

УДК: 611.3-018:615.35/.37:597.554.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.3.211

МИКРОСТРУКТУРА ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО КАНАЛА *CLARIAS GARIEPINUS* НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКОВ

Гринюк Е. С.* – асп. каф. биологии, экологии и гистологии (ORCID: 0000-0001-9997-5630), Мкртчян М. Э. – д-р. вет. н., доц., зав. каф. биологии, экологии и гистологии (ORCID: 0000-0002-2960-3222), Сафронов Д. И. – к. вет. н., доц. каф. биологии, экологии и гистологии (ORCID: 0000-0002-0803-9239), Ильина Л. А. – д-р. биол. н., профессор (ORCID 0000-0003-2789-4844).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

*katyagrinyk4@mail.ru

Ключевые слова: гистологические препараты, *Clarias gariepinus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis*, пищевод, желудок.

Key words: histological preparations, *Clarias gariepinus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis*, esophagus, stomach.

Поступила: 01.08.2023

Принята к публикации: 11.09.2023

Опубликована онлайн: 29.09.2023



РЕФЕРАТ

Африканский клариевый сом является экзотической рыбой, поэтому разведение его в условиях нашего климата осуществляется в установках замкнутого водоснабжения. Микробиота, которая находится, в желудочно-кишечном тракте состоит из различных бактерий и среди них наибольшее распространение имеют энтерококки, лактобактерии, бифидобактерии и др. Они выполняют целый ряд функций, таких как участие в пищеварении, синтез витаминов, предотвращение размножения патогенных микроорганизмов и т. д. Цель нашей работы – изучить влияние биологически активных добавок на степень развития и микроструктуру некоторых органов пищеварительного канала (пищевод и желудок) мальков *Clarias gariepinus*. Материалом для исследования являлись мальки мраморного сома 30- и 60-дневного возраста, которых по принципу пар-аналогов разделили на три опытные группы. В течение месяца, после выклева проводили вскармливание кормом с добавлением сухой лиофилизированной культуры комплекса *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* с *Bifidobacterium lactis*, а также пробиотика с *Enterococcus faecium*. По окончании эксперимента были проведены гистологические исследования органов пищеварительного канала по усовершенствованной нами методике. Результаты гистологических исследований показали, что на фоне применения различных по составу пробиотических кормовых добавок наблюдаются изменения строения стенки пищевода и желудка подопытных мальков. В эпителиальной пластинке стенки пищевода на фоне применения комплекса лакто- и бифидобактерий визуальное возрастает количество слизистых и хлоридных клеток. Степень развития желудочных желез после добавления в корм *Enterococcus faecium* более выражена к 30-дневному возрасту, а у 2-х месячных мальков их количе-

ство визуально больше у рыб на фоне применения комплекса лакто- и бифидобактерий. Изучение микроструктуры органов доказывает, что использование данных биологических добавок положительно влияет на рост и развитие органов пищеварительного тракта африканского клариевого сома.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Развитие аквакультуры и рыболовства активно поддерживается на государственном уровне согласно Постановлению Правительства от 26 июня 2021 года №1023. Данный документ входит в состав государственной программы «Развитие рыбохозяйственного комплекса», которая утверждена Правительством в 2014 году [1].

Нас заинтересовал африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus*), основное преимущество которого является высокие темпы прироста и возможность его разведения в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) [2, 3].

Мясо африканского клариевого сома является источником получения животного белка и незаменимых аминокислот [4].

С каждым годом возрастает интерес предприятий к разведению клариевого сома, а у научных сотрудников – к изучению макро- и микроструктуры органов данных объектов аквакультуры [5, 6].

Одним из важных направлений в исследованиях является изучение морфологии внутренних органов африканского клариевого сома на фоне применения биологических добавок для повышения прироста массы [7].

Микроорганизмы, которые содержатся в различных пробиотических препаратах, могут улучшать пищеварение, способствуя росту нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а также стимулировать обмен веществ [8, 9].

