



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A23K 50/80 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2024108531, 01.04.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.04.2024

Дата регистрации:
25.06.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 01.04.2024

(45) Опубликовано: 25.06.2024 Бюл. № 18

Адрес для переписки:
460018, г. Оренбург, пр-кт Победы, 13, ОГУ,
патентный отдел 170415, Быков Артем
Владимирович

(72) Автор(ы):

Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU),
Килякова Юлия Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

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

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2809115 C1, 06.12.2023. RU
2812916 C1, 05.02.2024. EP 968658 A1, 05.01.2000.

(54) Способ коррекции микробиоценоза кишечника рыб для повышения их продуктивности

(57) Реферат:

Изобретение относится к рыбоводству и может быть использовано для кормления рыб. Тонкий слой корма опрыскивают фитобиотической добавкой «Пробиоцид-Фито» в дозировке 2 г/кг корма и ультрадисперсными частицами цинка, размером 90 нм, полученными методом электрического взрыва проводника в

атмосфере аргона, в дозировке 10 мг/кг корма, предварительно обработанными ультразвуком в дистиллированной воде в течение 30 мин с частотой 30 кГц. Изобретение обеспечивает повышение продуктивности и резистентности организма рыб. 3 ил., 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
A23K 50/80 (2024.01)

(21)(22) Application: **2024108531, 01.04.2024**

(24) Effective date for property rights:
01.04.2024

Registration date:
25.06.2024

Priority:

(22) Date of filing: **01.04.2024**

(45) Date of publication: **25.06.2024** Bull. № 18

Mail address:

**460018, g. Orenburg, pr-kt Pobedy, 13, OGU,
patentnyj otdel 170415, Bykov Artem
Vladimirovich**

(72) Inventor(s):

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

(73) Proprietor(s):

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

(54) **METHOD FOR CORRECTION OF FISH INTESTINAL MICROBIocenosis TO INCREASE THEIR PRODUCTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: fish farming.

SUBSTANCE: invention relates to fish farming and can be used for feeding fish. A thin layer of fodder is sprayed with a phytobiotic additive "Probiocid-Phyto" in dosage of 2 g/kg of fodder and ultrafine zinc particles with size of 90 nm, obtained by electric explosion of a

conductor in an argon atmosphere, in dosage of 10 mg/kg of fodder, pre-treated with ultrasound in distilled water for 30 minutes with frequency of 30 kHz.

EFFECT: invention provides higher productivity and resistance of fish organism.

1 cl, 3 dwg, 1 tbl

RU 2 821 579 C 1

RU 2 821 579 C 1

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

Известен биопрепарат «Ирилис» (RU 2264453, C12N 1/20, A61K 35/66, C12R 1/07, 2005 г.), который содержит штаммы *Bacillus subtilis* ВКПМ №В-8611 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ №В-8610, для поддержания оптимального микробного баланса в пищеварительном тракте и повышения продуктивности животных.

Известен питательный рацион, коррегирующий микробиоценоз желудочно-кишечного тракта (RU 2298945, A23K 1/165, 2007 г.), который состоит из основного рациона, в который добавляют биологически активную добавку к корму - БАД.

Недостатком данных способов является её ограниченная область применения, так как используется только для теплокровных животных.

Известно пробиотическое лекарственное средство (RU 2326692, A61K 39/116, A61P 1/00, A61P 3/00, 2008 г.), которое позволяет нормализовать микробиоценоз кишечника животных и повысить прирост массы тела. Средство содержит смесь суспензий штаммов бактерий: *Azomonas agilis* В-2586, *Azotobacter chroococcum* В-3162, *Azotobacter vinelandii* В-2587, *Bacillus subtilis* В-5225, *Bacillus subtilis* В-4828, *Bifidum bacterium globosum* В-2584, *Escherichia coli* В-4412, *Enterococcus faecium* В-2898, *Lactobacillus acidophilus* В-3488, *Lactobacillus acidophilus* В-2585, *Propionibacterium freudenreichii* В-6561, *Pseudomonas sp.* В-3908, *Pseudomonas sp.* В-2589, *Saccharomyces cerevisiae* Y-365.

Недостатком средства является её ограниченная область применения, так как используется только для сельскохозяйственных животных и птицы.

Известен многофункциональный синбиотический препарат (RU 2457849, A61K 35/74, A61K 33/06, A61K 35/14, A61P 1/00, 2012 г.), содержащий пробиотик (лактобактерии) и пребиотик (адаптоген на основе гидролизата крови), и наносорбент - алюмосиликаты осадочного происхождения со строго калиброванными каналцами диаметром около 4 ангстрем и сорбционной площадью более 300 м² на 1 г.

Недостатком препарата является её 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 (RU 2569002, A23K 1/16, A23K 1/175, 2015 г.), повышающая продуктивность за счет подавления развития патогенных микроорганизмов и формированию полезной микрофлоры в пищеварительном тракте.

