



## Положительный опыт применения штамма *Lactobacillus brevis* 47f на рыбоводно-биологические, гематологические и гистологические показатели молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*)

<https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-4-96-107>

Обзорная статья  
УДК 639.3.043.13

**Кочетков Никита Ильич** – младший научный сотрудник, факультет биотехнологий и рыбного хозяйства, ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)»; лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119333 Москва, Россия  
*E-mail:* samatrixs@gmail.com

**Никифоров-Никишин Дмитрий Львович** – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, факультет биотехнологий и рыбного хозяйства, ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)», Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия  
*E-mail:* nikipdl@rambler.ru

**Смородинская Светлана Валерьевна** – Заведующая лабораторией, факультет биотехнологий и рыбного хозяйства, ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)»; Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия  
*E-mail:* kler.smo@gmail.com

**Климук Анастасия Алексеевна** – младший научный сотрудник Центра аквакультуры факультета биотехнологий и рыбного хозяйства, ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)»; Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия  
*E-mail:* klimukanastasia27@gmail.com

**Головачева Наталья Алексеевна** – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры Биологии и биоинформатики факультета биотехнологий и рыбного хозяйства, ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)»  
*E-mail:* molekula00@inbox.ru

### Адреса:

1. ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)» – Россия, 109004, Москва, ул. Земляной Вал, д. 73
2. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН – Россия, 119333, Москва, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3

**Аннотация.** В данной работе проводилось исследование возможности использования пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f в кормах для молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*). Было установлено сохранение лактобацилл в изготовленных кормах и приживаемости штамма на слизистой поверхности кишечника рыб. В условиях длительного опыта (60 суток) было выявлено увеличение количества лимфоцитов в крови, а также изменение гистоморфометрических параметров: количества лимфоцитов lamina propria, количества бокаловидных клеток. Отмечено достоверное снижение кормового коэффициента, а также увеличение прироста биомассы стерляди в опытной группе, вероятно, связанное с изменением белкового обмена – повы-

шение уровня общего белка, альбумина, глобулина в сыворотке крови. Проведенные исследования показали возможность использования ряда данных гистоморфометрических показателей для оценки реакции желудочно-кишечный тракта у осетровых рыб на корма с пробиотическим штаммом. Полученные результаты дают основания предположить, что пробиотический штамм *L. brevis* 47f является перспективным для применения в аквакультуре.

**Для цитирования:** Кочетков Н.И., Никифоров-Никишин Д.Л., Смородинская С.В., Климук А.А., Головачева Н.А. Положительный опыт применения штамма *Lactobacillus brevis* 47f на рыбоводно-биологические, гематологические и гистологические показатели молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*) // Рыбное хозяйство. 2024. № 4 С. 96-107. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-4-96-107>

**Ключевые слова:** кормление, стерлядь, пробиотик, штамм *Lactobacillus brevis* 47f, гистология, гематология, гистоморфометрия

## EFFECTS OF DIETARY *LACTOBACILLUS BREVIS* 47F ON GROWTH PERFORMANCE, HEMATOLOGICAL AND HISTOLOGICAL PARAMETERS OF JUVENILE STERLET (*ACIPENSER RUTHENUS*)

**Nikita I. Kochetkov** – Junior Researcher, Faculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU); Laboratory of Microbial Genetics, N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Dmitry L. Nikiforov-Nikishin** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, Faculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU); Laboratory of Microbial Genetics, N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Svetlana V. Smorodinskaya** – Head of the Laboratory, Faculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU); Laboratory of Microbial Genetics, N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Anastasia A. Klimuk** – junior researcher at the Aquaculture Center of the Faculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU); Laboratory of Microbial Genetics, N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Natalia A. Golovacheva** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Bioinformatics, Faculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU)

### Addresses:

1. Moscow State University of Technology and Management K.G. Razumovsky (FCU) – Russia, 109004, Moscow, Zemlyanoy Val str., 73

2. N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences – Russia, 119333, Moscow, GSP-1 Moscow, Gubkin str., 3

**Annotation.** In this work, a study was conducted on the possibility of using the probiotic strain *Lactobacillus brevis* 47f in feeds for juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*). The preservation of lactobacilli in manufactured feeds and the survival rate of the strain on the mucous surface of the intestines of fish were established. In a long-term experiment (60 days), an increase in the number of lymphocytes in the blood was revealed, as well as a change in histomorphometric parameters: the number of lamina propria lymphocytes, the number of goblet cells. There was a significant decrease in the feed coefficient, as well as an increase in sterlet biomass in the experimental group, probably associated with a change in protein metabolism – an increase in the level of total protein, albumin, globulin in blood serum. The conducted studies have shown the possibility of using a number of histomorphometric data to assess the reaction of the gastrointestinal tract in sturgeon fish to feed with a probiotic strain. The results obtained suggest that the probiotic strain *L. brevis* 47f is promising for use in aquaculture.

**Keywords:** feeding, sterlet, probiotic, *Lactobacillus brevis* 47f strain, histology, hematology, histomorphometry

**For citation:** Kochetkov N.I., Nikiforov-Nikishin D.L., Smorodinskaya S.V., Klimuk A.A., Golovacheva N.A. (2024). Effects of dietary *Lactobacillus brevis* 47f on growth performance, hematological and histological parameters of juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*) // Fisheries. No. 4. Pp. 96-107. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-4-96-107>

Рисунки и таблицы – авторские / The drawings and tables were made by the author

## ВВЕДЕНИЕ

Осетровые виды рыб – общепризнанный объект товарной аквакультуры в РФ и в ряде других стран: Иране, Китае и Казахстане [16]. Данная группа рыб отличается высокими вкусовыми качествами мяса и источником полноценного белка, деликатесной икры, которая пользуется высоким спросом по всему миру [17; 18]. Для получения готовой продукции от осетровых в условиях аквакультуры необходим период от 4 до 5 лет – до момента созревания рыб. В процессе выращивания рыба должна потреблять сбалансированные высококачественные корма, так как любые нарушения в кормлении приводят не только к замедлению роста, но и к непоправимым изменениям репродуктивных функций рыб [15].

Влияния различных неблагоприятных факторов экзогенного характера (нарушения технологических и гидрохимических условий выращивания, неполноценные корма, бактериальные заболевания), может быть снижено за счет применения различных кормовых добавок растительного, химического и микробиологического происхождения, обладающих различным направленным действием [19]. Среди наиболее часто используемых и распространенных кормовых добавок, пробиотические микроорганизмы являются перспективными, так как многие из них имеют антибактериальные, антитоксичные и иммуностимулирующие свойства и приводят к ускорению темпов роста рыб [21; 20]. Наиболее популярным пробиотическим микроорганизмом в аквакультуре является *Bacillus subtilis*, а также другие представители данного рода [39; 22]. Другой, менее представленной в аквакультуре, группой микроорганизмов выступают молочнокислые бактерии. Например, такие виды как *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus lactis* способны существовать при низких значениях pH и в присутствии желчных кислот, а также демонстрируют высокую адгезивную способность к слизистой поверхности кишечника рыб [23; 24].

