010, 22–25 September 2010. FAO/NACA/Thailand Department of Fisheries. Phuket, Thailand, pp. 4–6.  
[http://audio.enaca.org/global\\_aquaculture\\_2010/ms\\_swaminathan.pdf](http://audio.enaca.org/global_aquaculture_2010/ms_swaminathan.pdf)
228. Tacon, A. G. J. (1993). Feed ingredients for warmwater fish: Fish meal and other processed feedstuffs. FAO Fisheries Circular No. 856, 64 pp.
229. Tacon, A. G. J., De Silva, S. S. (1997). Feed preparation and feed management strategies within semi-intensive fish farming systems in the tropics. *Aquaculture* 151, 379–404.
230. Tacon, A. G. J., Hasan, M. R., Allan, G., El-Sayed, A. F., Jackson, A., Kaushik, S. J., Ng, W. K., Suresh, V., Viana, M. T. (2012). Aquaculture feeds: addressing the longterm sustainability of the sector. In: *Farming the Waters for People and Food* (Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Bartley, D. M., De Silva, S. S., Halwart, M., Hishamunda, N. C., Mohan, V., Sorgeloos, P., eds.). Proceedings of the Global Conference on Aquaculture, 22–25 September 2010, Phuket, Thailand. FAO, Rome and NACA, Bangkok, pp. 193–231.
231. Tacon, A. G. J., Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158.
232. Tacon, A.G.J., Metian, M. & Hasan, M.R. (2010). Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: sources and composition. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 540. Rome, FAO. 210 pp
233. Tashjian, D., Hung S.S.O. (2005). Non-invasive surgery techniques in fish research: a review on esophageal intubation, dorsal aorta cannulation, and urinary catheterization in sturgeon. In: Sakai, Y., McVey, J.P., Jang, D., McVey, E., Caesar,



- M. (Eds.), Aquaculture and pathobiology of crustacean and other species. Proceedings, 32nd U.S.-Japan Meeting on Aquaculture, Davis, CA, USA. UJNR Technical Report 32. National Oceanic and Atmospheric Administration Research, Silver Spring, MD, USA, pp. 131-142.
234. Temmerman, R., Scheirlinck, I., Huys, G., Swings, J., (2003). Culture independent analysis of probiotic products by denaturing gradient gel electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 69, 220– 226.
235. Treer, T., Safner R., Aničić, I., Lovrinov, M. (1995). Ribarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 404 p.
236. Trefethen, P.S. (1956). Sonic equipment for tracking individual fish. Special Scientific Report- Fisheries No. 179. Marine Biological Laboratory, United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, Washington, D.C., US., pp. 1- 11.
237. Vagias, W. M. (2006). Likert-type scale response anchors. Clemson International Institute for Tourism & Research Development, Department of Parks, Recreation and Tourism Management. Clemson University.
238. Van de Nieuwegiessen, P.G., Boerlage, A.S., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W. (2008). Assessing the effects of a chronic stressor, stocking density, on welfare indicators of juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell. Applied Animal Behaviour Science 115(3-4):233-243.
239. Van Doan, H.; Lumsangkul, C.; Hoseinifar, S.H.; Tongsir, S.; Chitmanat, C.; Musthafa, M.S.; El-Haroun, E.; Ringo, E. (2021). Modulation of growth, innate immunity, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture under biofloc system by supplementing pineapple peel powder and *Lactobacillus plantarum*. Fish Shellfish. Immunol. 115, 212–220.
240. Vannuccini, S. (2003). Overview of fish production, utilization, consumption and trade based on 2001 data. FAO, Fishery Information, Data and Statistics Unit.
241. Varadi, L., Bekefi, E., Gyalog, G., Harache, Y., Lane, A., Lengyel, P. (2010). Regional Review on Aquaculture Development in Europe. Book of Abstracts, Global Conference on Aquaculture, 22–25 September 2010, Phuket, Thailand. FAO/NACA/Thailand Department of Fisheries, pp. 15–17.
242. Varadi, L., Szucs, I., Pekar, F., Blokhin, S., Csavas, I. (2000). Aquaculture Development Trends in Europe. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, 20–25 February 2000, Bangkok, Thailand.

243. Verreth, J., Eding, H. (2009). Farming fish in recirculating aquaculture systems: perspectives and constraints. Proceedings of IV International Conference "Fishery", Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun, pp. 22-23.
244. Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 655–671.
245. Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., (2004a). In vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Lett.* 231, 145–152.
246. Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., Hecht, T., (2004b). Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus. *J. Fish Dis.* 27, 319–326.
247. Vučinić, M., Radisavljević, K. (2009). Dobrobit riba-mogućnost osećanja bola. *Vet. glasnik* 63(1-2):71-76.
248. Wang, X., Li, H., Zhang, X., Li, Y., Ji, W., Xu, H., (2000). Microbial flora in the digestive tract of adult penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*). *J. Ocean. Univ. Qingdao* 30, 493–498.
249. Weber, J. T., E. D. Mintz, R. Canizares, A. Semiglia, I. Gomez, R. Sempertegui, A. Davila, K. D. Greene, N. D. Puhr, D. N. Cameron, F. C. Tenover, T. J. Barrett, N. H. Bean, C. Ivey, R. V. Tauxe, P. A. Blake, (1994). Epidemic cholera in Ecuador: multidrug-resistance and transmission by water and seafood. *Epidemiol. Infect.* 112, 1-11.
250. Wendelaar Bonga, S.E. (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77:591- 625.
251. Westerdahl, A., Olsson, J., Kjelleberg, S., Conway, P., (1991). Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2223– 2228.
252. Xie, M.; Zhou, W.; Xie, Y.; Li, Y.; Zhang, Z.; Yang, Y.; Olsen, R.E.; Ran, C.; Zhou, Z. (2021). Effects of *Cetobacterium somerae* fermentation product on gut and liver health of common carp (*Cyprinus carpio*) fed diet supplemented with ultra-micro ground mixed plant proteins. *Aquaculture* 543, 736943

