



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*A23K 50/80 (2023.08)*

(21)(22) Заявка: 2023116963, 28.06.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
28.06.2023

Дата регистрации:  
05.02.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.06.2023

(45) Опубликовано: 05.02.2024 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

460018, Оренбургская обл., г. Оренбург, просп.  
Победы, 13, ФГБОУ ВО ОГУ, патентный  
отдел, аудитория 170415, Быков Артем  
Владимирович

(72) Автор(ы):

Аринжанов Азамат Ерсайнович (RU),  
Мирошникова Елена Петровна (RU),  
Килякова Юлия Владимировна (RU),  
Сизенцов Алексей Николаевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Оренбургский  
государственный университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: КИЛЯКОВА Ю.В. И ДР. Влияние  
фитобиотических кормовых добавок на рост  
и морфобиохимические показатели крови рыб,  
Животноводство и кормопроизводство. 2022.  
Т. 105, N 3. стр. 115-125. RU 2785408 C1,  
07.12.2022. RU 2795853 C1, 12.05.2023. RU  
2738265 C2, 11.12.2020. CN 102669459 B,  
15.01.2014. RU 2676727 C1, 10.01.2019. RU  
2793466 C1, 04.04.2023. RU (см. прод.)

(54) Способ коррекции кишечной микробиоты для повышения резистентности организма рыб

(57) Реферат:

Способ включает скармливание комбикорма,  
тонкий слой которого опрыскивают  
растворенной в дистиллированной воде  
фитобиотической добавкой «Бутитан», в

количестве 0,5 г/кг корма. Изобретение  
обеспечивает коррекцию кишечной микробиоты  
рыб. 2 табл.

(56) (продолжение):

2569002 C1, 20.11.2015. RU 2264453 C2, 20.11.2005.

RU 2 812 896 C1

RU 2 812 896 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*A23K 50/80 (2023.08)*

(21)(22) Application: **2023116963, 28.06.2023**

(24) Effective date for property rights:  
**28.06.2023**

Registration date:  
**05.02.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **28.06.2023**

(45) Date of publication: **05.02.2024** Bull. № 4

Mail address:

**460018, Orenburgskaya obl., g. Orenburg, prosp. Pobedy, 13, FGBOU VO OGU, patentnyj otdel, auditoriya 170415, Bykov Artem Vladimirovich**

(72) Inventor(s):

**Arinzhanov Azamat Ersainovich (RU),  
Miroshnikova Elena Petrovna (RU),  
Kiliakova Iuliia Vladimirovna (RU),  
Sizentsov Aleksei Nikolaevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniia «Orenburgskii gosudarstvennyi universitet» (RU)**

(54) **METHOD OF CORRECTING INTESTINAL MICROBIOTA TO INCREASE RESISTANCE OF FISH ORGANISMS**

(57) Abstract:

FIELD: fish farming.

SUBSTANCE: method involves feeding compound feed, a thin layer of which is sprayed with Butitan phytobiotic additive dissolved in distilled water, in an

amount of 0.5 g/kg of feed.

EFFECT: invention provides correction of the intestinal microbiota of fish.

1 cl, 2 tbl

**RU 2 812 896 C1**

**RU 2 812 896 C1**

Изобретение относится к сельскому хозяйству, а именно к рыбоводству, и может быть использовано для кормления рыб.

Известен биопрепарат для поддержания оптимального микробного баланса в пищеварительном тракте и повышения неспецифической резистентности животных (RU 2264453, С12N 1/20, А61К 35/66, С12R 1/07, 2005 г.), который содержит штаммы *Bacillus subtilis* ВКПМ №В-8611 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ №В-8610.

Недостатком биопрепарата является его ограниченная область применения, так как используется только для теплокровных животных.

Известна кормовая добавка из жизнеспособных спор спорообразующих бактерий штамма *Bacillus subtilis* 111 с титром  $2 \cdot 10^6$ - $6 \cdot 10^9$  КОЕ/г. и наполнителя - диатомит в виде обожженной крошки, подавляющая развитие патогенных микроорганизмов и способствующая формированию полезной микрофлоры в пищеварительном тракте (RU 2569002, А23К 1/16, А23К 1/175, 2015 г.). Бактерии *Bacillus subtilis* 111 и диатомит берут в массовом соотношении как 1:10 соответственно.