В связи с этим вскармливание комплекса различных биологических добавок является перспективным для обеспечения полноценного формирования органов пищеварительной системы мальков в ранние периоды онтогенеза [10].

Цель нашей работы является изучить степень развития и микроструктуру органов пищеварительной системы мальков *Clarias gariepinus* под влиянием биологических добавок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Экспериментальные исследования были проведены на кафедре биологии, экологии и гистологии в научной экологической и гистологической лабораториях ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектами исследования являлись мальки африканского клариевого сома. В ходе исследования были сформированы три опытные группы, представленные в таблице.

Лيوфилизированные культуры микроорганизмов добавлялись в дозе 2 грамма на 100 г корма и скармливали с первого дня после перехода на внешнее питание в течение одного месяца. При обезвоживании личинок и мальков применялась усовершенствованная нами методика, которую мы адаптировали к исследуемому материалу с применением изопропилового спирта возрастающей концентрации: 60%, 70%, 80% и 90%. Из батареи спиртов был исключен абсолютный

Таблица

Рацион кормления мальков опытных групп

Опытные группы	Корм	Пробиотики	Состав пробиотика
I	Корм «Сом рост 39/11 компании Акватория»	Закваска №1	<i>Enterococcus faecium</i>
II		Закваска №2	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>
III (контроль)		—	—

спирт. Данный протокол проводки позволяет осуществить постепенную дегидратацию образца, сохранить гистоструктуры тканей и органов, не подвергая их травматизации и предупредить пересушивание проб.

Просмотр и фотографирование гистологических препаратов осуществлялось при помощи микроскопа Микмед-5 с цифровой камерой для визуализации.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Результаты наших исследований гистологических препаратов пищевода показали, что на 30-й день исследования у мальков опытных групп сохранено четкое строение всех оболочек, структуры органа хорошо визуализируются (рис.1).

Эпителиальная пластинка слизистой оболочки пищевода представлена многослойным плоским эпителием с большим количеством мукоцитов, которые секретируют слизь. Подслизистая основа образована рыхлой волокнистой соединительной тканью с развитой сетью пучков коллагеновых волокон. Мышечная оболочка состоит из поперечнополосатой мышечной ткани с хорошо выраженной исчер-

ченностью. По строению представлена внутренним продольным слоем и наружным циркулярным слоем. Наружная оболочка пищевода в полостях представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, покрытой мезотелием.

На втором месяце после выклева, у представителей второй опытной группы на фоне применения комплекса лакто- и бифидобактерий отмечается увеличение количества хлоридных клеток, по сравнению с первой опытной группой и контролем (рис 2).

Это крупные клетки с оксифильной цитоплазмой и центрально расположенным базофильно окрашенным ядром (рис. 3).

Визуально их параметры колеблются в пределах 20–25 мкм. Они отвечают за осморегуляцию.

При исследовании кардиального отдела желудка, было установлено, что в нем выделяют слизистую оболочку, представленную однослойным однорядным призматическим железистым эпителием (рис. 4).

