

Elżbieta Terech-Majewska<sup>1</sup>, Joanna Grudniewska<sup>2</sup>, Krzysztof Duchiewicz<sup>3</sup>,  
Joanna Pajdak<sup>1</sup>, Edyta Kaczorek<sup>5</sup>, Patrycja Schulz<sup>5</sup>, Andrzej K. Siwicki<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Katedra Epizootiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

<sup>2</sup>Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

<sup>3</sup>Ichthico-Orle, Zamostne

<sup>4</sup>Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

<sup>5</sup>Zakład Patologii i Immunologii Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

## Wpływ preparatu mikrobiologicznego EM-Probiotyk na odporność nieswoistą oraz odporność przeciwważną pstrąga tęczowego

### Wstęp

Technologia Efektywnych Mikroorganizmów – EM wykorzystuje mikroorganizmy do współpracy w otaczającym środowisku. Twórcą technologii jest profesor Teruo Higa z Uniwersytetu Ryukyus w Japonii, który przez 20 lat pracował nad wykorzystaniem mikroorganizmów w bionażeniu. Ostateczną wersję składu EM ogłosił w 1982 r. nazywając to opracowanie „Technologią – Efektywne Mikroorganizmy (EM™)”. Po latach badań T. Higa wyodrębnił 81 rodzajów mikroorganizmów nadających się do spożycia przez ludzi, spośród około dwóch tysięcy uznanych za pożyteczne. Oryginalne mikroorganizmy EM™ pochodzą z gleby japońskiej wyspy Okinawa, ze źwacza krów tam hodowanych, a także mikroorganizmów pozyskanych z mleczarni produkujących przetwory mleczarskie. Synergia biologii i wzajemnych relacji jest podstawą ich skutecznego i wielokierunkowego działania. Podstawą systemu jest wszechstronny preparat EM-1, na który składają się bakterie kwasu mlekowego, bakterie fotosyntetyzujące, drożdże, promieniowce oraz grzyby fermentujące.

Złożone preparaty mikrobiologiczne wykazują działanie synbiotyczne, łącząc w sobie działanie probiotyków, prebiotyków i synbiotyków. Według T. Higa w przyrodzie funkcjonują trzy grupy mikroorganizmów: pozytywne – regeneratywne, negatywne – odpowiadające za rozkład oraz oportunistyczne, które włączają się w aktualnie aktywny proces. W każdym momencie w glebie, wodzie, powietrzu, ludzkim czy też zwierzęcym przewodzie pokarmowym, o stanie zdrowia decyduje stosunek pozytywnych i negatywnych procesów w relacji do siebie. Wykorzystują to drobnoustroje oportunistyczne, które podłączają się do procesów zgodnie z przeważającą tendencją, do regene-

racji lub degeneracji. Według tej teorii pozytywny wpływ na środowisko zdegenerowane ma suplement „pozytywny” mikrobiologicznie, który wymusza procesy regeneracji. Na skutek przemian zachodzących na Ziemi, również pod wpływem działalności człowieka, przeważają procesy rozkładu/destrukcji także w środowisku wodnym (Badura 2004, Kucharski i Jastrzębska 2005). Różne preparaty oparte na EM-ach, znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, tj.:

- rolnictwo (regeneracja gleby, produkcja roślinna, produkcja zwierzęca, przemysł rolno-spożywczy, przechowalnictwo),
- ochrona środowiska (np. rewitalizacja wody, oczyszczanie akwenów i cieków),
- gospodarka komunalna (oczyszczalnie ścieków, wysypiska śmieci, kompostownie),
- gospodarstwo domowe (dom, ogród przydomowy, szambo),
- medycyna ludzka i weterynaryjna i wiele innych.

Technologia jest znana i stosowana w 120 krajach świata. W wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad doskonaleniem tych preparatów oraz poszukiwaniem nowych zastosowań, także w akwakulturze (Demska-Zakęś i in. 2015, Terech-Majewska i in. 2015).

