

УДК 591.132:592:577.15

ВЛИЯНИЕ ЖИВОГО КОРМА НА АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА И СОСТАВ КРОВИ У СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS* (L.)

© 2018 Е.Г. Скворцова¹, А.А. Богданова^{2,1}, В.В. Кузьмина^{3,1}¹ Ярославская государственная сельскохозяйственная академия² Ярославский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства – филиал ФГБНУ «ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса»³ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок Некоузского р-на Ярославской обл.

Статья поступила в редакцию 09.10.2018

Работа проведена базе кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА. Исследовано влияние добавок к комбикорму личинок хирономид *Chironomus sp.* на активность пептидаз слизистой оболочки и содержимого пищеварительного тракта, а также состав крови клинически здоровых годовиков стерляди *Acipenser ruthenus* (L.). Молодь стерляди была получена из икры на ООО «Рыбоводный завод Ярославский» и доставлена в ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА в январе 2017 г. Рыбы содержались в бассейне объемом 7 м³. В качестве корма рыбы ежедневно получали комбикорм марки Sorrens (SteCo PRIME-17), 3 % от массы тела. Плотность посадки – 4,3 экз./м². Основные гидрохимические параметры воды соответствовали рыбохозяйственным нормативам: температура воды 18–20 °С, pH – 7,1–7,5, содержание кислорода – 3,5–10 мл/л. Опыты по влиянию живого корма (1 и 2%) на морфологические и физиолого-биохимические показатели рыб проводили с 1 июля по 18 августа 2017 г. Сразу после вылова у 5 экз. рыб, рассматриваемых в качестве контроля, из хвостовых сосудов отбирали кровь в пробирки, содержащие раствор ЭДТА-К2 и быстро проводили морфометрический анализ. Затем изымали висцеральные органы. После этого 1% массы комбикорма заменили равным количеством личинок хирономид *Chironomus sp.* 19-го июля был проведен морфометрический анализ и взяты пробы тканей у 5 экз. рыб, рассматриваемых в качестве опыта. Затем количество вводимых в корм хирономид увеличили до 2%. 18-го августа был проведен морфометрический анализ и взяты пробы тканей 5 экз. рыб. В результате замены 1% и 2% массы комбикорма личинками хирономид наблюдалось увеличение по сравнению с контролем массы тела и обеспеченности рыб пептидазами от 29,1 до 36,6 мкмоль/мин. При этом количество лейкоцитов возрастало от 35,2 до 42,8 тыс./мкл, число лимфоцитов – от 79,0 до 89,0%. Полученные данные указывают стойкую тенденцию улучшения процессов пищеварения и физиологического состояния стерляди, что свидетельствует о целесообразности включения живых кормов, в частности личинок хирономид, в качестве добавки к комбикормам. **Ключевые слова:** стерлядь, пептидазы, желудок, кишечник, личинки хирономид, слизистая оболочка, химус, состав крови.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минсельхоза РФ (тема № АААА-А16-116090850007-7) и ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690102-9).

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия ихтиофауна большинства водоемов Планеты подвергается значительному антропогенному стрессу. Загрязня-

Скворцова Елена Гамеровна, кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой зоотехнии ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА.

E-mail: e.skvorcova@yarscx.ru

Богданова Алёна Андреевна, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник отдела технологий животноводства Ярославского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства – филиала ФГБНУ «ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса».

E-mail: bogdanova@yarscx.ru

Кузьмина Виктория Вадимовна, доктор наук, профессор, г.н.с. лаб. экологии рыб Института биологии внутренних вод РАН.

E-mail: vkuzmina@ibiv.yaroslavl.ru

ющие вещества оказывают негативное влияние на морфологию, биохимические и физиологические процессы, а также пищевое поведение, размножение, развитие, рост и выживаемость рыб (Alabaster, Lloyd, 1980; Лукьяненко, 1983; Moore, Ramamoorthy, 1984; Флеров, 1989; Высоцкая, Немова, 2004; Scheuhammer et al., 2007; Кузьмина, 2008; Flint et al., 2012; Corrales et al., 2015). Помимо этого, поллютанты вызывают у рыб стресс-реакцию (Кузьмина, 2008). Это обстоятельство настоятельно требует увеличения товарного воспроизводства рыб за счет активного развития аквакультуры. Ранее основными объектами аквакультуры в нашей стране были карп (Щербина, Гамыгин, 2006) и форель (Остроумова, 2012). Однако в настоящее время наибольшей опасности подвергаются рыбы реликтового сем. осетровых *Acipenseridae*, находящиеся на грани полного исчезновения.

