

Глава 7. Пути использования и развитие технологий культивирования земноводных в России (Кидов А.А.; Матушкина К.А.; Кидова Е.А.; Иволга Р.А.; Кондратова Т.Э.; Дроздова Л.С.; Африн К.А.; Веселова Н.А.)

Рост населения Земли, чья численность преодолела в ноябре 2022 г. рубеж в 8 млрд чел. (World Population Clock, 2022), может привести к нехватке ресурсов для его дальнейшего существования. Сложившаяся обстановка заставляет искать новые источники белка, позволяющие прокормить человечество без ущерба для экосистем. При этом, традиционные отрасли животноводства являются одним из наиболее чувствительных факторов, обуславливающих глобальное изменение климата, сокращение биологического разнообразия, разрушение плодородия почв и загрязнение водных ресурсов, особенно на густонаселенных территориях нашей планеты. Под выпас скота используется до 70% всех сельскохозяйственных угодий или около 30% всей суши (Steinfeld et al., 2006). Получение продукции от традиционно разводимых животных, в сравнении с растениеводством, требует огромных затрат чистой пресной воды. Так, расход воды на получение 1 кг говядины в 10 выше, чем для получения 1 кг зерна пшеницы и в 100 раз, чем для 1 кг картофеля (Oki et al., 2001). Очевидно, что поиск новых объектов животноводства, позволяющих получать продукцию с минимальными затратами, является актуальной проблемой современной зоотехнической науки. Одним из интенсивно развивающихся направлений является культивирование земноводных или батрахокультура (Дроздова, 2020; Кидова, 2021).

Амфибии длительное время вовлечены в хозяйственную деятельность человека, что обусловлено их широким распространением и многочисленностью, особенно в тропическом поясе. Первые находки костей от съеденных людьми лягушек были отмечены при археологических раскопках в Великобритании и датируются VI в. до н.э. В средневековой Европе лягушек не относили к скоромной пище и поэтому часто употребляли во время поста (Deutsch, Murakhver, 2012). В настоящее время лягушачьи лапки в качестве

продукта питания распространены во многих регионах мира, включая Европу, Северную Америку, Азию и Австралию (Grano, 2020).

Крупнейшими экспортерами лягушачьего мяса (в основном – освеженных задних лапок) традиционно считаются страны Южной и Юго-Восточной Азии. Так, по экспертной оценке, в 1970-х гг. только Индия ежегодно поставляла за рубеж около 25 млн. лягушек ежегодно, а Индонезия лишь в 1976 г. продала 50 млн. особей. Экспорт лягушек являлся важной статьей дохода для Бангладеш: в конце 1970-х – начале 1980-х гг. ежегодный доход от этого бизнеса составлял около 3 млн. долларов США. Нерегулируемая добыча привела к подрыву численности амфибий в природных популяциях, однако, несмотря на это, только из Индии и Бангладеш в 1986 г. было экспортировано более 150 млн. лягушек. Необходимо отметить, что основными объектами промысла в Индии и Бангладеш являлись только 2 вида лягушек (*Euphlyctis hexadactylus* и *Hoplobatrachus tigerinus*) (Кидов и др., 2013).

В 1970-х и в начале 1980-х гг. интенсивно использовали для промысла зеленых лягушек рода *Pelophylax* в Восточной Европе (Болгария и республики бывшей Югославии), Северной Африке (Египет) и Передней Азии (Турция). Например, только в крошечную по площади Швейцарию из вышеперечисленных стран ежегодно завозили около 650 тыс. лягушек. Ежегодный экспорт лягушек из Греции в 1970-х гг. составлял около 2,2 млн. особей. В 1971 г. из Канады в США было ввезено 480 тыс. лягушек из семейства Ranidae, а всего импорт земноводных в эту страну в 1970-х гг. составлял около 2 млн. особей ежегодно (Кидов и др., 2013). В настоящее время интерес к лягушачьему мясу, как важному источнику белка, только возрастает. Если мировое производство мяса лягушки в период с 1999 по 2007 гг. в среднем составляло около 44 тыс. тонн ежегодно, то уже в 2008 г. достигло 85 тыс. тонн (Moreira et al., 2013). Миллионы пойманных в природе (преимущественно в Азии) лягушек по-прежнему употребляются в пищу в Европе и США (Warkentin et al., 2009; Altherr et al., 2011).

При этом в пищу используют не только взрослых земноводных, но и их личинок. Например, в Мексике употребляют традиционное блюдо «caldo de piedra» (буквально: «суп из камней») из головастика эндемичной лягушки *Duellmanohyla ignicolor* (Flores et al., 2022).

Россия, несмотря на ее огромную площадь и запасы чистой пресной воды, демонстрирует очень скромные показатели добычи земноводных. Так, в 1980-х гг. экспорт из нашей страны составлял около 500 тыс. особей ежегодно. В настоящее время предприятия по производству лягушачьего мяса работают в Ростовской и Астраханской областях, Краснодарском и Приморском краях. Длительное время основным рынком сбыта для продукции этих предприятий была Европа, однако в связи со сложившейся внешнеполитической обстановкой происходит переориентация на экспорт лягушачьего мяса в Китай, чему способствует современная нормативная база (например – Указание Россельхознадзора от 18 сентября 2018 года № ФС-КС-7/23199 «О ветеринарном сертификате на живых лягушек для пищевых целей, экспортируемых из РФ в КНР»).

