

УДК: 639.3.043:597.442.014.46

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.215

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «ЭКОФЛОР» НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КИШЕЧНИКА СТЕРЛЯДИ

Тарлева А.Ф.^{1*} – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экологии рыб (ORCID 0000-0002-3247-525X); Микряков Д.В.¹ – зав. лабораторией иммунологии, кандидат биологических наук (ORCID 0000-0001-9086-1688); Жандалгарова А. Д.² – канд. с/х наук, доц. кафедры аквакультура и водные биоресурсы (ORCID 0000-0002-8379-9748).

¹ ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН»

² ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»

* ns_tarleva@ibiw.ru

Ключевые слова: стерлядь, пробиотик «Экофлор», протеолитическая активность, слизистая оболочка кишечника, химус.

Keywords: sterlet, probiotic "Ecoflor", proteolytic activity, intestinal mucosa, chyme.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами» (соглашение № 22-26-20111 от 22.03.2022 г.).

Поступила: 08.12.2023

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Исследовано влияние пробиотического препарата «Экофлор» на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди. Этот пробиотик представляет собой консорциум штаммов лакто- и бифидобактерий: *B. bifidum*, *B. longum* и *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, иммобилизованных на углерод-минеральном сорбенте СУМС-1. Для эксперимента рыб разделили на 4 группы: контрольную и три опытных. Опытным группам рыб давали корм с добавлением пробиотика в количестве 2, 4, 6 г/кг корма. Отбор проб проводили перед началом эксперимента, на 7, 14, и 21 сутки. Материал для исследования отбирали у 5 особей из каждой группы. Для получения ферментативно активных препаратов кишечника рыб на стекле ледяной бани освобождали от жира и сушили. После разреза химус собирали с помощью шпателя и скребка, затем снимали слизистую оболочку. Суммарную активность протеиназ вычисляли по отношению разности показаний спектрофотометра пробы с субстратом и холостой пробы к производству массы кишечника (г) на время инкубации (мин) $EA = \Delta E425 / (g \times \text{мин})$. Определения проводили в трех повторностях. Анализ данных показал стимулирующий эффект препарата на протеолитическую активность. Максимальное увеличение ферментативной активности в опытных группах по сравнению с контрольной зафиксировано на 7 сут эксперимента. Обнаружено более значительное увеличение протеолитической активности слизистой оболочки

кишечника, по сравнению с химусом. Вначале кормления установлено стимулирующее влияние препарата во всех опытных группах по сравнению с контролем. В дальнейшие сроки наблюдения эффективность действия пробиотика значительно снизилась.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одна из основных задач индустриального выращивания – быстрое достижения объектами аквакультуры товарной массы. В таких условиях обитания с высокой плотностью посадки, перепадами температуры воды и концентрации кислорода, частыми процессами взвешивания и сортировки, рыбы испытывают стресс. Это приводит к увеличению содержания в воде органических веществ и условно-патогенных бактерий. В неспецифической защите организма рыб от неблагоприятных воздействий важную роль играет пищеварительная система [1]. Изменения состава микрофлоры воды и использование искусственных кормов вызывают нарушения в микробиоценозе кишечника рыб. Как следствие снижаются темпы роста и развития, а также устойчивость к возбудителям различных заболеваний.

В рыбоводстве для нормализации микробиоценоза кишечника и профилактики инфекционных болезней широко используют различные пробиотики [2; 3; 4]. Их добавление в корм оказывает положительное влияние на микрофлору желудочно-кишечного тракта и функционирование организма рыб. Также, использование пробиотиков связано со снижением эффективности антибиотиков [5; 6; 7; 8]. В рыбоводстве пробиотики применяют с 80-х годов прошлого века [9]. В нашей стране разработаны несколько видов пробиотиков, но наибольшее количество на основе бактерий рода *Bacillus* [10; 11]. В последние десятилетия проведено много исследований влияния на эффективность различных пробиотических препаратов при выращивании объектов аквакультуры. У рыб изучают темпов роста и развития, скорости массонакопления, выживаемости, устойчивости к возбудителям инфекционных заболеваний и т.д. [4, 12; 13; 14]. Однако, недостаточно исследований воздействия различных по составу пробиотиков на процессы пищеварения у рыб. Исследована активность пищевари-

тельных ферментов стерляди и карпа под воздействием пробиотических препаратов на основе *B. subtilis* [15; 16].

