

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА РЯДА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Шленкина Татьяна Матвеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

Романов Василий Васильевич, кандидат технических наук, доцент кафедры «Информатика»

Любомирова Васелина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: аквакультура, африканский клариевый сом, структура лейкоцитарной формулы, адаптоген, пробиотик, витаминно - аминокислотный комплекс.

В статье изложены результаты исследований по оценке влияния ряда биологически активных кормовых добавок на структуру лейкоцитарной формулы африканского клариевого сома. В качестве исследуемых биологически-активных кормовых добавок выступали адаптоген «Иркутин», пробиотик «Споротермин» и витаминно - аминокислотный комплекс «Чиктоник». Адаптогены в кормлении рыб до последнего времени не использовались, но они применяются в медицине для повышения неспецифической резистентности и устойчивости к стрессу. Мы оценивали влияние адаптогенов на структуру лейкоформулы африканского клариевого сома. Также оценивалось влияние витаминно-аминокислотного комплекса «Чиктоник» и пробиотика «Споротермин» на основе бактерий *B. subtilis* и *B. licheniformis*, на лейкоцитарную формулу африканского сома. Пробиотик применяли для нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта рыб. Витаминно-аминокислотный комплекс использовали для оптимизации метаболизма рыб. В ходе работы было установлено, что из всех исследованных биологически активных кормовых ингредиентов на структуру лейкоцитарной формулы наиболее выраженное влияние оказал адаптоген «Иркутин». Анализ лейкоцитарной формулы на фоне применения биологически активных кормовых ингредиентов выявил активацию фагоцитарного звена. На фоне каждого из биологически активных кормовых ингредиентов происходило специфическое перераспределение содержания лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов и других клеток в лейкоцитарной формуле африканского сома. Результаты исследований показали, что биологически активные кормовые ингредиенты: адаптоген «Иркутин», пробиотик «Споротермин», витаминно-аминокислотный комплекс «Чиктоник» проявили иммуномодулирующий эффект.

Исследования выполнялись по заданию МСХ РФ.

Темпы развития аквакультуры из года в год нарастают во всех странах. На сегодня известно, что решение мировой проблемы продовольственной безопасности зависит именно от аквакультуры. Аквакультура - это будущее мирового сельского хозяйства. Посылком к развитию аквакультуры является истощение естественных промысловых биоресурсов мирового океана.

Темпы развития аквакультуры зависят прежде всего от обеспеченности качественными и недорогими кормами, содержащими все необходимое для роста и развития рыб. В настоящее время отечественная аквакультура на 75% зависит от импортных кормов. Отечественное кормопроизводство слабо развито и лишь на 25% покрывает запросы российской аквакультуры. Развитие отечественного производства качественных и недорогих кормов для рыб является основополагающим моментом прогресса аквакультуры. Помимо

основных составляющих корма для рыб: белков, жиров, углеводов необходим комплекс биологически важных веществ, без которых метаболизм рыб в условиях аквакультуры будет давать сбой [1]. Но современный рынок кормов пока не изобилует применением различных биологически активных добавок, таких как пробиотики, адаптогены, витаминно- аминокислотные комплексы и другие. Между тем их применение способно вывести отечественное кормопроизводство на качественно новый уровень.

Обратимся к пробиотикам, которые в настоящее время практически не используются в кормах для рыб. К особенностям пробиотиков необходимо отнести повышение резистентности организма, проявление противоаллергенного воздействия, способности регулирования и стимулирования пищеварения, в результате чего улучшается усвоение кормов, происходит стимуляция

роста рыбы [2-4]. Все это свидетельствует о том, что применение пробиотиков в рыбоводстве открывает большие перспективы.