Celem badań była ocena wpływu preparatu EM-Probiotyk (Greenland) na przyrosty masy ciała (wskaźniki hodowlane), ogólną kondycję, zdolność adaptacyjną po przeniesieniu do obiegów doświadczalnych typu RAS (Recirculation Aquaculture System), w Katedrze Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, oraz na poziom odporności nieswoistej i odporności przeciwważnej pstrąga tęczowego.

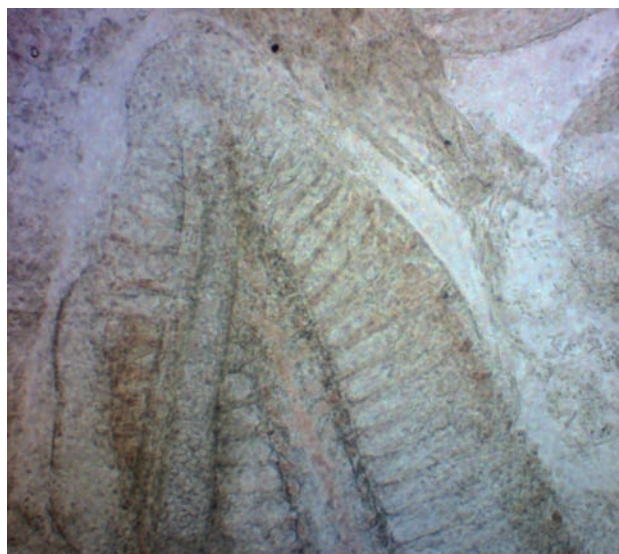
## Materiał i metody

Do badań wykorzystano preparat EM-Probiotyk (Greenland, Polska), który podawano jako 2% dodatek do dziennej dawki paszy, przez okres 30 dni w miesiącach letnich (lipiec-sierpień), w których obserwuje się zwiększone zagrożenie chorobami wywoływanymi przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze. Doświadczenie prowadzono na rybach z gatunku pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*) w Zakładzie Hodowli Ryb Łososiowatych w Rutkach, Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie. Przez kolejne dwa miesiące obserwowano i kontrolowano wzrost ryb, w celu uchwycenia tendencji i trwałości. W obu grupach (kontrolna oraz EM) obsadzono po 200 sztuk ryb o wyjściowej masie ciała 30 g. Próby ryb pobierano trzykrotnie w odstępach miesięcznych (I w sierpniu, II we wrześniu, III w październiku). Po II pobraniu oddzielono grupy ryb do zakażenia eksperymentalnego (grupa kontrolna i EM) i przewieziono do Laboratorium Katedry Epizootologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, w celu oceny potencjału adaptacyjnego oraz zakażenia zjadliwym szczepem *Aeromonas salmonicida*. Do zakażenia eksperymentalnego przeznaczono po 20 sztuk ryb w grupie doświadczalnej i kontrolnej. Ryby zakażano dootrzewnowo podając po 0,2 ml zawiesiny bakteryjnej w koncentracji  $1 \times 10^5$ . Do badań immunologicznych pobierano krew z żyły ogonowej. Ryby przed pobraniem próbek krwi były usypiane przy użyciu preparatu Propiscin (IRS Olsztyn). Badania immunologiczne prowadzono według metodyki opisanej przez Siwickiego i in. (2010). W badaniach oceniano parametry humoralnej odporności nieswoistej, tj.: aktywność lizozymu w surowicy metodą turbidymetryczną, z użyciem bakterii *Micrococcus lysodeikticus* (w modyfikacji Siwickiego i Andersona, 1993); poziom białka całkowitego metodą biuretową z wykorzystaniem testu Diagnostic Kits – Protein Total Reagents (Sigma); poziom gamma-globulin metodą biuretową z wykorzystaniem testu Diagnostic Kits – Protein Total Reagents (Sigma) oraz glikolu polietylenowego 10000 (Sigma); poziom ceruloplazminy według metody opisanej przez Siwickiego i Studnicką (1986). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą testu t-studenta (GraphPad Prism).