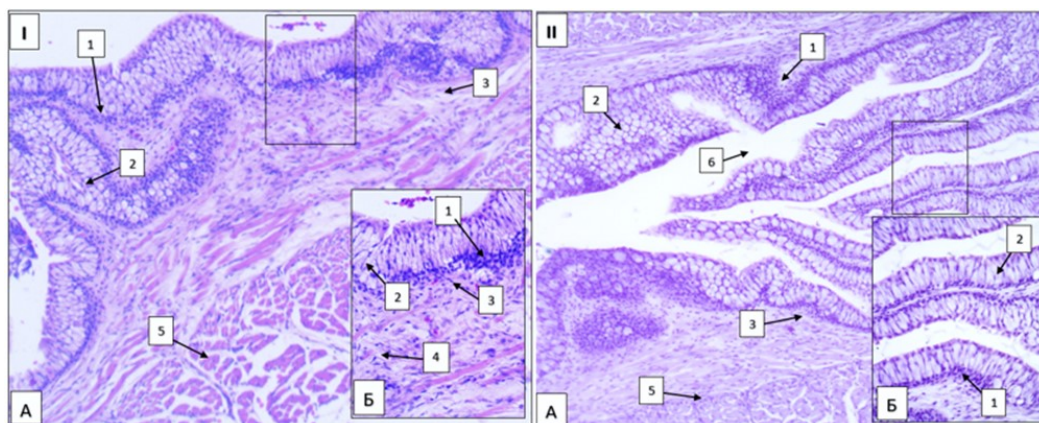


Рис. 1 – Стенка пищевода мальков I и II опытных групп клариевого сома на 30-й день. 1 – многослойный плоский эпителий; 2 –слизистые клетки; 3 – рыхлая волокнистая соединительная ткань; 4 – пучки коллагеновых волокон, 5 – мышечная оболочка, 6 - просвет пищевода. Окраска: гематоксилином Джилла и 1,0% спиртовым эозином. Увеличение: А - x100, Б - x400.

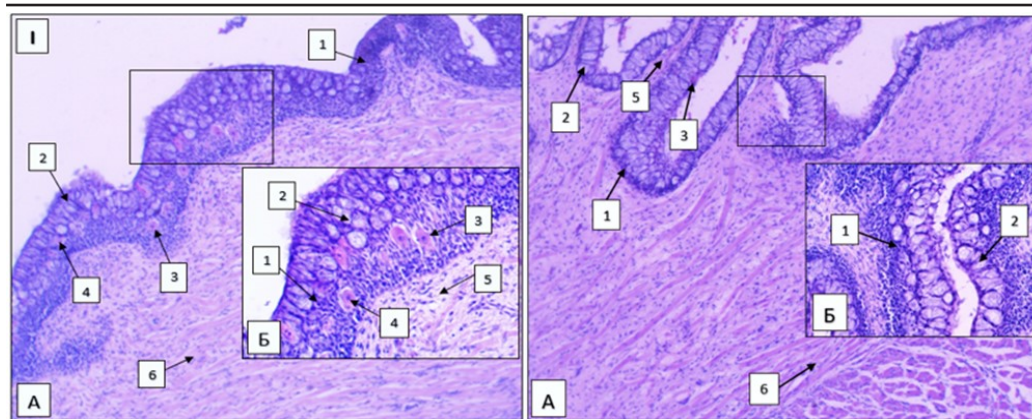


Рис. 2. Стенка пищевода мальков I и II опытных групп клариевого сома на 60-й день. 1 – многослойный плоский эпителий; 2 –слизистые клетки; 3 – хлоридные клетки; 4 – ядра хлоридных клеток; 5 – рыхлая волокнистая соединительная ткань; 6 –мышечная оболочка. Окраска: гематоксилином Джилла и 1,0% спиртовым эозином. Увеличение: А - x100, Б - x400.

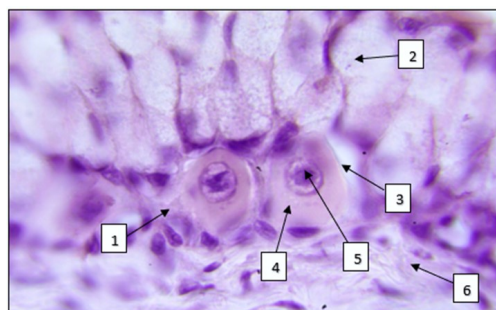


Рис. 3. Клетки эпителия слизистой пищевода. 1 – многослойный плоский эпителий; 2 –слизистые клетки; 3 – хлоридные клетки; 4 – цитоплазма хлоридных клеток; 5 – ядра хлоридных клеток; 6 – рыхлая волокнистая соединительная ткань. Окраска: гематоксилином Джилла и 1,0% спиртовым эозином. Увеличение: А - x1000.

