

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ И
АГРОТЕХНОЛОГИЙ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

На правах рукописи



АРИНЖАНОВА МАРИЯ СЕРГЕЕВНА

**Влияние обеспеченности кремнием на продуктивность и
обмен веществ у карпа**

4.2.4 Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов
и производства продукции животноводства

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН
С.В. Лебедев

Оренбург 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Биологическая роль минеральных элементов при выращивании рыбы в аквакультуре	10
1.2 Биологическая роль кремния. Кремний в рационах при промышленном производстве рыбы	13
1.3 Обоснование применения ультрадисперсных препаратов микроэлементов в кормлении и факторы, определяющие их использование в животноводстве	16
1.4 Применение ультрадисперсных препаратов диоксида кремния	19
1.5 Перспективы использования аминокислот в составе рационов содержащих УДЧ	22
1.6 Перспективы использования пробиотиков в составе рационов, содержащих УДЧ	30
1.7 Заключение по обзору литературы.....	33
2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	34
2.1 Материалы и методы исследования	34
2.2 Результаты физико-химической и биологической экспертизы препарата ультрадисперсных частиц	41
2.3 Результаты экспериментальных исследований на модели карпа	42
2.3.1 Результаты I эксперимента по оценке эффективности применения различных доз УДЧ диоксида кремния в составе рациона карпов	42
2.3.1.1 Корма и кормление подопытной рыбы	42
2.3.1.2 Рост и развитие подопытной рыбы.....	42
2.3.1.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб.....	44
2.3.1.4 Аминокислотный состав печени рыб	47
2.3.1.5 Химический состав мышечной ткани рыб	48
2.3.1.6 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб	49
2.3.1.7 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбой	52
2.3.1.8 Резюме по итогам I экспериментального исследования	53

2.3.2 Результаты II эксперимента по оценке эффективности влияния УДЧ SiO ₂ и комплекса аминокислот на продуктивность и обмен веществ у карпа	54
2.3.2.1 Корма и кормление подопытной рыбы	54
2.3.2.2 Рост и развитие подопытной рыбы.....	54
2.3.2.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб.....	56
2.3.2.4 Аминокислотный состав печени рыб	59
2.3.2.5 Химический состав мышечной ткани рыб	60
2.3.2.6 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб	61
2.3.2.7 Таксономический состав микробиома кишечника рыбы	65
2.3.2.8 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбой	73
2.3.2.9 Резюме по итогам II экспериментального исследования	73
2.3.3. Результаты III эксперимента по оценке эффективности совместного действия УДЧ SiO ₂ , солей микроэлементов и пробиотических штаммов <i>Bifidobacterium</i> на продуктивность и обмен веществ карпа	75
2.3.3.1 Корма и кормление подопытной рыбы	75
2.3.3.2 Рост и развитие подопытной рыбы.....	75
2.3.3.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб.....	78
2.3.3.4 Химический состав мышечной ткани рыб	80
2.3.3.5 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб	81
2.3.3.6 Таксономический состав микробиома кишечника рыбы	85
2.3.3.7 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбы	94
2.3.3.8 Резюме по итогам III экспериментального исследования.....	94
2.3.4 Результаты научно-хозяйственного эксперимента.....	96
3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	99
4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	109
5 ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ.....	112
6 ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ	113
7 СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	114
8 ПРИЛОЖЕНИЕ	142

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность выбранной темы исследования. Аквакультура является одной из самых перспективных и быстрорастущих отраслей мировой индустрии продуктов питания, с ожидаемым двукратным ростом производства в ближайшие два десятилетия (The Food and Agriculture Organization, 2014). Столь высокие темпы роста производства формируют принципиально новые требования к ведению работ в аквакультуре, в первую очередь в промышленных условиях. Это становится возможным через уточнение существующих норм кормления и создания новых комплексных кормовых добавок (Uribe C. et al., 2011; Marengo M. et al., 2018).

В этой связи одним из перспективных направлений развития представляется детальное изучение биологической роли и особенности продуктивного действия кремния. Как известно, кремний является важным эссенциальным химическим элементом и третьим по распространенности микроэлементом в организме человека и животных (Скальный А.В. 2004). В последние годы всё большее число исследований указывает на то, что кремний играет важную роль в минерализации костей, синтезе коллагена и др. (Arthur-Ataam J. et al., 2019).

Известно, что дефицит кремния приводит к деформации костей и суставов, дефектам хрящей, нарушениям минерального баланса в организме (Martin K.R., 2007), а дополнительное включение кремнийсодержащих добавок в рацион сопровождается повышением прочности и плотности костей у рыб (Küçükbay F.Z. et al., 2008). Между тем за всю более чем 60-летнюю историю с момента открытия биологической роли кремния Эдит М. Карлайл (Carlisle E.M., 1972), точный механизм этого действия до сих пор не изучен.

Степень разработанности темы. Накопленные наукой знания о роли кремния в метаболизме рыб в основном включают данные о физиологических аспектах усвоения и его токсичности (Lall S. P. and Kaushik S. J., 2021). Тем не

менее на основании исследований о продуктивной роли кремния производству предложен целый ряд новых кормовых кремнийсодержащих добавок. Стало известно, что дополнительное включение кремния в рацион сопровождается оптимизацией обмена кальция и фосфора, сочетанным снижением уровня токсических химических элементов и увеличением интенсивности роста рыбы (Ульянова М.В., 2017; Макарова Г. П., 2019; Макарова Г.П. и др., 2019).

При этом наряду с минеральными и органическими источниками кремния в питании все большее распространение получают различные ультрадисперсные формы кремния. В частности, препарат кремния (E551) с размерами частиц от 5 до 15 нм используется в качестве пищевой добавки более полувека (Panel E. et al., 2018). Причем этот и другие аналогичные препараты классифицированы «Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA)» как биологически инертные или обладающие низкой острой токсичностью, так же получают все большее распространение (Van der Zande M. et al., 2014; U.F.a.D., 2018). Препараты ультрадисперсного кремния апробированы и рекомендованы для применения для производства мяса птицы (Мустафина А.С., 2020); тилапии (Alandiyjany M.N. et al., 2022) и др.

В связи с этим определенный интерес представляют исследования направленные на изучения действия препарата ультрадисперсного диоксида кремния на продуктивность и обмен веществ карпа в условиях индустриального рыбоводства.

Цель и задачи исследования. Целью исследований в соответствии с государственной бюджетной (ГБ) НИР на 2017-2022 годы (госрегистрация: № 01201252687) и тематическим планом НИР на 2021-2023 гг. (№ 0761-2019-0005) (госрегистрация: № АААА-А19-119040290046-2) являлось изучение влияния ультрадисперсных частиц (УДЧ) диоксида кремния (SiO_2) на обмен веществ и продуктивность карпа.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Дать оценку продуктивности сеголетков карпа по характеристикам роста и составу продукции при включении в рацион различных дозировок УДЧ SiO₂;

2. Изучить влияние УДЧ SiO₂, комплекса аминокислот (КА), микроэлементов (Zn, Se, I) и пробиотика Бифидобиом в различных комбинациях на гематологические показатели, конверсию корма и продуктивность карпа;

3. Изучить влияние биоминерального комплекса на особенности элементного состава и микробиома содержимого кишечника карпа;

4. Определить экономическую эффективность использования биоминерального комплекса при производстве карпа в условиях садкового тепловодного промышленного предприятия.

Научная новизна. Впервые на основании комплексного подхода произведена оценка стимуляторов роста карпа на основе УДЧ SiO₂, КА, микроэлементов (Zn, Se, I) и пробиотических штаммов *Bifidobacterium* в составе препарата «Бифидобиом». Получены новые данные о влиянии биоминерального комплекса на обмен веществ и содержания 25 химических элементов в мышечной ткани рыб.

Получены новые данные о чувствительности микробиома на введение в рацион штаммов *Bifidobacterium* и различных вариаций УДЧ SiO₂, КА и микроэлементов (Zn, Se, I). Установлено влияние комплекса УДЧ SiO₂ и штаммов *Bifidobacterium* на соотношение микроорганизмов в микробиоме кишечника карпа, связанных с увеличением доли потенциально полезных бактерий и снижением относительной численности условно-патогенных микроорганизмов. Новизна исследований подтверждена двумя патентами РФ на изобретения.

Теоретическая значимость работы заключается в фактическом обосновании продуктивных эффектов связанных с применением альтернативных источников микроэлементов в симбиозе с аминокислотами и органическими солями минеральных веществ.

Подтверждена рабочая гипотеза, описывающая антагонистическое воздействие препарата УДЧ SiO₂ по отношению к величине концентрации токсических элементов. Теоретически обосновано и экспериментально подтверждено стимулирующее действие препарата УДЧ SiO₂ на организм годовиков карпа с соответствующим повышением сохранности рыбы в условиях теплового садкового хозяйства.

Практическая значимость работы состоит в разработке новых решений по использованию альтернативных источников микроэлементов в качестве модуляторов обмена веществ, формирования продуктивных качеств у рыб. Введение в рацион годовиков карпа с содержанием сырого протеина 23%, препарата УДЧ SiO₂ в дозировке 200 мг/кг корма, пробиотика Бифидобиом и органических солей микроэлементов (Zn, Se, I) в условиях тепловодного садкового хозяйства способствует: активизации метаболизма, реорганизации метагенома, увеличению производства карпа на 10-12 % и повышению рентабельности на 2-3%.

Методология и методы исследования. В ходе планирования и выполнения исследования по теме диссертации были использованы стандартизированные методы зоотехнического, биохимического, физиологического и технического анализа с применением современных методов на сертифицированном оборудовании Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН. Цифровые данные обработаны с использованием программного пакета «Statistica 10.0».

Основные положения, выносимые на защиту. В зависимости от поставленных задач и выводов сформированы основные положения:

- обмен веществ и продуктивность карпа зависят от дозировки УДЧ SiO₂ в рационе;

- включение в рацион карпа УДЧ SiO₂, КА и пробиотических штаммов *Bifidobacterium* оказывает ростостимулирующее влияние и модулирующее влияние на содержание химических элементов в организме карпа;

- включение пробиотических штаммов *Bifidobacterium* в рацион сопровождается изменениями таксономического состава микробиома кишечника карпа.

Степень достоверности и апробация работы. Научные положения, достоверность выводов соответствуют результатам собственных исследований. Основные положения работы доложены и обсуждены на заседании кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» и отдела кормления сельскохозяйственных животных им. профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН».

Результаты научной работы доложены на научно-практических конференциях: III Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Водные биоресурсы и аквакультура юга России» (г. Краснодар, 2022); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы прикладной биотехнологии и инженерии» (г. Оренбург, 2022); Всероссийской молодежной научно-практической конференции «Наука будущего — наука молодых» (г. Оренбург, 2022); VIII Национальной научно-практической конференции «Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации» (г. Керчь, 2023).

Публикация материалов исследований. Основные результаты, выводы и рекомендации диссертационного исследования представлены в 13 научных работах, из них 7 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 2 патента РФ на изобретение.

Реализация результатов исследований. Результаты исследований внедрены в карповое производство садкового хозяйства ООО «Ирикля-рыба».

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, предложений

производству. Содержит 31 рисунок, 34 таблицы. Список использованной литературы включает 245, в том числе зарубежных авторов 200.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биологическая роль минеральных элементов при выращивании рыбы в аквакультуре

Учение о микроэлементах имеет долгую историю развития, которая привела к значительному прогрессу в последние десятилетия (Воробьев В.И., 1993).

Роль минеральных веществ в организме человека и животных чрезвычайно разнообразна. Минералы входят в состав акцессорных веществ, таких как витамины, дыхательные пигменты, гормоны и коферменты, которые регулируют метаболические процессы (Скальный А.В., 2000; Брыткова А.Д., 2006). Минеральные вещества поступают в организм только с пищей и не синтезируются живыми клетками, поэтому являются незаменимыми компонентами питания.

Существует несколько биологических классификаций химических элементов. Одна из них делит элементы по количественному признаку на макроэлементы, которые содержатся в организме рыб в значительных количествах (>100 мг/кг), микроэлементы присутствующие в организме рыб в очень малых концентрациях (от 90 до 0,01 мг/кг) и ультрамикроэлементы содержание которых в организме находится в пределах 10^{-6} - 10^{-12} от массы тела (Войнар А.И., 1962; Авцын А.П. и др., 1991; Скальный А.В. и Рудаков И.В., 2004; Брыткова А.Д., 2006).

Также существует классификация, которая основывается на представлениях о физиологической роли химических элементов в организме. Так, макроэлементы называют «структурными», а микроэлементы делят на четыре группы: эссенциальные (железо, йод, кобальт, медь, селен, марганец, цинк, молибден, хром), условно-эссенциальные (фтор, бор, литий, кремний, никель, ванадий, бром, аргон), токсичные (алюминий, ртуть, свинец, кадмий,

барий, висмут, таллий, бериллий, сурьма) и условно-токсичные (золото, серебро, германий, галлий, рубидий, цирконий, олово, вольфрам, стронций, титан) (Ершов Ю.А., 2003; Скальный А.В. и Рудаков И.В., 2004).

Тем не менее представленные системы разделения химических элементов по количественному и качественному признаку имеют недостатки, а именно в первой классификации - это отсутствие представления о биологической роли того или иного элемента в организме (Москалёв Ю.И., 1985; Иванов В.В., 1996), во второй – постоянное появление новых знаний о биологической роли данных соединений и смена представлений об их эссенциальности и токсичности (Anke M.K. et al., 2004).

Рыбы получают минералы различными путями: путем прямого заглатывания взвешенных твердых частиц в толще воды, с пищей, путем ионного обмена растворенных элементов через липофильные мембраны (например, жабры) и путем адсорбции частиц на тканевых и мембранных поверхностях. Распределение элементов в различных тканях может регулироваться воздействием пищи и/или водной среды (Edevaldo S. et al., 2016). Высокая интенсивность обмена ионов в системе «жабры, кожа - окружающая среда» значительно осложняет определение количественной диетической потребности организма рыбы (Lall S.P., 2021)

Жабры составляют более 50 % площади поверхности рыбы и считаются основным путем поглощения переносимых водой минералов у пресноводных рыб. Морские рыбы демонстрируют обязательное питье как часть их общего физиологического осморегуляторного механизма, чтобы поддерживать внутренние жидкости организма в значительной степени гипотоническими по отношению к внешней солености морской воды (Evans D.H. and Claiborne J.V., 2008). Жизненный цикл анадромных рыб, таких как лососевые, состоит из обитания в пресной, а затем в соленой воде, где они постепенно адаптируются к морской среде и приобретают неорганические элементы, выпивая соленую воду, подобно морским рыбам.

Установлено, что из воды рыбы поглощают кальций, калий, фосфор, магний, натрий, серу, хлор и другие химические элементы. Количество и состав минеральных веществ в воде зависит от ее минерализации и жесткости. В водоемах с высокой минерализацией и жесткостью вода содержит в избытке необходимые рыбе элементы, и поэтому потребность в них может удовлетворяться полностью или в значительной мере за счет осморегуляции. В водоемах с низкой минерализацией и жесткостью рыба вынуждена постоянно восполнять недостаток минеральных веществ, потребляя их с пищей. Из пищи рыбы получают элементы, содержащиеся в воде в небольших количествах, а также элементы, которые не содержатся в воде или содержатся в недостаточном количестве. К таким элементам относятся железо, медь, цинк, марганец, йод, селен, хром и др. (Воробьев В.И., 1993; Мелякина Э.И. и Агабабова Н.Г., 2007; Шабоянц Н.Г. и др., 2010; Акчурина И.В., 2013).

Из известных природных источников жизненно необходимых элементов наибольшее распространение в рыбоводстве получили рыбная и мясокостная мука (Ланге Э.Р., 1968). Помимо рыбной и мясо-костной муки для оптимизации минерального питания рыб используют водорослевую и хвойную муку (Склярков В.Я. и Студенцова Н.А., 2001).

Между тем в силу целого ряда специфических особенностей включение в рацион рыбы кормов богатых легкодоступными химическими элементами еще не гарантирует эффективное использования этих веществ в организме. Это связано с влиянием на обмен химических элементов в организме антипитательных веществ растительных кормов (Krogdahl A. et al., 2010), что может привести к потенциальному дефициту питательных веществ, даже если состав рациона удовлетворяет потребностям организма.

По причине характерных особенностей компонентного состава отдельных кормов, комбикорма для карповых рыб как показывает практика бедны минеральными элементами. В целях оптимизации минеральной питательности в рационы рыбы дополнительно включают премиксы, в том числе используемые в

птицеводстве (П-2-I; П-1-II и др.) (Скляр В.Я., 2008; Щербина М.А. и Гамыгин Е.А., 2006).

Таким образом новые исследования, касаемые изучения влияния на организм рыб тех или иных минеральных веществ и составление по ним сбалансированных кормовых рационов не теряет своей значимости. При этом особый интерес представляют те микроэлементы, содержание которых всё еще не нормируется в рационах рыб, выращиваемых в производственных условиях.

1.2 Биологическая роль кремния. Кремний в рационах при промышленном производстве рыбы

Кремний (Si) представляет собой металлоид с атомным весом 28. Тетраэдрическая структура образована сильной ковалентной связью между атомами кремния и окружающими четырьмя атомами кислорода, что приводит к образованию твердых материалов. Однако атомы кремнезема могут собираться в самые разные конфигурации благодаря гибкости мостиков между составляющими атомами (Zdravkov V. et al., 2007). Кремний является важным условно-эссенциальным микроэлементом, а по распространенности микроэлементов в организме человека и животных занимает третье место. Кремний редко можно обнаружить в естественных условиях в качестве чистого свободного элемента, поскольку как правило данное вещество образует прочные связи с кислородом и обычно существует в виде кремнезема или силикатных соединений. Силикагель — это общий термин для неорганических соединений, содержащих кремний и кислород. Кремний естественным образом присутствует в пищевых продуктах в виде нескольких форм силиката, включая диоксид кремния (SiO_2), свободную ортокремниевую кислоту (H_4SiO_4) или кремниевые кислоты, связанные с определенными питательными веществами (Jurkić L.M. et al., 2013).

В последние годы всё большее число исследований указывает на то, что кремний жизненно необходим и играет важную роль в минерализации костей, синтезе коллагена и др. (Arthur-Ataam J. et al., 2019). Причем очевидно, что кремний в наибольшей степени необходим для формирования и работы опорно-двигательного аппарата. Впервые, это было показано в 1970 году Эдит М. Карлайл (Carlisle E.M., 1972), которая в ходе количественного электронно-зондового анализа содержания кремния у молодых мышей и крыс показала, что кремний важен как инициатор минерализации костной ткани. В последующим ею же показано, что добавки кремния ускоряют скорость минерализации костей (Carlisle E.M., 1970).

Известно, что дефицит кремния приводит к пагубным последствиям для скелета: деформации костей и суставов, дефектам хрящей, нарушениям минерального баланса в трубчатых костях и позвонках (Martin K.R., 2007). Исследования влияния дефицита кремния на организм животных показали задержку роста и глубокие дефекты костной и соединительной тканей (Jugdaohsingh R. et al., 2007). В то же время дополнительное включение кремнийсодержащих пищевых добавок в рацион растущих животных сопровождается повышением прочности и плотности костей у перепелов, цыплят-бройлеров и радужной форели (Merkley J.W. and Miller E.R., 1983; Sahin K. et al., 2006; Küçükbay F.Z. et al., 2008). Сходные результаты, подтверждающие эссенциальность кремния, получены для человека (Macdonald H.M. et al., 2012). В ряде исследований сообщалось о благотворном влиянии диоксида кремния в различных формах на пролиферацию остеобластов, включая изменения в определенных генах/белках (Feng J. et al., 2007; Wiens M. et al., 2010; Zhou H. et al., 2011). В исследовании Kim B.S. et al (2017), использование гидроксиапатита, полученного из кости каракатицы, замененной кремнием, стимулировало пролиферацию клеток, раннее приживание мезенхимальных стволовых клеток человека и дифференцировку остеобластов *in vitro*, а также образование костей

у кроликов *in vivo*, таким образом представляя собой потенциальный материал для костных трансплантатов (Kim B.S. et al., 2017).

Следует отметить, что за всю более чем 60-летнюю историю с момента открытия Эдит М. Карлайл (Carlisle E.M., 1972) роли кремния в увеличении минеральной плотности костей, точный механизм этого действия до сих пор не установлен. Показатели сывороточного метаболизма костной ткани непостоянны, в то время как маркеры формирования костного матрикса постоянно повышены. Это может указывать на то, что кремний улучшает минерализацию, не влияя на скорость формирования или потери костной массы. Возможно, что это действие опосредовано через активизацию синтеза коллагена, увеличивающего прочность костей вне зависимости от минеральной плотности (Spector T.D. et al., 2008). В противоположность работам, упоминавшим о повышении прочности костей, в двух других отчетах на крысах говорилось о небольшом снижении прочности костей при внесении в кормовой рацион очень больших концентраций пищевого кремния (Kim M.H. et al., 2009). Этот эффект можно объяснить антогазмом чрезмерно высокой дозировки кремния по отношению к кальцию и магнию, что проявляется снижением всасывания данных элементов в кишечнике (Kayongo-Male H. and Julson J.L., 2008).

Биохимические функции кремния у рыб изучены недостаточно полно. Накопленные наукой знания в этой области в основном включают данные о физиологических аспектах усвоения кремния из воды и токсичности (Lall S. P. and Kaushik S. J., 2021).

Тем не менее имеются сведения о том, что у нас в стране проводились исследования по изучению влияния комплексной смеси «Набикат» на продуктивные и качественные показатели рыб. Так, Макарова Г.П. и др. (2019) в своих работах продемонстрировали, что кремнийсодержащий препарат оказывал благоприятное воздействие на химический состав мяса карпа, стимулировал накопление макроэлементов (кальция и фосфора) и увеличивал прирост массы тела (Макарова Г. П., 2019; Макарова Г. П. и др., 2019).

В своих исследованиях М.В. Ульянова (2017) продемонстрировала положительное влияние кремний содержащей кормовой биодобавки «Биокоретрон Форте» на живую массу и конверсию корма подопытными карпами. Было также отмечено уменьшение накопления свинца и кадмия в мышечной ткани рыб, потреблявших данный препарат (Ульянова М.В., 2017).

Запатентованную кормовую добавку, представляющую собой смесь препаратов «Мивал» (кремнийорганическое соединение) и «Крезарцин» в дозе 0,01-5 мг/кг живой массы рекомендовано вводить в рацион рыбам в целях повышения репродуктивной способности, повышения иммунитета и сохранности (Логинов С. В. и Кузнецов Б. А., 2007).

Таким образом, механизм действия на организм позвоночных одного из наиболее широко распространенных на нашей планете минералов - кремния до сих пор остается малоизученным. Нормы содержания кремния в рационах и способы его использования в кормлении всё еще не разработаны. Поэтому исследования роли этого элемента в кормлении животных представляет непосредственный интерес.

1.3 Обоснование применения ультрадисперсных препаратов микроэлементов в кормлении и факторы, определяющие их использование в животноводстве

Препараты ультрадисперсных частиц (УДЧ) находят самое широкое применение в различных областях человеческой деятельности и годовое производство данных соединений превышает 200 тысяч тон в год (Reddy Y.S. et al., 2018; Magdalane C.M. et. al., 2019; Kaviyarasu K. et al., 2020).

Ультрадисперсные частицы могут быть сгруппированы в четыре типа: 1) УДЧ на неорганической основе, 2) УДЧ на основе углерода, 3) органические/полимерные УДЧ и 4) УДЧ на основе композитов (Khan I. et al., 2017.). Препараты УДЧ неорганического происхождения состоят из различных

металлов и оксидов металлов. Примеры неорганических наночастиц на основе металлов включают алюминий, серебро, золото, цинк, свинец, железо, кадмий и медь, тогда как примеры неорганических наночастиц на основе оксидов металлов включают оксид алюминия, оксид меди, оксид железа, кремнезем, оксид цинка, титана оксид и оксид магния-алюминия. УДЧ на основе углерода включают фуллерен, графен, много- и одностенные углеродные нанотрубки, технический углерод и углеродные волокна. УДЧ на органической основе получают из органических материалов без углерода, например, липосом, дендримеров, циклодекстрина и мицелл, тогда как композитные УДЧ состоят из комбинаций ультрадисперсных частиц на основе оксидов металлов, металлов, органических веществ и/или углеродов (Kumah E.A. et al., 2023).

Хотя некоторые УДЧ могут иметь природное происхождение (например, магнетит), большинство из них имеют синтетическое происхождение. Методы синтеза могут быть физическими, химическими и биологическими (Ansari M. et al., 2020). Физические методы заключаются в уменьшении размеров путем шлифования, лазерного напыления и испарения-конденсации. Химические методы включают восстановление, микроэмульсию, мокрый синтез, распылительный пиролиз, осаждение и микроволновое сжигание. Биологические методы заключаются в использовании микроорганизмов и зеленом синтезе с использованием веществ, извлеченных из различных растений и частей этих растений. Эти различные типы синтеза приводят к образованию наночастиц с различными физическими, химическими и биологическими свойствами.

Европейский Союз рекомендует определять УДЧ, как «природный или искусственный материал, содержащий частицы в свободном, агрегированном или агломерированном состоянии, где 50% или более частиц в числовом распределении по размерам находятся в диапазоне размеров 1–100 нм. Однако, несмотря на такое определение, многие авторы расширяют диапазон ультрадисперсных материалов до диапазона от 1 до 1000 нм (Prabha et al., 2016).

Известно, что препараты в ультрадисперсной форме способны эффективно преодолевать мембранный барьер, распределяться по организму путем транслокации в кровотоки и проявлять свою активность в органах и тканях на клеточном и молекулярном уровне (Годымчук А.Ю. и др., 2020). Большое влияние на эффективность клеточного поглощения УДЧ оказывают их физико-химические свойства, такие как размер, форма, поверхностный заряд, химический состав и площадь поверхности (Foroozandeh P. and Aziz A.A., 2018). На функциональную активность (каталитическое, химическое или биологическое воздействие) веществ в ультрадисперсной форме влияет размер частиц (Rosi N.L. and Mirkin C.A., 2005). В зависимости от среды и функционального покрытия УДЧ, агрегация может изменяться, что может влиять на механизм клеточного поглощения и токсические эффекты (Gil-Díaz M. et al., 2014).

Свойства ультрадисперсных частиц находят всё большее применение в медицине, биологии и сельском хозяйстве (Bhattacharyya A., 2009; Galdiero S. et al., 2011; Ahmed K.B.A. et al., 2016; Wang L. et al., 2017, Eftekhari A. et al., 2018, Cagno V. et al., 2018; Garg A. and Dewangan H.K., 2020; Abdelnour S.A. et al., 2021).

Микроэлементы в форме УДЧ обладают большей биодоступностью, чем неорганические оксиды, сульфаты и карбонаты, которые традиционно включают в кормовые рационы животных (Waal H.O., 1999). Кроме того, использование УДЧ минеральных веществ в качестве кормовых добавок вместо минеральных источников позволяет снизить возможное загрязняющее воздействие на окружающую среду (Gopi M. et al., 2017).

Наука располагает большим количеством данных по использованию препаратов УДЧ в кормлении животных (Мирошникова Е.П. и др. 2012; Мирошникова Е.П. и др. 2013; Мирошникова Е.П. и др. 2016).

На первом этапе тестирования УДЧ основных металлов-микроэлементов в качестве потенциальных кормовых добавок ученые проводят предварительные нанотоксикологические исследования, чтобы определить их влияние на

клеточные культуры (Leng D. et al., 2020) или на модели животных, например, на мышей (Zhang J. et al., 2008; Kesmati M. et al., 2016), крыс (Tomaszewska E. et al., 2017; Sanati M. et al., 2019; Naz S. et al., 2021), червей (Ayech A. et al., 2020), насекомых, таких как *Drosophila melanogaster* (Pilaquinga F. et al., 2021) или в случае водных организмов на водяных блох, таких как *Daphnia magna* (Conine A.L. and Frost P.C., 2017), *Ceriodaphnia dubia* (Li M. et al., 2011) или рыб (Gutierrez M.F. et al., 2021). Выводы, полученные для этих организмов, могут быть экстраполированы на другие живые существа (Pilaquinga F. et al., 2011).

Ультрадисперсные препараты в кормах для животных изучаются с точки зрения ростостимулирующего действия, использования корма и состояния здоровья (Amlan P. and Lalhriatpuii M., 2020; Dawood M.A.O. et al., 2021.). Использование ультрадисперсных форм микро- и макроэлементов в кормлении сельскохозяйственных животных чаще всего сопровождается увеличением продуктивности и ростом коэффициента конверсии корма (Yusof H.M. et al., 2019). Это показано на модели овец (Mohamed M.Y. et al., 2017; Hosseini-Vardanjani S.F. et al., 2020), крупного рогатого скота (Мирошников И. С., 2017), цыплят-бройлеров (Яушева Е.В. и др., 2016; Сердаева В. А., 2018), поросят (Ouyang Z. et al., 2021; Gonzales-Eguia A. et al., 2009).

Значительный базис недавних исследований, доказывающих положительный эффект добавления металлосодержащих УДЧ в рационы животных, говорит о многообещающим перспективах их массового внедрения в сектор животноводства в будущем и эти обнадеживающие данные являются движущей силой дальнейших исследований (Scott A. et al., 2018).

1.4 Применение ультрадисперсных препаратов диоксида кремния

В настоящее время появляются широкие перспективы для применения УДЧ в сельском хозяйстве (Яушева Е.В. и др., 2015), в том числе в аквакультуре (Qualhato G. et al., 2017; Dawood M.A.O. et al., 2020; Zhang W. et al., 2021).

Огромный интерес представляют собой ультрадисперсные препараты SiO_2 , являющиеся новыми и перспективными для производства отдельных компонентов рационов в аквакультуре.

Диоксид кремния (SiO_2) является одним из самых распространенных соединений земной коры (Luuskx M. et al., 2017). УДЧ кремнезема с размером от 5 до 1000 нм относятся к широко используемым инженерным наноматериалам с уникальными физико-химическими свойствами, такими как малый размер, высокая гидрофильность, фантастическая модификация и хорошая биосовместимость, а также большая площадь поверхности с высоким количеством гидроксильных радикалов ($\cdot\text{OH}$).

В настоящее время, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), среди всех наноматериалов на мировом рынке (World Health Organization, 2014) ультрадисперсные формы SiO_2 по объему производства занимают второе место - почти 1,5 млн. т. в год. УДЧ кремнезема благодаря своим замечательным свойствам являются одними из широко используемых наноматериалов в промышленности, технике и биомедицине (Zhou Y. et al., 2018). УДЧ диоксида кремния имеют различные применения, в том числе в пищевой промышленности, охране окружающей среды и очистки сточных вод и т.д. (Eivazzadeh-Keihan R. et al., 2020). Например, синтетический аморфный диоксид кремния (известный как E551) - это препарат, который используется в качестве пищевой добавки более пятидесяти лет. E551 состоит из агрегированных первичных ультрадисперсных частиц, большинство из которых имеет размер от 5 до 15 нм (Panel E. et al., 2018). Частицы препарата могут агрегировать, образуя более крупные структуры, и, соответственно, размеры большинства агломератов в пищевых продуктах превышают 100 нм (Contado C. et al., 2013). Однако некоторые из них могут существовать в виде первичных частиц размером менее 100 нм (Barahona F. et al., 2016). Силикаты потребляются в качестве добавляемых пищевых ингредиентов и были классифицированы «Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA)» как биологически инертные или

обладающие низкой острой токсичностью (Park J.H. et al., 2009; Van der Zande M. et al., 2014; U.F.a.D., 2018).

Аморфные ультрадисперсные частицы SiO₂ наименее токсичны (Shi Y et al., 2010; Sohaebuddin S.K. et al., 2010) при размерах частиц 60, 104 и 335 нм (Napierska D. et al., 2009; Fu C. et al., 2013). Однако, и для УДЧ SiO₂ с меньшим размером - 12 нм не выявлено аномальных изменений в организме животных (Yun J. W. et al., 2015).

Мезопористые частицы диоксида кремния (MSN), подкласс аморфных ультрадисперсных частиц диоксида кремния, в последние годы привлекли значительное внимание для использования в адресной доставке лекарств, терапии рака, биовизуализации, биодатчиках и других биомедицинских приложениях (Castillo RR et al., 2019). В дополнение к их биоразлагаемости и легкой функционализации поверхности, MSN обладают большой площадью поверхности и объемом пор. Эти характеристики делают MSN одним из самых многообещающих средств доставки лекарств (Kim Y.R. et al., 2014; Singh R.K. et al., 2017).

Для получения УДЧ SiO₂ используются многие методы, такие как плазменное производство, химическое осаждение из паровой фазы, синтез микроэмульсии, обработка сжиганием, золь-гель синтез и гидротермальные процессы (Purcar V. et al., 2021).

Недавние исследования УДЧ кремния выявили их мощное ингибирующее действие *in vitro* на остеокласты и стимулирующее действие на остеобласты. Было доказано, что УДЧ кремния значительно увеличивают максимальное потребление кислорода тканями поясничного и бедренного отделов (Beck G.R. et al., 2012), а также смягчают и обращают вспять возрастную потерю костной массы за счет повышения уровня остеокальцина в сыворотке, чувствительного и специфического биохимического маркера костеобразования у мышей *in vivo* (Weitzmann M.N. et al., 2015). Биомедицинский композит УДЧ SiO₂ может стать многообещающей стратегией заживления ран в будущем (Lee J. A. et al., 2014).

Между тем УДЧ SiO_2 находят все большее применение и в кормлении сельскохозяйственных животных. В частности, использование последнего в комбинации с УДЧ FeCo в кормлении молодняка крупного рогатого скота сопряжено с повышением массы животных на 9,1-9,9 %, с выраженным увеличением коэффициентов переваримости питательных веществ корма (Макаева А. М., 2020). Ультрадисперсный SiO_2 в дозировке 100-300 мг/кг корма снижает концентрацию тяжелых металлов (алюминия, ртути, свинца, олова) в организме цыплят-бройлеров (Мустафина А. С., 2019). УДЧ диоксида кремния в дозировках 400 и 600 мг/кг рациона в рационе телят способствует активному росту рыбы, обеспечивая повышение коэффициента конверсии корма (Alandiyjany M.N. et al., 2022).

Как показывает базис существующих данных, исследования, касающиеся включения УДЧ диоксида кремния в рацион животных, в том числе рыб ограничены. В связи с этим тема наших экспериментальных изысканий имеет новизну и представляет собой большой интерес.

1.5 Перспективы использования аминокислот в составе рационов содержащих УДЧ

Особое внимание к аминокислотному питанию при использовании препаратов УДЧ металлов в кормлении животных вызвано сложными взаимодействиями обмена аминокислот и ультрадисперсных частиц. Впервые такая зависимость была описана в 2015 году во Всероссийском НИИ мясного скотоводства (с 2018 года ФНЦ БСТ РАН). В исследованиях на цыплятах и крысах было установлено, что при поступлении в организм препаратов УДЧ металлов-микроэлементов активизируется синтез оксида азота (NO) и возникает напряжение в обмене аргинина (Miroshnikov S.A. et al, 2015). В последующем в серии исследований было показано, что можно значительно повысить интенсивность роста цыплят-бройлеров если в сочетании с препаратами УДЧ

металлов скармливать комплексы аминокислот: аргинина, метионина и лизина (Яушева Е.В. и др., 2016). Сходные результаты при использовании УДЧ оксида кремния были получены позже в исследованиях на бройлерах (Мустафина А.С. и Никулин В.Н., 2019).

Анализируя литературу по проблеме, можно установить, что аргинин, представляет собой α -аминокислоту, которая в организме в основном используется для биосинтеза белков. Аргинин содержит α -аминогруппу, группу α -карбоновой кислоты и боковую цепь, состоящую из 3-углеродной алифатической прямой цепи, заканчивающейся гуанидиновой группой, что приводит к тому, что аргинин является заряженной алифатической аминокислотой при физиологическом pH (Armstrong C. et al., 2016). Аргинин является незаменимой аминокислотой для рыб, поскольку у взрослых рыб низкая активность ферментов биосинтеза аргинина, таких как пирролин-5-карбоксилат (P5C) синтаза, орнитинтранскарбоксилаза (ОТС) и карбамоилфосфатсинтаза (CPS) III (Espe M. et al., 2016). Аргинин в рыбе служит субстратом для синтеза многих биологически активных метаболитов, включая оксид азота (NO), креатин и полиамины (Han F. et al., 2018; Zheng H. et al., 2019). Также сообщается, что возрастающий диетический аргинин значительно увеличивает уровни инсулина в сыворотке (INS) и инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I) (Pohlenz C. et al., 2013; Han F. et al., 2018). Аргинин активирует аденозин-5'-монофосфат (АМР) - активированную протеинкиназу (АМРК), чтобы помочь организму экономить и использовать доступную энергию, а не синтезировать липид, а также активирует цель сигнального пути рапамицина (TOR), способствуя синтезу белка и миогенезу (Wang B. et al., 2015). Кроме того, сообщалось, что аргинин обладает множеством иммуномодулирующих функций, включая регуляцию как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа рыб, ингибирование апоптоза лейкоцитов и регуляцию устойчивости рыб к бактериальным заболеваниям (Hoseini S.M. et al., 2020). Однако влияние добавок аргинина на рост рыб и иммунные реакции может изменяться в зависимости от дозировки добавок

аргинина, состояния здоровья рыб и условий окружающей среды (Azeredo R. et al., 2015). Сообщалось, что дефицит аргинина в пище приводит к снижению скорости роста рыбы (Ball R.O. et al., 2007), а его нормальное поступление способствует росту и высокому иммунитету. Избыточное потребление аргинина с пищей может подавлять рост рыб и иммунные реакции (Azeredo R. et al., 2015; Hoseini S.M. et al., 2019).