## Wyniki

Uzyskane wyniki kontroli tempa wzrostu umieszczono w tabeli 1. Po 30 dniach podawania preparatu (II termin) średnia masa ciała ryb w grupie K wynosiła 51,75 g, a w grupie EM 52,79 g, co stanowiło o 2% większą średnią masę ciała ryb na korzyść grupy suplementowanej EM. Tendencja utrzymywała się podczas trwania doświadczenia, co potwierdziły pomiary w III terminie, 30 dni po zakończeniu podawania preparatu. Średnia masa ciała w grupie K wynosiła 83,1 g, a w grupie EM 91,16 g, co stanowiło o 9,7% większą masę ciała ryb na korzyść grupy suplementowanej EM. Zarówno w II, jak i w III pobraniu próbek krwi stwierdzono zróżnicowanie parametrów surowicy pomiędzy grupami (tab. 2). Wskaźniki humoralnej odporności były wyższe w grupie EM niż w grupie kontrolnej. Jednakże tylko wzrost poziomu ceruloplazminy po 30 dniach suplementacji był statystycznie wysoce istotny ( $p < 0,01$ ).

Adaptacja do nowych warunków środowiska (obieg doświadczalny) trwała 14 dni. Parametry wody w tym okresie kształtowały się na poziomie T 19-20°C, pH 8,64, O<sub>2</sub> 8,48 mg l<sup>-1</sup>. Grupy ryb liczyły po 40 sztuk. Śmiertelność po stresie transportowym i adaptacyjnym wyniosła w grupie kontrolnej 20%, w grupie EM 15%. Ryby w grupie kontrolnej



Fot. 1. Zmiany martwicze w skrzelach ryb w grupie kontrolnej, po adaptacji do warunków środowiskowych (Laboratorium Katedry Epizootologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie).

TABELA 1

Pomiary kontrolne masy i średniej masy ciała pstrąga tęczowego w grupie kontrolnej i grupie karmionej paszą z dodatkiem EM, w trzech terminach: I – na początku doświadczenia, II – po 30 dniach podawania EM, III – 30 dni po zakończeniu podawania EM

Termin	Kontrola			EM		
	Masa ryb [kg]	Liczba ryb	Średnia masa ciała [g]	Masa ryb [kg]	Liczba ryb	Średnia masa ciała [g]
I	5,5	183	30	5,5	183	30
II po 30 dniach podawania EM	8,69	168	51,75	8,6	163	52,79
III 30 dni po zakończeniu podawania EM	11,97	144	83,1	12,67	139	91,16

TABELA 2

Kształtowanie się wskaźników humoralnej odporności nieswoistej w grupie kontrolnej ryb (K) i grupie karmionej paszą z dodatkiem EM (EM), w terminie II – po 30 dniach podawania paszy z dodatkiem EM i w terminie III – 30 dni po zakończenia podawania paszy z dodatkiem EM

Grupa	Liczba ryb	Lizozym g l <sup>-1</sup>	Ceruloplazmina IU	Białko ogólne g l <sup>-1</sup>	Immunoglobuliny g l <sup>-1</sup>
Termin II – po 30 dniach podawania EM					
K	5	82,6	82,2	38,7	9,7
		SD 35,5	SD 3,9	SD 4,7	SD 2,7
EM	10	83,5	90,7**	42,1	10
		SD 33,5	SD 3,9	SD 5,3	SD 2,9
Termin III – 30 dni po zakończeniu podawania EM					
K	5	39,4	92,5	41,2	7,1
		SD 11,0	SD 11,1	SD 3,9	SD 2,1
EM	10	50,4	90,7	42,06	10,02
		SD 9,92	SD 6,1	SD 5,32	SD 2,91

TABELA 3

Zmiany anatomopatologiczne stwierdzone podczas sekcji ryb, które przeżyły zakażenie eksperymentalne *A. salmonicida*, w grupie ryb: kontrolnej (Kzak) i grupie ryb, której podawano paszę z dodatkiem EM (EMzak) oraz u ryb niezakażonych: Knz i EMnz