Для наших исследований был отобран штамм *Lactobacillus brevis* 47f из коллекции лактобацилл ИОГен РАН по выраженным антиоксидантным и адаптогенным свойствам. Ранее

этот штамм уже показал свою способность снижать окислительный стресс, индуцированный 5-фторурацилом на мышах [25], а также он обладает антитоксическим свойством и способностью снижать токсическое воздействие имидаклоприда на *Danio rerio* [7]. Оценка возможности использования данного штамма на объектах индустриальной аквакультуры позволит расширить область применения указанных пробиотических микроорганизмов в условиях низких температур.

Действия пробиотиков на организм хозяина основываются на комплексном взаимодействии пробиотик-микробиом-хозяин. В частности, действие пробиотиков выражается в: (1) продуцировании пищеварительных ферментов (липаза, амилаза), а также аминокислот, жирных кислот и витаминов; (2) изменении параметров микроокружения просвета и слизистой кишечника и стимуляции развития комменсальных представителей микробиома кишечника; (3) подавлении развития патогенных и условно патогенных микроорганизмов (за счет снижения pH), а также (4) стимуляции собственного иммунитета рыб [19; 22; 27]. По этим причинам эффект пробиотиков наиболее целесообразно оценивать по ряду физиологических показателей организма, а именно – рыбоводно-биологических, гематологических, биохимических и гистологических. Клеточные структуры органов ЖКТ на тканевом уровне выступают крайне значимым тест-параметром, так как позволяют более четко фиксировать молекулярные и клеточные аспекты взаимодействия пробиотиков с организмом рыбы [22; 30].

Стерлядь (*Acipenser ruthenus*), в отличие от большинства других осетровых видов, не является проходным видом рыб, и представляет собой наиболее подходящий объект для выращивания в установках замкнутого водоснабжения [31]. Скорость роста гибридов осетровых может значительно различаться из-за гетерогенности родительских форм, что может искажает результаты исследований. На первом году жизни молодь стерляди, с одной стороны, обладает максимальной скоростью роста, в это время она наиболее подвержена бактериальным и протозойным болезням.

Таким образом, целью исследования является изучение возможности использования пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f в кормах для стерляди по ряду физиологических показателей. Дополнительно в данной работе предполагается оценить сохранность штамма в кормах в течение срока кормления, а также возможность колонизировать слизистую оболочку кишечника стерляди.

#### Задачи исследования:

- оценить сохранность пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f после внесения в корма для осетровых видов рыб;
- оценить влияние пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f в составе кормов в условиях длительного опыта на рыбо-водно-биологические, гематологические и биохимические показатели стерляди;
- изучить действия пробиотического штамма на клеточные структуры кишечной ткани среднего отдела ЖКТ и печени стерляди.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Содержания рыб и схема исследования

Стерлядь возрастом 4 мес. (*Acipenser ruthenus*) была приобретена у Волгореченского рыбного хозяйства (Костромская обл.). На первом этапе опытов рыба предварительно акклиматизировалась в условиях УЗВ в течение 14 суток. Работы производились на инфраструктурных ресурсах уникальной научной установки (УНУ) НТИ РФ Рег. № 3662433 – «Научно-исследовательский комплекс передовых технологий аквакультуры и гидроэкологии» факультета биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)». Системы УЗВ для содержания гидробионтов включали бассейны объемом 4000 л и 750 л, а – также системы биологической фильтрации (биофильтры 1000 л и 500 л) и механической фильтрации (Ейскополимер 402М), ультрафиолетовые установки (Jebao STU-400w и Jebao STU-44w). На начало опыта средняя масса особей стерляди составляла  $27,7 \pm 2,1$  г, размер  $15,2 \pm 1,1$  см. После акклиматизации стерлядь размещали в 2 опытных линиях УЗВ – контроль (К) и опытную (LB47f), включающих 3 бассейна объемом 750 л по 25 особей на один бассейн (рис. 1). Эксперимент проводился в тройной повторности.

Показатели температуры, pH и содержания кислорода измерялись раз в сутки. Гидрохимические параметры ( $\text{NH}_4^+$ ;  $\text{NO}_2$ ;  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{PO}_4^{3-}$ ) оценивались раз в пять суток, согласно стандартным методам [3]. Кормление рыб осуществлялось исходя из 2% от биомассы индивидуально на каждый бассейн. Длительность эксперимента составляла 60 суток.



**Рисунок 1.** Экспериментальные линии УЗВ для проведения исследований

**Figure 1.** Experimental ultrasound lines for conducting research

### 1.1. Рыбоводно-биологические показатели

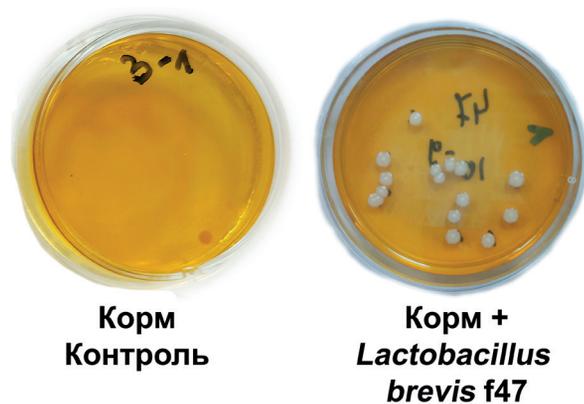
Определение размерно-весовых показателей рыб (масса, размер) производилось трижды: на начало опыта, на 30 сутки для корректирования норм кормления и на 60 сутки – для расчета рыбоводно-биологических показателей. Перед взвешиванием рыба анестезировалась в растворе MS-222 (1 мг/л), производили измерения, расчет рыбоводно-биологических показателей, а именно: кормового коэффициента, коэффициента упитанности (по Фулто-ну), относительного прироста, абсолютной, относительной, удельной и среднесуточной скорости роста, а также – среднесуточного прироста массы производился согласно формулам, описанных в работах [40; 4].