Вследствие этого предпринимаются меры для восстановления и увеличения популяций осетровых рыб, а также увеличения их воспроизводства в условиях аквакультуры (Гераскин, 2006; Рамазанова, Абдуллаева, 2017). При этом особое внимание уделяется изучению состава кормов и процессов пищеварения у рыб этого семейства (Неваленный и др., 2003; Бедняков и др., 2011; Бедняков, 2014).

Одним из важнейших объектов рыборазведения является стерлядь – наиболее скороспелый вид осетровых (Бедняков, 2014; Рамазанова, Абдуллаева, 2017), некогда широко распространенный в бассейнах Черного, Каспийского и Балтийского морей (Никольский, 1954). Вместе с тем сведения об активности ферментов, реализующих процессы пищеварения у стерляди, фрагментарны (Кузьмина, Кузьмина, 1991; Бедняков, 2014; Кузьмина и др., 2015). Поскольку наибольшую роль в процессах пищеварения играет протеолиз (ферментативный гидролиз амидных связей в белках и пептидах), наибольшую роль в гидролизе и ассимиляции белковых компонентов играют пептидазы пищеварительного тракта рыб, объектов их питания и энтеральной микробиоты (Barrington, 1957; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005; 2015; Bakke et al., 2011). Как известно, активность протеолитических ферментов у рыб разных видов различна и в значительной мере зависит от спектра питания и состава пищи. В последнее время большое значение придается вкладу в процессы пищеварения ферментов объектов питания рыб (Kuz'mina, 2008). Однако сведения, касающиеся добавок живого корма на комплекс физиолого-биохимических показателей стерляди, выращиваемой в условиях аквакультуры, в доступной литературе отсутствуют. Вместе с тем об эффективности добавок живых кормов можно судить не только по активности пищеварительных гидролаз, но и по гематологическим показателям, отражающим изменения, происходящие в организме и помогающие оценить полноценность кормов (Житенева и др., 1989; Рыжков и др., 1998; Бахарев и др., 2015; Рамазанова, Абдуллаева, 2017).

Цель работы состояла в изучении влияния добавок живого корма на активность пептидаз, гидролизующих белковые компоненты корма рыб, а также гематологические показатели стерляди, выращиваемой в экспериментальных условиях.

МЕТОДИКА

Работа проведена в лаб. мониторинга и контроля качества и на базе кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА в течение 2017 г. Объект исследования – клинически здоровые годовики стерляди *Acipenser ruthenus* L. Молодь стерляди была получена из икры на ООО «Ры-

боводный завод Ярославский» и доставлена в ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА в январе 2017 г. Рыбы содержались в бассейне объемом 7 м³. 1/10 часть воды ежедневно заменяли на свежую. Температура воды 18 ± 2 °С. В качестве корма рыбы ежедневно получали комбикорм марки Coppens (SteCo PRIME-17), 3 % от массы тела. Плотность посадки – 4,3 экз./м². Основные гидрохимические параметры воды соответствовали рыбохозяйственным нормативам: температура воды 16–20 °С, pH – 7,1–7,5, содержание кислорода – 3,5–10 мл/л.

Опыты по влиянию живого корма на физиолого-биохимические показатели начались 1 июля. Сразу после вылова у 5 экз. рыб, рассматриваемых в качестве контроля, из хвостовых сосудов отбирали кровь в пробирки, содержащие раствор антикоагулянта ЭДТА-К2 (этилендиаминтетраацетат) с концентрацией 1.95 мг ЭДТА-К2 на 1 мл крови. Затем быстро проводили морфометрический анализ и изымали висцеральные органы, которые помещали в морозильную камеру, где они хранились в течение 2-х суток при температуре -20°С. После этого 1% массы комбикорма заменили равным количеством личинок хирономид *Chironomus sp.* массой 4,4 мг. 19-го июля был снова проведен морфометрический анализ и взяты пробы тканей у 5 экз. рыб, рассматриваемых в качестве опыта. Затем количество вводимых в корм хирономид увеличили до 2%. Корм такого состава рыбы получали в течение 1-го месяца. 18-го августа снова был проведен морфометрический анализ и взяты пробы тканей 5 экз. рыб, рассматриваемых в качестве опыта.

