

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ И  
АГРОТЕХНОЛОГИЙ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

На правах рукописи



**МАКАЕВА АЙНА МАРАТОВНА**

**Влияние минеральных кормовых добавок на обмен  
веществ, микробиом рубца и продуктивность молодняка  
крупного рогатого скота**

06.02.08 Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных  
животных и технология кормов

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
Е.А. Сизова

Оренбург – 2019

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Минеральное питание сельскохозяйственных животных.....	9
1.2 Использование высокодисперсных препаратов микроэлементов в питании животных.....	12
1.3 Использование препаратов высокодисперсных частиц в кормлении полигастричных животных.....	18
2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	21
2.1 Материалы и методы исследования.....	21
2.2 Результаты лабораторных исследований по оценке физико-химических и биологических свойств высокодисперсных частиц.....	33
2.2.1 Физико-химическая характеристика использованных высокодисперсных частиц.....	33
2.2.2 Биологическая оценка высокодисперсных частиц.....	34
2.2.2.1 Модель <i>E.coli</i> K12 TG1.....	34
2.2.2.2 Оценка переваримости сухого вещества корма <i>in vitro</i> при добавлении ВДЧ.....	39
2.2.2.3 Оценка переваримости сухого вещества корма <i>in situ</i> при добавлении ВДЧ.....	41
2.3 Результаты физиологических исследований на молодняке крупного рогатого скота.....	43
2.3.1 Условия содержания и кормление подопытных животных.....	43
2.3.2 Характеристика рубцового пищеварения подопытных животных....	44
2.3.2.1 Микрофлора и простейшие рубца.....	44
2.3.2.2 Микробиом рубца и его характеристики.....	45
2.3.2.2.1 Ферментативная активность микроорганизмов рубца	

подопытных животных.....	52
2.3.2.3 Биохимические характеристики рубцового пищеварения подопытных животных.....	54
2.3.2.4 Влияние ВДЧ на минеральный состав рубцовой жидкости при экспозиции в рубце подопытных животных.....	58
2.3.3.4 Морфо-биохимические показатели подопытных животных.....	65
2.3.3.4.1 Морфологический состав крови.....	65
2.3.3.4.2 Биохимические показатели крови молодняка крупного рогатого скота.....	66
2.3.3.4.3 Характеристики ферментативных систем крови подопытных животных.....	69
2.3.3.5 Переваримость корма и эффективность использования азота и энергии подопытными животными.....	73
2.3.3.5.1 Переваримость питательных веществ подопытными животными.....	73
2.3.3.5.2 Обмен энергии и азота в организме подопытных животных.....	74
2.3.3.5.3 Обмен кальция и фосфора в организме подопытных животных.....	76
2.4 Результаты научно-хозяйственного опыта.....	78
2.4.1 Корма и кормление подопытных животных.....	78
2.4.2 Рост и развитие подопытного молодняка.....	79
2.4.3 Экономическая эффективность выращивания бычков.....	80
3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	82
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	92
5. ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ.....	95
6. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	96
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

## **ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность темы.** Микробиом рубца это открытая экосистема, позволяющая жвачным использовать растительные субстраты не доступные для других видов сельскохозяйственных животных. Микробиоценозы рубца тесно связаны с продуктивностью (Jami E. et al, 2014) и здоровьем животных (Khafipour E. et al, 2009; Morgavi D.P. et al, 2013). Понимание важности микробиологических процессов в рубце жвачных для продуктивности предопределило особый интерес к проблеме. Наукой накоплен значительный экспериментальный материал о микробиоме рубца на фоне использования различных кормовых добавок, в том числе пробиотики (Long M. et al, 2014), органические кислоты (Nisbet D.J. et al, 2009) и др. Определенный интерес представляют исследования по использованию минеральных добавок для коррекции и управления составом микрофлоры рубца жвачных (Faulkner M.J. et al, 2017). Это во многом связано с эссенциальностью микроэлементов для микрофлоры рубца. Показано, что микроэлементы являются критическими компонентами рациона по влиянию на целлюлозолитическую активность микроорганизмов (Chamberlain C.C. et al, 1962; Kišidayová S. et al, 2018).

С недавнего прошлого исследования по оценке воздействия кормовых добавок на микробиом животных расширились с анализом влияния высокодисперсных веществ как перспективных источников микроэлементов (Yausheva E. et al, 2016; 2018).

**Степень разработанности темы.** Высокодисперсные препараты микроэлементов (ВДЧ) получают все более широкое применение в животноводстве (Fisinin V.I. et al, 2018). Это определяется неординарными биологическими свойствами ВДЧ - способностью проникать в ткани и органы, высокой площадью поверхности и др. (Silva G.A., 2008; Dominguez A. et al, 2014).

Одним из перспективных направлений использования ВДЧ как в постэмбриональный (Miroshnikova E. et al, 2015), так и в эмбриональный период развития животных (Sawosz F. et al, 2012) является использование в

качестве источников микроэлементов. Это определяется относительно меньшей токсичностью (Zhang J., 2009; Zhang X. D. et al, 2011), более высокой биодоступностью элементов из препаратов ВДЧ (Tang H.Q. et al, 2016), что снижает нагрузку на окружающую среду (Aguila E.M., 2017) и позволяет производить продукцию, обогащенную минеральными веществами (Ungvári É., 2014).

В настоящее время применение ВДЧ микроэлементов апробировано на многих видах животных: цыплятах-бройлерах (Briens M., 2013; Сизова Е.А. и др., 2018), рыбах (Аринжанов А.Е., и др., 2013; Miroshnikova E. et al., 2015), норках (Wu X., 2014), лошадях (Gordon M.E., 2013), свиньях (Bikker P., 2012), овцах (Xun W., 2012) и др. Полученные результаты свидетельствуют о перспективах использования ВДЧ в животноводстве (Мирошников С.А., Сизова Е.А., 2017). Между тем остается не изученным целый ряд вопросов, связанных с влиянием ВДЧ на микробиом и продуктивность животных, что не позволяет широко использовать препараты этого класса в питании жвачных.

В связи с этим, представляются актуальными следующие исследования.

**Цель и задачи исследований.** Целью исследований, в соответствии с программой ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы (№ 0761-2019-0005), являлось изучение действия высокодисперсных препаратов на рубцовое пищеварение, состав микробиомы рубца, обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота.

В соответствии с поставленной целью, в задачи исследований входило:

1. Изучить физико-химические характеристики высокодисперсных препаратов ( $\text{SiO}_2$ , FeCo, CuZn,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ).
2. Дать сравнительную биологическую оценку высокодисперсным препаратам на модели *Echerichia coli K12 TGI*, изучить влияние препаратов на перевариваемости корма *in vitro* и *in situ*.
3. Изучить особенности рубцового пищеварения при использовании в питании высокодисперсных препаратов.

4. Изучить микробиом рубцового содержимого при поступлении с кормом высокодисперсных препаратов микроэлементов.

5. Изучить особенности минерального обмена в рубце при поступлении высокодисперсных препаратов микроэлементов.

6. Определить влияние опытных кормовых добавок на переваримость и обмен веществ в организме крупного рогатого скота.

7. Определить экономическую эффективность использования препаратов ВДЧ в питании молодняка крупного рогатого скота.

**Научная новизна.** Впервые дана комплексная оценка использования в питании крупного рогатого скота высокодисперсных препаратов  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{FeCo}$ . Изучена переваримость корма, обмен веществ, продуктивность молодняка крупного рогатого скота при скармливании ВДЧ.

Впервые изучен таксономический состав микробиома жвачных на фоне поступления высокодисперсных частиц. Выявлен факт нарастания числа бактерий в рубце, относящихся к филуму *Firmicutes* до 47,64% при использовании ВДЧ  $\text{FeCo}$ . В эксперименте описана смена доминирующих семейств, выражающаяся увеличением *Streptococcaceae* в 2,07 раза и уменьшением доли *Prevotellaceae* в 1,29 раза при скармливании ВДЧ  $\text{SiO}_2$ . Определено увеличение численности доминирующего вида рубца жвачных - *Streptococcus bovis* при скармливании ВДЧ  $\text{FeCo}$  или  $\text{SiO}_2$ .

Впервые, описан неординарный факт увеличения бактериальной биомассы при использовании в кормлении животных высокодисперсных частиц диоксида кремния.

Получены новые данные о влиянии препаратов ВДЧ  $\text{SiO}_2$  и  $\text{FeCo}$  на обмен 19 эссенциальных, условно-эссенциальных и шести токсических химических элементов в рубце. Описан факт напряжения обмена в рубцовой жидкости хрома, железа, ванадия, ряда других химических элементов на фоне присутствия в рационе ВДЧ.

Впервые предложен способ повышения переваримости компонентов корма жвачными животными, через использование высокодисперстных частиц сплава железа и кобальта (RU 2 692 662).

**Теоретическая значимость работы** состоит в разработке гипотезы формирования ответа организма жвачных на поступление из вне высокодисперсных препаратов, выражающегося в том числе в изменении микробиома рубца, повышении целлюлозо- и амилолитической активности рубцового содержимого, направленности биохимических процессов в рубце, изменении соотношения микроэлементов и снижении уровня токсичных элементов в рубцовой жидкости и как совокупный результат повышение интенсивности роста и развития молодняка крупного рогатого скота.

**Практическая значимость работы.** Практическая ценность исследования заключается в том, что полученные данные могут быть использованы при разработке систем кормления молодняка крупного рогатого скота и оптимизации процессов питания.

Применение препаратов высокодисперсных частиц диоксида кремния, сплава железа и кобальта в кормлении молодняка крупного рогатого скота позволит повысить эффективность использования энергии и протеина корма, увеличит рентабельность производства выращивания животных на 2,2 -2,4%.

**Методология и методы исследования.** Для достижения поставленной цели и решения задач использовались стандартные зоотехнические, биохимические и физиологические методы исследования с использованием современного оборудования.

Полученный результат обработан с применением общепринятых методик при помощи программного пакета «Statistica 10.0».

#### **Положения, выносимые на защиту:**

Включение высокодисперсных препаратов оксида кремния, сплава железа и кобальта в рацион молодняка крупного рогатого скота сопровождается изменениями в микробиоме рубца, ферментативной активности и элементном составе рубцового содержимого.

Скармливание высокодисперсных препаратов оксида кремния, сплава железа и кобальта позволяет повысить эффективность использования питательных веществ корма, увеличить продуктивность и рентабельность производства прироста живой массы крупного рогатого скота.

**Степень достоверности и апробации работы.** Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы фактическими данными. Подготовка, биометрический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа. Основные положения работы доложены и обсуждены на заседании научных сотрудников и специалистов отдела кормления сельскохозяйственных животных имени профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (Оренбург, 2017, 2018, 2019).

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе три в изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, 2 в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 1 патент на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 127 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, предложений производству, содержит 30 таблиц, 15 рисунков. Список использованной литературы включает 231 источник, в том числе 118 зарубежных авторов.

# 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Минеральное питание сельскохозяйственных животных

Кормление является одним из наиболее значимых факторов, оказывающих влияние на продуктивность и здоровье сельскохозяйственных животных. Полноценное кормление, возможно при условии обеспечения животных всеми элементами питания, в том числе и минеральными веществами в оптимальных количествах и соотношении (Бабин Я.А. и др. 1969; Фисинин В.И., Егоров И.А., 2015).

Минеральные вещества необходимы для жизнедеятельности организма. При их участии связывается и транспортируется кислород, выводится углекислый газ; поддерживается осмотическое давление в клетках; регулируется кислотно-щелочное равновесие; активизируется работа ферментативных систем. Минеральные вещества необходимы для детоксикации и выведения продуктов распада. Недостаток или избыток минеральных веществ в рационе, известные как дисэлементозы вызывают нарушения обмена веществ и сопровождаются различными заболеваниями животных (Георгиевский В.И. и др., 1979).

Дисэлементозы могут иметь различную этиологию и их развитие обусловлено как условиями биогеохимических провинций (Нотова С.В., и др., 2006; Мирошников С.А., и др., 2008); особенностями питания животных (Мирошников С.А. и др. 2006; Мирошников С.А. и др. 2010); наличием в рационе веществ снижающих биодоступность минералов (Мирошников С.А., и др. 2000); антагонистов (Zheng S. et al, 2016); технологией подготовки кормов к скармливанию (Соколова О.Я. и др., 2006; Холодилина Т.Н. и др., 2007; Быков А.В. и др., 2009; Курилкина М.Я. и др., 2010; Мирошников С.А. и др., 2012); различной дисперсностью кормов (Курилкина М.Я. и др., 2011) и многими другими факторами.

В организме животных выделяется свыше 80 химических элементов, которые принимают участие во всех обменных процессах (Георгиевский В.И. и др. 1979; Макарец Н.Г., 2010). В работах В.Ф. Лемеш, (1975), А.М. Венедиктова, (1990), Б. Д. Кальницкого, (1990), отмечается, что недостаток в рационах животных жизненно необходимых микроэлементов, в том числе железа, меди, цинка, марганца, кобальта и йода, вызывают нарушения жизнедеятельности организма и приводят к снижению продуктивности сельскохозяйственных животных.

Признаки несбалансированности рациона по содержанию минеральных веществ хорошо известны, это – замедление роста, снижение продуктивности животных, ухудшение качества продукции животноводства, появление эндемических расстройств обмена веществ и заболеваний. К последним относятся анемии, гипо- и гипервитаминозы, рахиты, эндемический зоб, расстройства костно-суставной системы и другие болезни, ослабляющие организм животных, с возможным значительным отходом поголовья скота и птицы (Ковальский В.В. 1964)

В числе минеральных веществ принято различать эссенциальные, условно-эссенциальные и токсические элементы. При этом в зависимости от массовой доли выделяют: макроэлементы (кальций, натрий, калий, магний, хлор, фосфор, сера); микроэлементы (железо, медь, кобальт, йод, марганец, цинк, фтор, молибден, селен и др.) (Урзаев Н.А. 1978; Скальный А.В., Рудаков И.А., 2004).

Каждый из элементов выполняет определенные функции, но между отдельными элементами существует тесная взаимосвязь — синергическая (железо и медь, цинк и кобальт, кальций и магний) или антагонистическая (цинк и медь, цинк и железо, железо и кобальт, марганец и железо, натрий и калий). Одни минеральные вещества усиливают действие витаминов, другие тормозят. Обогащение рационов селеном снижает потребность животных в витамине Е, обогащение кобальтом — в витамине В<sub>12</sub>. В процессе жизнедеятельности минеральные вещества постоянно выводятся из

организма, поэтому при организации кормления учитывают, как потребность животного, так и содержание химических элементов в кормах (Георгиевский В.И. и др. 1979).