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

Известна кормовая добавка с фитопробиотической активностью на минеральной основе (RU 2574689, A23K 1/16, 2016 г.), которая состоит из бактерий штамма *Enterococcus faecium*, растительного сырья и наполнителя (диатомит в виде обожженной крошки). В качестве растительного сырья используют смесь эфирных масел эвкалипта, чабреца, чеснока и лимона, взятых при соотношении 1:2:1:2, соответственно, и нанесенную на диатомит в виде обожженной крошки с получением сухого концентрата смеси эфирных масел эвкалипта, чабреца, чеснока и лимона в виде порошка.

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

Известен способ применения хвойно-энергетической добавки в кормлении рыб (RU 2676727, A23K 50/80, 2019 г.).

Недостатком данного способа является необходимость непосредственно перед кормлением, вымачивать корм в течение 3-х минут в хвойно-энергетической добавке,

что может привести 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 α - и/или β -дефензинов млекопитающих.

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

Известен способ снижения грамположительной микрофлоры в кишечнике (RU 2755817, А61К 31/60, А61К 31/365, А23К 20/00, 2021 г.) который предусматривает совместное использование 4-гидрокси-3-метоксибензойной кислоты 97 % в дозировке 0,13 г/кг живой массы и гаммаокталактона в дозировке 0,1 мл/кг живой массы.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для цыплят-бройлеров.

Известен способ коррекции микробиома кишечника для повышения резистентности организма рыб (RU 2785408, А23К 50/80, 2022 г.), который предусматривает введение в основной рацион пробиотического препарата «Соя-бифидум», в количестве 0,7 мл/кг корма.

Недостатком данного способа является низкая продуктивность рыб.

Известен способ вскармливания (RU 2777285, А23К 50/75, 2022 г.), который предусматривает введение в рацион корректирующей фитобиотической капсулированной кормовой добавки «Активо», в количестве 0,15 г/кг комбикорма.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для цыплят-бройлеров.

Известен способ выращивания (RU 2771642, А23К 10/16, А23К 50/75, 2022 г.), который предусматривает включение в основной рацион кормовой добавки ГербаСтор, содержащая молочнокислые микроорганизмы, продукты их метаболизма (ферменты, органические кислоты, витамины), жом свекловичный ферментированный, автолизаты дрожжей, минеральные соли, углеводы, фитодобавки, в количестве 0,5 г/кг комбикорма, при этом добавку смешивают с комбикормом перед кормлением.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для птицы.

Известна биологически активная кормовая добавка (RU 2808046, А23К 10/00, А23К 10/30, 2023 г.), которая содержит пчелиный подмор, порошок клубней топинамбура, травяную муку и сорбент. В качестве сорбента используют бентонит размером 70-80 нм, полученный путем ультразвуковой обработки материала при частоте 18,5 кГц.

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

Известна кормовая добавка (RU 2808208, С12N 1/14, 2023 г.), которая содержит синбиотик и пробиотик: штамм гриба *Trichoderma reesei* LA-531 (ВКПМ F-184) и *Fusarium sambucinum* var. *sambucinum* 52434 (ВКПМ F-139), *Propionibacterium freudenreichii* RYS-2-ims (ВКПМ В-9653), *Lactobacillus plantarum* 376Б (ВКПМ В-5337), в концентрации 10^8 КОЕ/мл, предусматривающей ввод в корм 1,0 % от массы основного рациона, причем в качестве наполнителя выступает кукурузный крахмал.

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

Технический результат - коррекция микробиоценоза кишечника и повышение продуктивности рыбы.

Способ был реализован следующим образом: тонкий слой корма опрыскивают

фитобиотической добавкой «Пробиоцид-Фито» (ООО «БИОТРОФ», Россия) в дозировке 2 г/кг корма и ультрадисперсными частицами (УДЧ) цинка (Zn), размером 90 нм, полученными методом электрического взрыва проводника в атмосфере аргона, в дозировке 10 мг/кг корма, предварительно обработанные ультразвуком в дистиллированной воде в течение 30 мин с частотой 30 кГц.

Для осуществления способа на базе кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета проведен опыт, в рамках которого было сформировано 2 группы молоди карпа (n=30): контрольная группа получала основной рацион (ОР), а опытная - «Пробиоцид-Фито» (дозировка 2 г/кг корма) + УДЧ Zn (дозировка 10 мг/кг корма). Продолжительность опыта составила 56 суток.

В качестве ОР использовался сбалансированный по основным питательным веществам корм для карповых рыб КРК-110-1, производства ОАО «Оренбургский комбикормовый завод». УДЧ Zn вводили в корм после диспергирования частиц в дистиллированной воде с помощью при частоте 30 кГц в течение 30 минут.

Материаловедческая аттестация УДЧ Zn включала электронную сканирующую, просвечивающую и атомно-силовую микроскопию с использованием LEX T OLS4100, JSM 7401F, JEM-2000FX («JEOL», Япония). Размерное распределение частиц исследовалось на анализаторе наночастиц Brookhaven 90Plus/BIMAS Zeta PALS и Photocor Compact («Фотокор», Россия). Биологическая экспертиза УДЧ проводилась с использованием lux-биосенсоров штамм *Escherichia coli* K12 TG1 pF1 по методике (Deryabin D.G., Aleshina E.S., Efremova L.V. Application of the inhibition of bacterial bioluminescence test for assessment of toxicity of carbon-based nanomaterials // Microbiology. - 2012. - Vol.81(4). - P.492-497. doi:10.1134/S0026261712040042.).

Исследования на рыбах 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 $P \leq 0,05$.

Результаты экспериментальных исследований показали повышение рыбоводно-биологических показателей выращивания рыбы в опытной группе на фоне включения рацион «Пробиоцид-Фито» и УДЧ Zn (табл. 1). В частности, к концу эксперимента, в опытной группе зафиксировано повышение массы рыбы до 18 % ($P \leq 0,05$), относительно контроля. Относительный прирост опытной группы за весь период выращивания был выше контроля на 59 %.

Таблица 1 - Рыбоводно-биологические показатели выращивания рыбы

Показатели	Группа	
	Опытная	Контрольная
Масса рыбы в начале опыта, г	15,0±1,3	15,0±1,1
Масса рыбы в конце опыта, г	56,5±4,9*	47,7±4,7

Абсолютный прирост, г	41,5	32,7
Абсолютная скорость роста, г/сутки	0,74	0,58
Относительный прирост, %	277	218
Сохранность, %	100	100
Период выращивания, сутки	56	
Примечание: * P ≤ 0,05		

Для определения биологического разнообразия микробиома в конце эксперимента исследовали образцы кишечника рыб по средству выделения ДНК с использованием набор реагентов QIAamp® DNA Mini Kit. Секвенирование образцов выполнено в ЦКП «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург). Результаты исследований обработаны с применением общепринятых методик при помощи приложения «Excel 2010» и «Statistica 10.0».

По данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника рыб, в опытной группе установлено повышение филума *Pseudomonadota*, *Thermodesulfobacteriota* и *Fusobacteriota* по сравнению с контрольными значениями (фиг. 1).

На уровне семейств установлено повышение *Desulfovibrionaceae*, *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae*, *Sphaerotilaceae*, *Caulobacteraceae*, *Bacillaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Chitinophagaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Microbacteriaceae* (фиг. 2).

На уровне родов установлено повышение *Cetobacterium*, *Lawsonia*, *Vibrio*, *Pseudaeromonas*, *Aeromonos*, *Schlegelella*, *Caulobacter*, *Cetobacterium*, *Hydrotalea*, *Prauserella*, *Aurantimicrobium* (фиг. 3).

Таким образом, можно заключить, что включение в рацион рыб фитобиотической добавки «Пробиоцид-Фито» и ультрадисперсных частиц цинка сопряжено с корректирующим действием на микробиоценоз кишечника, и как следствие повышением рыбоводно-биологических показателей выращивания рыбы.

Анализируя полученные данные, можно сделать следующие выводы:

- добавление в основной рацион фитобиотической добавки «Пробиоцид-Фито» в дозировке 2 г/кг корма и ультрадисперсных частиц цинка в дозировке 10 мг/кг корма, положительно влияет на продуктивность и развитие рыб.

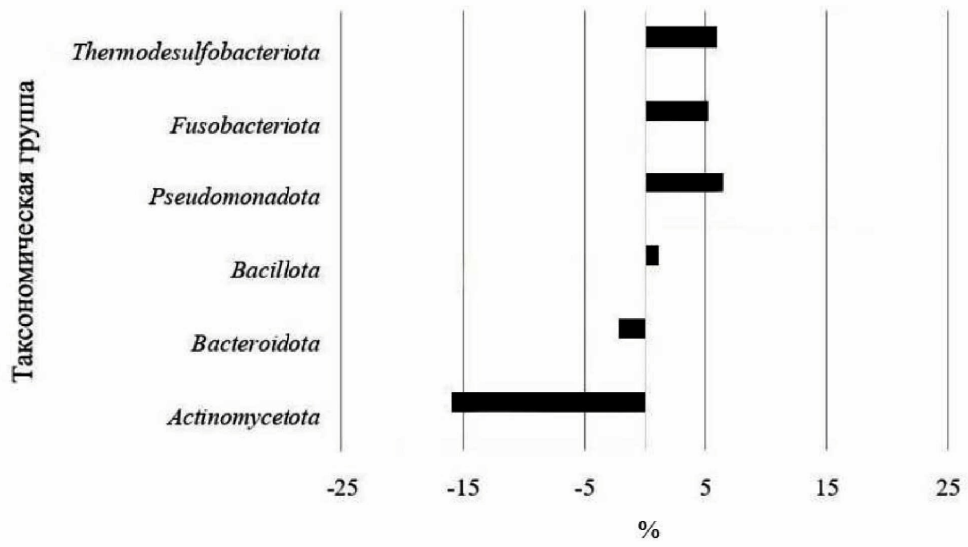
- способ коррекции микробиоценоза кишечника рыб для повышения их продуктивности, предусматривающий включение в рацион фитобиотической добавки «Пробиоцид-Фито» и ультрадисперсных частиц цинка подтвержден возможностью его осуществления с помощью описанных в заявке средств и методов.