Так, например, было выяснено, что определенное процентное содержание аргинина в рационах рыб разных видов оказывает различные эффекты. Например, выживаемость канального сома, инфицированного *Edwardsiella ictaluri*, была значительно увеличена при добавлении аргинина в рацион до 2,0% (Buentello J.A. and Gatlin D.M., 2001). Точно так же увеличение дозировки аргинина в рационе (от 4,4 до 6,9%) повысило устойчивость сенегальской камбалы к *Photobacterium damsela subsp. piscicida*, и стимулировало продукцию нитрооксида в лейкоцитах (Costas B. et al., 2011). Добавка аргинина с кормом в дозировке от 2,10 до 3,82% значительно усиливает иммунный ответ и снижает смертность молоди камбалы, инфицированной *E. tarda* (Zhang K. et al., 2017). Снижение уровня смертности сеголетков нильской тилапии после заражения *Streptococcus agalactiae* и повышение иммунных ответов наблюдалось при всех добавках аргинина (с 1,55 до 2,39%) в рацион (Vianna R.A. et al., 2020). Добавка аргинина в рацион (от 2,08 до 3,48%) также модулировала неспецифические иммунные ответы у крупного индийского карпа (*Cirrhinus mrigala*), подвергнувшегося гипоксии, и снижала его смертность после инфекции *A. hydrophila* (Varghese T. et al., 2020). Аргинин также повысил выживаемость рыб при аммиачно-азотном стрессе. Например, выживаемость молоди желтого сома после 72-часовой заражения аммиачным азотом в группе с добавлением 2,81% аргинина была значительно выше, чем в группе с добавлением 2,44% аргинина (Chen Q. et al., 2016). Однако выживаемость золотого помпано (*Trachinotus ovatus*) после заражения *Vibrio harveyi* имела тенденцию сначала увеличиваться, а затем снижаться с увеличением концентрации аргинина в пище от 2,05 до

3,58% (Lin H. et al., 2015). Выживаемость радужной форели, получавшей 2 диетических уровня аргинина (2,00 и 3,70%), не показала значительных различий после инфекции *A. salmonicida*, которая могла быть связана со слишком высоким уровнем добавления аргинина, составляющим 3,70% во второй группе (Clark T.C, et al., 2020b). Аналогичные результаты были получены и у морского окуня, чей иммунный статус и сопротивляемость болезням были нарушены при приеме избыточного количества аргинина (5,63 и 6,48%) (Azeredo R. et al., 2015).

Добавка аргинина в рацион не только влияет на способность рыб сопротивляться болезням, но также влияет на воспалительные иммунные реакции рыб. Сообщалось, что аргинин защищает рыб от LPS-индуцированного воспаления (LPS, Lipopolysaccharide) как *in vivo*, так и *in vitro*. Например, добавление аргинина как к первичной культуральной среде энтероцитов, так и к диете карпа (*C. carpio var. Jian*) значительно подавляло индуцированный LPS воспалительный ответ (Jiang J. et al., 2015). В клетках головы и почек атлантического лосося аргинин также ингибировал индуцированную LPS экспрессию провоспалительных генов (Martins G.P. et al., 2019). В предыдущем исследовании также сообщалось об ингибирующем эффекте аргинина на провоспалительную реакцию, вызванную LPS. Кроме того, сообщалось, что добавка аргинина ингибирует апоптоз лейкоцитов рыб за счет усиления синтеза нитрооксида (Zheng H. et al., 2019). *In vivo* пищевая добавка аргинина (3,65% DM) также заметно подавляла экспрессию IL-8 и TNF- α у морского леща (*Sparus aurata L.*) во время заражения кожной раны (Chen Z. et al., 2020). Однако в других исследованиях сообщается об индукционной роли аргинина во время воспалительного процесса. Аргинин значительно увеличил экспрессию провоспалительных генов у сазана, что привело к усилению иммунного ответа и снижению смертности после инфекции *A. hydrophila* (Chen G. et al., 2015). Однако влияние диетического аргинина на воспалительную реакцию европейского морского окуня было незначительным, в основном не показывающим статистической значимости, что следует отнести к слишком

высокой вариабельности выборки (Azeredo R. et al., 2020). Воспалительные иммунные реакции рыб после приема добавок аргинина могут различаться в зависимости от вирулентности патогена и / или дозировки LPS, и оптимальный уровень добавки аргинина должен быть в состоянии стимулировать иммунный ответ рыб без чрезмерного повреждения, вызванного ответом. Учитывая, что точный механизм регуляции иммунного ответа рыб остается в значительной степени неизвестным, влияние добавок аргинина на воспалительный ответ, опосредованный рецепторами распознавания образов (Pattern recognition receptor, PRR), требует дальнейшей оценки.

У рыб аргинин может действовать в иммунных ответах множеством способов, включая производство нитрооксида и полиаминов, прямую модуляцию экспрессии генов и регулирование доступности питательных веществ для иммунных клеток. В недавнем исследовании также используется метод протеомики дробовика (Shotgun sequencing) для выявления сывороточных белков-кандидатов, участвующих в иммунных реакциях рыб после приема добавок аргинина с пищей (Ramos-Pinto L. et al., 2020). Как *in vivo*, так и *in vitro* эксперименты с канальным сомом показали, что добавление аргинина улучшило способность убивать макрофаги и фагоцитоз, увеличивало активность лизоцима и количество эритроцитов, а также увеличивало пролиферацию нативных лимфоцитов после митогенного воздействия (Buentello J.A. et al., 2007; Pohlenz S. et al., 2012). Добавка аргинина с пищей также увеличивала количество циркулирующих моноцитов, способствовала выработке нитрооксида и улучшала гуморальные параметры камбалы (Costas B. et al., 2013). Кроме того, добавление аргинина в рацион красного горбыля (*Sciaenops ocellatus*) значительно увеличивало продукцию внеклеточного супероксид-аниона и окислительного радикала нейтрофилов, наряду с более высокой активностью лизоцима (Cheng Z.Y. et al., 2011). Как упоминалось выше, iNOS катализирует продукцию нитрооксида при различных стимуляциях, а активность iNOS в значительной степени зависит от уровня внеклеточного аргинина (Peranzoni E. et al., 2008). Под

воздействием патогенов или аммиачно-азотного стресса уровень аргинина в плазме рыб значительно снижается, что указывает на необходимость адекватного поступления аргинина с пищей для поддержания достаточного иммунного ответа (Aragão C. et al., 2008). Пищевой аргинин у канального сома значительно увеличивал его уровень в плазме и продукцию нитрооксида в активированных макрофагах, что способствовало увеличению выживаемости после заражения *Edwardsiella ictaluria* (Buentello J.A. and Gatlin D.M., 2001). Включение аргинина в рацион рыбы также увеличивало синтез нитрооксида в лейкоцитах головы-почек и усиливало респираторный выброс при митогенной стимуляции (Costas B. et al., 2011). Кроме того, сообщалось, что добавление аргинина к пище приводило к снижению уровня кортизола в плазме и усилению иммунных ответов у камбалы в условиях 60-дневного хронического стресса (Costas B. et al., 2013).

Метионин является незаменимой аминокислотой человека и других позвоночных. Он не синтезируется организмом *de novo* и, следовательно, должен поступать с пищей (Wang W.W. et al., 2009). Абсорбция метионина из желудочно-кишечного тракта очень эффективна (Webb K.E. Jr., 1990). После абсорбции метионин быстро удаляется тканями. В частности, печень выводит большое количество метионина из плазмы крови (Stipanuk M.H. et al., 1992). Среди серосодержащих аминокислот (СА) метионин является наиболее ценным, поскольку он может служить донором серы для образования двух других СА цистеина и цистина, но не наоборот. Таким образом, метионин вносит ценный и разносторонний вклад в ежедневную потребность в серосодержащих аминокислотах.

Помимо того, что он является донором серы для биосинтеза цистеина, метионин представляет собой основной клеточный донор метильных групп после преобразования в S- аденозилметионин (SAM) (Chiang P.K. et al., 1996). Последний необходим для многих метаболических процессов, таких как синтез норадреналина, дофамина и серотонина (Spillmann M. and Fava M., 1996). S-

аденозилметионин также необходим для выработки креатина, который поддерживает сохранение энергии и метаболизм во всех клетках, особенно в мышечных клетках (Caso G. and Garlick P.J., 2005). Более того, выступая в качестве донора метила для метилирования ДНК, SAM имеет ключевой контроль над всем клеточным транскриптомом (Tang X. et al., 2015).

Метионин также играет ключевую роль в процессах, ответственных за контроль воспаления и апоптоза, таких как убиквитинирование белков и аутофагия (Zinngrebe J. et al., 2014). Вызывая SAM-опосредованное метилирование, метионин ингибирует аутофагию и способствует росту дрожжей (Sutter B.M. et al., 2013). Фактически, метионин и его последующий метаболит SAM ответственны за модуляцию аутофагии (Laxman S. et al., 2014).

Метионин является протеиногенной аминокислотой, ответственной за инициацию трансляции белков и играет структурную роль в гидрофобных ядрах белков (Ferla M.P. and Patrick W.M., 2014). Он выполняет функции датчика окислительно-восстановительного потенциала (Bigelow D.J. and Squier T.C., 2005) и поглотителя активных форм кислорода (АФК) (Campbell K. et al., 2015).

Добавки с кристаллическим метионином частично используются человеком и широко используются в производстве животных (птицы, рыбы, креветки, свиньи и крупный рогатый скот) для улучшения здоровья и продуктивности. Такие добавки значительно повысили эффективность использования белка в животноводстве.

Метионин является примером незаменимой аминокислоты с признанной ролью в иммунной системе, и его пищевая добавка, как было доказано, усиливает иммунитет млекопитающего-хозяина (Waterland R.A., 2006). Иммуномодуляция диеты метионином также добавляет практических перспектив в современное животноводство. Например, недавно был сделан обзор важности метионина в качестве нутрицевтической добавки для контроля кишечных процессов и окислительного стресса у млекопитающих (Martínez Y. et al., 2017). Более того, Bunchasak C. (2009) и Jankowski J. et al., (2014) рассмотрели множество

положительных эффектов диетического метионина (и других серосодержащих АК) на иммунные механизмы птицы и его использование в птицеводстве.

Тем не менее, роль метионина как иммуномодулирующей добавки в корма для аквакультуры все еще требует изучения, чтобы повысить устойчивость и благополучие рыб в рыбоводстве. Недавние исследования показали, что добавление метионина повышает клеточный иммунный статус морского окуня (*Dicentrarchus labrax*), а также иммунный ответ на воспалительное поражение с помощью УФ-инактивированных *Photobacterium damsela subsp. piscicida* (Phdp) (Machado M. et al., 2015). Повышенная концентрация периферических лейкоцитов наблюдалась также у молоди карпа (*Cyprinus carpio var. Jian*) после кормления дифференцированными уровнями метионин гидроксианалога, синтетического источника метионина, что привело к увеличению выживаемости и более сильному гуморальному и клеточному ответу после инъекции *Aeromonas hydrophila* (Kuang S.Y. et al., 2012). Tang L. et al., (2009) наблюдали повышение активности лизоцима плазмы, факторов комплемента и IgM карпа (*Cyprinus carpio var. Jian*), получавшего метионин с кормом в течение 8 недель. Таким образом, диетический метионин является важной пищевой добавкой для поддержания здоровья рыб.

У животных, как незаменимая аминокислота, лизин важен для роста организма (Marcouli P.A. et al., 2006). Предыдущие исследования также показали, что уровни лизина в пище могут регулировать метаболизм и иммунитет у млекопитающих (Wu G., 2013). Подобно своей роли у млекопитающих, лизин также играет ключевую роль у рыб и может увеличивать рост и эффективность кормления рыб, таких как индийский крупный карп (*Cirrhinus mrigala*) (Ahmed I. and Khan M.A., 2006), тилапия (*Oreochromis niloticus*) (Liebert F and Benkendorff K, 2007) и желтый горбыль (*Pseudosciaena crocea R*) (Zhang C et al., 2008). Также недавнее исследование показало, что диетический лизин может улучшить активность пищеварительных ферментов и ферментов мембран щеточной каймы у половозрелых белых амуров (Li X.Y. et al., 2014). Кроме того, лизин тесно

связан с активностью иммунной системы рыб, и соответствующие уровни лизина могут изменять иммунный ответ (Yang P et al., 2020).

В большинстве альтернативных источников белка (например, кукурузный глютен и пшеничный глютен) лизин является первой лимитирующей аминокислотой. Если известна потребность в лизине для определенного вида животного и уровень продуктивности, то легко определить потребность в других аминокислотах, опираясь на известное соотношение (Helland, S.J., Grisdale-Helland B, 2006).

Аргинин, лизин и метионин являются незаменимыми для организма рыб, т.е. последние постоянно должны получать данные аминокислоты с кормом для достижения максимального генетического потенциала.

1.6 Перспективы использования пробиотиков в составе рационов, содержащих УДЧ

В силу целого ряда обстоятельств будущее применение УДЧ металлов-микроэлементов представляется перспективным в комбинации с пробиотическими препаратами. Это обусловлено, с одной стороны, тем что УДЧ при поступлении в кишечник оказывают существенное влияние на микробиом животных и для коррекции последнего целесообразно скармливать и пробиотики. Кроме того, совместное с УДЧ применение пробиотиков позволяет изменять и метаболизм в организме животных. В частности, в исследованиях Аринжанова А.Е. и коллег (2015) отражено благоприятное влияние на повышение параметров продуктивности карпа при сочетанном применении в рационе УДЧ железа и пробиотика - Бифидумбактерин бифидум. Кроме того, перспективность совместного применения пробиотиков и препаратов УДЧ объясняется необходимостью преодоления негативных последствий высокой плотности рыбы при промышленном выращивании (Lin W. et al., 2018). В последние годы стратегии борьбы с патогенами рыб в основном основывались на применении химических веществ, таких как антибиотики и

дезинфицирующие средства. Однако широкое применение лекарственных средств вызвало резистентность патогенных бактерий к антибиотикам (Chandrarathna H. P. S. U. et al., 2018). Поэтому чрезмерное использование антибиотиков в аквакультуре должно строго контролироваться, и должны быть разработаны альтернативные методы борьбы с патогенами рыб. Вместе с тем большое внимание должно уделяться препаратам, воздействующим на микрофлору. Очевидно, что разнообразная кишечная микробиота оказывает важное влияние на обмен веществ и усвоение нутриентов рыбами (Thacker P.A., 2013).

Введение пробиотиков является эффективной стратегией поддержания баланса микробиоты кишечника, в том числе в комбинации с препаратами УДЧ (De Almada C.N. et al., 2016). Пробиотики определяются как микробные клетки или соединения, оказывающие благотворное влияние на здоровье хозяина. В аквакультуре пробиотики могут предотвращать распространение болезней, повышать эффективность преобразования пищи и стимулировать рост за счет улучшения состава микробиоты желудочно-кишечного тракта, укрепления иммунной системы и повышения устойчивости к стрессовым факторам (Watts M. et al., 2001). Пробиотики защищают хозяина несколькими способами: исключая патогены, конкурируя за места прикрепления или вырабатывая противомикробные соединения, обеспечивая питательными веществами и действуя как стимуляторы роста или экзоферменты (Mukherjee A. et al., 2019).

Микроорганизмы, обычно используемые в качестве пробиотиков в аквакультуре, включают бактерии, дрожжи и водоросли хотя они продемонстрировали пробиотические способности, виды, принадлежащие к родам *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* и *Bifidobacterium*, остаются наиболее популярными пробиотическими агентами на сегодняшний день (Hoseinifar S.H. et al., 2018).

Виды Бифидобактерий (*Bifidobacteria* spp.) принадлежат к роду *Bifidobacterium*, из семейства *Bifidobacteriaceae* в порядке (отряде) *Bifidobacteriales*, принадлежащему к типу Актинобактерий (*Actinobacteria*). Бифидобактерии в большом количестве обнаруживаются в кишечнике человека,

животных и рыб. Это очень многообещающая группа пробиотиков, и ее присутствие в кишечнике обычно указывает на хорошее здоровье хозяина (Gaggia F. et al., 2010). Существует общее мнение, что эта бактерия вносит значительный вклад в поддержание баланса кишечной микрофлоры и в ограничение риска инфекций. Некоторые виды специфичны для хозяина (Viavati B and Mattarelli P, 2018). Бифидобактерии помогают разлагать сложные соединения, такие как целлюлоза и хитин, которые содержатся в растительной пище, и превращают их в усваиваемую форму. Кроме того, эти микроорганизмы синтезируют витамины группы B, необходимые для обмена веществ и поддержания здоровья рыбы. Многие бифидобактерии обычно используются в качестве пробиотиков в продуктах питания человека и в фармацевтических препаратах (Gaggia F. et al., 2010). Многие из этих микробов имеют статус «GRAS» («обычно считаются безопасными») (Afonso E.R. et al., 2013). В российском рыбоводстве отлично зарекомендовали себя некоторые препараты содержащие бифидобактерии: Зоонорм, Бифидум–СХЖ и др. (Бычкова Л.И. и Юхименко Л. Н., 2014).

Использование секвенирования нового поколения позволило тщательно описать и охарактеризовать микробиомы кишечника основных объектов аквакультуры, а также изменения, которые эти сообщества проявляют при включении в рацион пробиотиков или других кормовых добавок. Тем не менее, мы все еще находимся на ранних стадиях понимания сложных взаимодействий между микробиомом кишечника и его хозяином, а также того, как можно наиболее эффективно манипулировать бактериальными сообществами для улучшения здоровья и продуктивности рыб (Montalban-Arques A. et al. 2015).

Учитывая вышесказанное, актуальной задачей является исследование ранее не применяемых в рыбоводстве пробиотических препаратов, содержащих в своем составе бактерии рода *Bifidobacterium*. При этом особый интерес могут представлять исследования направленные на изучение совместного применения бактерии рода *Bifidobacterium* с препаратами УДЧ.

1.7 Заключение по обзору литературы

Анализ накопленного наукой материала убедительно показывает, что в условиях беспрецедентного повышения генетического потенциала современных пород и кроссов рыбы целесообразно проведение исследований по расширению перечня веществ, присутствие которых в рационе является жизненно необходимым для объектов аквакультуры. Одним из таких веществ является кремний.

Кремний - третий по массе среди всех микроэлементов в организме животных. Учеными накоплен значительный багаж знаний о биологической роли кремния, описан опыт применения добавок кремния для балансирования рационов растущих животных. На моделях тилапии и форели установлены факты повышения продуктивности рыбы и оплаты корма продукцией при дополнительном скармливании кремния.

Из перечня источников кремния в кормлении рыбы, в общем, и карпа, в частности, особый интерес представляют препараты ультрадисперсных частиц оксида кремния. Последние широко используются в пищевой и косметической промышленности, случае токсического действия для них не описаны.

Использование УДЧ оксида кремния в кормлении рыбы представляет особенно перспективным, и в силу уникальных биологических свойств ультрадисперсных частиц, и в силу высокой их биодоступности, так и по способности оказывать разностороннее действие на метаболизм в организме, способности подавлять патогенную и условно-патогенную микрофлору.

Исходя из выше приведенных размышлений и с учетом опыта, накопленного другими исследователями в рамках комплексного применения препаратов УДЧ металлов в сочетании с пробиотическими и другими препаратами нами были предприняты следующие исследования.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы и методы исследования

Исследования проведены в период с 2020 по 2023 гг. на базе отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (ФНЦ БСТ РАН).

Лабораторные исследования осуществлялись с использованием материально-технической базы Центра коллективного пользования (ЦКП) ФНЦ БСТ РАН (<https://ckp-rf.ru/ckp/77384/>) и кафедры «Биотехнологии животного сырья и аквакультуры» Оренбургского государственного университета.

Исследования выполнены в три этапа (рисунок 1). На первом проведены исследования по физико-химической и биологической экспертизе препаратов ультрадисперсных частиц диоксида кремния. На втором этапе методикой исследований предполагалось выполнение трех экспериментов на модели карпа в условиях аквариумного стенда. На третьем этапе исследований проведена производственная проверка полученных результатов.

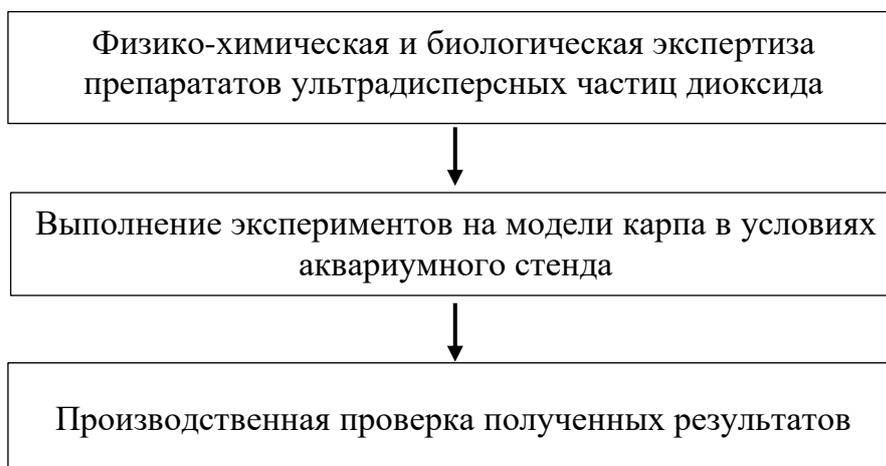


Рисунок 1 – Общая схема исследований по оценке влияния обеспеченности кремнием на микробиом, продуктивность и обмен веществ у карпа

На первом этапе на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» проводилась оценка размерных характеристик УДЧ SiO₂ (ИП Хисамутдинов Р.А., Россия), которая осуществлялась методом динамического рассеяния света (DLS) на лазерном анализаторе Microtrac NANOTRAC WAVE II (ООО «Микротрак», Россия). Биологическая экспертиза препаратов УДЧ SiO₂ проводилась с использованием биосенсора *Escherichia coli* K12 TG1, несущего гибридную плазмиду *pUC19* с клонированными *luxCDABE* генами *Photobacterium leiognathi* 54D10 (коммерческое название «Эколюм», «НВО ИММУНОТЕХ», Россия) на многофункциональном микропланшетном ридере TECAN Infinite F200 (Tecan Austria GmbH, Австрия).

На втором этапе исследования проводились в условиях аквариумного стенда (Vol = 300 литров) оборудованного системой жизнеобеспечения. Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996). При выполнении исследований были предприняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания рыб и уменьшения количества используемых образцов.

Для проведения каждого из экспериментов методом пар-аналогов производилось формирование контрольной и опытных групп из числа сеголетков карпов ($n=30$) (*Cyprinus carpio*) выращенных в условиях садкового хозяйства ООО «Ирикля-рыба» (Оренбургская область).

На протяжении всего экспериментального периода контрольная и опытные группы получали рацион, сбалансированный по нормам, насыщенный питательными веществами и обменной энергией в соответствии с возрастом рыбы. В рацион опытных групп были дополнительно введены исследуемые добавки. В экспериментальных исследованиях в качестве источников микроэлементов были использованы ультрадисперсные частицы SiO₂. На

протяжении всего эксперимента рыбы как контрольной, так и опытных групп, находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Продолжительность каждого эксперимента составляла 63 суток: подготовительный период – 7 суток и учетный - 56.

В ходе первого эксперимента дозировки УДЧ SiO₂ выбраны на основе данных, полученных в ранее проведенных исследованиях (Мустафин Р.З. и Мустафина А.С., 2021). УДЧ вводили после 30 мин диспергирования препарата в физиологическом растворе с помощью УЗДН-2Т (f-35 кГц, N-300 Вт, А-10 мкА). Схема исследований представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема I эксперимента

Группы	Период опыта	
	подготовительный (7 сут)	учетный (56 сут)
	характер кормления	
Контроль	Основной рацион (ОР)	ОР
I		ОР + УДЧ SiO ₂ (100 мг/кг)
II		ОР + УДЧ SiO ₂ (200 мг/кг)
III		ОР + УДЧ SiO ₂ (300 мг/кг)

В ходе второго эксперимента изучено совместное действие УДЧ SiO₂ и комплекса аминокислот (аргинин, метионин, лизин) на продуктивность и обмен веществ в организме карпа (таблица 2).

Таблица 2 – Схема II эксперимента

Группы	Период опыта	
	подготовительный (7 сут)	учетный (56 сут)
	характер кормления	
Контроль	ОР	ОР
I		ОР + УДЧ SiO ₂ (200 мг/кг)
II		ОР + аминокислоты (аргинин (25 г/кг) + лизин (21 г/кг) + метионин (10 г/кг))
III		ОР + УДЧ SiO ₂ (200 мг/кг) + аминокислоты (аргинин (25 г/кг) + лизин (21 г/кг) + метионин (10 г/кг))

В ходе третьего эксперимента изучена эффективность совместного применения УДЧ SiO₂, солей микроэлементов и пробиотических штаммов *Bifidobacterium* в питании рыб (таблица 3).

Таблица 3 – Схема III эксперимента

Группы	Период опыта	
	подготовительный (7 сут)	учетный (56 сут)
	характер кормления	
Контроль	ОР	ОР
I		ОР + микроэлементы (I (0,1 мг/кг) + Se (0,2 мг/кг) + Zn (1,36 мг/кг))
II		ОР + УДЧ SiO ₂ (200 мг/кг) + пробиотик Бифидобиом (0,7 мг/кг)
III		ОР + УДЧ SiO ₂ (200 мг/кг) + пробиотик Бифидобиом (0,7 мг/кг) + микроэлементы (I (0,1 мг/кг) + Se (0,2 мг/кг) + Zn (1,36 мг/кг))

На заключительном этапе на базе ООО «Ирикла-рыба» (п. Энергетик, Оренбургская область) на годовиках карпа (+1) (*Cyprinus carpio*) был проведен научно-хозяйственный эксперимент.

В качестве основного рациона (полнорационного комбикорма) использовали комбикорм КРК-110 производства ОАО «Оренбургский комбикормовый завод» (г. Оренбург), содержащий сырого протеина 23%. В качестве комплекса аминокислот использовали: метионин кормовой (10 г/кг корма) производство (ГК «Мегамикс», г. Волгоград), моногидрохлорид лизина (21 г/кг корма) производство (ГК «Мегамикс», г. Волгоград), гидрохлорид аргинина (25 г/кг корма) производство (ГК «Мегамикс», г. Волгоград), выбраны с учетом рекомендаций для карповых рыб (Пономарев С.В., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., 2013).

Комплекс микроэлементов в органической форме, калия йодат (ООО «ВТФ» Владимирская область, пос. Вольгинский), селенометионин (ООО «Квадрат-С», г. Москва) и цинка цитрат (ООО «Квадрат-С», г. Москва)

вводились в рацион подопытной рыбы в дозировках рекомендуемых Simakov G. et al., (2020).

В эксперименте применялся пробиотический препарат «Бифидобиом», с содержанием не менее 1×10^{10} КОЕ/г *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, производства ООО «Компонент-Лактис», вводился в дозировке на основе проведённых исследований, в которых отражён положительный эффект влияния пробиотического штамма рода *Bifidobacterium* в кормлении карпа (Аринжанов А.Е. и др., 2022).

Суточную норму кормления рыб определяли на основе массы тела и температуры воды по С.В. Пономареву и др., (2013). Зоотехнические исследования кормов на содержание сухого вещества, сырого протеина (ГОСТ 13496.4-93), массовой доли сырого жира (ГОСТ 13496.15-97), массовой доли сырой клетчатки (ГОСТ 12396.2-91), массовой доли сырой золы (ГОСТ 26226-95), кальция (ГОСТ 26570-95), фосфора (ГОСТ 26657-97) проводились в Испытательном центре ФНЦ БСТ РАН.

Кормление рыбы осуществлялось 6 раз в сутки полнорационными комбикормами КРК-110 в соответствии с существующими нормами М.А. Щербина и Е.А. Гамыгина (2006) и ГОСТом Р 52346-2005. Контроль над интенсивностью роста рыбы осуществлялся путем еженедельного индивидуального взвешивания утром, до кормления (± 1 г) и определения линейно-массовых показателей.

Кровь отбиралась из хвостовой артерии рыб с помощью шприца или пастеровской пипетки - в вакуумные пробирки с ЭДТА-К3, для биохимических - в вакуумные пробирки с активатором свертывания.

Морфологические показатели крови оценивались на автоматическом гематологическом анализаторе URIT-2900 VetPlus («URIT Medical Electronic Co., Ltd», Китай). Биохимический состав сыворотки крови - на автоматическом биохимическом анализаторе CS-T240 («Dirui Industrial Co., Ltd.», Китай) с

использованием коммерческих биохимических наборов для ветеринарии («ДИАКОН-ДС», Россия; «Randox Laboratories Ltd», Великобритания).

Оценка элементного состава мышечной ткани рыб (Ca, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, As, Cr, K, Na, P, Zn, I, V, Co, Se, Ti, Al, Be, Cd, Pb, Hg, Sn, Sr) производилась в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.22ПЯ05) методом атомно-эмиссионной и масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой (Optima 2000 V, Elan 9000, «PerkinElmer» США).

Отбор печени осуществлялся сразу после убоя с использованием стерильного пинцета и иглы для препарирования с целью дальнейшего определения аминокислотного состава на системе капиллярного электрофореза «Капель-105 М».

Образцы полостного содержимого кишечника рыбы помещали в стерильные микропробирки. Затем содержимое кишечника использовали для выделения очищенных препаратов ДНК. Далее выделяли и очищали ДНК. Электрофорез ДНК проводится в 1% агарозном геле с использованием 40 мМ ТАЕ буфера (рН=8.0), с фоторегистрацией результатов. Приготовление ДНК-библиотеки осуществлялось на основе ампликонов с индексами Nextera для секвенирования на приборах Illumina с измерением концентрации на Qubit 4.0. ДНК библиотеки изготовлены из ампликонов 16S рДНК в соответствии с протоколом Illumina (<http://web.uri.edu/gsc/files/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf>). Контроль полученных библиотек осуществляется с помощью электрофореза в агарозном геле. Секвенирование выполнено на приборе MiSeq (Illumina) с использованием оригинального картриджа V2 Reagent kit 500 cycles (Illumina) в ЦКП «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург).

Для оценки качества секвенирования каждого образца использована программа FastQC (Andrews S., 2010). Для слияния «левых» и «правых» ридов использована программа usearch, v. 11 (Edgar R., 2013). Программой FastQC

оценивают качество слияния «левых» и «правых» ридов. При необходимости прибегают к триммированию слитых ридов для удаления адаптеров (при наличии), для этого используется программа Trimmomatic V. 0.39 (Bolger AM. et al., 2014). Программой FastQC оценивают качество триммирования и определяются параметры фильтрации слитых, триммированных ридов. Фильтрация осуществляется программой usearch, v. 11. Программой FastQC оценивают качество отфильтрованных ридов. Для дупликационной (определения уникальных ридов) использована программа usearch, V. 11. Для кластеризации (определения операционных таксономических единиц (ОТЕ) и химерных последовательностей) используется программа usearch, v. 11 (Edgar RC., 2016). Представленность полученных ОТЕ в образцах определяется с использованием программы usearch, v. 11. Для определения таксономической принадлежности полученных ОТЕ используется база данных Ribosomal Database Project (RDP) (Cole J.R. et al., 2014).

Визуализация результатов биоинформатической обработки и статистический анализ производили с помощью MicrobiomeAnalyst (Dhariwal A. et al., 2017). Для метагенома кишечника производили расчет альфа (индекс Chao1, индекс Фишера (Fisher's alpha), индекс разнообразия Шенона (Shannon), индекс разнообразия Симпсона (Simpson), - статистический метод: ANOVA) и бета (метод ординации: NMDS; дистанционный метод: индекс Брея-Кертиса; статистический метод: PERMANOVA) разнообразия.

Изучение конверсии сырого протеина и энергии корма в продукцию в организме подопытной рыбы изучали по методике Левахина В.И. и др. (1999). Для этих целей проводили ежедневный учет потребленных кормов, оценивали химический состав кормов, а также провели контрольные убои подопытной рыбы в начале и конце основного учетного периода.

Результаты экспериментальных исследований были обработаны с применением общепринятых методик при помощи приложения «Excel 2010» и

«Statistica 10.0», включая определение средней арифметической величины (M), стандартной ошибки средней (m).

2.2 Результаты физико-химической и биологической экспертизы препарата ультрадисперсных частиц

В экспериментальных исследованиях применялся диоксид кремния в ультрадисперсном виде, полученный методом плазмохимического синтеза (ИП Хисамутдинов Р.А., г. Москва). Препарат УДЧ SiO₂ представляет собой белый аморфный рассыпчатый порошок без специфического запаха. Установленный гидродинамический диаметр использованного препарата УДЧ SiO₂ составил 126,5±9,7 нм, Z-потенциал --29±0,1 мВ.

В ходе биологической экспертизы препарата УДЧ SiO₂ нами не выявлено токсического действия на всем интервале оцениваемых дозировок от 1,5•10⁻⁵ до 5•10⁻¹ г/л. При этом относительные значения биолюминесценции колебались в диапазоне допустимых нетоксичных показателей – в пределах от 82,4 до 104,8 % (рисунок 2).

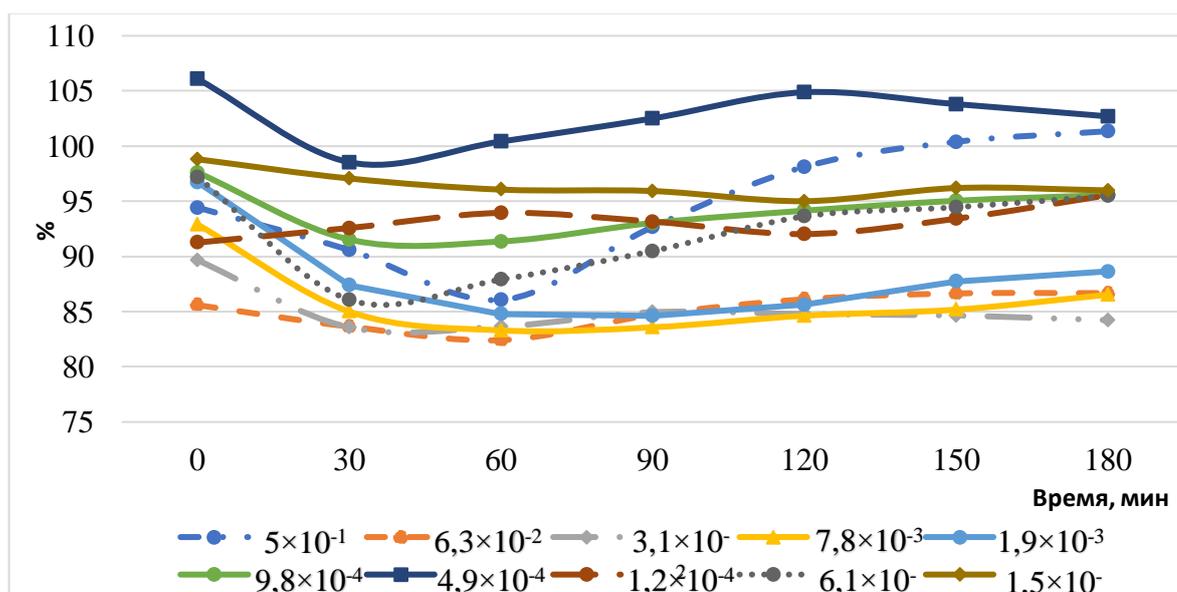


Рисунок 2 – Относительные значения люминесценции бактериального штамма *Escherichia coli* K12 TG1

Таким образом, с учетом того фактическая дозировка УДЧ SiO₂ в рационе подопытного карпа составляет в нашем исследовании от $1 \cdot 10^{-4}$ до $3 \cdot 10^{-4}$ г/кг или на три порядка меньше оцениваемых нами дозировок, можно утверждать, что препарат не будет оказывать токсического действия на организм рыбы

2.3 Результаты экспериментальных исследований на модели карпа

2.3.1 Результаты I эксперимента по оценке эффективности применения различных доз УДЧ диоксида кремния в составе рациона карпов

2.3.1.1 Корма и кормление подопытной рыбы

В качестве основного рациона нами использован комбикорм КРК-110 производства ОАО «Оренбургский комбикормовый завод» (г. Оренбург) (приложение 1).

В рамках первого эксперимента на модели сеголетков карпа нами проведена оценка продуктивного и биологического действия различных дозировок УДЧ диоксида кремния от 100 до 300 мг/кг.

2.3.1.2 Рост и развитие подопытной рыбы

Включение в рацион карпа УДЧ SiO₂ в различных дозировках отразилось на росте подопытной рыбы (рисунок 3, таблица 4).

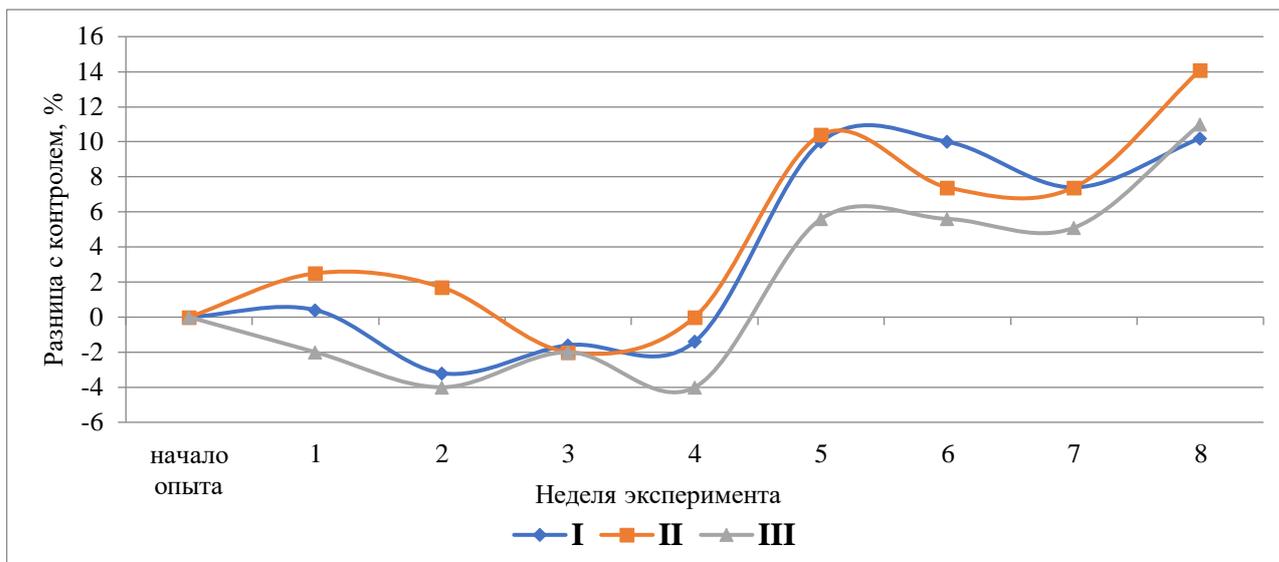


Рисунок 3 - Разница в живой массе рыб опытных групп по сравнению с контрольной, %

В первые недели эксперимента достоверных различий между группами по динамике живой массы рыбы не зафиксировано. Начиная с пятой недели эксперимента, нами было установлено повышение массы рыбы в I опытной группе на 10,2 ($P \leq 0,05$), во II – на 10,4 ($P \leq 0,05$) и в III - на 5,6 %, по сравнению с контролем.