На практике недостаток микроэлементов компенсируется введением в рацион химических соединений. Наиболее широко для этих целей используются минеральные соли микроэлементов. Между тем минеральные соли как источники микроэлементов имеют целый ряд недостатков, в числе которых низкая биодоступность химических элементов (Шипилов В., 1999, Егоров И.А., 2004), что сопряжено с выделением большого количества металлов с пометом и загрязнением окружающей среды (Егоров И., 2014). Минеральные соли в желудочно-кишечном тракте способны образовывать нерастворимые соединения, которые осаждаются на стенках кишечника или естественным путём удаляются из организма (Егоров И., Селина Н., 2004; Егоров И., Папазян Т., 2007). Другим существенным недостатком минеральных солей является развитие дисбиозов и формирование антибиотикорезистентности микрофлоры кишечника (Yazdankhah S. et al, 2014). Введение сульфатов микроэлементов сопровождается гидролизом в желудке, в результате чего образуется свободная серная кислота, воздействие которой приведет к нежелательным изменениям внутренних органов и связанной с этим снижением продуктивности животных (Иванов И.С. и др., 2016).

В связи с этим, на смену минеральным источникам эссенциальных элементов приходят их аналоги с более высокой биодоступностью и продуктивным действием (Околелова Т.М. и др., 2000; Галиев Д.М., 2015).

Одним из таких решений является использование препаратов высокодисперсных частиц (ВДЧ) минеральных веществ (Синкина Е.Б. и др., 1985; Глущенко Н.Н. и др., 2006; Райкова А.П. и др., 2006; Глущенко Н.Н. и др., 2007; Глущенко Н.Н., Богословская О.А., 2009; Назарова А.А., Полищук С.Д., 2009).

## **1.2 Использование высокодисперсных препаратов микроэлементов в питании животных**

В настоящее время в связи со стремительным развитием нанотехнологий, широкого спектра возможностей их применения в различных сферах деятельности, а также особыми физическими и химическими свойствами, возрастает научный интерес к данной сфере деятельности.

Современные нанотехнологии кардинально изменяют общество XXI века. В наноиндустрии к 2020 году будут созданы отрасли промышленности и сельского хозяйства в которых будет занято около шести миллионов человек с оборотом более 3 трлн. долларов США (Росо М.М., 2011). Фактическое производство высокодисперсных материалов к 2013 году уже превысило 100 тыс. тонн в год (Макаров Д.В., 2014). Высокодисперсным материалом принято называть естественный, случайный или произведенный материал, содержащий частицы в несвязанном состоянии, либо как совокупность, либо как агломерат и где, на 50 % или более частиц в ряду распределения по размеру, один или несколько наружных размеров в диапазоне размеров 1-100 нм (European Commission, 2013).

Препараты ВДЧ широко используются в биологии, медицине и сельском хозяйстве в качестве контрастных агентов (Weinstein J.S. et al, 2010); лекарственных средств (Chatterjee D.K. et al, 2011; Wahajuddin A. S., 2012); при лечении рака (Chopra A., 2013); при томографии (Liu D.F. et al, 2014; Pan D. et al, 2011); стимуляторов роста растений (Дерябина Т.Д., 2015; Короткова А.М., 2017). Все более широкое применение находят высокодисперсные фракции при производстве гербицидов и пестицидов, в том числе у таких мировых лидеров как компании Syngenta (Швейцария) и BASF (Gouin S., 2004; Prasad R. et al, 2017) и многое другое.

Интерес к ВДЧ в медицине, биологии и сельском хозяйстве подтверждается небывалым интересом научной общественности к проблеме.

В частности, в базе [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) по ключевому слову Nanoparticles число работ превысило 183 тысячи. Судя по электронному ресурсу в мире только в 2018 году по этой проблематике было опубликовано свыше 20,4 тысяч научно-исследовательских работ!

Уникальные перспективы использования ВДЧ во многом определяются их неординарными биологическими свойствами (Kaur L., Singh I., 2016; Neagu M. et al, 2016). Способность ВДЧ проникать в ткани и органы, огромная площадь поверхности (Dominguez A. et al, 2014) формируют ранее не известные биологические эффекты, использование которых на практике позволяет создавать принципиально новые, не имеющие аналогов технологии.

Животноводство не является исключением, препараты ВДЧ сегодня применяют как источники микроэлементов в рационах животных (Глущенко Н.Н., 1988, 2002; Куренева Е.Н., 1984; Богословская О.А. и др., 2007; Miroshnikova E. et al, 2015), ОВО добавки (Sawosz F. et al, 2012), корректоры микробиома животных (Pineda L. et al, 2012); иммуностимуляторы (Shirsat S. et al, 2016); детоксиканты (Shi Y.H. et al, 2006; Takeda K., 2011; Kim H.J. et al, 2012); стимуляторы роста (Wang M.Q. et al, 2012, 2014); препараты стимулирующие ранозаживления (Фаткуллина Л.Д., 1985).

Очевидно, что нанотехнологии обеспечат производство продукции животноводства на новом технологическом уровне (Verma A.K. et al, 2012). Это хорошо понимают ведущие мировые производители. В частности, Американской ассоциацией производителей кормов (Afia) анансированы исследования по развитию нанотехнологий в области кормления сельскохозяйственных животных. Министерство науки и техники Индии (DST) инвестировало 20 миллионов долларов в свою научно-техническую инициативу Nanomaterials IVRI-Zinc & Selenium Nanoparticle в качестве кормовой добавки (<https://www.slideshare.net/drpkingshbvc/nano-vetpankgmailcom>).

Приготовление наноформ рассматривается как один из путей повышения биодоступности компонентов пищи (Mishra B. et al, 2010; Rein M.J. et al, 2013). Это в полной мере относится к препаратам ВДЧ жизненно необходимых металлов (Богословская О.А. и др., 2009; Rasporov R.V. et al, 2011; Ларин С.Л. и др., 2017). Это подтверждается практикой работы целого ряда мировых фармакологических корпораций. Так, Американской компанией AMAG Pharmaceuticals Inc. создан новый препарат железа (Feraheme®) для человека на основе ВДЧ этого металла. Feraheme® одобренный US Food and Drug Administration (FDA) для железа-заместительной терапии (Kowalczyk M. et al, 2011), для проведения исследований МРТ в качестве контрастного вещества (Weinstein J.S. et al, 2010).

Препараты ВДЧ микроэлементов превосходят по своим характеристикам минеральные соли и органические формы. Сравнение ВДЧ селена с другими источниками этого элемента, в числе которых селенит натрия, селенометионин и др. показывает заметно более низкую их острую, краткосрочную и субхроническую токсичность (Zhang J. et al, 2009, 2011); более высокую их эффективность в способности увеличить активность ферментативных систем, содержащих селен (Zhang J.S. et al, 2001, 2008; Mohapatra P. et al, 2014); способности стимулировать продуктивность животных (Zhou X., Wang Y., 2011).

Сравнительная оценка ВДЧ металлов с органическими и минеральными формами в бактериальных тестах проведенная Е.А. Сизовой (2017) показала, что токсичность смеси аспаргинатов меди и цинка, оцениваемая как ЕС50 отмечалась при концентрации 0,00019 М, ЕС50 ВДЧ сплава Cu-Zn 0,00078 М на 60 минуте контакта. Биологическая оценка минеральных солей, используемых в рецептах комбикормов, продемонстрировала ингибирование свечения на всех временных этапах контакта (0-180 мин). В отношении тест-системы на 60 мин контакта токсичностью в большей степени обладал  $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  ЕС50 -  $1 \times 10^{-5}$  М;

EC50  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  -  $4 \times 10^{-5}$  М; EC50 ВДЧ Cu - 0,006 М; EC50 ВДЧ Fe - 0,25 М; EC50 смеси аспарагината меди и цинка – 0,00019 М. Относительно небольшая биотоксичность ВДЧ металлов-микроэлементов позволяет использовать их для много численных внутри мышечных инъекций. Установлено, что при многократном введении ВДЧ меди в биотических дозах критически не изменяются концентрации общего пула микроэлементов, токсических и эссенциальных элементов, а также содержание самой вводимой меди в тканях животных. Это свидетельствует о стабильности общего пула макро- и микроэлементов и об отсутствии нарушений со стороны системы гомеостатического регулирования уровня металлов в организме при введении препаратов ВДЧ (Sizova E.A. et al, 2011; Сизова Е.А., 2012).

Первые работы по использованию ВДЧ металлов в питании животных проведены в СССР. В 1984 году Е.Н. Куреновой и коллегами патентом защищена разработка по применению ВДЧ в составе комбикорма для цыплят-бройлеров (авторское свидетельство СССР № 1346114).

В последующем проблема использования высокодисперсных веществ в животноводстве получила дальнейшее развитие и ВДЧ рекомендованы к применению в различных областях животноводства (Никонов И.Н., 2011) - скотоводстве (Ильичев Е., 2011), птицеводстве (Федоров Ю.И. и др., 1979; Куренева Е.Н. и др., 1984; Ле Вьет Фыонг, 2005; Scott A. et al, 2018; Патент РФ 2450532), свиноводстве (Gonzales-Equia A. et al, 2009; Сайтханов Э.О. и др., 2011; Каширина Л.Г. и др., 2012, 2013); рыбоводстве (Аринжанов А.Е. и др., 2013, 2014); кролиководстве (Куликова О.В. и др., 2012; Grobe A., 2012) и др.

Как показывают результаты исследований размерность частиц препаратов в широком деапазоне от 70-80 нм до 10 мкм не имеет принципиального значения, что позволяет рассматривать нано- и микрочастицы как перспективные источники микроэлементов в питании животных. Это подтверждено целым рядом исследований. Так Е.В. Яушевой

(2014, 2016) в исследованиях на цыплятах-бройлерах показано, что независимо от размера частиц высокодисперсных препаратов меди и железа их скармливание сопровождается повышением интенсивности роста и конверсии корма птицей. Причем эффект от использования ВДЧ меди оказывается несколько большим. При этом период наибольшего повышения прироста массы тела зависит от размера частиц меди и отмечается на 4 сутки (13 %) при использовании ВДЧ, на 10 сутки (6,61 %) для агломератов ВДЧ и на 17 сутки (8,8 %) при использовании микрочастиц.

Показано, что повышение продуктивности цыплят-бройлеров на фоне применения ВДЧ металлов-микроэлементов связано с изменением целого ряда параметров организма животных. В числе которых уровень эритроцитов, концентрация гемоглобина, соотношение белых кровяных тел, уровень общего белка в сыворотке крови, активизация белкового и минерального обмена и др. (Сизова Е.А. и др., 2009; Яушева Е.В. и др., 2013, 2014; Sizova E.A. et al, 2015).

Выявлены различия в действии высокодисперсных частиц меди в отношении организма цыплят-бройлеров по времени наступления эффектов. Внутримышечные инъекции ВДЧ меди сопровождаются относительно быстрым наступлением ростостимулирующего действия и изменениями в метаболизме веществ. Аналогичные эффекты от применения агломератов наночастиц и микрочастиц меди более пролонгированы по времени (Miroshnikov S.A. et al, 2015).

Установлено, что дополнительное поступление в организм железа, независимо от его формы, приводит к накоплению данного элемента в мышечной ткани, а также сопровождается повышением содержания кобальта и меди (Сизова Е.А. и др., 2014).

Таким образом, изменения в обмене железа в организме животных вызванные внутримышечными инъекциями ВДЧ и их агломератов различаются. Длительность элиминации железа из депо, созданного внутримышечными инъекциями позволяет рассматривать препараты

агломератов ВДЧ железа в качестве источника микроэлемента при лечении элементозов (Sizova E.A. et al, 2015).

Опыты по изучению биологической активности ВДЧ железа на курах показали, что у птиц после употребления препарата увеличивается яйценоскость (на 5-7 дней раньше), что по мнению авторов выявляет положительное биологическое действие ВДЧ (Коваленко Л.В., 2006; Сизова Е.А. и др., 2014).

При использовании ВДЧ сплава железа и кобальта в составе рационов отмечается повышение уровня эссенциальных и условно эссенциальных микроэлементов, и снижения уровня токсичных элементов в теле рыб. Помимо этого, ВДЧ железа способны ускорять рост животных и птиц, и характеризуются большей биодоступностью (96%) по сравнению с неорганическими солями железа и его органическими формами (Мирошникова Е.П. и др., 2012; 2013, 2016).

Биологическая доступность ВДЧ железа во многом зависит от способа его восстановления и размера частиц. Например, выявлено, что введение в рацион цыплят-бройлеров высокодисперсных порошков железа, меди и цинка (размер частиц 50-100 мкм) в дозе, вдвое меньшей по сравнению с сульфатами, полностью обеспечивает потребность птицы в микроэлементах и оказывает ростостимулирующее действие. Еще более эффективны в кормлении высокодисперсные порошки металлов. При уменьшении размера частиц восстановленного железа с 250-315 до 160-200 мкм биологическая доступность элемента возрастала на 24%. Растворимость источников железа имеет большее значение для его всасывания, чем валентность: по степени растворимости соединений железа в 0,1 М HCl можно судить об их биологической доступности для животных (Patel S. et al, 2017; Taschetto D. et al, 2017; Ogbomida E.T. et al, 2018).

Исследование показало, что бедренные кости из группы NanoCu характеризуются более высоким весом и объемом, и значительно большей

устойчивостью к трещинам по сравнению с контрольной группой (Mroczek-Sosnowska N. et al, 2017).

### **1.3 Использование препаратов высокодисперсных частиц в кормлении полигастричных животных**

Использование препаратов высокодисперсных частиц металлов-микроэлементов имеет большие перспективы в животноводстве, причём для жвачных животных это определяется воздействием высокодисперсных веществ на микробиоценозы рубца (Кондрахина И.П., 2004; Алексеева Л.В., 2016), что имеет экспериментальное подтверждение (Kaweeteerawat С., 2015; Лукьянов А.А., 2016).

Первые исследования по использованию кормовых добавок в высокодисперсной форме в кормлении крупного рогатого скота проведены в США в рамках работ, по оценке влияния клинкерной пыли с катодов электрофильтров. Авторами получены впечатляющие результаты по увеличению продуктивности молодняка скота при скармливании высокодисперсной клинкерной пыли. Отчасти это было вызвано крайне разнообразным минеральным составом клинкера – более 60 химических элементов (Кузнецова А.С., 2008). Но возможно, что наибольший эффект был достигнут за счет высокодисперсности пыли и высокой доступности минералов из её состава. В последующем аналогичные исследования были проведены в нашей стране во Всероссийском НИИ мясного скотоводства (Неретин Н.А., 2000).

По мере развития технологий на смену природных субстратов в высокодисперсной форме пришли искусственно синтезированные комплексы. Одни из первых работ по использованию ВДЧ в кормлении жвачных проведены в Рязанском государственном агротехнологическом университете имени П.А. Костычева А.А. Назаровой, С.Д. Полищук (2009). В

последующем работы по данной проблематике получили широкое распространение (Каширина Л.Г., Кулаков В.В., 2012).