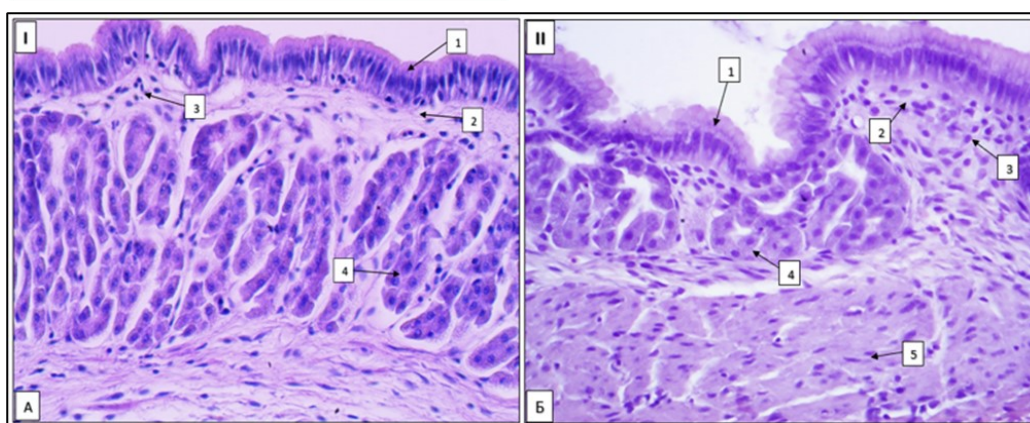


Рис. 4. Кардиальный отдел желудка клариевого сома мальков I и II опытных групп на 30-й день после выклева. Стрелками обозначены: 1 – эпителиальная пластинка; 2 – рыхлая волокнистая соединительная ткань; 3 –клетки фибробластического ряда; 4 – железы стенки желудка, 5 - мышечная оболочка. Окраска: гематоксилином Джилла и 1,0% спиртовым эозином. Увеличение: А, Б - x400.

В подслизистой основе, образованной рыхлой волокнистой соединительной тканью с преобладанием клеток фибробластического ряда, находятся трубчатые железы, состоящие из одного слоя железистых клеток. При изучении стенки желудка, в первый месяц визуальное желудочные железы более развиты у мальков первой опытной группы, получающих с кормом *Enterococcus faecium*.

По сравнению с контролем и первой опытной группой ко второму месяцу эксперимента у мальков *Clarias gariepinus* на фоне применения с кормом комплекса лакто- и бифидобактерий визуальное отмечается увеличение количества желудочных желез и утолщение мышечной оболочки стенки желудка (рис. 5).

На гистологических препаратах отчетливо просматриваются желудочные ямки, в которые открываются протоки желудочных желез, а также между ними сформированные поля желудка, которые образованы волокнистой соединительной тканью.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Результаты наших исследований показали, что при изучении микроструктуры пищевода и желудка мальков африканского клариевого сома наблюдается положительная тенденция формирования органов пищеварительного канала, как при добавлении в корм биологически активных добавок, содержащих *Enterococcus faecium*, так и комплекса лакто- с бифидобактериями.

В эпителиальной пластинке слизистой оболочки пищевода отмечается увеличение количества хлоридных, отвечающих за водно-солевой баланс, и слизистых клеток.

В стенке желудка отчетливо дифференцируются складки, ямки и поля. Клетки железистого эпителия призматической формы с крупными овальными ядрами и четко выраженными границами. У мальков африканского сома подопытных групп по сравнению с контрольной группой к двухмесячному возрасту визуальное отмечается увеличение количества желудочных желез и утолщение мышечной

оболочки стенки желудка на фоне применения с кормом комплекса лакто- и бифидобактерий, что свидетельствует об ускорении у них процессов формирования органов пищеварительного канала.