Земноводные издавна имеют большое значение в народной медицине Африки, Китая, Южной Америки и даже Европы (Hatfield, 2004; Mohnke et al., 2011; Vallejo, González, 2015). В кожных железах амфибий встречается широкий спектр различных химических соединений. Железы обычно рассеяны по всей дорсальной поверхности тела, но иногда встречаются и на вентральной, и часто агрегируют, образуя заметные структуры, которые называют «макрогландами» (Duellman, Trueb, 1994). Примером могут служить околушные железы (паротиды) большинства представителей Bufonidae и большеберцовые железы некоторых видов *Limnodynastes*. Их секреты издревле использовались, а современные исследования позволили разработать на их основе медицинские и ветеринарные препараты.

В Африке местные жители активно используют представителей семейства Bufonidae, таких как *Sclerophrys pentoni*, *S. regularis*, *S. maculate*, *S.*

xeros в пищу, для изготовления лекарств, а также в культурных целях (в качестве тотема или на церемониях) (Pauwels et al., 2003; Gonwouo, Rodel, 2008; Mohneke et al., 2011). В Южной Америке *Rhinella diptycha* используется для облегчения рожи, кожных инфекций, ран, язв, из нее изготавливают отвары для лечения рака (Weiler et al., 2013; Schmeda-Hirschmann et al., 2017). Исследователи из Испании изучали использование земноводных в народной медицине (например, порошок из сожжённых лягушек использовали для остановки кровотечений) (Vallejo, González, 2015) и впоследствии проводили дополнительные гистологические исследования, в которых подтверждали, что яд из околоушных желез *Epidalea calamita* может использоваться для разработки новых лекарств (Vallejo et al., 2022).

Также было обнаружено, что древние жители Центральной Америки использовали жаб *Rhinella marina* или *Incilius alvarius* в качестве галлюциногена, непосредственно облизывая жабы шкурки или курая приготовленный порошок (Davis, Weil, 1992). Исследования показали, что индолеалкиламины (IaaS) в коже жабы, в первую очередь буфотенин, ответственны за эти галлюциногенные эффекты (Qi et al., 2018). Из-за галлюциногенного эффекта использование буфотенина увеличилось в Нью-Йорке в прошлом веке и привлекло внимание к изучению его потенциала для лечения нервно-психических расстройств (Qi et al., 2018). Сообщалось также, что буфотенин используется в качестве биомаркера при диагностике шизофрении и аутизма (Emanuele et al., 2010).

Исследования, проведенные за последние 40 лет на земноводных со многих континентов, выявили наличие в их кожных железах применимых в медицине и ветеринарии пептидов и алкалоидов-антибиотиков, хотя некоторые из них оказались гемолитическими (Preusser et al., 1975; Çevikbaş, 1978; Stone et al., 1992; Clarke et al., 1994; Suzuki et al., 1995; Nicolas, Mor, 1995; Clarke, 1997; Wang et al., 2007; Reshmy et al., 2011; Lu et al., 2015). В прошлом для получения кожного секрета земноводное-донора умерщвляли, удаляли и

гомогенизировали кожу. В настоящее время его получают прижизненно многократно при помощи электрической стимуляции кожи (Tyler et al., 1992).

Из покровов разводимой длительное время в искусственных условиях *Xenopus laevis* были выделены магайнины, состоящие из двух олигопептидов (Zasloff, 1987). В низких концентрациях эти пептиды подавляют рост многих видов бактерий и грибов, а также вызывают осмотический лизис простейших (Conlon et al., 2012). Магайнины также обладают спермицидными свойствами и в настоящее время производится их оценка, как средства контрацепции (Edelstein et al., 1991). Препараты, получаемые из магайнинов для лечения больных язвами диабетической стопы, выпускала компания Magainin Pharmaceuticals (в последствии – Genaera) (Moore, 2003).

Из высушенных шкурок австралийской *Ranoidea caerulea* получают церулеин – олигопептид, являющийся мощным анальгетиком, а также стимулирующий гладкую мускулатуру пищеварительного тракта и увеличивающий секрецию желудка, желчевыводящих путей и поджелудочной железы (Anastasi et al., 1967; De Caro et al., 1998). Данный пептид используется при паралитической кишечной непроходимости и при нарушении функций поджелудочной железы, а также для индукции панкреатита у экспериментальных животных (Zaninovic et al., 2000; Kim, 2008). Также утверждалось, что церулеин может облегчать состояние больных хронической шизофренией (Moroji et al., 1982; Watanabe et al., 1984), однако в дальнейшем это не получило подтверждения (Hommer et al., 1984). В настоящее время церулеин доступен в синтетической форме под торговыми названиями Ceruletid, Takus, Ceosunin, Cerulex and Tymtran (Tyler et al., 2007).