Для определения активности пептидаз пищеварительный тракт размораживали, помещали на ледяную баню и освобождали от жира. Отделяли желудок от кишечника. После этого желудок и кишечник разрезали вдоль и изымали содержимое (химус). Слизистую оболочку желудка и кишечника, а также содержимое желудка и химус тщательно перемешивали и брали аликвоту для приготовления гомогенатов. Гомогенаты готовили при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный до 2–4°С раствор Рингера для холоднокровных животных (109 mM NaCl, 1.9 mM KCl, 1.1 mM CaCl₂, 1.2 mM NaHCO₃, pH 3,0 или 7,4) в соотношении 1:99. После этого pH гомогената доводили до соответствующих значений (для желудка 3,0, для кишечника 7,4) при помощи pH-метра марки рХ-150МИ.

Активность пептидаз (ОПА) содержимого и слизистой оболочки желудка (преимущественно активность пепсина КФ 3.4.23.1), а также химуса и слизистой оболочки кишечника (преимущественно активность трипсина КФ 3.4.21.4 и химотрипсина, КФ 3.4.21.1) определяли с использованием реактива Фолина-Чиокальтеу

(Anson, 1938). Для определения ОПА слизистой оболочки и содержимого желудка в качестве субстрата использовали 1% раствор гемоглобина (рН 3,0). Для определения ОПА в химусе и слизистой оболочке кишечника использовали 1% раствор казеина (рН 7,4), приготовленный на том же растворе Рингера. Гомогенаты и субстрат инкубировали при 20 °С в течение 30 мин при непрерывном перемешивании. Активность ферментов в каждой пробе определяли в двух повторностях. Для каждой пробы измеряли фон – количество ароматических аминокислот в навеске ткани. Об уровне ферментативной активности судили по приросту продуктов реакции за 1 мин инкубации субстрата и ферментативно активного препарата с учетом фона (количество ароматических аминокислот, преимущественно тирозин) в расчете на 1 г сырой массы ткани, мкмоль/(г.мин). Количество продуктов реакции определяли при помощи фотоэлектроколориметра КФК-2 (длина волны 670 нм). Обеспеченность ферментами рассчитывали, используя суммарную активность пептидаз в желудке и кишечнике по отношению к массе тела (Строганов, Бузинова, 1970).

Гематологический анализ проводили по следующим показателям: подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов, определение содержания гематокрита, подсчет лейкоцитарной формулы. Состав и соотношение лейкоцитов изучали на мазках крови и мазках кроветворных органов, которые фиксировали этиловым спиртом. Для определения соотношения лейкоцитов мазки окрашивали азур-эозином по Романовскому (1 капля основного раствора на 1 см³ дистиллированной воды, рН 6.8–7.0). При идентификации лейкоцитов использовали «Атлас клеток крови рыб» (Иванова, 1982). Под микроскопом МИКМЕД-6 на каждом мазке крови подсчитывали 200 клеток, выделяя лимфоциты, моноциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы, промиелоциты, ми-

елоциты, метамиелоциты; на мазках-отпечатках органов почек, селезенки и печени подсчитывали 200 клеток, выделяя: гемоцитобласты, лимфоциты, плазмоциты, макрофаги, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы. Количество лейкоцитов и эритроцитов подсчитывали в камере Горяева под микроскопом МИКМЕД-6 по стандартным методикам. Гематокрит определяли стандартным методом с использованием пипеток Панченкова в 100 мкл цельной крови (Кондрахин, 2004).

Данные обрабатывали статистически с использованием приложения EXCEL программы MS Office'XP. Достоверность различий результатов (средняя и ошибка среднего) оценивали по критерию Стьюденту для малых выборок при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Масса и длина годовиков стерляди недостоверно увеличилась после введения в корм рыб 1% личинок хирономид (табл. 1). После увеличения содержания в корме личинок хирономид до 2% масса увеличилась незначительно, длина и обхват рыб сохранились на прежнем уровне.

Масса и длина желудочно-кишечного тракта стерляди увеличивается в большей степени, чем аналогичные показатели тушки рыб (табл. 2). При этом наибольший прирост, как и в случае тушек, в большинстве случаев наблюдается в первый срок наблюдения. Исключение одно – масса кишечника. Если большую массу кишечника с химусом можно объяснить переходом содержимого желудка в кишечник, то увеличение второго показателя не оставляет сомнения в увеличении массы стенки кишечника.