253. Xu, J., X. Miao, Y. Liu, S. Cui (2005). Behavioral response of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute ammonia stress monitored by computer vision, *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(8), 812-816.
254. Yu, C., Xing, B., Xu, L., Li, D. (2008). Water Quality Management in Intensive Aquaculture in China. *Computer and Computing Technologies In Agriculture, Volume II*. International Federation for Information Processing 259, 1243–1252.
255. Маневска, И. (2020). Влијание на пробиотиците врз производните карактеристики и квалитетот на месото на крапот при интензивно одгледување во кафезен систем. Магистерски труд, Институт за сточарство, УКИМ, Скопје
256. Програма за унапредување на рибарство и аквакултура за период 2013-2024, Сл. весник на РМ, 46/2012.
257. Стевановски, В., Христова, К. В. (2010). Технологија на преработка и конзервирање на риби. Факултет за биотехнички науки- Битола, Битола, 43-70, 263-271.
258. Фијан, Н. (2006): Заштита здравља риба, Пољопривредни факултет у Осијеку, 392 с.
259. Христовски, М., Стојановски, С. (2005). Биологија, одгледување и болести на рибите. Национален форум за заштита на животните на Македонија, Скопје.



## БИОГРАФИЈА

Ивица Панчевски е роден на 28.03.1975 година во Скопје, каде што го завршил основното и средното образование. Во декември 2001 година при Факултетот за ветеринарна медицина го завршува Високото образование и се стекнува со диплома-дипломиран доктор по ветеринарна медицина (ДВМ). Вработен е во ЈПУЗПП Јасен како доктор по ветеринарна медицина (ДВМ) од 2003 година. каде и денес ја извршува истата задача.

Во рамките на ЈПУЗПП Јасен го востановува првиот и единствен репроценар за фазани, со годишно производство од околу 10 000 пилиња. Исто така, активно учествува и во проектот „Parkovi Dinaridi – mreža zaštićenih područja Dinarida“, во чии рамки влезе и ЈПУЗПП Јасен. Учествува во Изработка на студија за изводливост за воспоставување на центар за згрижување на повредени и запленети диви животни во Република Северна Македонија.

Посетува последипломски студии при УКИМ Институт за сточарство-Скопје на насоката Рибарство, од учебната 2015/2016 година.

Во 2013 учествува на 14th Meeting of the CIC Coordination Forum for Central Eastern Europe, како и на Balkan Lynx Conservation and Sustainable Hunting Tourism Workshop.

Во 2017 година посетува курс за Trophy Evaluation, во организација на CIC - The International Council for Game and Wildlife Conservation, за што поседува сертификат.

На покана и во организација на Амбасадата на САД во Македонија, во 2020 година учествува на Virtual European Zoohackathon.

Паралелно учествува во апликативни и научно –истражувачки активности и проекти.

### Објавени научни трудови:

Dz. Kungulovski, N. Atanasova-Pancevska, **I. PANCEVSKI**, K. Blagoevska, A. Dodovski (2018). Growth Performance And Meat Quality Of Pheasants Supplemented With

Paenibacillus Alvei DZ-3. 13th Croatian Biological Congress with International Participation. Poreč, 19 - 23. 09. 2018, Book of abstracts, pp.148.

Natalija Atanasova-Pancevska, **IVICA PANCEVSKI**, Dzoko Kungulovski (2021). THE VARIATION IN MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM RESERVE JASEN, NORTH MACEDONIA. IWRA Online Conference "One Water, One Health: Water, Food and Public Health in a Changing World". 7-9 June 2021.

**Учество во проекти:**

**Проект:** Влијание на суплементите додадени во храната врз здравствената состојба, производните карактеристики и квалитетот на месото на крапот при интензивно одгледување во кафезен систем. Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство на РМ, 2017.

**Проект:** Monitoring of water quality of reservoir Shum and hatchery Shum, toward conservation of nature and production of quality salmonide for stocking of open waters in the Republic of Macedonia. Sts. Cyril and Methodius University, 2017

**Проект:** "MIA EKOPRO-CARP-FEED" НОВА ЗБОГАТЕНА СО ПРОБИОТИЦИ ХРАНА ЗА КРАП (Cyprinus carpio). Fund for Innovation and Technology Development, 2020-2021