

С.М. Шайхин, М.С. Уразова, Ж.Б. Текебаева*,
А.С. Абилхадиров, З.С. Сармурзина

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, Нур-Султан, Казахстан
*Автор для корреспонденции: j.tekebaeva@mail.ru

Влияние функциональных добавок к корму на иммунный ответ и здоровье рыб

Аннотация. В аквакультуре одним из наиболее перспективных методов контроля болезней и стрессов считается усиление защитного механизма посредством профилактического введения иммуностимуляторов, которые рассматриваются как обнадеживающая альтернатива химиотерапии и вакцинам. Все эти профилактические меры направлены на укрепление врожденной и / или адаптивной иммунной системы. В научных журналах все чаще стали обсуждаться новые иммуностимуляторы, пребиотики и пробиотики.

Кишечнику, представляющему многофункциональную сложную структуру, принадлежит ключевая иммунологическая роль в гомеостазе и поддержании здоровья рыб в дополнение к перевариванию пищи и всасыванию питательных веществ.

В обзорной статье представлены новые исследования по влиянию пребиотиков и/или пробиотиков в качестве функциональных кормовых добавок на иммунные и физиологические реакции в кишечнике рыб и его микробиоте.

Ключевые слова: аквакультура; иммуностимуляторы; пребиотики; пробиотики; микробиота кишечника; функциональные кормовые добавки.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-137-4-39-63

Введение

За последние десятилетия большое внимание уделялось поддержанию нормально функционирующей и сбалансированной иммунной системы для улучшения здоровья не только у людей, но и у сельскохозяйственных животных, включая виды аквакультуры. Поэтому любые вещества или факторы, которые влияют на активность иммунитета хозяина, главным образом, путем стимулирования системы к оптимальному и исключительному функционированию, рассматриваются как крайне важные.

Коститые рыбы обладают физиологическими и иммунологическими особенностями, общими для всех позвоночных, а также сложной микробиотой кишечника. И у рыб, и у млекопитающих пищеварительный тракт состоит из печени, желчного пузыря, поджелудочной железы и кишечника. Кишечник изначально формируется в стерильной среде и завершает свое развитие в присутствии микробов [1]. Примерно так же, как новорожденные млекопитающие впервые колонизируются микробами при рождении, рыбы изначально приобретают свои кишечные микробы из окружающей среды при открытии пищеварительного тракта, что обычно происходит через два дня после вылупления. Микробы кишечника способствуют ферментации полисахаридов до короткоцепочечных жирных кислот и защищают от патогенных инфекций. Гены, участвующие в передаче сигналов иммунной системы у рыб, также в высокой степени консервативны как у млекопитающих [1].

В исследованиях взаимодействий между микробами и кишечником используются данные, полученные в диких популяциях. Для последних выясняются воздействия диет, микробных сообществ окружающей среды и генетического фона на состав микробиоты кишечника. Такие исследования показали, что структура микробиоты кишечника рыб в большей степени определяется различиями в генотипах хозяев, чем различиями в окружающей среде [2], и микробы, связанные с пищей, влияют на разнообразие микробного сообщества кишечника в

большей степени, чем микробы, связанные с водной средой обитания [3].

Объектом исследования микробиоты рыб в научной периодике чаще всего является слизистая ткань кишечника, которую можно рассматривать как биологический бассейн для потенциальных пробиотиков [4]. Действительно, некоторые исследования показали, что потенциальные пробиотики естественным образом обитают в виде комменсалов на поверхности слизистой оболочки рыб, например, у зубаток (*Ictalurus punctatus*) [5], радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) [6,7], атлантической трески [8,9], атлантического лосося (*Salmo salar*) [10] и среди многих других.

Использование новых технологий секвенирования следующего поколения расширило наши представления о таксономическом составе автохтонной микробиоты и было показано, что в кишечнике рыб обитает сложное сообщество бактерий.

За два последних десятилетия были опубликованы работы по взаимодействию микробиоты рыб с пробиотиками и пребиотиками в качестве полезных пищевых добавок, улучшающих показатели роста, усиливающих иммунные реакции, повышающих активности пищеварительных ферментов и устойчивость к стрессам.

В обзорной статье представлены новые исследования по влиянию пребиотиков и/или пробиотиков в качестве функциональных кормовых добавок на иммунные и физиологические реакции в кишечнике рыб и его микробиоте.

Связь между микробиотой кишечника и иммунитетом слизистой оболочки у представителей аквакультуры

Микробиота кишечника позвоночных играет центральную роль в развитии и модуляции врожденной и адаптивной иммунных систем слизистой оболочки и обеспечивает защиту от патогенных микробов, поддерживая целостность кишечника и регулируя проницаемость кишечного барьера (рис. 1) [11].

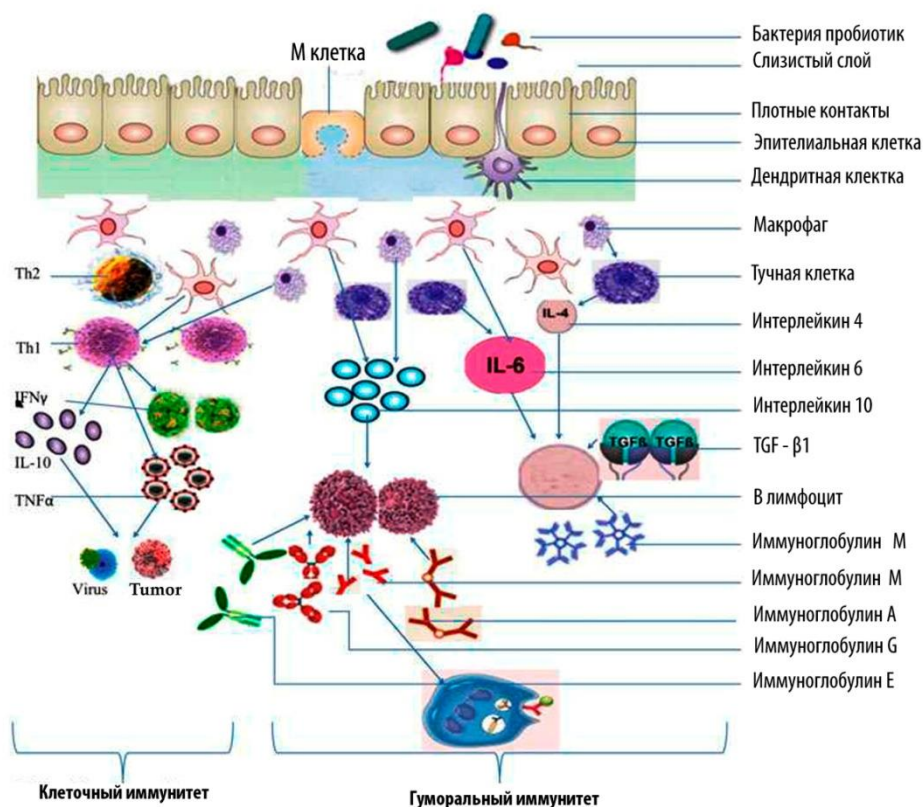


Рисунок 1. Механизм иммуномодуляции под действием пробиотиков у позвоночных

Взаимодействие пробиотических бактерий с эпителиальными клетками (ЕС), М-клетками (МС) и дендритными клетками (DC) приводит к интернализации бактерий или их компонентов. Это стимулирует высвобождение IL-6 у ЕС и стимулирует макрофаги (MQ) и DC, чтобы вызвать высвобождение TNF- α и IFN- γ . В то же время тучные клетки (MAC) стимулируются, чтобы высвободить IL-4, который в сочетании с IL-6 и TGF- β индуцирует T- независимое переключение от IgM к IgA на поверхности В-лимфоцитов (BL), увеличивая производство IgA. IL-6 способствует клональному развитию IgA-продуцирующих В-лимфоцитов, что приводит к увеличению продукции антител IgM, IgG и IgE. Клетки Th1 продуцируют провоспалительные цитокины IFN γ , TNF α и IL-2, которые усиливают или индуцируют фагоцитоз, активируют макрофаги, естественные клетки-киллеры (NK) и цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) для уничтожения или инактивации вирусов и опухолей, а также устранения инфекционных патогенов.

Колонизация слизистой оболочки кишечника бактериями регулирует как врожденные, так и адаптивные иммунные пути [12,13]. Например, передача сигналов MyD88 активируется через ассоциированные с микробом молекулярные образы (паттерны) MAMP штаммов микробиоты кишечника [12,13]. С другой стороны, некоторые метаболиты микробиоты контролируют адаптивную иммунную систему. Сфинголипиды, продуцируемые *Flectobacillus major*, изменяют уровни IgM и IgT в головке почки (НК) радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) [14].

Иммунный ответ рыб модулируется многими внутренними и внешними факторами, включая факторы окружающей среды (температура, соленость, фотопериод и др.) и физиологическим статусом (питание, возраст, репродуктивный цикл, гормональный баланс, стресс).

Использование иммуностимуляторов в качестве кормовых добавок, в основном из природных источников, является очень практичным подходом к повышению успеха аквакультуры, поскольку они улучшают здоровье рыб, уменьшая воздействие болезней и стресса [15-17]. В настоящее время иммуностимуляторы определяются как встречающиеся в природе соединения, модулирующие иммунную систему, повышающие устойчивость организма к заболеваниям, которые в большинстве случаев вызываются патогенами.

Иммунный ответ у рыб, как и у всех позвоночных, начинается с активации гуморальных компонентов (система комплемента, лизоцим, белки острой фазы, антимикробные пептиды, интерфероны, лектины, протеазы, ингибиторы протеаз и эйкозаноиды). Клеточные компоненты (моноциты/ макрофаги, гранулоциты, естественные киллеры и неспецифические цитотоксические клетки) также вступают в реакции ответа врожденной иммунной системы, после контакта со структурами патогена, известными как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP). PAMP являются молекулами, которые обычно не встречаются в эукариотических клетках. В качестве примера можно привести вирусные двухцепочечные РНК, бактериальные липополисахариды и некоторые сахара. Ответ врожденной иммунной системы обычно начинается сразу и длится несколько часов. Затем антиген обрабатывается и представляется компонентам адаптивной иммунной системы, которые вырабатывают адаптивный, специфический ответ посредством иммуноглобулинов (Ig) и цитотоксических Т-лимфоцитов (Рис.1). Этот ответ занимает несколько дней, но из-за отсутствия терморегуляции у рыб ответ адаптивной иммунной системы по эффективности уступает ответу у млекопитающих. Контроль и интеграция этого иммунного ответа осуществляется цитокинами, секретируемыми в основном лимфоцитами и моноцитами / макрофагами после стимуляции.

Помимо типичных иммунных органов рыб (головка почки, селезенка и тимус), которым уделялось наибольшее внимание, иммунная система рыб также состоит из физических барьеров, которые привлекли интерес в последнее время. Эти барьеры состоят из эпителия и их слизистых выделений, образующих лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистой оболочкой (MALT) [18,19]. У рыб MALT состоит из популяций диспергированных клеток, включая Т- и В-лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки, гранулоциты и тучные клетки (Рис.1). В

соответствии с анатомическим расположением MALT у костистых рыб подразделяется на лимфоидную ткань, связанную с кишечником (GALT), лимфоидную ткань, связанную с жабрами (GIALT), и лимфоидную ткань, связанную с кожей (SALT) [20]. В целом MALT рыб представляет собой очень большую поверхность для возможной микробной инвазии и содержит защитные механизмы (как врожденные, так и адаптивные), которые составляют первую линию защиты от широкого спектра патогенов, присутствующих в водной среде [20-22]. Функции этой системы, по-видимому, связаны со способностью улавливать антигены и высвобождать IgT и IgM, участвующие в ответах против патогенов [20-22]. Исследования по иммунологической характеристике MALT и ее роли в устойчивости к болезням продолжаются и вызывают большой интерес.