Как следует из полученных результатов введение в рацион жвачных ВДЧ сопровождается разносторонними изменениями в различных тканях и органах животных, отражаясь в том числе на картине лейкограммы крови животных на фоне использования ВДЧ кобальта и железа (Алексеева Л.В. и др., 2013); на физиологическом состоянии (Камынина О.А., 2013); элементном статусе, проницаемости клеточных мембран, возбудимости нервно-мышечных синапсов при использовании ВДЧ меди (Алексеева Л.В. и др., 2017); на аминокислотном обмене, пищевой ценности мяса (Тезиев Т.К. и др., 2012) и на течении процессов пищеварения при скармливании ВДЧ железа, (Хубулова З., Кокоева А.Т., 2016); обмен веществ при применении ВДЧ диоксида кремния (Пресняк А.Р., 2015), что в конечном итоге позволяет увеличить продуктивность животных (Степанова И.А. и др., 2018).

Одним из наиболее детальных исследований по оценке воздействия ВДЧ на рубцовое пищеварение и метаболизм жвачных является диссертационная работа Мирошникова И.С. (2017). Автором установлено, что скармливание молодняку крупного рогатого скота препаратов ВДЧ металлов-микроэлементов сопровождается изменениями в рубцовом пищеварении. Причем наиболее значительно при использовании ВДЧ латуни и железа, что приводит к увеличению концентрации ЛЖК и аммиака в рубцовом, увеличению числа инфузорий в рубце. Важным на наш взгляд является выявленное в этом исследовании комплексное влияние ВДЧ на элементный состав биомассы бактерий и простейших рубца. Любопытно, что на фоне использования препаратов ВДЧ смеси меди и цинка отмечалось значительное накопление в биомассе простейших Pb, Cu, Sn, Ni до величин в 24,8 – 45,4 раза превышающих контрольные значения. При этом содержание этих веществ в бактериальной массе не значительно отличается от контроля. В то время использование ВДЧ сплава меди и цинка, в тех же дозировках, не сопровождается значительными отличиями элементного состава биомассы

простейших и бактерий, с наибольшим накоплением Na, Li, Cd. Ввиду отсутствия объяснения полученным фактам их дальнейшее изучение представляется интересным.

Целью наших исследований являлось изучение биологических свойств высокодисперсных порошков металлов по их влиянию на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота.

## 2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Материалы и методы исследования

Исследования были проведены в период с 2015 по 2019 гг. в отделе кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (ФНЦ БСТ РАН). Для проведения исследований была использована база Центра коллективного пользования и Центра нанотехнологий в сельском хозяйстве ФНЦ БСТ РАН, а также производственного участка «Покровский сельскохозяйственный колледж-филиал» ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ».

Исследования выполнены в три этапа. На первом была проведена серия экспериментов по оценке биологической активности и выбору перспективных для применения в питании животных препаратов высокодисперсных частиц (ВДЧ) *in vitro*. На втором этапе проводилось определение переваримости питательных веществ кормов методом *in situ* и дана физиологическая оценка использованных препаратов ВДЧ. На заключительном этапе проведен научно-хозяйственный опыт (рисунок 1).

В экспериментальных исследованиях в качестве минеральной кормовой добавки были использованы ВДЧ  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  и ВДЧ сплавов  $\text{FeCo}$ ,  $\text{CuZn}$ , изготовленные ООО «Передовые порошковые технологии» (г. Томск), ФГБОУ ВПО «КНИТУ», ЦКП (г. Казань), ООО "Платина" (г. Москва) и Институтом физики металлов УрО РАН (г. Екатеринбург).

Материаловедческая аттестация препаратов ВДЧ проведена методами электронной сканирующей и просвечивающей микроскопии на приборах – JSM 7401F и JEM-2000FX («JEOL», Япония). Рентгенофазовый анализ выполнен на дифрактометре ДРОН-7.



Рисунок 1 – Схема исследований

На первом этапе исследований дана биологическая оценка высокодисперсных частиц как перспективным кормовым добавкам. В качестве объекта использован генноинженерный люминесцирующий штамм *Echerichia coli* K12 TG1, конститутивно экспрессирующий *lux CDABE*-гены природного морского микроорганизма *Photobacterium leiognathi* 54D10,

производство НВО «Иммунотех» (Россия, Москва) в лиофилизированном состоянии под коммерческим названием «Эколюм». Непосредственно перед проведением исследований данный препарат восстанавливали добавлением охлажденной дистиллированной воды и стандартизировали до оптической плотности 0,3 при длине волны 600 нм. Суспензию бактерий выдерживали при температуре +2-4 °С в течение 30 мин., после чего доводили температуру бактериальной суспензии до 15-25 °С.

При проведении теста использовался алгоритм аналогичный использованному Д.Г. Дерябиным с соавт. (2011) при анализе биотоксичности ВДЧ микроэлементов. Для этого в ячейки 96-луночных планшетов вносили тестируемые препараты ВДЧ, и суспензию люминесцирующих бактерий в соотношении 1:1, после чего планшет помещали в измерительный блок анализатора микропланшетного Infinite PRO F200 (TECAN, Австрия), осуществляющего регистрацию интенсивности свечения полученных смесей в течение 180 мин с интервалом 3 мин. Результаты влияния препаратов ВДЧ на интенсивность бактериальной биолюминесценции оценивали, как (1):

$$I = \frac{I_{k_{0min}} \times I_{o_{nmin}}}{I_{k_{nmin}} \times I_{o_{0min}}}, \quad (1)$$

где  $I_k$  и  $I_o$  – интенсивность свечения контрольных и опытных проб на 0-й и n-й минутах измерения.

Первая серия экспериментов *in vitro* была направлена на решение задач по оценке биологической активности ВДЧ ( $SiO_2$ ,  $Cr_2O_3$ ,  $FeCo$ ,  $CuZn$ ), в тесте ингибирования бактериальной люминесценции и подтверждение отсутствия токсичности дозировок, выбранных для тестирования на животных в тесте ингибирования бактериальной люминесценции.

Вторая серия экспериментов была направлена на исследование продуктивного действия и физиологических особенностей животных при использовании ВДЧ.

Результаты исследований *in vitro*, полученные на начальном этапе исследований использованы при планировании экспериментов на рубцовой жидкости крупного рогатого скота в ходе последующих исследований. Эксперименты были проведены в условиях Центра коллективного пользования и Центра нанотехнологий в сельском хозяйстве ФНЦ БСТ РАН. В основе методики исследований использован принцип моделирования процессов пищеварения жвачных животных в условиях *in vitro* при помощи «искусственного рубца KPL 01». В качестве субстрата были использованы пшеничные отруби в натуральном виде.

Переваримость сухого вещества *in vitro* была установлена по методике доктора В. Лампетера в модификации Г.И. Левахина, А.Г. Мещерякова (2003) при помощи «искусственного рубца KPL 01». Методика исследования предполагала подготовку проб корма по 500 мг сухого вещества измельченного образца, каждый, предварительно в зависимости от задач корма смешивали с ВДЧ соответствующей концентрации и помещали в мешочки, изготовленные из полиамидной ткани, которые предварительно были взвешены и пронумерованы. Мешочки зашивались и закреплялись при помощи зажимного приспособления на валике. Затем мешочки на валике помещали в прибор "искусственный рубец".

Лишь после того, когда смесь содержимого рубца и буферного раствора была подготовлена и «успокоилась» стеллаж с мешочками помещался в ванну. Затем включали электромотор и термостат закрывали, чтобы при 39°C микробы рубца смогли достичь наивысшей активности.

Переваривание проб корма в искусственном рубце продолжалось 48 часов. После этого образцы промывали под проточной водой и помещали в раствор пепсина в «искусственный рубец» и на 24 часа ставили в термостат. По окончании процедуры образцы промывались в проточной воде и высушивались до постоянной массы.

Уровень переваривания сухого вещества кормов «*in vitro*» определяли по разности массы образца корма вместе с мешочком и после двухстадийной

инкубации и высушивания до постоянной массы при температуре 60 °С по следующей формуле:

$$K=(A-B) /C \times 100\%, \text{ где}$$

К – коэффициент переваримости сухого вещества корма (%);

А – исходная масса образца корма вместе с мешочком (г);

В – масса образца корма вместе с мешочком после переваривания (г);

С – исходная масса образца корма без массы мешочка (г).

Подготовку препаратов ВДЧ проводили в изотоническом растворе путем высокочастотной обработки точной навески в течение 30 минут. Время диспергирования для получения лиозолей ВДЧ было выбрано экспериментально. Для этого навески порошка ВДЧ диспергировали путем обработки высокочастотным звуком частотой 35 кГц (f-35 кГц, N-300 Вт, A-10 мкА). Действие веществ исследовались в спектре концентраций для Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> от 0,25 до 1,0 мг, для SiO<sub>2</sub> от 0,5 до 2,0 мг, CuZn от 0,25 до 1 мг; FeCo от 0,25 до 1 мг. Выбор концентраций был обусловлен ранее проведенными исследованиями.

После проведения диспергирования ВДЧ в соответствующей концентрации, смешивались с пшеничными отрубями.

На следующем этапе исследований переваримость полученных кормовых добавок была установлена в исследованиях на крупном рогатом скоте. Эксперименты проводились на базе Покровского сельскохозяйственного колледжа-филиала ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ». Молодняку крупного рогатого скота были установлены фистулы рубца.

Для изучения свойств кормов методом «*in situ*» использовали 5 г сухого размолотого на мельнице образца корма смешивали с кормовыми добавками и закладывали в нейлоновые мешочки. После этого мешочки погружали в рубец животного через фистульное отверстие на 3 и 6 часов. По истечению времени мешочки извлекали, отмывали под слабой струей воды, высушивали и рассчитывали переваримость в рубце.

Для проведения физиологического опыта методом пар аналогов было подобрано 9 бычков красной степной породы по живой массе, общему

состоянию, породе и возрасту. В опыт включались бычки возраста 13 месяцев, средней живой массой 320-350 кг. Животные были случайным образом разделены на группы: на контрольную (К) и две опытные – I (ВДЧ SiO<sub>2</sub>), II (ВДЧ FeCo).

В течение подготовительного периода (10 суток) бычки были переведены на привязное содержание, индивидуальное кормление (таблица 1).

Таблица 1 – Схема физиологического опыта

Группа Животных	Количество животных, гол	Продолжительность периода, суток		Характер кормления
		подготовительный	учетный	
Контрольная	3	10	5	ОР
I опытная	3	10	5	ОР+ВДЧ SiO <sub>2</sub>
II опытная	3	10	5	ОР+ВДЧ FeCo

Примечание: ОР – основной рацион; ВДЧ SiO<sub>2</sub> в дозировке - 13 мг/кг, ВДЧ FeCo в дозировке - 5 мг/кг.

Исследования на животных проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием лабораторных животных» (прил. к приказу Министерства здравоохранения СССР, от 12.08.1977 №755).

Переваримость питательных веществ была изучена в ходе балансовых опытов. Средние образцы кала (3 % от веса) и мочи были исследованы по методикам зоотехнического анализа (Лебедев П.Т., Усович А.Т., 1976) в независимом аккредитованном Испытательном центре Федерального научного центра биологических систем РАН на содержание в них сухого вещества, сырого протеина (ГОСТ 13496.4-93), сырого жира (ГОСТ 13496.15-97), сырой клетчатки (ГОСТ 12396.2-91), сырой золы (ГОСТ 26226-95). В пробах мочи (2% от веса) определяли удельный вес, содержание азота и минеральные вещества. По данным ежедневного учета массы кала и его состава рассчитывали потерю веществ, за вычетом которых находились усвоенное количество корма.

Анализ элементного состава кормов и биосубстратов животных включал определение 25 химических элементов: 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. Исследование элементного состава рубцовой жидкости животных производилось в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.22ПЯ05) атомно-эмиссионной спектрометрией и масс спектрометрией с индуктивно связанной плазмой (Optima 2000 V, «Perkin Elmer» США) и масс-спектральным методом исследования (Elan 9000, «Perkin Elmer» США).

Для оценки микробных сообществ рубца крупного рогатого скота проводили отбор рубцовой жидкости. Для этого у фистульных животных брались пробы рубцового содержимого в количестве 300 мл до кормления, через 3 после начала кормления. Пробы помещали в стерильные микропробирки с защелкивающейся крышкой типа «эппендорф» (Nuova Aptaca S.R.L., Италия), замораживали при -70 °С (криоморозильник ULUF65 «ARCTICO», Дания) и хранили, не допуская повторного замораживания.

Выделение ДНК из полученных проб проводили методом химической экстракции. Для этого каждый образец инкубировали в 300 мкл стерильного буфера для лизиса, который изготавливали путем смешивания 20 ммоль/л ЭДТА, 1400 ммоль/л NaCl, 100 ммоль/л Трис-HCl, pH=7,5, с добавлением 50 мкл лизоцима в концентрации 100 мг/мл, при 37 °С в течение 30 мин. Впоследствии добавляли 10 мкл протеиназы К в концентрации 10 мг/мл и додецилсульфата натрия до его конечной концентрации 1,0 % и инкубировали в течение 30 мин при 60 °С.

Очищение ДНК проводили смесью фенол-хлороформ, осаждали путем добавления ацетата натрия и трех объемов абсолютного этанола при -20 °С в течение 4 часов. После экстракции фенол-хлороформ-изоамиловым спиртом (25:24:1) и хлороформ-изоамиловым спиртом (24:1) ДНК в водной фазе осаждали ацетатом аммония (1 моль/л до 10% об.) и трехкратного объема

безводного этанола в течение ночи при -20 °С. После центрифугирования и двойной промывки 80 % этанолом ДНК сушили и растворяли в ТЕ-буфере.

Для оценки чистоты экстракции от чужеродной ДНК устанавливался отрицательный параллельный контроль путем обработки 100 мкл автоклавированной деионизированной воды с использованием того же метода, который описан выше. Чистоту ДНК проверяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле. Концентрацию ДНК определяли количественно с использованием флюорометра Qubit 2.0 с анализом высокой чувствительности dsDNA (Life Technologies).

Подготовка библиотек ДНК, а также секвенирование проводилось в Центре коллективного пользования «Персистентность микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия). Библиотеки ДНК 16S были подготовлены в соответствии с рабочим процессом Illumina ([http://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry\\_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prepguide-15044223-b.pdf](http://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prepguide-15044223-b.pdf)) с праймерами, нацеленными на V3- и V4-области гена рРНК SSU, такого как прямой SD-Bact-0341-bS-17 и обратный SD-Bact-0785-aA-21 (Klindworth A. et al., 1994). Библиотеки были секвенированы в MiSeq (Illumina) с использованием набора реагентов MiSeq V3 с 2×300 пар оснований.