### 1.2. Пробиотический штамм

Пробиотический штамм *Lactobacillus brevis* 47f был любезно предоставлен в виде лиофилизата из коллекции лаборатории генетики микроорганизмов Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (№ Б-12237). Титр микроорганизмов составлял  $1 \times 10^9$  КОЕ/мг лиофилизата. Условия культивации штамма, а также его предварительные данные по эффективности представлены в работах Marsova et al. [26], Marsova et al. [25] и Kochetkov et al. [10].

### 1.3. Приготовление опытных кормов

В качестве базового для стерляди использовался коммерческий корм Coppens Start Premium 2 мм [белок – 54%, жиры – 15%, клетчатка – 0,1%, зола – 10,4%]. Пробиотический штамм вносили в корм путем инкапсулирования с использованием альгината натрия (Русхим, Мо-



**Рисунок 2.** Чашки Петри с кормом и внесенной культурой штамма через 4 суток после посева на среду MRS Лактобакагар в контрольных и опытных пробах

**Figure 2.** Petri dishes with feed and introduced strain culture 4 days after sowing on MRS Lactobacagar medium in control and experimental samples

сква, Россия) по ранее описанному методу. Для этого альгинат растворялся в дистиллированной воде (0,5 г на 100 мл для 100 г корма), затем в раствор добавляли сублимированные культуры пробиотиков из расчета титра в опытном корме  $1 \times 10^8$  КОЕ/г. Полученная суспензия тщательно перемешивалась и равномерно наносилась на опытные корма электрическим распылителем (BORT BFP-36-Li). Полученные корма высушивались в сушильном шкафу при 40 °C в течение 12 ч и хранились при 4 °C [32; 10]. Через сутки после приготовления кормов проводился контроль количества микроорганизмов в корме при помощи посева на среду MRS Лактобакагар (ФБУН «ГНЦ ПБМ», Московская обл.). Минимальное значение выживаемости штамма в корма составило  $9,1 \times 10^7$  КОЕ/г (90% от расчетной).

Контрольный корм готовили без внесения пробиотиков. Для сохранения пробиотических свойств и обеспечения качества свежие корма для всех групп готовили раз в 30 суток.

#### 1.4. Гистологическое исследование

Для проведения гистологического исследования из каждой группы отбиралось по 4 особи рыб, которые усыплялись в растворе MS-222 (10 мг/л), после чего производилось вскрытие и отбор проб ткани (печень, средний отдел кишечника). Пробы ткани фиксировались в 4% нейтральном формалине в течение 24 часов. Полученные образцы тканей обезжизивали в серии градуированных спиртов и заливались в парафин. Из образцов тканей кишечника и печени изготавливались серийные срезы по 3 среза на

один образец ( $n = 4 \times 3$ ). Окрашивание производилось гематоксилином и эозином (H&E), периодической кислотой Шиффа (PAS). Подготовка и окрашивание гистологических срезов проводилось в соответствии с методикой Suvarna et al [8].

Полученные препараты просматривались под световым микроскопом Olympus BX53 (Olympus Corporation, Япония, Токио) с окулярными насадками CarlZeiss ERc 5s (Zeiss, Германия, Оберкохен) и ToupCam 16.0 MP (TouPtek Photonics, Китай) с использованием программного обеспечения ZEN lite (Zeiss, Германия) и TouPCam view 16.0 (TouPtek Photonics, Китай).

Измерение клеточных структур кишечника, печени и почек производилось с использованием программы Fiji ImageJ2 v2.15.0 (Wayne Rasband (NIH); Schindelin et al. 2012) и QuPath v0.5 [6]. Подробное описание измеряемых параметров представлено в более ранних исследованиях [10].

#### 1.5. Гематологическое исследование

Забор крови производился из сердца после предварительной анестезии в растворе MS-222 (2 мг/л) у 5 особей из каждой группы. Сразу после получения крови производился подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов с помощью гемоцитометра (Rusia & Sood, 1992). Приготовленные препараты окрашивались, в соответствии с ранее описанными методами [9, 10] по Романовскому-Гимза.

На препаратах крови производился подсчет следующих клеточных элементов: зрелые и молодые (ювенильные) формы эритроцитов, лимфоциты (большие и малые), эозинофилы, нейтрофилы, моноциты и тромбоциты. Для каждого препарата крови просматривалось не менее 40 полей зрения. Общее количество клеток, подсчитанных для одного препарата, составляло не менее 2500. Подсчет и определение клеточных элементов периферической крови производился согласно общепринятым методикам, описанным авторами [11; 12].

#### 1.6. Биохимические показатели сыворотки крови

Параллельно отбору крови для приготовления гематологических препаратов производится отбор крови для биохимического анализа в объеме 1,5-2 мл. Общий белок крови и альбумин определялся согласно Doumas et al. (1981) и Reiner et al. [2]. Глобулин рассчитывался математически. Уровень глюкозы определялся с использованием специализированных наборов Bio-Merieux (Франция), согласно инструкции производителя. Мочевину, билирубин общий/прямой в сыворотке определяли при помощи биохимического анализатора CS-T240 (Китай)

с использованием готовых реактивов (наборов), поставляемых компанией Spinreact Co (Испания), следуя инструкциям производителя.

### 1.7. Статистическая обработка

Данные сравнения анализируемых переменных представлены в виде средних  $\pm$  SD. Статистическая достоверность определялась с использованием непараметрических тестов (Kruskal–Wallis test, U-тест Манна-Уитни), в зависимости от распределения данных и однородности вариаций (тесты Шапиро-Уилка и Левена). Значение  $p < 0.05$  было принято как статистически достоверное. Обработка статистических данных производилась с использованием программ GraphPad Prism version 9.0 software (GraphPad, San Diego, CA, USA) и R software (v3.5.2)/RStudio.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### 1.8. Рыбоводно-биологические показатели

Контроль гидрохимических параметров по ходу эксперимента показал, что их изменения не превышали допустимых значений для выращивания стерляди (рН  $8.1 \pm 0.2$ ;  $O_2$   $8.2 \pm 0.1$ ; темп.  $21.5 \pm 1.2$  °C;  $NH_4^+$   $0.07 \pm 0.01$ ;  $NO_2^-$   $0.1 \pm 0.02$ ;  $NO_3^-$   $12 \pm 1.2$   $PO_4^{3-}$   $3.0 \pm 0.2$  мг/л).