В отличие от млекопитающих, у рыб отсутствуют лимфатические узлы, М-клетки или секреция IgA в кишечнике. Однако интраэпителиальные лейкоциты и лейкоциты собственной пластинки диффузно распределены и представлены В- и Т-лимфоцитами, макрофагами, а также эозинофильными и нейтрофильными гранулоцитами [18], образующими GALT рыбы. В слое слизистой оболочки кишечника также были идентифицированы белки, ответственные за иммунитет, такие как белки комплемента, лизоцим, протеазы, антипротеазы, антимикробные пептиды и иммуноглобулины. Фактически IgT был открыт в 2005 году и, по-видимому, является специфическим Ig для слизистой оболочки у рыб [20-22], играющим аналогичную с IgA млекопитающих роль.

Введение иммуностимуляторов в корм или среду зависит от размера рыбы, но купание личинок и пероральные способы для молодежи и взрослых особей являются предпочтительными для фермеров, так как исключаются контакты с рыбой и стресс. Таким образом, большая часть доступной информации подтверждает благотворное влияние иммуностимуляторов в качестве пищевых добавок на компоненты гуморального и клеточного иммунитета и на экспрессию генов после перорального приема [15-18]. Эти иммуностимуляторы включают нуклеотиды, витамины, жирные кислоты, продукты дрожжей и бактерий (бета-глюканы, хитин, РНК и др.), экстракты растений, пробиотики и пребиотики.

Роль пребиотиков в функциональных кормовых добавках рыб

По одному из определений «Пребиотик представляет собой селективно ферментируемый ингредиент, который вызывает определенные изменения, как в составе, так и/или активности в микрофлоре желудочно-кишечного тракта, что обеспечивает благополучие и здоровье хозяина» [23]. Большинство исследований были направлены на изучение влияния пребиотиков на микробиоту и морфологию кишечника, а изучению такого влияния на GALT рыб не уделялось должного внимания. Всестороннее изучение механизмов стимуляции пребиотиками иммунного ответа на местном и системном уровнях стало целью исследований данной проблемы на современном этапе.

Информация о роли пребиотиков как кормовых добавок в физиологии кишечника, включая иммунитет, в основном содержит результаты изучения микробиоты. Состав микробных сообществ в кишечнике изменяется в зависимости от используемого пребиотика (его природы, концентрации, продолжительности действия) и вида рыб. В целом потребление пребиотиков с кормом вызывает снижение разнообразия микробиоты за счет преобладающего количества «хороших» бактерий, а именно, видов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* и меньшего количества «плохих» бактерий (потенциальных патогенных бактерий, таких как *Aeromonas spp.* или *Vibrio spp.*) [23-26]. В этом случае большинство эффектов пребиотиков на иммунитет являются косвенными и вызываются изменениями микробиоты кишечника. Представители микробиоты участвуют в производстве органических кислот (муравьиной, уксусной, молочной), перекиси водорода и некоторых других соединений, таких как антибиотики, бактериоцины, сидерофоры, лизоцим, а также модулируют физиологические и иммунологические реакции у рыб [23-26]. Повышение

производства микробиотой метаболитов, таких как пропионат, бутират или короткоцепочечные жирные кислоты (SCFA) после действия пребиотиков активирует через специфические рецепторы иммунные клетки млекопитающих [27] и, возможно, такая активация происходит у рыб. Эти соединения продуцируются в кишечнике после введения пребиотиков, хотя SCFA-рецептор у рыб не показан.

Пребиотики в форме молекулярных структур могут также взаимодействовать с рецепторами распознавания молекулярных образов у лейкоцитов рыб (PRR), по аналогии с микробными структурами (MAMP), такими как тейхоевая кислота, пептидогликан, гликозилированный белок или капсульный полисахарид бактерий [28]. PRR были идентифицированы у костистых рыб, включая toll-подобные рецепторы (TLR), NOD-подобные рецепторы (NLR), лектиновые рецепторы С-типа (CLR) и белки распознавания пептидогликана (PGRP) [29].

Другой аспект, на который влияют пребиотики, - это морфология кишечника. В большинстве работ исследуются изменения длины и ширины ворсинок и микроворсинок, количество продуцирующих слизь клеток, толщина слоя слизи, инфильтрация лейкоцитов и др. после введения пребиотика в корм рыб. Такие изменения влияют на степень адгезии патогенов, их способность к перемещению через кишечный барьер и колонизации внутренних тканей [30,31]. Выработка слизи увеличивалась у особей морского леща, получавших инулин, даже когда количество бокаловидных клеток было уменьшено [32]. У радужной форели, получавшей MOS [33], кишечные энтероциты располагались более плотно. У европейского морского окуня, получавшего MOS, было меньше нарушений плотных контактов (Т) и лучшая сохранность клеточной архитектуры кишечного барьера, что было показано с помощью электронной микроскопии [34]. Эти результаты также были подтверждены на уровне экспрессии генов. После введения инулина в качестве кормовой добавки у морского леща наблюдалась усиленная экспрессия окклюдина, белка, участвующего в плотных контактах [35], аналогично тому, как это происходит у млекопитающих. Такие физиологические реакции в значительной степени затрудняют продвижение бактерий и косвенно влияют на иммунитет и устойчивость к болезням, препятствуя проникновению, колонизации и распространению патогенов.

Таким образом, имеется ограниченная информация об иммунологической роли пребиотиков на уровне кишечника рыб и прилегающей к нему лимфоидной ткани (GALT). Немногочисленные результаты относительно присутствия и функции пребиотиков в GALT выращенных рыб вызвали некоторый интерес к инулину и MOS. В целом, наряду с повышением выработки слизи, пребиотики увеличивают бактерицидную и лизоцимную активности [34,36], придавая первой линии защиты большую надежность.

Бактерии, которые все еще могут преодолеть первую линию защиты, сталкиваются с хорошо структурированной и устойчивой линией эпителиальных клеток [34,35]. В случае транслокации через эпителиальные клетки бактерии попадают во внутриэпителиальный слой с большим количеством лейкоцитов, которые распознают и устраняют их. Механизмы действия пребиотиков, укрепляющие защиту кишечника и усиливающие системный иммунитет, остаются пока в форме нескольких гипотез. Лейкоциты из GALT напрямую контактируют с пребиотиками в просвете кишечника и активируются (гипотеза 1); пребиотики изменяют морфологию и физиологию энтероцитов, сообщая им способность перемещать частицы и бактерии из просвета кишечника в организм хозяина (гипотеза 2); измененная пребиотиками микробиота ответственна за активацию иммунной системы (гипотеза 3); пребиотики могут проникать через эпителий и связываться с лейкоцитами (гипотеза 4).

В случае первой гипотезы внутриэпителиальные лейкоциты должны пересекать эпителиальную границу и вступать в прямой контакт с веществами просвета кишечника, включая пребиотики. Если допустить, что внутриэпителиальные лейкоциты пересекают эпителиальную границу, (хотя такой исход не был подтвержден электронной микроскопией), то гипотетически лейкоциты могут распознавать пребиотические полисахариды и напрямую

связываться с ними посредством мембранных PRR и активироваться. В случае инулина известно, что длинноцепочечная молекула стимулирует иммунную систему человека, связываясь со специфическими лектин-подобными рецепторами на лейкоцитах и вызывая пролиферацию макрофагов [37], хотя это не было показано у рыб. У лейкоцитов морского леща, в присутствии инулина, не изменялась фагоцитарная активность, что свидетельствует об отсутствии таких рецепторов [38]. MOS в основном связывается с рецептором маннозы (MR), присутствующим в макрофагах, эндотелиальных клетках и незрелых дендритных клетках, но также может распознаваться рецепторами CD209 (DC-SIGN) и dectin-2. Существование рецепторов маннозы и CD209 было показано у костистых рыб [39], но их способность связываться с пребиотиками не изучалась. О рецепторах к FOS не сообщалось ни у одного исследованного животного, в том числе у рыб. В случае второй гипотезы пребиотики должны изменять морфологию и физиологию энтероцитов, сообщая им способность перемещать частицы и бактерии из просвета кишечника, а также экспрессировать различные PRR рецепторы, включая TLR рецепторы, и действовать как антиген-презентирующие клетки [40]. У рыб энтероциты способны перемещать некоторые вещества из просвета кишечника во внутренние ткани и кровь, но способность перемещать бактерии к фагоцитам не установлена [14]. Ни в одном исследовании не оценивалась экспрессия в энтероцитах генов или белков, связанных с иммунной системой. По третьей гипотезе пребиотики должны влиять на микробиоту, которая сама по себе или ее продукты повышают местный и системный иммунитет. Это пока наиболее исследованное направление, но не известно (см. первую гипотезу), могут ли лейкоциты GALT пересекать эпителиальную границу и напрямую распознавать микробные молекулярные образы MAMPs или они активируются продуктами микробиоты. И, наконец, по четвертой гипотезе пребиотики должны проникать через эпителий кишечника и связываться с лейкоцитами GALT. Например, сложные структуры, такие как микрочастицы поли-D, L-лактид-гликолевой кислоты (PLGA), способны преодолевать кишечный барьер [41], но это не было показано для пребиотиков.

По-прежнему необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять и установить роль пребиотиков в GALT-иммунитете и механизмы действия пребиотиков. Наконец, трудности в выделении лейкоцитов GALT с сохранением их функций и отсутствие лейкоцитарных маркеров (антител или генных маркеров) затрудняют этот прогресс. Следовательно, доступным подходом является использование экспрессии генов. Есть несколько опубликованных исследований, которые подтвердили экспрессию в GALT генов, связанных с иммунитетом, в результате добавки пребиотиков в диету рыб [32,35,42]. Эти работы указывают на то, что иммунная стимуляция и рекрутирование лейкоцитов в слизистую оболочку кишечника не связаны с воспалением.

В последние годы были предприняты масштабные проекты по секвенированию рыб. К сожалению, в очень немногих проектах изучался кишечник [43-45]. Эти немногочисленные исследования показали некоторые гены, связанные с иммунитетом, но необходима более подробная характеристика точной экспрессии и функций, которая поможет понять физиологию кишечника и, в частности, физиологию GALT.

Точный репертуар и функции энтероцитов рыб в иммунном ответе на действие пребиотиков должны быть исследованы в будущем. Такая информация поможет при разработке диет со сбалансированными и лучшими иммунологическими свойствами. Это будет также важно для разработки и производства оральных вакцин, области, которая находится в стадии разработки в рыбоводстве и вызывает большой интерес к аквакультуре.