Рассмотрим адаптогены. Применение адаптогенов способствует повышению устойчивости организма рыбы к воздействию неблагоприятных факторов: пониженной и повышенной температуры, пониженному содержанию кислорода, присутствию в воде токсинов, несбалансированности кормов, инфекциям и многим другим. Сочетанное применение адаптогена с пробиотиками позволяет более эффективно, без антибиотиков, бороться с инфекциями рыб, сокращать гибель и сроки ее выздоровления, обеспечивать ускоренный прирост товарной массы [5-7].

Витамины и аминокислоты. Витамины и аминокислоты - необходимые нутриенты при выращивании рыбы в искусственных условиях, поэтому наше внимание привлек витаминно - аминокислотный комплекс «Чиктоник» – это многокомпонентный препарат на основе витаминов и аминокислот, который обладает общеукрепляющим действием [8,9].

В своих исследованиях для оценки действия на организм рыб биологически активных кормовых добавок мы выбрали наиболее информативную быстро реагирующую систему - систему крови [10-12, 14].

Целью данной работы являлось исследование влияния биологически активных кормовых добавок, таких как: пробиотик «Споротермин», адаптоген «Иркутин» и витаминно - аминокислотный комплекс «Чиктоник» на структурно-функциональные элементы лейкограммы африканского сома.

Материалы и методы исследований

Исследования выполнялись на собственной экспериментальной базе. Объектом исследования являлись половозрелые самцы и самки африканского клариевого сома. Были сформированы три экспериментальные и одна контрольная группы по 50 особей в каждой.

Продолжительность опыта составляла пять месяцев. Во всех группах рыбу кормили экструдированным кормом Aqarex, интервал между кормлениями составлял 3 часа. Каждую из групп содержали в отдельном бассейне объемом 1,5 м³, оснащенном фильтром на кварцевом песке. Постоянно осуществлялся контроль гидрохимических показателей. Содержание кислорода составляло 70-90%. В сутки подмена воды была не менее 25%. Особи первой контрольной группы получали основной рацион. Особи второй группы (опытной) получали дополнительно к основному корму адаптоген

«иркутин» в количестве 0,03гр/кг корма. Особи третьей группы (опытной) дополнительно к основному рациону получали пробиотик «Споротермин» 2 гр/1кг. Рыбы в четвертой группе (опытной) получали дополнительно витаминно - аминокислотный комплекс «Чиктоник» 2мл/ 1кг корма.

Для изучения лейкоцитарной формулы кровь брали у выдержанной в хорошо аэрированной воде рыбы. Место забора крови обрабатывали хлоргексидином, а затем высушивали ватным тампоном для удаления слизи. Для взятия крови использовали шприц с инъекционной иглой. Инструменты предварительно обрабатывали антикоагулянтом – гепарином. Кровь отбирали из хвостовой артерии. Для исследования структуры лейкоцитарной формулы микроскопически проводили дифференциальный подсчет клеток в окрашенных по Паппенгейму мазках крови. Клетки классифицировали по Н. Т. Ивановой. Использовался микроскоп Optica DM-15 с увеличением 600 [13].

Результаты исследований

Высокоинформативным показателем при оценке общего физиологического состояния организма является лейкоцитарная формула крови. Лейкоцитарная формула говорит не только о физиологическом состоянии рыб, но и о состоянии иммунитета задолго до появления клинических признаков возникающих патологий.

Первая группа рыб служила контролем и получала только корма Aqarex. Количество нейтрофилов в контрольной группе находилось в пределах 6,81%. Во второй опытной группе, получавшей дополнительно адаптоген «Иркутин», количество нейтрофилов было на 90,16% больше, чем в первой группе.

Нейтрофилы обеспечивают защиту организма от бактериальных и грибковых инфекций. Кроме того они, хотя и в меньшей мере, обеспечивают защиту организма от вирусных инфекций.

В третьей опытной группе, получавшей «Споротермин», количество нейтрофилов было на 26,87% больше по сравнению с контрольной группой. Между второй и третьей опытными группами различия составили 30,6%.