Другим мощным анальгетиком (в 200–400 раз мощнее морфина) является эпибатидин, полученный из кожи эквадорской *Eripedobates tricolor* (Spande et al., 1992). Любопытно, что после применения препаратов на основе эпибатидина налоксон (антагонист по действию) не восстанавливал болевой чувствительности лабораторных мышей (Elguero et al., 1996). Эпибатидин был

охарактеризован как очень сильный агонист никотиновых рецепторов ацетилхолина, однако проблемы, связанные с токсичностью данного пептида (онемение и в дальнейшем – паралич), ограничивают его системное использование (Shen, 1995).

В последние годы изучались потенциальные фармацевтические эффекты буфадиенолидов, содержащихся в токсинах жаб (Qi et al., 2014). Несколько исследований продемонстрировали, что они оказывают действие на ингибирование роста различных опухолевых клеток, индуцируя остановку клеточного цикла, апоптоз и регулируя экспрессию генов/белков, связанных со злокачественными новообразованиями, в раковых клетках человека (Yu et al., 2008; Dong et al., 2011; Moreno et al., 2013; Yuan et al., 2016). Буфалин является основным соединением в буфотоксине таких видов жаб, как *R. marina* (Qi et al., 2018). Несколько исследований продемонстрировали его противовоспалительные и противоопухолевые эффекты посредством ингибирования пути NF-κB, который является решающим путем как в воспалении, так и в борьбе с раком (Karin, 2009; Yin et al., 2012; Qi et al., 2014). Цинобуфагин ингибировал рост рака толстой кишки, предстательной железы, кожи и легких (Qi et al., 2018). Аренобуфагин действует против роста плоскоклеточного рака пищевода (ESCC) (Qi et al., 2018). Это исследование также показало избирательный эффект, убивающий опухолевые клетки, и низкую токсичность по отношению к Her-1A нормальным плоским клеткам пищевода человека. Было показано, что телоцинобуфагин и маринобуфагин, выделенные из кожных выделений бразильской жабы *Rhinella rubescens*, проявляют антимикробную активность и ингибирующее действие в отношении золотистого стафилококка и кишечной палочки (Qi et al., 2018).

Одним из традиционных китайских лекарственных средств для борьбы с онкологическими заболеваниями является Чань Су (Chan Su), которое производится из секрета паротид местных жаб, таких как *Bufo gargarizans* и *Duttaphrynus melanostictus*. Было установлено, что буфадиенолиды, входящие в

состав препарата, являются ингибиторами нескольких линий раковых клеток: KB, HL-60 и МН-60 (Nogawa et al., 2001). Эксперименты, проведенные на беременных лабораторных мышах, показали, что сухой препарат в дозе более 50 мг / кг массы тела вызывает снижение массы и числа структурных аномалий печени и почек, но увеличивает число резорбированных и погибших плодов, не вызывая аномалий в развитии последних (Chan et al., 1995).

Спинелли с соавторами (Spinelli et al., 2019; 2021) продемонстрировали эффективность экстрактов из кожи трех видов земноводных (*Boana cordobae*, *Pseudis minuta* и *Rhinella arenarum*) в качестве обратимых ингибиторов ферментов ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы. Кроме того, эти препараты ингибируют ферменты АСhЕ, ВСhЕ и МАО-В и проявляют антиоксидантную активность, предупреждая развитие болезни Альцгеймера (Spinelli et al., 2021, 2022). Этот же коллектив авторов (Spinelli et al., 2020) изучил цитотоксическую и антипролиферативную активность одиннадцати видов амфибий трех семейств (Microhylidae, Hylidae и Leptodactylidae) в отношении моноцитов ТНР-1 и макрофагов ТНР-1 клеточных линий острого моноцитарного лейкоза. Оцениваемые виды показали выраженное вредное воздействие на клеточные линии острого моноцитарного лейкоза ТНР-1, снижая пролиферацию клеток и вызывая апоптоз, аутофагию и, в некоторых случаях, агрегацию клеток.

Кожные железы австралийской *Notaden bennettii* при раздражении выделяют секрет, который быстро преобразуется в липкое эластичное твердое вещество («жабий клей»). Этот материал на белковой основе обладает значительной прочностью на сдвиг и разрыв (Graham et al., 2005). Хотя секрет *N. bennettii* содержит стеролы, каротиноиды и другие нежелательные метаболиты, исследования показывают, что структурная матрица затвердевшего клея обладает высокой биосовместимостью. Его открытая пористая структура, вероятно, способствует инфильтрации клеток, а гранулы клея, имплантированные подкожно лабораторным мышам, полностью

резорбировались окружающими тканями в течение двух месяцев. Исследования на овцах показали, что лягушачий клей связывает разрывы мениска сильнее, чем традиционные медицинские клеи на белковой основе. Кроме того, скорость восстановления склеенных сухожилий удваивается при добавлении «жабьего клея» (Graham et al. 2016).