Роль пребиотиков в функциональных кормовых добавках рыб

Пребиотики непосредственно усиливают врожденный иммунный ответ, включая активацию фагоцитоза, нейтрофилов, альтернативного гемолитического компонента (ACH50) и лизоцима [46-49]. Таким образом, пребиотики высоко ценятся как важный профилактический агент в аквакультуре. Обитающие у хозяина автохтонные микроорганизмы имеют большой

потенциал для использования в качестве пробиотиков, поэтому полученные из хозяина автохтонные пробиотики широко используются при культивировании рыб. Иммуномодуляция является одним из полезных механизмов действия пробиотиков, как экзогенных, так и автохтонных. Количественная оценка транскриптов генов иммунитета была распространенным подходом при изучении иммуномодуляции в желудочно-кишечном тракте под действием пробиотиков [50]. Введение пробиотиков также влияет на активность и популяцию интраэпителиальных лимфоцитов и ацидофильных гранулоцитов в кишечнике [51,52]. Пробиотики также способны вызывать системные иммунные реакции у рыб и в этом аспекте имеется значительное количество доказательств. Например, было показано, что на активность иммуногематологических параметров, таких как лизоцимы, феноксидазы, пероксидазы, антипротеазы, влияет введение пробиотиков [53,54]. Пробиотики влияют на фагоцитоз и дыхательную активность иммунных клеток [4,46]. Эти иммунные эффекты у хозяина во время введения пробиотиков были рассмотрены как на местном, так и на системном уровнях [4,46].

Приведенные выше наблюдения демонстрируют последствия иммуномодуляции пробиотиками и ставят вопрос о причине иммунологической активности пробиотиков. Иммуномодулирующую активность пробиотиков помимо внеклеточных микробных продуктов, структурных компонентов бактериальной клетки, в частности клеточной оболочки (белки S-слоя), опосредует сама внешняя структура иммунной клетки, вступая в контакт с первыми [55]. Распознавание микробов неспецифической (врожденной) иммунной системой позвоночных включает распознавание образов с помощью PRR, которые идентифицируют связанные с микробами молекулярные структуры (MAMP), включая липополисахариды, пептидогликаны, флагеллины и микробные нуклеиновые кислоты [4,46]. В настоящее время в рыбах выявлено 4 типа PRR, то есть Toll-подобные рецепторы (TLR), NOD-подобные рецепторы (NLR), рецепторы лектина С-типа (CLR) и белки распознавания пептидогликанов (PGRP) [29]. В моделях млекопитающих пробиотический механизм действия на иммунитет реализуется различными путями, включая toll-подобные рецепторы (TLR), ядерный фактор каппа В (NF-κB), митоген-активируемая протеинкиназа (MAPK), c-Jun NH2-терминальная киназа (JNK) [56]. В последнее время ведутся работы по установлению связи между TLR-опосредованной передачей сигналов при распознавании пробиотиков и активацией кишечной иммунной системы у рыб [57,58]. Например, у морского окуня *Epinephelus coioides* сигнальный путь TLR2 участвует в распознавании пробиотика *Psychrobacter sp.* SE6 [58].

Существует два основных принципа, которые определяют использование автохтонных микроорганизмов в качестве пробиотиков [59]. Физиологические особенности и различия каждого хозяина и существенное влияние факторов окружающей среды затрудняют разработку пробиотического препарата, который бы имел универсальное применение. Например, на клеточный рост и синтез бактериоцинов штаммами *Leuconostoc mesenteroides* L124 и *Lactobacillus curvatus* L442 (пробиотики, также используемые у водных видов животных) существенно влияют рН и температура среды [60], и эти параметры подвержены изменениям у водных животных. На адгезию молочнокислых бактерий также влияют вышеупомянутые параметры [61]. Существуют физиологические различия между морскими и наземными микроорганизмами, которые объясняют их различающиеся реакции на разнообразие окружающей среды. Например, производство сидерофоров является свойством пробиотиков в ограничении железа для роста патогенных микроорганизмов [62] и существуют различия в механизме поглощения железа между морскими и наземными микроорганизмами [63].

Микробные добавки, вводимые с кормом, оказывают благотворное влияние на продуктивность и устойчивость рыб к болезням путем изменения микробного баланса в кишечнике в сторону потенциально полезных популяций, конкурируя и исключая вредные бактерии, секретируя биоактивные метаболиты и взаимодействуя с иммунной системой [64,65]. Пробиотический штамм *Enterococcus faecium*, введенный в оливковую камбалу (*Paralichthys olivaceus*) для борьбы с патогеном *Lactococcus garvieae*, повышал активность лизоцима сыворотки

крови, активность комплемента и антипротеазную активность [66]. Пробиотический штамм *Lactobacillus acidophilus*, в кормовой добавке африканского сома (*Clarias gariepinus*), оказался полезен в качестве пробиотического агента против патогенных бактерий (*S. xylosum*, *A. hydrophila* gr.2 и *S. agalactiae*) [67]. У разных видов форели, получавших пробиотическую диету, усиливались клеточные и гуморальные иммунные реакции, фагоцитарная активность лейкоцитов и активность альтернативного комплемента [68], устойчивость к патогену *Aeromonas* sp. [54], а также возрастало общее количество лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и нейтрофилов [69]. Диета с пробиотиками (*L. rhamnosus*, *E. faecium* и *B. subtilis*) повышала у радужной форели уровень экспрессии связанных с иммунитетом генов, продукцию супероксидных анионов, лейкоцитов и активность альтернативного комплемента [70]. Диета с *Bacillus amyloliquefaciens* повышала уровень гемоглобина у *Nile tilapia* (*O. niloticus*) [71]. У *Labeo rohita* (Ham.) из семейства карповых диета с *Bacillus subtilis* повышала содержание лейкоцитов [72]. В другой работе диеты со штаммом *Bacillus subtilis* KADR1 или его субклеточными компонентами эффективно усиливали иммунные ответы и сопротивляемость *Labeo rohita* к инфекции *Aeromonas hydrophila*. Значительно более высокая выживаемость после заражения была зарегистрирована в группах рыб, получавших 10^8 КОЕ / г KADR1 (80,24%; относительный процент выживания, RPS = 75,76%) или иммунизированных суммарной фракцией белков пробиотика (77,77%; RPS = 72,73%) по сравнению с контролем (18,51%) [73].

Что касается механизма действия пробиотиков, было высказано предположение, что рецепторы на иммунных клетках (таких как нейтрофилы, макрофаги и дендритные клетки) распознают β -глюканы пробиотиков [74]. Взаимодействие β -глюканов с TLRs может приводить к индукции каскада передачи сигналов NF- κ B и MAPK [75]. Зимозан, препарат, получаемый из клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* и включающий β -глюканы, по-видимому, связывается с TLR2 и TLR4 и по сигнальному пути через NF- κ B увеличивает продукцию цитокинов [75]. После перорального введения пробиотиков морскому лещу (*Sparus aurata*) заметно увеличивались иммунные параметры и активировались иммунные гены, такие как Herp, IgM, TCR- β , NCCRP-1, MHC-II α , CSF-1R, C3, TNF- α и IL-1 β [76]. Взаимодействие β -глюканов со специфическими рецепторами на макрофагах и дендритных клетках, по-видимому, приводит к выработке различных цитокинов, которые, в свою очередь, активируя В- или Т-лимфоциты, генерируют системный иммунный ответ. Было высказано предположение, что дрожжевые β -глюканы могут изначально модулировать врожденную иммунную систему, пока адаптивный иммунный ответ недостаточно включился для противодействия болезни [77,78]. В другом исследовании изучалась устойчивость к соленому стрессу и влияние диетической добавки *L. acidophilus* на иммунитет слизистых оболочек и кишечную микробиоту черного меченосца (*Xiphophorus helleri*). Результаты показали, что пробиотик *L. acidophilus* в рационе положительно влиял на здоровье и показатели роста рыб [79]. Аналогично, исследования диет с *L. rhamnosus* и/или *L. lactis* показали значительное повышение показателей роста и иммунных параметров у красного морского леща *Pagrus major*. Микробиологические исследования с использованием методов культивирования показали значительное увеличение общего количества бактерий, а также молочнокислых бактерий в микробиоте кишечника красного морского леща *Pagrus major* в результате создания диет, содержащих *Lactobacillus rhamnosus* и / или *Lactococcus lactis* [80].

Влияние кормовых добавок, представляющих молочнокислые бактерии *Lactobacillus curvatus* и *Leuconostoc mesenteroides*, первоначально выделенных соответственно из желудочно-кишечного тракта белуги (*Huso huso*) и персидского осетра (*Acipenser persicus*), исследовали на рост, выживаемость мальков рыб и активность их пищеварительных ферментов (амилазы, липазы и протеазы), а также на популяционный уровень молочнокислых бактерий в желудочно-кишечном тракте. Исследование показало, что свойство молочнокислых бактерий колонизовать пищеварительный тракт зависит от природы хозяина. В исследовании мальков белуги (*Huso huso*) самые высокие удельные темпы роста, выживаемость и активность кишечных ферментов были отмечены в группе выращивания, получавшей 9×10^9 колониеобразующих единиц (КОЕ) *L.*

curvatus на грамм корма. У мальков персидского осетра уровень включения 2×10^9 КОЕ *Lei. mesenteroides* / г корма давал аналогичный положительный эффект [81].

У рыбы-попугая (*Oplegnathus fasciatus*), получавшей диету с *Bacillus subtilis* E20, улучшались показатели роста и сопротивляемость к инфекции *Vibrio alginolyticus*. Важно отметить, что иммунные параметры *O. fasciatus* улучшались с повышением концентрации пробиотика, хотя коэффициент роста снижался. Кормление диетой с пробиотиками на уровне 10^{10} КОЕ/кг заметно увеличивало устойчивость к *V. alginolyticus*. Это было связано с улучшением иммунных параметров, таких как респираторный взрыв лейкоцитов, фагоцитарная активность и активность лизоцима сыворотки крови, за исключением активности супероксиддисмутазы [82].

Диета с *L. acidophilus* изменила белковый профиль кожной слизи, повлияла на аппетит и экспрессию иммунных генов путем значительного увеличения экспрессии генов TNF-1 α и TNF-2 α , а также подавления экспрессии гена грелина (ghrelin) у золотой рыбки *Carassius auratus gibelio*. Эти результаты продемонстрировали, что *L. acidophilus* влияет на экспрессию иммунных генов и генов, связанных с аппетитом, а также на профиль белков кожной слизи, хотя и не оказывал воздействия на показатели роста [83].

Пробиотики регулируют пищеварение путем активации микробных ферментов и стимуляции полезных микробов [84,85]. Они также улучшают микробиологические характеристики кишечника, о чем свидетельствует улучшение всасывания и переваривания пищи, а также улучшение морфологии микроворсинок кишечника [86,87].

Роль синбиотиков в функциональных кормовых добавках рыб

Свойство ферментировать сахара играет ключевую роль в конкурентной борьбе пробиотиков и кишечных комменсалов выживать и сохраняться в желудочно-кишечном тракте. Эта концепция лежит в основе использования пребиотиков, которые обогащают местную полезную микробиоту. Пребиотики также применяют в сочетании с пробиотиками для улучшения их экологических показателей в кишечнике. Комбинация пребиотиков и пробиотиков, называемая синбиотиками, в качестве кормовых добавок оказалась многообещающим средством для биоконтроля заболеваний разводимой рыбы [88-91]. Синбиотики влияют на хозяина, улучшая выживаемость и имплантацию живых микробных пищевых добавок в желудочно-кишечный тракт путем выборочной стимуляции роста и / или активации метаболизма одной или ограниченного количества полезных для здоровья бактерий, и, таким образом, улучшая физиологический статус хозяина [88-91]. В целом лечение рыб синбиотиками привело к положительному влиянию на иммунологические реакции, выживаемость, рост, микробиоту кишечника, повышение уровня кишечной абсорбции и улучшение состояния здоровья.