Препараты разных производителей отличаются по пробиотическим способностям восстанавливать расстройства микробиоты. Кроме симбионтных бактерий используют энтеросорбенты, обеспечивающие высокую биодоступность и доставку пробиотических бактерий в кишечник рыб. В связи с этим возрастает потребность изучения иммобилизованных форм пробиотических препаратов для дальнейшего использования в условиях индустриальной аквакультуры. В нашем исследовании использован пробиотический препарат «Экофлор», представляющий собой консорциум штаммов лакто- и бифидобактерий: *B. bifidum*, *B. longum* и *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, иммобилизованных на углерод-минеральном сорбенте СУМС-1.

Цель работы – исследование влияния пробиотического препарата «Экофлор» на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в середине мая – начале июне на экспериментальной базе «Сунога» Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН на годовиках стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) средней массой $84,0 \pm 1,76$ г. и длиной (*TL*) $23,4 \pm 0,44$ см. После облова зимовалов рыб в течении 2 недель содержали в проточных бассейнах. Потом для эксперимента разделили на 4 группы: контрольную и три опытных.

Стерлядь кормили 6 раз в сутки кормом для рыб (SUPREME-15 3,0 мм) фирмы «Alltech Coppens». Согласно данным производителя в состав этого вида корма входят белки (46%), жиры (15%), клетчатка (1,4%), зола (5,1%), фосфор (0,85%) и витамин А (10000 МЕ/кг). В ходе эксперимента использовали одинаковые корма

одной серии. Контрольная группа (I) – простой корм, а опытные с добавлением пробиотического препарата «Экофлор»: II – 2, III – 4, IV – 6 г/кг корма путем нанесения на гранулы желатиновой суспензии препарата, с последующим подсушиванием. Отбор проб проводили перед началом эксперимента, на 7, 14 и 21 сут. Материал для исследования отбирали у 5 особей из каждой группы. У рыб вскрывали брюшную полость, изымали кишечник и полученные пробы замораживали при температуре -18...-22°C.

В лабораторных условиях пробы размораживали при комнатной температуре. Для получения ферментативно активных препаратов кишечника рыб на стекле ледяной бани освобождали от жира и сушили. После разреза химус собирали с помощью шпателя и скребка, затем снимали слизистую оболочку. Полученные навески химуса и слизистой оболочки кишечника гомогенизировали с раствором Рингера pH 7,5 (103 mMNaCl, 1,9 mMKCl, 0,45 mM CaCl₂, 1,4 mM MgSO₄) при температуре 0-4°C, для холоднокровных, в разведении 1:50. Суммарную активность протеиназ (активность трипсина КФ 3.4.21.4, химотрипсина КФ 3.4.21.1 и дипептидаз КФ 3.4.13.18) определяли в 0,3%-ного растворе азо-казеина в трис-буфере, pH 7,5 [17] инкубируя 60 мин при 20°C. Реакцию останавливали добавлением 0,3 M раствора трихлоруксусной кислоты. Осадок удаляли с помощью центрифугирования. Активность ферментов определяли спектрофотометрически. Активности ферментов вычисляли по отношению разности показаний спектрофотометра пробы с субстратом и холостой пробы к произведению массы кишечника (г) на время инкубации (мин) $EA = \Delta E425 / (г \times мин)$. Определения проводили в трех повторностях.

Статистическую обработку данных проводили при помощи стандартного пакета прикладных программ Statistica 10, MS Excel 2010. При сравнении результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Различия считали значимыми при $p \leq 0,01$ и $0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты показали, что протеолитическая активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди изменялась в течении всего эксперимента (таблица). Во все сроки наблюдения исследуемый показатель во всех опытных группах был выше, чем у рыб перед началом опыта, за исключением данных протеолитической активности слизистой на 14 сут эксперимента у особей II и 21 сут III группы.