Таблица 4 – Динамика живой массы рыбы, г

Неделя эксперимента	Группы			
	контрольная	опытные		
		I	II	III
Начало опыта	20,3±3,4	20,2±3,4	20,1±3,7	20,1±3,3
1	24,6±3,9	24,7±3,8	26±4,0	24,1±3,8
2	31,2±4,6	30,2±4,4	31,6±4,5	29,3±4,3
3	37,1±5,0	36,5±5,1	35,6±4,5	35,4±4,5
4	43,4±4,9	42,8±5,3	43,1±5,8	41,6±4,6
5	46,1±5,4	50,8±5,9*	50,9±5,5*	48,7±5,2
6	51,5±6,1	56,6±6,5*	55,3±5,6*	54,4±5,8
7	61,0±6,4	65,5±6,8*	65,4±6,1*	64,1±6,5*
8	65,4±7,3	72,1±6,9*	74,6±6,5*	72,6±6,8*

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$.

Ростостимулирующий эффект при введении в рацион УДЧ SiO₂ установлен и в последующие недели, вплоть до конца эксперимента. Так на восьмой неделе эксперимента отмечена максимальная разница по живой массе в I опытной группе – на 10,2 % (P≤0,05), II – на 14,1 % (P≤0,05) и в III – на 11 % (P≤0,05), относительно контроля.

Расчет величины абсолютного прироста подопытной рыбы показал, что наибольшая величина последнего составила во II опытной группе – 54,5 г/голову, это на 3,8 и 5,0 % оказалось выше уровня I и III опытной групп, соответственно (таблица 5). Добавление УДЧ SiO₂ в рацион карпа во всех случаях оказал ростостимулирующее действие на организм.

Таблица 5 – Показатели прироста и сохранность рыб

Показатель	Группы			
	контрольная	опытные		
		I	II	III
Абсолютный прирост, г	45,1	51,9	54,5	52,5
Относительный прирост, %	222,2	256,9	271,1	261,2
Среднесуточный прирост, г	0,81	0,93	0,97	0,94
Сохранность, %	100	100	100	100

2.3.1.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб

В крови, являющейся высоко пластичной тканью организма, осуществляются самые быстрые изменения в зависимости от воздействия различных факторов. В ходе исследований, на фоне включения в рацион УДЧ SiO₂ зафиксировано достоверное повышение уровня гемоглобина, эритроцитов и гематокрита. Уровень гемоглобина был достоверно выше контроля в I группе на 36 % (P≤0,05), во II - на 85,3 % (P≤0,001) и в III - на 68 % (P≤0,001) (таблица

б). Количество эритроцитов было достоверно выше контроля в I группе на 44,4 % ($P \leq 0,01$) и во II – на 55,6 % ($P \leq 0,01$). По гематокриту повышение зафиксировано в I группе на 45 % ($P \leq 0,05$) и во II – на 60 % ($P \leq 0,05$), относительно контроля.

Анализ морфологического состава молоди карпа показал, повышение концентрации лейкоцитов в I группе на 21,9 % ($P \leq 0,05$), во II группе на 35,5 % ($P \leq 0,05$) и в III группе на 44,4 % ($P \leq 0,05$), по сравнению с контрольной группой.

Таблица 6 - Морфологические показатели крови карпа в конце эксперимента

Показатель	Группа			
	контроль	опытная		
		I	II	III
Гемоглобин, г/л	75±6,0	102± 8,5*	139±11,7***	126±9,8***
Эритроциты, 10 ⁹ /л	0,45±0,03	0,65±0,045**	0,70±0,05**	0,45±0,035
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	33,8±3,1	41,2± 4,5*	45,8±8,8*	48,8± 7,4*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	27±4,5	45± 5,5*	39±6,0	17±3,5*
Гематокрит, %	10±1,5	14,5±1,8*	16±2*	9,8±1,5
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	33,3±3,0	69,8±5,3***	111,9±10,2***	95,7±9,5***
Моноциты, 10 ⁹ /л	1,4±0,06	1,2±0,2	3,4±0,4**	2,7±0,35*
Содержание гранулоцитов, 10 ⁹ /л	0,1±0,06	0,2±0,06	0,5±0,16*	0,4±0,1*

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Количество лимфоцитов было достоверно выше контроля в I опытной группе - в 2 раза ($P \leq 0,01$), во II - в 3,4 раза ($P \leq 0,001$) и в III - в 2,9 раза ($P \leq 0,001$). Количество моноцитов было достоверно выше контроля во II опытной группе в 2,4 раза ($P \leq 0,01$) и в III на 92,9 % ($P \leq 0,05$).

Биохимическое исследование крови было проведено для более полной характеристики общего состояния организма подопытных рыб (таблица 7).

Таблица 7 - Биохимические показатели крови карпа в конце эксперимента

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Глюкоза, ммоль/л	2,29±0,22	4,61±0,43***	3,83±0,35**	3,23±0,31*
Общий белок, г/л	27,99±1,23	34,88±1,8**	33,43±1,51*	32,12±1,29*
Билирубин общий, мкмоль/л	0,27±0,02	0,4±0,03**	0,93±0,04***	0,27±0,02
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,35±0,03	0,48±0,04*	0,62±0,05***	0,44±0,04*
АСТ, Ед/л	483,7±23,8	504±26	487,4±27,5	324,4±24,4**
АЛТ, Ед/л	175,2±5,4	165,9±5,1	174±7,4	109,5±4,5***
Фосфор, ммоль/л	4,59±0,33	6,05±0,4**	5,67±0,37*	5,32±0,35

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

В проведенных исследованиях зафиксировано повышение глюкозы в I опытной группе в 2 раза ($P \leq 0,001$), во II на 67,2% ($P \leq 0,01$) и в III на 41 % ($P \leq 0,05$), относительно контроля.

Установлено повышение количества общего белка в сыворотке крови в опытных группах. В частности, в I группе содержание общего белка было выше контроля на 24,6 % ($P \leq 0,01$), во II - на 19,4 % ($P \leq 0,05$) и в III - на 14,8 % ($P \leq 0,05$).

Уровень общего билирубина в I и II группах был выше контроля на 48,1 % ($P \leq 0,01$) и в 3,4 раза ($P \leq 0,001$), соответственно. Прямой билирубин был достоверно выше в I опытной группе на 37,1 % ($P \leq 0,05$), во II - на 77,1 % ($P \leq 0,001$) и в III - на 25,7 % ($P \leq 0,05$), относительно контрольной группы. Отмечено достоверное понижение содержания показателей аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в III опытной группе на 32,9 % ($P \leq 0,001$) и 37,5 % ($P \leq 0,001$), соответственно.

Достоверные значения по фосфору были констатированы в I и II опытных группах, где было выявлено увеличение относительно контроля на 31,8 % и 23,5 %, соответственно.

2.3.1.4 Аминокислотный состав печени рыб

Проведение анализа аминокислотного состава печени карпа позволило нам выявить увеличение содержания аминокислот при дозировках ультрадисперсных частиц оксида кремния - 100 и 200 мг/кг корма, так в I опытной группе установлено повышение уровня лейцина + изолейцина на 0,60 % ($P \leq 0,05$), валина на 0,21 % ($P \leq 0,05$), фенилаланина на 0,19 % ($P \leq 0,01$), аланина на 0,18 % ($P \leq 0,05$), метионина на 0,16 % ($P \leq 0,01$), глицина на 0,16 % ($P \leq 0,05$), тирозина на 0,16 % ($P \leq 0,001$), серина на 0,14 % ($P \leq 0,05$), пролина на 0,13 % ($P \leq 0,05$) и гистидина на 0,10 % ($P \leq 0,05$), относительно контрольных значений (таблица 8).

Таблица 8 - Аминокислотный состав печени подопытных рыб, ($M \pm m$), %

Аминокислота	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Лейцин + изолейцин	4,28 ± 0,1	4,88 ± 0,3*	4,93 ± 0,3*	4,52 ± 0,2
Валин	2,13 ± 0,03	2,34 ± 0,04*	2,40 ± 0,05**	2,22 ± 0,03
Глицин	1,96 ± 0,05	2,12 ± 0,06*	2,16 ± 0,07*	1,99 ± 0,05
Аланин	1,87 ± 0,04	2,05 ± 0,06*	2,15 ± 0,07**	1,94 ± 0,05
Серин	1,74 ± 0,05	1,88 ± 0,06*	1,88 ± 0,05*	1,78 ± 0,04
Треонин	1,63 ± 0,04	1,71 ± 0,05	1,78 ± 0,06*	1,73 ± 0,05
Пролин	1,56 ± 0,04	1,69 ± 0,05*	1,67 ± 0,05*	1,65 ± 0,03*
Фенилаланин	1,35 ± 0,03	1,54 ± 0,03**	1,57 ± 0,04**	1,42 ± 0,03
Аргинин	1,04 ± 0,02	1,00 ± 0,01	0,98 ± 0,006	0,88 ± 0,006
Тирозин	1,03 ± 0,01	1,19 ± 0,02***	1,22 ± 0,03***	1,09 ± 0,04
Лизин	0,89 ± 0,01	0,93 ± 0,01	1,00 ± 0,02	0,87 ± 0,01
Метионин	0,88 ± 0,02	1,04 ± 0,04**	1,03 ± 0,03**	0,97 ± 0,02*
Гистидин	0,71 ± 0,02	0,81 ± 0,03*	0,78 ± 0,03*	0,69 ± 0,02

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Во II опытной группе, при дозировке УДЧ SiO₂ 200 мг/кг корма, отмечено повышение уровня лейцина + изолейцина на 0,65 % ($P \leq 0,05$), аланина на 0,28 %

($P \leq 0,01$), валина на 0,27 % ($P \leq 0,01$), фенилаланина на 0,22 % ($P \leq 0,01$), глицина на 0,20 % ($P \leq 0,05$), тирозина на 0,19 % ($P \leq 0,001$), метионина на 0,15 % ($P \leq 0,01$), треонина на 0,15 % ($P \leq 0,05$), серина на 0,14 % ($P \leq 0,05$), пролина на 0,11 % ($P \leq 0,05$), и гистидина на 0,07 % ($P \leq 0,05$), относительно контрольных значений.

В III опытной группе, при введении максимальной дозы УДЧ SiO₂ в рацион рыб достоверное увеличение уровня аминокислот отмечено лишь для метионина и пролина - на 0,09 % ($P \leq 0,05$), относительно контрольных значений. Достоверных отличий по другим аминокислотам установлено не было.

2.3.1.5 Химический состав мышечной ткани рыб

Анализ химического состава мышечной ткани рыб установил лишь незначительное, на 0,98 %, повышение содержания воды в мышцах карпа I опытной группы, протеина на 0,34 % в III опытной группе по сравнению с контролем (таблица 9).

Таблица 9 - Химический состав мышечной ткани рыб, %

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Сухое вещество	19,61 ± 1,25	18,63 ± 0,85	19,38 ± 0,76	19,56 ± 0,60
Вода	80,39 ± 1,75	81,37 ± 1,55	80,62 ± 2,25	80,44 ± 2,50
Протеин	15,72 ± 1,02	14,88 ± 0,9	14,88 ± 1,03	16,06 ± 1,32
Жир	2,92 ± 0,19	2,78 ± 0,17	3,54 ± 0,19*	2,53 ± 0,15
Зола	0,97 ± 0,02	0,97 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,97 ± 0,02

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$

Из всего перечня сравниваемых показателей химического состава мышечной ткани рыбы, только в одном случае нами выявлены достоверные различия в уровне жира во II опытной группе, содержание которого в тканях рыбы этой группы в среднем на 0,62 % ($P \leq 0,05$) превышало уровень контроля.

2.3.1.6 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб

Анализ содержания макроэлементов в мышечной ткани выявил достоверные различия между группами по величине концентраций кальция, фосфора и натрия. В частности, в I опытной группе установлено достоверное повышение содержания Ca на 36,4 % ($P \leq 0,05$) и уменьшение количества P на 22,4 % ($P \leq 0,05$), относительно контрольных значений (таблица 10). В III опытной группе зафиксировано повышение концентрации Ca в 2 раза ($P \leq 0,001$) относительно контроля, на фоне снижения уровня Na на 33 % ($P \leq 0,05$).

Таблица 10 – Содержание макроэлементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Mg	185 ± 18	160 ± 16	171 ± 17	172 ± 18
Ca	209 ± 21	285 ± 29*	197 ± 20	428 ± 53***
Na	574 ± 55	521 ± 52	589 ± 57	442 ± 46*
P	2139 ± 214	1661 ± 165*	1895 ± 190	2273 ± 221
K	5565 ± 556	4849 ± 485	4991 ± 500	4708 ± 468

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; *** $P \leq 0,001$.

Изучение содержания эссенциальных и условно-эссенциальных микроэлементов позволило выявить повышение концентрации кремния во II группе на 15,9 % ($P \leq 0,05$) и в III на 17,4 % ($P \leq 0,05$) (таблица 11).

Таблица 11 – Содержание эссенциальных и условно-эссенциальных элементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Zn	13,32 ± 0,13	12,1 ± 0,22**	13,01 ± 0,15*	13,22 ± 0,43
Fe	4,55 ± 0,46	6,01 ± 0,6*	4,98 ± 0,5	4,7 ± 0,5
Si	1,32 ± 0,13	1,4 ± 0,14	1,53 ± 0,11*	1,55 ± 0,12*

Cu	1,15 ± 0,11	0,94 ± 0,12	1,08 ± 0,11	0,95 ± 0,11
B	0,67 ± 0,08	0,76 ± 0,091	0,82 ± 0,098	0,77 ± 0,092
Mn	0,22 ± 0,026	0,31 ± 0,037*	0,25 ± 0,030	0,39 ± 0,047**
Se	0,16 ± 0,009	0,13 ± 0,006*	0,13 ± 0,005*	0,15 ± 0,018
I	0,07 ± 0,001	0,05 ± 0,007**	0,05 ± 0,006**	0,06 ± 0,008
Cr	0,04 ± 0,006	0,04 ± 0,007	0,04 ± 0,006	0,07 ± 0,011*
Ni	0,03 ± 0,004	0,04 ± 0,005	0,04 ± 0,006	0,06 ± 0,009**
Li	0,02 ± 0,004	0,03 ± 0,004	0,03 ± 0,005	0,03 ± 0,004
V	0,003 ± 0,0005	0,003 ± 0,0006	0,003 ± 0,0005	0,005 ± 0,001*
Co	0,002 ± 0,0005	0,002 ± 0,0003	0,002 ± 0,0004	0,002 ± 0,0004

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; **P≤0,01.

В I опытной группе установлено достоверное увеличение содержания железа на 32,1 % (P≤0,05), марганца на 40,9 % (P≤0,05) и уменьшение цинка на 9,16 % (P≤0,01), селена на 18,8 % (P≤0,05), йода на 28,6 % (P≤0,01) (рисунок 4). Во II опытной группе также наблюдалось снижение количества йода на 28,6 % (P≤0,01), селена на 18,8 % (P≤0,05) и цинка на 2,3 % (P≤0,05) (рисунок 5). В III опытной группе зафиксировано увеличение концентраций относительно контроля таких элементов как: хром на 75 % (P≤0,05), марганец на 77,3 % (P≤0,01), никель в 2 раза (P≤0,01) и ванадий на 66,7 % (P≤0,05) (рисунок 6).

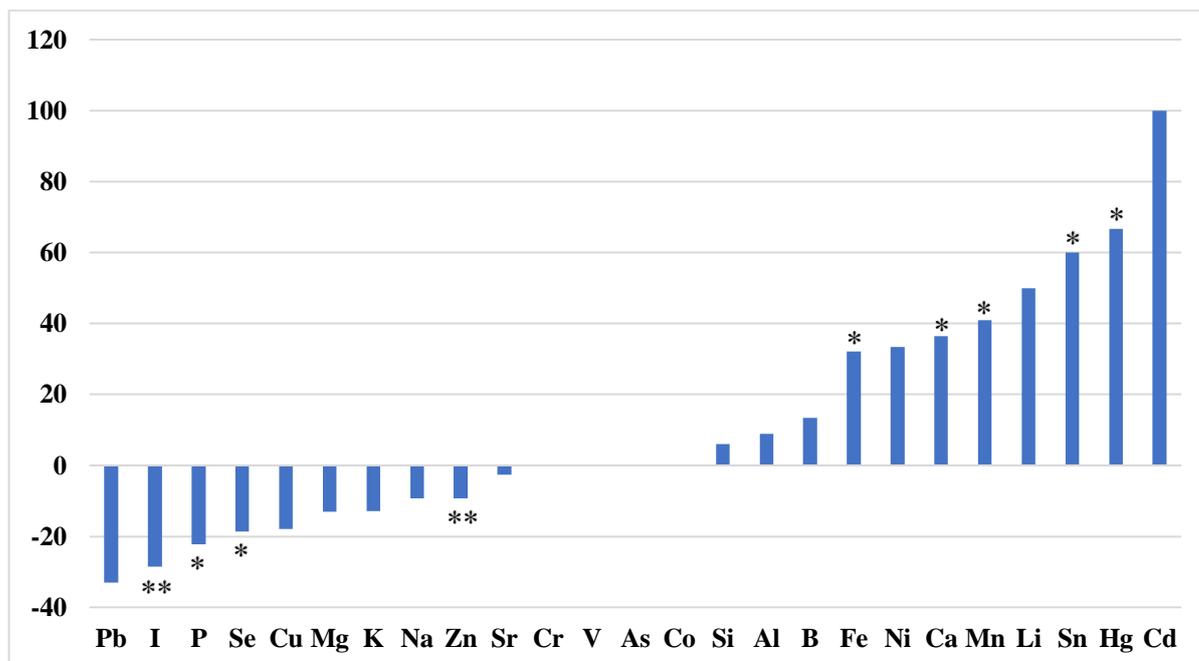


Рисунок 4 – Разница по величине концентраций химических элементов в мышечной ткани рыб I опытной группы относительно контрольных значений, %

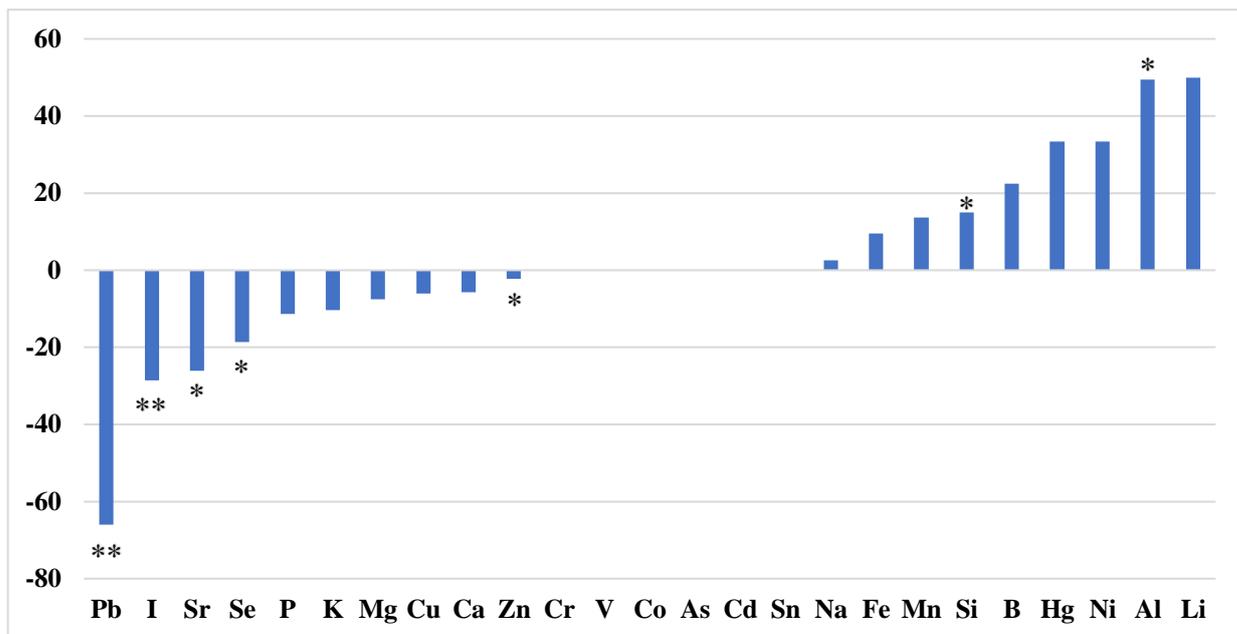


Рисунок 5 – Разница по величине концентраций химических элементов в мышечной ткани рыб II опытной группы относительно контрольных значений, %

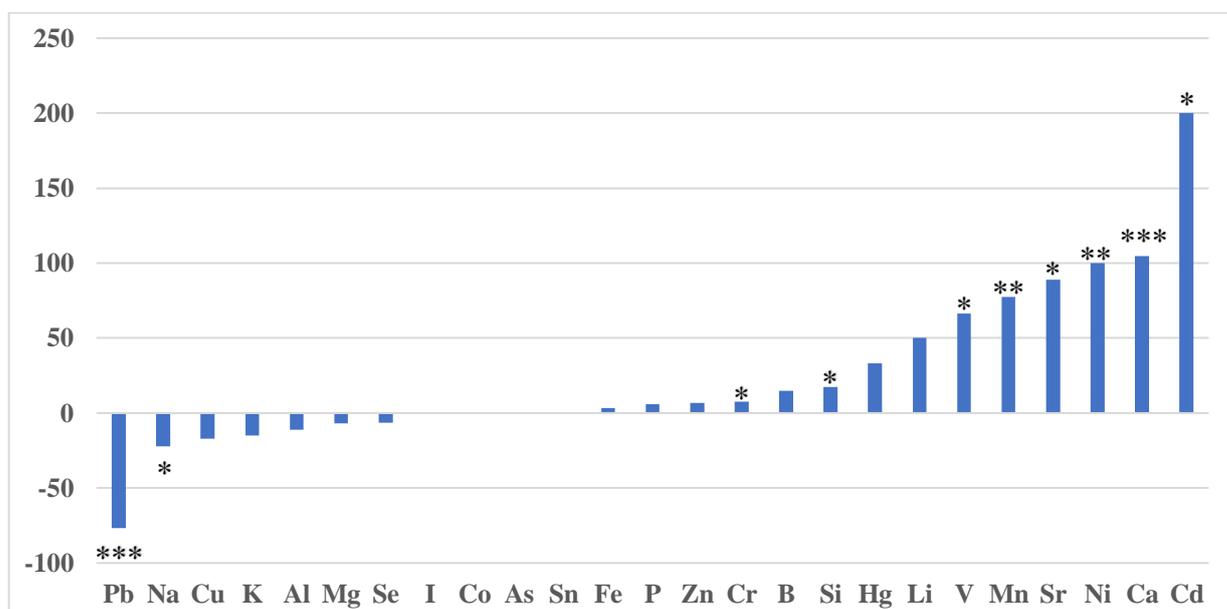


Рисунок 6 – Разница по величине концентраций химических элементов в мышечной ткани рыб III опытной группы относительно контрольных значений, %

Анализ содержания токсических элементов в мышечной ткани не выявил негативного воздействия на рыб (таблица 12).

Таблица 12 – Содержание токсических элементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Al	1,56 ± 0,16	1,7 ± 0,17	2,33 ± 0,24*	1,39 ± 0,14
Sr	0,73 ± 0,088	0,71 ± 0,085	0,54 ± 0,065*	1,38 ± 0,33*
Pb	0,03 ± 0,006	0,02 ± 0,003	0,01 ± 0,002**	0,007 ± 0,0014***
Hg	0,03 ± 0,004	0,05 ± 0,007*	0,04 ± 0,006	0,04 ± 0,005
As	0,01 ± 0,002	0,01 ± 0,002	0,01 ± 0,001	0,01 ± 0,002
Sn	0,005 ± 0,0001	0,008 ± 0,0017*	0,005 ± 0,0009	0,005 ± 0,0008
Cd	0,001 ± 0,0003	0,002 ± 0,0004	0,001 ± 0,0002	0,003 ± 0,0006*

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; **P≤0,01; ***P≤0,001.

Так, во II опытной группе нами было зафиксировано повышение уровня алюминия на 49 % (P≤0,05) и в III опытной группе - стронция на 89 % (P≤0,05), относительно контрольных значений. Было отмечено понижение содержания Pb во II и III опытной группе на 66,7 % (P≤0,01) и 76,7 % (P≤0,001) и Sr во II опытной группе на 26 % (P≤0,05), соответственно.

2.3.1.7 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбой

Делая вывод из полученных данных дополнительное введение в рацион подопытной рыбы препарата кремния сопровождалось увеличением эффективности трансформации корма (таблица 13).

Таблица 13 – Эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы, %

Группа	Коэффициент конверсии	
	протеин	обменная энергия
Контрольная	27,57	13,92
I опытная	28,78	13,69
II опытная	29,22	15,06
III опытная	28,78	15,09

Во II опытной группе коэффициент конверсии протеина составлял 29,22 % и обменной энергии 15,06 %. В двух других опытных группах показатели эффективности оказались сходными. Наименьшая конверсия протеина корма оказалась в контрольной группе, на 1,22-1,65% ниже в сравнении с опытными группами.

2.3.1.8 Резюме по итогам I экспериментального исследования

Обобщая результаты первого исследования на модели карпа, можно констатировать, что включение УДЧ диоксида кремния в дозах от 100-300 мг/кг корма стимулирует рост подопытных рыб начиная с пятой недели скармливания, при существенном увеличении эффективности конверсии корма в продукцию. Ростостимулирующий эффект препарата стал следствием комплекса метаболических изменений в организме карпа, в числе которых увеличение содержания в крови гемоглобина, эритроцитов, общего белка, макроэлементов и т.д. Важным обстоятельством для понимания механизма действия оцениваемого препарата является достоверное увеличение практически всех анализируемых аминокислот в печени рыбы I и II опытных групп относительно контроля. При этом дальнейший рост дозировок УДЧ диоксида кремния до 300 мг/кг корма не сопровождался увеличением уровня аминокислот в печени.

Следует отметить крайне значительный рост в крови опытного поголовья белых кровяных телец. Исходя из того, что ранее аналогичные результаты были описаны в исследованиях Е.В. Яушевой (2016) в эксперименте по оценке биологического действия препаратов УДЧ металлов-микроэлементов на модели цыплят-бройлеров и то что в этом случае ростостимулирующий эффект был усилен через дополнительное включение в рацион незаменимых аминокислот, мы в рамках своей рабочей гипотезы предположили наличие аналогичного действия комплекса аминокислот и УДЧ SiO₂ на организм карпа. Для проверки этого предположения нами был проведен второй эксперимент.

2.3.2 Результаты II эксперимента по оценке эффективности влияния УДЧ SiO₂ и комплекса аминокислот на продуктивность и обмен веществ у карпа

2.3.2.1 Корма и кормление подопытной рыбы

В качестве основного рациона при проведении II эксперимента использовали комбикорм КРК-110 производства ОАО «Оренбургский комбикормовый завод» (г. Оренбург) (приложение 1).

В качестве комплекса аминокислот использовали: метионин кормовой (дозировка 10 г/кг корма), моногидрохлорид лизина (дозировка 21 г/кг корма), гидрохлорид аргинина (дозировка 25 г/кг корма).

По своей питательности использованный комбикорм соответствовал требованиям стандартов и содержал около 9,5 МДж/кг обменной энергии, 280-290 г сырого протеина, 61,2 г жира, 31,7 г сырой клетчатки. В рамках II эксперимента подопытная рыба контрольной группы получала ОР. Рыбам опытных групп дополнительно в ОР включали добавки, в I опытной - ОР + УДЧ SiO₂ (200 мг/кг), II опытной – ОР + аминокислоты (аргинин (25 г/кг) + лизин (21 г/кг) + метионин (10 г/кг), III - ОР + УДЧ SiO₂ (200 мг/кг) + аминокислоты (аргинин (25 г/кг) + лизин (21 г/кг) + метионин (10 г/кг).

Делая вывод из полученных данных, подопытные карпы хорошо поедали корма во всех сравниваемых группах.

2.3.2.2 Рост и развитие подопытной рыбы

Анализ полученных результатов выявил, что ростостимулирующий эффект зафиксирован лишь в группах с наличием в рационе УДЧ диоксида кремния (I и III опытные группы) (рисунок 7).

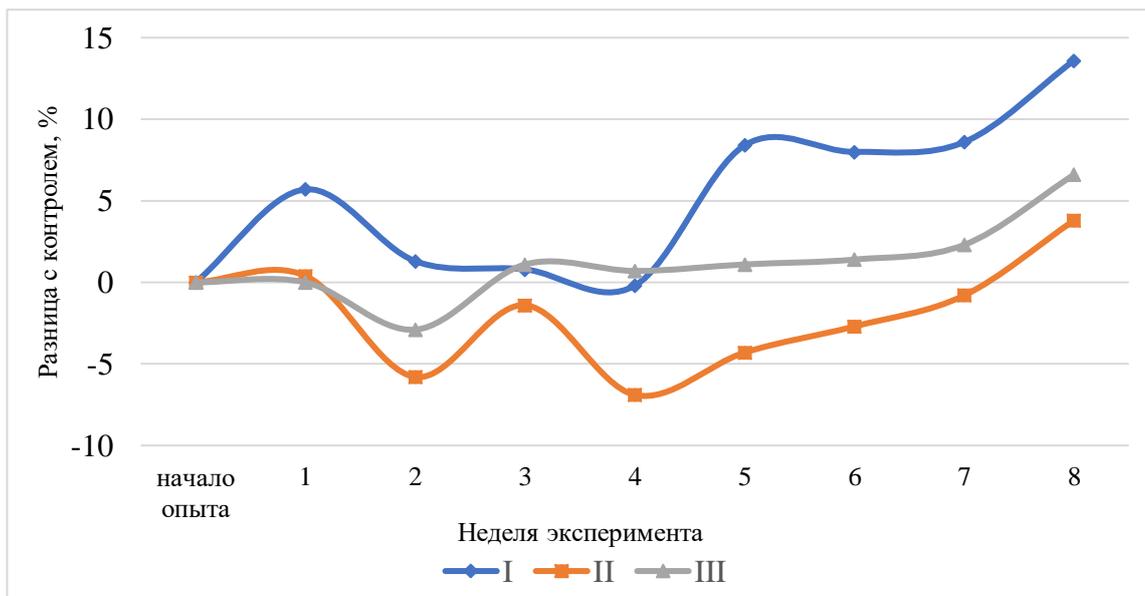


Рисунок 7 - Разница живой массы рыб опытных групп по сравнению с контрольной, %

Причем, как и в первом нашем эксперименте наиболее выраженным ростостимулирующим действием препарат УДЧ отличался начиная с пятой недели эксперимента. В этот период живая масса карпов в I группе достигла 50,2 г, что на 8,4% ($P \leq 0,05$) превышало уровень контроля (таблица 14).

Таблица 14 - Динамика живой массы подопытной рыбы, г

Неделя	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
1	24,5±3,6	25,9±4,0	24,6±3,9	24,4±3,4
2	31,0±4,2	31,4±4,5	29,2±4,2	30,1±4,0
3	35,2±5,0	35,5±4,5	34,7±4,8	35,6±4,7
4	43,1±4,4	43,0±4,7	40,1±4,4	43,4±4,3
5	46,3±4,9	50,2±5,1*	44,3±4,9	46,8±5,2
6	51,1±5,6	55,2±5,2*	49,7±5,1	51,8±5,9
7	60,3±6,1	65,5±5,5*	59,8±6,8	61,7±6,4
8	65,2±7,3	74,1±5,7*	67,7±6,7	69,5±3,9*

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$.

Ростостимулирующий эффект зафиксирован при совместном использовании комплекса аминокислот и УДЧ диоксида кремния в III опытной группе - к концу опыта установили повышение интенсивности роста на 6,6 % ($P \leq 0,05$), а самый высокий прирост массы рыб на 13,7 % ($P \leq 0,05$) установлен при скармливании УДЧ SiO₂ в дозе 200 мг/кг корма.

Подопытные карпы I опытной группы за период эксперимента продемонстрировали относительный прирост 186,1 %, что на 20 % превышает уровень контроля, на 6,7 % и 18,7 % уровень II и III опытных групп, соответственно (таблица 15).

Таблица 15 - Показатели прироста и сохранность рыб

Показатель	контрольная	Группа		
		опытная		
		I	II	III
Абсолютный прирост, г	40,7	48,2	42,5	45,1
Относительный прирост, %	166,1	186,1	172,8	184,8
Среднесуточный прирост, г	0,73	0,86	0,76	0,81
Сохранность, %	100	100	100	100

2.3.2.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб

В ходе исследований, на фоне включения в рацион УДЧ SiO₂ и комплекса аминокислот, зафиксировано достоверное повышение уровня гемоглобина, эритроцитов и гематокрита (таблица 16).

Таблица 16 - Морфологические показатели крови карпа в конце эксперимента

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Гемоглобин, г/л	75,6±5,7	133,5 ±10,1***	127±9,3***	108±9,5**
Эритроциты, 10 ⁹ /л	0,77±0,04	0,73±0,03	1,07±0,13*	0,63±0,08
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	93,6±2,8	113,4±7,6*	118,9±10,5*	79,6±5,7*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	27,2±4,2	34±4,8	33±4,7	10±1,5**
Гематокрит, %	10,1±1,3	15,4±1,8*	21±2,5**	13,7±1,7
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	43,1±3,3	53,7±9,7*	64,3±10,7*	65,4±5,6*
Моноциты, 10 ⁹ /л	1,7±0,09	2,5±0,42***	2,4±0,45***	2,6±0,32**
Содержание гранулоцитов, 10 ⁹ /л	0,1±0,08	0,4±0,09*	0,5±0,2*	0,3±0,1

Примечание. Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; ** P≤0,01; ***P≤0,001

Уровень гемоглобина был достоверно выше контроля в I опытной группе на 76,6 % (P≤0,001), во II группе на 67,9 % (P≤0,001), в III на 42,9 % (P≤0,01). Количество эритроцитов было достоверно выше контроля во II опытной группе на 38,9 % (P≤0,05). По гематокриту повышение зафиксировано в I и II группе – 52,5 % (P≤0,05) и в 2,1 раз (P≤0,01) соответственно, относительно контроля.

Уровень лейкоцитов увеличивался относительно контроля в I группе на 21,2 % (P≤0,05) и во II группе на 27 % (P≤0,05) и уменьшался в III группе на 15 % (P≤0,05). Количество моноцитов было достоверно выше контроля в I и II опытных группах на 47,1 % (P≤0,001) и на 41,2 % (P≤0,001), в III на 52,9 % (P≤0,01). Содержание лимфоцитов было достоверно выше контроля в I опытной группе на 24,6 % (P≤0,05), во II – на 49,2 % (P≤0,05), в III – на 51,7 % (P≤0,05).

Также было осуществлено исследование биохимических показателей сыворотки крови рыб (таблица 17).

Таблица 17 - Биохимические показатели крови карпа в конце эксперимента

Показатель	Группа			
	контроль	опытная		
		I	II	III
Глюкоза, ммоль/л	2,27±0,26	3,79±0,31**	4,28±0,4***	2,72±0,26
Общий белок, г/л	28,1±1,23	33,54±1,42*	29,23±1,45	30,02±1,7
Билирубин общий, мкмоль/л	0,28±0,03	0,89±0,04***	0,13±0,01***	1,19±0,04***
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,38±0,04	0,59±0,06***	0,4±0,03	0,42±0,04
АСТ, Ед/л	484,1±24,5	485,1±25,9	544,6±25,6*	547,3±27,5*
АЛТ, Ед/л	176,3±6,2	173,7±8,8	321,8±11,9***	137,8±6,8**
Фосфор, ммоль/л	4,63±0,36	5,63±0,33*	5,46±0,37*	4,73±0,33

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Достоверное повышение глюкозы наблюдали лишь в I и II опытных группах на 66,9 % ($P \leq 0,01$) и на 88,5 % ($P \leq 0,001$), соответственно, относительно контроля. Выявлено увеличение содержания общего белка в опытных группах, в частности, во I группе на 19,4 % ($P \leq 0,05$).

Уровень общего билирубина во I группе был выше контроля в 3,2 раза ($P \leq 0,001$), а в III опытной группе этот показатель был выше контроля в 4,3 раза ($P \leq 0,001$). Прямой билирубин был достоверно выше только в I группе на 55,3 % ($P \leq 0,001$) относительно контрольной группы.

Включение в рацион рыб аминокислот предполагало повышение активности аминотрансфераз, что мы и наблюдали в опытных группах. Концентрация АСТ была достоверно выше во II на 12,5 % ($P \leq 0,05$) и III группе на 13,1 % ($P \leq 0,05$). Концентрация АЛТ во II опытной группе была достоверно выше контроля на 85,5 % ($P \leq 0,001$), а в III опытной группе ниже контроля на 21,8 % ($P \leq 0,01$).

Достоверные значения по фосфору были констатированы в I группе, где было выявлено увеличение относительно контроля на 21,6 % ($P \leq 0,05$) и во II опытной группе на 17,9 % ($P \leq 0,05$), соответственно.

2.3.2.4 Аминокислотный состав печени рыб

При добавлении в рацион ультрадисперсных частиц SiO₂ в дозировке 200 мг/кг корма в печени карпа отмечено увеличение уровня тирозина на 0,72 % (P≤0,001), лейцина + изолейцина на 0,71 % (P≤0,05), валина на 0,34 % (P≤0,01), аланина на 0,33 % (P≤0,01), глицина на 0,26 % (P≤0,05), фенилаланина на 0,25 % (P≤0,01), серина на 0,22 % (P≤0,05), пролина на 0,16 % (P≤0,05) и гистидина на 0,12 % (P≤0,05), относительно контрольных значений. Было отмечено достоверное понижение концентрации треонина на 0,35 % (P≤0,001) (таблица 18).