Вычисление индекса желудочно-кишечного тракта стерляди (отношении массы желудочно-кишечного тракта, а также желудка и кишечника, к массе тушки или порки) не позволило выявить существенные различия ни между кон-

Таблица 1. Морфометрические показатели стерляди, n = 5

Дата	Масса рыбы, г	Масса порки, г	Длина рыбы, см	Обхват рыбы, см
01.07.2017	145±15,7	126±14,1	29,6±1,8	11,6±1,0
19.07.2017	168±22,2	141±18,8	36,0±1,3	12,5±0,6
18.08.2017	176±24,1	149±21,5	36,6±2,3	12,0±0,8

Таблица 2. Масса и длина желудочно-кишечного тракта стерляди, n=5

Дата	Масса ЖКТ, г		Длина ЖКТ, см	Масса желудка, г		Масса кишечника, г	
	1	2		1	2	1	2
01.07.2017	10,2±0,7	3,5±0,4	19,6±0,7	4,7±0,7	1,3±0,3	3,8±0,4	2,2±0,3
19.07.2017	13,6±3,0	4,5±0,7	24,1±1,0	5,2±0,5	2,4±0,5	3,7±0,5	2,1±0,4
18.08.2017	14,0±1,3	4,9±0,5	26,6±1,2	4,0±0,3	1,6±0,3	5,9±1,1	3,5±0,6

Примечание. Здесь и в табл. 3: 1 – масса органа с содержимым (химусом), 2 – масса органа без содержимого (химуса)

тролем и опытом, ни между данными двух измерений опыта. Индекс желудочно-кишечного тракта стерляди в случае порки равен $0,03 \pm 0,004$ и $0,03 \pm 0,003$, желудка – $0,01 \pm 0,003$ и $0,01 \pm 0,002$, кишечника – $0,01 \pm 0,002$ и $0,02 \pm 0,003$,

Протеолитическая активность гемоглиб-литических пептидаз содержимого и слизистой желудка также увеличивается в первый срок наблюдения и практически не изменяется во второй (табл. 3). В кишечнике, напротив, в большей степени изменяются во второй срок наблюдения.

Вместе с тем по мере увеличения массы рыб наблюдается последовательное увеличения активности пептидаз и в желудке, и в кишечнике: 10,7, 12,5 и 12,7, а также 9,6, 10,4 и 14,9 мкмоль/(г·мин). При пересчете на 1 кг массы тела активности пептидаз во всем органе наиболее значительно увеличиваются значения ОПА желудка с содержимым. При этом наблюдается снижение показателя к концу эксперимента. ОПА в кишечнике в расчете на 1 кг массы тела рыб, напротив, в конце опыта увеличивается. Суммарные значения ОПА в желудке максимальны у рыб, получавших 1% личинок хирономид, в кишечнике – 2% личинок хирономид. Суммарная активность пептидаз в желудке и кишечнике, рассматриваемая, как обеспеченность рыб ферментами (Строганов, Бузинова, 1970), последовательно увеличивается, наиболее значительно при включении в корм 2% личинок хирономид: 29,1 мкмоль/мин (контроль), 29,5 мкмоль/мин (1%) и 36,6 мкмоль/мин (2%).

Гематологические показатели крови стерляди (табл. 4) варьируют в пределах нормы для данного вида рыб (Сырбулов, 2003; Лепилина и др., 2006). Важно отметить достоверное увеличение по сравнению с контролем количества лейкоцитов в крови рыб опытных групп стерляди, получавших дополнительно к основному рациону личинок хирономид, что может указывать на улучшение их физиологического состояния.

Состав и соотношение лейкоцитов в крови стерляди свидетельствует о не зависящем от состава корма лимфоидном характере (табл. 5). Второе место по численности занимают нейтрофилы, среди которых преобладают сегментоядерные формы. Незрелые гранулоциты (промиелоциты и миелоциты) в крови не выявлены. Важно отметить стойкую тенденцию к увеличению количества метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов.

Полученные значения лейкоцитов характерны для рыб сем. осетровых (Лепилина и др., 2006; Рамазанова, Абдуллаева, 2017). Состав и соотношение лейкоцитов, характеризующих состояние клеточного звена неспецифического иммунитета (Житенева и др., 2001; Гордеев и др., 2017), а также преобладание зрелых форм гранулоцитов в периферической крови рыб свидетельствует о нормальном протекании физиологических процессах организма у всех групп стерляди (Житенева и др., 2001, Кузина, 2011).