Во время контрольных измерений на 30 и 60 сутки отмечалось хорошее физиологическое состояние особей и отсутствие патологических из-

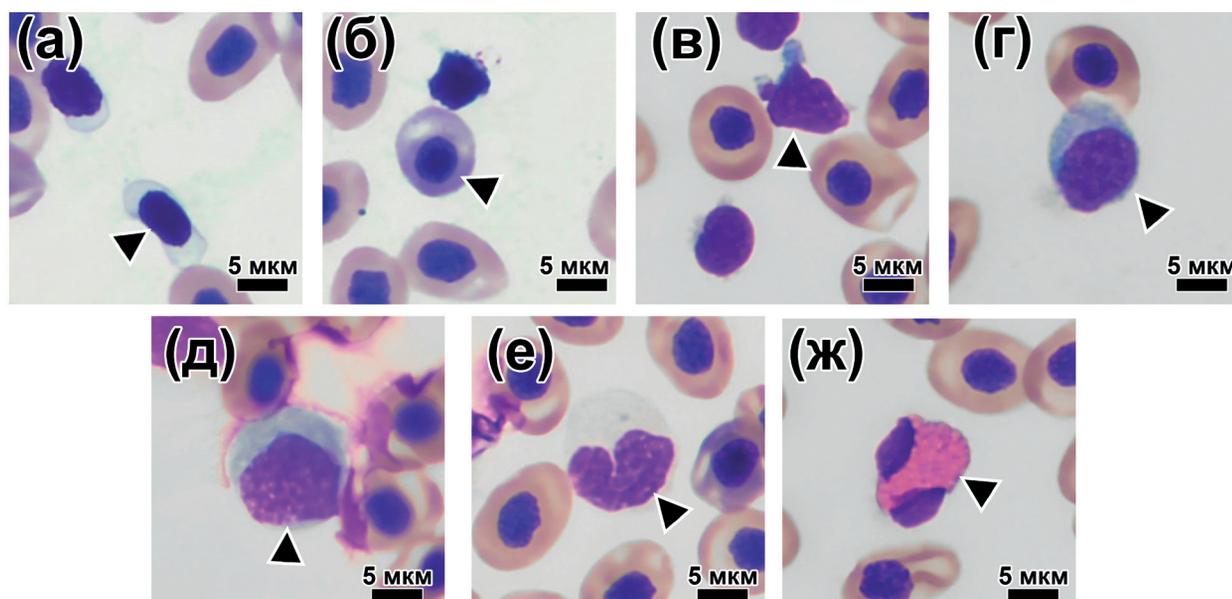
менений. Гибели рыб за время эксперимента не отмечалось. При проведении патологоанатомического вскрытия патологических изменений внутренних органов рыбы не отмечалось.

В таблице 1 приведены рыбоводно-биологические показатели стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f. Из таблицы видно, что исследуемый пробиотический штамм оказывает определенное влияние на ряд рыбоводно-биологических показателей. Так, наблюдалось увеличение средней массы рыб и их биомассы на конец опыта, которые составили 69,76 и 1744 г, соответственно. При этом, достоверное отличие было зафиксировано по показателю кормового коэффициента ( $p < 0,05$ ), который в опытной группе был ниже и составил 0,84. Это может указывать на более эффективное усвоение кормов. Показатели скорости роста рыбы (относительная, удельная) в опытной группе были выше контроля, не демонстрируя достоверных различий. Абсолютной прирост в группе LB47f составил 1073,67 г, что выше показателей контроля на 10%.

Полученные данные указывают на положительный эффект исследуемого штамма микроорганизмов на рыбоводные показатели. Вероятно, долгосрочное применение пробиотика привело бы к более значительным отличиям между исследуемыми группами.

**Таблица 1.** Рыбоводно-биологические показатели стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f. Астериск (\*) показывает статистическую значимость между контрольной и экспериментальной группой / **Table 1.** Fish-breeding and biological indicators of sterlet in the control and the group receiving the probiotic *Lactobacillus brevis* 47f as part of the feed. Asterisk (\*) shows the statistical significance between the control and experimental group

Рыбоводно-биологические показатели	Контроль	LB47f
Начальная масса, г	27,39 $\pm$ 1,54	26,81 $\pm$ 0,55
Конечная масса, г	66,04 $\pm$ 1,08	<b>69,76<math>\pm</math>0,9</b>
Начальная биомасса, г	684,6 $\pm$ 13,40	670,33 $\pm$ 13,65
Конечная биомасса, г	1651 $\pm$ 26,90	<b>1744<math>\pm</math>22,61</b>
Норма кормления, %	0,02	0,02
Кормовой коэффициент	0,95 $\pm$ 0,01	<b>0,84<math>\pm</math>0,02</b>
Коэффициент упитанности (по Фультону)	0,69 $\pm$ 0,02	0,74 $\pm$ 0,01
Относительный прирост, %	141,2 $\pm$ 3,90	<b>160,22<math>\pm</math>4,97</b>
Абсолютная скорость роста, см	0,21 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01
Относительная скорость роста, г	0,83 $\pm$ 0,01	0,86 $\pm$ 0,01
Удельная скорость роста, %	1,27 $\pm$ 0,02	1,38 $\pm$ 0,03
Среднесуточный прирост массы, г	0,64 $\pm$ 0,01	0,72 $\pm$ 0,01
Абсолютный прирост, г	966,3 $\pm$ 21,70	<b>1073,67<math>\pm</math>20,84</b>
Среднесуточная скорость роста, %	0,98 $\pm$ 0,01	1,03 $\pm$ 0,01



**Рисунок 3.** Клеточные элементы периферической крови стерляди: (а) – тромбоциты; (б) – незрелый эритроцит; (в) – малый лимфоцит; (г) – большой лимфоцит; (д) – моноцит; (е) – нейтрофил; (ж) – эозинофил. Шкала масштаба: 5 мкм

**Figure 3.** Cellular elements of sterlet peripheral blood: (a) – platelets; (b) – immature erythrocyte; (c) – small lymphocyte; (d) – large lymphocyte; (e) – monocyte; (f) – neutrophil; (g) – eosinophil. Scale scale: 5 microns

По окончании эксперимента производился микробиологический посев на селективную среду MRS со слизистой оболочки среднего отдела кишечника, который показал, что *Lactobacillus brevis* 47f присутствовал в составе комменсальной микробиоты кишечника в количестве  $2,3 \times 10^2$  КОЕ/г.

### 1.9. Гематологическое исследование

Морфологическая картина крови в контроле и опытной группе имела определенные различия. Полученные значения, как в контрольной, так и в опытной группах соответствовали ранее приведенным нормативным показателям для осетровых видов рыб [12]. В таблице 2 приведены гематологические показатели стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f.

Было установлено наличие достоверной разницы по показателю количества лейкоцитов в периферической крови рыб ( $p < 0,05$ ), который в опытной группе превышал показатели контроля и составил  $5,81 \times 10^6$  кл/мкл. При этом относительное количество малых и больших лимфоцитов значимо не отличалось от контроля. Выявлено существенное уменьшение количества моноцитов ( $p < 0,05$ ), которые составляли 3,42% в контроле и 3,06% в опыте. Значимых отличий по другим исследуемым показателям (количество лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, тромбоцитов) периферической крови выявлено не было.