Установлено, что летучие соединения кожных секретов некоторых амфибий обладают выраженным репеллентным действием (Smith et al., 2003, 2004). Так, запах *Ranoidea caerulea* отпугивает кровососущих двукрылых насекомых (Williams et al., 2006), а летучие выделения *Litoria ewingii* не только обладают антимикробным действием, но и являются биорепеллентом против ряда потенциальных хищников и паразитов, включая змей, крыс и комаров (Tyler et al., 2007).

Таким образом, области современного применения и дальнейшие перспективы использования земноводных в хозяйственной деятельности человека очень широки.

Однако, несмотря на превалирование земноводных по видовому богатству (на ноябрь 2022 г. класс насчитывал 8536 видов) (Frost, 2022) и биомассе во многих сухопутных и пресноводных экосистемах (Хейер и др., 2006), они являются наиболее чувствительными к стремительно развивающемуся на Земле экологическому кризису (Blaustein, Wake, 1990). Большинство амфибий в силу сложного двухфазного жизненного цикла, в отличие от других тетрапод, крайне зависят от источников незагрязненных пресных вод и местообитаний с высокой влажностью (Bishop et al., 2012). Существенно повышает уязвимость представителей этой группы перед угрозой антропогенных преобразований их небольшая мобильность и узкоареальность многих видов (Purvis et al., 2000). Наряду с деградацией естественных местообитаний, играющей важнейшую роль в их современном кризисе, способствуют стремительному исчезновению земноводных инвазивные виды животных, а также появление новых заболеваний, химизация сельского

хозяйства, глобальные изменения в климате Земли (Kiesecker et al., 2001; Daszak et al., 2003; Collins, Storfer, 2003; Kats et al., 2003).

Отлов и экспорт лягушек для пищевых целей не только способствовал значительному сокращению их численности во всех странах-импортерах этой продукции (Индия, Бангладеш, Индонезия, Турция и Албания) (Gibbons et al., 2000; Stuart et al., 2004; Wake, Vredenberg, 2008; Warkentin et al., 2009; Grano, 2020), но и стал причиной распространения иридовирусов и хитридиевых грибов, приводящих к исчезновению популяций множества видов амфибий (Chloegel et al., 2009; Grano, 2020).

В связи с вышесказанным, в угрожаемом состоянии находятся популяции 40% известных к настоящему времени видов амфибий, что соотносится с числом угрожаемых видов птиц и млекопитающих вместе взятых (Bishop et al., 2012). Современное глобальное вымирание земноводных по темпам превосходит предыдущие волны исчезновения, пережитые задолго до появления человека (Stuart et al., 2004). Этот тренд был отмечен еще в середине XX в. (Conant, 1958), однако глобальный характер антропогенного вымирания земноводных был осознан существенно позднее (Gallant et al., 2007).

При этом, исчезновение земноводных существенно повлияло на жизнь и здоровье человека. Это связано не только с уменьшением количества белка в питании населения и биологически активных веществ для фармацевтической промышленности. Резко сократился пресс со стороны амфибий на беспозвоночных – вредителей сельского и лесного хозяйств, а также на переносчиков опасных заболеваний человека и домашних животных. Например, уменьшение численности амфибий из-за грибкового патогена *Batrachochytrium dendrobatidis* вызвало волну заболеваемости малярией в Коста-Рике и Панаме (Springborn et al., 2022).

Во многих странах были предприняты существенные усилия для замедления темпов вымирания земноводных, однако они очевидно не были достаточными. В качестве эффективной меры сохранения амфибий указывается

создание воспроизводящихся групп в искусственно созданной среде обитания (Zippel et al., 2011). Также разведение земноводных способствует удовлетворению потребностей пищевой и фармакологической промышленности без изъятия животных из уязвимых природных популяций.

Однако, следует помнить, на фермах по выращиванию земноводных для пищевой индустрии имеют распространение больше число патогенов: хитридиомикоз, лягушачий менингит, асцит, многие бактериальные заболевания (*Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas aeruginosa*) и паразитарные инфекции (*Opalina* sp., *Balantidium* sp., *Trichodina* sp.), которые активно изучаются исследователями со всего мира (Seixas Filho et al., 2019; Thiiputen et al., 2019; Chang et al., 2021). Это обуславливает необходимость строгого санитарного контроля за импортируемой продукцией, получаемой от земноводных, а также развитие собственных хозяйств по культивированию амфибий без необходимости завоза поголовья из-за рубежа.