Через 7 сут наблюдения активность протеиназ слизистой и химуса опытных рыб превышала показатели контрольных особей. В этот срок зафиксировано максимальное увеличение активности на 26-68% исследуемых ферментов слизистой и химуса на 35-38%. После двух недель эксперимента исследуемые показатели II и III группы были ниже контрольных значений, тогда как в IV – выше. Стоит отметить, что значимые отличия зафиксированы только в снижении активности протеиназ слизистой у стерляди III группы. На 21 сут после начала опыта зафиксировано значительное снижение активности протеиназ химуса во всех группах и слизистой в IV группе по сравнению с контролем. Однако у рыб II и III групп отмечено усиление активности пептидаз слизистой. Максимальное снижение исследуемого показателя слизистой (на 35,26%) установлено на 14 сут у особей III группы, а химуса (26,43%) в конце эксперимента во II группе.

Рыбам присущи все известные в настоящее время типы пищеварения. Одна из основных характеристик процессов пищеварения – протеолитическая активность пищеварительного тракта рыб. Процесс переваривания белковых компонентов пищи у рыб комплексный. Он включает в себя деполимеризацию ферментами энтеральной микробиоты и объектов питания. Большое значение в жизнедеятельности рыб играют протеолитические ферменты, разлагающие белки и другие белковые компоненты, доминирующие в пище рыб [18; 19; 20]. Расщепление белковых компонентов в желудочно-кишечном тракте

происходит с помощью различных ферментов. К протеолитическим ферментам кишечника рыб относят сериновые эндопептидазы панкреатического происхождения: трипсин и химотрипсин [21]. Также в кишечнике активно функционируют эластаза, аминокислотиды и карбоксипептидазы. Гидролиз белков завершают кишечные дипептидазы, функционирующие на мембранах и в цитозоле энтероцитов [18; 19; 20; 22].

Высокие исследуемые показатели опытных рыб, зафиксированные через 7 сут свидетельствуют об усилении активности пептидаз слизистой и химуса под влиянием пробиотического препарата «Экофлор». Пищеварительная активность увеличивалась по мере повышения дозировки препарата. Вероятно, более низкие

дозировки препарата оказывают не достаточное влияние на пищеварение. На это указывают полученные данные в последующий срок наблюдения. Через 2 недели после начала эксперимента положительная динамика отмечена только у стерляди IV группы. На 21 сут произошло снижение активности пептидаз слизистой у особей IV группы и химуса всех опытных рыб. Однако стоит отметить более высокие показатели II и III опытных групп по сравнению с контролем. Возможно, по мере накопления в организме исследуемый препарат может оказывать как положительно, так и отрицательное влияние на механизм активации протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб. Проверка данного предположения требует проведение более длительного исследования.

Таблица 1 – Активность пептидаз слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди

Группы	Слизистая	Химус
Контроль перед опытом	9305,75	10020,02
I группа контроль (7сут)	<u>7439,74±0,03</u> 100 %	<u>10301,93±0,02</u> 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (7 сутки)	<u>9359,20±0,01*</u> + 25,80%	<u>13922,18±0,02**</u> +35,15%
III группа с добавкой 4 гр. (7 сут)	<u>11604,25±0,1</u> + 56,04%	<u>14247,76±0,03**</u> +38,30%
IV группа с добавкой 6 гр. (7 сут)	<u>12464,36±0,003**</u> + 67,54%	<u>14223,46±0,02**</u> +38,07%
I группа контроль (14 сут)	<u>10267,91±0,03</u> 100 %	<u>13790,98±0,01</u> 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (14сут)	<u>9918,04±0,03</u> -3,41 %	<u>12619,86±0,03</u> -8,49 %
III группа с добавкой 4 гр. (14 сут)	<u>6647,66±0,004**</u> -35,26%	<u>13718,09±0,02</u> -0,53%
IV группа с добавкой 6 гр. (14 сут)	<u>11643,12±0,03</u> +17,39%	<u>13941,62±0,03</u> +1,09 %
I группа контроль (21сут)	<u>9417,52±0,01</u> 100 %	<u>13805,56±0,02</u> 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (21 сут)	<u>10141,57±0,003**</u> +7,69 %	<u>10156,146±0,04**</u> -26,43%
III группа с добавкой 4 гр. (21 сут)	<u>11604,25±0,05</u> +23,22%	<u>12240,83±0,023</u> -11,33%
IV группа с добавкой 6 гр. (21 сут)	<u>6652,52±0,03**</u> -29,36 %	<u>11774,33±0,03*</u> -14,71

*Примечание. Над чертой – уровень ферментативной активности, под чертой – изменение протеолитической активности, % от контроля, принятого за 100. * – значимые различия между опытом и контролем при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.*