Клеточные элементы периферической крови стерляди, обнаруженные на препаратах, приведены на рисунке 3.

### 1.10. Биохимические показатели сыворотки крови

Анализ биохимических показателей сыворотки крови стерляди показал наличие значимых отличий от контрольной группы по параметрам белкового обмена, а именно: по содержанию общего белка, альбуминов и глобулинов ( $p < 0,05$ ; табл. 3). Так, показатель общего белка в опытной группе превышал значение контроля на 30,5%, а глобулин и альбумин на 32,7 и 20,7%. При этом, полученные значения находятся в пределах нормативных интервалов, определенных для осетровых видов рыб [13; 14]. Значимых отличий от контроля по другим исследуемым биохимическим показателям (билирубин, мочевины, глюкоза) установлено не было. В таблице 3 приведены биохимические показатели сыворотки крови стерляди в контроле и в группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f.

### 1.11. Гистологическое исследование

Изучение гистологических срезов среднего отдела кишечника и печени позволило выявить ряд существенных различий между контрольной и опытной группой. На контрольных препаратах кишечника стерляди четко просматривались характерные слои, а именно: слизистая оболочка и

**Таблица 2.** Гематологические показатели стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f. Астериск (\*) показывает статистическую значимость между контрольной и экспериментальной группой /

**Table 2.** Hematological parameters of sterlet in the control and the group receiving the probiotic *Lactobacillus brevis* 47f as part of the feed. Asterisk (\*) shows the statistical significance between the control and experimental group

Показатель	Группа	
	Контроль	LB47f
Эритроциты, 10 <sup>6</sup> /мкл	0,85±0,04	0,85±0,04
Незрелые эритроциты, %	1,11±0,3	1,07±0,15
Лейкоциты, 10 <sup>4</sup> /мкл	5,05±0,27	<b>5,81±0,27*</b>
Малый лимфоцит, %	67,7±1,28	70,48±3,57
Большой лимфоцит, %	18,37±0,69	16,16±3,44
Лимфоциты, %	86,07±0,79	86,65±1,43
Моноциты, %	3,42±0,57	<b>3,06±0,66*</b>
Нейтрофилы, %	7,62±0,37	7,94±0,62
Эозинофилы, %	2,9±0,57	2,36±0,9
Тромбоциты, %	1,79±0,27	2,12±0,39

**Примечание:** Астериск (\*) показывает статистическую значимость между контрольной и экспериментальной группой

**Таблица 3.** Биохимические показатели сыворотки крови стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотик *Lactobacillus brevis* 47f /

**Table 3.** Biochemical parameters of sterlet blood serum in the control and the group receiving the probiotic *Lactobacillus brevis* 47f as part of the feed

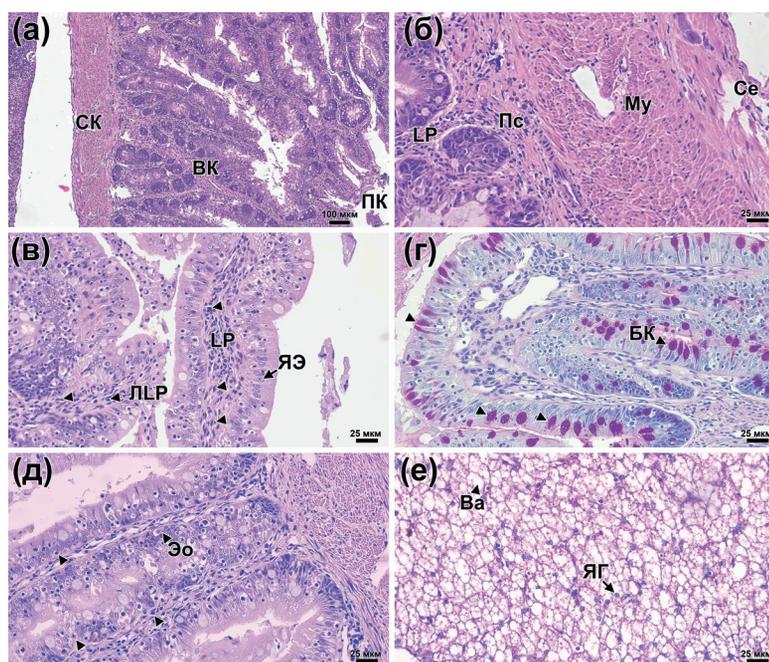
Показатель	Контроль	LB47f
Билирубин общий, мкмоль/л	2,65±0,17	2,3±0,27
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,3±0,08	0,23±0,05
Мочевина, мкмоль/л	2,3±0,23	2,6±0,29
Общий белок, г/л	25,15±1,71	<b>36,23±5,12*</b>
Альбумин, г/л	11,2±1,2	<b>15,5±2,51*</b>
Глюкоза, мкмоль/л	2,11±0,66	2,96±0,53
Глобулин г/л	13,95±0,65	<b>20,73±3,09*</b>
Соотношение альбумин/глобулин	0,8±0,07	0,75±0,1

**Примечание:** Астериск (\*) показывает статистическую значимость между контрольной и экспериментальной группой

ее собственная оболочка (*Lamina propria*), формирующие ворсинки, подслизистый слой; мускульный слой, включающий продольный и циркулярный мышцы, а также серозную оболочку. В эпителиальном слое слизистой и собственной оболочке встречались скопления лимфоцитов, а также – небольшое число эозинофильных клеток. Ворсинки кишечника, ближе к основанию, формировали собой крипто-подобные структуры, в которых наблюдали эпителиальные клетки, обладающие большей базофилией и менее дифференцированными ядрами. На рисунке 4

приведены гистологические срезы ткани среднего отдела кишечника и печени стерляди из опытной и контрольной группы.