Анализ данных проводился с использованием USEARCH v8.0.1623\_win32 (Edgar R.S., 2010) и включал слияние парных чтений, фильтрацию качества и выбор размера ампликона (минимальный размер 415 пар оснований). Во время фильтрации считывание с помощью N или общий средний Q-балл <15 были отброшены. Оценка качества фильтрации была проведена с помощью FastQC v 0.11.3. В результате разложения и кластеризации с USEARCH OTU были сформированы, когда были удалены одиночные и двухтонные. OTU определяли с использованием уровней подобия между последовательностями не менее 97% для классификации микроорганизма на уровне видов. Обнаружение химеры проводили через

UCHIME (Edgar 2010) с использованием USEARCH и удаляли химерные последовательности. Загрязняющие OTU были найдены и удалены с помощью командно-суставной последовательности USEARCH, соответствующей последовательностям из образцов с отрицательным контролем. Была проведена таксономическая классификация последовательностей с использованием VAMPS и справочной базы SILVA (Huse 2014).

С целью изучения особенностей рубцового пищеварения проводили исследование состава рубцовой жидкости. Для этого у фистульных животных брались пробы рубцового содержимого в количестве 300 мл до кормления, через 3 и 6 часов после начала кормления. Пробы фильтровали через 4 слоя марли, в жидкой её части определяли концентрацию водородных ионов (рН) ионометром рН-150МИ.

Подсчёт инфузорий проводился микроскопическим методом в счётной камере Горяева. Для этого в пробирку отбирали 5 мл профильтрованного содержимого рубца и добавляли 0,1 мл 45-ного раствора формалина для фиксации инфузорий. Формалин позволяет подсчитывать инфузории в течение 20-24 ч после взятия содержимого рубца. Затем добавляли изотонический раствор натрия хлорида, предварительно окрашенный раствором метиленового синего. Далее в камеру с сеткой Горяева под покровное стекло вносим 1 каплю жидкости. Инфузории подсчитывали в 100 больших квадратах. Общее количество инфузории определяли, как:

$$x=25*A,$$

где x – количество инфузорий в 1 мм<sup>3</sup>;

A – Количество подсчитанных инфузорий.

Микробиальная масса рассчитывалась методом дифференцированного центрифугирования с последующим высушиванием. Этот метод основан на различиях в скорости седиментации частиц, отличающихся друг от друга размерами и плотностью. Рубцовую жидкость центрифугировали при ступенчатом увеличении центробежного ускорения, которое выбирается так,

чтобы на каждом этапе на дно пробирки осаждалась определённая фракция. В конце каждой стадии осадок отделяли от надосадочной жидкости и несколько раз промывали, чтобы в конечном итоге позволило получить чистую осадочную фракцию. Для осаждения бактерий использовали центрифуги с фактором разделения около 7 тыс. (9-10 тыс. об/мин). Осаждение простейших, проводили на центрифугах с малым фактором разделения (1,5 -3 тыс. об/мин). После получения чистой осадочной фракции, её взвешивали и определяли бактериальную массу.

Общий и остаточный азот определяли методом Къельдаля, белковый - расчётным путем по разности общего и остаточного азота, аммиак - микродиффузным методом в чашках Конвея. Общее количество летучих жирных кислот определяли на хроматографе Кристалл ЛЮКС 4000.

Целлюлозолитическую активность оценивали в соответствии с методикой В.И. Георгиевского (1976). Время инкубации составило 36 часов. Для исследований отбирали 200 мл рубцового содержимого. Далее заполняли термос дистиллированной водой, нагретой до 39-40°C, которую выливали из него перед взятием пробы рубцового содержимого. Содержимое фильтровали через 4 слоя марли в стакан, помещенный в водяную баню с температурой 39°C. Затем в пробирки помещали образцы химически чистой целлюлозы (далее «полоски»). Полоски обмывали дистиллированной водой, смесью спирта с эфиром (1:1), далее подвергали высушиванию при 105°C до постоянного веса, взвешивали на аналитических весах. Пробирки помещали в водяную баню с температурой 39°C. Пробирки снаряжали по 30 мл рубцовой жидкости, с последующей заливкой вазелиновым маслом и размещением в термостате на 24 ч при 39°C. В последующем извлеченные полоски последовательно отмывались, сушились и взвешивались по выше приведенной методике. По разнице массы полосок до инкубирования и после рассчитывали целлюлозолитическую активность ферментов микрофлоры рубца крупного рогатого скота. Расчет производили в процентах.

Методика определения амилалитической активности базируется на принципе расщепления крахмала микробной амилазой, с фиксацией процессов на фотоэлектроколориметре (КФК - 2). Лабораторный регламент предполагал последовательное смешивание раствора крахмального субстрата с фосфатным буфером, предварительно, доведенного до 40° С на водяной бане, с последующим добавлением рубцовой жидкости. Полученный раствор тщательно взбалтывали и переносили в колбы с соляной кислотой. Затем добавляли калий йод-йодистый и дистиллированную воду (это проба до инкубации). После этого пробирки выдерживали в водяной бане 1 ч при температуре 40° С. По завершении инкубации пробу переносили в мерную колбу с соляной кислотой с последующим добавлением калий йод-йодистый и дистиллированной воды (это проба после инкубации).

Полученные растворы проб исследовали на ФЭКе в кюветах на 5 мм при 620 нм с использованием в качестве контроля дистиллированной воды. Амилалитическая активность рассчитывалась как:

$$x = 20 (A-B),$$

где x- количество крахмала, расщепленного в 1 мл содержимого рубца за 1 ч, мг;

A – Количество крахмала в растворе до инкубации, мг;

B – Количество крахмала после инкубации, мг;

20 – коэффициент перерасчета на 1 мл содержимого рубца.

В учётные период опыта проводились гематологические исследования. Кровь бралась из хвостовой вены от всех животных утром, за 2-3 часа до кормления животных. Гематологические исследования включали определение морфологических и биохимических параметров крови. Образы крови для гематологических исследований отбирали в вакуумные пробирки с ЭДТА-К3, для биохимических исследований в вакуумные пробирки с активатором свертывания. Определение гематологических параметров крови производилось на автоматическом гематологическом анализаторе крови URIT 2900 VETPlus (производитель - URIT MEDICAL ELECTRONIC CO.,

LTD, Китай). Биохимический анализ крови осуществлялся с использованием автоматического биохимического анализатора CS-T240 (производитель – «Dirui Industrial Co., Ltd.», Китай). Биохимический анализ проводился с использованием коммерческих биохимических наборов для ветеринарии ДиаВетТест (производитель – Россия) и коммерческих биохимических наборов Randox (производитель – США).

В числе морфологических показателей крови определяли: эритроциты, концентрация гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците (МСН), скорость оседания эритроцитов (СОЭ), тромбоциты, лейкоциты, лимфоциты, моноциты, гранулоциты, гематокрит.

Перечень биохимических параметров крови включал глюкозу, общий белок, альбумин, АЛаТа, АСаТа, билирубин общий, билирубин прямой, холестерин, триглицерид, мочевины, креатинин,  $\gamma$  - ГТ, кальций, железо, ЛДГ, магний, фосфор. Определение активности супероксиддисмутазы, каталазы и малонового диальдегида в плазме крови проводилось спектрофотометрическим методом на Stat fax 1904 Plus.

По завершению физиологических исследований был спланирован и проведен научно-хозяйственный опыт, в ходе которого была дана продуктивная и экономическая оценка оцениваемых кормовых добавок. Методика исследований предполагала формирование трёх групп двенадцатимесечных бычков ( $n=12$ ). По истечению подготовительного периода (30 суток), животные в течение 90 суток находились на режиме основного учетного периода, предполагавшего содержание животных I опытной группы на рационе с содержанием ВДЧ SiO<sub>2</sub>, II опытной ВДЧ FeCo в дозировках, апробированных в ходе физиологического исследования. Учет расхода кормов производился по группам, в два смежных дня один раз в месяц по разнице заданных кормов и несъеденных остатков.

Рост и развитие изучали на основании данных ежемесячного взвешивания, утром, до кормления и поения. По результатам взвешиваний

производили расчет динамики живой массы и среднесуточного прироста по группам.

Экономическая эффективность использования оцениваемых кормовых добавок рассчитывалась на основании сложившихся затрат на выращивание и содержания животных в основной учетный период.

Результаты, полученные в исследованиях, 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 лабораторных исследований по оценке физико-химических и биологических свойств высокодисперсных частиц

### 2.2.1 Физико-химическая характеристика использованных высокодисперсных частиц

Результаты аттестации препаратов высокодисперсных частиц (ВДЧ) выявили различные их физико-химические характеристики (таблица 2).

Таблица 2 – Физико-химическая характеристика использованных высокодисперсных частиц

ВДЧ	Размер, нм		Химический и фазовый состав	Метод получения	Удельная поверхность ( $S_{уд}$ , м <sup>2</sup> /г)
	исходный	гидродинамический			
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	91,0	103 ±11	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> : 99,8% масс.	плазмохимический синтез	9,0
SiO <sub>2</sub>	40,9	109,6 ±16,6	SiO <sub>2</sub> : 99,8 %; Cl <sub>2</sub> : <0,2%	газофазный	55,4
FeCo (сплав)	62,5	265 ±25	70% железа и 30% кобальта	газофазный	-
CuZn (сплав)	65,0	125 ±75	60% меди и 40% цинка	газофазный	5-6

В ходе исследований использованы препараты ВДЧ производства ООО «Передовые порошковые технологии» (г. Томск), ООО «Платина» (г. Москва), Институт физики металлов УрО РАН (г. Екатеринбург), ФГБОУ ВПО «КНИТУ», ЦКП (г. Казань). ВДЧ  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  синтезирован по технологии плазмохимического синтеза в ИНЭПХФ РАН (г. Москва). Порошок ВДЧ  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  содержал 99,8 %  $\text{Cr}_2$  и 0,2 %  $\text{O}_3$ . Исходный размер частиц 91 нм, фактический гидродинамический размер частиц действующего вещества -  $103 \pm 11$ . Удельная поверхность около  $9 \text{ м}^2/\text{г}$ .

ВДЧ  $\text{SiO}_2$  и  $\text{FeCo}$  синтезированы по технологии газофазного синтеза в ИНЭПХФ РАН (г. Москва). ВДЧ  $\text{SiO}_2$  размером 40,9 нм. В порошке  $\text{SiO}_2$  содержится 99,8 %  $\text{Si}$  и около 0,2 %  $\text{O}_2$ . Гидродинамический размер частиц составляет 109,6 нм. Размер ВДЧ  $\text{FeCo}$  62,5 нм, содержит железа – 70 %, кобальта – 30 %.

Порошок ВДЧ системы  $\text{CuZn}$  был получен методом газофазного синтеза. Использованный сплав на 60 % состоял из меди и на 40 % из цинка (латунная проволока марки Л-63). Частица сферической формы. Оболочка частиц, более прозрачна для электронов по сравнению с металлическим ядром. Удельная поверхность порошка  $\text{CuZn}$  –  $5\text{-}6 \text{ м}^2/\text{г}$ .

## **2.2.2 Биологическая оценка высокодисперсных частиц**

### **2.2.2.1 Модель *E.coli* K12 TG1**

Проведение в рамках блока *in vitro* теста ингибирования биолюминесценции с использованием генно-инженерного люминесцирующего штамма *Echerichia coli* K12 TG1 позволило оценить биологическую активность используемой рубцовой жидкости КРС. Согласно полученным результатам, как рубцовая жидкость, так и серия ее разведений характеризовались отсутствием токсического действия в отношении клеток бактерий. При этом была отмечена индукция свечения клеток *Echerichia coli*

*K12 TG1*, которая развивалась в первые 20 мин контакта и наблюдалась на протяжении всего эксперимента (рисунок 2). Вероятно, развитие индукции свечения связано с наличием в рубцовой жидкости компонентов, выступающих питательным субстратом для клеток бактерий, что способствовало ускорению метаболических процессов и размножению клеток.

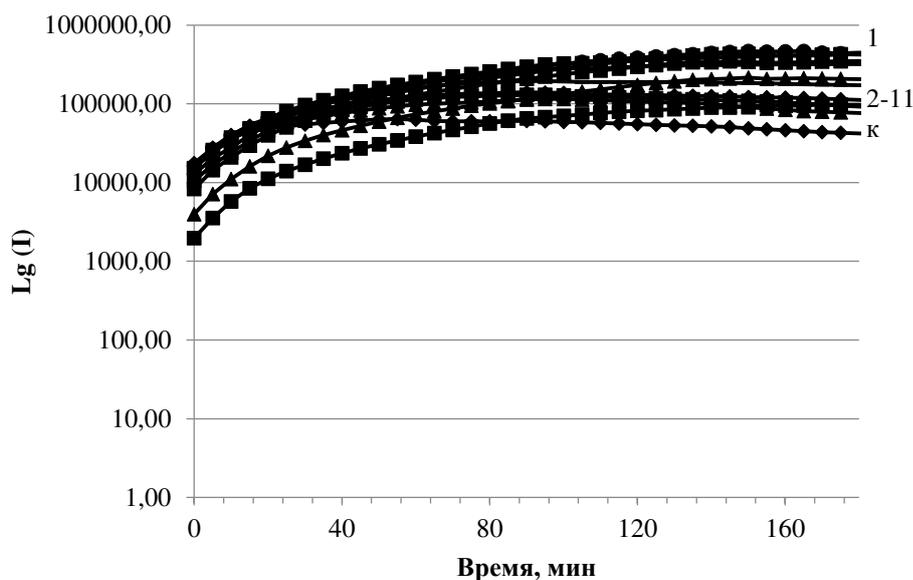
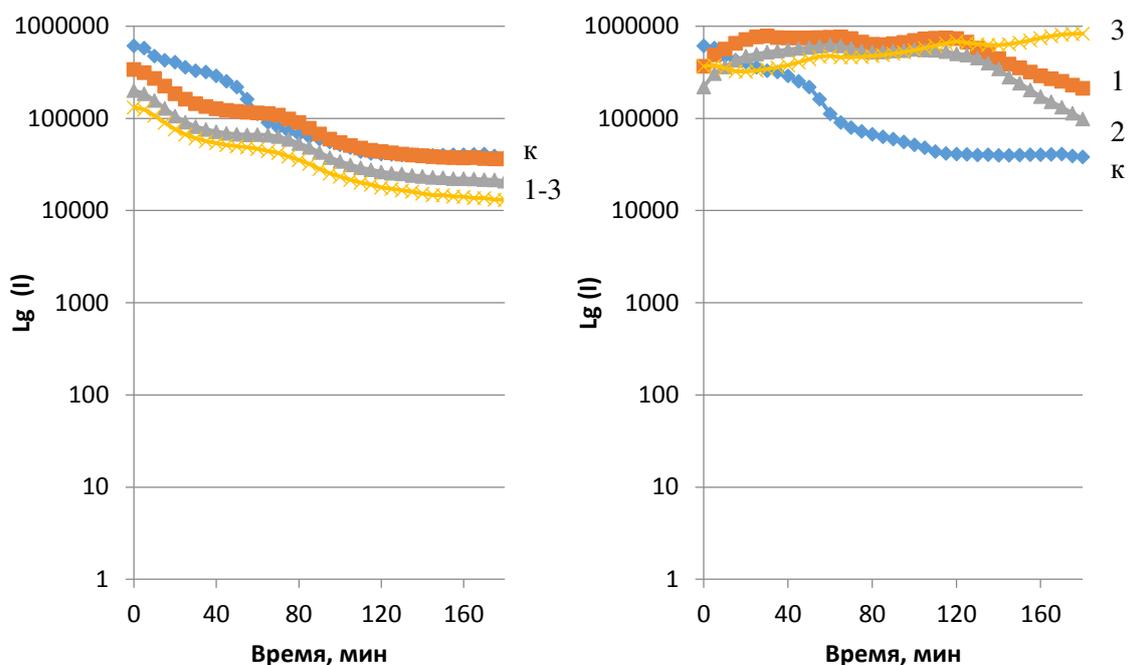


Рисунок 2 – Динамика свечения *E.coli* K12 TG1 с клонированными *luxCDABE*-генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с рубцовой жидкостью (1) и последовательными 10-ти кратными разведениями рубцовой жидкости (2-11); к - контроль.