Оптимальная комбинация синбиотиков была определена между *Pediococcus acidilactici* и рядом пребиотиков в условиях *in vitro* на основе роста бактерий и продукции короткоцепочечных жирных кислот [88]. Затем в условиях *in vivo* было изучено влияние синбиотика на показатели роста, микробиоту кишечника и физиологический ответ сеголеток радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*). Результаты исследования показали повышение иммунного ответа и устойчивости к болезням у рыб, получавших диету с *P. acidilactici* и галактоолигосахаридом (GOS) [88].

Значительные сдвиги в микробном сообществе были обнаружены с помощью массивного секвенирования V3-V4 16S рРНК гена. Результаты показали разные модели кластеризации бактерий между базовой диетой и диетами с добавками (пребиотик, пробиотик, синбиотик). Род *Bacillus* оказался обогащенным только благодаря диете, сочетающей обе добавки. Эта публикация была первым отчетом об анализе состава микробного сообщества из кишечного содержимого тотоаба с использованием 16S секвенирования микробиома [92]. В другом исследовании также

изучали эффекты комбинированного перорального введения *L. casei* в качестве пробиотика и экстрактов *Agaricus bisporus* в качестве пребиотика на рыбах данио (*Danio rerio*). Лизоцимная активность плазмы крови у рыб, получавших пребиотик, была ниже по сравнению с таковой в контрольной группе. Длина складки в проксимальной области желудочно-кишечного тракта у рыб, получавших только пробиотик, была значительно больше, чем у рыб контрольной группы. Значительные изменения были обнаружены в микробном разнообразии путем секвенирования генов V3-V4 16S рРНК, что указывает на различные профили кластеризации бактерий в зависимости от добавок (пробиотик, пребиотик и синбиотик). Пероральное комбинированное введение экстрактов *A. bisporus* и *L. casei* значительно повышало экспрессию генов, связанных с ростом (*igf1* and *gh*), иммунных генов слизистой оболочки (*lyz*, *tnf-alpha*, и *il1b*) и генов, связанных с антиоксидантами (*sod*, *cat*), у рыбок данио. Активность неспецифических иммунных факторов кожной слизи в группе с комбинированной диетой была значительно выше, что указывает на перспективность комбинированного корма с добавками *L. casei* и экстракта *A. bisporus* в рыбоводстве [93].

Результаты испытания диеты с *Bacillus subtilis* и яблочной кислотой на нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*) показали, что параметры выживаемости и роста были выше по сравнению с рыбами, получавшими контрольную диету. Самые высокие значения показателей роста были зарегистрированы в диетических группах с 10 г яблочной кислоты/кг и $1,1 \times 10^5$ КОЕ/г *B. subtilis* и 5 г яблочной кислоты/кг и $1,1 \times 10^5$ КОЕ/г *B. subtilis*. Самые высокие значения лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, общего белка, альбумина и глобулина были обнаружены при диетическом кормлении яблочной кислотой и *Bacillus subtilis* [94]. Что касается механизма действия, то было высказано предположение, что снижение рН желудочного сока снижает рН кишечника, что в свою очередь увеличивает использование питательных веществ и вызывает активацию пепсина, а также может увеличить сольюбилизацию минералов и их активное всасывание [94].

Пробиотик (*B. subtilis* или Biogen®) или специи (чеснок или фенхель) или комбинации *B. subtilis* и чеснока или фенхеля в рационах нильской тилапии значительно ($P < 0,01$) снижали гематокрит (Ht) и снижали уровни аланинаминотрансферазы (ALT) и аспаргатаминотрансферазы (AST), в то время как концентрации гемоглобина (Hb) незначительно изменялись. Примерный состав всего тела рыбы показал, что на сухое вещество (DM), неочищенный белок (CP) и эфирный экстракт (EE) значительно ($P < 0,05$) повлияли различные добавки по сравнению с контрольной группой рыб [95]. Подобно цитируемым результатам, способность синбиотических добавок *Bacillus clausii* / MOS / FOS повышать иммунную активность наблюдалась у японской камбалы (*Paralichthys olivaceus*) по сравнению с контрольными группами, получавшими по отдельности *Bacillus clausii*, MOS и FOS [96]. Положительное влияние на активность, питание, параметры врожденного иммунитета и устойчивость к болезням наблюдали после комбинированного введения *B. subtilis* (1,0 г / кг) и хитозана (6,0 г / кг) в диету кобии (*Rachycentron canadum*) [97], *Weissella cibaria* / инулин в гибридном сурубиме (*Pseudoplatystoma sp.*) [98] и *B. subtilis* ($1,35 \times 10^7$ КОЕ/г) / ФОС у молодых больших желтых горбылей (*Larimichthys crocea*) [99]. После перорального приема инулина (0,5%) с *W. cibaria* в гибридных сурубимах (*Pseudoplatystoma corruscans* × *P. reticulatum*) уменьшилось присутствие патогенных бактерий и улучшилась микробиота кишечника, т.е. прослеживалась связь с их системой иммунной защиты [98].

Хотя точные механизмы влияния диетических синбиотиков на состояние здоровья рыб нуждаются в более подробных исследованиях, недавние результаты предполагают, что они могут влиять на иммунные параметры благодаря продукции SCFA после микробной ферментации. У млекопитающих SCFAs могут изменять врожденные иммунные реакции путем связывания с GPR43 рецептором иммунных клеток, ассоциированных с G-белком [100]. С другой стороны, кормление смесью *B. subtilis* / хитозан значительно увеличивало активность альтернативного пути комплемента (ACP), который относится к неспецифическим иммунным ответам рыб [97].

Диетическое введение MOS и *Enterococcus faecalis* привело к увеличению коэффициента роста и стимулировало иммунные реакции у радужной форели, хотя у японской камбалы тот же синбиотический состав не оказал явного синергетического эффекта [101]. Точно так же не наблюдали синергические эффекты между FOS и *B. subtilis* против *V. harveyi* у желтого горбыля [99]. Противоречивые результаты могут быть связаны с межвидовыми различиями рыб-хозяев по составу кишечных микробных сообществ, которые являются основными факторами, влияющими на ферментируемость и функциональность пребиотиков. Поэтому перед выбором и введением смеси пребиотиков следует проводить тщательное исследование кишечной микробиоты и ее ферментационные свойства. Противоречивые результаты также могут быть связаны с введением в качестве субстрата для пробиотиков неспецифичных пребиотиков, что приведет к отсутствию или ограничению ферментации и последующему накоплению пребиотиков. В этой связи степень полимеризации (DP) пребиотиков значительно влияет на ферментацию микробиотой. Например, исследования одного и того же вида (белуга, *Huso Huso*) показали, что пребиотики с разными DP (инулин и олигофруктоза) имеют разные эффекты [102]. Поэтому необходимо исследовать *in vitro* и *ex vivo* ферментацию пребиотиков с различной степенью полимеризации под действием кишечной микробиоты. Такие исследования полезны для выбора правильных пребиотиков и оптимальных уровней включения для выращиваемых рыб.

Таким образом, наиболее многообещающим направлением исследований синбиотиков в рыбной аквакультуре является необходимость оценки безопасности пребиотиков и пробиотиков путем изучения их влияния на активность кишечной микробиоты. Широкое признание общественностью пробиотиков и пребиотиков, более точные руководящие принципы в отношении заявлений о безопасности и подготовки синбиотиков будут полезны для ускорения развития более устойчивой коммерческой аквакультуры.

Выводы

- Между микробиотой кишечника и иммунитетом слизистых оболочек обнаруживается перекрестная связь. Иммунитет слизистой оболочки играет роль первой линии защиты от болезней.
- Очень важно учитывать баланс микробного сообщества и изменять его в сторону полезных бактерий. Химические вещества, такие как антибиотики, изменяют микробное сообщество и меняют условия в сторону адгезии и колонизации вредных бактерий. Введение в микробиоту кишечника функциональных кормовых добавок, таких как про-, пре- или синбиотики, активизирует иммунную защиту и рассматривается как путь восстановления функционального гомеостаза кишечной микробиоты.
- Хотя выдвинуты несколько гипотез относительно механизма действия пребиотиков и пробиотиков, для подтверждения предстоит провести дополнительные исследования. Метагеномика и транскриптомные исследования могут помочь расширить существующие знания о функциях микробиоты кишечника рыб и их взаимодействии с иммунной системой.
- Обзор литературы показал более благоприятные результаты при применении синбиотиков. Однако существует очень ограниченное количество исследований, касающихся определения полезного субстрата для каждого пробиотика и введения оптимальной смеси синбиотиков. Это можно рассматривать как область будущих исследований.

Финансирование. Работа выполнена в рамках грантового финансирования по проекту AP 08856679 «Получение препаратов на основе автохтонных штаммов молочнокислых бактерий из кишечника промысловых рыб для борьбы с инфекциями и оценка их эффективности».

Список литературы

1. Lescaq E.A., Milligan-Myhre K.C. Teleosts as model organisms to understand host-microbe interactions // *Journal of Bacteriology*. – 2017. – Vol. 199(15). – P. 1–11.
2. Smith C.C., Snowberg L.K., Caporaso J.G., Knight R., Bolnick D.I. Dietary input of microbes and host genetic variation shape among-population differences in stickleback gut microbiota. // *ISME J.* – 2015. – Vol. 9. – P. 2515-2526. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.64>.
3. Bolnick D.I., Snowberg L.K., Hirsch P.E., Lauber C.L., Knight R., Caporaso, J.G., Svanback R. Individuals' diet diversity influences gut microbial diversity in two freshwater fish (threespine stickleback and Eurasian perch) // *Ecol. Lett.* – 2014. - Vol. 17. – P. 979–987.
4. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Mucosal immunity and probiotics in fish. // *Fish and Shellfish Immunology*. – 2014. – Vol. 39. – P. 78-89.
5. Larsen A.M., Mohammed H.H., Arias C.R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warm water fish species // *Journal of Applied Microbiology*. – 2014. – Vol. 116. – P. 1396-404.
6. Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T., Appel K.F., Gram L. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. // *Aquaculture*. – 2020. - Vol. 182. – P. 1-15.
7. Araújo C., Muñoz-Atienza E., Nahuelquín Y., Poeta P., Igrejas G., Hernández P.E. et al. Inhibition of fish pathogens by the microbiota from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and rearing environment. // *Anaerobe*. – 2015. – Vol. 32. – P. 7-14.
8. Dhanasiri A.S., Brunvold L., Brinchmann M., Korsnes K., Bergh O., Kiron V. Changes in the Intestinal Microbiota of Wild Atlantic cod *Gadus morhua* L. Upon Captive Rearing. // *Microbial Ecology*. – 2011. – Vol. 61. – P. 20-30.
9. Fjellheim A.J., Playfoot K.J., Skjermo J., Vadstein O. Vibrionaceae dominates the microflora antagonistic towards *Listonella anguillarum* in the intestine of cultured Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae. // *Aquaculture*. – 2007. – Vol. 269. – P. 98-106.
10. Jöborn A., Dorsch M., Olsson J.C., Westerdahl A., Kjelleberg S. *Carnobacterium inhibens* sp. nov., isolated from the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). // *International Journal of Systematic Bacteriology*. – 1999. – Vol. 49. – P. 1891-1898.
11. Hoseinifar S.H., Resources N., Doan H. Van, Dadar M., Vaccine R., Ringoe E. Feed Additives, Gut Microbiota, and Health in Finfish Aquaculture. - *Microbial Communities in Aquaculture Ecosystems*, 2019. - 163 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16190-3>.
12. Gallindo-Villegas J., Garcia-Moreno D., Oliveira S., Meseguer J., Mulero V. Regulation of immunity and disease resistance by commensal microbes and chromatin modifications during zebrafish development. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2012. – Vol. 109. – P. 2605-2614.
13. Bates J.M., Akerlund J., Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. // *Cell Host Microbe*. – 2007. – Vol. 2. – P. 371-382.
14. Sepahi A., Cordero H., Goldfine H., Esteban M.A., Salinas I. Symbiont-derived sphingolipids modulate mucosal homeostasis and B cells in teleost fish. // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 39-54.
15. Sakai M. Current research status of fish immunostimulants. // *Aquacult.* – 1999. – Vol. 172. – P. 63–92.
16. Bricknell I., Dalmo R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 457–472.
17. Kiron V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 173. – P. 111– 133.
18. Rombout J.H., Abelli L., Picchiatti S., Scapigliati G. and Kiron V. Teleost intestinal immunology. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2011. – Vol. 31. – P. 616–626.