Таблица 18 - Аминокислотный состав печени карпа, %

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Лейцин + изолейцин	4,25 ± 0,12	4,96 ± 0,28*	4,67 ± 0,33	4,98 ± 0,42*
Валин	2,11 ± 0,05	2,45 ± 0,04**	2,50 ± 0,05**	2,44 ± 0,04**
Глицин	1,93 ± 0,04	2,19 ± 0,06*	2,23 ± 0,08*	2,25 ± 0,09*
Аланин	1,85 ± 0,03	2,18 ± 0,06**	2,17 ± 0,08**	2,21 ± 0,07**
Аргинин	1,01 ± 0,01	1,02 ± 0,01	1,48 ± 0,03***	1,25 ± 0,03***
Метионин	0,86 ± 0,02	1,05 ± 0,03**	1,03 ± 0,03**	1,06 ± 0,04**
Пролин	1,55 ± 0,04	1,71 ± 0,05*	1,83 ± 0,04**	1,86 ± 0,06**
Тирозин	1,01 ± 0,01	1,73 ± 0,05*	1,14 ± 0,02***	1,22 ± 0,04***
Треонин	1,61 ± 0,05	1,26 ± 0,04***	1,88 ± 0,06**	1,91 ± 0,07**
Серин	1,69 ± 0,05	1,91 ± 0,06*	1,88 ± 0,07	1,93 ± 0,08*
Фенилаланин	1,34 ± 0,04	1,59 ± 0,05**	1,44 ± 0,04	1,60 ± 0,05**
Гистидин	0,69 ± 0,02	0,81 ± 0,04*	0,73 ± 0,03	0,82 ± 0,04*
Лизин	0,87 ± 0,02	0,98 ± 0,02	1,23 ± 0,03***	1,15 ± 0,02***

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; **P≤0,01; ***P≤0,001.

Включение в рацион карпа комплекса аминокислот (аргинин, метионин, лизин) ожидаемо привело к достоверному повышению уровня аргинина на 0,01 % (P≤0,001), метионина на 0,19 % (P≤0,01) и лизина на 0,11 % (P≤0,001) в печени

опытной рыбы, относительно контрольных значений. Кроме того, было отмечено повышение уровня тирозина на 0,13 % ($P \leq 0,001$), пролина на 0,24 % ($P \leq 0,01$), валина на 0,39 % ($P \leq 0,01$), аланина на 0,32 % ($P \leq 0,01$), глицина на 0,30 % ($P \leq 0,05$), треонина на 0,27 % ($P \leq 0,01$), относительно контрольных значений.

В III опытной группе динамика повышения уровня аминокислот относительно контрольных значений подтверждает синергизм действия УДЧ SiO_2 и комплекса аминокислот. Нами установлено достоверное повышение уровня лейцин + изолейцин на 0,73 % ($P \leq 0,05$), аргинина на 0,24 % ($P \leq 0,001$), лизина на 0,28 % ($P \leq 0,001$), тирозина на 0,21 % ($P \leq 0,001$), метионина на 0,20 % ($P \leq 0,01$), гистидина на 0,13 % ($P \leq 0,05$), валина на 0,33 % ($P \leq 0,01$), серина на 0,24 % ($P \leq 0,05$), пролина на 0,31 % ($P \leq 0,01$), аланина на 0,36 % ($P \leq 0,01$), глицина на 0,32 % ($P \leq 0,05$), треонина 0,30 % ($P \leq 0,01$) и фенилаланина на 0,26 % ($P \leq 0,01$), относительно контрольных значений.

2.3.2.5 Химический состав мышечной ткани рыб

Анализ химического состава мышечной ткани рыб установил понижение содержания сухого вещества относительно контроля во II опытной группе на 2,03 % и в III - на 2,87 % (таблица 19).

Таблица 19 - Химический состав мышечной ткани рыб, %

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Сухое вещество	19,11±1,27	19,46± 0,81	17,08±1,05	16,24±0,75
Вода	80,89 ± 1,75	80,54±2,17	82,92 ± 1,93	83,76 ± 2,34
Протеин	15,52 ± 1,04	14,96 ± 1,06	12,10 ± 1,05*	12,82 ± 0,95*
Жир	2,62 ± 0,15	3,54 ± 0,25*	4,02 ± 0,31**	2,44 ± 0,13
Зола	0,97 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,98 ± 0,03

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$

Установлено повышение воды в образцах мышечной ткани опытных карпов относительно контрольных значений на 2,03 % (II опытная) и 2,87 % (III опытная). Снижение количества протеина было выявлено во II опытной группе на 0,56 % и в III на 3,42 % относительно контроля. Было отмечено повышение содержание жира в I и II опытных группах на 0,92 и 1,4 %, соответственно. Повышение содержания золы отмечено лишь для III опытной группы на 0,01 % относительно контроля

2.3.2.6 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб

Анализ содержания макроэлементов в мышечной ткани рыб показал неоднозначные результаты: достоверное увеличение содержания кальция на 42,2 % ($P \leq 0,01$) зафиксировано лишь во II опытной группе, относительно контроля. В III опытной группе (УДЧ SiO_2 + комплекс аминокислот) выявлено снижение содержания натрия на 25,3 % ($P \leq 0,05$) относительно контрольных показателей. По остальным макроэлементам достоверных различий не зафиксировано (таблица 20).

Таблица 20 – Содержание макроэлементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Mg	179 ± 19	174 ± 16	168 ± 17	171 ± 18
Ca	206 ± 19	200 ± 26	293 ± 40**	213 ± 22
Na	574 ± 51	578 ± 52	501 ± 53	429 ± 44*
P	2143 ± 221	1911 ± 193	1983 ± 196	2115 ± 212
K	5559 ± 548	4897 ± 489	4446 ± 445	4871 ± 469

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Анализ содержания эссенциальных и условно-эссенциальных микроэлементов показал повышение содержания кремния в I и III опытной группе на 19,4 % ($P \leq 0,05$) и 18,6 % ($P \leq 0,05$), соответственно относительно контроля (таблица 21).

Таблица 21 – Содержание эссенциальных и условно-эссенциальных элементов в мышечной ткани карпов, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Zn	13,25 ± 0,11	12,74 ± 0,09*	12,7 ± 0,18*	12,5 ± 0,25*
Fe	4,61 ± 0,43	4,92 ± 0,47	3,49 ± 0,4*	3,78 ± 0,35
Si	1,29 ± 0,11	1,54 ± 0,14*	1,2 ± 0,13	1,53 ± 0,12*
Cu	1,17 ± 0,12	1,13 ± 0,11	0,85 ± 0,10*	1,21 ± 0,12
B	0,71 ± 0,08	0,78 ± 0,096	0,64 ± 0,076	0,76 ± 0,091
Mn	0,21 ± 0,023	0,23 ± 0,030	0,30 ± 0,036*	0,26 ± 0,031
Se	0,15 ± 0,008	0,13 ± 0,009*	0,13 ± 0,008*	0,12 ± 0,011*
I	0,06 ± 0,002	0,05 ± 0,005*	0,04 ± 0,007*	0,05 ± 0,009*
Cr	0,03 ± 0,005	0,03 ± 0,006	0,03 ± 0,005	0,06 ± 0,009*
Ni	0,03 ± 0,004	0,04 ± 0,006	0,05 ± 0,008*	0,04 ± 0,006
Li	0,02 ± 0,004	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,003	0,03 ± 0,004
V	0,003 ± 0,0005	0,004 ± 0,0006	0,004 ± 0,0008	0,003 ± 0,0005
Co	0,002 ± 0,0005	0,002 ± 0,0004	0,001 ± 0,0003	0,002 ± 0,0004

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$.

Во II опытной группе наблюдалось понижение эссенциальных элементов: железа на 24,3 % ($P \leq 0,05$) и меди на 27,4 % ($P \leq 0,05$). Кроме того, повышается содержание эссенциального марганца на 42,9 % ($P \leq 0,05$) и условно эссенциальных никеля на 66,7 % ($P \leq 0,05$). В III опытной группе уровень хрома был достоверно выше в 2 раза ($P \leq 0,05$) относительно контроля.

Во всех опытных группах зафиксировано достоверное уменьшение содержания цинка на 3,8 % ($P \leq 0,05$), 4,2 % ($P \leq 0,05$), 5,7 % ($P \leq 0,05$), селена на 13,3 % ($P \leq 0,05$), 13,3 % ($P \leq 0,05$), 20 % ($P \leq 0,05$) и йода на 16,7 % ($P \leq 0,05$), 33,3 % ($P \leq 0,05$), 16,7 % ($P \leq 0,05$) относительно контрольных значений.

Анализ содержания токсических элементов в мышечной ткани не выявил негативного воздействия на рыб, лишь в I и III опытной группе зафиксировано повышение уровня алюминия на 35,6 % ($P \leq 0,05$) и 38,8 % ($P \leq 0,05$) относительно контрольных значений (таблица 22).

Таблица 22 – Содержание токсических элементов в мышечной ткани карпов, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Al	1,6 ± 0,16	2,17 ± 0,24*	1,02 ± 0,11	2,22 ± 0,21*
Sr	0,75 ± 0,096	0,51 ± 0,068*	1,47 ± 0,15*	0,71 ± 0,086
Pb	0,03 ± 0,005	0,01 ± 0,001**	0,02 ± 0,002	0,03 ± 0,004
Hg	0,04 ± 0,004	0,04 ± 0,009	0,03 ± 0,007	0,03 ± 0,008
As	0,01 ± 0,002	0,01 ± 0,001	0,01 ± 0,001	0,01 ± 0,002
Sn	0,004 ± 0,0001	0,005 ± 0,0008	0,004 ± 0,0007	0,004 ± 0,0008
Cd	0,001 ± 0,0002	0,001 ± 0,0003	0,0006 ± 0,00019	0,001 ± 0,0003

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

При включении в рацион рыб только аминокислот (II опытная группа) выявлено повышение содержания стронция в 2 раза ($P \leq 0,05$).

В I опытной группе обнаружено понижение содержания стронция на 32 % ($P \leq 0,05$) и свинца на 66,7 % ($P \leq 0,01$).

Разница по уровню накопления микроэлементов в мышечной ткани рыб I, II и III опытных групп относительно контрольных значений отражена на рисунках 8-10.

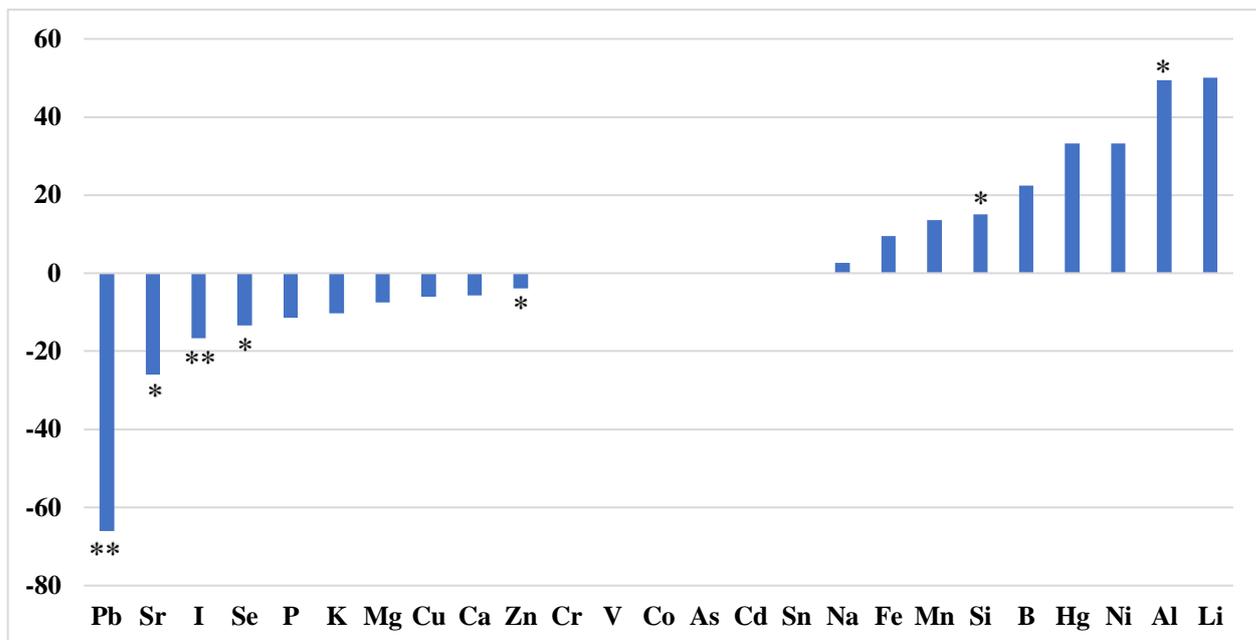


Рисунок 8 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб I опытной группы относительно контрольных значений, %

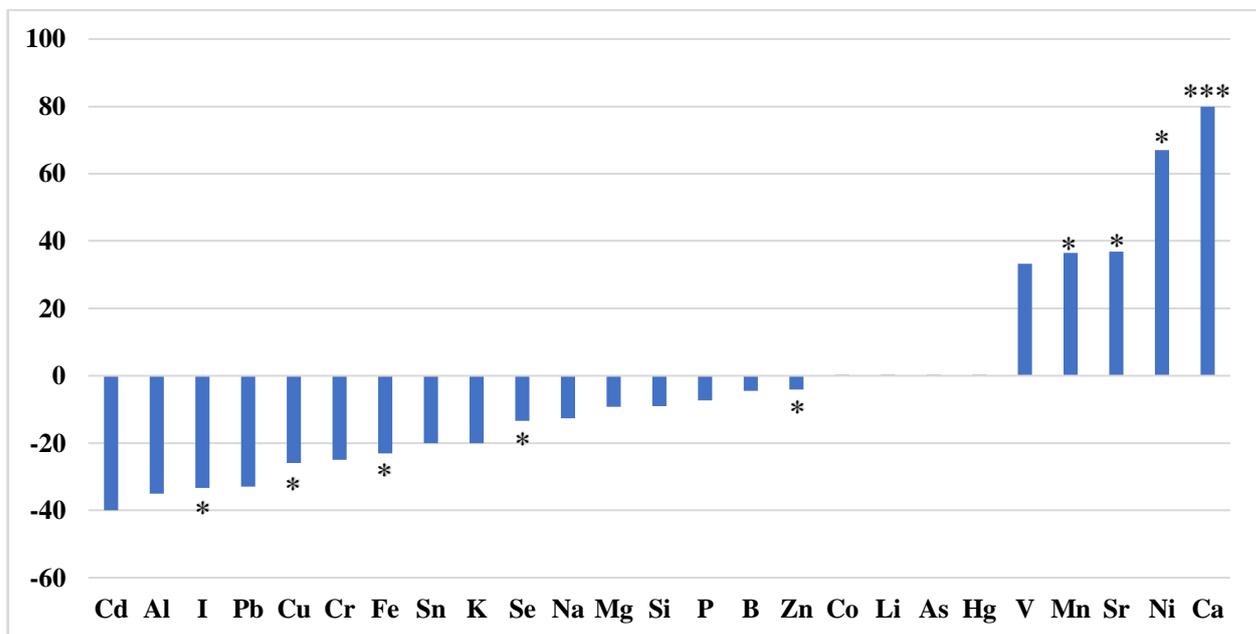


Рисунок 9 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб II опытной группы относительно контрольных значений, %

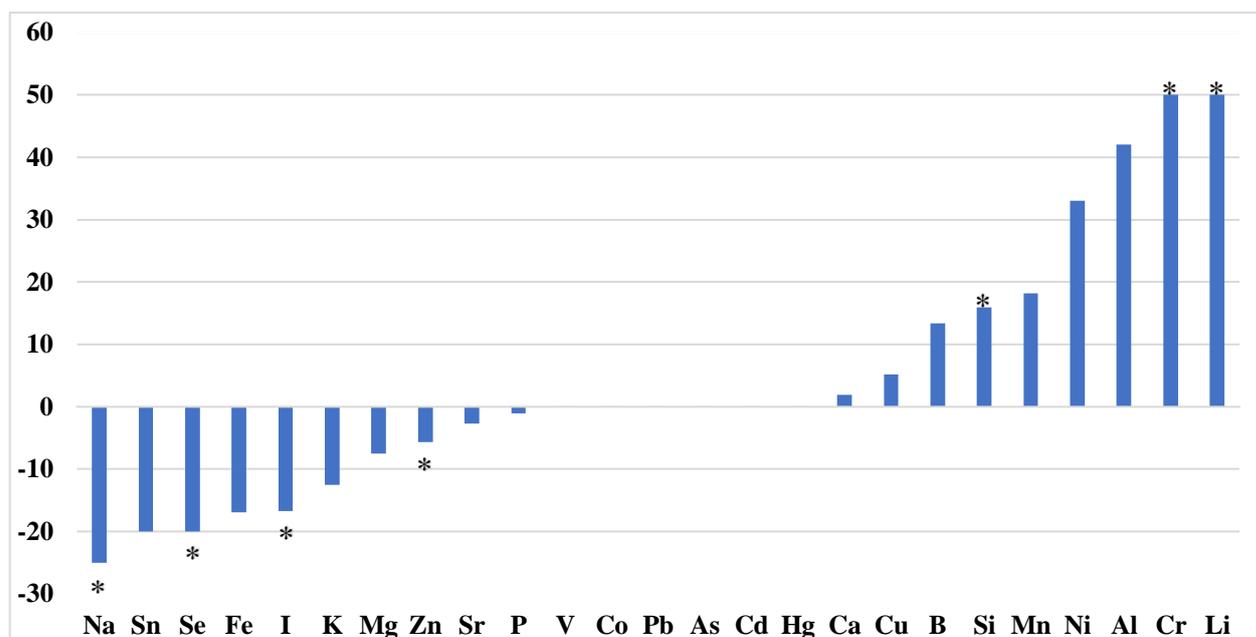


Рисунок 10 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб III опытной группы относительно контрольных значений, %

2.3.2.7 Таксономический состав микробиома кишечника рыбы

Микробиом кишечника позвоночных играет важную роль в здоровье хозяина, стимулируя развитие иммунной системы, помогая усваивать питательные вещества и подавляя условно-патогенные микроорганизмы (Tarnecki A.M. et al., 2017). Использование современных технологий секвенирования позволяет изучать изменения сообществ микроорганизмов внутри микробиома при скармливании объектам исследований различных кормовых добавок.

По данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа, установлено широкое разнообразие кишечной микробиоты. Выявлены представители бактериальных филумов *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Campilobacterota*, *Deinococcus_Thermus*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Verrucomicrobia* и неклассифицированные представители *Bacteria*. Во всех образцах доминировали представители филумов

Fusobacteria и *Proteobacteria*. Доля *Fusobacteria* составляла от 12,82 до 51,01%, доля *Proteobacteria* колебалась в пределах 38,37-86,53% (рисунок 11).

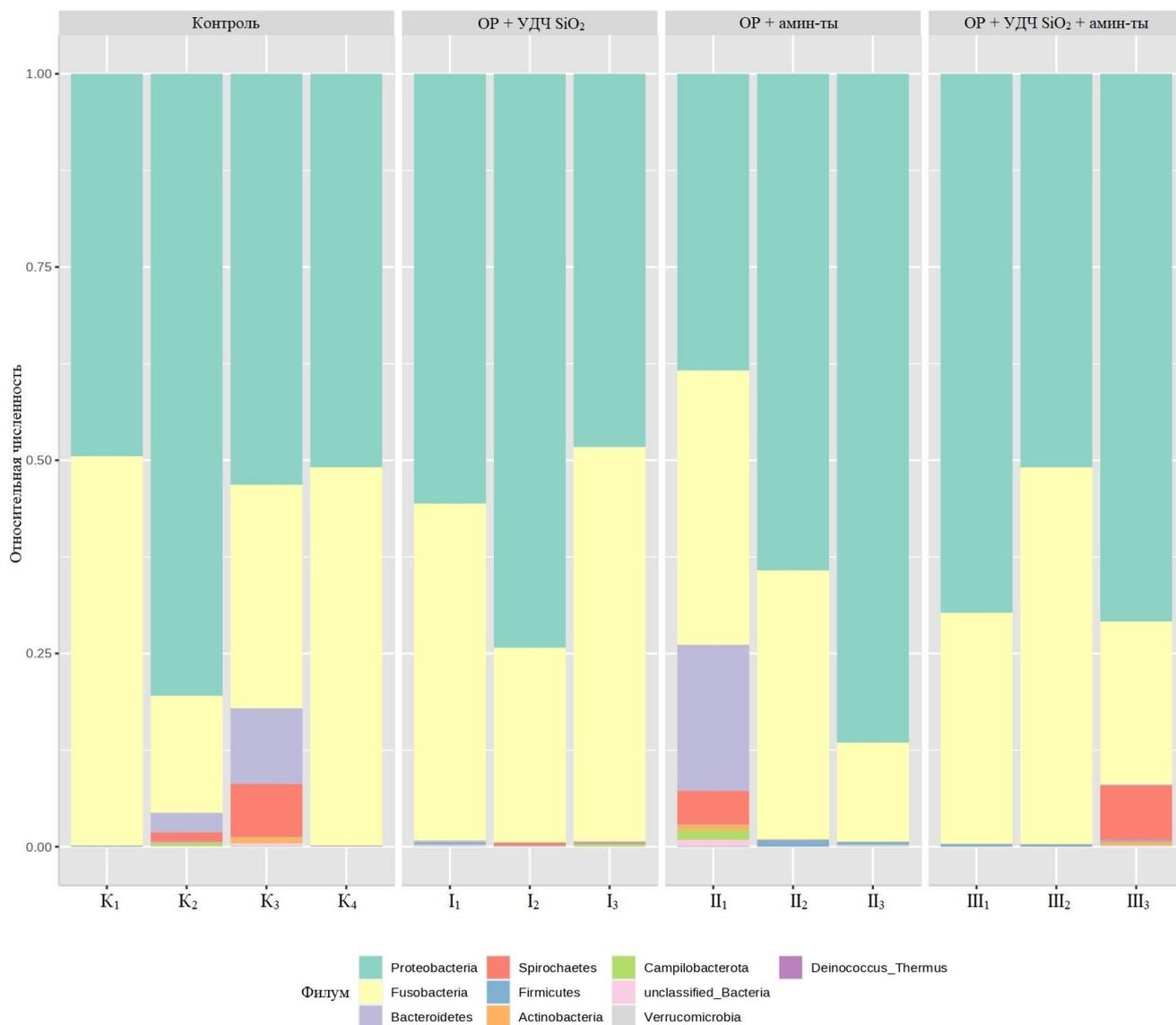


Рисунок 11 – Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне филума

Добавление в рацион карпа частиц кремния и аминокислот как по отдельности, так и в комбинации, не влияло существенно на соотношение бактериальных таксонов в микробиоте карпа на уровне филума (рисунок 12) и классов (рисунок 13).

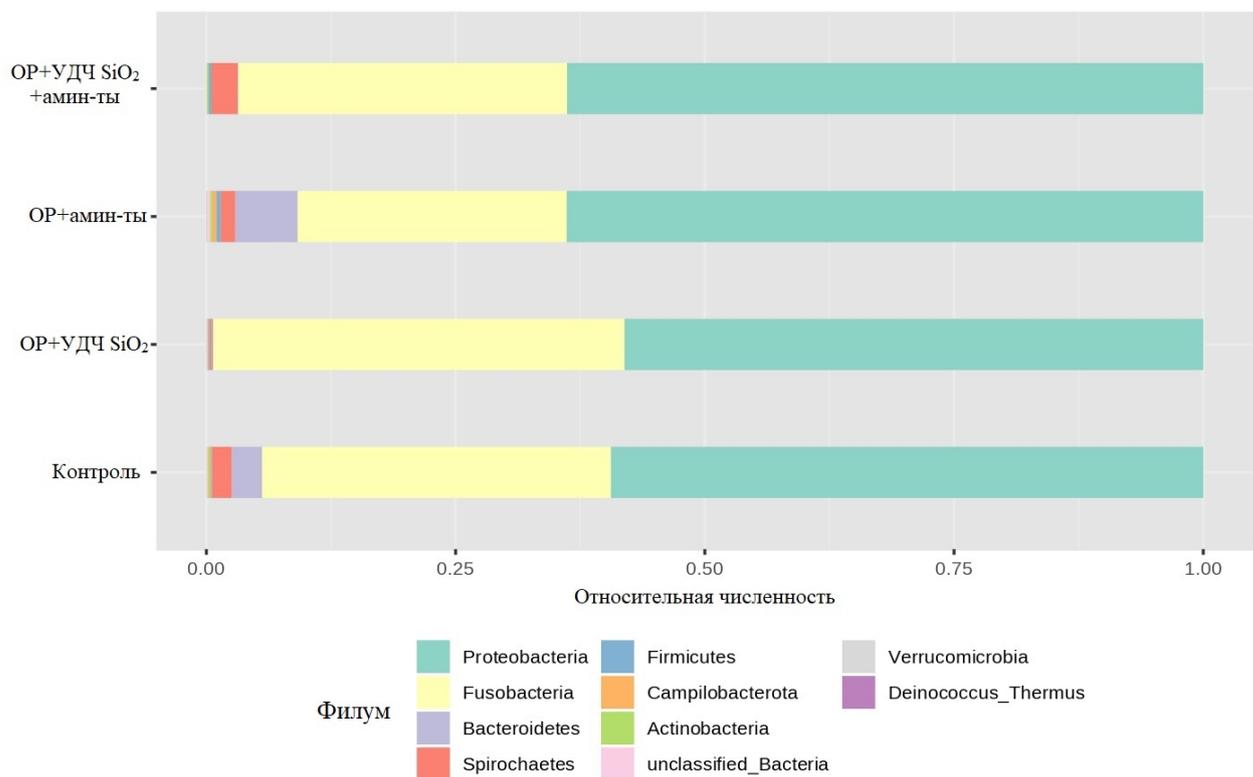


Рисунок 12 – Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне филума

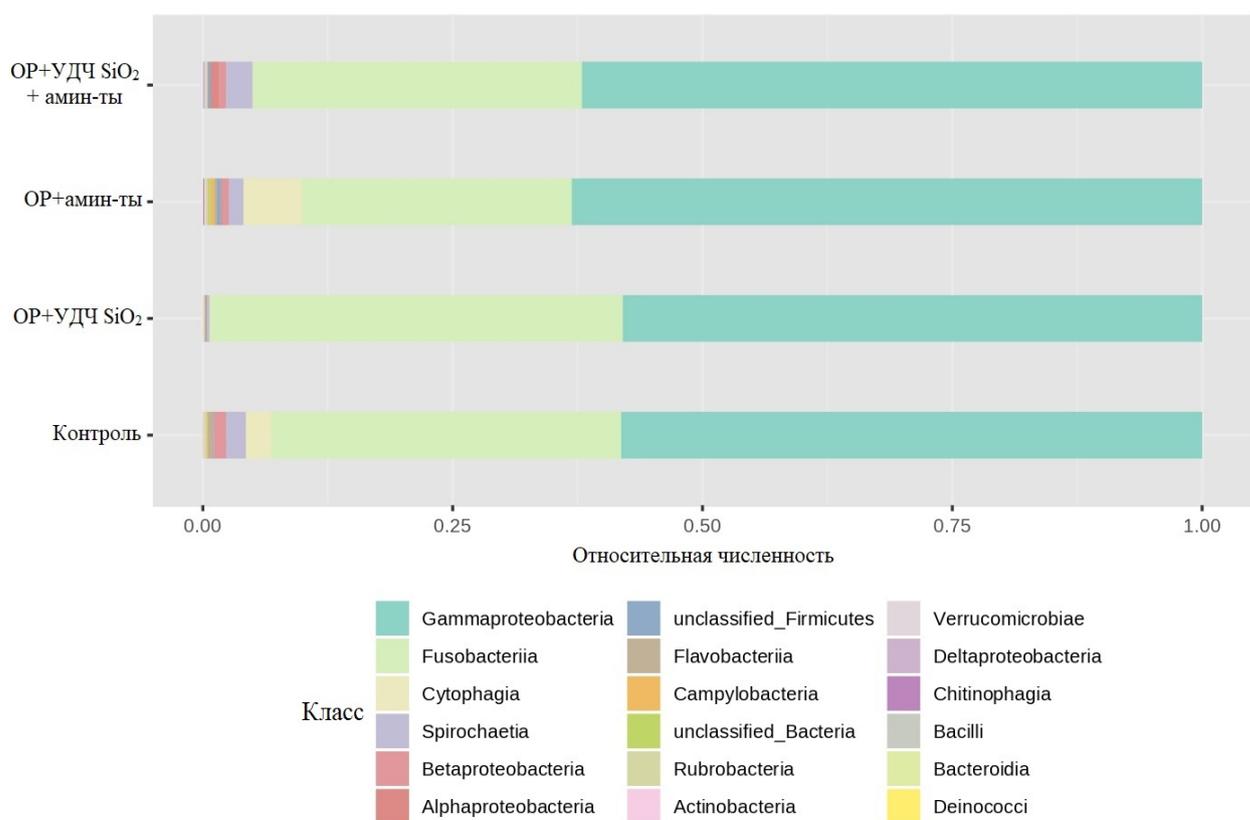


Рисунок 13 – Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне класса

В то же время при добавлении в рацион аминокислот наблюдалось выраженное уменьшение доли бактерий семейства *Vibrionaceae* рода *Vibrio*, и увеличение доли бактерий семейства *Aeromonadaceae* рода *Aeromonas* (рисунок 14, 15).

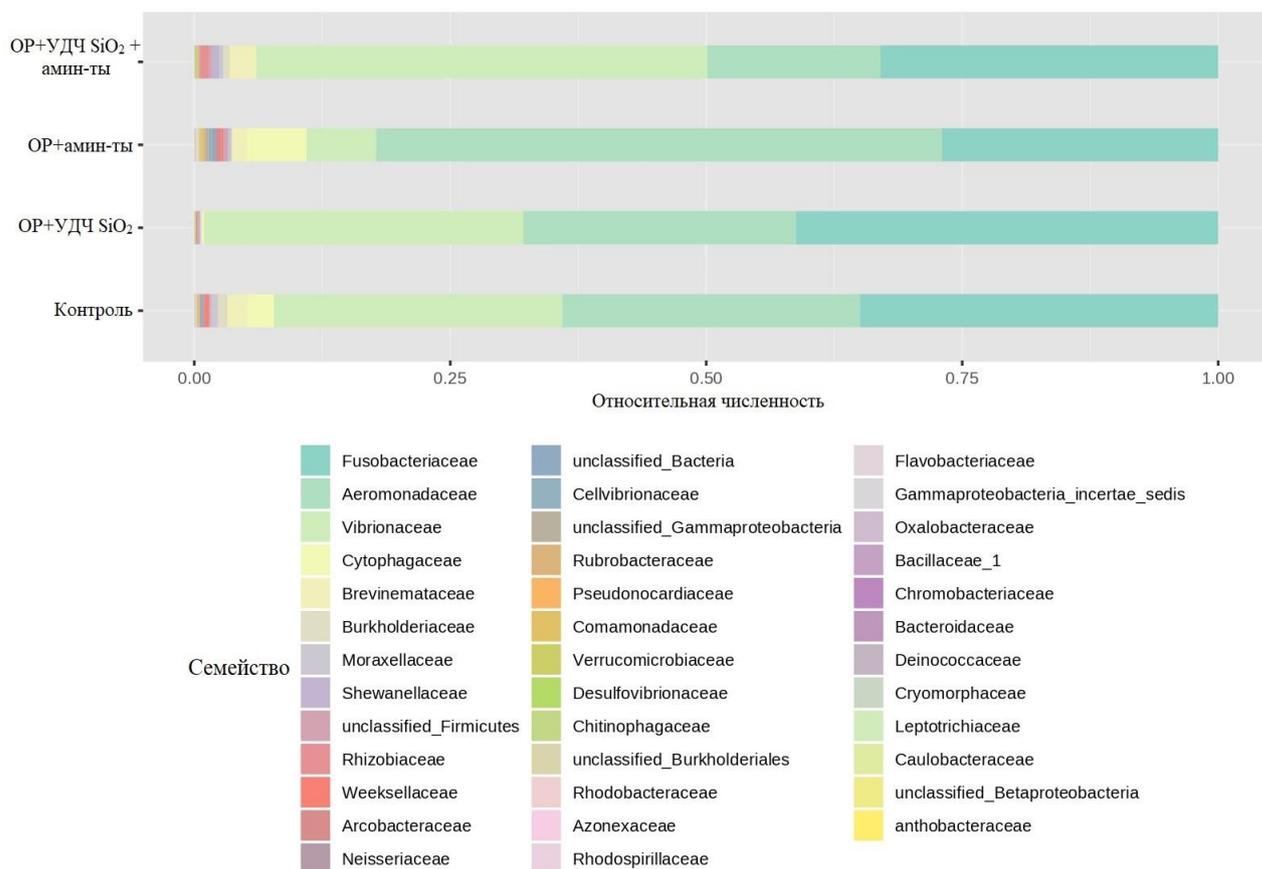


Рисунок 14 – Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне семейства

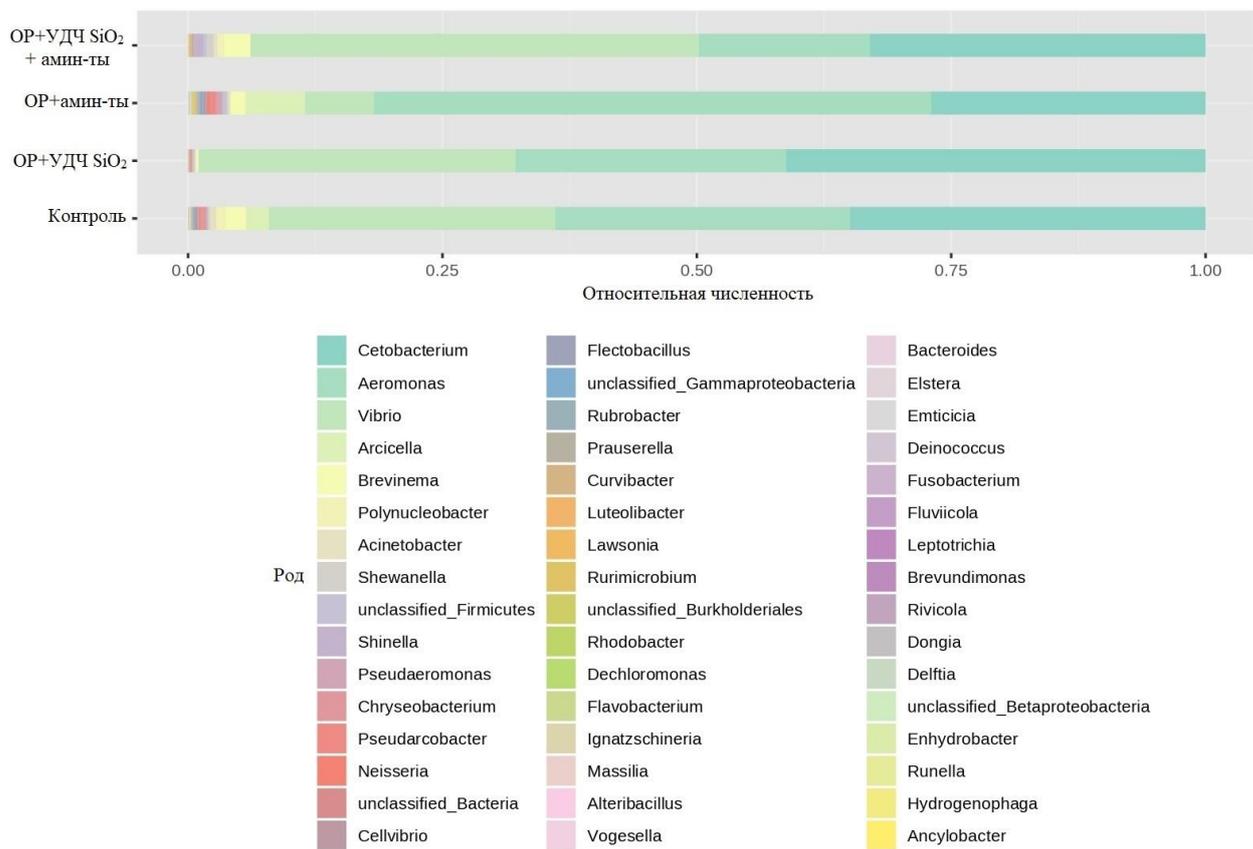


Рисунок 15 – Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне рода

При анализе альфа-разнообразия выявлено, что добавление в рацион карпа ультрадисперсных частиц оксида кремния и аминокислот как по отдельности, так и в комбинации, не оказывало существенного воздействия на индексы разнообразия кишечной микробиоты Чжао1 (рисунок 16), Шеннона (рисунок 17) и Симпсона (рисунок 18).