Исследование биологической активности используемых высокодисперсных частиц (в трех выбранных концентрациях) отдельно и в комплексе с рубцовой жидкостью в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции показало следующие результаты. ВДЧ SiO<sub>2</sub> в выбранном диапазоне концентраций характеризовались отсутствием токсического эффекта в отношении клеток бактерий (рисунок 2а). Тестирование смеси ВДЧ SiO<sub>2</sub> с рубцовой жидкостью с использованием штамма *E.coli* K12 TG1 показало незначительную индукцию свечения клеток бактерий в сравнении с контролем (рисунок 3б).



а)

б)

Рисунок 3 – Динамика свечения *E.coli* K12 TG1 с клонированными luxCDABE-генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с ВДЧ SiO<sub>2</sub> (а) в концентрациях: 0,1 (1), 0,25 (2) и 2 (3) мг/мл и смесью рубцовая жидкость + ВДЧ SiO<sub>2</sub> (б), в концентрациях: 0,1 (1), 0,25 (2) и 2 (3) мг/мл; к - контроль.

Аналогичные результаты были получены для ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и FeCo. ВДЧ FeCo вызывали 20 % тушение свечение клеток бактерий через 180 мин контакта, но не оказывали токсического или слабо токсического действия, и характеризовались как не токсичные (рисунок 4а). Смесь ВДЧ FeCo с рубцовой жидкостью способствовала индукции свечения клеток бактерий (рисунок 4б).

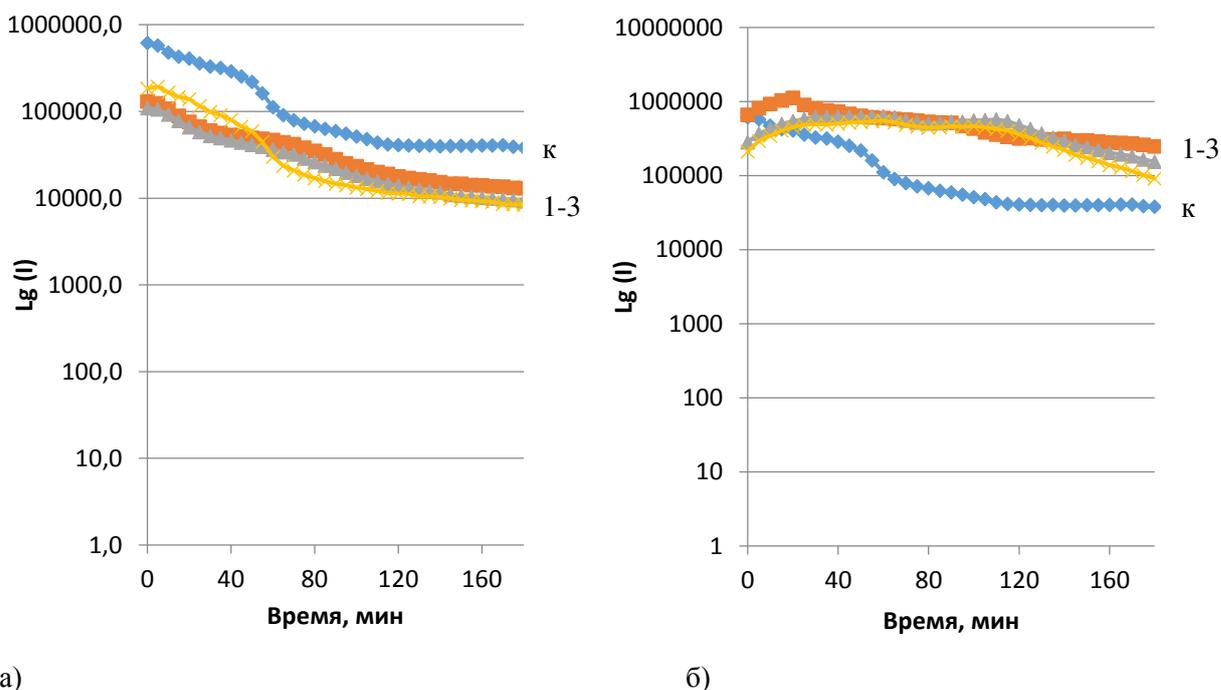


Рисунок 4 – Динамика свечения *E.coli* K12 TG1 с клонированными luxCDABE-генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с ВДЧ FeCo (а) в концентрациях: 0,25 (1), 0,35 (2) и 0,75 (3) мг/мл и смесью рубцовая жидкость + ВДЧ FeCo (б), в концентрациях: 0,25 (1), 0,35 (2) и 0,75 (3) мг/мл; к - контроль.

ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> не приводили к изменению динамики свечения клеток бактерий и также характеризовались как не токсичные (рисунок 5а). Смесью ВДЧ с рубцовой жидкостью вызывала увеличение интенсивности свечения клеток бактерий (рисунок 5б). Необходимо отметить, что наибольшая индукция свечения клеток бактерий отмечалась при использовании в смеси с рубцовой жидкостью ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в концентрациях 0,5 и 1 мг/мл, тогда как доза 0,25 мг/мл оказывала меньший эффект.

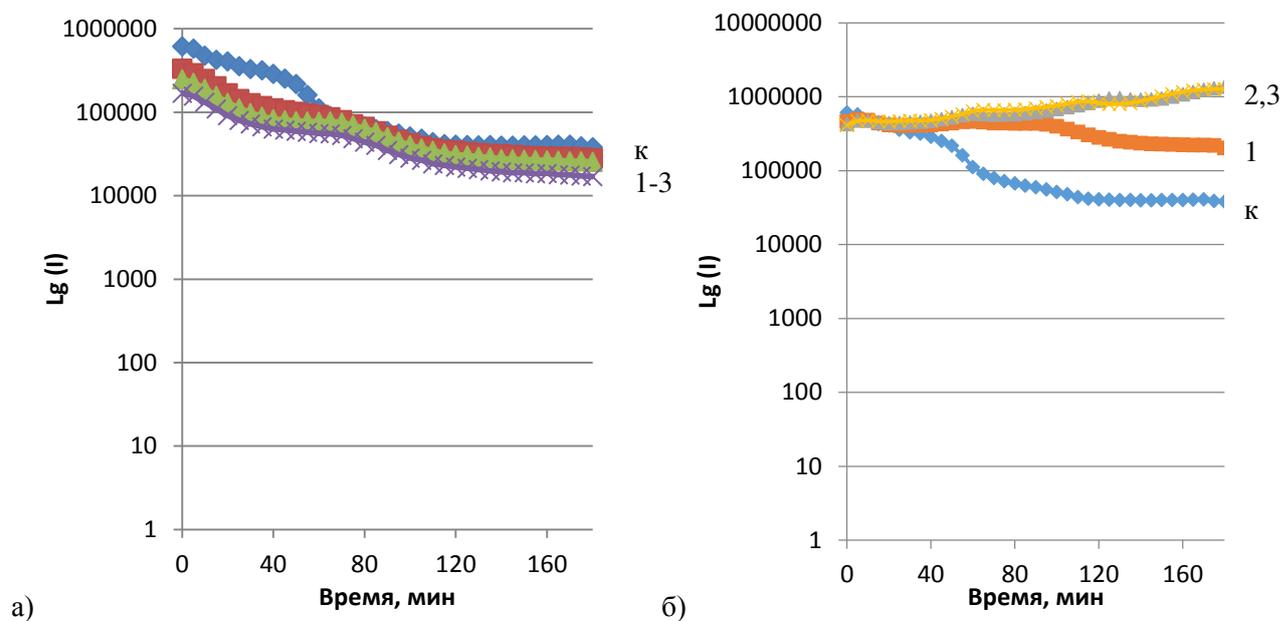


Рисунок 5 – Динамика свечения *E.coli* K12 TGI с клонированными luxCDABE-генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (а) в концентрациях: 0,25 (1), 0,5 (2) и 1 (3) мг/мл и смесью рубцовая жидкость + ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (б), в концентрациях: 0,25 (1), 0,5 (2) и 0,1 (3) мг/мл; к - контроль.

В отличие от вышеописанных ВДЧ, ВДЧ CuZn в диапазоне исследуемых концентраций, несмотря на малые дозы, вызывали практически полное ингибирование свечения клеток бактерий и характеризовались как остро токсичные (рисунок 6а). Однако тестирование смеси ВДЧ CuZn + рубцовая жидкость показало иные результаты. Соединение в смеси с рубцовой жидкостью и ВДЧ CuZn приводило к нивелированию токсического действия последних, что проявлялось в отсутствии изменений в интенсивности свечения клеток бактерий (рисунок 6б).

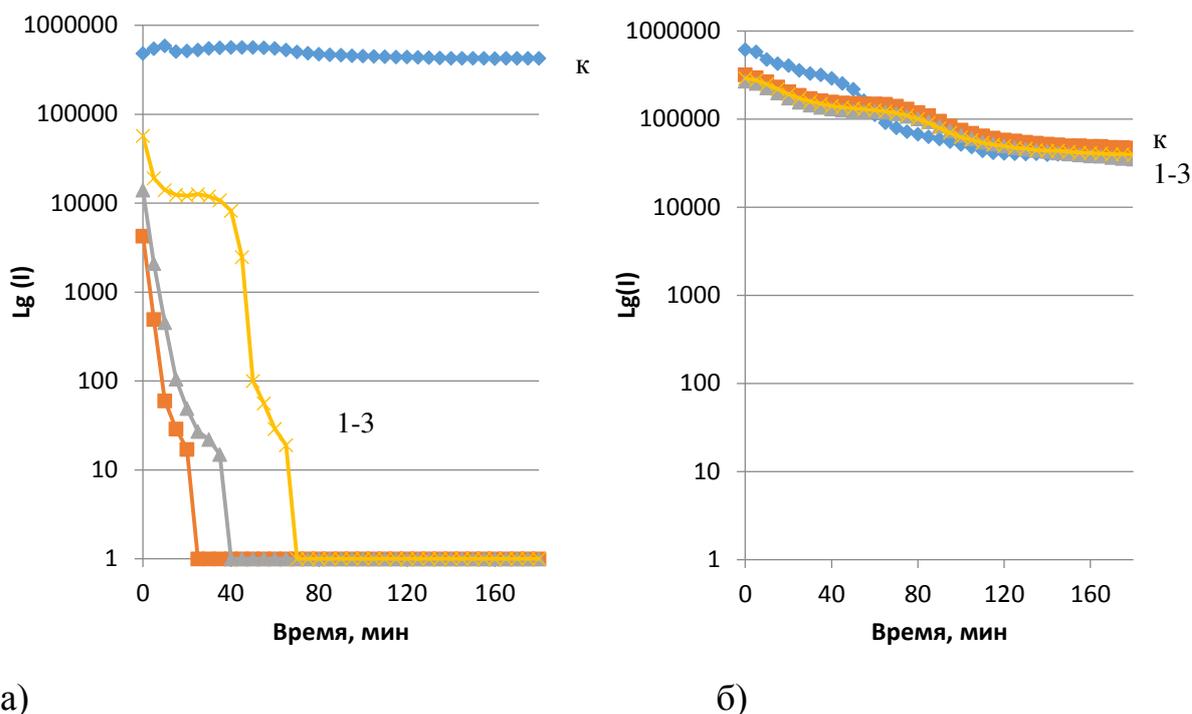


Рисунок 6 – Динамика свечения *E.coli K12 TG1* с клонированными luxCDABE-генами *P.leiognathi 54D10* при контакте с ВДЧ CuZn (а) в концентрациях: 0,75 (1), 0,35 (2) и 0,25 (3) мг/мл и смесью рубцовая жидкость + ВДЧ CuZn (б), в концентрациях: 0,75 (1), 0,35 (2) и 0,25 (3) мг/мл; к - контроль.

Таким образом, из полученных данных следует, что протестированные препараты ВДЧ в выбранном диапазоне концентраций не оказывают токсического действия на клетки бактерий и могут быть использованы в дальнейшей серии экспериментов. Исключение составляют ВДЧ CuZn, проявляющие остро токсичное действие. Однако нивелирование токсичности ВДЧ CuZn компонентами рубцовой жидкости также позволяет оставить их в схеме исследования.

### 2.2.2.2 Оценка переваримости сухого вещества корма *in vitro* при добавлении ВДЧ

Результаты по оценке действия ВДЧ на переваримость представлены ниже (таблица 3).

Таблица 3 – Переваримость сухого вещества пшеничных отрубей (ПО) при добавлении ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и SiO<sub>2</sub>, %.

Субстрат	Концентрация (мкг/мл)	Переваримость
Контроль (ПО)	-	69,0±0,38
ПО+ВДЧ Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,0	51,2±0,08**
	0,5	49,4±0,03**
	0,25	69,5±0,03
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	2,0	81,9±0,007**
	0,25	81,0±0,04**
	0,1	80,4±0,03**

Примечание: ПО - пшеничные отруби, \* - P≤0,05; \*\* - P≤0,01.

Как следует из полученных результатов переваримость сухого вещества контрольного образца *in vitro* в первом эксперименте составила 69 %. В то же время введение в состав корма ВДЧ SiO<sub>2</sub> в дозировке 0,1 мг/мл сопровождалось увеличением переваримости сухого вещества до 80,4% (P≤0,01). Последующее увеличение концентрации ВДЧ не позволило значительно увеличить переваримость, фактический рост данного показателя составил 12 – 12,9 % (P≤0,01).