19. Magnadottir B. Immunological control of fish diseases. // *Mar. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 12. – P. 361–379.
20. Salinas I., Zhang Y.A., and Sunyer J.O. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish. // *Dev. Comp. Immunol.* – 2011. – Vol. 35. – P. 1346-1365.
21. Zhang Y.A., Salinas I., Li J., Parra D., Bjork S. and Xu Z. IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11. – P. 827-835.
22. Xu Z., Parra D., Gomez D., Salinas I., Zhang Y. and von Gersdorff Jorgensen L. Teleost skin, an ancient mucosal surface that elicits gut-like immune responses. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110. – P. 13097–13102.
23. Song S.K., Beck B.R., Kim D., Park J., Kim J., Kim H.D. and Ringo E. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2014. - №1. –P. 40-48.
24. Mahious A.S., Van Loo J., and Ollevier F. Impact of the prebiotics, inulin and oligofructose on microbial fermentation in the spiral valve of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). In: *Aqua 2006*, World Aquaculture Society. – Italy. – 2006. – P. 564–565.
25. Rurangwa E., Delaedt Y., Geraylou Z., Van De Wiele T., Courtin C.M, Delcour J.A., and Ollevier F. Dietary effect of arabinoxylan oligosaccharides on zootechnical performance and hindgut microbial fermentation in Siberian sturgeon and African catfish. In: *Aquaculture Europe.* – Poland. – 2008. – P. 569– 570.
26. Geraylou Z., Souffreau C., Rurangwa E., D'Hondt S., Callewaert L., Courtin C.M., Delcour J.A., Buyse J. and Ollevier F. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2012. – Vol. 33. – P. 718-724.
27. Bach Knudsen K. E., Serena A., Canibe N. and Juntunen K.S. New insight into butyrate metabolism. // *Proc. Nutr. Soc.* – 2003. – Vol. 62. – P. 81–86.
28. Bron P.A., van Baarlen P. and Kleerebezem M. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa. // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2012. – Vol. 10. – P. 66-78.
29. Boltana S., Roher N., Goetz, F.W., MacKenzie S.A. PAMPs, PRRs and the genomics of gram negative bacterial recognition in fish. // *De.v Comp. Immunol.* – 2011. – vol. 35. – P. 1195-1203.
30. Hoseinifar S.H., Esteban M.Á., Cuesta A., Sun Y-Z. Prebiotics and fish immune response: A review of current knowledge and future perspectives. // *Rev. Fish Sci. Aquacult.* – 2015. – Vol. 23. – P. 315-328.
31. Torrecillas S., Montero D., and Izquierdo M. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: potential mode of action. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2014. – Vol. 36. – P. 525-544.
32. Cerezuela R., Fumanal M., Tapia-Paniagua S.T., Meseguer J., Morinigo M.A. and Esteban M.A. Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2013. – Vol. 34. – P. 1063-1070.
33. Rodrigues-Estrada U., Satoh S., Haga Y., Fushimi H. and Sweetman J. Studies of the Effects of mannan oligosaccharides, *Enterococcus faecalis*, and poly hydrobutyric acid as immune stimulant and growth promoting ingredients in rainbow trout diets. In: *5th World fisheries Congress.* – Japan. – 2008. – P. 158.
34. Torrecillas S., Makol A., Betancor M.B., Montero D., Caballero M.J. and Sweetman J. Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. // *Fish Shellfish Immunol.* – Vol. 34. – P. 1485-1495.
35. Cerezuela R., Meseguer J. and Esteban M.A. Effects of dietary inulin, *Bacillus subtilis* and microalgae on intestinal gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). // *Fish Shellfish Immunol.* – 2013. – Vol. 34. – P. 843-848.
36. Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Gines R., Sweetman J. and Izquierdo M. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass

- (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). // *Aquacult. Nutr.* – 2011. – Vol. 17. – P. 223-233.
37. Seifert S. and Watzl B. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 2563S-2567S.
38. Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J. and Angeles Esteban M. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2008. – Vol. 24. – P. 663-668.
39. Rodriguez A., Esteban M.A. and Meseguer J. A mannose-receptor is possibly involved in the phagocytosis of *Saccharomyces cerevisiae* by seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2003. – Vol. 14. – P. 375-388.
40. Miron N. and Cristea V. Enterocytes: active cells in tolerance to food and microbial antigens in the gut. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2012. – Vol. 167. – P. 405-412.
41. Tian J., Sun X., Chen X., Yu J., Qu L. and Wang L. The formulation and immunization of oral poly (DL-lactide co-glycolide) microparticles containing a plasmid vaccine against lymphocystis disease virus in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). // *Int. Immunopharmacol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 900-908.
42. Lokesh J., Fernandes J.M.O., Korsnes K., Bergh O., Brinchmann M.F. and Kiron V. Transcriptional regulation of cytokines in the intestine of Atlantic cod fed yeast derived mannan oligosaccharide or b-glucan and challenged with *Vibrio anguillarum*. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2012. – Vol. 33. – P. 626-631.
43. Donate C., Balasch J.C., Callol A., Bobe J., Tort L., and MacKenzie S. The effects of immunostimulation through dietary manipulation in the rainbow trout, evaluation of mucosal immunity. // *Mar. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 12. – P. 88-99.
44. Caldach-Giner J.A., Sitjà-Bobadilla A., Davey G.C., Cairns M.T., Kaushik S. & Pérez-Sánchez J. Dietary vegetable oils do not alter the intestine transcriptome of gilthead sea bream (*Sparus aurata*), but modulate the transcriptomic response to infection with *Enteromyxum leei*. // *BMC Genomics.* – 2012. – Vol. 13, №1. – P. 470. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-470>.
45. Skugor S., Grisdale-Helland B., Refstie S., Afanasyev S., Vielma J. and Krasnov A. Gene expression responses to restricted feeding and extracted soybean meal in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). // *Aquacult. Nutr.* – 2011. – Vol. 17. – P. 505-517.
46. Nayak S.K. Probiotics and immunity: a fish perspective. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2010. – Vol. 29. – P. 2-14.
47. Akhter N., Wu B., Memon A.M., Mohsin M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2015. – Vol. 45. – P. 733-741.
48. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Bacterial viability differentially influences the immunomodulatory capabilities of potential host-derived probiotics in the intestinal epithelial cells of Atlantic cod *Gadus morhua*. // *Journal of Applied Microbiology.* – 2014. – Vol. 116. – P. 990-998.
49. Lazado C.C., Caipang C.M.A., Brinchmann M.F., Kiron V. *In vitro* adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. // *Veterinary Microbiology.* – 2011. – Vol. 148. – P. 252-259.
50. Pérez-Sánchez T., Balcázar J.L., Merrifield D.L., Carnevali O., Gioacchini G., de Blas, I. et al. Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection. // *Fish & Shellfish Immunology.* – 2011. – Vol. 31. – P. 196-201.
51. Picchietti S., Fausto A.M., Randelli E., Carnevali O., Taddei A.R., Buonocore F. et al. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). // *Fish & Shellfish Immunology.* – 2009. – Vol. 26. – P. 368-376.
52. Picchietti S., Mazzini M., Taddei A.R., Renna R., Fausto A.M., Mulero V. et al. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: Immunohistochemical and

ultrastructural studies. // *Fish & Shellfish Immunology*. – 2007. – Vol. 22. – P. 57-67.

53. Balcázar J.L., De Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Vendrell D., Gironés O., Muzquiz J.L. Enhancement of the immune response and protection induced by probiotic lactic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. – 2007. – Vol. 51. – P. 185-193.

54. Newaj-Fyzul A., Adesiyun A.A., Mutani A., Ramsbhag A., Brunt J., Austin B. *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). // *Journal of Applied Microbiology*. – 2007. – Vol. 103. – P. 1699-1706.

55. Taverniti V., Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept). // *Genes and Nutrition*. – 2011. – Vol. 6. – P. 261-274.

56. Yoon S.S., Sun J. Probiotics, nuclear receptor signaling, and anti-inflammatory pathways. // *Gastroenterology Research and Practice*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 2016.

57. Perez T., Balcazar J.L., Ruiz-Zarzuela I., Halaihel N., Vendrell D., de Blas I. et al. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem. // *Mucosal Immunol.* – 2010. – Vol. 3. – P. 355-360.

58. Sun Y.Z., Xia H.Q., Yang H.L., Wang Y.L., Zou W.C. TLR2 signaling may play a key role in the probiotic modulation of intestinal microbiota in grouper *Epinephelus coioides*. // *Aquaculture*. – 2014. – Vol. 430. – P. 50-56.

59. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Atlantic cod in the dynamic probiotics research in aquaculture. // *Aquaculture*. – 2014. – Vol. 424-425. – P. 53-62.

60. Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M., Drosinos E.H. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. // *Meat Science*. – 2003. – Vol. 64. – P. 265-71.

61. Tuomola E., Crittenden R., Playne M., Isolauri E., Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2001. – Vol. 73. – P. 393s-398s.

62. Lazado C.C., Caipang C.M.A., Rajan B., Brinchmann M.F., Kiron V. Characterization of GP21 and GP12: Two potential probiotic bacteria isolated from the gastrointestinal tract of Atlantic cod. // *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. – 2010. – Vol. 2. – P. 126-134.

63. Sandy M., Butler A. Microbial iron acquisition: marine and terrestrial siderophores. // *Chemical reviews*. – 2009. – Vol. 109. – P. 4580-4595.

64. Hoseinifar S.H., Dadar M., Ringo E. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario. // *Aquacult. Res.* – 2017. – Vol. 48. – P. 3987-4000.

65. Kuebutornye F.K.A., Abarike E.D., Lu Y. A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture. // *Fish and Shellfish Immunology*. – 2019. – Vol. 87. – P. 820-828.