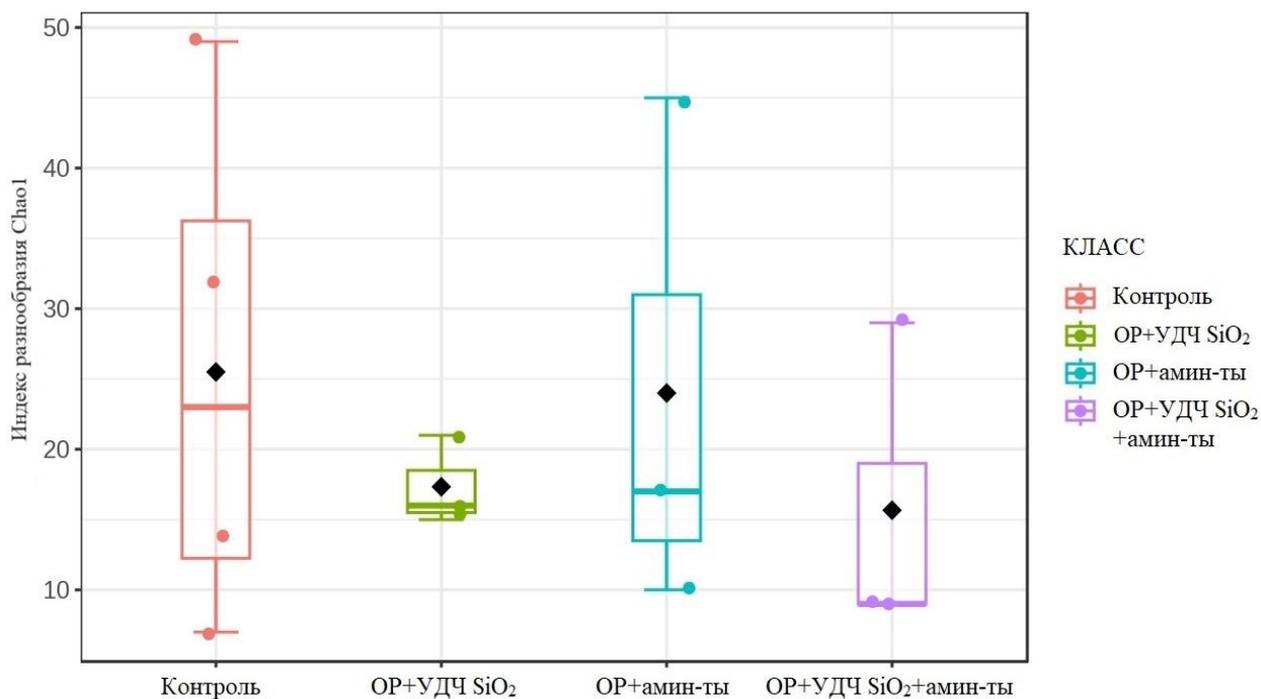


Рисунок 16 – Индекс разнообразия кишечной микробиоты Шао1

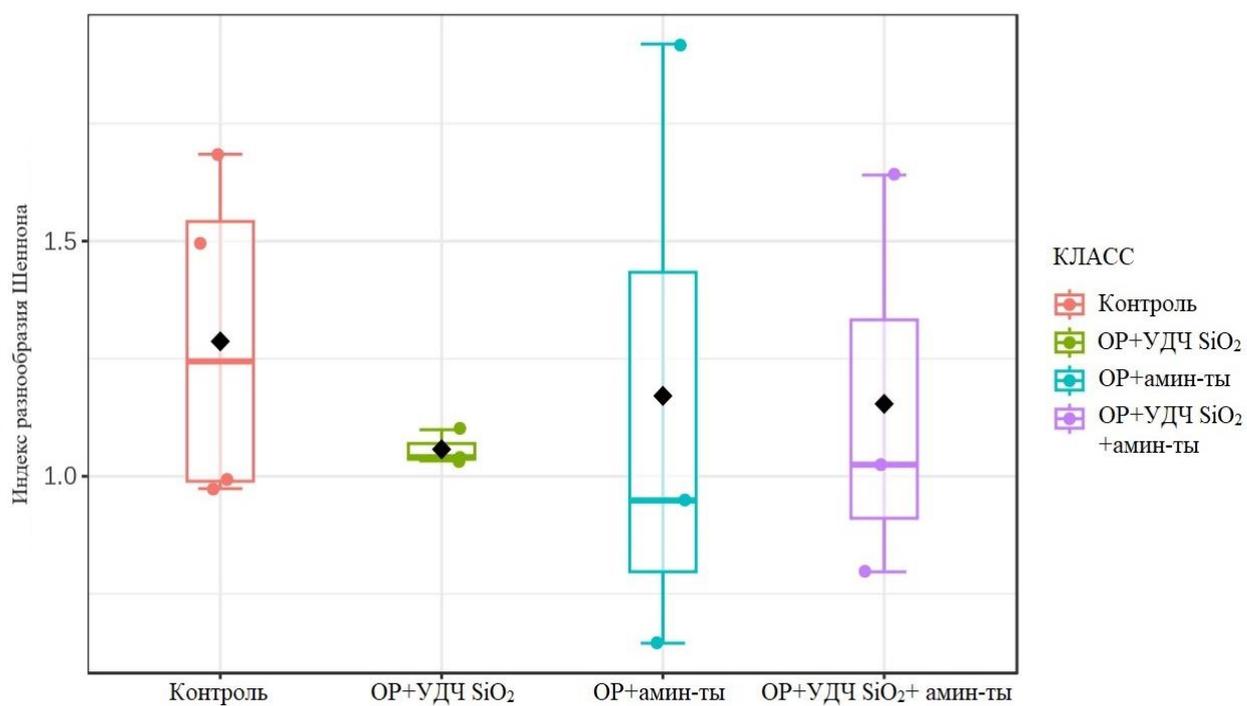


Рисунок 17 – Индекс разнообразия кишечной микробиоты Шеннона

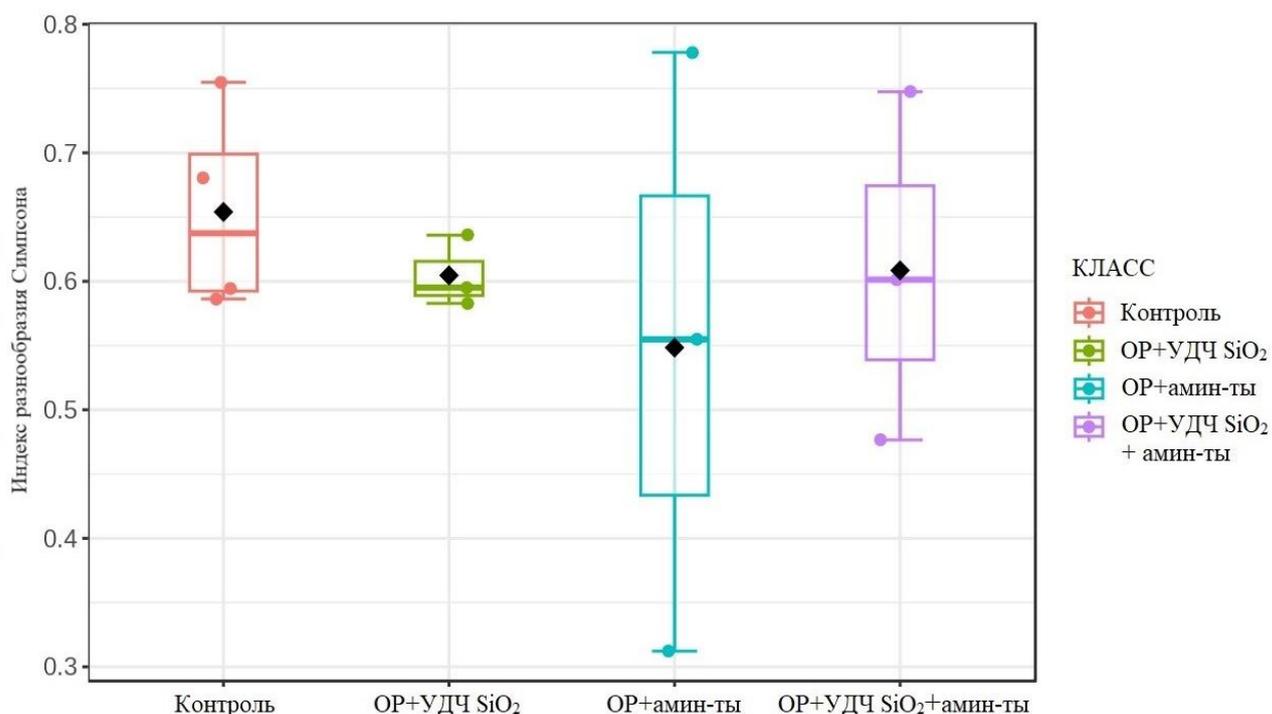


Рисунок 18 - Индекс разнообразия кишечной микробиоты Симпсона

Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса подтвердил отсутствие значимых различий между опытными и контрольными образцами. Действительно, точки, соответствующие разным образцам, не формировали отдельных кластеров, изолированных друг от друга, а располагались неупорядоченно на 2D диаграмме ординации (рисунок 19).

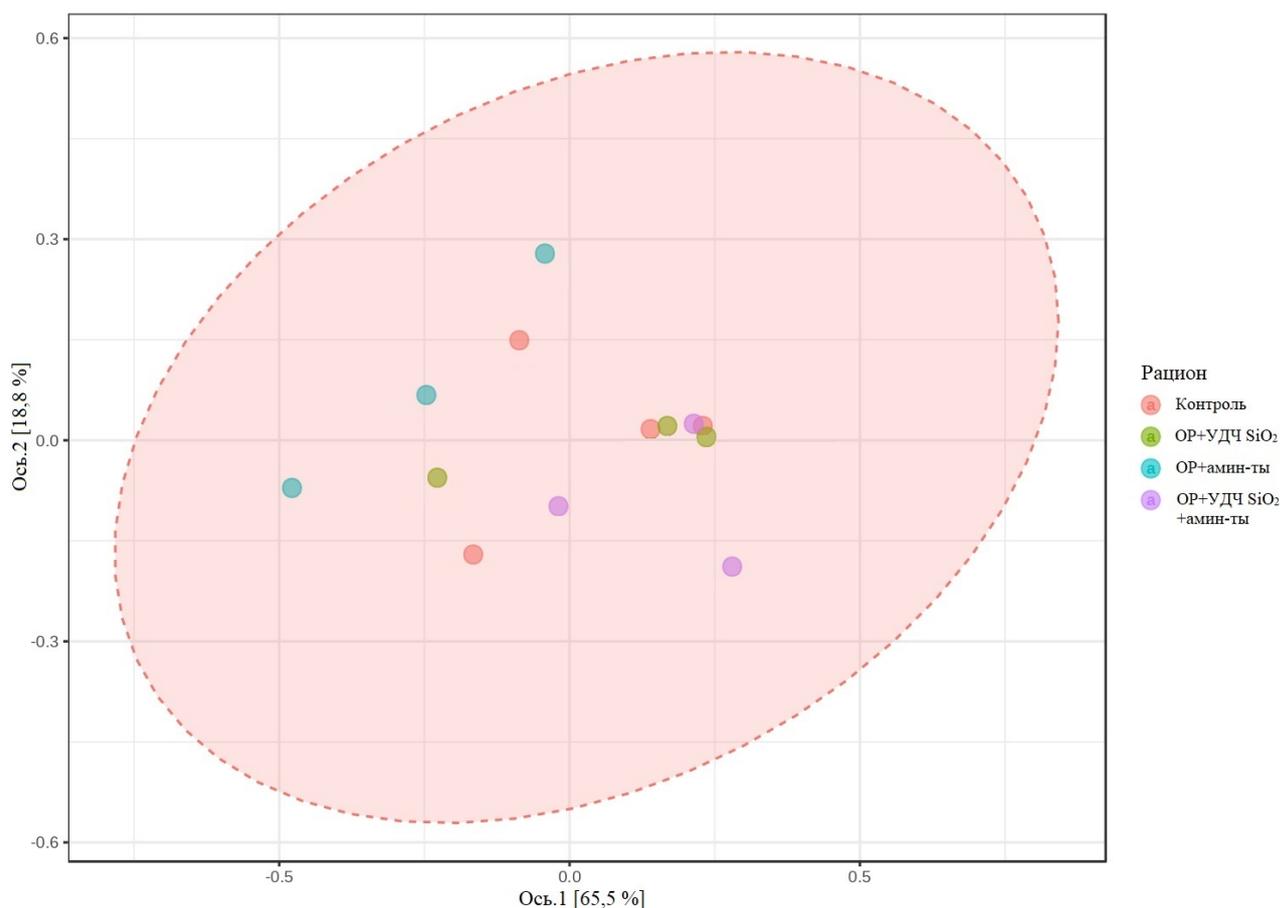


Рисунок 19 – Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса

Таким образом, по данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа, не установлено существенного изменения кишечной микробиоты при добавлении в рацион ультрадисперсных частиц оксида кремния и аминокислот как по отдельности, так и в комбинации. Единственным изменением, которое тем не менее не было статистически значимым, являлось уменьшение доли бактерий семейства *Vibrionaceae* рода *Vibrio*, и увеличение доли бактерий семейства *Aeromonadaceae* рода *Aeromonas* при добавлении в рацион карпа аминокислот.

2.3.2.8 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбой

В I опытной группе зафиксирована самая высокая эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы, где коэффициент конверсии протеина составлял 29,17 % и обменной энергии 14,99 % относительно контроля (таблица 23).

Таблица 23 – Эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы, %

Группа	Коэффициент конверсии	
	протеин	обменная энергия
Контрольная	27,54	13,86
I опытная	29,17	14,99
II опытная	28,0	13,64
III опытная	28,5	11,72

2.3.2.9 Резюме по итогам II экспериментального исследования

Во II экспериментальном исследовании нами были подтверждены результаты I исследования - введение в рацион УДЧ SiO₂ в количестве 200 мг/кг корма сопровождается достоверным повышением интенсивности роста карпа. Так, за период эксперимента использование в кормлении препарата УДЧ диоксида кремния позволило повысить прирост живой массы карпов на 13,7 % ($P \leq 0,05$). В то же время наша гипотеза, основанная на ранее проведенных коллегами исследованиях (Яушева Е.В., 2016) о ростостимулирующем действии дополнительного включения в рацион комплекса аминокислот на фоне дачи ультрадисперсного препарата металлов во II экспериментальном исследовании, не подтвердилась.

Включение аминокислот (аргинин, лизин и метионин) как отдельно, так и сочетано с УДЧ, оказал влияние на аминокислотный состав печени карпа. В частности, во всех опытных группах отмечена положительная динамика

увеличения концентрации исследуемых аминокислот в печени подопытной рыбы относительно контроля. Понижение концентрации треонина была отмечено лишь для группы с УДЧ SiO₂.

Введение УДЧ SiO₂ отразилось на элементном статусе карпа, в первую очередь на обмене токсических элементов. Так включение в основной рацион УДЧ SiO₂ в дозировке 200 мг/кг корма сопровождалось снижением содержания стронция на 32 % и свинца на 66,7 %. Причем мы констатировали и падение величин элементов антагонистов – цинка, селена и йода.

По данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа, не установлено существенного изменения кишечной микробиоты при добавлении в рацион ультрадисперсных частиц кремния и аминокислот как по отдельности, так и в комбинации. Единственным изменением, которое тем не менее не было статистически значимым, являлось уменьшение доли бактерий семейства *Vibrionaceae* рода *Vibrio*, и увеличение доли бактерий семейства *Aeromonadaceae* рода *Aeromonas* при добавлении в рацион карпа аминокислот.

В I опытной группе выявлены наибольший коэффициент конверсии протеина 29,17 % и обменной энергии 14,99 % относительно контроля.

Таким образом, на основании полученных результатов мы можем сделать вывод о том, что наибольшей эффективностью характеризовался рацион ОР+УДЧ SiO₂. Учитывая такие особенности протекания обменных процессов в теле рыб как подавление концентрации йода, селена и цинка при введении данной дозировки УДЧ диоксида кремния в основной рацион было проведено следующее экспериментальное исследование.

2.3.3. Результаты III эксперимента по оценке эффективности совместного действия УДЧ SiO₂, солей микроэлементов и пробиотических штаммов *Bifidobacterium* на продуктивность и обмен веществ карпа

2.3.3.1 Корма и кормление подопытной рыбы

В качестве основного рациона использовали комбикорм КРК-110 производства ОАО «Оренбургский комбикормовый завод» (г. Оренбург) (приложение 1).

Для эксперимента методом пар-аналогов были сформированы 4 группы (n=25): контрольная и три опытных. Контрольная группа получала ОР, I опытная группа - ОР + микроэлементы: йод (доза 0,1 мг/кг корма) + селен (0,2 мг/кг) + цинк (1,36 мг/кг); II опытная - ОР + УДЧ SiO₂ (доза 200 мг/кг корма) + пробиотик Бифидобиом (доза 0,7 мг/кг корма); III опытная - ОР + УДЧ SiO₂ (200 мг/кг) + пробиотик Бифидобиом (0,7 мг/кг) + микроэлементы: йод (0,1 мг/кг) + селен (0,2 мг/кг) + цинк (1,36 мг/кг).

2.3.3.2 Рост и развитие подопытной рыбы

В ходе исследований установлено, что включение в рацион рыб микроэлементов (Zn, Se, I) не отразилось на интенсивности роста карпа, достоверных различий относительно контроля не выявлено (рисунок 20).

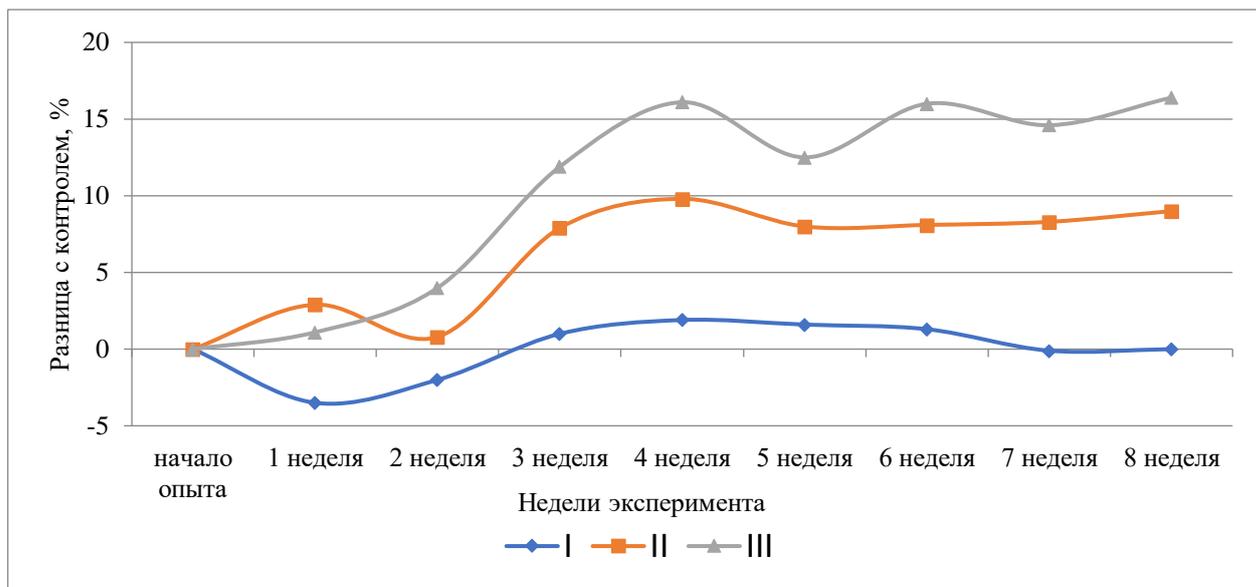


Рисунок 20 - Разница живой массы рыб опытных групп по сравнению с контрольной, %

В то же время включение в рацион препарата УДЧ SiO₂ совместно с пробиотиком Бифидобиом сопровождалось достоверным ростом живой массы подопытной рыбы (таблица 24).

Таблица 24 - Динамика живой массы рыбы, г

Неделя	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Начало опыта	50,3 ± 2,3	50,2 ± 2,9	50,7 ± 2,8	50,4 ± 2,9
1	54,1 ± 3,1	52,2 ± 3,6	55,7 ± 3,0	54,7 ± 3,2
2	59,4 ± 3,2	58,1 ± 3,6	59,9 ± 3,6	61,8 ± 4,0
3	62,0 ± 6,3	62,6 ± 3,7	66,9 ± 4,2*	69,4 ± 5,3*
4	64,1 ± 5,7	65,3 ± 3,5	70,4 ± 4,0*	74,4 ± 6,5**
5	75,2 ± 7,5	76,4 ± 4,5	81,2 ± 5,9*	84,6 ± 8,0**
6	85,5 ± 9,5	86,6 ± 5,9	92,4 ± 6,6*	99,2 ± 9,2**
7	96,8 ± 10,6	96,7 ± 7,3	104,8 ± 9,6*	110,9 ± 11,7**
8	107,3 ± 11,5	107,3 ± 7,6	116,9 ± 10,1*	124,9 ± 11,8**

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; **P≤0,01.

Так, начиная с третьей недели эксперимента во II опытной группе отмечено достоверное увеличение массы карпа относительно контроля – на 7,9 % ($P \leq 0,05$), на четвертой – на 9,8 % ($P \leq 0,05$), на пятой - на 8 % ($P \leq 0,05$), на шестой – на 8,1 % ($P \leq 0,05$), на седьмой - на 8,3 % ($P \leq 0,05$) и на восьмой – на 9 % ($P \leq 0,05$).

Между тем, наибольшую динамику роста мы установили при введении в кормовой рацион рыб препарата УДЧ оксида кремния совместно с пробиотиком Бифидобиом и микроэлементами (Zn, Se, I). Так, начиная с третьей недели эксперимента отмечено достоверное увеличение массы подопытной рыбы относительно контроля. Данный эффект сохранился вплоть до конца эксперимента: на третьей неделе – на 11,9 % ($P \leq 0,05$), на четвертой – на 16,1 % ($P \leq 0,01$), на пятой - на 12,5 % ($P \leq 0,01$), на шестой – на 16,0 % ($P \leq 0,01$), на седьмой - на 14,6 % ($P \leq 0,01$) и на восьмой – на 16,4 % ($P \leq 0,01$). Относительный прирост в III опытной группе был выше контроля на 34,5 % (таблица 25).

Таблица 25 - Показатели прироста и сохранность рыб

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Абсолютный прирост, г	57,0	57,1	66,2	74,5
Относительный прирост, %	113,3	113,7	130,6	147,8
Среднесуточный прирост, г	1,0	1,0	1,2	1,3
Сохранность, %	100	100	100	100

Таким образом наша гипотеза об усилении совместного действия пробиотика, препарата ультрадисперсных частиц диоксида кремния и микроэлементов, лимитируемых при использовании выше приведенной диеты, подтвердилась.

2.3.3.3 Морфологический и биохимический состав крови рыб

В ходе анализа морфологических показателей крови рыб зафиксировано повышение содержания гемоглобина во всех опытных группах относительно контроля на 6,9-16,2 % ($P \leq 0,05$). При этом уровень эритроцитов был выше контроля лишь во II опытной группе на 43,9 % ($P \leq 0,01$) (таблица 26).

Таблица 26 - Морфологический состав крови карпа

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Гемоглобин, г/л	132,3±3,1	141,3±3,4*	152±7,8*	153,7 ±7,1*
Эритроциты, $10^{12}/л$	0,41±0,03	0,41±0,06	0,59±0,04**	0,42±0,05
Средний объём эритроцитов, фл	172,3±10,7	181±10,5	174±9,5	166 ±8,5
Ширина распределения эритроцитов, %	55,8±3,6	62,8±3,8	55,7±4,1	65,6±7,3
Гематокрит, %	7,2 ±0,8	7,1 ±0,7	10,2±1,3	6,1 ±0,9
Тромбоциты, $10^9/л$	74,3±12,5	70,6±9,2	69,3±11,0	105±14,6*
Тромбокрит, %	0,03 ± 0,006	0,06 ±0,01*	0,05 ± 0,01	0,07±0,015*
Средний объём тромбоцитов, фл	5,7 ±1,6	8,1±0,4	9,3±0,3*	8,7±0,3*
СОЭ, мм/ч	4,0± 0,57	4,0 ± 0,38	4,0 ± 0,25	4,0 ± 0,48

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Анализ содержания тромбоцитов в крови карпа показал увеличение данных клеток только в III опытной группе на 41,3 % ($P \leq 0,05$) относительно контроля. В то же время средний объём тромбоцитов был выше контроля во II опытной группе на 63,2% ($P \leq 0,05$) и в III опытной группе – на 52,6 % ($P \leq 0,05$), а показатель тромбокрита был выше контроля в I и III опытных группах в 2 и 3,3 раза соответственно.

Количество лейкоцитов, средний объём эритроцитов, ширина распределения эритроцитов, гематокрит и уровень лимфоцитов во всех опытных группах не имели достоверных различий и были приближены к контрольным значениям. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) во всех группах находилось на одном уровне – 4 мм/ч.

Биохимический анализ крови выявил более существенные изменения показателей опытных групп относительно контрольных значений (таблица 27). В опытных группах отмечено увеличение уровня глюкозы на 24,4-56,5 % ($P \leq 0,001$) относительно контроля. При этом повышение общего белка установлено только в III опытной группе – на 27,6 % ($P \leq 0,05$).

Таблица 27 - Биохимический состав сыворотки крови карпа

Показатель	Группа			
	контроль	опытная		
		I	II	III
Глюкоза, ммоль/л	4,02 ± 0,17	5,0±0,21**	5,54±0,23**	6,29± 0,31***
Общий белок, г/л	27,5±2,5	31,9±2,0	22,54±1,6	35,1±2,2*
Билирубин общий, мкмоль/л	0,92 ± 0,09	3,39±0,45**	5,0±1,0**	1,95±0,4*
Альбумин, г/л	9,3 ± 0,6	9,3 ± 1,0	10 ± 0,6	8,7 ± 1,2
Триглицериды, ммоль/л	2,02 ± 0,2	3,4±0,45**	2,16± 0,17	2,03±0,3
Холестерин, ммоль/л	3,0 ± 0,35	2,89± 0,38	2,58± 0,44	2,44 ± 0,52
Креатинин, мкмоль/л	76,4 ± 4,5	76,4 ± 6,7	71,4 ± 5,0	80,2 ± 8,9
АЛТ, Ед/л	165,3± 9,1	196,3± 11,1*	206,9± 8,3*	154,4 ± 9,5
АСТ, Ед/л	420,3±20,5	431,9± 14,1	357,7± 22,3*	348,3± 16,7*
Мочевина, ммоль/л	2,6± 0,2	3,3± 0,27*	3,3±0,25*	3,7 ± 0,31*
Мочевая кислота, мкмоль/л	199± 22,5	246,3± 22,7	297± 30,05*	114,7± 18,8*
Фосфор, ммоль/л	6,4±0,15	5,42±0,22**	7,23± 0,20**	6,5±0,20
Магний, ммоль/л	1,66 ± 0,15	1,18 ± 0,21	1,3 ± 0,25	1,21 ± 0,26
Кальций, ммоль/л	3,7±0,2	3,6±0,2	3,7± 0,15	3,7±0,15

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Наряду с этим, в опытных группах выявили повышение концентрации общего билирубина и мочевины относительно контрольных значений в 2,2-5,4 раза и на 26,9-42,3 % соответственно. Увеличение мочевой кислоты зафиксировано только во II опытной группе на 49 % ($P \leq 0,05$) относительно контроля.

Уровень триглицеридов был достоверно выше контроля лишь в I опытной группе на 68,3 % ($P \leq 0,01$).

Анализ трансаминаз установил увеличение активности АЛТ в I группе на 18,75 % ($P \leq 0,05$) и во II опытной группе – на 25,2 % ($P \leq 0,05$) и снижение активности АСТ во II опытной группе на 85,1 % ($P \leq 0,05$) и в III опытной группе – на 82,9 % ($P \leq 0,05$) относительно контрольных значений.

Анализ минеральных компонентов сыворотки крови выявил снижение концентрации фосфора в I опытной группе на 15,3 % ($P \leq 0,01$), но повышение во II опытной группе на 12,9 % ($P \leq 0,01$) относительно контроля.

2.3.3.4 Химический состав мышечной ткани рыб

Анализируя химический состав мышечной ткани подопытных рыб нами, было выявлено незначительное понижение сухого вещества в III группе относительно контроля на 1,06 % и повышение содержания влаги на 1,06 %. (таблица 28).

Таблица 28 - Химический состав мышечной ткани рыб, %

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Сухое вещество	21,42 ± 1,5	21,27 ± 1,75	21,69 ± 1,6	20,36 ± 1,55
Вода	78,58 ± 3,4	78,73 ± 2,1	78,31 ± 2,3	79,64 ± 2,8
Протеин	18,41 ± 0,76	18,45 ± 0,55	18,90 ± 0,6	17,61 ± 0,65
Жир	2,03 ± 0,16	1,84 ± 0,12	1,81 ± 0,14	1,77 ± 0,14
Зола	0,98 ± 0,02	0,98 ± 0,02	0,98 ± 0,04	0,98 ± 0,03

Понижение содержание протеина также было отмечено в III опытной группе на 0,8 %. Уменьшение концентрации жира было отмечено во всех опытных группах относительно контроля на 0,19 %, 0,22 % и 0,26 %, соответственно

2.3.3.5 Особенности элементного состава мышечной ткани рыб

Анализ содержания макроэлементов в мышечной ткани не выявил достоверных различий между группами, за исключением содержания Са. Так, в I опытной группе установлено достоверное повышение концентрации Са на 62,9% ($P \leq 0,05$), во II на 82,3 % ($P \leq 0,01$) и в III группе на 36,4 % ($P \leq 0,05$) (таблица 29).

Таблица 29 – Содержание макроэлементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
К	3443,5 ± 344,3	3943,7 ± 394,4	3815,3 ± 381,5	3540,9 ± 354
Р	2408 ± 240,8	2630,5 ± 263,1	2774,7 ± 277,4	2496 ± 249,6
Na	626,2 ± 62,5	674 ± 67,4	733,1 ± 73,3	689,3 ± 68,9
Са	344,5 ± 34,4	561,3 ± 56,1*	628 ± 62,8**	469,8 ± 46,9*
Mg	264,3 ± 26,4	293,4 ± 29,3	282,7 ± 28,3	269,8 ± 26,9

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Анализ содержания эссенциальных и условно-эссенциальных микроэлементов показал повышение концентрации Fe во всех опытных группах (I, II, III) на 70,7 % ($P \leq 0,01$), 94,5 % ($P \leq 0,01$) и 97,5 % ($P \leq 0,05$), соответственно (таблица 30).

Таблица 30 – Содержание эссенциальных и условно-эссенциальных элементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Zn	11,76 ± 1,176	15,66 ± 1,566*	43,53 ± 5,35***	41,51 ± 4,15***
Fe	5,64 ± 0,57	9,63 ± 0,96**	10,97 ± 1,03**	11,14 ± 1,11*
Si	2,19 ± 0,21	2,24 ± 0,22	2,39 ± 0,24	2,24 ± 0,22
I	1,04 ± 0,103	1,58 ± 0,153**	1,56 ± 0,151**	2,91 ± 0,288***
Cu	0,77 ± 0,071	0,85 ± 0,081	1,13 ± 0,112*	0,92 ± 0,095
B	0,44 ± 0,042	0,64 ± 0,062*	0,82 ± 0,079**	0,49 ± 0,049
Mn	0,235 ± 0,024	0,395 ± 0,039**	0,472 ± 0,047**	0,499 ± 0,05**
Se	0,207 ± 0,021	0,322 ± 0,032**	0,328 ± 0,031**	0,341 ± 0,033**
Cr	0,079 ± 0,0078	0,099 ± 0,0095	0,154 ± 0,016**	0,134 ± 0,0135**
Ni	0,039 ± 0,004	0,026 ± 0,003*	0,066 ± 0,006**	0,075 ± 0,008**
V	0,038 ± 0,003	0,041 ± 0,004	0,043 ± 0,004	0,038 ± 0,003
Li	0,023 ± 0,0013	0,021 ± 0,002	0,047 ± 0,004*	0,026 ± 0,0026
Co	0,0045 ± 0,0004	0,0068 ± 0,0007*	0,0088 ± 0,001**	0,0086 ± 0,0009**

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05; **P≤0,01; ***P≤0,001.

Также наблюдалось повышение содержание цинка на 33,2 % (P≤0,05) в I группе, в 3,7 раз (P≤0,001) во II группе и в 3,5 раз (P≤0,001) в III группе, соответственно. Установлено увеличение количества Си только во II опытной группе на 46,8 % (P≤0,05), относительно контроля. Отмечено повышение содержания В во II и в III опытных группах на 45,4 % (P≤0,05) и 86,4 % (P≤0,01), соответственно. Увеличение содержания хрома было выявлено во II группе на 94,9 % (P≤0,01) и в III опытной группе на 69,6 % (P≤0,01). Концентрация йода выросла во всех опытных группах: в I группе на 51,9 % (P≤0,01), во II группе в 1,5 раза (P≤0,01) и в III группе в 2,8 раза (P≤0,001), соответственно. Содержание Мп увеличилось в I группе на 68 % (P≤0,01), во II группе в 2 раза (P≤0,01) и в III группе в 2,1 раз (P≤0,01), относительно контрольных значений. Установлено повышение содержания Ni во II и в III опытной группе на 69,2 % (P≤0,01) и 92,3 % (P≤0,01), соответственно в отличие от I опытной группы, где было отмечено понижение данного показателя на 33,3 % (P≤0,05). Количество Se увеличилось в

I группе на 55,6 % ($P \leq 0,01$), во II группе на 58,5 % ($P \leq 0,01$) и в III группе на 64,7 % ($P \leq 0,01$). Концентрация кобальта возрасла на 51,1 % ($P \leq 0,05$) в I опытной группе, на 95,6 % ($P \leq 0,01$) во II опытной группе и на 91,1 % ($P \leq 0,01$) в III группе, соответственно. Повышение содержания Li отмечено лишь во II опытной группе в 2 раза ($P \leq 0,05$) относительно контроля.

Анализ содержания токсических элементов показал снижение концентрации алюминия, относительно контроля в I и в III опытной группе на 29,7 % ($P \leq 0,05$) и на 43,1 % ($P \leq 0,05$), соответственно, отмечено повышение содержания данного элемента во II группе на 40,3 % ($P \leq 0,05$) (таблица 31). Установлено повышение содержания кадмия лишь в III опытной группе на 76,2 % ($P \leq 0,05$). Содержание Al и Cd находилось в пределах ПДК и не оказывало негативного воздействия на испытуемых рыб.

Таблица 31 – Содержание токсических элементов в мышечной ткани подопытной рыбы, мкг/г

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		I	II	III
Al	$7,61 \pm 0,76$	$5,35 \pm 0,53^*$	$10,68 \pm 1,07^*$	$4,33 \pm 0,43^*$
Hg	$0,128 \pm 0,016$	$0,147 \pm 0,035$	$0,121 \pm 0,014$	$0,195 \pm 0,039$
As	$0,0278 \pm 0,0028$	$0,0313 \pm 0,0051$	$0,0360 \pm 0,0056$	$0,0354 \pm 0,0054$
Pb	$0,0106 \pm 0,0011$	$0,0179 \pm 0,0039$	$0,0122 \pm 0,0045$	$0,0190 \pm 0,0049$
Sn	$0,0044 \pm 0,0004$	$0,0034 \pm 0,0005$	$0,0059 \pm 0,0009$	$0,0064 \pm 0,0009$
Cd	$0,0021 \pm 0,0003$	$0,0019 \pm 0,0002$	$0,0033 \pm 0,0009$	$0,0037 \pm 0,0008^*$
Be	$0,001 \pm 0,0001$	$0,0008 \pm 0,0001$	$0,0007 \pm 0,0002$	$0,0007 \pm 0,0002$

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: $*P \leq 0,05$.

Разница по величине содержания микроэлементов в мышечной ткани рыб I, II и III опытных групп относительно контрольных значений отражена на рисунках 21-23.