В кишечнике у рыб опытной группы был выявлен ряд морфологических отличий от контроля. На некоторых участках слизистой наблюдались эпителиальные клетки с увеличенными ядрами (рис. 4, в). Помимо этого, в данных участках отмечалось незначительное увеличение толщины собственной оболочки слизистой кишечника. Морфометрические измерения ядра эпителия показали достовер-



**Рисунок 4.** Гистологические срезы среднего отдела кишечника и печени стерляди в контроле (а, б) и группе (в-е), получавшей в составе корма пробиотик штамм *Lactobacillus brevis* 47f. Сокращения: СК – внешний слой кишечника; ВК – ворсинки кишечника, ПК – просвет кишечника, LP – lamina propria; Му – мускульный слой; Се – серозная оболочка; LLP – лимфоциты lamina propria; ЯЭ – ядро эпителиоцита; БК – бокаловидные клетки; Эо – эозинофил (клетка, подобная эозинофильному гранулоциту); Ва – вакуолизация; ЯГ – ядро гепатоцита. Шкала масштаба 100 мкм (а) и 25 мкм (б-е). Окрашивание Н&Е (а-в, д) и PAS (г, е)

**Figure 4.** Histological sections of the middle intestine and liver of a sterlet in the control (a, b) and group (c-e) receiving the probiotic strain *Lactobacillus brevis* 47f as part of the feed

ную разницу между исследуемыми группами ( $p < 0,05$ ; рис. 5, а). Также было установлено увеличение количества лимфоцитов собственной оболочки слизистой кишечника в опытной группе, получавшей в составе корма пробиотический штамм ( $p < 0,05$ ; рис. 5, б). Отдельно стоит обратить внимание на увеличение встречаемости в слизистой кишечника опытной группы эозинофильных иммунокомпетентных клеток (рис. 4, д), количество которых составило 1,1 шт/ 100 мкм, достоверно превышая показатели контроля ( $p < 0,05$ ; рис. 5, г).

По всей площади препарата наблюдалось увеличение количества бокаловидных клеток (рис. 4, з), что также подтверждается результатом морфометрической оценки ткани ( $p < 0,05$ ; рис. 5, б). При этом значительного различия по показателю площади бокаловидных клеток установлено не было. Толщина подслизистого слоя и серозной оболочки была сравнима в контрольной и опытной группах, однако мускульный слой был существенно меньше в опытной группе ( $p < 0,05$ ; рис. 5, д).

Печень стерляди в контрольной группе имела строение, характерное для осетровых видов рыб. Гепатоциты были разделены синусоидными капиллярами, а также – венулами и артериолами. В оболочке крупных сосудов печени обнаруживались гемопоэтические элементы. Определенная степень вакуолизации гепатоцитов характерна для осетровых рыб. На изученных препаратах она встречалась как в контрольной, так и в опытной группах. Вакуоли имели неровную форму и занимали практически все пространство гепатоцита (рис. 4, е). Среди изме-

ряемых морфометрических параметров достоверное отличие от контроля было зафиксировано по отношению площади цитоплазмы/ядра гепатоцита ( $p < 0,05$ ; рис. 5, е), а также степени вакуолизации органа ( $p < 0,05$ ; рис. 5, ж).

Стоит однако указать, что по целому ряду других морфометрических параметров, таких как: высота ворсинки, количество интраэпителиальных лимфоцитов, высота эпителия, площадь гепатоцитов; достоверных отличий от контроля выявлено не было.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволяют утверждать, что добавление в корма для стерляди бактериального штамма *Lactobacillus brevis* 47f вызывает изменения целого ряда физиологических показателей. По рыбоводно-биологическим показателям следует отметить достоверное снижение кормового коэффициента и незначительное ускорение роста рыб. Это может быть следствием приживаемости бактерий на слизистой оболочке кишечника и его участия в процессе пищеварения. Ранее было показано, что пробиотические бактерии способны синтезировать *in vitro* и стимулировать выработку собственных пищеварительных ферментов хозяина [27]. Помимо этого, многие штаммы обладают возможностью вырабатывать различные питательные субстраты, например: аминокислоты, витамины и низкомолекулярные жирные кислоты [28], которые могут усваиваться хозяином.

Ускорение белкового обмена у опытных рыб частично подтверждается результатами

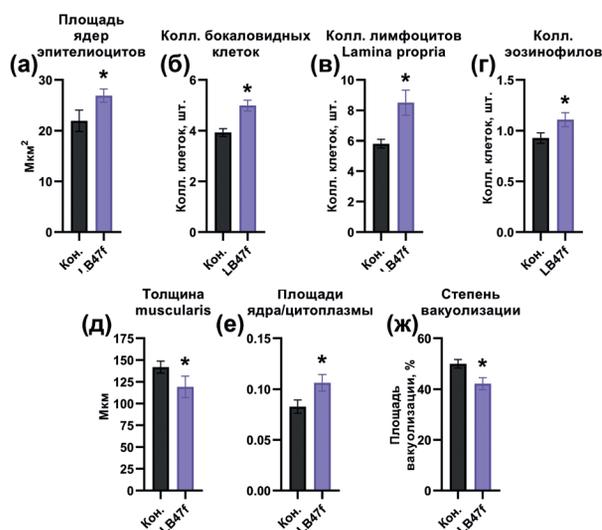
биохимического исследования сыворотки крови. При этом, следует отметить, что также изменялся состав крови, а именно: количество лимфоцитов и относительная встречаемость моноцитов. Исходя из полученных результатов, можно предположить наличие у исследуемого штамма иммуномодулирующих свойств. Во множестве работ было продемонстрировано, что пробиотические бактерии способны модулировать неспецифический иммунитет хозяина, путем взаимодействия со специальными рецепторами на поверхности энтероцитов [19; 23; 33; 42]. Установленное присутствие исследуемого штамма на оболочке слизистой кишечника опытных рыб, вероятно, вызывает стабильную ответную реакцию, как со стороны слизистой, так и увеличение количества иммунокомпетентных клеток в крови.

По результатам гистологических исследований органов ЖКТ выявлено достоверное увеличение числа лимфоцитов lamina propria, а также эозинофилов в слизистой кишечника. Данные клетки являются частью лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником,

и непосредственно участвуют в реализации клеточного иммунитета [41]. Подобные результаты также были выявлены ранее при применении пробиотиков на других видах рыб [34; 35]. Увеличение секреторной активности кишечника также может быть связано с действием пробиотического штамма. Муциновый слой слизистой кишечника, помимо защитной функции, также является местом локализации микроорганизмов комменсального микробиома [36]. Пробиотические бактерии способны изменять качественный и количественный состав микробиома кишечника, опосредованно оказывая влияние на секреторную функцию бокаловидных клеток. Стоит отметить, что подобные морфологические изменения также были установлены при применении *L. brevis* 47f на *Danio rerio* [10]. Увеличение ядер эпителия слизистой кишечника также может быть связано с увеличением доступности питательных веществ, в частности, короткоцепочечных жирных кислот, вырабатываемых бактериями комменсального микробиома кишечника [28].

Гистологическая структура печени была менее подвержена изменениям под действием изучаемого пробиотического штамма. Тем не менее, было выявлено достоверное снижение степени вакуолизации печени, а также отношение площади ядра/цитоплазмы гепатоцита. Описанное выше изменение белкового обмена, вероятно, могло способствовать более полноценному использованию энергетических ресурсов организма рыбы. В частности, метаболизм белков требует значительных энергетических затрат, которые частично представлены жирами и депонируются в печени рыб [37].