В связи с вышесказанным, не отстают от мировых трендов и отечественные исследовательские коллективы. Земноводные в России культивируются уже не менее 150 лет (Reiss et al., 2015). Учитывая, что большая часть населения нашей страны традиционно придерживалась религиозно обусловленных запретов на употребление пищи амфибий в пищу, представителей этой группы вначале разводили почти исключительно для научных целей (Воронцова и др., 1952; Марголис, Мантейфель, 1978). В связи с этим, для культивируемых на протяжении ряда поколений в условиях лабораторий видов были характерны способность всех стадий успешно развиваться в водной среде и поедать неживые корма (Кидов и др., 2021). В связи с этим, длительное время батрахокультура в России включала в себя очень небольшое число видов: *Ambystoma mexicanum*, *Pleurodeles waltl*, *Xenopus laevis*, *Hymenochirus boettgeri*, *Pipa carvalhoi*, *X. borealis* (Кидов и др., 2021). Значительно позднее, уже в конце 1980-х гг., к ним присоединились

земноводные из тропических стран – *Kaloula pulchra*, *Nyctimystes infrafrenatus*, *Osteopilus septentrionalis*, *Ranoidea caerulea*. В нашей стране батрахокультура до конца XX в. являлась очень затратной, и, следовательно, практиковалась преимущественно государственными учреждениями (зоопарки и научно-исследовательские институты) с компетентными кадрами и лабораториями для разведения живых кормов.

Самых значительных результатов в культивировании земноводных на первом этапе развития этого направления добилась рабочая группа исследователей (Сербинова, Гончаров, Туниев, Утешев, Шубравый) из нескольких учреждений (Московский зоопарк, Институт биофизики клетки АН СССР, Институт биологии развития АН СССР и Кавказский заповедник). Ими были получены потомства от многих амфибий, занесенных в Красную книгу СССР, отработаны методы гормональной стимуляции размножения (Гончаров и др., 1989; Goncharov et al., 1989). Однако, отсутствие финансирования и внятных перспектив этих работ в период развала СССР обусловило их прекращение.

Только начиная с 2008 г. разработкой технологий культивирования амфибий начали заниматься сотрудники кафедры зоологии РГАУ–МСХА имени К.А. Тимирязева (Кидов, Сербинова, 2008). При этом, главной задачей на новом этапе было создание устойчиво воспроизводящихся группировок земноводных наиболее значимых в природоохранном и хозяйственном значениях. Основной акцент был сделан на разработку простых, дешевых, повторяемых методики содержания, кормления и разведения, которые бы полностью удовлетворяли биологические потребности земноводных (Кидов и др., 2021).

К настоящему времени нами было получено по 2–4 поколения от десятков видов земноводных (Кидов и др., 2014, 2015а, 2015б, 2016, 2017б; Кидов, Матушкина, 2015; Матушкина и др., 2017а, 2017б; Кидов, Немыко, 2018б, 2019а; Kidov et al., 2014; Matushkina et al., 2020, 2022), по результатам

этих исследований были защищены 4 диссертации, сформировалась научная школа (Матушкина, 2016; Дроздова, 2020; Кидова, 2021; Кидов, 2022). Ниже мы представили основные итоги разработки технологий размножения модельных видов амфибий из семейств Salamandridae, Bufonidae, Hylidae, Ranidae.

Для стимуляции размножения хвостатых земноводных (Salamandridae) осуществляют имитацию естественного фотопериода с учетом его годовой динамики (Кидов, Немыко, 2019а, 2019б; Кидов и др., 2018, 2020б). Часто для этого контейнеры с производителями ставят на подоконники на теневой стороне лабораторного помещения. Животные, происходящие из природы, в искусственно созданной среде обитания размножаются только после продолжительного зимнего охлаждения (обычно не менее 2 месяцев при температуре ниже 10°C), а длительное время содержащиеся в неволе или рожденные уже в лаборатории особи откладывают яйца вскоре после снижения температуры ниже 16–18°C. При этом отсутствие зимовки не сказывается на плодовитости самок, однако существенно снижает долю оплодотворенных яиц. Приближающийся период откладки яиц у большинства хвостатых амфибий предваряется увеличением числа линек и увеличением массы производителей (Кидов и др., 2017а). Многие каудаты для откладки яиц нуждаются в субстрате – живых водных растениях или синтетических волокнах. Отложенные яйца из контейнеров выбирают ежедневно. В сравнении с природными условиями, хвостатые земноводные при оптимальных параметрах среды способны значительно увеличивать продолжительность репродуктивного периода за счет смещения сроков откладки первых яиц на зимние месяцы, а нередко – даже на начало осени. В искусственных условиях наблюдается существенная форсификация полового созревания: отдельные самцы достигают половой зрелости в возрасте менее года или полутора, а самки – обычно на полгода-год позднее (Кидов и др., 2019б, 2020а).

У культивируемых бесхвостых амфибий (прежде всего у Bufonidae) первые самцы достигают половой зрелости уже с 6-8 месяцев после метаморфоза, а в годовалом возрасте их можно использовать в разведении (Кидов и др., 2021, 2022а, 2022б; Matushkina et al., 2020). Для самок в неволе характерно созревание через полтора – два года после выходя на сушу. Лабораторное разведение палеарктических (включая все отечественные виды) анура рекомендуется предварять периодом зимнего охлаждения при температуре 3–12°C в течение 3–16 недель в зависимости от вида и упитанности. Амфибий на зимовке содержат на глубокой (7–10 см) увлажненной подстилке, чаще всего из опада дубовой листвы в чистом виде, или в смеси со мхом, для некоторых – на смеси дубовых листьев с речным песком. Для подготовки животных к гибернации необходимо плавное снижение температуры и продолжительности фотопериода. В последующем, во время зимовки, амфибий содержат без доступа света и не кормят.