Grupa doświadczalna	Liczba ryb	Średnia masa ciała (g)	Liczba ryb ze zmianami	Rodzaj zmian
Knz	7	0,08		
Kzak	8	0,11	2	- błądź i kruchość wątroby (u 1 ryby)
				- zmiany na skórze, anemia, powiększenie śledziony (2-3 ryb)
EMnz	8	0,1	3	- błądź i zażółcenie wątroby (u 2 ryb)
				- uszkodzenie skóry (u 1 ryby)
EMzak	14	0,1	5	- zmiany anatomopatologiczne u wszystkich badanych ryb
				- zmniejszenie serca, zrośnięcie z osierdziem (u 2 ryb)
				- błądź wątroby (u 3 ryb)
				- kruchość wątroby (u 1 ryby)
				- błądź skrzel, zmniejszenie śledziony (u 1 ryby)
- żółta galaretowata treść w przewodzie pokarmowym (u 1 ryby)				

pływały pod powierzchnią wody, wykazywały objawy pociemnienia powłok ciała, wskazujące na problemy ze skrzelami, co potwierdziło się w badaniach mikroskopowych (miały zmiany martwicze w skrzelach) (fot. 1). Natomiast u ryb w grupie EM nie stwierdzono objawów klinicznych wskazujących na zaburzenia, jak również zmian w zachowaniu się ryb.

Pozostałą część ryb po okresie adaptacji podzielono na cztery grupy, grupa kontrolna niezakażona – Knz, grupa kontrolna zakażona – Kzak, grupa z EM niezakażona – EMnz, grupa z EM zakażona – EMzak. Ryby zakażono dootrzewnowo zjadliwym szczepem *A. salmonicida*, (0,2 ml zawiesiny bakterii  $1 \times 10^5$ ). W grupie Kzak odnotowano 50% ubytki, natomiast w grupie EMzak *A. salmonicida* odnotowano 30% ubytki. W obu grupach niezakażonych nie odnotowano śnięć ryb.

Ryby które przeżyły zakażenie eksperymentalne zostały poddane eutanazji bezpośrednio przed badaniem,



Fot. 2. Obraz sekcyjny pstrąga tęczowego z grupy kontrolnej zakażonej – Kzak.

przy użyciu preparatu Propiscin (IRS) metodą przedawkowania. Podczas sekcji obserwowano słabo wyrażone różnice w obrazie sekcyjnym (fot. 2, 3, 4, 5). W tabeli 3 zestawiono zmiany sekcyjne stwierdzone u ryb, które przeżyły zakażenie. Najwięcej zmian stwierdzono w grupie EMzak.



Fot. 3. Obraz sekcyjny pstrąga tęczowego z grupy EM zakażonej (EMzak).



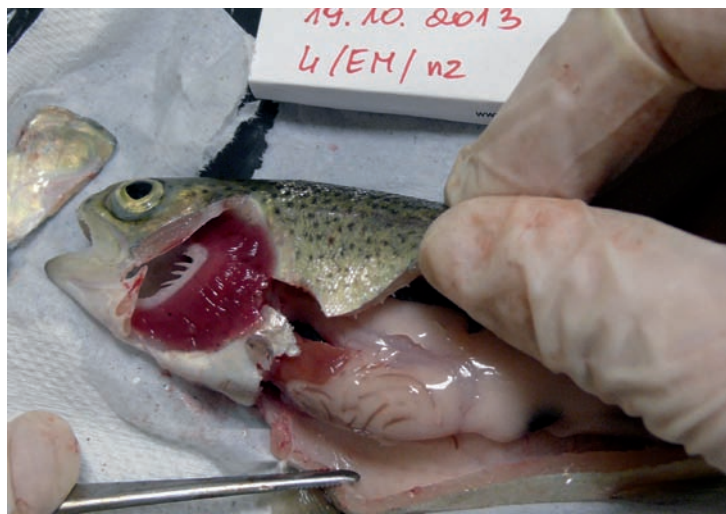
Fot. 4. Obraz sekcyjny pstrąga tęczowego z grupy kontrolnej niezakażonej (Knz).