Данные по изменению гистоморфометрических показателей, рассмотренные в данной работе, согласуются с исследованиями других авторов [19; 23; 33; 42], что указывает на возможность их использования в качестве репрезентативных маркеров воздействия кормовых добавок, в частности, пробиотических бактерий.



**Рисунок 5.** Морфометрические показатели кишечника и печени стерляди в контроле и группе, получавшей в составе корма пробиотический штамм *Lactobacillus brevis* 47f. Астериск (\*) показывает статистическую значимость между контрольной и экспериментальной группами. Количество клеток указано на 100 мкм<sup>2</sup> ткани

**Figure 5.** Morphometric parameters of the intestine and liver of sterlet in the control and the group receiving the probiotic strain *Lactobacillus brevis* 47f as part of the feed. Asterisk (\*) shows the statistical significance between the control and experimental groups. The number of cells is indicated per 100 μm<sup>2</sup> of tissue

## Выводы

1. Показана возможность сохранения пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f в кормах и его приживаемость в слизистой кишечника стерляди после 60 суток кормления.
2. Корма с внесенным штаммом *Lactobacillus brevis* 47f приводили к достоверному снижению кормового коэффициента (0,84) и увеличению биомассы рыб на 10%.
3. Выявлен положительный эффект от применения корма с пробиотическим штаммом *Lactobacillus brevis* 47f на количественные показатели периферической крови и биохимию сыворотки крови рыб, в частности,

- увеличение числа лейкоцитов и общего белка сыворотки.
4. Гистоморфометрическое изменение органов ЖКТ стерляди показало, что пробиотический штамм оказывает влияние на следующие параметры: количество лимфоцитов, эозинофилов, площадь дряэпителия, а также степень вакуолизации являлись наиболее показательными.
  5. Результаты исследования позволяют рекомендовать применение пробиотического штамма *Lactobacillus brevis* 47f в рыболовной практике для расширения спектра профилактических кормов, после проведения дополнительных исследований в условиях индустриальных хозяйств.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование было выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) № 23-16-00123.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Вклад в работу авторов: **Н.И. Кочетков** – идея статьи, сбор и анализ данных, корректировка текста; **Д.Л. Никифоров-Никишин** – подготовка статьи и ее окончательная проверка, корректировка текста; **С.В. Смородинская** – сбор и анализ данных; **А.А. Климук** – подготовка статьи, сбор и анализ данных.

The authors declare that there is no conflict of interest. Contribution to the work of the authors: **N.I. Kochetkov** – the idea of the article, data collection and analysis, text correction; **D.L. Nikiforov-Nikishin** – preparation of the article and its final verification, text correction; **S.V. Smorodinskaya** – data collection and analysis; **A.A. Klimuk** – preparation of the article, data collection and analysis.

### ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Doumas B. T. et al. (1981). A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation // *Clinical chemistry*. Vol. 27. No. 10. Pp. 1642-1650.
2. Reiner M. (ed.). (2012). *Standard methods of clinical chemistry*. – Elsevier. Vol. 1.
3. Азатова А. И. и др. *Справочник гидрохимика: рыбное хозяйство* – М.: Агропромиздат. 1991.
4. Lugert V. et al. (2016). A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application // *Reviews in aquaculture*. Vol. 8. No. 1. Pp. 30-42.
5. Schindelin J. et al. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nature methods*. Vol. 9. No. 7. Pp. 676-682.
6. Bankhead P. et al. (2017). QuPath: Open source software for digital pathology image analysis // *Scientific reports*. Vol. 7. No 1. Pp. 1-7.
7. Kochetkov N. et al. (2023). Ability of *Lactobacillus brevis* 47f to Alleviate the Toxic Effects of Imidacloprid Low Concentration on the Histological Parameters and Cytokine Profile of Zebrafish (*Danio rerio*) // *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 24. No. 15. P. 12290.
8. Suvarna K.S., Layton C., Bancroft J.D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques*. – Elsevier health sciences.
9. Sula E. et al. (2020). Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities // *Microscopy Research and Technique*. Vol. 83. No. 4. Pp. 362-369.
10. Kochetkov N.I., Smorodinskaya S.V., Nikiforov-Nikishin D.L. [et al.] (2022). Evaluating possible genotoxicity of three feed additives recommended for aquaculture by using micronucleus test on *Danio rerio* erythrocytes // *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. No. 3. Pp. 48-59. doi 10.24143/2073-5529-2022-3-48-59.
11. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб: Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. – М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983.
12. Knowles S. et al. (2006). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) // *Veterinary Clinical Pathology*. Vol. 35. No. 4. Pp. 434-440.
13. Металлов Г.Ф., Пономарева Е.Н., Сорокина М.Н. [и др.] *Функциональная направленность биохимических процессов у самок гибрида стерлядь×белуга (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758×*Huso huso* Linnaeus, 1758) в репродуктивном цикле* // Доклады Академии наук. 2018. Т. 478. № 6. С. 727-729. doi 10.7868/S0869565218060245.
14. Asadi F. et al. (2006). Serum biochemical parameters of *Acipenser persicus* // *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 32. Pp. 43-47.
15. Васильева Л.М., Судакова Н.В. Пути развития аквакультуры осетровых рыб на современном этапе // Астраханский вестник экологического образования. 2018. № 5. С. 66-76.
16. Артюхин Е.Н. Осетровые. Экология, географическое распространение и филогения. – С.Пб: Изд-во СПбГУ. 2008. 136 с.
17. Барулин Н.В. Стратегия развития осетроводства в Республике Беларусь // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук*. 2017. № 2. С. 82-90.
18. Reinartz R., Bloesch J. (2006). History and perspectives of “living fossils”(sturgeons) in the Danube River // *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*. Vol. 29. No. 3. Pp. 1703-1708.
19. Langlois L. et al. (2021). Fishing for the right probiotic: host–microbe interactions at the interface of effective aquaculture strategies // *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 45. No. 6. P. fuab030.
20. Wanka K.M. et al. (2018). Isolation and characterization of native probiotics for fish farming // *Bmc Microbiology*. Vol. 18. No. 1. Pp. 1-13.
21. Текебаева Ж.Б. и др. Пробиотики и их применение в аквакультуре // *Новости науки Казахстана*. 2020. № 4. С. 170-185.
22. Wang Y.B., Li J.R., Lin J. (2008). Probiotics in aquaculture: challenges and outlook // *Aquaculture*. Vol. 281. No. 1-4. Pp. 1-4.
23. Moroni F. et al. (2021). The effects of nisin-producing *Lactococcus lactis* strain used as probiotic on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, gut microbiota, and transcriptional response // *Frontiers in Marine Science*. Vol. 8. P. 659519.
24. Ruiz M.L. et al. (2020). Histological effects on the kidney, spleen, and liver of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed different concentrations of probiotic