MICROSTRUCTURE OF THE DIGESTIVE TUBE ORGANS OF *CLARIAS GARIEPINUS* DURING THE APPLICATION OF PROBIOTICS

Grinuyk E. S.¹ - Postgraduate student of the Department of Biology, Ecology and Histology (ORCID: 0000-0001-9997-5630), **Mkrtchyan M. E.**¹ - Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Biology, Ecology and Histology (ORCID: 0000-0002-2960-3222), **Safronov D.I.**¹ - Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology, Ecology and Histology, (ORCID: 0000 - 0002 - 0803 - 9239), **Ilna L.A.**² - Doctor of Biological Sciences, Professor, (ORCID 0000-0003-2789-4844)

¹St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

²St. Petersburg State Agrarian University
*katyagrinyk4@mail.ru

ABSTRACT

The African clary catfish is an exotic fish, so its breeding in our climate is carried out in closed water supply systems. The microbiota that is located in the gastrointestinal tract consists of various bacteria, and among them the most common are enterococci, lactobacilli, bifidobacteria, etc. They perform a number of functions, such as participation in digestion, synthesis of vitamins, preventing the proliferation of pathogenic microorganisms, etc. d.

The purpose of our work is to study the effect of dietary supplements on the degree of development and microstructure of the digestive canal organs of *Clarias gariepinus* fry. The material for the study was marbled catfish fry 30 and 60 days old, which were divided into three experimental groups according to the principle of analogue pairs. For a month after hatching, they were fed with food with the addition of a dry lyophilized culture of the *Lactobacillus delbrueckii*

ssp complex. *bulgaricus* with *Bifidobacterium lactis*, as well as a probiotic with *Enterococcus faecium*. At the end of the experiment, histological studies of the digestive canal organs were carried out using our improved method.

The results of histological studies showed that, against the background of the use of probiotic feed additives of various compositions, changes in the structure of the wall of the esophagus and stomach of experimental fry are observed. In the epithelial plate of the esophageal wall, against the background of the use of a complex of lacto- and bifidobacteria, the number of mucous and chloride cells visually increases. The degree of development of gastric glands after adding *Enterococcus faecium* to the feed is more pronounced by 30 days of age, and in 2-month-old fry their number is visually greater in fish using a complex of lacto- and bifidobacteria. The study of the microstructure of organs proves that the use of these biological additives has a positive effect on the growth and development of the digestive tract organs of the African clariid catfish.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Правительство утвердило дополнительные меры господдержки рыбного промысла: Постановление от 26 июня 2021 года №1023 // Правительство России [сайт]. – URL <http://government.ru/news/42632/> (Дата обращения: 29.07.2023).
2. Александрова, У. С. Выращивание нетрадиционных объектов аквакультуры в условиях установок с замкнутым водоиспользованием / У. С. Александрова, А. В. Ковалев, К. Д. Матишов // Наука Юга России. – 2018. – № 14. – С. 74–81.
3. Власов, В. А. Рост и развитие африканского сома (*Clarias gariepinus* Burchell) в зависимости от условий кормления и содержания / В. А. Власов // Известия ТСХА. – 2009. – № 3. – С. 148–153.
4. Романова, Е. М. Адаптивная реакция тканей желудка африканского сома на микробиоту с пробиотическими свойствами / Е. М. Романова, Е. В. Спирина, В. Н. Любомирова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 1(53). – С. 117–123.
5. Чебасов, Л. В. Африканский сом кларис на приусадебных участках / Л. В. Чебасов, С. Б. Подушка // Рыбоводство и рыболовство. – 2001. – № 2. – С. 40.
6. Шинкаревич, Е. Д. Воспроизводство клариевого сома при выращивании в установке замкнутого водоснабжения / Е. Д. Шинкаревич, Н. Б. Рыбалова, Т. А. Нечаева // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 16 ноября 2018 года – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская гос. акад. ветеринарной медицины, 2018. – С. 117–119.
7. Романова, Е. М. Адаптивная реакция тканей желудка африканского сома на микробиоту с пробиотическими свойствами / Е. М. Романова, Е. В. Спирина, В. Н. Любомирова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 1(53). – С. 117–123.
8. Зуенко, В. А. Влияние кормового пробиотика на основе бактерий *Bacillus subtilis* на пищеварение рыб при садковом выращивании / В. А. Зуенко, К. С. Лактионов, И. В. Правдин, Л. З. Кравцова, Н. А. Ушакова // Вопросы ихтиологии. – 2017. – Т. 57. – № 1. – С. 112–117.
9. Йылдырым, Е. А. Метапробиотики вместо антибиотиков / Е. А. Йылдырым Л. А., Ильина, Д. Г. Тюрина, А. В. Дубровин, В. А. Филиппова, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков, Г. Ю. Лаптев, В. А. Манукян, Н. В. Тарлавин, В. Х. Меликиди, С. Н. Биконя, К. В. Васильева // Птицеводство. – 2020. – №11. – С.33–39.
10. Лаптев, Г. Ю. Полногеномное секвенирование штаммов для производства пробиотических препаратов / Г. Ю. Лаптев, Л. А. Ильина // Материалы Международной научно-практической конференции "Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных", Москва, 21–22 ноября