Контроль за динамикой массы позволяет оценить состояние животных (Кидов и др., 2014, 2018а; Матушкина и др., 2021). Обычно за первый месяц гибернации потери массы составляют по 2–3% еженедельно, в дальнейшем масса стабилизируется и снижается в среднем на 1% в неделю. Общие потери массы за весь период охлаждения не должны превышать 10–20% в зависимости от упитанности животных и возраста. Наибольшие потери массы характерны для молоди в первый год жизни.

Нормально зимующие животные закапываются в субстрат, где неподвижно сидят с полуприкрытыми глазами. Снижение уровня влажности и пересыхание субстрата приводит к резкому снижению массы, поэтому в зимовальный контейнер помещают лоток с водой. В конце зимовки следует в течение 2–3 дней постепенно повышать температуру до 10–12°C. Земноводные при достижении температурой этих значений уже передвигаются по зимовальному контейнеру, вокализируют, линяют. Как правило, эти признаки служат сигналом, что животные готовы к размножению (Кидов и др., 2021).

Отсутствие зимнего охлаждения не препятствует получению потомства, но обуславливает снижение плодовитости, доли оплодотворенных яиц и размеров зародыша (Кидов и др., 2022б). Пары или группы производителей с преобладанием самцов сразу или спустя 3–10 суток после окончания зимовки, обычно вечером, высаживают в нерестовые контейнеры. Большинство палеарктических анур в период икрометания нуждаются в пониженных температурах (обычно до 16°C), однако отдельные виды успешно размножаются при температуре воды до 22°C (Кидов и др., 2022а, 2022б).

Несмотря на широкое применение астатичных режимов для получения потомства от амфибий в лабораторных условиях, при осуществлении этих мероприятий потомство для ряда видов удавалось получать неежегодно, нередко наблюдалась асинхронизация в репродуктивном поведении самцов и самок. Эти проблемы устраняются путем инвазийной стимуляции размножения при помощи гормональных препаратов. Наибольшего распространения для форсификации созревания половых продуктов и индукции полового поведения земноводных в искусственных условиях в России получило применение раствора сурфагона (Гончаров и др., 1989). Уже в конце 1980-х – начале 1990-х гг. этот препарат применялся для получения потомства многих уязвимых земноводных в фауне России и соседних стран (*Lissotriton montandoni*, *Ichthyosaura alpestris*, *Ommatotriton ophryticus*, *Pelobates syriacus*, *Pelodytes caucasicus*, *Bufo verrucosissimus*, *Epidalea calamita*) (Goncharov et al., 1989). В последующем, опыт использования сурфагона был перенесен и на другие палеарктические виды, включая тривиальные (*Lissotriton vulgaris*, *Triturus cristatus*, *Bufo viridis*, *Rana temporaria*) (Утешев и др., 2013б). Применение инъекций этого гормонального препарата позволило исследователям получить потомство также и от десятков тропических видов земноводных.

Гормональная стимуляция размножения предоставляет широкие возможности круглогодичного получения потомства земноводных для самых разных целей: экспериментальных исследований, сохранения угрожаемых

видов, коммерческого выращивания. При этом, на начальном этапе, каждый исследовательский коллектив модернизировал методику стимуляции сурфагоном для своего объекта и условий. Происходила оптимизация доз применения и локализации инъекций. Если в первых исследованиях бесхвостым земноводным раствор сурфагона вводили в брюшную полость или под кожу спины, то в последующем наиболее часто использовали подмышечные и паховые лимфатические полости (Кидов и др., 2015б).

Было выявлено, что стимуляция размножения земноводных сурфагоном имеет свои особенности для разных систематических групп и условий икрометания (Кидов и др., 2021).

Тропические бесхвостые земноводные, откладывающие яйца одной порцией при относительно высокой температуре воды (например, настоящие жабы *Duttaphrynus melanostictus*, *Ingerophrynus galeatus*, *Peltophryne empusa*, *P. peltocephala*, *Rhinella marina*, *Sclerophrys gutturalis*, *S. garmani*, *Schismaderma carens*), для ускорения созревания половых продуктов и икрометания, нуждаются в однократной инъекции с минимальной дозой препарата (5 – 25 мкг на одно животное). Стоит отметить, что при использовании гормональных инъекций, этим животным не требуется никакая дополнительная стимуляция размножения: упитанных здоровых животных просто помещают в воду требуемой температуры и производят инъекцию. Обычно у тропических видов репродуктивное поведение (вокализация самцов и образование амplexуса) могут отмечаться уже в первые часы после гормональной стимуляции, а икрометание обычно – уже в первые 12 часов (Кидов и др., 2017б). Чаще всего инъекцию сурфагона осуществляют вечером, чтобы животные, как в большинстве случаев в природе, откладывали яйца в темное время суток.