Обнаруженные различия в уровне ферментативной активности также могут быть связаны с тем, что рыбы начали активно питаться после зимовки. Известно, что во время продолжительного голодания снижается общая протеолитическая активность [23], а после возобновление питания значительно увеличивается [24]. На колебания активности ферментов, возможно, оказывает влияние изменения связанные со стрессирующими факторами (пересадка, отлов, хэндлинг и т.п.). Схожее по срокам с начала эксперимента изменение активности пептидаз слизистой оболочки и химуса у контрольной и опытной групп стерляди ранее отмечено в наших исследованиях [25 а, б].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ полученных результатов показал изменение протеолитической активности слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди во время эксперимента. В начале кормления зафиксировано стимулирующее влияние препарата «Экофлор» во всех опытных группах по сравнению с контролем. В дальнейшие сроки наблюдения эффективность действия пробиотика значительно снизилась. Исходя из полученных данных и более ранних наблюдений применение пробиотиков, можем рекомендовать чередовать кратковременные периоды применения пробиотиков с их отсутствием в рационе стерляди, для стимулирования протеолитических ферментов кишечника стерляди.

EFFECT OF PROBIOTIC PREPARATION "ECOFLO" ON PROTEOLYTIC ACTIVITY OF STERLET INTESTINE

Tarleva A. F. ^{1*} – Senior Researcher, Laboratory of Fish Ecology, candidate of Biology (ORCID 0000-0002-3247-525X); **Mikryakov D. V.** ¹ – Head of Laboratory Immunology, candidate of Biology (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Zhandalgarova A. D.** ² – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Aquaculture and Water Bioresources (ORCID 0000-0002-8379-9748).

¹ Papanin Institute for Biology of Inland

Waters, Russian Academy of Sciences

² Astrakhan State Technical University

* ns_tarleva@ibiw.ru

Financing: *The materials were prepared within the framework of the regional competition of the Russian Science Foundation in 2021 "Conducting foundation scientific research and search for scientific research by small individual scientific groups" (Agreement No. 22-26-20111 of 22.03.2022).*

ABSTRACT

The effect of the probiotic preparation "Ecoflor" on proteolytic activity of the intestinal mucosa and chyme of sterlet was studied. This probiotic is a consortium of strains of lacto- and bifidobacteria: *B. bifidum*, *B. longum* and *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, immobilized on carbon-mineral sorbent SUMS-1. For the experiment, fish were divided into 4 groups: control and three experimental groups. Experimental groups of fish were given feed with probiotic in the amount of 2, 4, 6 g/kg of feed. Sampling was carried out before the beginning of the experiment, on 7, 14, and 21 days. Material for the study was taken from 5 individuals from each group. To obtain enzymatically active preparations, fish intestines were freed from fat and dried on ice bath glass. After incision, the chyme was collected with a spatula and scraper, then the mucous membrane was removed. The total proteinase activity was calculated by the ratio of the difference between the spectrophotometer readings of the sample with substrate and the blank sample to the product of the intestinal weight (g) by the incubation time (min) $EA = \Delta E425 / (g \times min)$. Determinations were performed in three repetitions. Data analysis showed the stimulating effect of the preparation on proteolytic activity. The maximum increase in enzymatic activity in the experimental groups compared to the control group was recorded on the 7th day of the experiment. A more significant increase in proteolytic activity of the intestinal mucosa compared to chyme was found. At the beginning of feed-