- Lactobacillus plantarum* //Tropical animal health and production. Vol. 52. Pp. 167-176.
25. Marsova M. et al. (2020). The *Lactobacillus brevis* 47 strain protects the murine intestine from enteropathy induced by 5-fluorouracil //Microorganisms. Vol. 8. No. 6. P. 876.
  26. Marsova M. et al. (2018). A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of lactobacillus strains from human microbiota //World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 34. Pp. 1-9.
  27. Simón R. et al. (2021). Mechanisms used by probiotics to confer pathogen resistance to teleost fish // Frontiers in immunology. Vol. 12. P. 653025.
  28. Sumon M.A.A. et al. (2022). Single and multi-strain probiotics supplementation in commercially prominent finfish aquaculture: Review of the current knowledge //Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 32. No. 6. P. 681.
  29. Barišić J. et al. (2018). Evaluation of architectural and histopathological biomarkers in the intestine of brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) challenged with environmental pollution //Science of the total environment. Vol. 642. Pp. 656-664.
  30. De Marco G., Cappello T., Maisano M. (2023). Histomorphological Changes in Fish Gut in Response to Prebiotics and Probiotics Treatment to Improve Their Health Status: A Review //Animals. Vol. 13. No. 18. P. 2860.
  31. Чемагин А.А. Обзор некоторых аспектов экологии стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) // Вестник Астраханского государственного технического университета. 2018. № 2 (66). С. 115-122.
  32. Nikiforov-Nikishin A. et al. (2022). The influence of probiotics of different microbiological composition on histology of the gastrointestinal tract of juvenile *Oncorhynchus mykiss* //Microscopy Research and Technique. Vol. 85. No. 2. Pp. 538-547.
  33. Ramos M. A. et al. (2017). Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia //Animal. Vol. 11. No. 8. Pp. 1259-1269.
  34. Adeoye A. A. et al. (2016). Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome //Aquaculture. Vol. 463. Pp. 61-70.
  35. Adeshina I., Abubakar M.I. O., Ajala B.E. (2020). Dietary supplementation with *Lactobacillus acidophilus* enhanced the growth, gut morphometry, antioxidant capacity, and the immune response in juveniles of the common carp, *Cyprinus carpio* //Fish physiology and biochemistry. Vol. 46. No. 4. Pp. 1375-1385.
  36. Abdelhafiz Y. et al. Fish as the lesser-known counterpart to mammalian models to explore the biofunctionality of polyphenols //Journal of Functional Foods. 2023. Vol. 107. P. 105654.
  37. Wolf J. C. et al. (2015). Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers //Toxicologic pathology. Vol. 43. No. 3. Pp. 297-325.
  38. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
  39. Севрюков А.В. и др. Эффективность применения синбиотического препарата на основе штамма *Vacillus subtilis* B1895 в аквакультуре и ветеринарии //Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2013. № 4 (20). С. 49-56.
  40. Горбунов А.В., Никифоров-Никишин Д.Л., Калита Т.Л., Пономарев А.К. Технологии органической аквакультуры – Москва: ФГУП «Академической научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр «Наука». 2022. 431 с. ISBN 978-5-02-040946-0.
  41. Rombout J.H. W.M. et al. (2011). Teleost intestinal immunology //Fish & shellfish immunology. Vol. 31. No. 5. Pp. 616-626.
  42. Ткачева И.В., Тищенко Н.Н. Применение пробиотических препаратов Субтилис и Суб-про в комбикормах для осетровых рыб // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2011. №. 28. С. 122-123.

## LITERATURE AND SOURCES

3. Agatova A. I. et al. (1991). Hydrochemist's handbook: fisheries – М.: Agropromizdat. (In Russ.)
11. Ivanova N.T. (1983). Atlas of fish blood cells: Comparative morphology and classification of shaped elements of fish blood. – М.: Light and food industry. (In Russ.).
13. G.F. Metallov, E.N. Ponomareva, M.N. Sorokina [et al.] (2018). Functional orientation of biochemical processes in females of the sterlet×beluga hybrid (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758×*Huso huso* Linnaeus, 1758) in the reproductive cycle // Reports of the Academy of Sciences. Vol. 478. No. 6. Pp. 727-729. doi 10.7868/S0869565218060245. (In Russ.).
14. Asadi F. et al. (2006). Serum biochemical parameters of *Acipenser persicus* //Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 32. Pp. 43-47. (In Russ.).
15. Vasilyeva L.M., Sudakova N.V. (2018). Ways of development of aquaculture of sturgeon fish at the present stage //Astrakhan bulletin of ecological education. No. 5. Pp. 66-76. (In Russ.).
16. Artyukhin E.N. Sturgeon. (2008). Ecology, geographical distribution and phylogeny. – S.Pb: Publishing House of St. Petersburg State University. 136 p. (In Russ.).
17. Barulin N.V. (2017). Strategy for the development of sturgeon breeding in the Republic of Belarus //Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. A series of agricultural sciences. No. 2. Pp. 82-90. (In Russ.).
21. Tekebaeva J.B. et al. (2020). Probiotics and their use in aquaculture //Science news of Kazakhstan. No. 4. Pp. 170-185. (In Russ.).
31. Chemagin A.A. (2018). Review of some aspects of sterlet ecology (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) // Bulletin of the Astrakhan State Technical University. No. 2 (66). Pp. 115-122. (In Russ.).
39. Sevryukov A.V. et al. (2013). The effectiveness of the use of a symbiotic drug based on the *Bacillus subtilis* strain in 1895 in aquaculture and veterinary medicine //Current issues of veterinary biology. No. 4 (20). Pp. 49-56. (In Russ.).
40. Gorbunov A.V., Nikiforov-Nikishin D.L., Kalita T.L., Ponomarev A.K. (2022). Technologies of organic aquaculture – Moscow: FSUE “Academic Scientific Publishing, Production, Printing and Book Distribution Center “Nauka”. 431 p. ISBN 978-5-02-040946-0. (In Russ.).
42. Tkacheva I.V., Tishchenko N.N. (2011). The use of probiotic preparations Subtilis and Sub-pro in compound feeds for sturgeon fish // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. No. 28. Pp. 122-123. (In Russ.).

Материал поступил в редакцию/ Received 17.04.2024  
Принят к публикации / Accepted for publication 31.07.2024