## Dyskusja

W obszarze produkcji zwierzęcej i medycynie weterynaryjnej istnieje wiele przesłanek korzystnie promujących technologię EM, szczególnie wobec zakazu od 1 stycznia 2006 r. stosowania w paszach dla zwierząt antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Zakłada się, że zmiany w programach żywienia zwierząt powinny uwzględniać wzmacnianie naturalnej odporności oraz stabilizację korzystnej mikroflory przewodu pokarmowego, poprzez stosowanie określonych pasz i dodatków paszowych oraz modyfikację poziomu niektórych składników pokarmowych. Aktualnie zaleca się stosowanie w żywieniu zwierząt dodatków paszowych, które korzystnie wpływają na mikroorganizmy bytujące w przewodzie pokarmowym. Probiotyki uznaje się za produkty stabilizujące populację mikroorganizmów, jak też aktywność enzymatyczną w przewodzie pokarmowym, przez co wywierają dodatni wpływ na wzrost i rozwój zwierząt. W produkcji zwierząt stałocielnych za najważniejsze zadania dla drobnoustrojów probiotycznych należy uznać:

- zdolność szybkiego namnażania się w przewodzie pokarmowym i tworzenia naturalnej bariery dla bakterii szkodliwych;
- konkurencyjne działanie wobec bakterii typu *E. coli* i innych patogenów;
- obniżanie i utrzymanie optymalnej kwasowości oraz zwiększanie aktywności enzymów przewodu pokarmowego.

EM-Probiotyk w pełni odpowiada tym wymaganiom. Wykazano pozytywne rezultaty przy systematycznym stosowaniu preparatów EM w hodowli zwierząt, tj.: łagodny przebieg zatruc pokarmowych spowodowanych paszą i przyspieszony powrót do zdrowia, uregulowane procesy trawienne, ułatwione gojenie ran, jak również zwiększenie odporności na choroby. Znane są efekty stosowania EM



Fot. 5. Obraz sekcyjny pstrąga tęczowego z grupy EM niezakażonej (EMnz).

w środowisku wodnym, które jest szczególnie narażone na zachwiania ilościowo-jakościowe, biologiczne i chemiczne. Jest ono bardzo narażone na zmiany zawartości substancji organicznych i chemicznych, dopływających bezpośrednio poprzez wymywanie otaczających gruntów czy opady deszczu. Gdy stawy tracą przejrzystość oznacza to, że tracą naturalną wydolność do odbudowy naturalnego środowiska. EM są stosowane do oczyszczania wód stojących, jak również płynących. Wyjściowa procedura zakłada użycie 1 l EM lub EM-1 na 10 m<sup>3</sup> wody, stosowane 4-8 razy w sezonie, a potem co 6 tygodni, aż do uzyskania efektu. Podobnie można aplikować je do oczyszczalni ścieków, tych przydomowych, jak i komunalnych oraz odstożników (informacja producenta). Technologia EM została opracowana w Japonii, gdzie spożycie ryb jest największe na świecie i gdzie hoduje się ich dużo, także ozdobnych. Ryby mogą być karmione EM bokashi lub przebywać w wodzie z dodatkiem EM. Efektem jest wysoka jakość mięsa, jak również wyższe efekty wzrostu (Mau 2002). Efekty działania EM są widoczne, ale żeby potwierdzić ich

skuteczność wymagane są dalsze badania i opracowanie szczegółowych procedur podawania (Qi i in. 2009, Rapatsa i Moyo 2013).

Również w naszych warunkach klimatycznych możliwe jest wykorzystanie EM w akwakulturze. W hodowli ryb można stosować je dwojako, jako dodatek do wody w celu przyspieszenia rozkładu, gromadzącej się materii organicznej oraz jako suplement do paszy dla ryb, gdzie dodatek EM optymalizuje także trawienie. Stosowanie EM jako dodatku do wody zasilającej aparaty, w których inkubuje się ikry przyspiesza rozkład materii organicznej i poprawia warunki inkubacji. Dobre efekty obserwuje się podczas inkubacji ikry, aż do okresu zaoczkowania różnych gatunków ryb, co szczególnie istotne jest w przypadku ryb nieudomowionych, hodowanych w akwakulturze. Przez cały sezon hodowlany (oprócz zimy) można stosować dodatek EM do osadników (duże stawy poprodukcyjne), w celu przyspieszenia rozkładu materii organicznej i zmniejszenia zagniwnienia. Dodatek do paszy, poprzez jej spryskanie, wpływa korzystnie na parametry wzrostu tak karmionych ryb. Wstępne obserwacje sugerują możliwość poprawy wzrostu i kondycji ryb, co potwierdzają prezentowane wyniki badań.