Бесхвостых амфибий умеренных широт после зимовки высаживают в воду и осуществляют инъекцию сурфагоном (обычно от 12,5 до 100 мкг на одно животное). В подавляющем большинстве случаев для успешного размножения зимующих видов требуется две и более инъекций с интервалом в 12–24 ч.

Икрометание наступает редко на второй день после первой инъекции, а чаще – через 2 – 3, а в некоторых случаях – даже через 7 суток.

Важно отметить, что у разводимых в искусственных условиях при помощи гормональных инъекций видов бесхвостых земноводных число яиц в кладке, доля развивающихся яиц и выживаемость молодняка обычно не имеют отличий от потомств, полученных с помощью имитации природной смены сезонов (Кидов, Матушкина, 2015; Кидов и др., 2014; Kidov et al., 2014).

В искусственном размножении хвостатых земноводных гормональная стимуляция осуществлялась редко (Утешев и др., 2013а; Кидов, Немыко, 2019а; Кидов и др., 2019а). Вероятно, это связано с тем, что большинство культивируемых видов этого отряда могут быть размножены и без нее. В то же время, при имитации природной астатичности в лабораторных условиях зачастую не все самки принимают участие в размножении. К тому же для многих Caudata характерно порционное икрометание, а также сильно растянутый репродуктивный сезон. Нередко разные самки в группе приступают к откладке яиц с разницей в несколько месяцев (Kidov et al., 2016; Кидов, Немыко, 2018; Кидов и др., 2017г). Это усложняет получение потомства в фиксированные сроки, что важно для экспериментальных исследований и коммерческого разведения.

К этому стоит добавить, что полученные из природы хвостатые земноводные нередко требуют длительного периода адаптации и часто не приступают к размножению в первый после поимки год.

В указанных выше случаях гормональная стимуляция позволяет упростить получение потомства от каудат в фиксированные сроки. Хвостатым земноводным для индукции размножения обычно с интервалом в сутки делают 2 – 3 инъекции в брюшную полость. Самцы западно-палеарктических тритонов из родов *Lissotriton*, *Ommatotriton*, *Triturus* и *Ichthyosaura* начинают демонстрировать половое поведение уже в первые часы после инъекции, а самки откладывают яйца уже со вторых суток. Следует отметить, что при

гормональной стимуляции у тритонов доля развивающихся яиц обычно ниже, чем при естественном нересте (Кидов, Немыко, 2019а; Кидов и др., 2019а).

При круглогодичном выращивании земноводных в закрытых помещениях с искусственно поддерживаемыми параметрами среды обычно используют дешевые и легкие полиуретановые контейнеры, снабженные крышками и съемными защелками. Срок службы контейнеров для выращивания амфибий составляет не менее 5–6 лет. В крышках контейнеров прорезают вентиляционные и технологические отверстия.

Технология выращивания земноводных в водной фазе не предусматривает использования грунта, что существенно облегчает уборку контейнеров. В наземной фазе жизни субстрат необходим для всех видов амфибий, так как он препятствует повреждению покровов, снижает воздействие экзометаболитов, удерживает влагу, служит убежищем. В качестве грунта для всех амфибий мы используем увлажненные полотна из смеси вискозы и полиэфирного волокна. В зависимости от плотности посадки, размеров животных и интенсивности кормления, субстрат промывают в проточной воде 1–4 раза в неделю и полностью заменяют каждые 1–2 месяца. Субстрат после промывки необходимо тщательно отжимать или подсушивать, так как его замокание приводит к гибели животных, особенно молоди.

Для взрослых животных источниками воды обычно служат различные по размерам лотки или кюветы, для животных после метаморфоза – чашки Петри. Масса кюветы не должна позволить амфибиям двигать ее. Замена воды для взрослых животных осуществляется обычно дважды в неделю или через день, для молоди – ежедневно.

Укрытия целесообразно использовать при содержании земноводных в наземную фазу жизни. Наиболее распространены небольшие убежища из растительных материалов, однако они нуждаются в еженедельной обработке горячей водой с моющими средствами и последующей сушке. Каменные и керамические укрытия из-за их большой массы могут придавливать молодых

амфибий, приводить к травмам и гибели. Рожденные в неволе амфибии зачастую не пользуются убежищами, что позволяет от них отказаться.

При выращивании личинок, содержании молоди и взрослых в наземную фазу применяем только общее освещение помещения люминесцентными лампами в течение 9–10 ч в сутки. Контейнеры с хвостатыми земноводными на суше устанавливаются на стеллажи таким образом, чтобы большая часть их площади находилась в тени.

Характерной чертой питания взрослых земноводных всех трех отрядов является исключительная животность, причем для наземных фаз характерно поедание только подвижных кормовых объектов. Личинки всех хвостатых и безногих амфибий, а также некоторых видов бесхвостых также питаются только животными кормами. Животные (и особенно живые) корма значительно усложняют и удорожают культивирование земноводных. В этой связи, важнейшим направлением исследований земноводных является разработка физиологически и экономически обоснованных норм и рационов кормления. Разнообразие трофических предпочтений в пределах широкой систематической группы амфибий не позволяет рекомендовать одни и те же рационы для всего класса. Современные исследования показывают (Дроздова и др., 2015; Дроздова, Кидов, 2020; Кидов и др., 2017в; Матушкина и др., 2020а), что для каждой половозрастной группы каждого вида амфибий характерны свои физиологически обусловленные пищевые потребности.