Недостатком добавки является ее ограниченная область применения, так как используется только для сельскохозяйственных животных и птиц.

Известен корм для рыб (RU 2793466, А23К 50/80, 2023), который включает кормовую добавку «Бета-Флора» в количестве 5 г на 1 кг корма.

Недостатком корма является ее ограниченная область применения, так как используется только для холодолюбивых рыб.

Известен способ кормления рыб (RU 2676727, А23К 50/80, 2019), который предусматривает внесение в основной рацион корма хвойно-энергетической добавки в количестве 3% от массы корма.

Недостатком данного способа является необходимость непосредственно перед дачей корма вымачивать его в хвойно-энергетической добавке в течение 3-х минут, что может приводить к изменению физических свойств корма и снижению усвояемости некоторых питательных веществ.

Известен способ модуляции кишечной микробиоты (RU 2738265, А61К 38/00, А61К 38/16, С07К 14/47, А23L 33/00, 2020 г.), который предусматривает пероральное введение  $\alpha$ - и/или  $\beta$ -дефензинов млекопитающих.

Недостатком добавки является ее ограниченная область применения, так как используется только для сельскохозяйственных животных и птиц.

Известен способ коррекции микробиома кишечника для повышения резистентности организма рыб (RU 2785408, А23К 50/80, 2022 г.), согласно которому рыбам в основной рацион вводят пробиотический препарат «Соя-бифидум» в количестве 0,7 мл/кг корма.

Недостатком данного способа является снижение в кишечнике рыб только бактерий филума Firmicutes.

Настоящее изобретение направлено на коррекцию кишечной микробиоты рыб, в частности филумов: Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria.

Поставленная задача решается путем скармливания комбикорма, тонкий слой которого опрыскивают раствором в дистиллированной воде фитобиотической добавкой «Бутитан» в количестве 0,5 г/кг корма.

Для осуществления способа в условиях кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета проведен опыт, в рамках которого было сформировано 2 группы молоди карпа (n=30), средней массой 15 г: контрольная группа (К) получала основной рацион (ОР), а опытная (О) - ОР + «Бутитан». Продолжительность опыта составила 56 суток.

В качестве основного рациона использовался сбалансированный по основным

питательным веществам корм для карповых рыб КРК-110-1 (ОАО «Оренбургский комбикормовый завод», г. Оренбург), содержащий 26,0% протеина. Фитобиотическая добавка «Бутитан» (ООО «СИВЕТРА-АГРО», Россия) содержит в своем составе экстракт древесины сладкого каштана *Castanea Sativa Mill.*, группу полифенольных соединений, богатых эллаговой и галловой кислотами.

Экспериментальные исследования и обслуживание рыб выполнены в соответствии с инструкциями Russian Regulations, 1987 (Order No.755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1966)». При выполнении исследований были приняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества используемых образцов.

Суточная норма кормления определялась еженедельно с учетом массы рыбы, температуры воды и концентрации растворенного в воде кислорода (Пономарев С.В. Индустриальное рыбоводство: учебник / С.В. Пономарев, Ю.Н. Грозеску, А.А. Бахарева. - Санкт-Петербург: Лань, 2013. - 448 с.).

Полученные в ходе эксперимента результаты были статистически обработаны с использованием программного пакета Statistica 10.0. Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента. Уровень значимой разницы был установлен на  $P \leq 0,05$ .

В результате проведенных исследований установлен ростостимулирующий эффект от включения в рацион рыб Бутитана (табл. 1) - достоверные различия по динамике живой массы зафиксированы на 5 неделе опыта и сохранились вплоть до конца эксперимента. К концу эксперимента в опытной группе зафиксировано увеличение живой массы рыбы на 11,7% по сравнению с контрольной группой.

Для оценки физиологического состояния рыб проводились гематологические исследования рыб с использованием оборудования ЦКП БСТ РАН <http://цкп-бст.рф> по стандартным методикам (аттестат аккредитации № RA.RU.21ПФ59 от 02.12.2015 г.). Анализ полученных данных показал, что добавление в корм молоди карпа Бутитана не вызывает отклонений от физиологической нормы (табл. 2).