Efektywne mikroorganizmy budzą wiele kontrowersji i szereg wątpliwości, nazywane są „preparatami pseudomikrobiologicznymi”, a ich właściwości ocenia się także jako „niewiarygodne” (Martyniak 2011). Wspomniany autor podważa rzetelność procedur rejestracyjnych wobec tych preparatów mikrobiologicznych, które są rejestrowane jako środki poprawiające właściwości gleby. Wśród nich wymienia EM i ich modyfikacje. Uważa on również, że „nieznane są żadne oryginalne prace naukowe, w których opisano pochodzenie mikroorganizmów wchodzących w skład tych szczepionek, metody ich identyfikacji i namnażania oraz wyniki badań wykazujących przydatność i skuteczność omawianych biopreparatów w praktyce”. Wiele ośrodków podejmuje badania weryfikujące „nadmiernie wyidealizowane” informacje o tej technologii (Martyniak i Księżak 2011, Van Vliet i in. 2006). Do tych zarzutów należy zaliczyć niestabilność i niepowtarzalność ilości oraz jakości stosowanych szczepów drobnoustrojów, nieskuteczność wobec proponowanych zastosowań albo nieistotny statystycznie efekt działania (Martyniak 2011). Brak spodziewanych efektów produkcyjnych w badaniach nad plonowaniem roślin potwierdzają Kucharski i Jastrzębska (2005).

W akwakulturze także dyskutowane są efekty działania tych biopreparatów. Nasze badania podjęto pod wpływem

docierających informacji na temat stosowania preparatów oraz problemów diagnostycznych chorób bakteryjnych u ryb pochodzących z gospodarstw, w których są stosowane EM. W niektórych środowiskach uważa się, że mogą być przyczyną pojawiania się nowych jednostek chorobowych w hodowli pstrąga (Duchiewicz, dane niepublikowane). W praktyce bezsporne jest ich stosowanie w osadnikach, w celu poprawy biodegradacji osadów. Jednakże o skutkach długotrwałego stosowania EM w tych warunkach nie ma doniesień. Uzyskane wyniki badań wykazały pozytywny wpływ dodatku do paszy EM na wzrost oraz potencjał adaptacyjny narybku pstrąga tęczowego. Jednakże nie wykazały pozytywnej korelacji na nieswoistą odporność przeciwciałową. To potwierdza sugestie, że pod ich wpływem może zmieniać się obraz kliniczny u pstrąga tęczowego. Należy zatem stosować je z rozważą po uprzednim poznaniu środowiska, w którym hodowane są ryby.

## Literatura

- Badura L. 2004 – Czy znamy wszystkie uwarunkowania funkcji mikroorganizmów w ekosystemach lądowych – Kosmos: problemy nauk biologicznych, 3-4: 264-265.
- Demska-Zakęś K., Sikora A., Gomułka P. 2015 – Preparaty mikrobiologiczne w akwakulturze – W: Podchowy organizmów wodnych – osiągnięcia, wyzwania, perspektywy (Red.) Zakęś Z., Demska-Zakęś K., Kowalska A. Wyd. IRS, Olsztyn: 55-66.
- Kucharski J., Jastrzębska E. 2005 – Rola efektywnych mikroorganizmów w kształtowaniu właściwości mikrobiologicznych gleby – Inż. Ekol. 12: 295-296.
- Martyniak S. 2011 – Skuteczne i nieskuteczne preparaty mikrobiologiczne stosowane w ochronie i uprawie roślin oraz rzetelne i nierzetelne metody ich oceny – Post. Mikrobiol., 50, 4: 321-328.
- Martyniak S., Księżak J. 2011 – Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin – Polish. J. Agron. 6: 27-33.
- Mau F.P. 2002 – Efektywne mikroorganizmy w domu i w ogrodzie dla lepszego wzrostu roślin i dla zdrowia, niezwykle rezultaty stosowania – Wyd. Fundacja Źródła życia: 1-202
- Rapatsa M.M., Moyo N.A.G. 2013 – Haematological, histological and growth characteristics of *Oreochromis mossambicus* exposed to effective microorganisms in organically manured aquadams – Asian J. Anim. Vet. Adv. 8 (7): 852-862.
- Van Vliet P.C., Bloem J., de Goede R.G.M. 2006 – Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of Effective Microorganisms (EM) to slurry manure – Appl. Soil. Ecol. 32: 188-198.
- Siwicki A.K., Studnicka M. 1986 – Ceruloplasmin activity in carp (*Cyprinus carpio*) – Bamidgheh 38: 126-129.
- Siwicki A.K., Anderson D.P. 1993 – Nonspecific defence mechanisms assay in fish. Fish Disease Diagnosis and Prevention's Methods – FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn: 105-112.
- Siwicki A.K., Terech-Majewska E., Grudniewska J., Małaczewska J., Kazuń K., Lepa A. 2009 – Influence of deltamethrin on nonspecific cellular and humoral defense mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Environ. Toxicol. Chem. Vol. 9999, No. 12: 1-3.
- Terech-Majewska E., Pajdak J., Grudniewska J., Siwicki A.K. 2015 – Efektywne mikroorganizmy w środowisku człowieka – W: Wybrane zagadnienia biologii i medycyny (Red.) E. Skopińska-Różewska, A.K. Siwicki, R. Zdanowski. Edycja Olsztyn: 195-205.
- Qi Z., Zhang X.H., Boon N., Bossier P. 2009 – Probiotics in aquaculture of China – current state, problems and prospect – Aquaculture, 290: 15-21.

Przyjęto po recenzji 8.03.2016 r.

---

## IMPACT OF EFFECTIVE MICROORGANISM (EM) TECHNOLOGY ON THE NON-SPECIFIC AND ANTI-INFECTIOUS IMMUNITY OF RAINBOW TROUT

Elżbieta Terech-Majewska, Joanna Grudniewska, Krzysztof Duchiewicz, Joanna Pajdak, Edyta Kaczorek, Patrycja Schulz, Andrzej K. Siwicki

**Abstract.** Effective microorganism (EM) technology relies on microorganisms to enhance natural biological processes. In 1982, the EM concept was introduced to the world by Professor Teruo Higa of the University of the Ryukyus in Okinawa, Japan. From among 2,000 beneficial microorganisms, Higa identified a combination of 81 microorganisms that are safe for human consumption. The EM-1 microbial inoculant is composed of lactic acid bacteria, photosynthetic bacteria, yeasts, Actinobacteria, and fermenting fungi. EM technology has been used extensively in 120 countries globally, and it is also growing in popularity in Poland, mainly in agriculture and aquaculture. It offers an alternative to antibiotics and crop protection chemicals. The EM concept is fully consistent with the principles of organic farming and the latest trends in the protection of human and animal health. Effective microorganisms are recommended for purifying ponds and even entire drainage basins. In this study, feed administered to the rainbow trout (200 fish per group) with an initial body weight of 30 g was supplemented with 2% of EM over a period of thirty days. The growth rate and the feed conversion ratio of the experimental fish were compared with the control group to which EM was not administered. Serum concentrations of Ig, total protein, lysozyme, and ceruloplasmin were determined in both groups. At the end of the supplementation period, the fish were infected intraperitoneally with a highly virulent strain of *Aeromonas salmonicida* (0.2 ml of bacterial suspension  $1 \times 10^5$ ). Mortality rates caused by the experimental infection were lower in the group receiving EM. The results of the study indicate that EM supplementation enhances non-specific immune responses and reduces mortality in fish. However, the results showed considerable variation in the clinical course of infection, probably as a consequence of the diversity of immunological parameters.

**Keywords:** effective microorganism (EM) technology, rainbow trout, non-specific immunity, anti-infectious immunity