Изучение состава и соотношения лейкоцитов в кроветворных органах (мезонефросе, селе-

Таблица 3. Активность пептидаз в желудке и кишечнике стерляди, n=5

Дата	Масса, г		ОПА, мкмоль/(г·мин)		ОПА в расчете на 1 кг массы тела рыб, мкмоль/мин		ОПА*
	1	2	1	2	1	2	
01.07.2017	<u>3,5±0,7</u>	<u>1,1±0,2</u>	<u>5,5±0,5</u>	<u>5,2±0,5</u>	<u>13,3±0,3,5</u>	<u>4,0±0,2</u>	<u>17,3±0,3</u>
	1,5±0,3	2,1±0,3	5,1±0,5	4,5±0,3	5,3±0,2	6,5±0,4	11,8±0,2
19.07.2017	<u>2,8±0,7</u>	<u>2,2±0,5</u>	<u>5,9±0,6</u>	<u>6,6±0,5</u>	<u>9,8±0,2</u>	<u>8,6±0,3</u>	<u>18,5±0,2</u>
	1,6±0,2	2,0±0,4	5,6±0,6	4,8±0,4	5,3±0,3	5,7±0,3	11,0±0,2
18.08.2017	<u>2,3±0,3</u>	<u>1,4±0,4</u>	<u>6,0±0,5</u>	<u>6,7±0,3</u>	<u>7,8±0,3</u>	<u>5,3±0,2</u>	<u>13,2±0,4</u>
	2,4±0,5	3,2±0,5	8,0±0,5	6,9±0,3	10,9±0,1	12,6±0,3	23,5±0,3

Примечание. 1 – содержимое (химус), 2 –слизистая оболочка. Верхние цифры – желудок, нижние цифры – кишечник. * – суммарная ОПА желудка или кишечника в расчете на 1 кг массы тела рыб, мкмоль/мин

Таблица 4. Основные гематологические показатели стерляди, n=5

Дата	Гематокрит, %	Лейкоциты, тыс./мкл	Эритроциты, млн./мкл
01.07.2017	24,2±2,92	35,2±1,34	1,28±0,09
19.07.2017	25,2±2,48	42,4±3,34*	1,24±0,04
18.08.2017	24,4±1,82	42,8±2,57*	1,26±0,03

* Различия между контролем и опытом достоверны

Таблица 5. Состав лейкоцитов в крови сеголеток стерляди, тыс./мкл (n =5)

Тип лейкоцитов	01.07.2017	19.07.2017	18.08.2017
Лимфоциты	87,6±1,44	85±1,90	85,2±1,39
Моноциты	3,2±0,22	4,0±1,00	3,2±0,23
Метамиелоциты	2,0±0,61	2,6±0,57	2,8±0,22
ПЯН	1,8±0,89	2,2±0,42	3,0±0,61
СЯН	2,4±0,27	2,8±0,65	3,0±0,94
Эозинофилы	3,0±0,79	3,4±0,84	2,8±0,42

Примечание. Здесь и в табл. 6: ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы

зенке, печени) стерляди показало, что большую часть иммунокомпетентных клеток составляют лимфоциты: 77.8–79.0%, 85.6–86.6% и 88.0–89.0% соответственно (табл. 6), считающиеся главными клетками иммунной системы (Гордеев и др., 2017; Хаитов и др., 2002).

Таблица 6. Соотношение лейкоцитов в кроветворных органах сеголеток стерляди, %, (n =5)