66. Kim Y.R., Kim E.Y., Choi S.Y., Hossain M.T., Oh R., Heo W.S., Lee J.M., Cho Y.C., Kong I.S. Effect of a probiotic strain, *Enterococcus faecium*, on the immune responses of Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 22. – P. 526-529.

67. Al-Dohail M.A., Hashim R., Aliyu-Paiko M. Evaluating the use of *Lactobacillus acidophilus* as a biocontrol agent against common pathogenic bacteria and the effects of the haematology parameters and histopathology in African catfish *Clarias gariepinus* juveniles. // *Aquacult. Res.* 2011. – Vol. 42. – P. 196-209.

68. Balcazar J.L., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Vendrell D., Calvo A.C., Marquez I.O.G., Muzquiz J.L. Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*). // *Br. J. Nutr.* – 2007. – Vol. 97. – P. 522-527.

69. Zorriehzahra M.J., Hassan M.D., Gholizadeh M., Saidi A.A. Study of some hematological and biochemical parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in western part of Mazandaran province, Iran. // *Iranian J. Fish. Sci.* – 2010. – Vol. 9. – P. 185-198.

70. Panigrahi A., Kiron V., Satoh S., Hirono I., Kobayashi T., Sugita H., Puangkaew J., Aoki T.

Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. // Dev. Comp. Immunol. – 2007. – Vol. 31. – P. 372-382.

71. Reda R.M., Selim K.M. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. // Aquaculture Int. – 2015. – Vol. 23. – P. 203– 217.

72. Kumar R., Mukherjee S., Ranjan R., and Nayak S. Enhanced innate immune parameters in *Labeo rohita* (Ham.) following oral administration of *Bacillus subtilis*. // Fish Shellfish Immunol. – 2008. – Vol. 24. – P. 168–172.

73. Ramesh D., Souissi S. Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* KADR1 and its subcellular components on immune responses and disease resistance in *Labeo rohita*. // Aquaculture Research. – 2018. – Vol. 49, №1. P. 367–377.

74. Rodrigues M.V., Zanuzzo F.S., Koch J.F. A., de Oliveira C.A.F., Sima P., Vetvicka V. Development of Fish Immunity and the Role of β -Glucan in Immune Responses. // Molecules. – 2020. – Vol. 25, №22. – P. 5378. <https://doi.org/10.3390/molecules25225378>.

75. Gantner B.N., Simmons R.M., Canavera S.J., Akira S., Underhill D.M. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and toll-like receptor 2. // J. Exp. Med. – 2003. – Vol. 197. – P. 1107-1117.

76. Reyes-Becerril M., Salinas I., Cuesta A., Meseguer J., Tovar-Ramirez D., Ascencio-Valle F., Esteban M.A. Oral delivery of live yeast *Debaryomyces hansenii* modulates the main innate immune parameters and the expression of immune relevant genes in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). // Fish Shellfish Immunol. – 2008. – Vol. 25. – P. 731-739.

77. Bricknell I., Dalmo R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. // Fish Shellfish Immunol. – 2005. – Vol. 19. – P. 457-472.

78. Meena D.K., Das P., Kumar S., Mandal S.C., Prusty A.K., Singh S.K., Akhtar M.S., Behera B.K., Kumar K., Mukherjee S.C. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). // Fish Physiol. Biochem. – 2013. – Vol. 39. – P. 431-457.

79. Hoseinifar S.H., Roosta Z., Hajimoradloo A., Vakili F. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). // Fish Shellfish Immunol. – 2015. – Vol. 42. – P. 533-538.

80. Dawood M.A., Koshio S., Ishikawa M., Yokoyama S., El Basuini M.F., Hossain M.S., Nhu T.H., Dossou S., Moss A.S. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*. // Fish Shellfish Immunol. – 2016. – Vol. 49. – P. 275-285.

81. Askarian F., Kousha A., Salma W., Ringo E. The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and Beluga (*Huso huso*) fry. // Aquacult. Nutr. – 2011. – Vol. 17. – P. 488-497.

82. Liu C.H., Wu K., Chu T.W., Wu T.M. Dietary supplementation of probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth performance and disease resistance against *Vibrio alginolyticus* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). // Aquacult. Int. – 2018. – Vol. 26. – P. 63-74.

83. Hosseini M., Miandare H.K., Hoseinifar S.H., Yarahmadi P. Dietary *Lactobacillus acidophilus* modulated skin mucus protein profile, immune and appetite genes expression in gold fish (*Carassius auratus gibelio*). // Fish Shellfish Immunol. – 2016. – Vol. 59. – P. 149-154.

84. Hoseinifar S.H., Dadar M., Ringo E. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario. // Aquacult. Res. – 2017. – Vol. 48. – P. 3987-4000.

85. Hoseinifar S.H., Safari R., Dadar M. Dietary sodium propionate affects mucosal immune parameters, growth and appetite related genes expression: Insights from zebrafish model. // Gen. Comp. Endocrinol. – 2017. – Vol. 243. – P. 78-83.

86. Mohapatra S., Chakraborty T., Prusty A., Das P., Paniprasad K., Mohanta K. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, *Labeo rohita* fingerlings: effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora. // *Aquacult. Nutr.* – 2012. – Vol. 18. – P. 1-11.
87. Kord M.I., Srouf T.M., Omar E.A., Farag A.A., Nour A.A.M. and Khalil H.S. The Immunostimulatory Effects of Commercial Feed Additives on Growth Performance, Non-specific Immune Response, Antioxidants Assay, and Intestinal Morphometry of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*. // *Front. Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 627499. doi: 10.3389/fphys.2021.627499.
88. Hoseinifar S., Mirvaghefi A., Amoozegar M., Merrifield D., Ringo E. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. // *Aquacult. Nutr.* 2015. – Vol. 23. – P. 111-118.
89. Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Amoozegar M.A., Sharifian M., Esteban M.Á. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2015. – Vol. 45. – P. 27-32.
90. Cerezuela R., Meseguer J., Esteban M. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. // *J. Aquacult. Res. Dev.* – 2011. – Vol. 1. – P. 1-7.
91. Hoseinifar S.H., Sun Y.-Z., Zhou Z. Prebiotics and Synbiotics. // *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish.* – 2017. – P.185-188. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119152125.ch7>.
92. González-Félix M.L., Gatlin D.M., Urquidez-Bejarano P., de la Reé-Rodríguez C., Duarte-Rodríguez L., Sánchez F., Casas-Reyes A., Yamamoto, F.Y., Ochoa-Leyva A., Perez-Velazquez M. Effects of commercial dietary prebiotic and probiotic supplements on growth, innate immune responses, and intestinal microbiota and histology of *Totoaba macdonaldi*. // *Aquaculture.* – 2018. – Vol. 491. – P. 239-251.
93. Safari R., Hoseinifar S.H., Dadar M., Khalili M. Dietary white bottom mushroom powder improved immunomodulatory and health promoting effects of *Lactobacillus casei* in zebrafish (*Danio rerio*). // *Int. J. Med. Mushrooms.* – 2018. – Vol. 20. – P. 695-704.
94. Hassaan M., Soltan M., Jarmołowicz S., Abdo H. Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). // *Aquacult. Nutr.* – 2018. – Vol. 24. – P. 83–93.
95. Soltan M.A., El-Laithy S. Effect of probiotics and some spices as feed additives on the performance and behaviour of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). // *Egypt J. Aqua.t Biol. Fish.* – 2008. – Vol. 12. – P. 63-80.
96. Ye J.D., Wang K., Li F.D., Sun, Y.Z. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. // *Aquacult. Nutr.* – 2011. – Vol. 17. – P. 902-911.
97. Geng X., Dong X.H., Tan B.P., Yang, Q.H., Chi, S.Y., Liu, H.Y., Liu, X.Q. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. // *Fish Shellfish Immunol.* – 2011. – Vol. 31. –P. 400-406.
98. Mouriño J., Do Nascimento Vieira F., Jatoba A., Da Silva B., Jesus G., Seiffert W., Martins M. Effect of dietary supplementation of inulin and *W. cibaria* on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma sp.*) // *Aquacult. Nutr.* – 2012. – Vol. 18. – P. 73-80.
99. Ai Q., Xu H., Mai K., Xu W., Wang J., Zhang W. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. // *Aquaculture.* – 2011. – Vol. 317/ – P. 155-161.
100. Maslowski K.M., Mackay C.R. Diet, gut microbiota and immune responses. // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 12. – P. 5.
101. Rodriguez-Estrada U., Satoh S., Haga Y., Fushimi H., Sweetman J. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate

acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. // *Aquacult. Sci.* – 2009. – Vol. 57. – P. 609-617.

102. Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Rostami H.K., Merrifield D.L. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. // *Aquacult. Nutr.* – 2011. – Vol. 17. – P. 498-504.

С.М. Шайхин, М.С. Уразова, Ж.Б. Текебаева, А.С. Абилхадиров, З.С. Сармурзина
ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» МРК, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Функционалды қоспалардың жемге иммундық реакцияға және балық денсаулығына әсері

Аңдатпа. Аквакультурада аурулар мен күйзелісті бақылаудың ең перспективті әдістерінің бірі иммуностимуляторларды профилактикалық енгізу арқылы қорғаныс механизмін күшейту болып саналады, олар химиотерапия мен вакциналарға жігерлендіретін балама ретінде қарастырылады. Барлық осы алдын-алу шаралары туа біткен және / немесе адаптивті иммундық жүйені нығайтуға бағытталған. Ғылыми журналдарда жаңа иммуностимуляторлар, пребиотиктер және пробиотиктер жиі талқылана бастады.

Көп функциялы күрделі құрылымды ұсынатын ішек гомеостазда және балықтың денсаулығын сақтауда негізгі иммунологиялық рөлге, сонымен қатар тағамды және қоректік заттарды сіңіруге ие.

Шолу мақаласында балық ішектеріндегі және оның микробиотасындағы иммундық және физиологиялық реакцияларға функционалды жемшөп қоспалары ретінде пребиотиктердің және/немесе пробиотиктердің әсері туралы жаңа зерттеулер келтірілген.

Түйін сөздер: аквакультура; иммуностимуляторлар; пребиотиктер; пробиотиктер; ішек микробиотасы; функционалды жемшөп қоспалары.

S.M. Shaikhin, M.S. Urazova, Zh.B. Tekebayeva, A.S. Abilkhadirov, Z.S. Sarmurzina
"Republican Collection of Microorganisms" CS MES RK, Nur-Sultan, Kazakhstan

Effect of functional feed additives on fish health

Abstract. In aquaculture, one of the most promising methods of disease and stress control is considered to be strengthening the defense mechanism through prophylactic administration of immunostimulants, which are seen as a reassuring alternative to chemotherapy and vaccines. All these preventive measures are aimed at strengthening the innate and/or adaptive immune system. New immunostimulants, prebiotics, and probiotics are increasingly being discussed in scientific journals.

As a multifunctional complex structure, the gut has a key immunological role in homeostasis and the maintenance of fish health, in addition to food digestion and nutrient absorption.

The review article presents new studies on the effect of prebiotics and/or probiotics as functional feed additives on immune and physiological responses in the fish intestine and its microbiota.

Keywords: aquaculture; immunostimulants; prebiotics; probiotics; intestinal microbiota; functional feed additives.