Хотя некоторые авторы рекомендуют для полноценного удовлетворения кормовых потребностей земноводных использовать корма из природы (Poole, Grow, 2008), это затруднено ввиду сложности добычи необходимой биомассы и небезопасностью для разводимых животных (паразиты, зоонозы, зараженность химикатами и т.д.).

В отличие от животных, содержащихся в искусственных условиях, земноводные в естественной среде обитания имеют более широкий, в плане видового разнообразия беспозвоночных, спектр питания с довольно

изменчивым составом питательных веществ. Непостоянство химического состава беспозвоночных в естественной среде обитания обеспечивается не только за счет разнообразной кормовой базы, но и из-за налипания частиц субстрата, пыльцы и т.д. на экзоскелет. Культивирование кормовых беспозвоночных для кормления амфибий ограничивается в самом лучшем случае 20–30 видами, что значительно обедняет их рацион по сравнению с конспецификами из природы (Strzelewicz et al., 1985).

В России в настоящее время существуют несколько культур беспозвоночных для кормления земноводных, например: *Enchytraeus buchholzi*, *E. albidus*, *Eisenia fetida*, *Acheta domesticus*, *Gryllus bimaculatus*, *Gryllus locorojo*, *Zophobas morio*, *Galleria mellonella*, *Achroia grisella*, *Tenebrio molitor*, *Locusta migratoria*, *Nauphoeta cinerea*, *Shelfordella lateralis*, *Gromphadorhina portetosa*, *Periplaneta americana*, *Blaptica dubia*, *Blatta orientalis* и другие.

В качестве стартового корма для личинок хвостатых земноводных используют науплиусов *Artemia salina*, полученными из сухих цист (Немыко и др., 2019а, 2019б). В последующем, по мере роста, личинки начинают поедать более крупные корма – размороженных личинок хирономид (мотыль). Обычно личинок кормят вволю 1–2 раза в сутки, сразу после подмены 1/2 – 2/3 объема воды на отстоянную той же температуры. Для видов, которые могут проходить метаморфоз и весь последующий период жить в воде, мотыль может являться основным кормом всю жизнь, однако это приводит к удорожанию содержания. Обычно в рацион животных в воде после метаморфоза начинают добавлять измельченные и промытые в проточной воде мышечную ткань рыбы, птицы и млекопитающих. В период размножения и перед зимовкой хвостатым земноводным предлагают также *Eisenia fetida* и личинок *Galleria mellonella*.

Для хвостатых амфибий, у которых метаморфоз завершается при выходе на сушу (*Hynobius*, *Salamandrella*, *Lissotriton*, *Ommatotriton*, *Salamandra* и др.), стартовым кормом в наземный период жизни служат личинки первых возрастов *Acheta domesticus* и *Gryllus bimaculatus*, а в последующем в рацион вводят

личинок *Shelfordella lateralis*. Корма в контейнерах должны находиться постоянно.

Для личинок большинства бесхвостых земноводных весь период выращивания основным кормом являются полнорационные комбикорма для рыб, например – «Sera Vipran» (производитель – Sera GmbH, Германия) и «Tetra Marine Flakes» (производитель – Tetra GmbH, Германия) (Африн и др., 2020а, 2020б; Кидов и др., 2020в; Матушкина и др., 2020б). Личинки многих видов могут питаться только этими кормами от начала экзогенного питания до метаморфоза, однако для некоторых необходимо дополнительно вводить в рацион ошпаренные кипятком листья шпината и крапивы, а также желток сваренного вкрутую куриного яйца. Корма задают в избытке ежедневно. После выхода на сушу, молодые бесхвостые исключительно животнойны и питаются обычно только подвижными кормами. Однако, молодь ряда видов можно легко приучить есть неподвижные корма, включая искусственные смеси (Кидов и др., 2021). Все кормовые объекты, предлагаемые хвостатым и бесхвостым земноводным в наземный период, перед скармливанием припудривают порошком кормового мела.

В заключение обзора необходимо отметить, что главным препятствием для внедрения технологий полноциклического культивирования земноводных в нашей стране является отсутствие научно обоснованных норм и рационов кормления для большинства хозяйственно ценных видов. В связи с этим, большинство предприятий идут по пути изъятия животных из природы, подрывая численность популяций. Частично решить эту проблему могло бы сочетание искусственного воспроизводства (содержание и разведение производителей, инкубация яиц и выращивание личинок до метаморфоза в искусственно созданной среде обитания) и дорастивание молоди до товарного размера в открытых водоемах, включая естественные и искусственные. Для дальнейшего развития батрахокультуры в России необходим поиск новых

кормовых объектов, обладающих высокой пищевой ценностью, простотой и дешевой культивирования, высокой скоростью прироста биомассы.