Тип лейкоцитов	01.07.2017	19.07.2017	18.08.2017
Мезонефрос (туловищная почка)			
Гемоцитобласты	4,80±0,41	6,40±1,25	4,20±0,65
Промиелоциты	1,20±0,55	0,80±0,22	1,60±0,27
Миелоциты	1,20±0,42	1,00±0,35	1,40±0,27
Метамиелоциты	1,10±0,19	2,00±0,22	1,30±0,24
Плазмоциты	1,60±0,45	0,80±0,22	0,80±0,22
ПЯН	2,20±0,41	3,00±0,94	3,00±0,61
СЯН	2,20±0,20	3,00±1,10	2,80±0,50
Эозинофилы	2,80±0,55	2,80±0,89	3,00±0,50
Макрофаги	3,80±0,82	4,00±1,06	2,80±0,42
Лимфоциты	77,80±2,10	77,40±3,59	79,00±1,66
Селезенка			
Гемоцитобласты	1,80±0,42	2,40±0,67	2,20±0,55
Промиелоциты	1,60±0,76	1,80±0,65	1,40±0,84
Миелоциты	1,00±0,35	1,20±0,42	0,80±0,42
Метамиелоциты	0,60±0,45	1,00±0,87	0,80±0,65
Плазмоциты	0,80±0,42	0,20±0,22	0,840±0,44
ПЯН	1,80±0,42	2,00±0,71	1,60±0,57
СЯН	2,00±0,50	1,60±0,45	1,80±0,45
Эозинофилы	2,00±0,35	1,60±0,27	1,80±0,22
Макрофаги	2,80±0,65	2,60±0,67	2,60±0,57
Лимфоциты	85,60±2,17	85,80±2,13	86,60±2,82
Печень			
Гемоцитобласты	1,20±0,54	1,60±0,45	1,40±0,57
Промиелоциты	0,20±0,22	0	0
Миелоциты	0,40±0,27	0,20±0,22	0,20±0,22
Метамиелоциты	0,80±0,42	0,80±0,22	0,40±0,27
Плазмоциты	0	0,20±0,22	0
ПЯН	1,80±0,42	1,60±0,45	1,40±0,57
СЯН	2,00±0,71	2,20±0,65	2,20±0,82
Эозинофилы	2,40±0,76	3,00±1,46	2,60±0,91
Макрофаги	3,00±0,50	2,40±0,27	2,60±0,27
Лимфоциты	88,00±0,61	88,40±0,76	89,00±1,32

Доля этих клеток у рыб во всех исследуемых группах возрастает в ряду мезонефрос – селезенка – печень. При этом в мезонефросе содержится наибольшее количество гемоцитобластов – 4,8–6,4%. Доля этих клеток в селезенке составила 1,8–2,4, в печени – 1,2–1,6%. Зрелые нейтрофилы в кроветворных органах всех групп стерляди, как правило, представлены сегментоядерными формами. Их относительное содержание в мезонефросе несколько выше (2,2–3,0%), чем в печени (2,0–2,2%) и в селезенке (1,6–2,0%). Относительное содержание эозинофилов в мезонефросе и в печени близко (2,8–3,0 и 2,4–3,0%), в селезенке ниже – 1,6–2,0%. Относительное количество макрофагов также выше в мезонефросе (2,8–4,0%), чем в печени (2,4–3,0%) и в селезенке (2,6–2,8%). Самой многочисленной группой созревающих клеток в мезонефросе и селезенке являются промиелоциты: 0,8–1,6 и 1,4–1,8% соответственно. В печени незрелые формы клеток встречались крайне редко, что соответствует данным литературы, причем их обнаружение этом органе объясняется попаданием из сосудистого русла (Лапирова и др., 2016).

В заключение следует отметить, что данные, касающиеся активности пептидаз в желудке и кишечнике годовиков стерляди близки результатам, полученным ранее как при исследовании стерляди Васильсурской популяции (Кузьмина, Кузьмина, 1991), так и стерляди, выращиваемой в условиях аквакультуры (Бедняков и др., 2014; Кузьмина и др., 2015). Показатели обеспеченности рыб пептидазами близки полученным ранее при исследовании белого амура *Stenopharyngodon idella* (Строганов, Бузинова, 1970). Особо следует отметить последовательное увеличение обеспеченности рыб пептидазами при включении в корм личинок хирономид: 29,1 мкмоль/мин (контроль), 29,5 мкмоль/мин (1%) и 36,6 мкмоль/мин (2%). Гематологические показатели также указывают на улучшение состояния рыб: количество лейкоцитов возрастает от 35,2 в контроле до 42,8 тыс./мкл в конце опыта. При этом увеличение в значительной мере идет за счет роста числа лимфоцитов: от 79,0% в контроле до 89,0% в конце опыта, что выше, чем у стерляди, выращиваемой в условиях аквакультуры – 21,8 тыс./мкл лейкоцитов, а также 83 % лимфоцитов (Рамазанова, Абдуллаева, 2017). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности включения живых кормов, в частности личинок хирономид, в качестве добавки к комбикормам. Это позволило бы существенно повысить эффективность процессов пищеварения и общее физиологическое состояние рыб в условиях аквакультуры.

Таким образом, замена в рационе стерляди 1 и 2% комбикорма на личинок хирономид указывают на стойкую тенденцию увеличения обеспе-

ченности рыб пищеварительными пептидазами и улучшения их физиологического состояния.