References

1. Lescak E.A., Milligan-Myhre K.C. Teleosts as model organisms to understand host-microbe interactions, *Journal of Bacteriology*, 199(15), 1–11 (2017).
2. Smith C.C., Snowberg L.K., Caporaso J.G., Knight R., Bolnick D.I. Dietary input of microbes

and host genetic variation shape among-population differences in stickleback gut microbiota, *ISME J*, 9, 2515-2526 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.64>.

3. Bolnick D.I., Snowberg L.K., Hirsch P.E., Lauber C.L., Knight R., Caporaso, J.G., Svanback R. Individuals' diet diversity influences gut microbial diversity in two freshwater fish (threespine stickleback and Eurasian perch), *Ecol. Lett.*, 17, 979–987 (2014).

4. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Mucosal immunity and probiotics in fish, *Fish and Shellfish Immunology*, 39, 78-89 (2014).

5. Larsen A.M., Mohammed H.H., Arias C.R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warm water fish species, *Journal of Applied Microbiology*, 116, 1396-404 (2014).

6. Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T., Appel K.F., Gram L. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification, *Aquaculture*, 182, 1-15 (2000).

7. Araújo C., Muñoz-Atienza E., Nahuelquín Y., Poeta P., Igrejas G., Hernández P.E. et al. Inhibition of fish pathogens by the microbiota from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and rearing environment, *Anaerobe*, 32, 7-14 (2015).

8. Dhanasiri A.S., Brunvold L., Brinchmann M., Korsnes K., Bergh O., Kiron V. Changes in the Intestinal Microbiota of Wild Atlantic cod *Gadus morhua* L. Upon Captive Rearing, *Microbial Ecology*, 61, 20-30 (2011).

9. Fjellheim A.J., Playfoot K.J., Skjermo J., Vadstein O. Vibrionaceae dominates the microflora antagonistic towards *Listonella anguillarum* in the intestine of cultured Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae, *Aquaculture*, 269, 98-106 (2007).

10. Jöborn A., Dorsch M., Olsson J.C., Westerdahl A., Kjelleberg S. *Carnobacterium inhibens* sp. nov., isolated from the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*), *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1891-1898 (1999).

11. Hoseinifar S.H., Resources N., Doan H. Van, Dadar M., Vaccine R., Ringoe E. Feed Additives, Gut Microbiota, and Health in Finfish Aquaculture, *Microbial Communities in Aquaculture Ecosystems*, Canada, 2019, 163 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16190-3>.

12. Gallindo-Villegas J., Garcia-Moreno D., Oliveira S., Meseguer J., Mulero V. Regulation of immunity and disease resistance by commensal microbes and chromatin modifications during zebrafish development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 2605-2614 (2012).

13. Bates J.M., Akerlund J., Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota, *Cell Host Microbe*, 2, 371-382 (2007).

14. Sepahi A., Cordero H., Goldfine H., Esteban M.A., Salinas I. Symbiont-derived sphingolipids modulate mucosal homeostasis and B cells in teleost fish, *Sci. Rep.*, 6, 39-54 (2016).

15. Sakai M. Current research status of fish immunostimulants, *Aquacult*, 172, 63–92 (1999).

16. Bricknell I., Dalmo R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture, *Fish Shellfish Immunol.*, 19, 457–472 (2005).

17. Kiron V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 173, 111–133 (2012).

18. Rombout J.H., Abelli L., Picchiatti S., Scapigliati G. and Kiron V. Teleost intestinal immunology, *Fish Shellfish Immunol.*, 31, 616–626 (2011).

19. Magnadottir B. Immunological control of fish diseases, *Mar Biotechnol*, 12, 361–379 (2010).

20. Salinas I., Zhang Y.A., and Sunyer J.O. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish, *Dev. Comp. Immunol.*, 35, 1346-1365 (2011).

21. Zhang Y.A., Salinas I., Li J., Parra D., Bjork S. and Xu Z. IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity, *Nat. Immunol.*, 11, 827-835 (2010).

22. Xu Z., Parra D., Gomez D., Salinas I., Zhang Y. and von Gersdorff Jorgensen L. Teleost skin, an ancient mucosal surface that elicits gut-like immune responses, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 110, 13097–13102 (2013).

23. Song S.K., Beck B.R., Kim D., Park J., Kim J., Kim H.D. and Ringo E. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish Shellfish Immunol*, 1, 40-48 (2014).
24. Mahious A.S., Van Loo J., and Ollevier F. Impact of the prebiotics, inulin and oligofructose on microbial fermentation in the spiral valve of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). World Aquaculture Society, Florence, Italy, 2006. P. 564–565.
25. Rurangwa E., Delaedt Y., Geraylou Z., Van De Wiele T., Courtin C.M, Delcour J.A., and Ollevier F. Dietary effect of arabinoxylan oligosaccharides on zootechnical performance and hindgut microbial fermentation in Siberian sturgeon and African catfish, Aquaculture Europe, Krakow, Poland, 2008. P.569–570.
26. Geraylou Z., Souffreau C., Rurangwa E., D'Hondt S., Callewaert L., Courtin C.M., Delcour J.A., Buyse J. and Ollevier F. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community, *Fish Shellfish Immunol*, 33, 718-724 (2012).
27. Bach Knudsen K. E., Serena A., Canibe N. and Juntunen K.S. New insight into butyrate metabolism, *Proc. Nutr. Soc.*, 62, 81–86 (2003).
28. Bron P.A., van Baarlen P. and Kleerebezem M. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa, *Nat. Rev. Microbiol.*, 10, 66-78 (2012).
29. Boltana S., Roher N., Goetz, F.W., MacKenzie S.A. PAMPs, PRRs and the genomics of gram negative bacterial recognition in fish, *Dev. Comp. Immunol*, 35, 1195-1203 (2011).
30. Hoseinifar S.H., Esteban M.Á., Cuesta A., Sun Y-Z. Prebiotics and fish immune response: A review of current knowledge and future perspectives, *Rev. Fish Sci. Aquacult*, 23, 315-328 (2015).
31. Torrecillas S., Montero D., and Izquierdo M. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: potential mode of action, *Fish Shellfish Immunol*, 36, 525-544 (2014).
32. Cerezuela R., Fumanal M., Tapia-Paniagua S.T., Meseguer J., Morinigo M.A. and Esteban M.A. Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens, *Fish Shellfish Immunol*, 34, 1063-1070 (2013).
33. Rodrigues-Estrada U., Satoh S., Haga Y., Fushimi H. and Sweetman J. Studies of the Effects of mannan oligosaccharides, *Enterococcus faecalis*, and poly hydrobutyric acid as immune stimulant and growth promoting ingredients in rainbow trout diets. 5th World fisheries Congress, Yokohama, Japan, 2008. P. 158.
34. Torrecillas S., Makol A., Betancor M.B., Montero D., Caballero M.J. and Sweetman J. Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides, *Fish Shellfish Immunol*, 34, 1485-1495 (2013).
35. Cerezuela R., Meseguer J. and Esteban M.A. Effects of dietary inulin, *Bacillus subtilis* and microalgae on intestinal gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), *Fish Shellfish Immunol*, 134, 843-848 (2013).
36. Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Gines R., Sweetman J. and Izquierdo M. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS), *Aquacult Nutr.*, 17, 223-233 (2011).
37. Seifert S. and Watzl B. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. *J Nutr.* 137, 2563S-2567S (2007).
38. Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J. and Angeles Esteban M. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. *Fish Shellfish Immunol.* 24: 663-668 (2008).
39. Rodriguez A., Esteban M.A. and Meseguer J. A mannose-receptor is possibly involved in the phagocytosis of *Saccharomyces cerevisiae* by seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, *Fish Shellfish Immunol*, 14, 375-388 (2003).
40. Miron N. and Cristea V. Enterocytes: active cells in tolerance to food and microbial antigens in the gut. *Clin Exp Immunol.* 167, 405–412 (2012).
41. Tian J., Sun X., Chen X., Yu J., Qu L. and Wang L. The formulation and immunization of

oral poly (DL-lactide co-glycolide) microparticles containing a plasmid vaccine against lymphocystis disease virus in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), *Int Immunopharmacol*, 8, 900-908 (2008).

42. Lokesh J., Fernandes J.M.O., Korsnes K., Bergh O., Brinchmann M.F. and Kiron V. Transcriptional regulation of cytokines in the intestine of Atlantic cod fed yeast derived mannan oligosaccharide or β -glucan and challenged with *Vibrio anguillarum*, *Fish Shellfish Immunol*, 33, 626-631 (2012).

43. Donate C., Balasch J.C., Callol A., Bobe J., Tort L., and MacKenzie S. The effects of immunostimulation through dietary manipulation in the rainbow trout; evaluation of mucosal immunity. *Mar Biotechnol*. 12, 88–99 (2010).

44. Caldach-Giner J.A., Sitjà-Bobadilla A., Davey G.C., Cairns M.T., Kaushik S. & Pérez-Sánchez J. Dietary vegetable oils do not alter the intestine transcriptome of gilthead sea bream (*Sparus aurata*), but modulate the transcriptomic response to infection with *Enteromyxum leei*, *BMC Genomics*, 13(1), 470 (2012). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-470>.

45. Skugor S., Grisdale-Helland B., Refstie S., Afanasyev S., Vielma J. and Krasnov A. Gene expression responses to restricted feeding and extracted soybean meal in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquacult Nutr.*, 17, 505–517 (2011).

46. Nayak S.K. Probiotics and immunity: a fish perspective, *Fish Shellfish Immunol*, 29, 2-14 (2010).

47. Akhter N., Wu B., Memon A.M., Mohsin M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review, *Fish Shellfish Immunol*, 45, 733-741 (2015).

48. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Bacterial viability differentially influences the immunomodulatory capabilities of potential host-derived probiotics in the intestinal epithelial cells of Atlantic cod *Gadus morhua*, *Journal of Applied Microbiology*, 116, 990-998 (2014).

49. Lazado C.C., Caipang C.M.A., Brinchmann M.F., Kiron V. In vitro adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria, *Veterinary Microbiology*, 148, 252-259 (2011).

50. Pérez-Sánchez T., Balcázar J.L., Merrifield D.L., Carnevali O., Gioacchini G., de Blas, I. et al. Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection, *Fish & Shellfish Immunology*, 31, 196-201 (2011).

51. Picchietti S., Fausto A.M., Randelli E., Carnevali O., Taddei A.R., Buonocore F. et al. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.), *Fish & Shellfish Immunology*, 26, 368-376 (2009).

52. Picchietti, S., Mazzini, M., Taddei, A.R., Renna, R., Fausto, A.M., Mulero, V., et al. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: Immunohistochemical and ultrastructural studies. *Fish & Shellfish Immunology*. 22, 57-67 (2007).

53. Balcázar J.L., De Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Vendrell D., Gironés O., Muzquiz J.L. Enhancement of the immune response and protection induced by probiotic lactic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51, 185-193 (2007).

54. Newaj-Fyzul A., Adesiyun A.A., Mutani A., Ramsbhag A., Brunt J., Austin B. *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1699-1706 (2007).

55. Taverniti V., Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept), *Genes and Nutrition*, 6, 261-274 (2011).

56. Yoon S.S., Sun J. Probiotics, nuclear receptor signaling, and anti-inflammatory pathways, *Gastroenterology Research and Practice*, 2011, 2016 (2011).