ing, the stimulating effect of the preparation was found in all experimental groups compared to the control. In further observation periods the effectiveness of the probiotic significantly decreased.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кузьмина, В. В. Защитная функция пищеварительного тракта рыб / В. В. Кузьмина // Вопросы ихтиологии. – 1995. – Т. 35. – № 1. – С. 86-93. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186>
2. Щербина, М. А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре / М. А. Щербина, Е. А. Гамыгин. – Москва: Издательство «ВНИРО», 2006. – 360 с.
3. Шульга, Е. А. Пробиотики в кормлении осетровых рыб при товарном выращивании. / Е. А. Шульга // Специальность 03.00.10 - ихтиология Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Астраханский государственный технический университет. – Астрахань, 2009. – С. 24.
4. Pavlov, D. S. The ProStor and Ferm KM-1 complex probiotic additives – innovation biotechnological preparations for enhancing the quality of domestic fish mixed feed / D. S. Pavlov, N. A. Ushakova, V. G. Pravdin et al. // Nova Sci. Publ. – 2014. – V. 20. – P. 239-244.
5. Noga, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment / E. J. Noga // N.Y.: «Mosby-Year Book», 1995. – 321 p.
6. Пономарев, С. В. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России / С. В. Пономарев, Е. А. Гамыгин, С. И. Никоноров, Е. Н. Пономарева, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бухарева. – Астрахань: Издательство «Нова плюс», 2002. – 264 с. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186>
7. Юхименко, Л. Н. Применение антибактериальных препаратов и профилактика бактериальной геморрагической септицемии (аэромоноза) в рыбоводных хозяйствах / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан, Л. И. Бычкова // Рыбное хозяйство. – Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре. – 2000. – Вып. 2. С. 1-6. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=34841337>
8. Малик, Н. И. Ветеринарные пробиотические препараты / Н. И. Малик, Н. А. Панин // Ветеринария. – 2001. – № 1. – С. 46-51. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=33825958>
9. Мирзоева, Л. М. Применение пробиотиков в аквакультуре / Л. М. Мирзоева // Рыбное хозяйство. Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре. – 2001. – Вып. 2. – С. 23-30. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=42912315>
10. Бурлаченко, И. В. Перспективные пробиотики для осетровых рыб / И. В. Бурлаченко, Н. В. Судакова, Е. И. Балакириев, Д. А. Мордовцев, Е. В. Малик // Рыбное хозяйство. – 2006. – № 3. – С. 64-65. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735>
11. Грозеску, Ю. Н. Биологическая эффективность применения пробиотика субтилис в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб / Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева, Е. А. Шульга // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т. 11. – № 1. – С. 42-45. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347>
12. Жандалгарова, А. Д. Пробиотики нового поколения как средство улучшения рыбоводно-биологических показателей молоди осетровых рыб / А. Д. Жандалгарова, А. А. Бахарева // Вестник ветеринарии. – 2015. – № 1 (72). – С. 59-61. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23022677>
13. Скларов, В. Я. Перспективы применения препарата пробиотик “Субтилис” в рыбоводстве для обработки икры, эмбрионов и личинок рыб на примере карася *Carassius carassius* и карпа *Cyprinus carpio* (отряд карпообразные *Cypriniformes*, семейство карповые *Cyprinidae*) / В. Я. Скларов, В. Р. Микряков, Г. В. Кулаков, Е. Б. Кудряшова, М. Б. Вайнштейн // Вопросы рыболовства. – 2004. – Т. 5. – № 3 (19). – С. 514-521. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42393683>
14. Романова, Е. М. Адаптивная реакция тканей желудка африканского сома на микробиоту с пробиотическими свойствами