Введение в состав корма ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в дозировке 0,25 мг/мл не отразилось на переваримости сухого вещества. Однако, по мере увеличения концентрации ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> до 0,5 - 1,0% отмечалось достоверное снижение значений переваримости до 17,8 - 19,6 % (P≤0,01).

Сравнительная оценка изучаемых ВДЧ показала, что ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> замедляют процессы переваримости по сравнению с ВДЧ SiO<sub>2</sub>.

При выполнении следующего эксперимента установлено, что переваримость контрольного образца (пшеничные отруби) составляла 68,8 % (таблица 4).

Таблица 4 – Переваримость сухого вещества пшеничных отрубей (ПО) при добавлении ВДЧ FeCo и ВДЧ CuZn, %.

Субстрат	Концентрация (мг/мл)	Переваримость
Контроль (ПО)	-	68,8±0,13
ПО+ВДЧ FeCo	0,25	69,1±0,06
	0,35	70,0±0,06
	0,75	71,2±0,02
ПО+ВДЧ CuZn	0,25	66,8±0,07**
	0,35	66,3±0,03
	0,75	67,0±0,03**

Примечание: ПО - пшеничные отруби, \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

При внесении ВДЧ FeCo в минимальной концентрации 0,25 мг/мл отмечалось повышение переваримости до 69,1 %. Дальнейшее повышение концентрации ВДЧ до 0,35 и 0,75 мг/мл сопровождалось повышением переваримости на 1,2 – 2,4 %.

Напротив, использование ВДЧ CuZn во всех оцениваемых дозировках сопровождалось снижением переваримости сухого вещества корма.

Проведённые исследования показали, что введение ВДЧ в различных концентрациях сопровождается неоднозначной переваримостью кормового вещества. На основании вновь полученных данных, нами были выбраны для исследований ВДЧ SiO<sub>2</sub> и FeCo.

### 2.2.2.3 Оценка переваримости сухого вещества корма *in situ* при добавлении ВДЧ

Исследования по оценке ВДЧ на модели «корм-рубец» выявили определенные изменения в переваримости корма *in situ* в рубце (таблица 5).

Таблица 5 – Переваримость сухого вещества кормов *in situ* после трех часов экспозиции в рубце, %

Субстрат	Концентрация ВДЧ, мкг/мл	Переваримость
ПО	-	21,9±0,28
ПО+ВДЧ FeCo	0,25	21,2±1,09
ПО+ВДЧ FeCo	0,35	21,1±0,52
ПО+ВДЧ FeCo	0,75	24,8±0,18**
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	0,10	23,3±0,56
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	0,25	23,2±0,23
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	2,0	24,4±0,25**

Примечание: ПО - пшеничные отруби, \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

При добавлении в корм максимальной дозировки ВДЧ FeCo переваримость через 3 часа достоверно увеличивается на 2,9 % ( $P \leq 0,01$ ) относительно контроля. Аналогичное повышение переваримости сухого вещества при введении максимальной дозировки ВДЧ SiO<sub>2</sub> составило 2,5 % ( $P \leq 0,01$ ).

Сходные результаты получены и после шести часов экспозиции (таблица 6).

Таблица 6 – Переваримость сухого вещества кормов *in situ* после шести часов экспозиции в рубце, %

Субстрат	Концентрация ВДЧ, мкг/мл	Переваримость
ПО	-	60,8±0,01
ПО+ВДЧ FeCo	0,25	61,3±0,06*
ПО+ВДЧ FeCo	0,35	60,4±0,51
ПО+ВДЧ FeCo	0,75	62,2±0,02*
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	0,1	60,0±0,15
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	0,25	60,5±0,22
ПО+ВДЧ SiO <sub>2</sub>	2,0	63,1±0,31*

Примечание: ПО - пшеничные отруби, \* -  $P \leq 0,05$ .

На основании полученных данных нами были выбраны оптимальные дозировки для дальнейшего исследования на молодняке крупного рогатого скота: ВДЧ FeCo - 5 мг/кг и ВДЧ SiO<sub>2</sub> - 13 мг/кг живой массы.

## 2.3 Результаты физиологических исследований на молодняке крупного рогатого скота

### 2.3.1 Условия содержания и кормление подопытных животных

В период проведения физиологического опыта животные контрольной и опытных групп содержались в одинаковых условиях. Рационы бычков сравниваемых групп на протяжении подготовительного периода опыта были одинаковыми, сбалансированы по питательным веществам. В основной учетный период в состав рациона животных были внесены изменения, соответствующие целям и задачам исследований.

Животных содержали и кормили внутри типового помещения, приспособленного для привязного содержания, имеющего стационарные кормушки и автопоилки. Кормление животных осуществлялось сбалансированным рационом в состав которого входило 2,5 кг сена суданки, 3,0 кг люцернового сена, 5 кг кукурузного силоса, 0,5 кг жмыха, 25 г премикса, 1 кг пшеничных отрубей (таблица 7).

Таблица 7 – Рацион подопытных животных в период опыта, кг/гол. /сутки.

Корма	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Сено люцерновое, кг	3,0	3,0	3,0
Сено суданской травы, кг	2,5	2,5	2,5
Силос кукурузный, кг	5	5	5
Жмых, г	0,5	0,5	0,5
Премикс, г	25	25	25
Отруби пшеничные, кг	1	1	1
ВДЧ SiO <sub>2</sub> , мг/кг	13	-	-
ВДЧ FeCo, мг/кг	-	5	-
В рационе содержится:			
сухого вещества, кг	7,31	7,31	7,31
обменной энергии, МДж	64,23	64,23	64,23
сырой протеин, г	1049	1049	1049
сырой клетчатки, г	1751	1751	1751
сырая зола, г	2171	2170	2170
сырой жир, г	208	208	208

БЭВ, г	3298	3298	3298
Кальций, г	73	73	73
Фосфор, г	43	43	43

Грубые корма, сено люцерновое и суданки, поедались животными охотно. Сочный корм, силос кукурузный, поедался практически полностью. Добавки с пшеничными отрубями поедались полностью.

## 2.3.2 Характеристика рубцового пищеварения подопытных животных

### 2.3.2.1 Микрофлора и простейшие рубца

Метаболизм крупного рогатого скота в своей специфичности определяется наличием рубцового пищеварения, тесно связанного с жизнедеятельностью биоценозов микроорганизмов и простейших. В ходе своих исследований мы изучили характеристики отдельных биологических компонентов биосистем рубца подопытных животных (таблица 8).

Таблица 8 – Характеристики микрофлоры и простейших рубцовой жидкости на различных этапах пищеварения

Группа	Количество инфузорий, тыс/мл	Биомасса, г/100 мл	
		простейших	бактерий
до кормления			
Контрольная	398±0,74	1,97±0,003	0,14±0,03
I опытная	380±0,65	2,01±0,01	0,16±0,07
II опытная	390±0,08	1,90±0,02	0,15±0,002
3 часа			
Контрольная	540±57,7	2,10±0,006	0,17±0,002
I опытная	543±60,1	2,12±0,01	0,23±0,006**
II опытная	541±88,2	2,20±0,01	0,16±0,008

6 часов			
Контрольная	552±88,2	2,35±0,009	0,23±0,01
I опытная	572±41,6	2,48±0,01*	0,24±0,008
II опытная	563±72,2	2,46±0,01	0,25±0,01

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Как следует из анализа полученных данных использование препаратов ВДЧ сопровождалось повышением биомассы бактерий, при использовании ВДЧ SiO<sub>2</sub> на 35,3 % ( $P \leq 0,01$ ) после трех и на 4,4 % после шести часов пищеварения. Использование ВДЧ FeCo не привело к увеличению бактериальной массы.

Закономерно, что динамика бактериальной массы тесно связана с массой простейших. В нашем исследовании это выражалось достоверным повышением биомассы простейших. В частности, в I опытной группе на шестой час рубцового пищеварения отмечалось увеличение совокупной массы простейших с 2,35 в контроле до 2,48 г/100 мл или на 5,5 % ( $P \leq 0,05$ ). Эта закономерность имела место на фоне отсутствия достоверного влияния оцениваемых факторов на концентрацию инфузорий в рубцовой жидкости.

### 2.3.2.2 Микробиом рубца и его характеристики

Развитие культурально-независимых высокопроизводительных технологий секвенирования следующего поколения обеспечивает прорыв в характеристике и анализе микробиомов (Morgan X.C. et al, 2012), причем микробиом рубца не является исключением (Chaucheyras-Durand F., Ossa F., 2014). В частности, секвенирование гена 16S рРНК (Klindworth A. et al, 2013) является мощным методом выявления и количественной оценки (в относительном выражении) таксономического состава микробной популяции рубца (Joshua C. et al, 2014). Исходя из результатов метатаксономики, на основе относительного обилия и с использованием базы функциональных

аннотаций микробных генов можно прогнозировать ассоциированный метагеном и связанные с ним метаболические функции (Abhauer K.P., Meinicke P., 2013; Langille M.G.I. et al, 2013). Понимание этого и накопленный научно-технический потенциал позволили нам детально изучить микробиом рубца крупного рогатого скота при введении в их рацион высокодисперсных частиц.

В микрофлоре рубца крупного рогатого скота с использованием в качестве маркера 16s rRNA выявлено, что доминирующим таксоном является *Bacteria*, при этом его встречаемость составляет около 99,89% от всего анализируемого образца в контрольной группе (рисунок 7). При этом классифицированы 7 филумов, из которых выделялись *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, представляющие большинство (42,87% и 41,98% от общего числа соответственно), а также входили *Proteobacteria*, содержание которого составляло 5,05% и *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Thermotogae* и *Verrucomicrobia*, однако их содержание составляло 1,28, 1,22, 0,81, 0,80% от общего числа, соответственно, что не превышало 3,5%.

Таксономическое разнообразие филума *Bacteroidetes* было представлено 3 классами: *Bacteroidia* (35,34% от общего числа) и *Sphingobacteria* (5,09% от общего числа). Численность третьего класса *Flavobacteria* составляла менее 3,5%. Другие классы, численность которых превышала 3,5%, были представлены таксоном *Firmicutes*, – *Clostridia*, численность которого составила 27,05% и *Bacilli*, численность которого составила 13,71%. Численность других классов составила менее 3,5%, а общее содержание неклассифицированных классов было 7,61%.

Как такового доминирующего семейства рубца крупного рогатого скота обнаружено не было, однако среди всех определенных семейств можно отметить *Prevotellaceae* (19,07% от общего числа), *Streptococcaceae* (10,82% от общего числа), *Lachnospiraceae* (10,80% от общего числа) и *Bacteroidaceae* (10,26% от общего числа), при этом все они относились либо к филуму *Bacteroidetes*, либо к *Firmicutes*.

Количество бактерий рода *Prevotella* в метагеноме сообщества рубца крупного рогатого скота составляло 19,07%, *Streptococcus* – 10,79%, *Bacteroides* – 10,26%, *Succiniclasicum* – 5,18%, *Blautia* – 4,58%, *Pedobacter* – 3,89%. Минорными таксонами (менее 3,5 %) выступали представители рода *Butyrivibrio*.

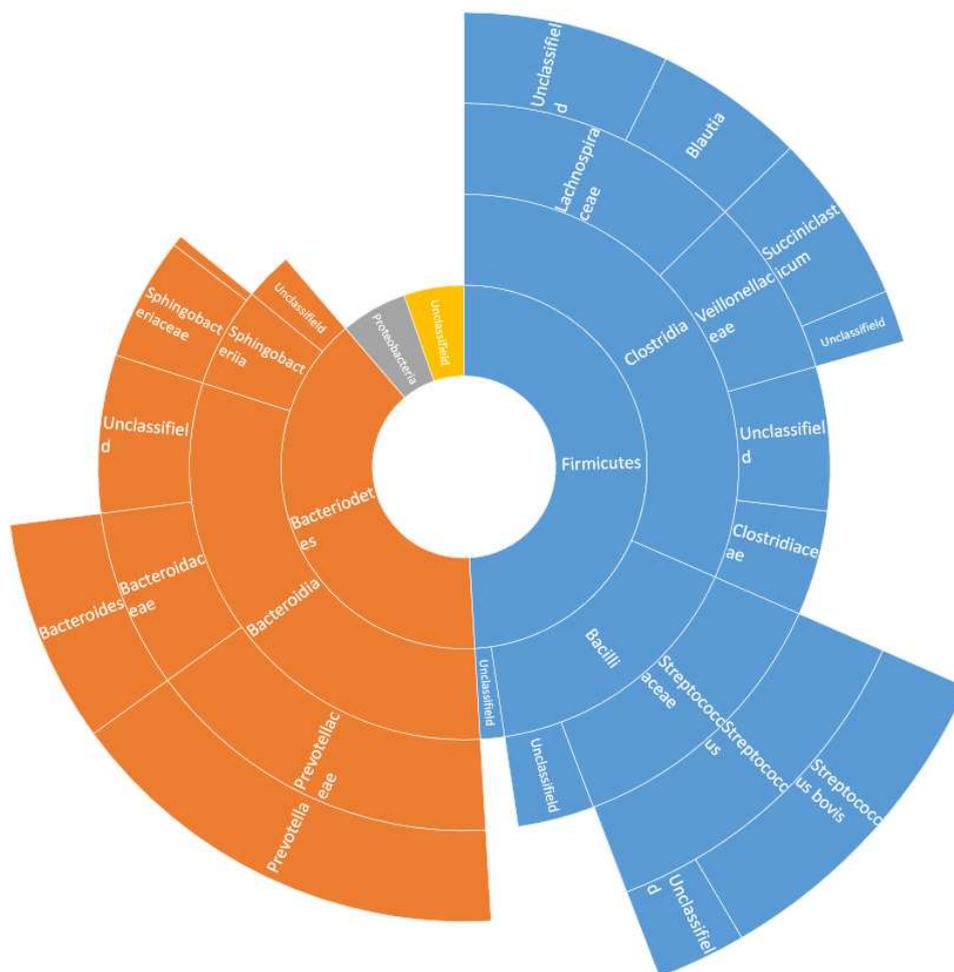


Рисунок 7 – Метагеномный анализ рубцового содержимого крупного рогатого скота контрольной группы

Видовое разнообразие микрофлоры рубца крупного рогатого скота было представлено 714 морфологически различными бактериальными разновидностями, из которых значимыми явился всего один – *Streptococcus bovis*, численность которого составила 8,52% от общего числа, при этом большую долю составили неклассифицированные виды (58,02% от общего числа).