Таблица 1 – Динамика живой массы молоди карпа, г

Группа	Неделя эксперимента							
	1	2	3	4	5	6	7	8
К	17,3 ± 1,4	20,6 ± 1,7	23,8 ± 2,0	26,3 ± 2,4	30,6 ± 3,1	34,6 ± 3,7	40,6 ± 4,2	47,7 ± 4,7
О	18,2 ± 1,5	21 ± 1,6	25,8 ± 2,1	29,5 ± 2,6	34,7 ± 3,2*	40,1 ± 3,9*	45 ± 4,3*	53,3 ± 4,6*

Примечание: \*  $P \leq 0,05$

Таблица 2 – Гематологические показатели рыб

Группа	Показатели				
	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $10^{12}/л$	Лейкоциты, $10^9 л$	Тромбоциты, $10^9/л$	Общий белок, г/л
К	115 ± 8,0	0,51 ± 0,05	99 ± 5,5	32 ± 4,0	27,81 ± 1,4
О	109 ± 7,5	0,47 ± 0,05	100 ± 5,7	38 ± 4,5	28,65 ± 1,3

Для определения биологического разнообразия микробиома в конце эксперимента исследовали гомогенизированные образцы кишечника рыб. Идентификацию проводили по средству выделения ДНК с использованием набор реагентов QIAamp® DNA Mini

Kit. Результаты были обработаны с использованием пакета программ Microsoft Excel. Проверка соответствия полученных данных нормальному закону распределения определялась при помощи критерия согласия Колмогорова.

Исследование кишечной микробиоты рыб показало, что включение в основной рацион фитобиотической добавки «Бутитан» сопряжено со снижением числа бактерий филумов Actinobacteria на 29,1%, Firmicutes на 14,2% и Bacteroidetes на 9,5%, по сравнению с контрольной группой. Высокое содержание филумов Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes может привести к дисбалансу микробиоценоза кишечника рыб и как следствие к снижению резистентности организма рыб (Oanh N.C., Lam T.Q., Tien N.D., Hornick J.L., Ton V.D. Effects of medicinal plants mixture on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, and fecal microbiota in growing pigs // *Vet World*. - 2021. - Vol. 14 (7). - P. 1894-1900. doi:10.14202/vetworld.2021.1894-1900).

В опытной группе также наблюдали рост количества микроорганизмов, играющих важную роль в обеспечении здоровья рыб: Proteobacteria на 20,1% и Fusobacteria на 32,8% по сравнению с контролем. Исследования показывают, что Fusobacteria активно участвуют в синтезе витаминов и аминокислот, а также в регуляции иммунной системы карпа (Li T., Long M., Li H., Gatesoupe F-J., Zhang X., Zhang Q., Feng D. Li A. Multi-Omics Analysis Reveals a Correlation between the Host Phylogeny, Gut Microbiota and Metabolite Profiles in Cyprinid Fishes // *Front. Microbiol.* - 2017. - Vol. 8: 454. doi:10.3389/fmicb.2017.00454.). Proteobacteria содержит множество видов бактерий, которые участвуют в метаболизме питательных веществ, защите от патогенов и регуляции иммунной системы (Liu H., Guo X., Gooneratne R., Lai R., Zeng C., Zhan F., Wang W. The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels // *Sci Rep.* - 2016. - Vol. 6: 24340. doi:10.1038/srep24340.).

Анализируя полученные данные, можно сделать следующие выводы:

- включение в основной рацион фитобиотической добавки «Бутитан» положительно влияет на рост рыбы и способствует коррекции кишечной микробиоты, филумов: Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria;
- способ коррекции кишечной микробиоты для повышения резистентности организма рыб путем включения в рацион фитобиотической добавки «Бутитан» в количестве 0,5 г/кг корма подтвержден возможностью его осуществления с помощью описанных в заявке средств и методов;
- заявленное изобретение соответствует условию «промышленная применимость».

(57) Формула изобретения

Способ коррекции кишечной микробиоты для повышения резистентности организма рыб, включающий скармливание корма, тонкий слой которого опрыскивают растворенной в дистиллированной воде фитобиотической добавкой «Бутитан», в количестве 0,5 г/кг корма.