- ми / Е. М. Романова, Е. В. Спирина, В. Н. Любомирова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 1 (53). – С. 117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396>
- Romanova, E. M. Adaptive reaction of stomach tissues of African catfish to microbiota with probiotic properties / E. M. Romanova, E. V. Spirina, V. N. Lyubomirova // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2021;1(53):117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396> (In Russ.)
15. Кузьмина, В. В. Влияние антибактериальных препаратов и пробиотиков на активность ферментов слизистой оболочки кишечника карпа *Cyprinus carpio*. 2. Протеиназы / В. В. Кузьмина, Д. В. Микряков, М. В. Шалыгин, К. В. Гаврилин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 4. – С. 18-22. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=17949141>
16. 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. DOI: 10.7868/S0042875217010179. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28172382>
17. Alarcón, F. J. Digestive proteases during development of larvae of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) / F. J. Alarcón, T. F. Martínez, P. Barranco, T. Cabello, M. Díaz, F. J. Moyano // Insect Biochemistry and Molecular Biology. – 2002. – V. 32. – P. 265-274.
18. Кузьмина, В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб / В. В. Кузьмина – Москва: «Наука», 2005. – 300 с. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19491959>
19. Кузьмина, В. В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации / В. В. Кузьмина – Москва: «Полиграф-Плюс», 2015. – 260 с. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29375264>
20. Кузьмина, В. В. Процессы пищеварения у рыб. Новые факты и гипотезы / В. В. Кузьмина – Ярославль: «Филигрань», 2018. – 300 с. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188>
- Kuzmina, V. V. Digestive processes in fish. New facts and hypotheses / V. V. Kuzmina – Yaroslavl: “Filigree”, 2018:300. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188> (In Russ.)
21. Антонов, В. К. Химия протеолиза / В. К. Антонов – Москва: «Наука», 1983. – 367 с.
22. Уголев, А. М. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб / А. М. Уголев, В. В. Кузьмина – СПб.: «Гидрометеиздат», 1993. – 238 с.
23. Abolfathi, M. Compensatory growth in juvenile roach *Rutilus rutilus*: effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area / M. Abolfathi, A. Hajimoradloo, R. Ghorbani, A. Zamani // J. Fish Biol. – 2012. – V. 81, – № 6. – P. 1880-1890.
24. Caruso, G. Changes in digestive enzyme activities of red porgy *Pagrus pagrus* during a fasting-refeeding experiment / G. Caruso, M. G. Denaro, R. Caruso, F. De Pasquale, L. Genovese, G. Maricchiolo // Fish Physiol Biochem. – 2014. – V. 40, – № 5. – P. 1373-1382.
- 25(a). Kuzmina, V. V. Effect of Dexamethasone on Activity of Glycosidases and Proteinases of Intestine of Sterlet *Acipenser ruthenus* / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Journal of Ichthyology. – 2011. – Vol. 51, – No. 8. P. 652-657.
- 25(б). Kuzmina, V. V. The influence of testosterone on activity of glycosidases and proteinases in the intestine of the sterlet (*Acipenser ruthenus*) / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Biology Bulletin. – 2011. – Vol. 38, – No. 5. – P. 487-492.

REFERENCES

1. Kuzmina, V. V. Protective function of the digestive tract of fish / V. V. Kuzmina // Questions of ichthyology. 1995:35;1:86-93. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186> (In Russ.)
2. Shcherbina, M. A. Feeding fish in freshwater aquaculture / M. A. Shcherbina, E. A. Gamygin. – Moscow: Publishing House “VNIRO”, 2006:360 (In Russ.)
3. Shulga, E. A. Probiotics in feeding sturgeon fish during commercial cultivation. / E. A. Shulga // Specialty 03.00.10 - ichthyology Abstract of the dissertation for the degree of candidate of biological sciences. Astrakhan State Technical University. – Astrakhan, 2009:24. (In Russ.)
4. Pavlov, D. S. The ProStor and Ferm KM-1 complex probiotic additives – innovation biotechnological preparations for enhancing the quality of domestic fish mixed feed / D. S. Pavlov, N. A. Ushakova, V. G. Pravdin et al. // Nova Sci. Publ. 2014:20:239-244.
5. Noga, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment / E. J. Noga // N.Y.: «Mosby-Year Book», 1995:321.
6. Ponomarev, S. V. Technologies for growing and feeding aquaculture objects in the south of Russia / S. V. Ponomarev, E. A. Gamygin, S. I. Nikonorov, E. N. Ponomareva, Yu. N. Grozescu, A. A. Bukhareva. – Astrakhan: Publishing House “Nova plus”, 2002:264. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186> (In Russ.)
7. Yukhimenko, L. N. Use of antibacterial drugs and prevention of bacterial hemorrhagic septecymia (aeromonosis) in fish farms / L. N. Yukhimenko, G. S. Koidan, L. I. Bychkova // Fisheries. Ser.: Diseases of hydrobionts in aquaculture. 2000:2:1-6. – URL: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=34841337> (In Russ.)
8. Malik, N. I. Veterinary probiotic preparations / N. I. Malik, N. A. Panin // Veterinary medicine. 2001:1:46-51. – URL: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=33825958> (In Russ.)
9. Mirzoeva, L. M. Application of probiotics in aquaculture / L. M. Mirzoeva // Fisheries. Ser.: Diseases of hydrobionts in aquaculture. 2001:2:23-30. – URL: <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=42912315> (In Russ.)
10. Burlachenko, I. V. Promising probiotics for sturgeon fish / I. V. Burlachenko, N. V. Sudakova, E. I. Balakiriev, D. A. Mordovtsev, E. V. Malik // Fisheries. 2006:3:64-65. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735> (In Russ.)
11. Grozescu, Yu. N. Biological effectiveness of the use of the probiotic subtilis as part of starter feed for sturgeon fish / Yu. N. Grozescu, A. A. Bakhareva, E. A. Shulga // News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2009:11;1:42-45. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347> (In Russ.)
12. Zhandalgarova, A. D. New generation probiotics as a means of improving fish farming and biological indicators of juvenile sturgeon / A. D. Zhandalgarova, A. A. Bakhareva // Veterinary Bulletin. 2015:1;72:59-61. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23022677> (In Russ.)
13. Sklyarov, V. Ya. Prospects for the use of the probiotic drug “Subtilis” in fish farming for the treatment of eggs, embryos and fish larvae using the example of crucian carp *Carassius carassius* and carp *Cyprinus carpio* (order Cypriniformes, family Cyprinidae) / V. Ya. Sklyarov, V. R. Mikryakov, G. V. Kulakov, E. B. Kudryashova, M. B. Vainshtein // Questions of fishing. 2004:5;3 (19):514-521. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42393683> (In Russ.)
14. Romanova, E. M. Adaptive reaction of stomach tissues of African catfish to microbiota with probiotic properties / E. M. Romanova, E. V. Spirina, V. N. Lyubomirova // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2021:1(53):117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396> (In Russ.)
15. Kuzmina, V. V. The influence of antibacterial drugs and probiotics on the activity of enzymes in the intestinal mucosa of the carp *Cyprinus carpio*. 2. Proteinases / V. V. Kuzmina, D. V. Mikryakov, M. V. Shalygin, K. V. Gavrilin // Problems of biology of pro-