Доля нейтрофилов в четвертой опытной группе, получавшей витаминно-аминокислотный комплекс, составила 10,41%. Причем эти различия были статистически достоверными.

Количество нейтрофилов в четвертой группе, получавшей в качестве добавки витаминно - аминокислотный комплекс «Чиктоник», было больше, чем в первой группе на 52,86%. В четвертой группе этот показатель был меньше по сравнению со второй на 24,39%. В третьей груп-

пе содержание моноцитов носило ту же направленность, что и в первой группе. Содержание нейтрофилов в четвертой группе было больше, чем в третьей на 20,49% (рис.1).

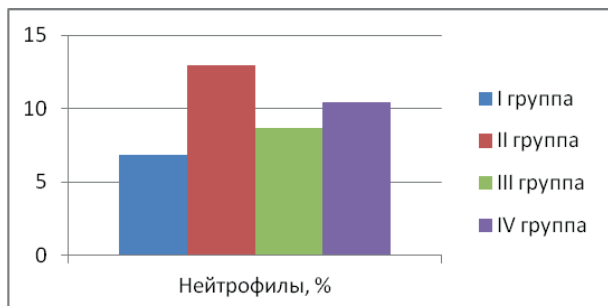


Рис. 1 – Количество нейтрофилов, %

Снижение доли моноцитов в лейкоцитарной формуле рассматривается как свидетельство ухудшения физиологического состояния рыб. Мы такого снижения не наблюдали. На фоне биологически активных ингредиентов отмечался рост доли моноцитов в лейкоформуле. Результаты исследований представлены на рисунке 2.

В нашем опыте во всех опытных группах доля моноцитов, которые уничтожают продукты распада клеток, тканей и инактивируют токсины, было больше, чем в контрольной группе. Количество моноцитов находилось в пределах 0,79-1,52%. Различия во всех трех группах были статистически достоверными. Количество моноцитов во второй опытной группе было на 92,41% больше по сравнению с первой группой. В третьей группе количество моноцитов было больше по сравнению с первой группой на 24,05%, но меньше, чем во второй группе на 35,53%.

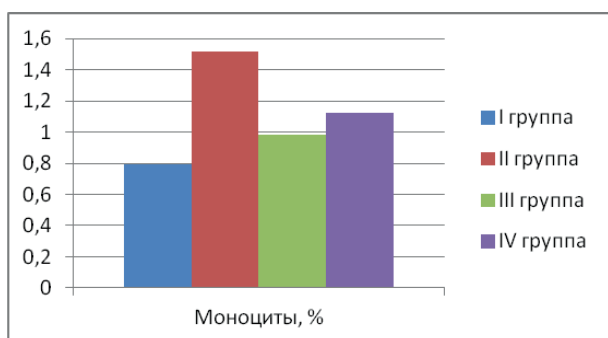


Рис. 2 – Количество моноцитов, %

В четвертой группе, получавшей в качестве добавки «Чиктоник», количество моноцитов было выше по сравнению с контролем на 41,77%. Этот показатель во второй группе был выше по сравнению с четвертой группой на

26,32%. Содержание моноцитов в группе, получавшей в качестве добавки витаминно-аминокислотный комплекс, было больше по сравнению с группой, получавшей «Спортермин», на 14,29%. Различия между второй и третьей опытными группами составили 35,53%.

На следующем этапе исследований мы анализировали содержание псевдобазофилов. Результаты приведены на рисунке 3.