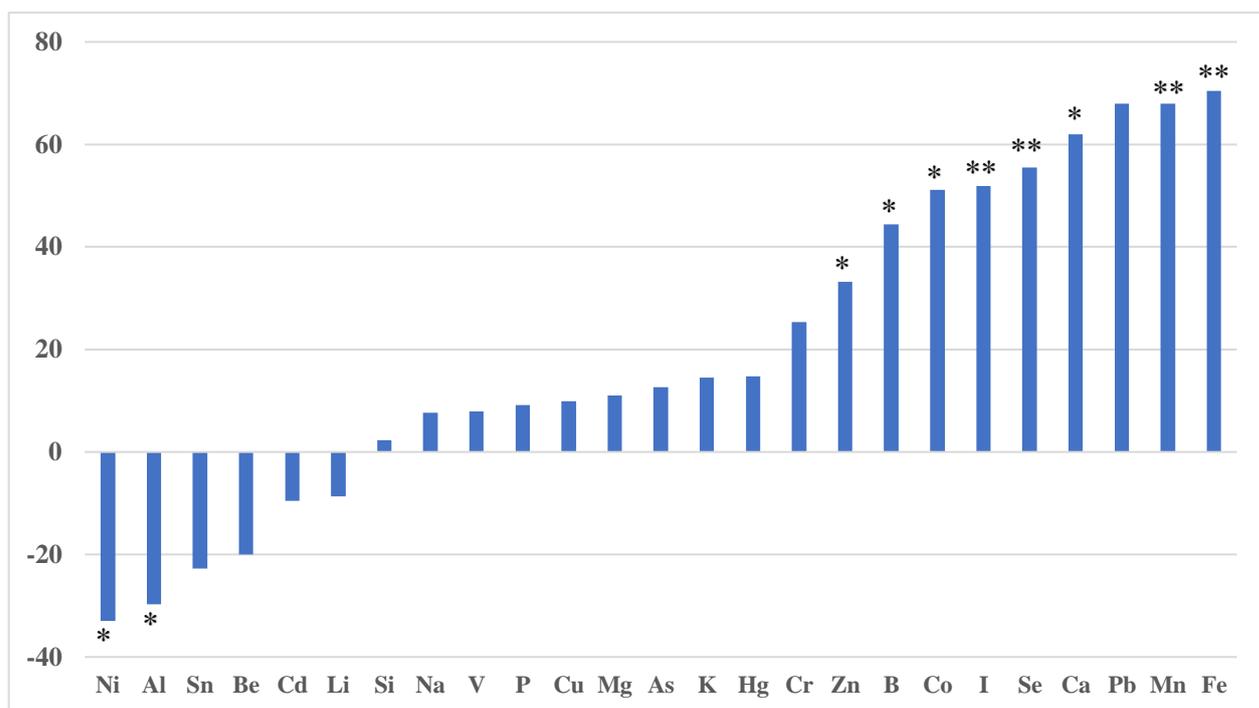


Рисунок 21 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб I опытной группы относительно контрольных значений, %

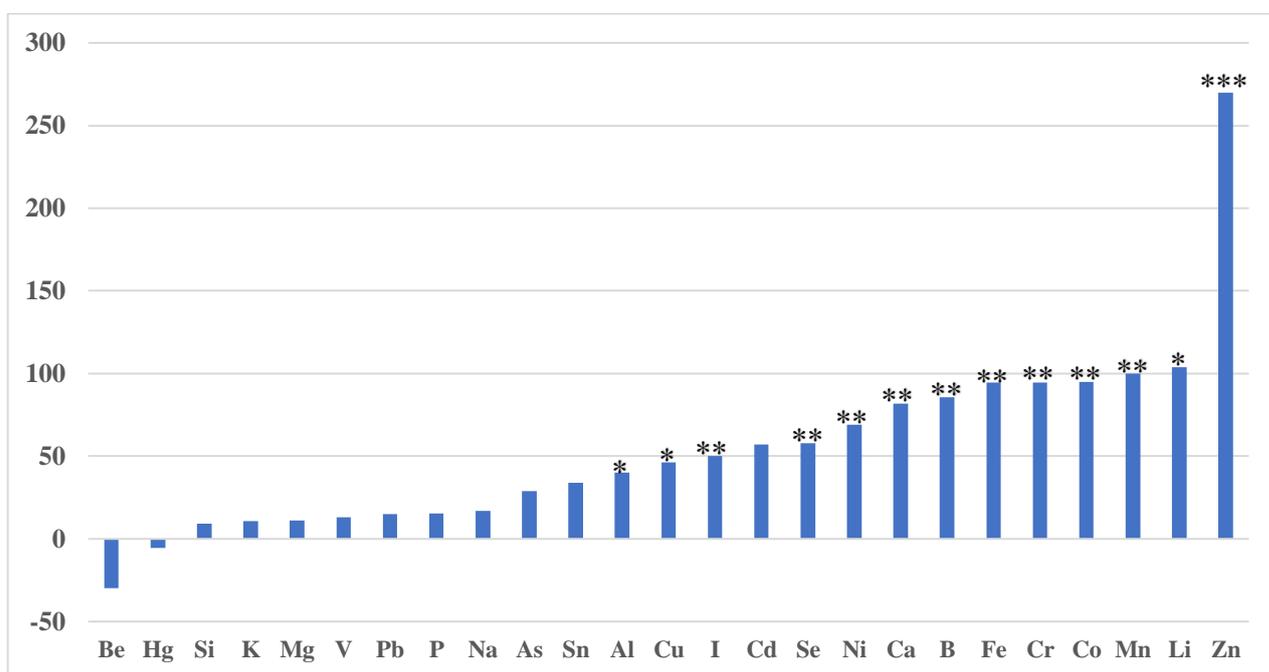


Рисунок 22 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб II опытной группы относительно контрольных значений, %

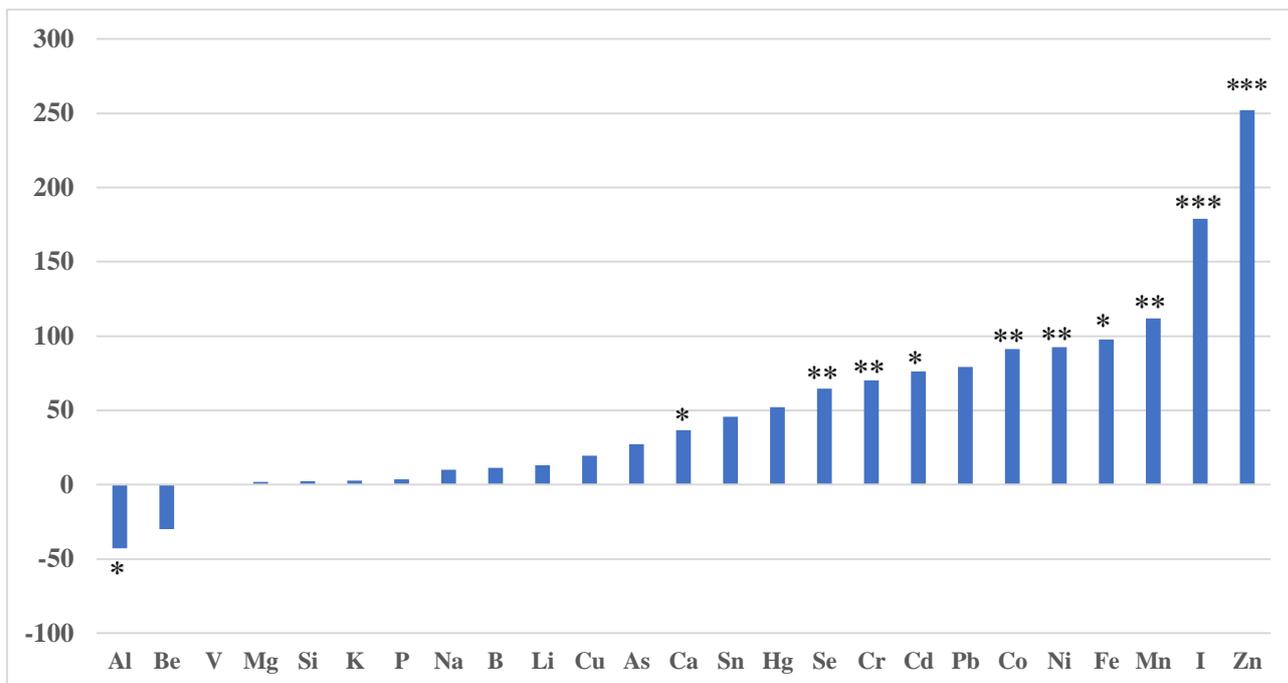


Рисунок 23 – Разница по величине концентраций микроэлементов в мышечной ткани рыб III опытной группы относительно контрольных значений, %

2.3.3.6 Таксономический состав микробиома кишечника рыбы

По данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа контрольной и опытных групп, установлено широкое разнообразие кишечной микробиоты. Выявлены представители бактериальных филумов *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Balneolaeota*, *Campilobacterota*, *Candidatus_Saccharibacteria*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria/Chloroplast*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, и неклассифицированные представители *Bacteria*.

Анализ альфа-разнообразия показал, что добавление в рацион карпа микроэлементов йода, селена и цинка (I опытная группа) не оказывало существенного воздействия на индексы разнообразия кишечной микробиоты Шеннона (рисунок 24) и Симпсона (рисунок 25).

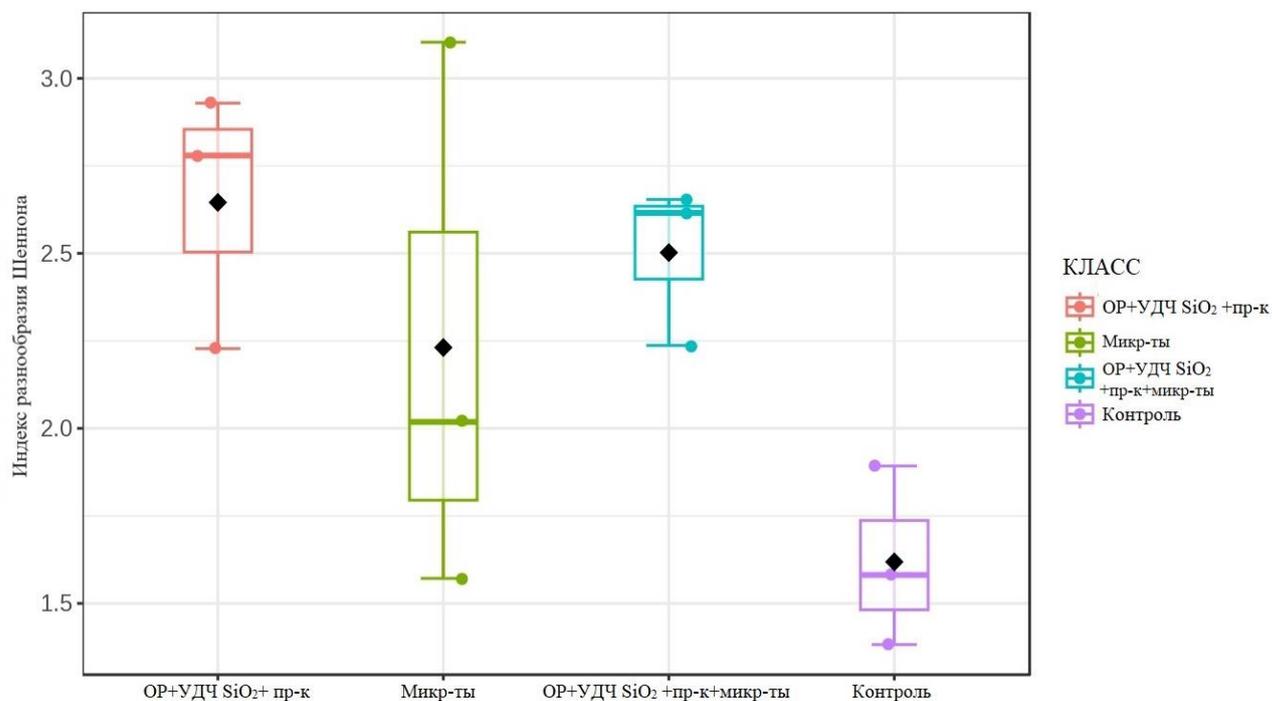


Рисунок 24 - Индекс разнообразия кишечной микробиоты Шеннона

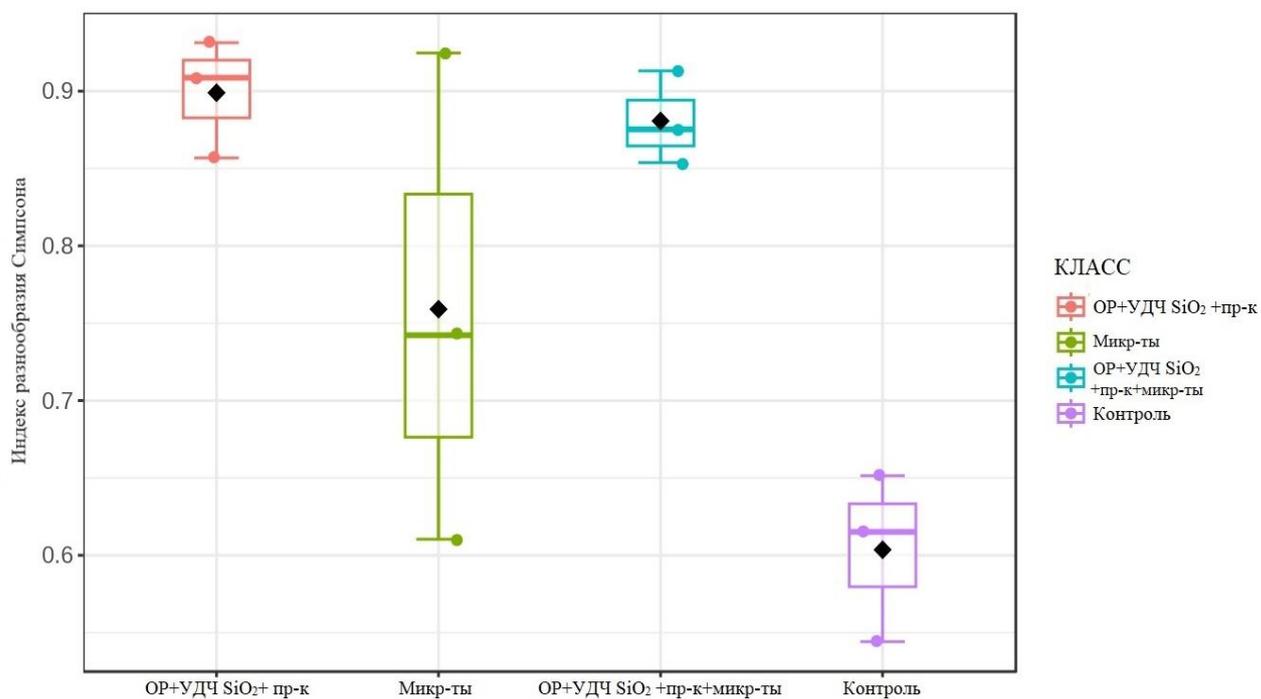


Рисунок 25 - Индекс разнообразия кишечной микробиоты Симпсона

В то же время, добавление в рацион карпа ультрадисперсных частиц кремния с пробиотиком Бифидобиом (II опытная группа), приводило к

существенному увеличению индексов разнообразия кишечной микробиоты: индекса Шеннона до 2,23-2,93 (в контроле – 1,38-1,89) и индекса Симпсона до 0,86-0,93 (в контроле – 0,54-0,65). Также существенно возрастали индексы разнообразия кишечной микробиоты карпа при добавлении в рацион опытных рыб комбинации микроэлементов Zn, Se, I, с частицами кремния и пробиотиком Бифидобиом (III опытная группа). Так, индекс разнообразия Шеннона возрастал до 2,24-2,65 (в контроле – 1,38-1,89), а индекс разнообразия Симпсона – до 0,85-0,91 (в контроле – 0,54-0,65).

Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса показал существенные различия между контрольными образцами кишечной микробиоты и образцами II и III опытных групп. Действительно, на 2D диаграмме ординации точки, соответствующие контрольным образцам кишечной микробиоты и образцам микробиоты рыб, получавших комбинацию микроэлементов Zn, Se, I, с УДЧ оксида кремния и пробиотиком Бифидобиом (III опытная группа), формировали отдельные кластеры, изолированные друг от друга (рисунок 26).

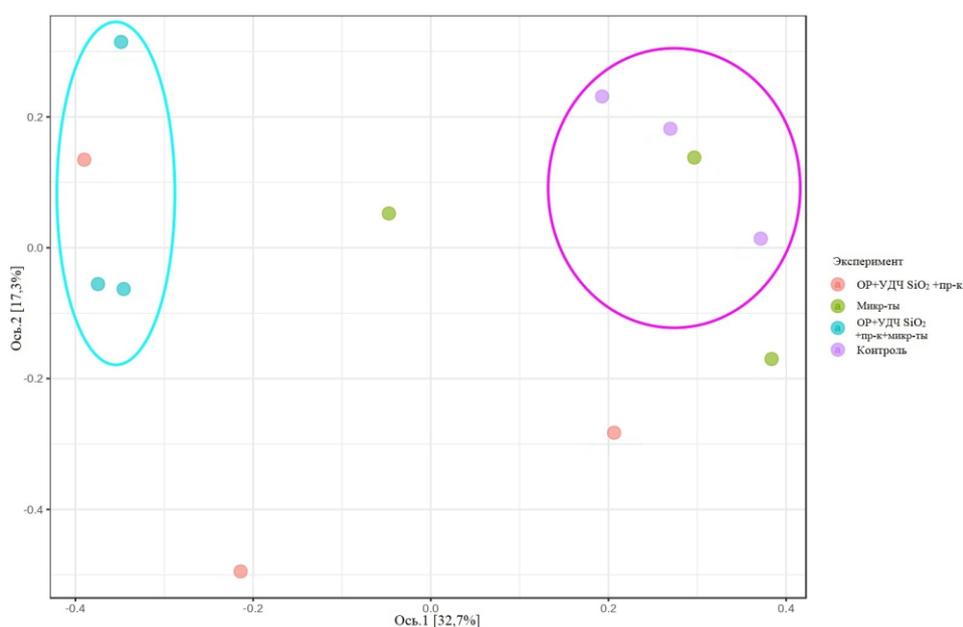


Рисунок 26 - Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса

Различия в показателях альфа- и бета-разнообразия кишечной микробиоты контрольных и опытных рыб сопровождались различиями количественного и качественного таксономического состава сравниваемых микробиомов. Так, в кишечной микробиоте контрольных рыб доминировали представители филумов *Spirochaetes* и *Proteobacteria*. Доля *Spirochaetes* составляла 32,78-65,49%, доля *Proteobacteria* колебалась в пределах 11,39-53,42%. Представители филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, занимали меньшую долю в составе микробиоты контрольных рыб (рисунок 27).

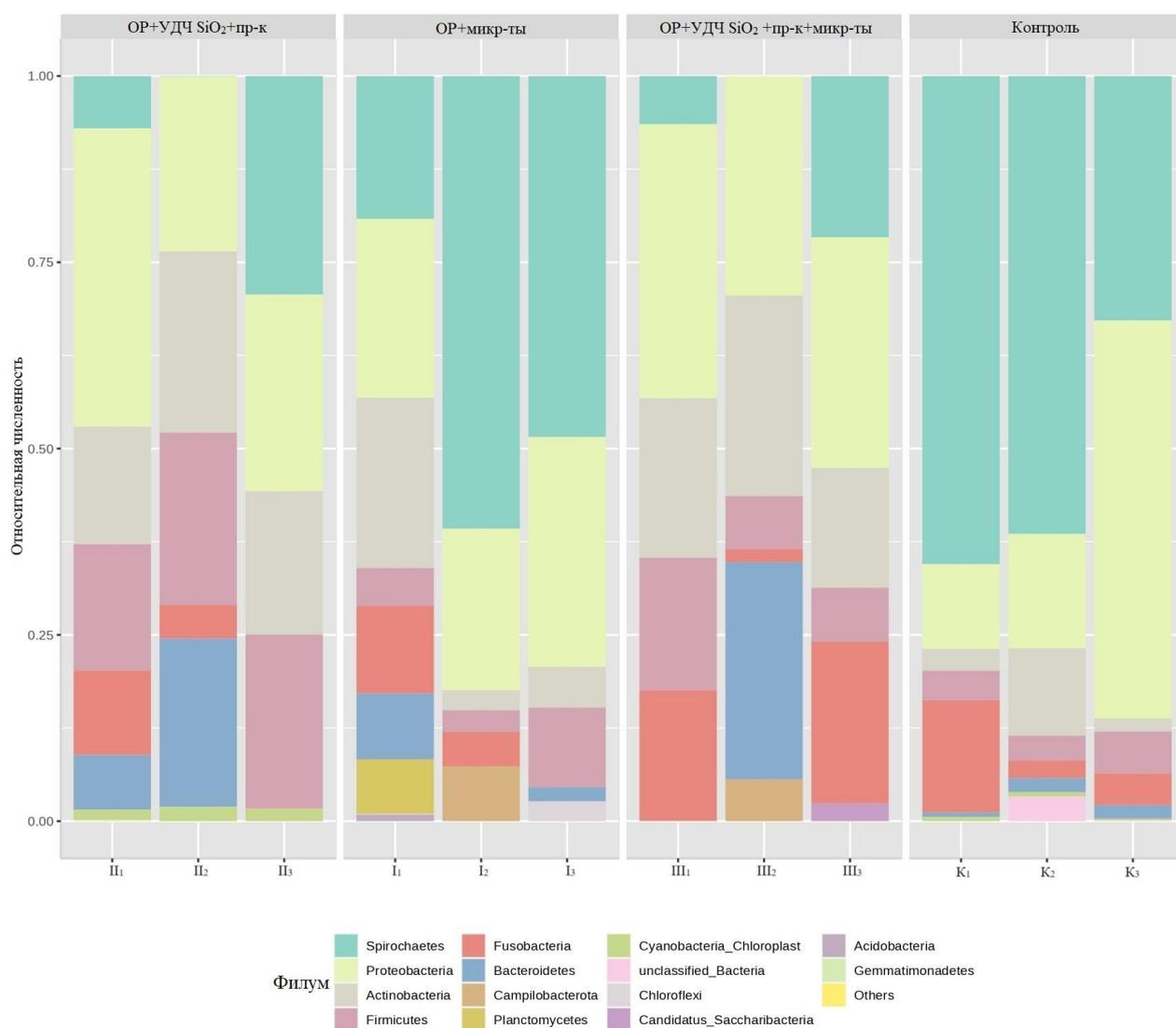


Рисунок 27 - Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне филума

На уровне классов доминировали *Spirochaetia* (32,78-65,49%), *Gamma*proteobacteria (3,53-52,70%) и *Fusobacteria* (2,32-15,05%) (рисунок 28).

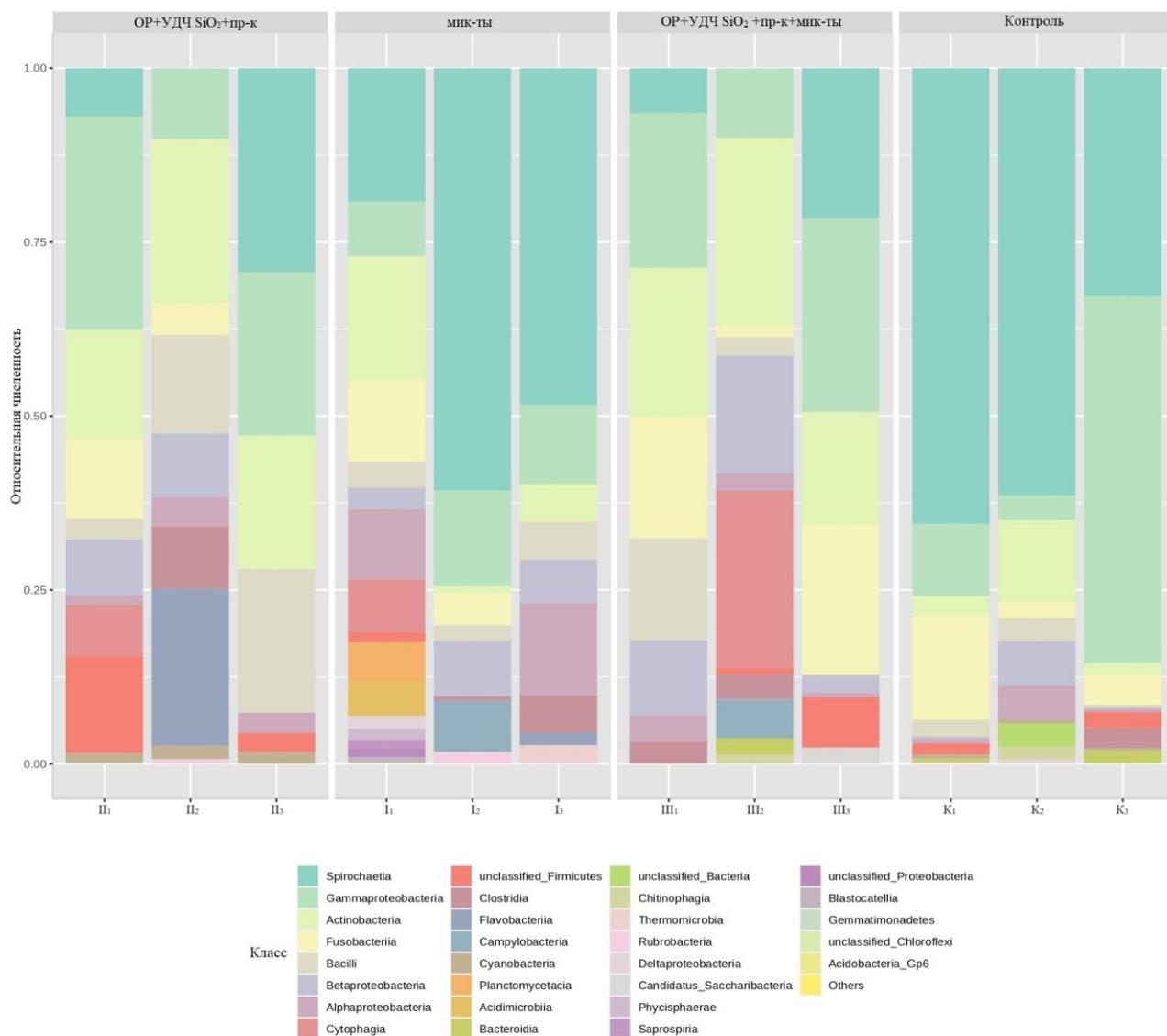


Рисунок 28 - Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне класса

Доминирующими семействами были *Brevinemataceae* (32,78-65,49%), *Aeromonadaceae* (0,77-48,86%) и *Fusobacteriaceae* (2,32-15,05%) (рисунок 29).



Рисунок 29 - Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне семейства

На уровне родов доминировали *Aeromonas* (0,77-48,71%), *Brevinema* (32,78-65,49%) и *Cetobacterium* (2,32-15,05%) (рисунок 30).

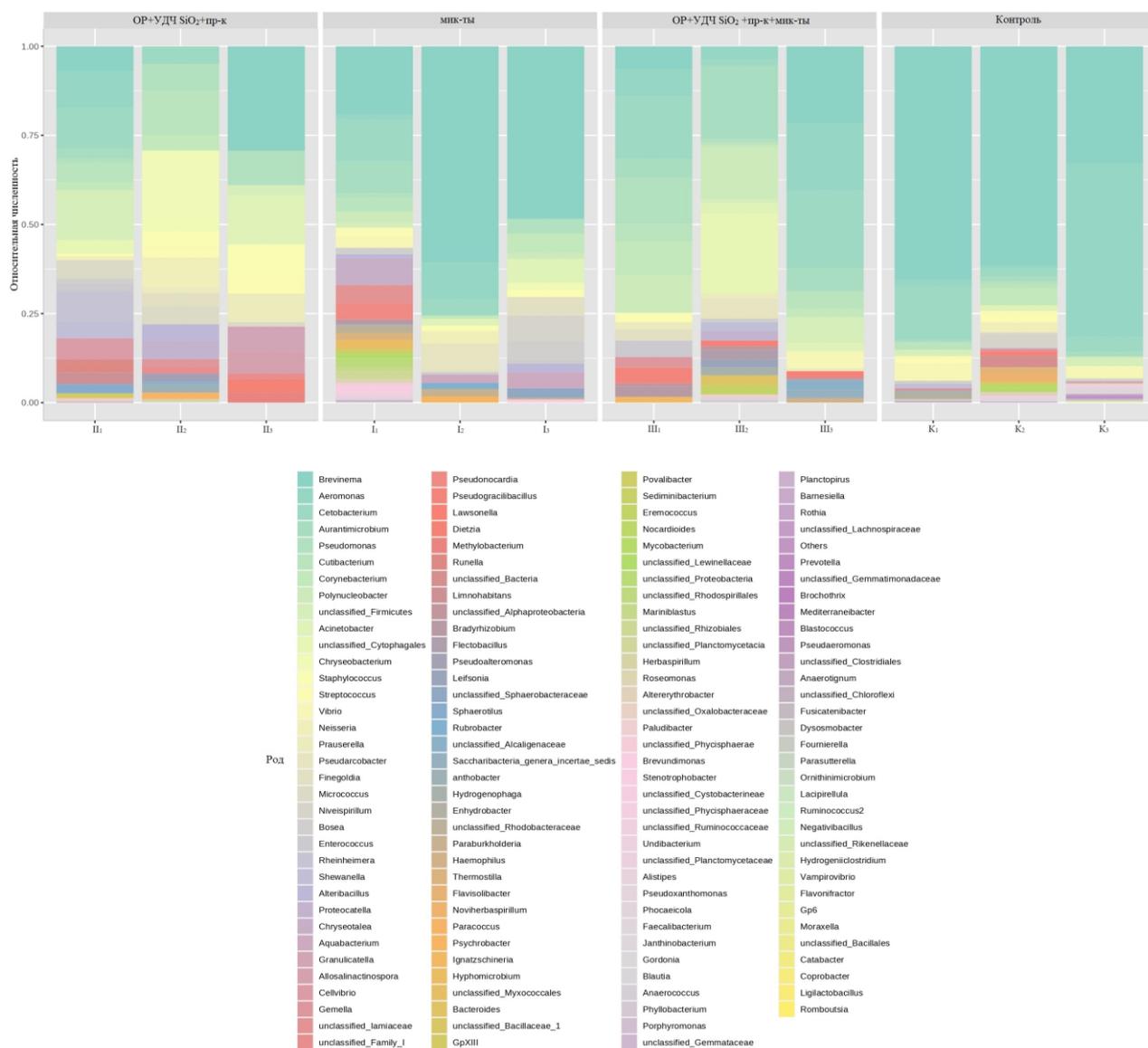


Рисунок 30 - Микробиом кишечника подопытных рыб на уровне рода

Добавление в рацион карпа микроэлементов йода, селена и цинка (I опытная группа), существенно не влияло на соотношение бактериальных таксонов в микробиоте кишечника карпа на уровне филума и классов. В то же время наблюдалась элиминация из микробиома бактерий филума *Cyanobacteria/Chloroplast*, классов *Bacteroidia* и *Cyanobacteria*, семейства цианобактерий *Family I*.

Добавление в рацион карпа ультрадисперсных частиц оксида кремния и пробиотика Бифидобиом (II опытная группа), приводило к существенным изменениям соотношений бактериальных таксонов в микробиоте кишечника

карпа на всех таксономических уровнях. В частности, наблюдалось существенное увеличение доли филумов *Actinobacteria* до 15,80-24,33% (по сравнению с 1,78-11,76% в контроле), *Firmicutes* до 16,96-23,36% (по сравнению с 3,36-5,62% в контроле), и значительное снижение доли филума *Spirochaetes* до 0,06-29,30% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле). На уровне классов значительно возрастала доля *Actinobacteria* до 15,80-23,65% (по сравнению с 1,78-11,76% в контроле), *Bacilli* до 3,01-20,64% (по сравнению с 0,37-3,36% в контроле); существенно снижалась доля облигатно анаэробных бактерий классов *Fusobacteria* до 0-11,32% (по сравнению с 2,32-15,05% в контроле) и *Spirochaetia* до 0,06-29,30% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле), что свидетельствует о более активном размножении бактерий участвующих в секреции различных ферментов (протеаз, липаз и целлюлаз) расщепляющих белки, жиры и полисахариды на более простые соединения. На уровне семейств существенно снижалась доля *Aeromonadaceae* до 0-10,20% (по сравнению с 0,77-48,86% в контроле), *Brevinemataceae* 0,06-29,30% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле); в сравнении с контролем не было выявлено семейство *Azospirillaceae*; существенно возросли доли *Micrococcaceae* до 1,24-5,16% (по сравнению с 0-0,73% в контроле), *Pseudomonadaceae* до 1,21-9,64% (по сравнению с 0-0,87% в контроле). На уровне родов значительно снижались доли *Aeromonas* до 0-10,20% (по сравнению с 0,77-48,71% в контроле), *Brevinema* до 0,06-29,30% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле); род *Niveispirillum* не был выявлен в сравнении с контролем; возросли доли родов *Micrococcus* до 1,24-5,16% (по сравнению с 0-0,46% в контроле), *Pseudomonas* до 1,21-9,64% (по сравнению с 0-0,87% в контроле), *Streptococcus* до 0,84-4,91% (по сравнению с 0-2,44% в контроле).

Добавление в рацион карпа комбинации микроэлементов йода, селена и цинка, ультрадисперсных частиц оксида кремния и пробиотика Бифидобиом (III опытная группа), приводило к существенным изменениям соотношений бактериальных таксонов в микробиоте кишечника карпа на всех

таксономических уровнях. Выявленные изменения были схожи с изменениями кишечной микробиоты у рыб II опытной группы. Так, наблюдалось существенное увеличение доли филумов *Actinobacteria* до 16,08-26,92% (по сравнению с 1,78-11,76% в контроле), *Firmicutes* до 7,15-17,79% (по сравнению с 3,36-5,62% в контроле), и значительное снижение доли филума *Spirochaetes* до 0-21,63% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле). На уровне классов значительно возрастала доля *Actinobacteria* до 16,08-26,92% (по сравнению с 1,78-11,76% в контроле), *Betaproteobacteria* до 3,01-20,64% (по сравнению с 0,25-6,32% в контроле); существенно снижалась доля облигатно анаэробных бактерий класса *Spirochaetia* до 0-21,63% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле). На уровне семейств существенно снижалась доля *Brevinemataceae* до 0-21,63% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле); полностью исчезли из кишечного микробиома бактерии семейств *Staphylococcaceae* и *Azospirillaceae*, цианобактерии семейства *Family I*; существенно возросли доли представителей актинобактерий *Corynebacteriaceae* до 0,78-9,26% (по сравнению с 0-4,88% в контроле), *Microbacteriaceae* до 5,28-22,60% (по сравнению с 0,57-1,38% в контроле), *Propionibacteriaceae* до 0,63-4,89% (по сравнению с 0,03-2,07% в контроле). На уровне родов значительно снижалась доля *Brevinema* до 0-21,63% (по сравнению с 32,78-65,49% в контроле); были не выявлены в микробиоме кишечника бактерии родов *Staphylococcus*, *Niveispirillum*; возросли доли родов *Aurantimicrobium* до 5,28-20,52% (по сравнению с 0,57-1,38% в контроле), *Corynebacterium* до 0,78-9,26% (по сравнению с 0-4,88% в контроле), *Cutibacterium* до 0,63-4,89% (по сравнению с 0,03-2,07% в контроле); появились бактерии рода *Prauserella* в доле 0,76-1,99%.

Таким образом, по данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа, установлены существенные различия в показателях альфа- и бета-разнообразия, количественного и качественного таксономического состава кишечной микробиоты контрольных и опытных рыб. Наиболее выраженные изменения, существенно отличавшие

опытные группы от контрольной, наблюдались при добавлении в рацион карпа УДЧ SiO₂ с пробиотиком Бифидобиом, или комбинации микроэлементов йода, селена и цинка, с ультрадисперсными частицами диоксида кремния и пробиотиком Бифидобиом.

2.3.3.7 Конверсия корма в продукцию подопытной рыбы

Наиболее высокий коэффициент конверсии корма был выявлен в опытной группе, получавшей комплекс препаратов УДЧ, пробиотика и микроэлементов, где эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы составляла 37,1 % и 14,02 %, соответственно (таблица 32).

Таблица 32 – Эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы, %

Группа	Коэффициент конверсии	
	протеин	обменная энергия
Контроль	32,7	13,36
I опытная	32,7	12,40
II опытная	35,0	13,90
III опытная	37,1	14,02

2.3.3.8 Резюме по итогам III экспериментального исследования

Во II (ОР+УДЧ SiO₂ + пробиотик Бифидобиом) и III (ОР+УДЧ SiO₂ + пробиотик Бифидобиом+микроэлементы) опытных группах начиная с 3 недели и вплоть до конца проведения эксперимента отмечалось достоверное увеличение прироста массы тела относительно контрольных значений на 9 % и 16,4 %, соответственно в отличие от I опытной группы (ОР+микроэлементы), в которой не было установлено достоверных различий относительно контроля.

Морфологический анализ крови рыб не выявил существенных изменений при скормливании испытуемых добавок. Было установлено повышение содержания гемоглобина во всех опытных группах относительно контроля на 6,9-16,2 %, при этом уровень эритроцитов был выше контроля лишь во II

опытной группе на 43,9 %. Биохимический анализ крови позволил установить повышение содержания общего белка только в III группе.

Анализ макроэлементов в теле рыб во всех опытных группах показал только достоверное увеличение содержания Са относительно контроля, по остальным элементам не было выявлено достоверных различий. Нами были получены предполагаемые результаты, отражающие достоверное повышение содержания ранее дефицитных микроэлементов (Zn, Se, I) в группах с УДЧ SiO₂. В свою очередь добавление УДЧ SiO₂ в рационы рыб опытных групп (II и III) никак не отразилось на содержании кремния в теле рыб относительно контрольных значений, этот результат подтверждает отсутствие токсического действия данного элемента в ультрадисперсной форме в соответствующей дозировке. Также мы наблюдали увеличение и закономерное распределение ряда эссенциальных и условно-эссенциальных микроэлементов в мышечной ткани рыб. Касаясь токсических микроэлементов нами было отмечено снижение концентрации алюминия относительно контроля в I и в III опытной группе на 29,7 % и на 43,1 %, соответственно. Повышение некоторых токсических элементов (Al, Cd) находилось в пределах ПДК и не оказывало вредного воздействия на здоровье испытуемых рыб.

Влияние испытуемых добавок на микробиом кишечника сопровождалось изменением таксономического состава. Установлены существенные различия в показателях альфа- и бета-разнообразия, количественного и качественного таксономического состава кишечной микробиоты контрольных и опытных рыб. Наиболее выраженные изменения, существенно отличавшие опытные группы от контрольной, наблюдались при добавлении в рацион карпа УДЧ оксида кремния с пробиотиком Бифидобиом, или комбинации микроэлементов йода, селена и цинка, с УДЧ оксида кремния и пробиотиком Бифидобиом.

Наиболее высокий коэффициент конверсии корма был выявлен в опытной группе с УДЧ, пробиотиком и комплексом микроэлементов, где эффективность превращения протеина и энергии корма в продукцию подопытной рыбы составляла 37,1 % и 14,02 %, соответственно.

На основании вышеизложенных данных максимальной эффективностью для молоди карпа обладала комбинация УДЧ SiO_2 , пробиотика Бифидобиом и микроэлементов (Zn, Se и I).

2.3.4 Результаты научно-хозяйственного эксперимента

С целью определения экономической эффективности был проведен научно-хозяйственный опыт в условиях садкового тепловодного хозяйства ООО «Ирикла-рыба» (п. Энергетик, Оренбургская область, рисунок 31).

Для этого было зарыблено два садка сеголетками карпа с навеской 55-60 г. Контрольная группа в течении пятнадцати недель получала комбикорм КРК-110, а рацион опытной группы дополнительно включал УДЧ SiO_2 в дозировке 200 мг/кг корма, пробиотик Бифидобиом (0,7 мл/кг) и микроэлементы: йод (0,1 мг/кг) + селен (0,2 мг/кг) + цинк (1,36 мг/кг). Кормление рыб производили с помощью автоматических кормушек типа «Рефлекс». Нормы кормления корректировались каждые 7 дней с учетом роста рыбы. В период проведения экспериментальных исследований температура воды в местах установки садков изменялась в интервале 27-30 °С, что соответствовало требованиям к качеству воды.



Рисунок 31 – Садковая линия ООО «Ирикла-рыба»

В результате апробации был подтвержден продуктивный эффект, полученный нами ранее в лабораторных условиях (таблица 33).

Таблица 33 – Динамика живой массы рыбы и среднесуточный прирост, г

Неделя учетного периода	Живая масса, г		Среднесуточный прирост, г	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Начало опыта	58,5 ± 3,10	58,8 ± 2,92	-	-
1	101,8 ± 4,23	100,5 ± 3,67	6,18	5,96
2	142,4 ± 4,31	142,1 ± 4,16	5,79	5,94
3	191,7 ± 5,38	198,5 ± 5,43	7,04	8,06
4	233,3 ± 6,44	239,8 ± 6,21	5,94	5,90
5	271,6 ± 7,23	283,1 ± 7,63*	5,47	6,19
6	315,8 ± 8,12	331,3 ± 9,34*	6,31	6,89
7	360,7 ± 10,76	378,4 ± 10,39*	6,41	6,73
8	403,1 ± 11,83	422,7 ± 11,28*	6,06	6,33
9	445,3 ± 12,24	463,6 ± 12,53*	6,03	5,84
10	501,2 ± 13,62	522,4 ± 13,48*	7,99	8,40
11	538,3 ± 15,47	559,1 ± 15,32*	5,30	5,24
12	582,7 ± 17,64	601,7 ± 17,57*	6,34	6,09
13	621,2 ± 18,23	642,1 ± 18,42*	5,50	5,77
14	671,4 ± 18,82	706,8 ± 18,61*	7,17	9,24
15	725,4 ± 20,11	769,3 ± 20,43*	7,76	8,93

Примечание: Разница достоверна по отношению к контрольной группе: *P≤0,05.