- ductive animals.2011:4:18-22. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=17949141> (In Russ.)
16. Zuenko, V. A. The influence of a feed probiotic based on the bacteria bacillus subtilis on the digestion of fish during cage rearing / V. A. Zuenko, K. S. Laktionov, I. V. Pravdin, L. Z. Kravtsova, N. A. Ushakova // Questions of ichthyology.2017;57:1:112-117. – DOI: 10.7868/S0042875217010179. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28172382> (In Russ.)
17. Alarcón, F. J. Digestive proteases during development of larvae of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) / F. J. Alarcón, T. F. Martínez, P. Barranco, T. Cabello, M. Díaz, F. J. Moyano // Insect Biochemistry and Molecular Biology.2002:32:265-274.
18. Kuzmina, V. V. Physiological and biochemical basis of fish exotrophy / V. V. Kuzmina - Moscow: "Science", 2005:300. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19491959> (In Russ.)
19. Kuzmina, V. V. Processes of exotrophy in fish. Organization. Regulation. Adaptations / V. V. Kuzmina – Moscow: "Poligraph-Plus", 2015:260. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29375264> (In Russ.)
20. Kuzmina, V. V. Digestive processes in fish. New facts and hypotheses / V. V. Kuzmina – Yaroslavl: "Filigree", 2018:300. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188> (In Russ.)
21. Antonov, V. K. Chemistry of proteolysis / V. K. Antonov - Moscow: Science, 1983:367. (In Russ.)
22. Ugolev, A. M. Digestive processes and adaptations in fish / A. M. Ugolev, V. V. Kuzmina – St. Petersburg: "Gidrometeoizdat", 1993:238. (In Russ.)
23. Abolfathi, M. Compensatory growth in juvenile roach *Rutilus caspius*: effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area / M. Abolfathi, A. Hajimoradloo, R. Ghorbani, A. Zamani // J. Fish Biol.2012:81;6:1880-1890.
24. Caruso, G. Changes in digestive enzyme activities of red porgy *Pagrus pagrus* during a fasting–re-feeding experiment / G. Caruso, M. G. Denaro, R. Caruso, F. De Pasquale, L. Genovese, G. Maricchiolo // Fish Physiol Biochem.2014:40;5:1373-1382.
- 25(a). Kuzmina, V. V. Effect of Dexamethasone on the Activity of Glycosidases and Proreinas of Intestine of Sterlet *Acipenser ruthenus* / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Journal of Ichthyology.2011:51;8:652-657.
- 25(6). Kuzmina, V. V. The influence of testosterone on the activity of glycosidases and proteinases in the intestine of the sterlet (*Acipenser ruthenus*) / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Biology Bulletin.2011:38;5:487-492.