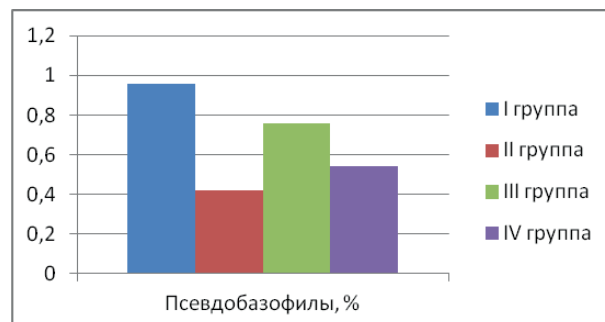


Рис. 3 – Количество псевдобазофилов, %

Количество псевдобазофилов во второй группе было ниже, чем в первой группе на 56,25%. В третьей группе прослеживалась незначительная тенденция к увеличению. Различия составили 26,32%. В четвертой группе количество псевдобазофилов по сравнению с первой группой меньше на 43,75% и по сравнению с третьей группой - на 20,83%. В четвертой опытной группе количество псевдобазофилов было больше, чем во второй на 28,57%.

Количество псевдоэозинофилов во второй группе, получавшей адаптоген, было меньше, чем в контрольной, на 62,16%. Этот показатель в третьей опытной группе был меньше по сравнению с первой на 40,54%. Разница по количеству псевдоэозинофилов между первой и четвертой группами составила 58,11%. Количество псевдоэозинофилов в группе, получавшей дополнительно «Спортермин», было больше по сравнению с группой, получавшей в виде добавки «Иркутин», на 36,36%.

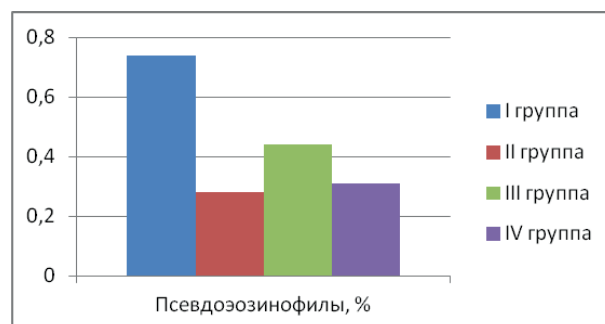


Рис. 4 – Количество псевдоэозинофилов

Лимфоциты — главные эффекторные и регуляторные клетки иммунитета, ответственные за развитие адаптивных и иммунных реакций на антигенную стимуляцию.

Количество лимфоцитов во второй опытной группе, где использовался адаптоген, было меньше, чем в первой на 6,4%. Существенных различий по содержанию лимфоцитов у особей контрольной группы, а также у особей групп, получавших пробиотик и витаминно-аминокислотный комплекс, не наблюдалось. Различия были не существенными и составили 1,6%-3,4% (рис. 5).

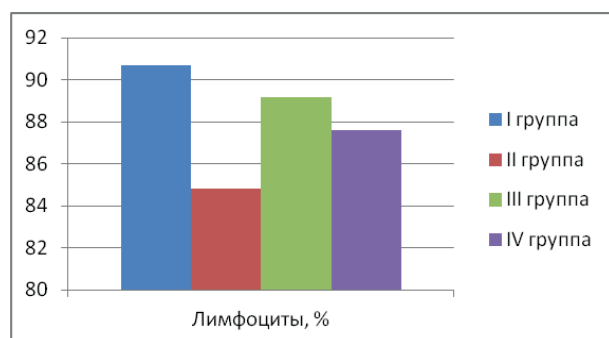


Рис. 5 – Количество лимфоцитов, %

Обсуждение

Клеточный состав белой крови клариевого сома представлен как зернистыми, так и незернистыми лейкоцитами. Незернистые лейкоциты представлены двумя группами. Это лимфоциты (84,83 – 90,7 %) и моноциты (0,79 – 1,52 %). Зернистые лейкоциты представлены тремя группами гранулоцитов – нейтрофилы (6,81 - 12,95 %), псевдоэозинофилы (0,28 - 0,74 %) и псевдобазофилы (0,42 - 0,96 %). Выявленное нами увеличение доли нейтрофилов свидетельствует о повышении фагоцитарной активности.