Исследование микробиоценоза рубца крупного рогатого скота в опытных группах позволило выявить определенные изменения численности ранее определенных видов. Так, при введении в рацион подопытных животных высокодисперсных частиц FeCo доминирующим остался таксон *Bacteria* (99,96% от общего числа), но классифицированы были 25 филумов, из которых доминирующее положение также занимали *Bacteroidetes* (39,02%) и *Firmicutes* (47,64%), при этом если в контроле достоверных различий выявлено не было, то при добавлении ВДЧ происходило нарастание числа бактерий, относящихся к филуму *Firmicutes*. В то время как численность филума *Proteobacteria* не имела тенденции к изменению и составила всего 4,52%, что практически идентично его содержанию в контроле. При этом все классифицированные филумы (*Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Thermotogae* и *Verrucomicrobia*) в контроле также были идентифицированы и в данной опытной группе и их численность не превышала 3,5%.

В группе, получавшей с кормом ВДЧ FeCo, таксон *Bacteroidetes* был представлен в большей степени классом *Bacteroidia*, занимающим 32,86% от общей численности бактериальных сообществ и больше половины всей численности данного таксона, класс же *Sphingobacteria* был значительно менее многочисленным и составлял 4,24% от общего числа выявленных бактерий. Таксон же *Firmicutes* был представлен в большинстве двумя классами – *Clostridia* и *Bacilli*, численность которых составила 27,04 и 13,71% соответственно. При этом выявлено было 41 класс, значимыми оказались четыре, из которых только представленные выше классы включали бактерии, численность которых была выше 3,5%.

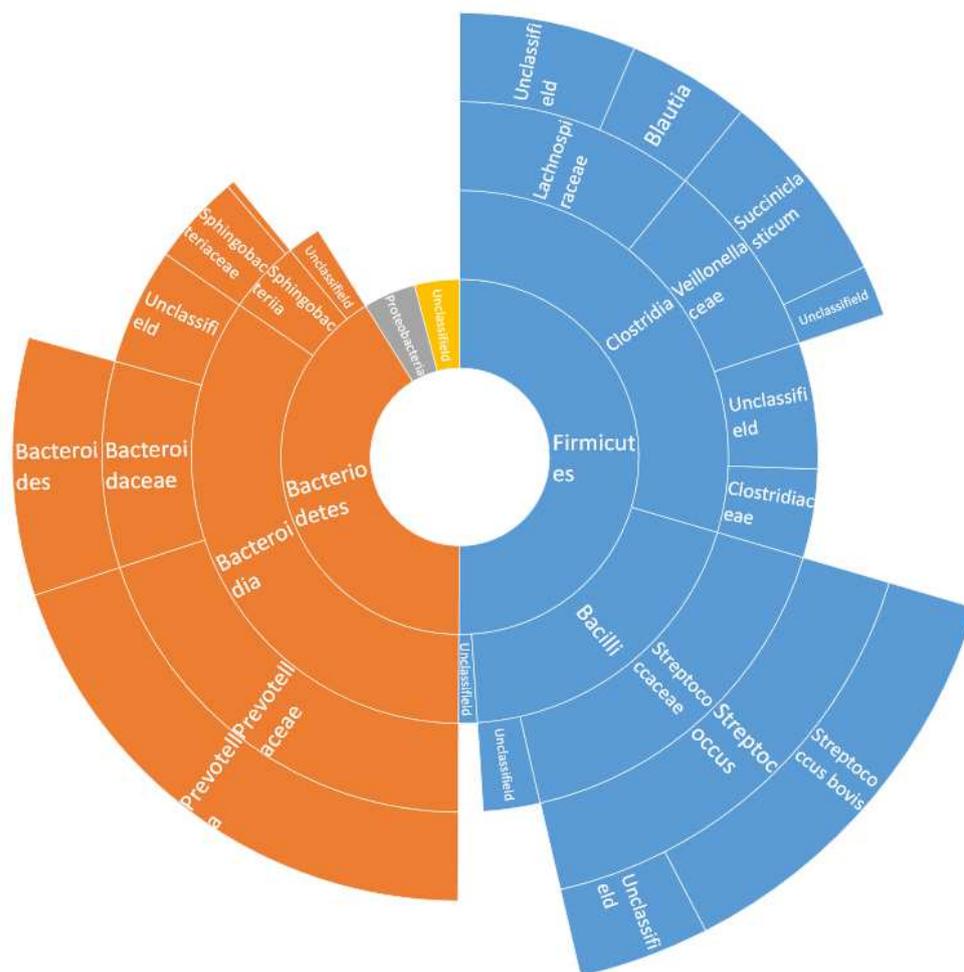


Рисунок 8 – Метагеномный анализ рубцового содержимого крупного рогатого скота при внесении в рацион ВДЧ FeCo

Среди выявленных семейств (181) у животных группы, получавшей ВДЧ FeCo, значимыми оказались 7 семейств, среди которых семейство *Prevotellaceae* составляло 18,89% от общего числа, *Streptococcaceae* – 15,99%, *Lachnospiraceae* – 10,28%. Остальные семейства, такие как *Bacteroidaceae*, *Veillonellaceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Clostridiaceae* являлись малочисленными и составляли в сумме 25,2% от общего числа.

В группе, получавшей ВДЧ FeCo, было идентифицировано 420 родов, из которых только пять являлись значимыми – *Prevotella* (18,89%) и *Bacteroides* (8,92%), относящиеся к классу *Bacteroidia*, *Streptococcus* (15,98%), относящийся к классу *Bacilli*, *Blautia* (4,23%) и *Succinivibrio* (6,78%), относящиеся к классу *Clostridia*.

Видовое разнообразие микрофлоры рубца жвачных животных в ответ на внесение в их рацион ВДЧ сплава FeCo было представлено 613 морфологически различными бактериальными разновидностями. При этом значимым явился только один вид *Streptococcus bovis*, при этом неклассифицированные виды составили более половины – 55,4%, а в общем итоге неопределенные или незначимые, включающие менее 3,5%, – 87,78%.

В рубце животных, получавших ВДЧ SiO<sub>2</sub>, 99,97% от общего числа выделенных таксономических групп занимал таксон *Bacteria*, среди которого наиболее значимым филумом выступал *Firmicutes*, занимающий более 50% от общего числа выделенных таксонов. Также выделялся филум *Bacteroidetes* (32,86%), на долю *Proteobacteria* приходилось всего 4,28%, остальные 22 классифицированных филума, численность которых не превышала 3,5%.

Таксон *Firmicutes* был охарактеризован двумя классами – *Clostridia* и *Bacilli*, однако если численность класса *Clostridia* не имела достоверных отличий от контрольных значений, то численность класса *Bacilli* претерпела существенные изменения в ответ на добавление в рацион подопытных животных высокодисперсных частиц SiO<sub>2</sub> и повысилась до 25,17%, что в 1,83 раза выше по отношению к контролю. Таксон же *Bacteroidetes* в основном был представлен одним классом *Bacteroidia*, численность которого снижалась на 8,64% по сравнению с контролем и на 6,16% по сравнению со II опытной группой и составила 26,70% от общего числа. В другом классе, представленным таксоном *Sphingobacteriia*, численность изменялась в пределах 1% от их количества в контрольной группе. Остальные идентифицированные классы характеризовались численностью, не превышающей 3,5%.



Рисунок 9 – Метагеномный анализ рубцового содержимого крупного рогатого скота при внесении в рацион высокодисперсных частиц SiO<sub>2</sub>

При дальнейшем таксономическом анализе содержимого рубца крупного рогатого скота следует сказать о 8 из 188 классифицируемых семействах, численность которых превышала 3.5%. К ним относились *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae*, *Veillonellaceae*, *Streptococcaceae*, *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae* и *Sphingobacteriaceae*. При этом введение в рацион высокодисперсных частиц SiO<sub>2</sub> приводило к смене доминирующего семейства, что результировалось в достоверном увеличении встречаемости представителей семейства *Streptococcaceae* в 2,07 раза и уменьшении доли *Prevotellaceae* в 1,29 раза. Встречаемость остальных значимых семейств не претерпевала значительных изменений.

Таксономическое разнообразие на уровне рода в группе, получавшей ВДЧ SiO<sub>2</sub> характеризовалось 440 идентифицированными родами, из которых пять оказались значимыми и по встречаемости превышали 3,5%. К ним относились род *Streptococcus*, численность которого составила 22,41%, род *Prevotella* занимал вторую позицию по численности и его численность составила 14,83%, а рода *Bacteroides*, *Succiniclasticum* и *Blautia* оказались малочисленными – 7,38-4,15%. Общее содержание неклассифицированных родов составило 15,15%.

Видовое разнообразие рубца крупного рогатого скота при внесении в их рацион высокодисперсных частиц SiO<sub>2</sub> включало 685 таксономических единиц, при этом значимым оказался, как и в предыдущих случаях, вид *Streptococcus bovis*. Остальные виды были малочисленными и их содержание составило менее 3,5%. При этом следует отметить, что если при внесении в рацион крупного рогатого скота высокодисперсных частиц FeCo происходило увеличение численности доминирующего вида *Streptococcus bovis* на 7,46%, то внесение высокодисперсных частиц SiO<sub>2</sub> приводило к еще более выраженному увеличению численности данного вида – с 8,52% в контроле до 16,53% в опытной группе.

#### **2.3.2.2.1 Ферментативная активность микроорганизмов рубца подопытных животных**

Ферментативная активность и ферментативная вооруженность являются одними из основных характеристик работы пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных, тесно связанными с экономической эффективностью производства животноводческой продукции. Понимание этого предопределила работы по созданию препаратов пищеварительных ферментов, широко используемых сегодня в производстве (Мирошникова Е.П., 1997, 1998; Малюшин Е.Н. и др., 2001, 2002; Левахин В.И. и др., 2002; Мирошников С.А., 2002). С целью определения целлюлозолитической

активности микрофлоры рубца были проведены исследования рубцовой жидкости подопытных животных *in vitro*.

В рубце жвачных обитают триллионы микроорганизмов, которые занимают различные экологические ниши в трофике, имеют различную ферментативную вооруженность и соответственно по-разному влияют на переваримость кормов. К числу наиболее важных с точки зрения переваримости растительных кормов относятся целлюлозолитические микроорганизмы рубца. Эта группа микроорганизмов существенно дополняет ферментативную вооруженность жвачных и позволяет им извлекать энергию из кормов недоступных для большинства млекопитающих.

Нами установлено, что на протяжении дня у подопытных бычков, процессы расщепления питательных веществ проходили на высоком уровне. Так по целлюлозолитической активности микроорганизмов первая опытная группа превосходила контрольную на 11,1 % через 3 часа и на 13,7 % через 6 часов (таблица 9).

Таблица 9 – Динамика целлюлозолитической активности рубцовой жидкости, %

Группа	Время после кормления, час		
	0	3	6
I опытная	5,61±0,04	28,1±0,05	29,8±0,30
II опытная		27,5±0,03	28,4±0,06
Контрольная		25,3±0,18	26,2±0,05

Амилолитические бактерии, в основном стрептококки, представлены в рубце многочисленной группой, их количество возрастает при использовании зерновых, крахмалистых и сахаристых кормов. Оценка ферментативной активности рубцовой жидкости выявила более высокую амилолитическую активность в рубцовой жидкости I опытной группы в сравнении с контролем, в среднем на 28,6 % через 3 часа, и на 27,7 % через 6 часов после кормления. Во II опытной группе наблюдалось увеличение

амилолитической активности на 25,5 % и на 21,3 % через 3 и 6 часов относительно контроля (таблица 10).

Таблица 10 – Динамика амилолитической активности рубцовой жидкости, %

Группа	Время после кормления, час		
	0	3	6
I опытная	54,1±0,08	33,3±0,14	32,3±0,08
II опытная		32,5±0,08	30,7±0,08
Контрольная		25,9±0,40	25,3±0,03

Вторая опытная группа по целлюлозолитической активности была выше контрольной группы на 8,7 % через 3 часа и на 8,4 % через 6 часов, по амилолитической – на 25,5 % через 3 часа и на 21,3 % через 6 часов. На активность микрофлоры оказывает влияние реакции среды (рН), температура содержимого рубца и ряд других факторов.

Исследования показали, что использование ВДЧ стимулирует активность микроорганизмов, следовательно, ведет к повышению переваримости и усвоению питательных веществ, также они синтезируют белки своего тела. Количество микроорганизмов, биомассы зависят от времени взятия проб рубцовой жидкости и кормления.

### **2.3.2.3 Биохимические характеристики рубцового пищеварения подопытных животных**

Нативная и эффективная рубцовая ферментация – необходимое условие для хорошего здоровья и высокой продуктивности молочной коровы. Ферментативные процессы в рубце осуществляются рубцовыми микроорганизмами, видовой состав и численность которых зависят от поступления питательных веществ, формы корма и компонентов рациона. Жвачное животное находится в симбиозе со своей рубцовой микрофлорой, и питательные вещества содержимого рубца, после ферментации используются им для удовлетворения своих потребностей. Основным источником энергии

для жвачных служат летучие жирные кислоты (ЛЖК), которые производятся в процессе расщепления органических субстанций.

Введение ВДЧ в корм молодняка крупного рогатого скота сопровождалось изменениями показателей рубцового пищеварения (таблица 11).

Таблица 11 – Основные показатели рубцового пищеварения у подопытных животных.

Показатель	Время экспозиции, час					
	3			6		
	Группа					
	I опытная	II опытная	Контроль- ная	I опытная	II опытная	Контроль- ная
pH	6,85±0,04	7,01±0,04* *	6,84±0,003	6,64±0,023	6,71±0,04	6,77±0,052
Аммиак, ммоль/л	20,36±0,17	21,36±0,23	19,20±0,361	21,52±0,11	22,67±0,17	20,75±0,16
ЛЖК, ммоль/100 мл	8,78±0,12	8,05±0,03	7,95±0,024	10,50±0,21	8,89±0,05	8,50±0,058

Примечание: \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

Реакция среды рубца — важный показатель, который определяет состояние ферментативных процессов, образование метаболитов, их всасывание и использование в организме.

Как следует из результатов наших исследований колебания концентрации водородных ионов в рубце подопытных животных находились в пределах 6,64-7,01 pH. Сдвиг pH в слабокислую сторону сопровождалось увеличением содержания летучих жирных кислот, так после 3-х часов переваривания во I и II опытных группах концентрация ЛЖК увеличилась на 10,4% и 1,3% относительно контроля. По истечению 6-ти часов происходит повышение уровня ЛЖК во II опытной группе на 23,5% по отношению к контролю.

Величина pH среды во многом определяет всасываемость аммиака в преджелудках. Аммиак из щелочной среды активно всасывается в кровь,

тогда как из кислоты, ввиду образования аммония процесс значительно замедляется.

Часть азота, поступившего с кормом, преобразуется в аммиак, поэтому по концентрации аммиака можно судить об обмене азота. В наших исследованиях установлен факт нарастания концентрации аммиака в рубцовом содержимом I и II опытных группах на величину до 6,1% и 12,6% после 3 часов введения, соответственно. Это наблюдается и при 6-ти часовой экспозиции, показатели аммиака в содержимом рубца животных I опытной группы превысила уровень контроля на 3,7%, во II опытной группе на 9,3%.