Авторы выражают благодарность А.А. Егоровой за техническую помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бахарева А.А., Грозеску Ю.Н., Пономарев С.В. Ускоренное формирование продукционных стад стерляди // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2015. № 2. С. 101-106.
2. Бедняков Д.А. Структурно-функциональные особенности мембранного пищеварения у осетровых видов рыб и их гидридов. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Астрахань, 2014. 44 с.
3. Бедняков Д.А., Неваленная Л.А., Новинский В.Ю. Влияние ионов металлов на ферменты мембранного пищеварения белуги, стерляди и их гибридов – бестера и стербела // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2011. №2. С. 74-77.
4. Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
5. Гераскин П.П. Влияние загрязнения Каспийского моря на физиологическое состояние осетровых рыб // Изв. Самарского науч. центра Росс. акад. 2006. Т. 8. № 1. С. 273-282.
6. Гордеев И.И., Балабанова Л.В., Суворова Т.А. Состав лейкоцитов органов кроветворения антарктического клякача // Труды ВНИРО: Промысловые рыбы и их биология. 2017. Т. 167. С. 6-11.
7. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Эволюция крови. Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦВШ. 2001. 112 с.
8. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. 184 с.
9. Кузина Т.В. Цитофизиологические особенности крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 2011. 26 с.
10. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной и клинической лабораторной диагностики. М.: Колос. 2004. 520 с.
11. Кузьмина В.В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М.: Наука. 2005. 300 с.
12. Кузьмина В.В. Физиология питания рыб. Влияние внешних и внутренних факторов. Борок: ИБВВ РАН. 2008. 276 с.
13. Кузьмина В.В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации. М.: Полиграф-Плюс. 2015. 260 с.
14. Кузьмина В.В., Кузьмина Е.Г. Характеристика некоторых ферментов пищеварительного тракта стерляди *Acipenser ruthenus* L. // Вопр. ихтиол. 1991. – Т. 31. № 2. С. 306-313.
15. Кузьмина В.В., Николаичев К.А., Скворцова Е.Г. Влияние рН на активность протеиназ пищеварительного тракта у стерляди *Acipenser ruthenus* L. и полосатого окуня *Morone saxatilis* (Walbaum) // Пробл. биол. продукт. животных. 2015. № 2. С. 47-58.
16. Защитные системы иммунокомпетентных органов рыб разных экологических и систематических групп / Т.Б. Лапирова, Е.А. Флёрова, В.В. Юрченко, А.А. Морозов // Вопр. ихтиол. 2017. Т. 57. № 3. С. 338-346.
17. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. 320 с.
18. Лепилина И.Н., Романов А.А., Федорова Н.Н. Некоторые гематологические показатели стерляди в речной и морской периоды жизни // Вестн. Астр. Гос. техн. универ. 2006. № 3. С. 145-150.
19. Неваленный А.Н., Туктаров А.В., Бедняков Д.А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб. Астрахань: Изд. АГТУ, 2003. 152 с.
20. Никольский Г.В. Частная ихтиология. М.: Совет-