В опытной группе зафиксировано достоверное повышение массы рыбы относительно контроля начиная с пятой недели выращивания – на 4,2 %. Подобная динамика роста сохранилась вплоть до конца выращивания и разница массы рыбы опытной группы относительно контроля составляла в диапазоне 3,9-6,1 %.

3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Аквакультура является одной из самых перспективных и быстрорастущих отраслей в мировом производстве продуктов питания (The Food and Agriculture Organization, 2014), с ожидаемым двукратным ростом производства продукции в течение ближайших двух десятилетий (The World Bank, 2013). Столь высокие темпы роста производства формируют принципиально новые требования к ведению работ в аквакультуре, в первую очередь в промышленных условиях. Причем наряду с интенсификацией производства необходимо все большее внимание уделять качеству продукции, что в первую очередь отражается на минеральном составе объектов аквакультуры (Marengo M. et al., 2018), что не только определяет качественные характеристики продукции, но и приводит к закономерному снижению эффективности использования кормов, это сопряжено с нарушением иммунитета объектов аквакультуры и др. (Uribe C. et al., 2011). В этой связи особый интерес представляют экспериментальные изыскания, направленные на развитие новых подходов к повышению полноценности минерального питания рыбы и созданию комплексных кормовых добавок, обеспечивающих повышение эффективности использования кормов в аквакультуре.

В кормах для рыб микроэлементы используются в премиксах в виде неорганических оксидов, сульфатов и карбонатов (Waal H.O., 1999), имеющих большое количество недостатков, таких как токсический эффект на организм, изменение состава консорциума микроорганизмов кишечника, возникновение дисбактериоза (Ducatelle R. A. et al., 2015) и т.д. Эти явления подтолкнули исследователей к поиску альтернативных источников минеральных солей, что и было реализовано при разработке новых металлоорганических соединений – ультрадисперсных частиц металлов-микроэлементов (Dar AN et al., 2020). Данные вещества определяются как меньшей токсичностью УДЧ с диаметром около 100 нм (Gopi M. et al., 2017), так и более высокой биологической

доступностью микроэлементов из ультрадисперсных препаратов (Waal H.O., 1999). В настоящее время существует значительный интерес ученых к перспективам использования нанотехнологий в биологии, медицине и сельском хозяйстве. В частности, во всем мире активно проводятся исследования по разработке препаратов микроэлементов для сельскохозяйственных животных, птиц и рыб связанные с применением УДЧ (Sarkar B. et al., 2015).

На первом этапе своих исследований мы детально изучили данные, накопленные наукой по опыту использования препаратов кремния в питании рыб и других моногастричных.

Как следует из накопленных наукой данных кремний относится к числу жизненно необходимых химических элементов (Скальный А.В. и др., 2004). Дополнительное включение кремния и кремнийсодержащих кормовых добавок в рацион рыбы позволяет повысить интенсивность роста и качество продукции (Ульянова М.В., 2017; Макарова Г.П. и др., 2019).

В связи с чем мы при планировании своих исследований и при детальном изучении литературы пришли к выводу о перспективности использования в кормлении карпа ультрадисперсных источников кремния. Ранее в аналогичных исследованиях Мустафиной А.С. (2019) на модели цыплят-бройлеров и Alandiyany M.N. et al., (2022) в исследованиях на нильской тилляпии показали высокую эффективность препарата УДЧ оксида кремния.

При планировании исследований мы исходили из того, что организм животных ежедневно с пищей и воздухом поглощает более 10^{13} ультрадисперсных частиц (da Silva A.B. et al., 2020). При этом препараты УДЧ SiO_2 широко используются в повседневной жизни и одобрены Европейским союзом для использования в качестве пищевой добавки (Knight D. et al., 2015); включаются в средства ежедневного ухода, пищевые продукты и фармацевтические препараты (Karavolos M. and Holban A., 2016); зубную пасту, жидкость для полоскания рта, солнцезащитные кремы, гели, капсулы и т.д. (da Silva A.B. et al., 2020).

После подбора препарата УДЧ оксида кремния нами были выполнены детальные исследования физико-химических и биологических свойств последнего. Как следует из полученных нами данных установленный гидродинамический радиус для УДЧ SiO₂ составил 126,5±9,7 нм, Z-потенциал - 29±0,1 мВ. При этом использованный препарат оказался биологически не токсичным. В частности, отклонения в свечении тест-системы при испытании всех исследуемых дозировок препарата, не превысили диапазон допустимых нетоксичных показателей от 82,4 до 104,8 %.

На втором этапе мы приступили к исследованиям на модели карпа. При планировании первого эксперимента по установлению оптимальных дозировок препарата мы исходили из результатов ранее выполненных исследований по применению ультрадисперсных веществ в кормлении моногастричных (Аринжанов А.Е., 2013; Яушева Е.В., 2016; Сизова Е.А., 2017; Мустафина А.С., 2020).

Следует отметить, что применение оцениваемого препарата в первом эксперименте сопровождалось повышением интенсивности роста рыбы и конверсии корма в продукцию. При этом наиболее значительные результаты были получены нами при использовании УДЧ SiO₂ с дозировкой в 200 мг/кг корма, достигавшие 14,1 %, относительно контроля.

При планировании исследований и разработке рабочей гипотезы эксперимента мы действительно предполагали, что интенсивность роста карпа и конверсия корма в продукцию повысится, но не столь значительно. В этом случае мы исходили только из роли кремния как микроэлемента с ограниченным биологическим действием на уровне опорно-двигательной системы. Однако, эффект в +14% по интенсивности роста существенно превышал наши надежды.

Как следует из результатов наших исследований ростостимулирующее действие УДЧ оксида кремния на организм карпа складывается из целого ряда факторов. В том числе – снижение количества токсических элементов и нивелирование эффектов «нагруженного метаболизма»; повышение содержания

жизненно необходимых элементов в организме карпа; изменение микробиома кишечника рыбы и др.

В частности, скармливание препарата УДЧ оксида кремния карпу сопровождалось снижением в организме рыбы содержания токсических элементов. В частности, в первом эксперименте в опытной группе с дозировкой УДЧ SiO₂ (200 мг/кг) было отмечено понижение содержания стронция на 26 % ($P \leq 0,05$) и свинца на 66,7 % ($P \leq 0,01$).

Ранее наукой накоплены обширные знания об антагонистических взаимодействиях между кремнием и токсическими элементами. В частности, описан антагонизм кремния по отношению к кадмию (Naeem A. et al., 2018), алюминию (Freitas L.B.D. et al., 2017), хрому (Ali S. et al., 2013), свинцу (Liu J. et al., 2015). При этом сам эффект повышения продуктивности животных на фоне снижения концентрации токсических элементов в организме объясняется нивелированием эффекта «нагруженного метаболизма» (Miroshnikov S. et al., 2021), который сопряжен с энергетическими издержками организма на преодоление пагубного влияния токсических элементов на обмен веществ (Kalashnikov V. et al., 2018; Miroshnikov S. et al., 2019).

Относительно повышения уровня белых кровяных телец под влиянием ультрадисперсных частиц следует подчеркнуть, что подобный эффект выявлен не впервые и отмечается во многих работах (Колбин И. А., 2001).

Проведя анализ полученных результатов на первом этапе, мы предположили, что характер ростостимулирующего действия препарата УДЧ оксида кремния на модели карпа аналогичный такому же эффекту УДЧ на модели птицы.

Ранее Е.В. Яушевой (2016) описаны уникальные ростостимулирующие эффекты для препаратов УДЧ металлов-микроэлементов на модели цыплят-бройлеров. При этом автором описан механизм действия УДЧ металлов, выражающийся в активизации деятельности макрофагов и синтезе окиси азота и как следствие накопление аргинина в печени. Именно аргинин как фактор, тесно

связанный с синтезом белка и расщеплением жира в организме определяет ростостимулирующий эффект УДЧ металлов. Понимая это, мы исходили из того, что биотоксичность кремния на несколько порядков ниже токсичности металлов-микроэлементов (Aguilar F. et al., 2009.; Gitelman H.J. et al., 1992; Fujino Y. et al., 2007), а эффект в стимулировании деятельности макрофагов на фоне применения препарата УДЧ кремния очевидно выше. Это вызвано эволюцией развития клеточного иммунитета, реагирующего на проникновение в ткани организма веществ из внешней среды при нарушении целостности внешних покровов. Очевидно, что именно кремний как основной компонент пыли во внешней среде в первую очередь проникает при травмах в ткани тела. Поэтому ответная реакция макрофагов на попадание УДЧ кремния может быть ожидаемо выше в сравнении с аналогичной реакцией на поступление извне УДЧ металлов-микроэлементов.

В подтверждение нашей гипотезы мы провели второй эксперимент, в рамках которого изучали сочетанное действие оцениваемого препарата с аминокислотами. Однако, наша гипотеза ростостимулирующего действия комплекса УДЧ оксида кремния и аминокислот не получила подтверждения на практике поскольку к концу эксперимента было установлено повышение интенсивности роста лишь на 6,6 % ($P \leq 0,05$). Самый высокий прирост массы рыб на 13,7 % ($P \leq 0,05$) был установлен при скармливании УДЧ SiO_2 в дозе 200 мг/кг корма совместно с основным рационом при этом был отмечен самый высокий коэффициент конверсии протеина 29,17 % и обменной энергии 14,99 % относительно контроля, что согласовывается с результатами первого экспериментального исследования.

Имеются сведения об активном действии препаратов УДЧ на микроархитектуру кишечника животных, которые описали в своих исследованиях (Курилкина М. Я. и др., 2010; Adegbeye M.J. et al., 2019). Улучшение ферментации, в том числе перевариваемости клетчатки было описано в работах (Murthy N., 2013; Zhai X. et al., 2017; Mohamed A.H. et al.,

2017). Ультрадисперсные частицы положительно повлияли на здоровье кишечника за счет увеличения популяции полезных бактерий, таких как *Lactobacillus* и *Faecalibacterium. prausnitzii* и короткоцепочечных жирных кислот (Gangadoo S. et al., 2018).

Как было уже показано выше, в первом эксперименте мы зафиксировали крайне значительный рост в крови опытного поголовья белых кровяных теляц. Исходя из того, что ранее аналогичные результаты были описаны в исследованиях Е.В. Яушевой (2016) в эксперименте по оценке биологического действия препаратов УДЧ металлов-микроэлементов на модели цыплят-бройлеров и то что в этом случае ростостимулирующий эффект был усилен через дополнительное включение в рацион незаменимых аминокислот, мы в рамках своей рабочей гипотезы предположили наличие аналогичного действия комплекса аминокислот и УДЧ SiO₂ на организм карпа. Для проверки этого предположения нами был проведен второй эксперимент.

Между тем как следует из данных второго исследования, наша гипотеза о ростостимулирующем эффекте совместного использования комплекса аминокислот и УДЧ диоксида кремния не подтвердилась. Фактически оказалось, что продуктивность карпа, получавшего УДЧ диоксида кремния, оказалась выше (13,7 % (P≤0,05)) в сравнении с группой которой дополнительно к препарату УДЧ скармливали аминокислоты (6,6 % (P ≤ 0,05)).

Кроме того, в наших исследованиях по данным высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из кишечника карпа, не установлено существенного изменения кишечной микробиоты при добавлении в рацион УДЧ оксида кремния и аминокислот как по отдельности, так и в комбинации. Единственным изменением, которое тем не менее не было статистически значимым, являлось уменьшение доли бактерий семейства Vibrionaceae рода *Vibrio*, и увеличение доли бактерий семейства Aeromonadaceae рода *Aeromonas* при добавлении в рацион карпа аминокислот.

Таким образом, на основании полученных результатов второго эксперимента мы можем сделать вывод о том, что наибольшей эффективностью обладала I опытная группа (OP+УДЧ SiO₂). Учитывая такие особенности протекания обменных процессов в теле рыб как подавление концентрации йода, селена и цинка при введении данной дозировки УДЧ диоксида кремния в основной рацион было проведено следующее экспериментальное исследование.

В ходе планирования и осуществления третьего эксперимента, нами был проработан ряд гипотез, дающих представление о регулировании эффективности комплексного и отдельного применения ультрадисперсных частиц диоксида кремния сочетано с пробиотическим препаратом «Бифидобиом» и микроэлементами в кормлении сеголеток карпа.

Как известно препараты УДЧ известны своими замечательными свойствами широкого спектра действия и могут представлять собой альтернативу антибиотикам, способствующим здоровью и росту рыб (Pineda L. et al., 2012; Yusof H.M. et al., 2019; El-Maddawy Z.K. et al., 2022). В свою очередь имеется значительное количество исследований, свидетельствующих о преимуществах пробиотиков по отношению к антибиотикам, ассоциированным с диареей, непереносимостью лактозы, снижением холестерина, а также развитием иммунной системы и защитой от кишечных патогенов (Rijkers G.T. et al., 2010). Пробиотики могут повысить стрессоустойчивость (Nayak S.K., 2010) и иммунные реакции объектов аквакультуры (Eissa N. et al., 2014.).

Учитывая перспективы применения ультрадисперсных частиц металлов-микроэлементов и пробиотических препаратов, ведется разработка мероприятий по повышению их эффективности, а именно совместного использования в кормлении выращиваемых рыб (Мирошникова Е.П. и др., 2018; Аринжанов А.Е. и др. 2020).

В силу целого ряда обстоятельств будущее применение УДЧ металлов-микроэлементов представляется перспективным в комбинации с пробиотическими препаратами. Это обусловлено тем, что совместное с УДЧ

применение пробиотиков позволяет изменять и метаболизм в организме животных. В частности, в исследованиях Мирошниковой Е.П. и др. (2018), показано, что совместное использование в рационе УДЧ железа и пробиотика - Бифидумбактерин бифидум положительным образом влияет на продуктивные качества карпа (Мирошникова Е. П. и др. 2018). Кроме того, перспективность совместного применения пробиотиков и препаратов УДЧ объясняется необходимостью преодоления негативных последствий высокой плотности посадки рыбы при промышленном выращивании (Lin W. et al., 2018).

Предполагаемые положительные эффекты от внесения исследуемых веществ были получены нами в третьем эксперименте. Так, наилучшую динамику роста констатировали при включении в рацион рыб УДЧ SiO_2 совместно с пробиотиком Бифидобиом и микроэлементами (Zn, Se, I) в конце эксперимента которая составила 16,4 %, относительно контроля с коэффициентом конверсии протеина 37,1 % и обменной энергии 14,02 %. Высокий ростостимулирующий эффект и коэффициент конверсии корма также был отмечен в группе с УДЧ SiO_2 совместно с пробиотиком Бифидобиом.

В ходе секвенирования, в контрольной группе, в микробиоме кишечника рыб были выявлены типичные представители микробиоты для карпа обыкновенного (Li X. et al., 2013) Влияние испытуемых добавок на микробиом кишечника сопровождалось изменением таксономического состава. Установлены существенные различия в показателях альфа- и бета-разнообразия, количественного и качественного таксономического состава кишечной микробиоты контрольных и опытных рыб. Наиболее выраженные изменения, существенно отличавшие опытные группы от контрольной, наблюдались при добавлении в рацион карпа УДЧ оксида кремния с пробиотиком Бифидобиом, или комбинации микроэлементов йода, селена и цинка, с УДЧ оксида кремния и пробиотика Бифидобиом.

Учитывая результаты анализа таксономического состава кишечника испытуемых рыб второго эксперимента, в которых было отмечено отсутствие

существенного изменения кишечной микробиоты в группе с УДЧ SiO₂ без включения комплекса аминокислот, следует полагать, что механизм ростостимулирующего эффекта в группах с пробиотиком Бифидобиом можно объяснить действием штаммов *Bifidobacterium*, входящих в состав данного препарата, выражающимся в подавлении условно-патогенной микрофлоры и увеличении относительной численности потенциально полезных видов бактерий (Jang W.J. et al., 2022), что могло способствовать лучшему всасыванию и усвоению питательных веществ организмом рыб, данный эффект проявляется в активном повышении массы тела (Liu H. et al., 2018; Аринжанов, А. Е., 2023).

В нашем случае при скармливании пробиотика Бифидобиом в двух опытных группах мы наблюдали увеличение численности определенных филумов микроорганизмов. Так *Actinobacteria* расщепляют сложные органические соединения, такие как полисахариды и протеины на более простые соединения, что позволяет рыбе лучше усваивать питательные вещества из рациона. *Firmicutes* расщепляют сложные полисахариды (целлюлоза и хитин) на более простые, в результате рыба получает больше энергии из корма, тем самым повышается ее продуктивность (Wu S. et al., 2012; Naque R. et al., 2022).

Bacilli, *Cyanobacteria*, *Micrococcaceae* и *Pseudomonadaceae* способствуют пищеварению и питательной эффективности, секретировав различные ферменты (протеазы, липазы и целлюлазы) расщепляющие белки, жиры и полисахариды на более простые соединения (Ringø E. et al., 2020; Hasan I. et al., 2023).

Бактерии рода *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Aurantimicrobium*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium* и *Prauserella* активно участвуют в процессах пищеварения рыбы, способствуя усвоению питательных веществ и тем самым влияют на продуктивные показатели. Кроме того, они конкурируют с патогенными микроорганизмами за место в кишечнике и повышают иммунный статус организма (Ringø E. et al., 2020; Hasan I. et al., 2023).

Таким образом, совместное включение исследуемых добавок в рацион карпа повышает усвояемость питательных веществ корма, стимулируя

активность пищеварительных ферментов, что приводит к улучшению всасывания и использования питательных веществ, а также выживаемости и продуктивности рыб.

Апробация результатов экспериментальных исследований в условиях тепловодного садкового хозяйства ООО «Ирикля-рыба» подтвердила наши данные - совместное скармливание УДЧ диоксида кремния, пробиотика Бифидобиом и органических солей микроэлементов (Zn, Se, I) в условиях тепловодного садкового хозяйства позволяет увеличить производство карпа на 10-12 % при росте рентабельности на 2-3%.

4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Введение в рацион годовиков карпа, при содержании сырого протеина 23 %, препарата УДЧ диоксида кремния, в условиях тепловодного садкового хозяйства сопровождается повышением интенсивности роста рыбы на 10-12%, при оптимальной дозировке 200 мг/кг корма. Данный показатель может быть увеличен через совместное скармливание УДЧ SiO_2 , пробиотика Бифидобиом и органических солей микроэлементов (Zn, Se, I) до 16-17 %. При этом эффективность трансформации протеина корма в продукцию повышается на 4,4%, энергии на 0,65%.

2. Дополнительное включение в рацион сеголетков карпа, содержащий УДЧ диоксида кремния, комплекса аминокислот, в составе лизина, метионина и аргинина, не сопровождается увеличением продуктивности рыбы. При этом отмечается повышение конверсии протеина корма на 1%, но снижается эффективность трансформации энергии в продукцию на 2,1%.

3. Испытуемые кормовые добавки оказывают влияние на состав продукции карпа. В частности, скармливание комплекса аминокислот (лизин, метионин, аргинин) сопровождается повышением содержания жира в мышечной ткани карпа на 1,4%, что имеет место на фоне снижения уровня протеина на 3,4%. Скармливание препарата УДЧ диоксида кремния сопровождается увеличением доли жира в мышечной ткани карпа на 0,62-0,92%. Вместе с тем совместное скармливание УДЧ диоксида кремния, пробиотика Бифидобиом и минеральных веществ (Zn, Se, I) не приводит к изменению химического состава мышечной ткани карпа.

4. В ходе исследований, на фоне совместного и отдельного включения в рацион УДЧ SiO_2 и комплекса аминокислот, зафиксировано достоверное повышение уровня гемоглобина, гематокрита, глюкозы. Включение в рацион УДЧ SiO_2 , пробиотика Бифидобиом с органическими солями (Zn, Se, I)

сопровождается повышением содержания гемоглобина и глюкозы в сыворотке крови, при повышении содержания общего белка до 27,6 %.

5. Включение в рацион УДЧ SiO_2 сопровождалось повышением Si, Al и снижением содержания Sr на 32 % и Pb на 66,7 %. Добавление в состав основного рациона только аминокислот способствует повышению содержания Ca, Mn, Ni, Sr с понижением Fe на 24,3 % и Cu на 27,4 %, в свою очередь совместное использование УДЧ SiO_2 и комплекса аминокислот сопровождается увеличением в мышечной ткани содержания Si, Al, Cr, с понижением содержания Na на 25,3 %. Следует отметить, что во всех опытных группах было отмечено достоверное снижение Zn, Se и I. Дополнительное включение органических солей (Zn, Se, I) в состав рациона сопровождается повышением величин концентраций Fe, Zn, I, Mn, Se, Co с одновременным снижением Ni и Al на 33,3 и 29,7 %, соответственно. Скармливание УДЧ SiO_2 и пробиотика Бифидобиом приводит к увеличению содержания Fe, Zn, Cu, B, Cr, I, Mn, Ni, Se, Co, Li и Al. В свою очередь сочетанное применение УДЧ SiO_2 , пробиотика Бифидобиом и минеральных веществ (Zn, Se, I) сопровождалось увеличением содержания Fe, Zn, B, Cr, I, Mn, Ni, Se, Cd при понижении содержания Al на 43,1 %.

7. Применение УДЧ оксида кремния совместно с пробиотиком «Бифидобиом» приводило к изменениям в метагеноме кишечника карпов. Отмечалось существенное увеличение доли филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes* и значительное снижение доли филума *Spirochaetes*. На уровне рода это выражалось в снижении доли бактерий таксонов *Aeromonas*, *Brevinema* и увеличении доли родов *Micrococcus* и *Pseudomonas*. Снижения значений продуктивности рыбы на фоне изменений в микробиоме кишечника не отмечалось.

8. Включение комплекса УДЧ SiO_2 , пробиотика Бифидобиом и минеральных веществ (Zn, Se, I) в рацион карпа, с содержанием 23 % сырого протеина, в условиях тепловодного садкового хозяйства позволяет увеличить

интенсивность роста и сохранность рыбы, что при снижении расхода корма на 1 кг прироста обеспечивает снижение себестоимости и способствует увеличению рентабельности производства товарного карпа на 2-3 %.

5 ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

В целях повышения эффективности производства продукции рыбоводства с условием соблюдения биобезопасности и высокими показателями сохранности молоди рекомендуем в рацион годовиков с содержанием сырого протеина 23% карпа в условиях тепловодного садкового хозяйства вводить биоминеральный комплекс состоящий из ультрадисперсных частиц SiO_2 (200 мг/кг), пробиотика Бифидобиом (0,7 мг/кг) + микроэлементов (I (0,1 мг/кг) + Se (0,2 мг/кг) + Zn (1,36 мг/кг), что обеспечит увеличение товарной массы на 10-12%, при росте рентабельности производства на 2-3 %.

6 ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ

Тема диссертационного исследования перспективна к дальнейшей разработке в части:

- формирования новых подходов к управлению метаболизмом в организме объектов рыбоводства России с использованием комплекса биологически активных веществ различной природы;

- исследований по оценке действия комплекса биологически активных веществ различной природы на микробиоту пищеварительного тракта рыбы.

7 СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын, А.П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын [и др.] – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Акчурина, И.В. Альтернатива гормональным препаратам для усиления интенсивности роста рыбы / И.В. Акчурина [и др.] // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2013. – № 10. – С. 3-4.
3. Аринжанов А. Е. Влияние ультрадисперсных частиц сплава Cu-Zn и пробиотического препарата Ветом 1.1 на рост, развитие и гематологические показатели молоди ленского осетра / А. Е. Аринжанов [и др.] // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации : Материалы V национальной научно-практической конференции, Калининград, 22–23 октября 2020 года / Под редакцией А.А. Васильева. – Калининград: Общество с ограниченной ответственностью "Амирит", 2020. – С. 22-26.
4. Аринжанов, А. Е. Влияние пробиотического штамма *Bifidobacterium longum* на микробиом кишечника карпа / А. Е. Аринжанов // АгроЗооТехника. – 2023. – Т. 6. – № 1.
5. Аринжанов, А.Е. Воздействие наночастиц комплекса металлов на организм карпа / А.Е. Аринжанов, Е.П. Мирошникова, Ю.В. Килякова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – Т. 40.– № 2. – С. 113-116
6. Аринжанов, А.Е. Использование биодобавок и наночастиц железа в кормлении карпа / А.Е. Аринжанов, Е.П. Мирошникова, Ю.В. Килякова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2015. – Т. 181. – № 6. – С. 44-48
7. Брыткова, А.Д. Возрастные изменения содержания микроэлементов в органах и тканях животных / А.Д. Брыткова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2006. – № 2. – С. 7-12.

8. Бычкова, Л.И. Микробиологическая безопасность рыбоводной продукции в условиях промышленного выращивания / Л.И. Бычкова, Л.Н. Юхименко // Вестник рыбохозяйственной науки. – 2014. – Т. 1. – № 1. – С. 10-15.
9. Войнар, А.И. Микроэлементы в живой природе / А.И. Войнар – М.: Наука, 1962. – 94 с.
10. Воробьев, В.И. Биогеохимия и рыбоводство / В.И. Воробьев. – Саратов: МП «Литера», 1993. – 224 с
11. Годымчук, А.Ю., Савельев, Г.Г., Зыкова, А.П. Экология наноматериалов: учеб. пособие / под ред. Л. Н. Патрикеева и А. А. Ревинной. 3-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2020. – 275 с.
12. Ершов, Ю.А. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов / Ю.А. Ершов, В.А. Попков. – М.: Высшая школа, 2003 - 560 с.
13. Иванов, В.В. Экологическая геохимия элементов (книга 3) / В.В. Иванов. – М.: Недра, 1996 – 353 с.
14. Колбин, И.А. Изменение показателей функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови доноров после инкубации с наночастицами диоксида кремния / И. А. Колбин, О. Л. Колесников // Вестник ЮУрГУ. – 2001. – № 20. – С. 116-119.
15. Курилкина, М. Я. Влияние различных видов воздействия на физические и биологические свойства кормов с различной степенью минерализации / М. Я. Курилкина, С. А. Мирошников, Т. Н. Холодилина, А. С. Кузнецова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2010. – № 6. – С. 73-75.
16. Ланге Э.Р. Микроэлементы в организме рыб и птиц // Рига: 1968. – 196 с. – 1968.
17. Левахин, В.И. Коррекция методики расчета конверсии энергии корма. / В.И. Левахин, Г.И. Левахин, С.А. Мирошников // Вестник РАСХН – 1999. – № 1. – С. 65-67.

18. Макаева, А. М. Влияние минеральных кормовых добавок на обмен веществ, микробном рубца и продуктивность молодняка крупного рогатого скота : специальность 06.02.08 "Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Макаева Айна Маратовна. – Оренбург, 2020. – 127 с.
19. Макарова, Г. П. Влияние кремнийсодержащего препарата «Набикат» на показатели мяса двухлеток карпа / Г. П. Макарова, И. А. Лыкасова, З. П. Мухамедьярова // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2019. – Т. 35. – №. 3. – С. 68-73.
20. Макарова, Г. П. Экономическая эффективность выращивания карпов при введении в рацион кормовой добавки Набикат / Г.П. Макарова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2019. – №. 1. – С. 128-131.
21. Мелякина, Э.И. Сравнительная характеристика микроэлементного состава прудовых рыб Астраханской области / Э.И. Мелякина, Н.Г. Агабабова // Вестник АГТУ. – 2007. – Т.38. – № 3. – С. 48-50.
22. Мирошников, И. С. Влияние высокодисперсных минеральных добавок на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота : специальность 06.02.08 "Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Мирошников Иван Сергеевич. – Оренбург, 2017. – 151 с.
23. Мирошникова, Е.П. Гематологические параметры молоди стерляди на фоне совместного использования культуры *Bacillus subtilis* и наночастиц сплава Cu-Zn / Е. П. Мирошникова [и др.] // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – Т. 101.– № 3. – С. 100-109.

24. Мирошникова, Е.П. Изменение гематологических параметров карпа под влиянием наночастиц металлов / Е.П. Мирошникова, А.Е. Аринжанов, Ю.В. Килякова // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 5. – С. 55-57.
25. Мирошникова, Е.П. О токсичности и прооксидантном эффекте наночастиц CeO_2 и SiO_2 (на модели *Danio rerio*) / Е.П. Мирошникова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. – № 6. – С. 921-928.
26. Мирошникова, Е.П. Обмен химических элементов в организме карпа при использовании наночастиц кобальта и железа в корме / Е.П. Мирошникова [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2012. – Т. 142. – № 6. – С. 170-175.
27. Мирошникова, Е.П. Оценка эффективности применения наночастиц железа и биодобавок в кормлении карпа / Е. П. Мирошникова, А. Е. Аринжанов, Ю. В. Килякова // Аграрный научный журнал. – 2018. – № 9. – С. 34-36.
28. Москалёв Ю.И. Минеральный обмен / Ю.И. Москалёв. – М.: Медицина. – 1985. – 288 с.
29. Мустафин, Р. З. Определение рациональной дозы диоксида кремния в кормлении цыплят-бройлеров / Р.З. Мустафин, А.С. Мустафина // Животноводство и кормопроизводство. – 2021. – Т. 104. – № 1. – С. 8-19.
30. Мустафина, А.С. Влияние наноразмерного оксида кремния на концентрацию тяжелых металлов в организме сельскохозяйственной птицы / А. С. Мустафина // Перспективные аграрные и пищевые инновации : Материалы Международной научно-практической конференции, Волгоград, 06–07 июня 2019 года / Под общей редакцией И.Ф. Горлова. – Волгоград: Общество с ограниченной ответственностью "СФЕРА", 2019. – С. 180-183
31. Мустафина, А.С. Влияние ультрадисперсного кремния на продуктивные качества цыплят-бройлеров / А.С. Мустафина, В.Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – Т. 80. – № 6. – С. 300-304.

32. Мустафина, А.С. Продуктивность и качество мяса цыплят-бройлеров на фоне действия аминокислотного комплекса и диоксида кремния : специальность 06.02.10 Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Мустафина Александра Сергеевна. – Оренбург, 2020. – 148 с.
33. Патент № 2374900 С2 Российская Федерация, МПК А23К 1/16, А23К 1/175. кормовая добавка : № 2007118628/13 : заявл. 21.05.2007 : опубл. 10.12.2009 / С. В. Логинов, Б. А. Кузнецов.
34. Пономарев, С.В., Грозеску, Ю.Н., Бахарева, А.А. Индустриальное рыбоводство: учебник. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: Лань, 2013. – 416 с.
35. Сердаева, В. А. Действие пробиотических препаратов *Bacillus subtilis* и *Bifidobacterium longum* при совместном скармливании с ультрадисперсными частицами меди на продуктивность и биологические особенности цыплят-бройлеров : специальность 06.02.08 "Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / В. А. Сердаева. – Оренбург, 2018. – 183 с.
36. Скальный, А.А. Эколого-физиологическое обоснование эффективности использования макро и микроэлементов при нарушениях гомеостаза у обследуемых из различных климато-географических регионов : специальность 14.01.00 "Клиническая медицина" : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / А.А. Скальный. – Москва, 2000. – 43 с.
37. Скальный, А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков. – М.: Изд. дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
38. Складов, В.Я. Биологические основы рационального использования кормов в аквакультуре / В.Я. Складов, Н.А. Студенцова. – М.: ФГНУ «Росинфомагротех». – 2001. – 55 с.

39. Скляр, В.Я. Корма и кормление рыб в аквакультуре / В.Я. Скляр. – М.: Издательство ВНИРО, 2008. – 150 с.
40. Ульянова, М.В. Продуктивные и товарные качества карпа при использовании в составе комбикорма сорбирующей пре- пробиотической добавки «Биокоретрон форте»: дисс ... канд. с.-х. наук: 06.02.08 / Ульянова Мария Владимировна. – Ульяновск, 2017. – 128 с.
41. Шабоянц Н.Г. Сравнительная характеристика микроэлементного состава некоторых органов осетровых рыб в прудовых условиях / Н.Г. Шабоянц, С.В. Шипулин, Э.И. Мелякина // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хоз-во. – 2010. – № 1. – С. 144-148.
42. Щербина, М.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре / М.А. Щербина, Е.А. Гамыгин – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – 360 с.
43. Яушева, Е.В. Адаптационные изменения в организме цыплят-бройлеров к действию наночастиц железа / Е.В. Яушева [и др.] // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XVI Всероссийского симпозиума, (Красная Поляна, 17-20 июня 2015 г). М.: РУДН, 2015. С. 217-219.
44. Яушева Е.В. Влияние ультрадисперсных препаратов железа и меди на продуктивность и обмен веществ цыплят – бройлеров. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства. Оренбург, 2016 – 169 с.
45. Яушева, Е.В. Наночастицы Fe в сочетании с аминокислотами изменяют продуктивные и иммунологические показатели у цыплят-бройлеров / Е.В. Яушева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. – № 6. – С. 912-920.
46. Abdelnour, S.A. Nanominerals: Fabrication Methods, Benefits and Hazards, and Their Applications in Ruminants with Special Reference to Selenium and Zinc Nanoparticles / S.A. Abdelnour [et al] // Animals (Basel). – 2021. – V. 11. – № 7. – P. 1916.

47. Adegbeye, M.J. Nanoparticles in equine nutrition: Mechanism of action and application as feed additives / M.J. Adegbeye [et al] // J. Equine Vet. Sci. – 2019. – V. 78. – P. 29-37.
48. Afonso, E.R. Probiotics association in the suckling and nursery in piglets challenged with *Salmonella Typhimurium* / E.R. Afonso [et al] // Braz. Arch. Biol. Technol. – 2013. – V. 56. – № 2. – P. 249–258.
49. Aguilar, F. Scientific opinion: monomethylsilanetriol added for nutritional purposes to food supplements / F. Aguilar [et al] // European Food Safety Authority Journal. – 2009. – V. 950. – P. 1–12.
50. Ahmed K.B.A. Future prospects of antibacterial metal nanoparticles as enzyme inhibitor / K.B.A. Ahmed, T. Raman, A. Veerappan // Mater Sci Eng: C. – 2016. – V. 68. – P. 939-947.
51. Ahmed, I. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) / I. Ahmed, M. A. Khan // British Journal of Nutrition. – 2006. – V. 96. – № 3. – P. 450-460.
52. Alandiyjany, M.N. Nano-silica and magnetized-silica mitigated lead toxicity: Their efficacy on bioaccumulation risk, performance, and apoptotic targeted genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / M.N. Alandiyjany [et al] // Aquat Toxicol. – 2022. – V. 242. – P. 106054.
53. Ali, S. The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress / S. Ali [et al] // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2013. – V. 89. – P. 66–72.
54. Amlan, P. Progress and prospect of essential mineral nanoparticles in poultry nutrition and feeding – a review / P. Amlan, M. Lalhriatpuii // Biol Trace Elem Res. – 2020. – V. 197. – № 1. – P. 233-253.
55. Andrews, S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. – 2010.

56. Anke, M.K. Transfer of macro, trace and ultratrace elements in the food chain / M.K. Anke // *Elements and Their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis and Biological Relevance*. – 2004. – P. 101-126.
57. Ansari M. Nanotechnology: a breakthrough in agronomy / M. Ansari, K. Shahzadi, S. Ahmed // *Nanoagronomy*. – 2020. – P. 1-21.
58. Aragão, C. Stress response and changes in amino acid requirements in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) / C. Aragão [et al] // *Amino Acids*. – 2008. – V. 34. – P. 143-158.
59. Armstrong, C. Arginine side chain interactions and the role of arginine as a gating charge carrier in voltage sensitive ion channels / C. Armstrong [et al] // *Sci Rep*. – 2016. – V. 6. – P. 21759.
60. Arthur-Ataam, J. Dietary supplementation with silicon-enriched spirulina improves arterial remodeling and function in hypertensive rats / J. Arthur-Ataam [et al] // *Nutrients*. – 2019. – V. 11. – №. 11. – P. 2574.
61. Ayeche, A. Toxicity evaluation of nanocrystalline silver-impregnated coated dressing on the life cycle of worm *Caenorhabditis elegans* / A. Ayeche [et al] // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2020. – V. 197. – P. 110570.
62. Azeredo, R. European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) immune status and disease resistance are impaired by arginine dietary supplementation / R. Azeredo [et al] // *PLoS One*. – 2015. – V. 10. – №. 10. – P. e0139967.
63. Ball, R.O. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism / R.O. Ball, K.L.Urschel, P.B. Pencharz // *J Nutr*. – 2007. – V. 137. – P. 1626S-1641S.
64. Barahona, F. Multimethod approach for the detection and characterisation of food-grade synthetic amorphous silica nanoparticles / F. Barahona [et al] // *Journal of Chromatography A*. – 2016. – V. 1432. – P. 92-100.
65. Beck, G.R. Bioactive silica-based nanoparticles stimulate bone-forming osteoblasts, suppress bone-resorbing osteoclasts, and enhance bone mineral density *in vivo* / G.R. Beck [et al] // *Nanomedicine*. – 2012. – V. 8. – P. 793-803.