На основании полученных результатов можно утверждать, что использование биологически активной кормовой добавки, такой как адаптоген «Иркутин», привело к выраженному росту доли нейтрофилов в лейкоцитарной формуле африканского сома. Явный, однако менее выраженный, рост доли нейтрофилов был отмечен на фоне витаминно - аминокислотного комплекса «Чиктоник» и пробиотика «Споротермин».

Следующая анализируемая группа клеток белой крови - моноциты. Все исследуемые биологические вещества активировали повышение содержания моноцитов в лейкоцитарной формуле африканского сома. Наиболее выраженный активирующий эффект оказали адаптоген и

витаминно-аминокислотный комплекс, в меньшей мере – пробиотик «Споротермин».

В группах со II по IV, получавших биологически-активные кормовые добавки, доля псевдобазофилов была достоверно ниже. Наиболее явно это проявлялось на фоне адаптогена и витаминно-аминокислотного комплекса.

Следующей группой клеток были псевдоэозинофилы. Результаты исследований показали, что на фоне биологически активных кормовых добавок доля псевдоэозинофилов в лейкоформуле снизилась. Это снижение в большей мере проявилось на фоне адаптогена и витаминно-аминокислотного комплекса, в меньшей мере на фоне пробиотика.

Заключение

У африканского клариевого сома основная масса клеток белой крови представлена лимфоцитами. В норме доля лимфоцитов в крови африканского клариевого сома не опускается ниже 84 % и не превышает 90 %. Все выявленные нами изменения в структуре лейкоцитарной формулы под действием биологически активных ингредиентов не выходили за границы нормы.

Выявленное нами снижение относительного количества лимфоцитов на фоне использованных биологически активных кормовых добавок произошло за счет перераспределения функционально неравнозначных клеток и увеличения доли нейтрофилов. Анализ лейкоцитарной формулы на фоне применения биологически активных кормовых добавок выявил активацию фагоцитарного звена. Результаты показали, что биологически активные кормовые добавки: адаптоген «Иркутин», пробиотик «Споротермин», витаминно-аминокислотный комплекс «Чиктоник» в наших исследованиях проявили выраженный иммуномодулирующий эффект.

Библиографический список

1. Анализ современного состояния товарной аквакультуры / А. Б. Алиев, Б. И. Шихшабекова, А. Д. Гусейнов, И. В. Мусаева, Е. М. Алиева, А. Р. Шихшабеков // Проблемы развития АПК региона. - 2017. - Т. 3, № 3(31). - С. 102-106.
2. Власов, В. А. Выращивание клариевого сома (CLARIAS GARIEPINUS BURCHELL) на комбикормах с различным уровнем протеина / В. А. Власов, И. С. Кулькова // Главный зоотехник. - 2020. - № 4. - С. 58-67.
3. Власов, В. А. Использование пробиотика «Субтилис» в качестве добавки в комбикорм при выращивании клариевого сома (CLARIAS

GARIEPINUS) / В. А. Власов, Д. В. Артеменков, В. В. Панасенко // Рыбное хозяйство. - 2012. - № 5. - С. 89-93.

4. Ковзалов, Н. И. Влияние ростостимулирующих препаратов на гематологические показатели, химический состав и биологическую ценность мяса бычков Калмыцкой породы / Н. И. Ковзалов, А. А. Кайдулина, Е. В. Карпенко // Аграрный вестник Урала. - 2013. - № 9(115). - С. 37-40.

5. Пробиотики в аквакультуре / Е. А. Котова, Н. А. Пышманцева, Д. В. Осепчук, А. А. Пышманцева, Л. Н. Тхакушинова // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. - 2012. - Т. 3, № 1-1. - С. 100-103.

6. Кузина, Т. В. Анализ гематологических показателей судака Волго-Каспийского канала / Т. В. Кузина // Естественные науки. - 2009. - № 4(29). - С. 96-100.

7. Мазур, О. Е. Клеточный состав крови *Salvelinus malma* (Salmonidae) Реки Радуга (Камчатка) / О. Е. Мазур, Т. Е. Буторина, О. Ю. Бусарова // Известия ТИПРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). - 2021. - Т. 201, № 2. - С. 371-384.