- ская наука, 1954. 458 с.
21. *Остроумова И.Н.* Биологические основы кормления рыб. СПб: Изд-во ФГБНУ «ГосНИОРХ», 2012. 564 с.
 22. *Рамазанова М.Г., Абдуллаева Н.М.* Изменения морфофизиологических показателей крови стерляди (*Acipenser ruthenus*) при их выращивании в искусственных условиях // Изв. Самарского науч. центра Росс. Акад. Наук. 2017. Т. 19. № 2(3). С. 513-517.
 23. Физиолого-биохимические особенности рыб водоёмов с различным антропогенным воздействием / *Л.П.Рыжков, А.В.Полина, Ю.В.Громова, С.В. Аленичев* // Проблемы экологической токсикологии. Петрозаводск. 1998. С. 152-157.
 24. *Сырбулов Д.Н.* Гематологические показатели ремонтно-маточного стада стерляди, содержащегося на Волгоградском осетровом рыбозаводе // Вестник Астраханского государственного технического университета. 2005. №. 3. С. 79-84.
 25. *Строганов. Н.С., Бузинова И.С.* Сезонные и возрастные изменения обеспеченности амура и толстолобика пищеварительными ферментами // Вестник МГУ. 1970. № 5. С. 11-15.
 26. *Сырбулов Д. Н.* Гематологические показатели ремонтно-маточного стада стерляди, содержащегося на Волгоградском осетровом рыбозаводе // Вестник Астрах. гос. техн. универ. 2005. №. 3. С. 79-84.
 27. *Уголев А. М., Кузьмина В. В.* Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб: Гидрометеиздат, 1993. 238 с.
 28. *Флеров Б.А.* Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных СПб: Наука. 1989. 144 с.
 29. *Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г.* Иммунология. М.: Медицина, 2002. 536 с.
 30. *Щербина М.А., Гамыгин Е.А.* Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. 360 с.
 30. *Alabaster J.S., Lloyd R.* Water Quality Criteria for Freshwater Fish. London: Butterworths, FAO. United Nations. 1980. 297 p.
 30. *Anson M.* The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J.Gen. Phys. 1938. V. 22. P. 79-83.
 30. *Bakke A.M., Glover Ch., Krogdahl A.* Feeding, digestion and absorption of nutrients // *Fish physiology. The Multifunctional Gut of Fish* (Eds M.Grosell, A.P. Farrell, C.J. Brauner). Amsterdam, Boston: Acad. Press, 2011. V. 30. P. 57-110.
 30. *Barrington E.J.W.* The alimentary canal and digestion // *The physiology of fishes.* Acad. Press. New York – London. 1957. V. 1. P. 109-161.
 35. *Corrales J., Kristofco L.A., Steele W.B.* Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation // *J. Dose-Response.* 2015. V. 13. No 3. P.1-29.
 36. *Fange R., Grove D.* Digestion // *Fish physiology.* (Eds. Hoar W.S., Randall D.J., Brett J. R.). New York- San Francisco- London: Acad. Press. 1979. V. 8. P. 162-260.
 37. *Flint S., Markle T., Thompson S., Wallace E.* Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective // *J. Environ. Manag.* 2012. V. 104. P. 19-34.
 38. *Moore J.W., Ramamoorthy S.* Organic Chemicals in Natural Waters. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag. 1984. 289 p.
 39. *Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W.* Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish // *Royal Swedish Acad. Sc.* 2007. V. 36. P. 12-18.

EFFECT OF LIVING FOOD ON THE PEPTIDASE ACTIVITY ON THE DIGESTIVE TRACT AND THE COMPOSITION OF BLOOD IN THE STERLET *ACIPENSER RUTHENUS* (L.)

© 2018. E.G. Skvortsova¹, A.A. Bogdanova^{2,1}, V.V. Kuz'mina^{3,1}

¹ Yaroslavl State Agricultural Academy

² Yaroslavl Research Institute of Livestock and Fodder Production –
a Branch of Williams Federal Science Center

³ Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok of the Nekouz District, Yaroslavl Region

The effect of additives to the mixed fodder of chironomid larvae *Chironomus* sp. on the activity of peptidases of the mucosa and the contents of the digestive tract, as well as the composition of the blood of the annual sterlet *Acipenser ruthenus* (L.), grown in aquarium conditions was studied. An increase in the provision (prosperity) of fish with peptidases when included in the diet of 1% and especially 2% of chironomid larvae (up to 36.6 $\mu\text{mol} / \text{min}$) in comparison with the control (29.1 $\mu\text{mol} / \text{min}$) was revealed. The number of leukocytes increases from 35.2 in control to 42.8 thousand / μl when 2% of chironomid larvae are add into the feed. The number of lymphocytes increases from 79.0% in the control to 89.0% when 2% of chironomid larvae included in the diet. The data obtained indicate an improvement in the processes of digestion and the physiological state of sterlet, which indicates the advisability of the including of live feeds, in particular of chironomid larvae, as an additive to mixed fodders.

Keywords: sterlet, peptidases, stomach, intestine, chironomid larvae, mucosa, chyme, blood composition.

Elena Skvortsova, Candidate of Biology, Head at the Zootechnics Department of the Yaroslavl State Agricultural Academy. E-mail: e.skvorcova@yarcx.ru
Alena Bogdanova, Candidate of Biology, Research Officer of Department of Livestock Technologies Yaroslavl Research Institute of Livestock and Fodder Production, a branch of Williams Federal Science Center. E-mail: bogdanova@yarcx.ru
Victoria Kuz'mina, Doctor of Biology, Professor, Chief Researcher of Fish Ecology Lab. of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS.
E-mail: vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru