

// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии 2018 – №2. – С. 199-205. DOI 10.18286/1816-4501.

3. Adebayo O. T., Fasakin E. A., Adewumi J. A. Reproductive performance of partially gonadectomized male African catfish, *Clarias gariepinus* broodstocks. *Theriogenology*, 2012. – 77(6). – 1050-1055.

4. Brzuska E. Artificial propagation of European catfish (*Silurus glanis*): application of a single dose of pellets containing D-Ala⁶, Pro⁹ NEt-mGnRH and dopamine inhibitor metoclopramide to stimulate ovulation in females of different body weight // *Czech Journal of Animal Science* 2003. – 48(4). – 152-163.

5. Diyaware M.Y., Haruna A.B., Abubakar K.A. Determination of testes regeneration period for African catfish (*Clarias anguillaris*) after milt (semen) collection through ablation // *Current Research Journal of Biological Sciences* 2010. – 2(6). – 375-379.

6. Pronina G. I., Petrushin A. B., 2019 Techniques for in vivo extraction of gonads of male European catfish (*Silurus glanis*) for the artificial reproduction // *AAACL Bioflux* 12(4):1316-1322.

7. Sanap B.N., Ambulkar R.S., Kamble S.D., Chaturvedi C.S. Post-dissection survival, conservation and reutilization of *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758) male broodstock // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)*. 2018. – 7(2). – 2010-2017.

8. Szabó T., Ferenc R., Borsos Á., Urbányi B. Comparison of the results from induced breeding of European catfish (*Silurus glanis* L.) broodstock reared in an intensive system or in pond // *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2015. – 15:379-384.

9. Viveiros A. T. M. Semen collection in catfish species, with particular emphasis on the African catfish // *Animal Breeding Abstracts* 2003. – 71(12). – 7-13.

УДК: 576.372

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОБИОТИКА *VACILLUS SUBTILIS* ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ИММУННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГИДРОБИОНТОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Пронина Галина Иозеповна, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Аннотация. Показано, что кормовая добавка «Субтилис-С», содержащая культуры *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* усиливает иммунитет речных раков *Pontastacus leptodactylus*, что выражается в снижении заболеваемости и смертности при неблагоприятных условиях среды, в т.ч. в присутствии *Saprolegnia parasitica*. Выявлено, что при этом у речных раков снижается содержание лизосомального катионного белка в гемоцитах.

Ключевые слова: речные раки, пробиотик, гематологические, цитохимические исследования.

Одним из способов повышения иммунитета объектов аквакультуры является использование иммуномодуляторов в качестве кормовой добавки. В настоящей работе представлено изучение действия пробиотика «Субтилис-С», содержащий культуры *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* и на иммунитет длиннопалого речного рака *Pontastacus leptodactylus*.

Известно, что *Bacillus licheniformis* и *Bacillus Subtilis* выделяют в кишечнике биологически активные вещества, продуцируют различные пищеварительные ферменты. В результате улучшается пищеварение, повышается усвоение кормов, увеличиваются среднесуточные привесы, стимулируется рост животных, птицы, рыб.

Исследования возможностей применения пробиотика «Субтилис-С» на ранних стадиях выращивания рыб показали, что обработка пробиотиком икры, эмбрионов и личинок увеличивает коэффициент выживаемости и снижает естественную смертность рыб на личиночной стадии развития, способствует стимуляции жизнестойкости рыб на ранних этапах онтогенеза и повышению естественного иммунитета [1, 2, 3, 4].

Показано, что пробиотик *Bacillus subtilis* вызывает поглощение белка и более интенсивное использование метаболитов азота микрофлорой кишечника для синтеза собственной биомассы. При этом возрастает среднесуточный прирост массы карпа и стерляди на 25 и 35% [5].

Однако в литературе мало данных о влиянии пробиотиков на гематологические параметры объектов аквакультуры. Фагоцитарная активность клеток циркулирующих жидкостей при этом не исследовалась. Влияние пробиотиков на речных раков практически не изучено.

В связи с вышеизложенным **целью** настоящей работы явилось изучение действия пробиотика на физиологическое состояние речных раков по гематологическим и цитохимическим показателям.

Методика исследований

Объектами исследования явились речные раки *Pontastacus leptodactylus* в количестве 26 особей, которые были разделены на 2 группы: контрольная и опытная по 13 шт. в каждой группе.

Исследования проводились в аквариальных условиях РГАУ-МСХА им. Тимирязева. Раки содержались в двух аквариумах (контрольная и опытная группы) с принудительной аэрацией и водоочисткой. Объем воды в аквариумах составлял 200 литров. На каждый аквариум приходилось по два укрытия, выполненные из керамических трубок диаметром 40мм.

Температура воды в аквариумах была в пределах 18-19°C. Гидрохимический режим представлен в пределах нормы.

Подсчет и дифференциальный подсчет гемоцитов речных раков для определения гемоцитарной формулы проводился в нативной геммолимфе в камере Горяева микроскопически. Расчет общего числа гемоцитов (ОЧГ)

производился по формуле: $ОЧГ = n \times 2,5 \times 10^6$, где n – количество гемоцитов в 20 больших квадратах камеры Горяева.

Фагоцитарная активность гемоцитов речных раков определялась цитохимическим методом с бромфеноловым синим по М.Г. Шубичу (1974), адаптированным для гидробионтов Г.И. Прониной. Определялось содержание неферментного катионного белка в лизосомах фагоцитов циркулирующих жидкостей гидробионтов. По степени фагоцитарной активности исследуемые клетки делились на 4 группы:

- 0 степень – гранулы катионного белка отсутствуют
- 1 степень – единичные гранулы
- 2 степень – гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы
- 3 степень – гранулы занимают 1/2 цитоплазмы и более

Средний цитохимический коэффициент (СЦК) рассчитывали по формуле:

$$СЦК = (0 \times Г_{ц0} + 1 \times Г_{ц1} + 2 \times Г_{ц2} + 3 \times Г_{ц3}) / 100, Г_{ц0} + Г_{ц1} + Г_{ц2} + Г_{ц3} = 100$$

где $G_{ц0}$, $G_{ц1}$, $G_{ц2}$, $G_{ц3}$ – количество гемоцитов речных раков с активностью 0, 1, 2 и 3 балла соответственно.

Математическую обработку цифровых материалов проводили с использованием программы Excel пакета Microsoft Office. Достоверными считались различия при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Как показали результаты эксперимента, через месяц речные раки практически не набрали массу и по размерно-весовым показателям достоверно не различались между группами (таблица 1).

Таблица 1

Размерно-весовые, гематологические и цитохимические показатели речных раков в эксперименте

Показатели	Контроль		Опыт	
	Фон	Через месяц	Фон	Через месяц
	а	б	в	г
Масса тела, г	34,4±0,8	34,8±2,9	33,9±0,8	34,1±1,8
Длина тела, мм	104,8±0,8	103,2±1,4	104,9±1,2	105,3±3,2
Длина карапакса, мм	52,3±0,6	55±0,7	52,5±0,7	52,8±1,1
Длина клешни, мм	36,1±1,5	34,5±3,5	35,9±1,4	36,2±1,2
Ширина клешни, мм	13,8±0,5	14±0,7	13,7±0,5	13,5±0,9
pH	6,8±0,5	6,3±0,3	6,9±0,4	7,7±0,3 ^б
ОЧГ, 10 ⁶ ед.	401±49	288±18	444±79	545±63 ^б
Гемоцитарная формула, %				
Агранулоциты	41,8±1,3	31,3±6,1	40,5±3,3	31,3±2,8 ^а
Полугранулоциты	28,6±1,4	23,0±3,7	29,0±3,1	29,8±5,7
Гранулоциты	25,8±2,6	42,1±5,4 ^а	27,6±3,4	34,3±4,3
Прозрачные клетки	3,9±0,5	3,7±0,3	3,2±0,5	4,5±1,3
Цитохимический показатель				
СЦК, ед.	1,83±0,06	1,75±0,05	1,86±0,04	1,54±0,07 ^{а,б}

Примечание: а, б, в – различия достоверны

Активная реакция гемолимфы (рН) через месяц кормления раков с добавкой пробиотика сместилась в щелочную сторону, в контрольной группе – в кислую. С одной стороны, кислая среда является критичной для патогенных грибков, однако она вредна и для самих раков. После кормления с добавкой пробиотика у раков увеличилось, без добавки – уменьшилось ОЧГ; различия достоверны.

Различия между группами по гемоцитарной формуле не характерны. Отмечено увеличение гранулоцитов после месяца эксперимента в контрольной группе. Относительно СЦК катионного лизосомального белка подтвердилась ранее полученная нами закономерность: У не заболевших особей, находящиеся в присутствии грибка, СЦК достоверно снижается.

Следует отметить, что первые 2 недели эксперимента раки находились в неблагоприятных условиях, так как в это время в аквариумах не было водоочистки. Кроме того, экспериментальные объекты оказались носителями грибка *Saprolegnia parasitica* (рисунок), вызывающего ржаво-пятнистую болезнь (РПЗ).

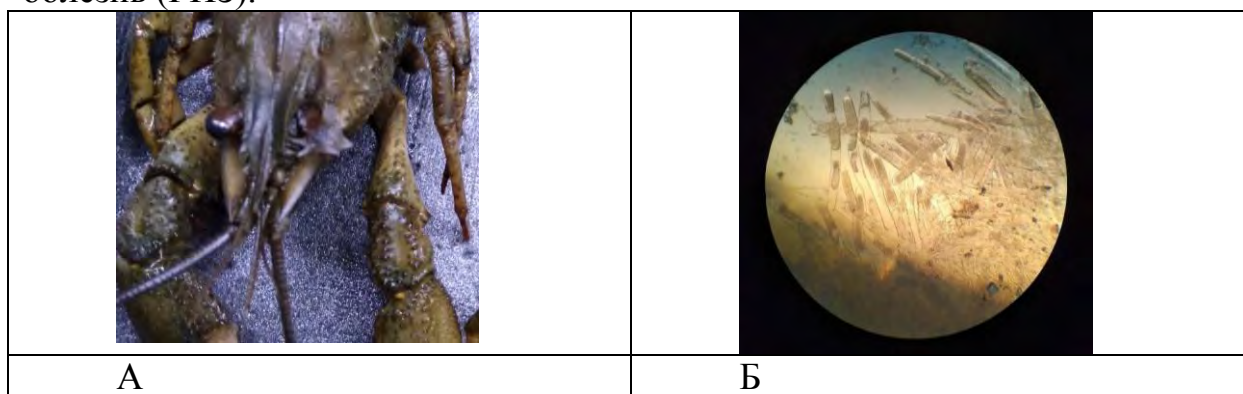


Рисунок 1 - Поражение речных раков грибком *Saprolegnia parasitica*
А – поражение глаза речного рака, Б – микроскопическая картина. Гифы грибка *Saprolegnia parasitica*

При этом выживаемость раков в вынужденно экстремальных условиях в опытной группе оказалась в 2,7 раза выше, чем в контрольной: 62% (8 особей) против 23% (3 особи).

Таким образом, выявлено, что использование пробиотика *Bacillus subtilis* в качестве добавки к корму в дозе 1,5г/кг корма усиливает иммунитет речных раков: в 2,7 раза повышается выживаемость при неблагоприятных условиях: отсутствие водоочистки, наличие в воде патогена *Saprolegnia parasitica*; снижается заболеваемость ржаво-пятнистым заболеванием (РПЗ). При этом СЦК лизосомального катионного белка в гемоцитах снижается, аналогично данным по рыбам. По-видимому, раки расходуют этот цитотоксичный белок в процессе иммунной защиты.

Библиографический список

1. Бурлаченко И.В., Малик Е.В. Применение пробиотиков на ранних стадиях эмбрионального развития ленского осетра // Ветеринария. 2007. № 3. С. 47-51.
2. Власов В.А., Артеменков Д.В., Панасенко В.В. Использование пробиотика "Субтилис" в качестве добавки в комбикорм при выращивании клариевого сома (*Clarias gariepinus*) // Рыбное хозяйство. 2012. № 5. С. 89-93.
3. Головкин Г.В.; Чистяков В.А.; Сазыкина М.А.; Зипельт Л.И.; Коленко М.А.; Сатаров В.В.; Шепило В.Ю. Использование пробиотической добавки на основе *Bacillus subtilis* "В-1895" в аквакультуре // Рыбное хозяйство. 2009. № 5. С. 60-64.
4. Руденко Р.А., Руденко Т.Г., Тищенко Н.Н. Использование пробиотиков в стартовых комбикормах для карповых рыб // Известия вузов. Пищевая технология. 2009. № 1. С. 23-25.
5. Zuenko V.A. Laktionov K.S, Pravdin I.V., Kravtsova L.Z., Ushakova N.A. Effect of *Bacillus subtilis* in feed probiotic on the digestion of fish cultured in cages // Journal of Ichthyology, 2017, Vol. 57 (1): 152-157.

УДК: 576.372

УСИЛЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОБИОНТОВ С ПОМОЩЬЮ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Пронина Галина Иозеповна, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Корягина Наталья Юрьевна, старший научный сотрудник ВНИИР – филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

Ревакин Артем Олегович, заведующий виварием ООО испытательный центр (ИЦ) «Фармоборона»

Степанова Ольга Ивановна, заведующая лабораторией ФГБУН НЦБМТ

Аннотация. Показано, что стволовые клетки мышей-доноров, введенные в организм речных раков и аксолотлей стимулируют их репродуктивную активность.

Ключевые слова: речные раки, аксолотли, стволовые клетки, репродуктивная активность.

Важной задачей интенсификации сельского хозяйства является обеспечение воспроизводства разводимых животных. В настоящее время при искусственном воспроизводстве для стимуляции репродуктивной активности применяются методы гормональной стимуляции, для пойкилотермных организмов возможна температурная регуляция функции воспроизводства.