8. Пронина, Г. И. Сравнительная характеристика сомов разных видов по гематологическим и биохимическим показателям / Г. И. Пронина, Д. В. Артеменков, А. Б. Петрушин // Труды ВНИРО. - 2017. - Т. 165. - С. 111-117.

9. Пронина, Г. И. Морфометрическая и физиолого-биохимическая оценка молодежи

обыкновенного сома, выращенного в прудовых условиях / Г. И. Пронина, А. Б. Петрушин // Зоотехния. - 2011. - № 7. - С. 25-26.

10. Пронина, Г. И. Физиолого – иммунологическая оценка культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков : спец. 03.03.01 : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Пронина Галина Иозепоовна ; РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева. – Москва, 2012. - 36 с.

11. Seasonal studies of caviar production and the growth rate of the African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, V. V. Romanov, M. E. Mukhitova, T. M. Shlenkina // Egyptian Journal of Aquatic Research. - 2018. - Т. 44, № 4. - P. 315-319.

12. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) in hightech industrial aquaculture / E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, V. N. Lyubomirova, V. V. Romanov, M. E. Mukhitova, T. M. Shlenkina, L. A. Shadyeva, I. S. Galushko // Journal of Fundamental and Applied Sciences. - 2018. - Т. 10, № 5S. - P. 1116-1129.

13. Иванова, Н. Т. Атлас клеток крови рыб / Н. Т. Иванова. – Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1982. - 184с.

14. Early development of the african catfish *clarias gariepinus* (Burchell, 1822), focusing on the ontogeny of selected organs / A. G. M. Osman, S. Wuertz, F. Kirschbaum, I. A. Mekrawy, J. Verreth // Journal of applied ichthyology. - 2008. - Т. 24, № 2. - P. 187-195.

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF A NUMBER OF BIOLOGICALLY ACTIVE FEED ADDITIVES

Shlenkina T.M., Romanova E.M., Romanov V.V., Lyubomirova V.N.

FSBEI HE Ulyanovsk SAU

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1, tel. : 8 (8422) 55-95-38

e-mail: vvr-emr@yandex.ru

Keywords: aquaculture, African sharptooth catfish, structure of leukocyte formula, adaptogene, probiotics, vitamin - amino acid complex.

*The article presents results of the studies on assessment of the effect of a number of biologically active feed additives on leukocyte formula structure of African sharptooth catfish. The biologically active feed additives under study were: "Irkutin" adaptogen, "Sporothermin" probiotics and "Chiktonik" vitamin - amino acid complex. Until recently, adaptogenes have not been used in fish feeding, but they are widely used in medicine to increase nonspecific resistance and resistance to stress. We evaluated the effect of the adaptogenes on leukocyte formula structure of African sharptooth catfish. The effect of "Chiktonik" vitamin-amino acid complex and "Sportermin" probiotics based on *B. subtilis* and *B. licheniformis* bacteria on the leukocyte formula of African catfish was also evaluated. The probiotics was used to regulate the microbiocenosis of fish gastrointestinal tract. The vitamin-amino acid complex was used to improve fish metabolism. In the course of the work, it was found that "Irkutin" adaptogene had the most pronounced effect on leukocyte formula structure among all the studied biologically active feed ingredients. Analysis of the leukocyte formula in case of usage of biologically active feed ingredients revealed activation of the phagocytic link. In case of application of each of the biologically active feed ingredients, a specific redistribution of the content of lymphocytes, neutrophils, monocytes and other cells in the leukocyte formula of African catfish took place. The research results showed that biologically active feed ingredients: "Irkutin" adaptogene, "Sportermin" probiotics, "Chiktonik" vitamin-amino acid complex showed an immunomodulatory effect.*

Bibliography:

1. Analysis of the current state of commercial aquaculture / A. B. Aliev, B. I. Shikhshabekova, A. D. Guseinov, I. V. Musaeva, E. M. Alieva, A. R. Shikhshabekov // Problems of development of the agro-industrial complex of the region. - 2017. - Vol. 3, № 3 (31). - P. 102-106.