2019 года. – Москва: Сельскохозяйственные технологии, 2019. – С. 59-66.

REFERENCES

1. The Government approved additional measures of state support for fisheries: Decree of June 26, 2021 No. 1023 // Government of Russia [website]. –URL <http://government.ru/news/42632/> (Date of access: 07/29/2023).
2. Alexandrova, U.S., Kovalev, A.V., Matishov, K.D. Growing non-traditional aquaculture objects in conditions of installations with closed water use // Science of the South of Russia. - 2018. - No. 14. - P. 74–81.
3. Vlasov, V. A. Growth and development of the African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell) depending on the conditions of feeding and keeping / V. A. Vlasov // Izvestiya TSHA. - 2009. - No. 3. - S. 148-153.
4. Romanova, E.M., Spirina E.V., Lyubomirova V.N. Adaptive response of African catfish stomach tissues to microbiota with probiotic properties // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2021. - No. 1 (53). - S. 117-123.
5. Chebasov, L. V. African catfish clarias on household plots / L. V. Chebasov, S. B. Pillow // Fish breeding and fishing. - 2001. - No. 2. - P.40.
6. Shinkarevich, E. D., Rybalova N. B., Nechaeva, T. A. Reproduction of clariid catfish when grown in a recirculating water supply system // Proceedings of the national scientific conference of faculty, researchers and graduate students SPbGAVM, St. Petersburg, November 16, 2018 - St. Petersburg: St. Petersburg State University. acad. veterinary medicine, 2018. - S. 117-119.
7. Romanova, E. M., Spirina E. V., Lyubomirova V. N. Adaptive response of African catfish stomach tissues to microbiota with probiotic properties // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2021. - No. 1 (53). - S. 117-123.
8. Zuenko, V. A. Effect of feed probiotic based on *Bacillus subtilis* bacteria on fish digestion in cage culture / V. A. Zuenko, K. S. Laktionov, I. V. Pravdin, L. Z. Kravtsova, N. A. Ushakova // Issues of ichthyology. - 2017. - T. 57. - No. 1. - P. 112-117.
9. Yildirim, E. A. Metaprobiotics instead of antibiotics / E. A. Yildirim L. A., Ilyina, D. G. Tyurina, A. V. Dubrovin, V. A. Filippova, N. I. Novikova, V. N. Bolshakov, G. Yu. Laptev, V. A. Manukyan, N. V. Tarlavin, V. Kh. Melikidi, S. N. Bikonya, K. V. Vasilyeva // Poultry farming. - 2020. - No. 11. –S.33-39.
10. Laptev, G. Yu. Whole genome sequencing of strains for the production of probiotic preparations / G. Yu. Laptev, L. A. Ilyina // Proceedings of the International scientific and practical conference "Molecular genetic technologies for the analysis of gene expression productivity and resistance to animal diseases", Moscow, November 21–22, 2019. - Moscow: Agricultural technologies, 2019. - P. 59-66.