57. Perez T., Balcazar J.L., Ruiz-Zarzuola I., Halaihel N., Vendrell D., de Blas I. et al. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem, *Mucosal Immunol*, 3, 355-360 (2010).

58. Sun Y.Z., Xia H.Q., Yang H.L., Wang Y.L., Zou W.C. TLR2 signaling may play a key role in the probiotic modulation of intestinal microbiota in grouper *Epinephelus coioides*, *Aquaculture*, 430, 50-56 (2014).
59. Lazado C.C., Caipang C.M.A. Atlantic cod in the dynamic probiotics research in aquaculture, *Aquaculture*, 424-425, 53-62 (2014).
60. Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M., Drosinos E.H. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442, *Meat Science*, 64, 265-71 (2003).
61. Tuomola E., Crittenden R., Playne M., Isolauri E., Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 393s-8s (2001).
62. Lazado C.C., Caipang C.M.A., Rajan B., Brinchmann M.F., Kiron V. Characterization of GP21 and GP12: Two potential probiotic bacteria isolated from the gastrointestinal tract of Atlantic cod, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2, 126-134 (2010).
63. Sandy M., Butler A. Microbial iron acquisition: marine and terrestrial siderophores, *Chemical reviews*, 109, 4580-95 (2009).
64. Hoseinifar S.H., Dadar M., Ringo E. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario, *Aquacult. Res.*, 48, 3987-4000 (2017).
65. Kuebutornye F.K.A., Abarike E.D., Lu Y. A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture, *Fish and Shellfish Immunology*, 87, 820-828, (2019).
66. Kim Y.R., Kim E.Y., Choi S.Y., Hossain M.T., Oh R., Heo W.S., Lee J.M., Cho Y.C., Kong I.S. Effect of a probiotic strain, *Enterococcus faecium*, on the immune responses of Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Microbiol. Biotechnol*, 22, 526-529 (2012).
67. Al-Dohail M.A., Hashim R., Aliyu-Paiko M. Evaluating the use of *Lactobacillus acidophilus* as a biocontrol agent against common pathogenic bacteria and the effects of the haematology parameters and histopathology in African catfish *Clarias gariepinus* juveniles. *Aquacult. Res.* 42, 196-209 (2011).
68. Balcazar J.L., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Vendrell D., Calvo A.C., Marquez I.O.G., Muzquiz J.L. Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*), *Br. J. Nutr.*, 97, 522-527 (2007).
69. Zorriehzahra M.J., Hassan M.D., Gholizadeh M., Saidi A.A. Study of some hematological and biochemical parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in western part of Mazandaran province, Iran., *Iranian J. Fish. Sci.*, 9, 185-198 (2010).
70. Panigrahi A., Kiron V., Satoh S., Hirono I., Kobayshi T., Sugita H., Puangkaew J., Aoki T. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding, *Dev. Comp. Immunol*, 31, 372-382 (2007).
71. Reda R.M., Selim K.M. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Int.*, 23, 203-217 (2015).
72. Kumar R., Mukherjee S., Ranjan R., and Nayak S. Enhanced innate immune parameters in *Labeo rohita* (Ham.) following oral administration of *Bacillus subtilis*, *Fish Shellfish Immunol*, 24, 168-172 (2008).
73. Ramesh D., Souissi S. Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* KADR1 and its subcellular components on immune responses and disease resistance in *Labeo rohita*. *Aquaculture Research*. 49(1), 367-377 (2018).
74. Rodrigues M.V., Zanuzzo F.S., Koch J.F. A., de Oliveira C.A.F., Sima P., Vetvicka V. Development of Fish Immunity and the Role of β -Glucan in Immune Responses, *Molecules*, 25(22), 5378 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25225378>.
75. Gantner B.N., Simmons R.M., Canavera S.J., Akira S., Underhill D.M. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and toll-like receptor 2, *J. Exp. Med.*, 197, 1107-1117 (2003).
76. Reyes-Becerril M., Salinas I., Cuesta A., Meseguer J., Tovar-Ramirez D., Ascencio-Valle F., Esteban M.A. Oral delivery of live yeast *Debaryomyces hansenii* modulates the main innate immune

parameters and the expression of immune relevant genes in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), *Fish Shellfish Immunol*, 25, 731-739 (2008).

77. Bricknell I., Dalmo R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture, *Fish Shellfish Immunol*, 19, 457-472 (2005).

78. Meena D.K., Das P., Kumar S., Mandal S.C., Prusty A.K., Singh S.K., Akhtar M.S., Behera B.K., Kumar K., Mukherjee S.C. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review), *Fish Physiol. Biochem.*, 39, 431-457 (2013).

79. Hoseinifar S.H., Roosta Z., Hajimoradloo A., Vakili F. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*), *Fish Shellfish Immunol*, 42, 533-538 (2015).

80. Dawood M.A., Koshio S., Ishikawa M., Yokoyama S., El Basuini M.F., Hossain M.S., Nhu T.H., Dossou S., Moss A.S. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*, *Fish Shellfish Immunol*, 49, 275-285 (2016).

81. Askarian F., Kousha A., Salma W., Ringo E. The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and Beluga (*Huso huso*) fry, *Aquacult. Nutr.*, 17, 488-497 (2011).

82. Liu C.H., Wu K., Chu T.W., Wu T.M. Dietary supplementation of probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth performance and disease resistance against *Vibrio alginolyticus* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*), *Aquacult. Int.*, 26, 63-74 (2018).

83. Hosseini M., Miandare H.K., Hoseinifar S.H., Yarahmadi P. Dietary *Lactobacillus acidophilus* modulated skin mucus protein profile, immune and appetite genes expression in gold fish (*Carassius auratus gibelio*), *Fish Shellfish Immunol*, 59, 149-154 (2016).

84. Hoseinifar S.H., Dadar M., Ringo E. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario, *Aquacult. Res.*, 48, 3987-4000 (2017).

85. Hoseinifar S.H., Safari R., Dadar M. Dietary sodium propionate affects mucosal immune parameters, growth and appetite related genes expression: Insights from zebrafish model, *Gen. Comp. Endocrinol*, 243, 78-83 (2017).

86. Mohapatra S., Chakraborty T., Prusty A., Das P., Paniprasad K., Mohanta K. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, *Labeo rohita* fingerlings: effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora, *Aquacult. Nutr.*, 18, 1-11 (2012).

87. Kord M.I., Srour T.M., Omar E.A., Farag A.A., Nour A.A.M. and Khalil H.S. The Immunostimulatory Effects of Commercial Feed Additives on Growth Performance, Non-specific Immune Response, Antioxidants Assay, and Intestinal Morphometry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Front. Physiol.*, 12, 627499 (2021). doi: 10.3389/fphys.2021.627499.

88. Hoseinifar S., Mirvaghefi A., Amoozegar M., Merrifield D., Ringo E. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings, *Aquacult. Nutr.*, 23, 111-118 (2015).

89. Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Amoozegar M.A., Sharifian M., Esteban M.Á. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding, *Fish Shellfish Immunol*, 45, 27-32 (2015).

90. Cerezuela R., Meseguer J., Esteban M. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review, *J. Aquacult. Res. Dev.*, 1, 1-7 (2011).

91. Hoseinifar S.H., Sun Y.-Z., Zhou Z. Prebiotics and Synbiotics. *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish*, 185-188 (2017). DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119152125.ch7>.

92. González-Félix M.L., Gatlin D.M., Urquidez-Bejarano P., de la Reé-Rodríguez C., Duarte-Rodríguez L., Sánchez F., Casas-Reyes A., Yamamoto, F.Y., Ochoa-Leyva A., Perez-Velazquez M. Effects of commercial dietary prebiotic and probiotic supplements on growth, innate immune responses, and intestinal microbiota and histology of *Totoaba macdonaldi*, *Aquaculture*, 491,

239-251 (2018).

93. Safari R., Hoseinifar S.H., Dadar M., Khalili M. Dietary white bottom mushroom powder improved immunomodulatory and health promoting effects of *Lactobacillus casei* in zebrafish (*Danio rerio*), *Int. J. Med. Mushrooms*, 20, 695-704 (2018).

94. Hassaan M., Soltan M., Jarmołowicz S., Abdo H. Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquacult. Nutr.*, 24, 83–93 (2018).

95. Soltan M.A., El-Laithy S. Effect of probiotics and some spices as feed additives on the performance and behaviour of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Egypt J. Aquat. Biol. Fish*, 12, 63-80 (2008).

96. Ye J.D., Wang K., Li F.D., Sun, Y.Z. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *Aquacult. Nutr.*, 17, 902-911 (2011).

97. Geng X., Dong X.H., Tan B.P., Yang, Q.H., Chi, S.Y., Liu, H.Y., Liu, X.Q. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*, *Fish Shellfish Immunol*, 31, 400-406 (2011).

98. Mouriño J., Do Nascimento Vieira F., Jatoba A., Da Silva B., Jesus G., Seiffert W., Martins M. Effect of dietary supplementation of inulin and W. cibaria on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma sp.*), *Aquacult. Nutr.*, 18, 73-80 (2012).

99. Ai Q., Xu H., Mai K., Xu W., Wang J., Zhang W. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*, *Aquaculture*, 317, 155-161 (2011).

100. Maslowski K.M., Mackay C.R. Diet, gut microbiota and immune responses, *Nat. Immunol.*, 12, 5 (2010).

101. Rodriguez-Estrada U., Satoh S., Haga Y., Fushimi H., Sweetman J. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Aquacult. Sci.*, 57, 609-617 (2009).

102. Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Mojazi Amiri B., Rostami H.K., Merrifield D.L. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles, *Aquacult. Nutr.*, 17, 498-504 (2011).

Сведения об авторах:

Шайхин С.М. – заведующий лабораторией генетики и биохимии микроорганизмов, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Нур-Султан, Казахстан, E-mail: rkm_shaikhin@mail.ru.

Уразова М.С. – старший научный сотрудник лаборатории генетики и биохимии микроорганизмов, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Нур-Султан, Казахстан. E-mail: maira_01@mail.ru.

Текебаева Ж.Б. – научный сотрудник лаборатории микробиологии, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Нур-Султан, Казахстан. E-mail: j.tekebaeva@mail.ru.

Абильхадиров А.С. – научный сотрудник лаборатории генетики и биохимии микроорганизмов, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Нур-Султан, Казахстан. E-mail: good_alien@mail.ru.

Сармурзина З.С. – генеральный директор, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Нур-Султан, Казахстан. E-mail: sarmurzina@list.ru.

Shaikhin S.M. – Head of the Laboratory of Genetics and Biochemistry of Microorganisms, Republican Collection of Microorganisms, Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: rkm_shaikhin@mail.ru.

Urazova M.S. – Senior Researcher, Laboratory of Genetics and Biochemistry of Microorganisms, Republican Collection of Microorganisms, Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: maira_01@mail.ru.

Tekebayeva Zh.B. – Researcher, Laboratory of Microbiology, Republican Collection of Microorganisms, Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: j.tekebaeva@mail.ru.

Abilkhadirov A.S. – Researcher, Laboratory of Genetics and Biochemistry of Microorganisms, Republican Collection of Microorganisms, Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: good_alien@mail.ru.

Sarmurzina Z.S. – CEO, Republican Collection of Microorganisms, Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: sarmurzina@list.ru.