2. Vlasov, V. A. Breeding of *Clarius catfish* (*CLARIAS GARIEPINUS BURCHELL*) on mixed feeds with different levels of protein / V. A. Vlasov, I. S. Kulkova // Chief livestock technician. - 2020. - № 4. - P. 58-67.

3. Vlasov, V. A. Usage of "Subtilis" probiotics as an additive in compound feed for *Clarius catfish* breeding (*CLARIAS GARIEPINUS*) / V. A. Vlasov, D. V.

Artemenkov, V. V. Panasenko // *Fish industry*. - 2012. - № 5. - P. 89-93.

4. Kovzalov, N.I. Influence of growth-stimulating products on hematological parameters, chemical composition and biological value of meat of Kalmyk bull calves / N.I. Kovzalov, A.A. Kaidulina, E.V. Karpenko // *Agrarian Vestnik of the Urals*. - 2013. - № 9 (115). - P. 37-40.

5. Probiotics in aquaculture / E. A. Kotova, N. A. Pyshmantseva, D. V. Osepchuk, A. A. Pyshmantseva, L. N. Tkhakushinova // *Collection of scientific works of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding*. - 2012. - V. 3, № 1-1. - P. 100-103.

6. Kuzina, T.V. Analysis of hematological parameters of pike perch in the Volga-Caspian canal / T.V. Kuzina // *Natural sciences*. - 2009. - № 4 (29). - P. 96-100.

7. Mazur, O. E. Blood cell composition of *Salvelinus malma* (Salmonidae) of the Raduga River (Kamchatka) / O. E. Mazur, T. E. Butorina, O. Yu. Busarova // *Izvestiya of Pacific Fisheries Research Center*. - 2021. - V. 201, № 2. - P. 371-384.

8. Pronina, G.I. Comparative characteristics of catfish of different species by hematological and biochemical parameters / G.I. Pronina, D.V. Artemenkov, A.B. Petrushin // *Scientific works of All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography*. - 2017. - V. 165. - P. 111-117.

9. Pronina, G.I. Morphometric and physiological-biochemical evaluation of young common catfish reared in pond conditions / G.I. Pronina, A.B. Petrushin // *Animal science*. - 2011. - № 7. - P. 25-26.

10. Pronina, G.I. Physiology - immunological assessment of reared aquatic organisms: carp, catfish, crayfish: spec. 03.03.01: dissertation abstract for the degree of Doctor of Biological Sciences / Pronina Galina Iozepovna; RSAU Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev. - Moscow, 2012. - 36 p.

11. Seasonal studies of sprawn production and growth rate of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / E. M. Romanova, V. N. Lyubomirova, V. V. Romanov, M. E. Mukhitova, T. M. Shlenkina // *Egyptian Journal of Aquatic Research*. - 2018. - V. 44, № 4. - P. 315-319.

12. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) in hightech industrial aquaculture / EM Romanova, VN Lyubomirova, VN Lyubomirova, VV Romanov, ME Mukhitova, TM Shlenkina, LA Shadyeva, IS Galushko // *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. - 2018. - V. 10, № 5S. - P. 1116-1129.

13. Ivanova, N. T. Atlas of fish blood cells / N. T. Ivanova. - Moscow: Textile and food industry, 1982. - 184p.

14. Early development of the African catfish *clarias gariepinus* (Burchell, 1822), focusing on the ontogeny of selected organs / A. G. M. Osman, S. Wuertz, F. Kirschbaum, I. A. Mekkawy, J. Verreth // *Journal of applied ichthyology*. - 2008. - V. 24, № 2. - P. 187-195.