66. Bhattacharyya, A. Nanoparticles from drug delivery to insect pest control / A. Bhattacharyya // Akshar. – 2009. – V. 1. – №. 1. – C. 1-7.
67. Biavati, B. The *Bifidobacteria* and Related Organisms. Related genera within the family *Bifidobacteriaceae* / B. Biavati, P. Mattarelli // Cambridge: Academic Press. – 2018. – P. 49-66.
68. Bigelow, D.J. Redox modulation of cellular signaling and metabolism through reversible oxidation of methionine sensors in calcium regulatory proteins / D.J. Bigelow, T.C. Squier // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. – 2005. – V. 1703. – № 2. – P. 121-134.
69. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinformatics. – 2014. – V. 30. – №. 15. – P. 2114-2120.
70. Buentello, J.A. Effects of dietary arginine on hematological parameters and innate immune function of channel catfish / J.A. Buentello [et al] // J Aquat Anim Health. – 2007. – V. 19. – № 3. – P. 195-203.
71. Buentello, J.A. Effects of elevated dietary arginine on resistance of channel catfish to exposure to *Edwardsiella ictalurid* / J.A. Buentello, D.M. Gatlin // J Aquat Anim Health. – 2001. – V. 13. – P. 194-201.
72. Bunchasak, C. Role of dietary methionine in poultry production / C. Bunchasak // The Journal of Poultry Science. – 2009. – V. 46. – №3. – 169-179.
73. Cagno, V. Broad-spectrum non-toxic antiviral nanoparticles with a virucidal inhibition mechanism / V. Cagno [et al] // Nat Mater. – 2018. – V. 17. – № 2. – P. 195-203.
74. Campbell, K. Self-establishing communities enable cooperative metabolite exchange in a eukaryote / K. Campbell [et al] // Elife. – 2015. – V. 4. – e09943.
75. Carlisle, E.M. A relationship between silicon and calcium in bone formation. / E.M. Carlisle // Federal Proceedings. – 1970. – V. 29. – P. 565.

76. Carlisle, E.M. Silicon: an essential element for the chick / E.M. Carlisle // *Science*. – 1972. – V. 178. – P. 619-621.
77. Caso, G. Control of muscle protein kinetics by acid-base balance / G. Caso, P. J. Garlick // *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. – 2005. – V. 8. – № 1. – P. 73-76.
78. Castillo, R. R. Functional mesoporous silica nanocomposites: biomedical applications and biosafety / R. R. Castillo, M. Vallet-Regí // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – V. 20. – № 4. – P. 929.
79. Chandrarathna, H.P.S.U. Outcome of co-infection with opportunistic and multidrug resistant *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* in zebrafish: identification, characterization, pathogenicity and immune responses / H.P.S.U. Chandrarathna [et al] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2018. – V. 80. – P. 573-581.
80. Chen, G. Effect of dietary arginine on the immune response and gene expression in head kidney and spleen following infection of Jian carp with *Aeromonas hydrophila* / G. Chen [et al] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2015. – V. 44. – №1. – P. 195-202.
81. Chen, Q. Effects of dietary arginine levels on growth performance, body composition, serum biochemical indices and resistance ability against ammonia-nitrogen stress in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) / Q. Chen [et al] // *Animal Nutr*. – 2016. – V. 2. – P. 204-210.
82. Chen, Z. Skin wound healing in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed diets supplemented with arginine / Z. Chen [et al] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2020. – V. 104. – P. 347-358.
83. Cheng, Z.Y. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus* / Z.Y. Cheng, A. Buentello, D.M. Gatlin // *Aquaculture*. – 2011. – V. 319. – № 1-2. – P. 247-252.
84. Chiang, P.K. S-Adenosylmethionine and methylation / P.K. Chiang [et al] // *The FASEB journal*. – 1996. – V. 10. – № 4. – P. 471-480.

85. Clark, T.C. Arginine, ornithine and citrulline supplementation in rainbow trout: free amino acid dynamics and gene expression responses to bacterial infection / T.C. Clark [et al] // *Fish Shellfish Immunol.* – 2020. – V. 98. – P. 374-390.
86. Cole, J.R. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis / J.R. Cole [et al] // *Nucleic acids research.* – 2014. – V. 42. – №. D1. – P. D633-D642.
87. Conine, A.L. Variable toxicity of silver nanoparticles to *Daphnia magna*: effects of algal particles and animal nutrition / A.L. Conine, P.C. Frost // *Ecotoxicology.* – 2017. – V. 26. – № 1. – P. 118-126.
88. Contado, C. Size characterization by sedimentation field flow fractionation of silica particles used as food additives / C. Contado, L. Ravani, M. Passarella // *Analytica chimica acta.* – 2013. – V. 788. – P. 183-192.
89. Costas, B. Dietary arginine and repeated handling increase disease resistance and modulate innate immune mechanisms of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) / B. Costas [et al] // *Fish Shellfish Immunol.* – 2011. – V. 31. – № 6. – P. 838-847.
90. Costas, B. Dietary arginine supplementation decreases plasma cortisol levels and modulates immune mechanisms in chronically stressed turbot (*Scophthalmus maximus*) / B. Costas [et al] // *Aquacult Nutr.* – 2013. – V. 19. – P. 25-38.
91. da Silva, A.B. Gastrointestinal absorption and toxicity of nanoparticles and microparticles: myth, reality and pitfalls explored through titanium dioxide / A.B. da Silva [et al] // *Curr Opin Toxicol.* – 2020. – V. 19. – P. 112-120.
92. Dar, AH. Nanotechnology interventions in aquaculture and seafood preservation / Dar AH [et al] // *Crit Rev Food Sci Nutr.* – 2020. – V. 60. – № 11. – P. 1912-1921.
93. Dawood, M.A.O. Selenium nanoparticles as a natural antioxidant and metabolic regulator in aquaculture: a review / M.A.O Dawood [et al] // *Antioxidants.* – 2021. – V. 10. – №9. – P. 1364.

94. Dawood, M.A.O. The potential role of nano-selenium and vitamin C on the performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / M.A.O Dawood [et al] // Environ Sci Pollut Res Int. – 2020. – V. 27. – № 9. – P. 9843-9852.
95. de Almada, C.N. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods / C.N. De Almada [et al] // Trends Food Sci. Technol. – 2016. – V. 58. – P. 96-114.
96. de Freitas, L.B.D. Effects of silicon on aluminum toxicity in upland rice plants / L.B.D. de Freitas [et al] // Plant Soil. –2017. – V. 420. – P. 263-275.
97. Dhariwal, A. MicrobiomeAnalyst: A web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data / A. Dhariwal [et al] // Nucleic Acids Res. – 2017. – V. 45. – № 1 – W180–W188.
98. Ducatelle, R. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspective / R. Ducatelle, V. Eeckhaut, F. Haesebrouck, F. Van Immerseel // Animal. – 2015. – №9(1). – P. 43-48.
99. Edevaldo, S. Assessment of Trace Elements in Tissues of Fish Species: Multivariate Study and Safety Evaluation / S. Edevaldo [et al] // J. Braz. Chem. Soc. – 2016. – V. 27. – P. 2234-2245.
100. Edgar, R. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. Nat Methods. – 2013. – V. 10. – № 10. – P. 996-998.
101. Edgar, R.C. UCHIME2: improved chimera prediction for amplicon sequencing. BioRxiv. – 2016. – P. 074252
102. Eftekhari, A. The promising future of nano-antioxidant therapy against environmental pollutants induced-toxicities / A. Eftekhari [et al] // Biomed Pharmacother. – 2018. – V. 103. – P. 1018-1027.
103. Eissa, N. Dietary supplementation impacts of potential non-pathogenic isolates on growth performance, hematological parameters and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / N. Eissa, E. Abou-ElGheit // Journal of Veterinary Advances. –2014. – V. 4. – № 10. – P. 712-719.

104. Eivazzadeh-Keihan, R. Recent advances in the application of mesoporous silica-based nanomaterials for bone tissue engineering / R. Eivazzadeh-Keihan [et al] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2020. – V. 107. – P. 110267.
105. El-Maddawy, Z.K. Use of zinc oxide nanoparticles as anticoccidial agents in broiler chickens along with its impact on growth performance, antioxidant status, and hematobiochemical profile / Z.K. El-Maddawy [et al] // *Life*. – 2022. – V. 12. – № 1. – P. 74.
106. Espe M. Functional amino acids in fish health and welfare / M. Espe, R. Waagbø, S.M. Andersen // *Frontiers in Bioscience-Elite*. – 2016. – V. 8. – №. 1. – P. 143-169.
107. Evans, D.H. Osmotic and ionic regulation in fishes. In *Osmotic and Ionic Regulation* / D.H. Evans, J.B. Claiborne // CRC Press: Boston, MA, USA, 2008; P. 295-366
108. Feng, J. Stimulating effect of silica-containing nanospheres on proliferation of osteoblast-like cells / J. Feng [et al] // *J Mater Sci Mater Med*. – 2007. – V. 18. – P. 2167-2172.
109. Ferla, M. P. Bacterial methionine biosynthesis / M.P. Ferla, W.M. Patrick // *Microbiology*. – 2014. –V. 160. – № 8. – P. 1571-1584.
110. Foroozandeh, P. Insight into cellular uptake and intracellular trafficking of nanoparticles / P. Foroozandeh, A.A. Aziz // *Nanoscale Res Lett*. – 2018. – V. 13. – № 1. – P. 339.
111. Fu, C. The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes / C. Fu [et al] // *Biomaterials*. – 2013. – V. 34. – №10. – P. 2565-2575.
112. Fujino, Y. Case of concrete hardener poisoning complicated with acute renal failure treated by hemodialysis / Y. Fujino [et al] // *Chudoku Kenkyu*. – 2007. – V. 20. – № 3. – P. 263-268.

113. Gaggia, F. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production / F. Gaggia, P. Mattarelli, B. Biavati // *Int. J. Food Microbiol.* – 2010. – V. 141. – №1. – S15–S28.
114. Galdiero, S. Silver nanoparticles as potential antiviral agents / S. Galdiero [et al] // *Molecules.* – 2011. – V. 16. – № 10. – P. 8894-8918.
115. Gangadoo, S. Selenium nanoparticles in poultry feed modify gut microbiota and increase abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* / S. Gangadoo [et al] // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2018. – V. 102. – № 3. – P. 1455-1466.
116. Garg, A. Nanoparticles as adjuvants in vaccine delivery / A. Garg, H.K. Dewangan // *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* – 2020. – V. 37(2). – P. 183-204.
117. Gil-Díaz, M. Immobilization and leaching of Pb and Zn in an acidic soil treated with zerovalent iron nanoparticles (nZVI): physicochemical and toxicological analysis of leachates / M. Gil-Díaz [et al] // *Water, Air, & Soil Pollution.* – 2014. – V. 225. – P. 1-13.
118. Gitelman, H.J. Silicon accumulation in dialysis patients / H.J. Gitelman, F.R. Alderman, S.J. Perry // *American Journal of Kidney Diseases.* – 1992. – V. 19. – №2. – P. 140-143.
119. Gonzales-Eguia, A. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets / A. Gonzales-Eguia [et al] // *Livestock Sci.* – 2009. – V. 126. – №. 1-3. – P. 122-129.
120. Gopi, M. Role of nanoparticles in animal and poultry nutrition: Modes of action and applications in formulating feed additives and food processing / M. Gopi [et al] // *Int. J. Pharmacol.* – 2017. – V. 13. – № 7. – P. 724-731.
121. Gutierrez, M.F. Metallic, metal oxide, and metalloid nanoparticles toxic effects on freshwater microcrustaceans: an update and basis for the use of new test species / M.F. Gutierrez [et al] // *Water Environ Res.* – 2021. – V. 93. – №11. – P. 2505-2526.

122. Han, F. Metabolic and immune effects of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* induced by dietary arginine / F. Han [et al] // *Aquacult Rep.* – 2018. – V. 10. – P. 8-16.
123. Haque, R. Tenets in Microbial Endocrinology: A New Vista in Teleost Reproduction. *Front. Physiol.* – 2022. – V. 13. – P. 871045.
124. Hasan, I. Sustainable Fish Feeds with Insects and Probiotics Positively Affect Freshwater and Marine Fish Gut Microbiota / I. Hasan [et al] // *Animals (Basel)*. – 2023. – V. 13. – № 10. – P. 1633.
125. Helland, S.J. Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect on whole-body amino acid concentrations / S.J. Helland [et al] // *Aquaculture*. – 2006. – V. 261. – № 4. – P. 1363-1370.
126. Hoseini, S.M. Roles of arginine in fish nutrition and health: insights for future researches / S.M. Hoseini [et al] // *Rev Aquacult.* – 2020. – V. 12. – P. 2091-2108.
127. Hoseinifar, S.H. Probiotics as means of disease control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives / S.H. Hoseinifar [et al] // *Front. Microbiol.* – 2018. – V. 9. – P. 2429.
128. Hosseini-Vardanjani, S.F. Effect of feeding nano-ZnO on performance, rumen fermentation, leukocytes, antioxidant capacity, blood serum enzymes and minerals of ewes / S.F. Hosseini-Vardanjani [et al] // *Small Rumin. Res.* – 2020. – V. 191. – P. 106170.
129. Jang, W.J. Dietary Supplementation of *Bacillus* sp. PM8313 with β -glucan Modulates the Intestinal Microbiota of Red Sea Bream (*Pagrus major*) to Increase Growth, Immunity, and Disease Resistance / W.J Jang [et al] // *Front Immunol.* – 2022. – V.13. –P.960554. doi: 10.3389/fimmu.2022.960554.
130. Jankowski, J. Nutritional and immunomodulatory function of methionine in poultry diets—a review / J. Jankowski, M. Kubi, Z. Zdu // *Annals of Animal Science*. – 2014. – V. 14. – № 1. – P. 17-32.

131. Jiang, J. *In vitro* and *in vivo* protective effect of arginine against lipopolysaccharide induced inflammatory response in the intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) / J. Jiang [et al] // Fish Shellfish Immunol. – 2015. – V. 42. – № 2. – P. 457-464.
132. Jugdaohsingh, R. Silicon and bone health / R. Jugdaohsingh [et al] // Journal of Nutrition, Health and Aging. – 2007. – V. 11. – № 2. – P. 99-110.
133. Jurkić, L.M. Biological and therapeutic effects of ortho-silicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: New perspectives for therapy / L.M. Jurkić [et al] // Nutrition & metabolism. – 2013. – V. 10. – P. 1-12.
134. Kalashnikov, V. The content of essential and toxic elements in the hair of the mane of the trotter horses depending on their speed / V. Kalashnikov [et al] // Environmental Science and Pollution Research. – 2018. – V. 25. – № 22. – P. 21961-21967.
135. Karavolos, M. Nanosized drug delivery systems in gastrointestinal targeting: interactions with microbiota / M. Karavolos, A. Holban // Pharmaceuticals (Basel). – 2016. – V. 9. – № 4. – P. 62.
136. Kaviyarasu, K. High performance of pyrochlore like $\text{Sm}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$ heterojunction photocatalyst for efficient degradation of rhodamine-B dye with waste water under visible light irradiation / K. Kaviyarasu [et al] // J. King Saud Univ. Sci. – 2020. – V. 32. – № 2. – P. 1516-1522.
137. Kayongo-Male, H. Effects of high levels of dietary silicon on bone development of growing rats and turkeys fed semi-purified diets / H. Kayongo-Male, J.L. Julson // Biological Trace Element Research. – 2008. – V. 123. – № 1-3. – P. 191-201.
138. Kesmati, M. Magnesium oxide nanoparticles reduce anxiety induced by morphine withdrawal in adult male mice / M. Kesmati [et al] // Physiol Pharmacol. – 2016. – V. 20. – P. 197-205.
139. Khan, I. Nanoparticles: properties, applications and toxicities / I. Khan, K. Saeed, I. Khan // Arab J Chem. – 2017. – V. 12. – № 7. – P. 908-931.

140. Kim, B.S. Enhanced bone regeneration by silicon-substituted hydroxyapatite derived from cuttlefish bone / B.S. Kim [et al] // Clin Oral Implants Res. – 2017. – V. 28. – № 1. – P. 49-56.
141. Kim, M.H. Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium-deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption / M.H. Kim [et al] // Biological Trace Element Research. – 2009. – V. 128. – № 3. – P. 239-247.
142. Kim, Y.R. Toxicity of colloidal silica nanoparticles administered orally for 90 days in rats / Y.R. Kim [et al] // Int. J. Nanomedicine. – 2014. – V. 9. – № 2. – P. 67-78.
143. Knight, D. Trends in silicosis prevalence and the healthy worker effect among gold miners in South Africa: a prevalence study with follow up of employment status / D. Knight [et al] // BMC Public Health. – 2015. – V. 15. – P. 1-9.
144. Krogdahl, A. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids / A. Krogdahl [et al] // Aquacult Res. – 2010. – V. 41. – № 3. – P. 333-344.
145. Kuang, S.Y. Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) / S.Y. Kuang [et al] // Fish & shellfish immunology. – 2012. – V. 32. – № 5. – P. 629-636.
146. Küçükbay, F. Z. Effects of dietary arginine silicate inositol complex on mineral status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / F. Z. Küçükbay [et al] // Aquaculture Nutrition. – 2008. – V. 14. – № 3. – P. 257-262.
147. Kumah, E.A. Human and environmental impacts of nanoparticles: a scoping review of the current literature / E.A Kumah [et al] // BMC Public Health. – 2023. – V. 23. – № 1. – P. 1059.
148. Lall, S.P. Nutrition and Metabolism of Minerals in Fish / S.P. Lall, S.J. Kaushik // Animals (Basel). – 2021. – V. 11. – № 9. – P. 2711.

149. Laxman, S. Methionine is a signal of amino acid sufficiency that inhibits autophagy through the methylation of PP2A / S. Laxman, B.M. Sutter, B.P. Tu // *Autophagy*. – 2014. – V. 10. – № 2. – P. 386-387.
150. Lee, J.A. Tissue distribution and excretion kinetics of orally administered silica nanoparticles in rats / J.A. Lee [et al] // *International Journal of Nanomedicine*. – 2014. – V. 9. – № 2. – P. 251-260.
151. Leng, D. The antibiofilm activity and mechanism of nanosilver- and nanozinc-incorporated mesoporous calcium-silicate nanoparticles / D. Leng [et al] // *Int J Nanomed*. – 2020. – V. 15. – P. 3921-3936.
152. Li, M. Responses of *Ceriodaphnia dubia* to TiO₂ and Al₂O₃ nanoparticles: a dynamic nano-toxicity assessment of energy budget distribution / M. Li, K.J. Czymmek, C.P. Huang // *J Hazard Mater*. – 2011. – V. 187. – № 1-3. – P. 502-508.
153. Li, X. Gut microbiota contributes to the growth of fast-growing transgenic common carp (*Cyprinus carpio* L.) / X. Li [et al] // *PLoS One*. – 2013. – V. 8. – № 5. – P. e64577. doi: 10.1371/journal.pone.0064577.
154. Li, X.Y. Effect of dietary lysine on growth, intestinal enzymes activities and antioxidant status of sub-adult grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) / X.Y. Li [et al] // *Fish physiology and biochemistry*. – 2014. – V. 40. – P. 659-671.
155. Liebert, F. Modeling lysine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the diet dilution technique / F. Liebert, K. Benkendorff // *Aquaculture*. – 2007. – V. 267. – № 1-4. – P. 100-110.
156. Lin, H. Effect of dietary arginine levels on the growth performance, feed utilization, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* / H. Lin [et al] // *Aquaculture*. – 2015. – V. 437. – P. 382-389.
157. Lin, W. Long-term crowding stress causes compromised nonspecific immunity and increases apoptosis of spleen in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) / W. Lin [et al] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2018. – V. 80. – P. 540-545.

158. Liu H. Yeast culture dietary supplementation modulates gut microbiota, growth and biochemical parameters of grass carp / H. Liu [et al] // *Microbial biotechnology*. – 2018. – V. 11. – № 3. – P. 551-565.
159. Liu, J. Effects of nano-silicon and common silicon on lead uptake and translocation in two rice cultivars / J. Liu [et al] // *Front. Environ. Sci. Eng.* – 2015. – V. 9. – P. 905-911.
160. Luyckx, M. Silicon and Plants: Current Knowledge and Technological Perspectives / M. Luyckx [et al] // *Front Plant Sci.* – 2017. – V. 8. – P. 411.
161. Macdonald, H.M. Dietary silicon interacts with oestrogen to influence bone health: evidence from the Aberdeen Prospective Osteoporosis Screening Study / H.M. Macdonald [et al] // *Bone*. – 2012. – V. 50. – № 3. – P. 681-687.
162. Machado, M. Dietary tryptophan and methionine as modulators of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) immune status and inflammatory response / M. Machado [et al] // *Fish & shellfish immunology*. – 2015. – V. 42. – № 2. – P. 353-362.
163. Magdalane, C.M. Improved photocatalytic decomposition of aqueous Rhodamine-B by solar light illuminated hierarchical yttria nanosphere decorated ceria nanorods / C.M. Magdalane [et al] // *J Mater. Res. Technol.* – 2019. – V. 8. – № 3. – P. 2898-2909.
164. Marcouli, P.A. Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* L / P.A. Marcouli [et al] // *Aquaculture Nutrition*. – 2006. – V. 12. – № 1. – P. 25-33.
165. Marengo, M. Comparison of elemental composition in two wild and cultured marine fish and potential risks to human health / M. Marengo [et al] // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2018. – V. 158. – P. 204-212.
166. Martin K.R. The Chemistry of Silica and its Potential Health Benefits / K.R. Martin [et al] // *J Nutr Health Aging*. – 2007. – V. 11. – P. 94-97.
167. Martínez, Y. The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases / Y. Martínez [et al] // *Amino acids*. – 2017. – V. 49. – P. 2091-2098.

168. Martins, G.P. Surplus arginine reduced lipopolysaccharide induced transcription of proinflammatory genes in Atlantic salmon head kidney cells / G.P. Martins [et al] // *Fish Shellfish Immunol.* – 2019. – V. 86. – P. 1130-1138.

169. Merkley, J.W. The effect of sodium fluoride and sodium silicate on growth and bone strength of broilers / J.W. Merkley, E.R. Miller // *Poultry Science.* – 1983. – V. 62. – № 5. – P. 798-804.

170. Miroshnikov, S. The content of toxic elements in hair of dairy cows as an indicator of productivity and elemental status of animals / S. Miroshnikov [et al] // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2019. – V. 26. – № 18. – C. 18554-18564.

171. Miroshnikov, S. The total accumulation of heavy metals in body in connection with the dairy productivity of cows / S. Miroshnikov [et al] // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2021. – V. 28. – № 36. – P. 49852-49863

172. Miroshnikov, S.A. Comparative assessment of effect of copper nano-and microparticles in chicken / S.A. Miroshnikov [et al] // *Oriental Journal of Chemistry.* – 2015. – V. 31. – № 4. – P. 2327.

173. Mohamed, A.H. Impact of nano-zinc oxide supplementation on productive performance and some biochemical parameters of ewes and offspring / A.H. Mohamed [et al] // *Egypt. J. Sheep Goats Sci.* – 2017. – V. 12. – P. 1-16.

174. Mohamed, M.Y. Effect of selenium yeast and/or vitamin E supplemented rations on some physiological responses of post-lambing ossimi ewes under two different housing systems / M.Y. Mohamed, E.M.M. Ibrahim, A.M. Abd El-Mola // *Egypt. J. Nutr. Feeds.* – 2017. – V. 20. – P. 361-378.

175. Montalban-Arques, A. Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates / A. Montalban-Arques [et al] // *Front Immunol.* – 2015. – V. 6. – P. 512.

176. Mukherjee, A. Single or conjoint application of autochthonous *Bacillus* strains as potential probiotics: Effects on growth, feed utilization, immunity and disease

resistance in Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) / A. Mukherjee, G. Chandra, K. Ghosh // Aquaculture. – 2019. – V. 512. – P. 734302.

177. Murthy N. Investigation of Biochemical and Histopathological Modifications Induced by Selenium Toxicity on Albino Mice // LAP Lambert Academic Publishing: Saarbrucken, Germany. – 2013.

178. Naeem, A. Silicon nutrition lowers cadmium content of wheat cultivars by regulating transpiration rate and activity of antioxidant enzymes / A. Naeem [et al] // Environ. Pollut. – 2018. – V. 242. – P. 126-135.

179. Napierska, D. Size-dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells / D. Napierska [et al] // Small. – 2009. – V. 5. – P. 846-853.

180. Nayak, S.K. Probiotics and immunity: a fish perspective / S.K. Nayak [et al] // Fish & shellfish immunology. – 2010. – V. 29. – № 1. – P. 2-14.

181. Naz, S. Comparative toxicity of green and chemically synthesized CuO NPs during pregnancy and lactation in rats and offspring: part I – hepatotoxicity / S. Naz [et al] // Chemosphere. – 2021. – V. 266. – P. 128945.

182. Ouyang, Z. Hydrothermal synthesis of a new porous zinc oxide and its antimicrobial evaluation in weanling piglets / Z. Ouyang [et al] // Livestock Sci. – 2021.– V. 248. – P. 104499.

183. Panel, E.B. Update of the list of QPS recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 8: suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2018 //EFSA Journal. – 2018. – V. 16. – №. 7. – C. 5315.

184. Park, J.H. Biodegradable luminescent porous silicon nanoparticles for *in vivo* applications / J.H. Park [et al] // Nat. Mater. – 2009. – V. 8. – № 4. – P. 331-336.

185. Peranzoni, E. Role of arginine metabolism in immunity and immunopathology / E. Peranzoni [et al] // Immunobiology. – 2008. – V. 212. – P. 795-812.

186. Pilaquinga, F. Fertility and iron bioaccumulation in *Drosophila melanogaster* fed with magnetite nanoparticles using a validated method / F. Pilaquinga [et al] // *Molecules*. – 2021. – V. 26. – № 9. – P. 2808.
187. Pineda, L. Influence of *in ovo* injection and subsequent provision of silver nanoparticles on growth performance, microbial profile, and immune status of broiler chickens / L. Pineda [et al] // *Open Access Anim Physiol*. – 2012. – V. 4. – P. 1-8.
188. Pohlenz, C. Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells / C. Pohlenz [et al] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2012. – V. 32. – № 5. – P. 762-768.
189. Pohlenz, C. Effects of dietary arginine on endocrine growth factors of channel catfish, *Ictalurus punctatus* / C. Pohlenz [et al] // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. – 2013. – V. 166. – P. 215-221.
190. Prabha, S. Nimesh Effect of size on biological properties of nanoparticles employed in gene delivery / S. Prabha [et al] // *Artif. Cells, Nanomed. Biotechnol*. – 2016. – V. 44. – № 1. – P. 83-91.
191. Purcar, V. Preparation and characterization of silica nanoparticles and of silica-gentamicin nanostructured solution obtained by microwave-assisted synthesis / V. Purcar [et al] // *Materials*. – 2021. – V. 14. – № 8. – P. 2086.
192. Qualhato, G. Genotoxic and mutagenic assessment of iron oxide (maghemite- γ -Fe₂O₃) nanoparticle in the guppy *Poecilia reticulata* / G. Qualhato [et al] // *Chemosphere*. – 2017. – V. 183. – P. 305-314.
193. Ramos-Pinto, L. Short-term supplementation of dietary arginine and citrulline modulates gilthead seabream (*Sparus aurata*) immune status / L. Ramos-Pinto [et al] // *Front Immunol*. – 2020. – V. 11. – P. 1544.
194. Reddy, Y.S. Equilibrium and kinetic studies of the adsorption of acid blue 9 and Safranin O from aqueous solutions by MgO decked FLG coated Fuller's earth / Y.S. Reddy [et al] // *J. Phys. Chem. Solids*. – 2018. – V. 123. – P. 43-51.

195. Rijkers, G.T. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research / G.T. Rijkers [et al] // *The Journal of nutrition*. – 2010. – V. 140. – № 3. – P. 671S-676S.
196. Ringø, E. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture / E. Ringø [et al] // *J Appl Microbiol*. – 2020. – V. 129. – № 1. – P. 116-136.
197. Rosi, N.L. Nanostructures in biodiagnostics / N.L. Rosi, C.A. Mirkin // *Chem. Rev.* – 2005. – V. 105. – P. 1547-1562.
198. Sahin, K. Dietary arginine silicate inositol complex improves bone mineralization in quail / K. Sahin [et al] // *Poultry Science*. – 2006. – V. 85. – № 3. – P. 486-492.
199. Sanati, M. Impact of gold nanoparticles on amyloid β -induced Alzheimer's disease in a rat animal model: involvement of STIM proteins / M. Sanati [et al] // *ACS Chem Neurosci*. – 2019. – V. 10. – № 5. – P. 2299-2309.
200. Sarkar, B. Selenium Nanoparticles for Stress-Resilient Fish and Livestock / B. Sarkar [et al] // *Nanoscale Res Lett*. – 2015. – V. 10. – № 1. – P. 371-385.
201. Scott, A. Copper nanoparticles as an alternative feed additive in poultry diet: a review / A. Scott [et al] // *Nanotechnol Rev*. – 2018. – V. 7. – № 1. – P. 69-93.
202. Shi, Y. Endotoxin promotes adverse effects of amorphous silica nanoparticles on lung epithelial cells *in vitro* / Y. Shi [et al] // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. – 2010. – V. 73. – №11. – P. 748-756.
203. Simakov, G. Histological changes in the liver, intestines and kidneys of *Clarias gariepinus* when using feed with chelated compounds / G. Simakov [et al] // *International Journal of Pharmaceutical Research*. – 2020. – V. 12. – № 3. – P. 2380-2391
204. Singh, R.K. Progress in nanotheranostics based on mesoporous silica nanomaterial platforms / R.K. Singh [et al] // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2017. – V. 9. – № 12. – P. 10309-10337.

205. Sohaebuddin, S.K. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent / S.K. Sohaebuddin [et al] // Particle and fibre toxicology. – 2010. – V. 7. – P. 1-17.
206. Spector, T. D. Choline-stabilized orthosilicic acid supplementation as an adjunct to calcium/vitamin D3 stimulates markers of bone formation in osteopenic females: a randomized, placebo-controlled trial / T.D. Spector [et al] // BMC Musculoskeletal disorders. – 2008. – V. 9. – C. 1-10.
207. Spillmann, M. S-adenosylmethionine (Ademetionine) in psychiatric disorders: historical perspective and current status / M. Spillmann, M. Fava // Cns Drugs. – 1996. – V. 6. – № 6. – P. 416-425.
208. Stipanuk, M.H. Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes / M.H. Stipanuk [et al] // J Nutr. – 1992. – V. 122. – P. 420-427.
209. Sutter, B.M. Methionine inhibits autophagy and promotes growth by inducing the SAM-responsive methylation of PP2A / B.M. Sutter [et al] // Cell. – 2013. – V. 154. – № 2. – P. 403-415.
210. Tang, L. Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) / L. Tang [et al] // Aquaculture nutrition. – 2009. – V. 15. – № 5. – P. 477-483.
211. Tang, X. Comprehensive profiling of amino acid response uncovers unique methionine-deprived response dependent on intact creatine biosynthesis / X. Tang [et al] // PLoS genetics. – 2015. – V. 11. – № 4. – P. e1005158.
212. Tarnecki, A.M. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics / A.M. Tarnecki [et al] // Journal of applied microbiology. – 2017. – V. 123. – № 1. – P. 2-17.
213. Thacker, P.A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review / P.A. Thacker [et al] // J Anim Sci Biotechnol. – 2013. – V. 4. – C. 1-12.

214. The Food and Agriculture Organization (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations

215. The Food and Agriculture Organization (2016). Food and agriculture organization of the United Nations statistical division. In: 1950-2013. <http://faostat3.fao.org/>.

216. The World Bank (2013) Fish to 2030—prospects for fisheries and aquaculture. World Bank Report Number 83177-GLB. Washington DC; FAO (2016) Food and agriculture organization of the United Nations statistical division. In: 1950-2013. <http://faostat3.fao.org/>

217. Tomaszewska, E. Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles with copper (II) salt on bone geometric and structural parameters as well as material characteristics in a rat model / E. Tomaszewska [et al] // J Trace Elem Med Biol. – 2017. – V. 42. – P. 103-110.

218. U.F.a.D. Administration GRAS Substances (SCOGS) Database—Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Silicates. GRAS Substances (SCOGS) Database—Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Silicates (2018)

219. Uribe, C. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review / C. Uribe [et al] // Vet. Med. – 2011. – V. 56. – P. 486-503

220. Van Der Zande, M. Sub-chronic toxicity study in rats orally exposed to nanostructured silica / M. Van Der Zande [et al] // Particle and fibre toxicology. – 2014. – V. 11. – №. 1. – P. 1-19.

221. Varghese, T. Dietary arginine modulates nonspecific immune responses in Indian Major Carp, *Cirrhinus mrigala* exposed to hypoxia / T. Varghese [et al] // Aquaculture. – 2020. – V. 529. – P. 735613.

222. Vianna, R.A. Effect of experimental arginine supplementation on the growth, immunity and resistance of tilapia fingerlings to *Streptococcus agalactiae* / R.A. Vianna [et al] // Aquacult Res. – 2020. –V. 51. – P. 1276-1283.

223. Waal, H.O. The mineral nutrition of livestock (3rd edn) - E.J. Underwood & N.F. Suttle (eds) // African Journal of Range & Forage Science. – 1999. – V. 16. – P. 47-48.
224. Wang, B. Effects of dietary arginine supplementation on growth performance, flesh quality, muscle antioxidant capacity and antioxidant-related signalling molecule expression in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) / B. Wang [et al] // Food Chem. – 2015. – V. 167. – P. 91-99.
225. Wang, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future / L. Wang, C. Hu, L. Shao // Int J Nanomedicine. – 2017. – V. 12. – P. 1227-1249.
226. Wang, W.W. Amino acids and gut function / W.W. Wang, S.Y. Qiao, D.F. Li // Amino acids. – 2009. – V. 37. – P. 105-110.
227. Waterland, R.A. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation / R.A. Waterland [et al] // The Journal of nutrition. – 2006. – V. 136. – № 6. – P. 1706S-1710S.
228. Watts, M. Immune responses of teleost fish / M. Watts, B.L. Munday, C.M. Burke // Aust. Veter J. – 2001. – V. 79. – P. 570-574.
229. Webb Jr, K.E. Intestinal absorption of protein hydrolysis products: a review / K.E. Webb Jr [et al] // Journal of Animal Science. – 1990. – V. 68. – № 9. – P. 3011-3022.
230. Weitzmann, M.N. Bioactive silica nanoparticles reverse age-associated bone loss in mice / M.N. Weitzmann [et al] // Nanomed Nanotechnol Nanomed. – 2015. – V. 11. – P. 959-967.
231. Wiens, M. Osteogenic potential of biosilica on human osteoblast-like (SaOS-2) cells / M. Wiens [et al] // Calcif Tissue Int. – 2010. – V. 87. – P. 513-524.
232. Wu, S. Composition, diversity, and origin of the bacterial community in grass carp intestine / S.Wu [et al] // PLoS One. – 2012. – V. 7. – № 2. – P. e30440.

233. Yang, P. Effects of dietary lysine on regulating GH-IGF system, intermediate metabolism and immune response in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) / P. Yang [et al] // Aquaculture Reports. – 2020. – V. 17. – P. 100323.
234. Yun, J.W. Comparative toxicity of silicon dioxide, silver and iron oxide nanoparticles after repeated oral administration to rats / J.W. Yun [et al] // Journal of Applied Toxicology. – 2015. – V. 35. – № 6. – P. 681-693.
235. Yusof, H.M. Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review / H.M. Yusof [et al] // J Anim Sci Biotechnol. – 2019. – V. 10. – P. 1-22.
236. Zdravkov, B. Pore Classification in the Characterization of Porous Materials: A Perspective / B. Zdravkov [et al] // Cent. Eur. J. Chem. – 2007. – V. 5. – P. 385-395.
237. Zhai, X. Antioxidant capacities of the selenium nanoparticles stabilized by chitosan / X. Zhai [et al] // J. Nanobiotechnol. – 2017. – V. 15. – P. 1-12
238. Zhang J. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with selenomethylselenocysteine in mice / J. Zhang, X. Wang, T. Xu // Toxicol Sci. – 2008. – V. 101. – № 1. – P. 22–31.
239. Zhang, C. Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. / C. Zhang [et al] // Aquaculture. – 2008. – V. 283. – № 1-4. – P. 123-127.
240. Zhang, K. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, nonspecific immunity, and disease resistance in relation to arginine catabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) / K. Zhang [et al] // Aquaculture. – 2017. – V. 468. – P. 246-254.
241. Zhang, W. pH-controlled release of antigens using mesoporous silica nanoparticles delivery system for developing a fish oral vaccine / W. Zhang [et al] // Front Immunol. – 2021. – V. 12. – P. 644396.

242. Zheng, H. L-arginine inhibited apoptosis of fish leukocytes via regulation of NFκB-mediated inflammation, NO synthesis, and anti-oxidant capacity / H. Zheng [et al] // *Biochimie.* – 2019. – V. 158. – P. 62-72.

243. Zhou, H. Stimulated osteoblastic proliferation by mesoporous silica xerogel with high specific surface area / H. Zhou [et al] // *J Mater Sci Mater Med.* – 2011. – V. 22. – P. 731-739.

244. Zhou, Y. Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery / Y. Zhou [et al] // *Acta Pharm Sin B.* – 2018. – V. 8. – № 2. – P. 165-177.

245. Zinngrebe, J. Ubiquitin in the immune system / J. Zinngrebe [et al] // *EMBO reports.* – 2014. – V. 15. – № 1. – P. 28-45.

8 ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1 – Состав и питательность комбикорма, г/кг

Показатели	Масса вещества	Показатели	Масса вещества
Состав комбикорма:		кальция, %	1,48
пшеница щуплая	270	фосфора, %	1,14
люпин кормовой	120	фосфора усвояемого, %	0,86
шрот соевый	147	натрия, %	0,37
мука рыбная	160	калия, г	9,37
отруби пшеничные	150	магния, г	2,26
дрожжи кормовые	50	серы, г	1,78
мел кормовой	10	железа, мг	239
премикс	10	меди, мг	10,14
известняковая мука	3	цинка, мг	43,9
фосфатидно-белковый концентрат	80	марганца, мг	53,8
		кобальта, мг	2,55
		йода, мг	0,63
В комбикорме содержится:		витаминов:	
обменной энергии, МДж	9,5	А, тыс. МЕ	1
сырого протеина, г	285	Д ₃ , тыс. МЕ	63
сырого жира, г	61,2	В ₁ , мг	5,75
сырой клетчатки, г	31,7	В ₂ , мг	4,45
лизина, %	1,74	В ₃ , мг	16,45
аргинина, %	1,11	В ₄ , мг	1365,4
метионина, %	0,37	В ₅ , мг	53,05
метионина+цистина, %	0,91	В ₆ , мг	2,95
треонина, %	0,78	В ₁₂ , мкг	55,05
триптофана, %	0,23	Вс, мг	0,63
валина, %	1,05		