- заявленное изобретение соответствует условию «промышленная применимость».

(57) Формула изобретения

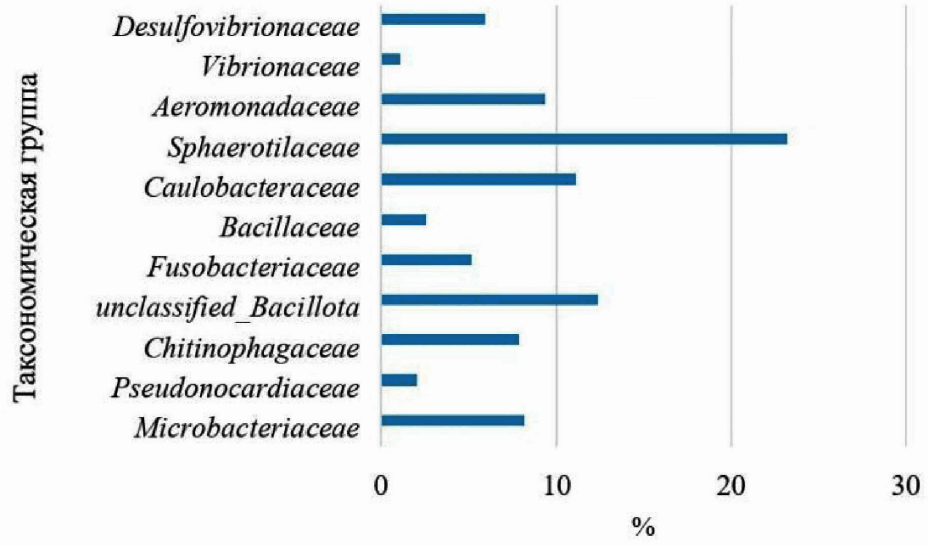
Способ коррекции микробиоценоза кишечника рыб для повышения их продуктивности, включающий скармливание корма, тонкий слой которого опрыскивают фитобиотической добавкой «Пробиоцид-Фито» в дозировке 2 г/кг корма и ультрадисперсными частицами цинка, размером 90 нм, полученными методом электрического взрыва проводника в атмосфере аргона, в дозировке 10 мг/кг корма, предварительно обработанными ультразвуком в дистиллированной воде в течение 30 мин с частотой 30 кГц.

1

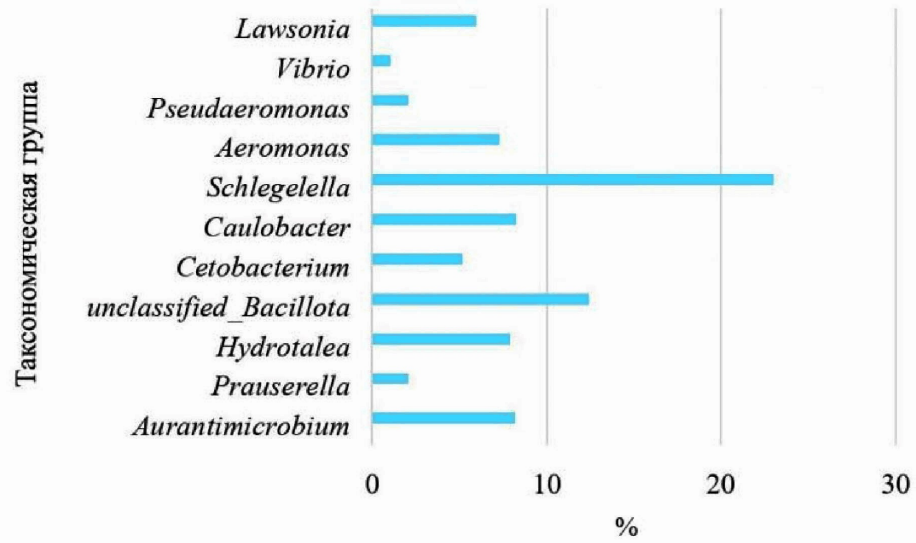


Фиг.1

2



Фиг. 2



ФИГ.3