Таким образом, из полученных результатов, можем сделать вывод, что интенсивность ферментативных процессов в рубце подопытных животных протекала неодинаково.

Азотистый обмен включает обмен простых и сложных белков, нуклеиновых кислот, продуктов их распада (пептидов, аминокислот и нуклеотидов), содержащих азот жироподобных веществ (липидов), гормонов, витаминов и др. Азотсодержащие вещества (протеины) находятся в рубце жвачных в виде промежуточных или конечных продуктов азотистого обмена. Концентрация протеинов зависит от множества факторов: характера кормления, сезон и время кормления, внешние условия и др. В наших исследованиях мы так же изучали особенности обмена азотсодержащих веществ (таблица 12).

Таблица 12 – Уровень азотистых метаболитов в рубце подопытных животных (3 часа), ммоль/л

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Общий азот	246±0,06	243±0,06	244±0,03
Белковый азот	170±0,10	160 ±0,03	158±0,006
Небелковый азот	76,0±0,03	83±0,03	86,0±0,03

Как следует из полученных результатов через 3 часа после кормления концентрация общего азота в I опытной группе была высокой по сравнению с

контрольной на 1 %, а белковый азот повысился на 7,6 % относительно контроля. Во второй опытной группе общий азот снизился на незначительный процент по сравнению с контролем, белковый азот повысился относительно контроля на 1,3 %. Содержание небелкового азота в первой группе было снижено на 11,6 % по отношению к контролю. Происходило уменьшение небелкового азота во второй группе, который достоверно снизился на 3,5 %.

Таблица 13 – Уровень азотистых метаболитов в рубце подопытных животных (6 часов)

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Общий азот, ммоль/л	254±0,03	250±0,3	251±0,03
Белковый азот, ммоль/л	200±0,03	190±0,05**	185±0,03
Небелковый азот, ммоль/л	54±0,003	60±0,06	66±0,06

Примечание: \*\* -  $P \leq 0,01$

Общий азот был увеличен в первой группе через 6 часов по отношению к контрольной группе на 1,2 %. Белковый азот увеличился через 6 часов также в первой группе относительно контроля на 8,1 %, а небелковый уменьшился на 18,2 %. Во второй группе также произошло достоверное повышение белкового азота через 6 часов по отношению к контролю на 2,7%.

Увеличение концентрации белкового азота и общего азота у опытных групп через 3 часа и 6 часов говорит о том, что происходит активная деятельность микрофлоры рубца и переход азота в рубцовую жидкость.

Таким образом, использование ВДЧ в рационе кормления молодняка крупного рогатого скота оказывают различное влияние на процессы пищеварения в рубце. Интенсивность течения ферментативных процессов при этом находится в зависимости от типа кормления, кормовых добавок, внешних факторов.

### 2.3.2.4 Влияние ВДЧ на минеральный обмен в рубце подопытных животных

В основе классификации химических элементов лежат представления о физиологическом их действии в организме. Согласно такой классификации макроэлементы, составляющие основную массу клеток и тканей, являются «структурными» элементами. К «эссенциальным» (жизненно-необходимым) микроэлементам относят Fe, J, Си, Zn, Со, Cr, Мо, Se, Mn, к «условно-эссенциальным» — As, В, Br, F, Li, Ni, Si, V. Жизненная необходимость или эссенциальность (от англ. essential — «необходимый»), является важнейшим для жизнедеятельности живых организмов свойством химических элементов. Химический элемент считается эссенциальным, если при его отсутствии или недостаточном поступлении в организм нарушается нормальная жизнедеятельность, прекращается развитие, становится невозможной репродукция. Восполнение недостающего количества такого элемента устраняет клинические проявления его дефицита и возвращает организму жизнеспособность.

К «токсичным» элементам отнесены Al, Cd, Pb, Hg, Be, Ва, Bi, TI, к «потенциально-токсичным» — Ag, Au, In, Ge, Rb, Ti, Te, U, W, Sn, Zr и др. Результатом воздействия этих элементов на организм является развитие синдромов интоксикаций (токсикопатий).

Анализ элементного состава рубцовой жидкости в нашем эксперименте выявил факт «напряжения» обмена ряда эссенциальных элементов, тесно связанных с метаболизмом микробного сообщества рубца (таблица 14).

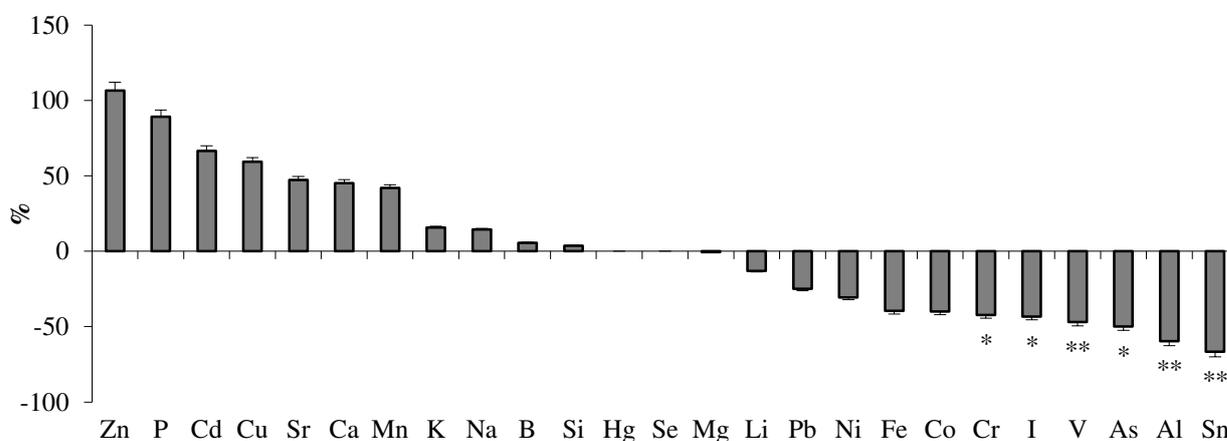
Таблица 14 – Концентрация эссенциальных химических элементов в рубцовой жидкости (экспозиция 3 часа), мкг/г.

Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
<b>Са</b>	658±67	559±57	453±45
<b>Со</b>	0,03±0,005	0,03±0,005	0,05±0,007

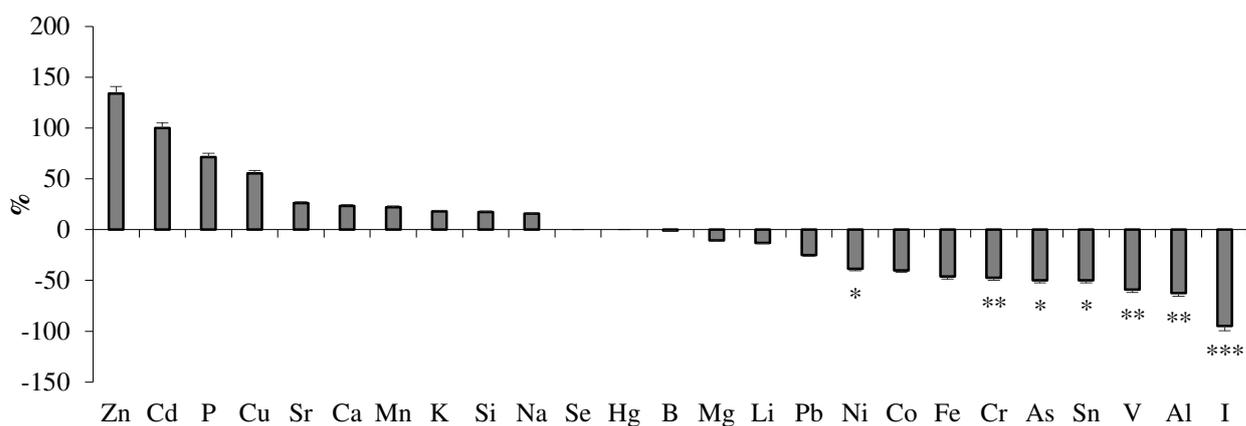
<b>Cr</b>	0,11±0,01*	0,10±0,001**	0,19±0,02
<b>Cu</b>	0,43±0,05	0,42±0,05	0,27±0,03
<b>Fe</b>	47,1±4,71	46,0±4,2	48,9±7,79
<b>I</b>	0,38±0,04*	0,36±0,04**	0,67±0,08
<b>K</b>	921±92	938±94	795±80
<b>Mg</b>	158±16	142±14	159±16
<b>Mn</b>	5,0±0,5	4,3±0,43	3,5±0,35
<b>Na</b>	2891±289	2928±293	2527±253
<b>P</b>	664±66**	602±60*	351±35
<b>Se</b>	0,05±0,007	0,05±0,007	0,05±0,007
<b>Zn</b>	6,49±0,65**	7,35±0,75**	3,14±0,31

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

В частности, в рубцовой жидкости животных I и II опытных групп отмечалось достоверное снижение концентрации хрома на 60 ( $P \leq 0,05$ ) и 47,3 % ( $P \leq 0,01$ ), а также железа на 3,7 и 6,0 % соответственно. В тоже время через три часа после кормления мы отмечали в рубцовой жидкости животных опытных групп значительное повышение концентрации фосфора на 89,2% ( $P \leq 0,01$ ) в I и на 71,5 % ( $P \leq 0,05$ ) во II опытной группе. Аналогичное повышение концентрации цинка на 106,7% ( $P \leq 0,01$ ) и на 134 % ( $P \leq 0,001$ ), соответственно. Обобщение всех данных по элементному составу рубцовой жидкости в период через три часа после кормления позволило дать следующее графическое представление о процессе (рисунок 10).



A



**В**

Рисунок 10 – Разница концентрации химических элементов в рубцовой жидкости животных опытных групп по сравнению с контрольной через 3 часа после введения: А - ВДЧ SiO<sub>2</sub> (I опытная группа); В - ВДЧ FeCo (II опытная группа), %.

По итогам оценки элементного состава рубцовой жидкости через 6 часов после кормления можно заключить о сохранении выявленной закономерности в части достоверного снижения содержания хрома, ванадия и т.д. в рубце животных II опытной группы (таблица 15).

Таблица 15 – Концентрация эссенциальных химических элементов в рубцовой жидкости (экспозиция 6 часов), мкг/г.

Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
<b>Ca</b>	683 ±68	575±58	518±52
<b>Co</b>	0,07±0,01	0,03±0,005*	0,06±0,008
<b>Cr</b>	0,22±0,02	0,11±0,01**	0,22±0,02
<b>Cu</b>	0,47±0,05	0,39±0,04	0,33±0,03
<b>Fe</b>	105±10	98,7±4,74	99,5±9,95
<b>I</b>	0,36±0,04	0,31±0,004	0,36±0,04
<b>K</b>	842±84	987±99	836±84
<b>Mg</b>	175±17	163±16	170±17
<b>Mn</b>	5,34±0,53	4,51±0,45	4,12±0,41
<b>Na</b>	2552±255	3080±308	2611±261

<b>P</b>	410±41	592±59	367±37
<b>Se</b>	0,05±0,008	0,05±0,007	0,04±0,006
<b>Zn</b>	4,5±0,45	5,9±0,59	4,29±0,43

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

При этом помимо этих двух химических элементов в рубцовой жидкости животных II опытной группы отмечалось достоверное снижение содержание кобальта на 50% ( $P \leq 0,05$ ). В отличие от II опытной группы в I после шести часов пищеварения различий в содержании эссенциальных микроэлементов выявлено небыло.

Помимо эссенциальных элементов действие оцениваемых кормовых добавок распространялось и на обмен условно-эссенциальных химических элементов в рубце (таблица 16).

Таблица 16 – Концентрация условно-эссенциальных химических элементов в рубцовой жидкости крупного рогатого скота (экспозиция 3 часа), мкг/г

Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
<b>As</b>	0,02±0,004*	0,02±0,003*	0,04±0,007
<b>B</b>	1,3±0,13	1,22±0,12	1,23±0,12
<b>Li</b>	0,33±0,04	0,33±0,04	0,38±0,04
<b>Ni</b>	0,18±0,02	0,16±0,02*	0,26±0,03
<b>Si</b>	19,1±1,91	21,6±2,17	18,4±1,84
<b>V</b>	0,09±0,013**	0,07±0,011**	0,17±0,02

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

В частности, в рубцовой жидкости животных I и II опытных групп в период через 3 часа после кормления отмечалось достоверное снижение концентрации мышьяка на 50,0 ( $P \leq 0,05$ ) и 50,0% ( $P \leq 0,05$ ), ванадия на 47 % ( $P \leq 0,01$ ) и на 58,8 % ( $P \leq 0,01$ ), соответственно. Данная закономерность во II опытной группе сохранилась и в период после 6 часов с начала пищеварения, с тем отличием, что помимо мышьяка и ванадия мы отмечали достоверное

снижение и концентрации в рубцовой жидкости никеля на 38,5 % ( $P \leq 0,05$ ). Как и в случаи с эссенциальными микроэлементами 3 и 6 часов после кормления в I опытной группе мы и по динамике условно-эссенциальных химических элементов выявили сходную закономерность – «на фоне выраженных различий после 3 пищеварения обмен условно-эссенциальных химических элементов после 6 часов не чем не отличался от контроля» (таблица 17).

Таблица 17 – Концентрация условно-эссенциальных химических элементов в рубцовой жидкости крупного рогатого скота (экспозиция 6 часов), мкг/г

Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
<b>As</b>	0,07±0,01	0,02±0,004*	0,05±0,008
<b>B</b>	1,43±0,14	1,26±0,13	1,27±0,13
<b>Li</b>	0,39±0,04	0,37±0,04	0,4±0,04
<b>Ni</b>	0,39±0,05	0,17±0,02**	0,31±0,04
<b>Si</b>	20,7±2,07	19,8±1,98	15,8±1,58
<b>V</b>	0,23±0,027*	0,08±0,013**	0,2±0,024

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Картина динамики концентрации токсических элементов в рубцовой жидкости опытных животных в точности повторила динамику выше описанную для эссенциальных и условно-эссенциальных химических элементов (таблица 18, 19).

Таблица 18 – Концентрация токсических химических элементов в рубцовой жидкости крупного рогатого скота (экспозиция 3 часа), мкг/г

Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
<b>Al</b>	23,8±2,38**	22,2±2,22**	59,2±5,92
<b>Cd</b>	0,005±0,0009	0,006±0,001	0,003±0,0007
<b>Hg</b>	<0,0036	<0,0036	<0,0036

Pb	0,03±0,005	0,03±0,004	0,04±0,005
Sn	0,002±0,0004**	0,003±0,0006*	0,006±0,0011
Sr	3,05±0,31	2,61±0,26	2,07±0,21

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

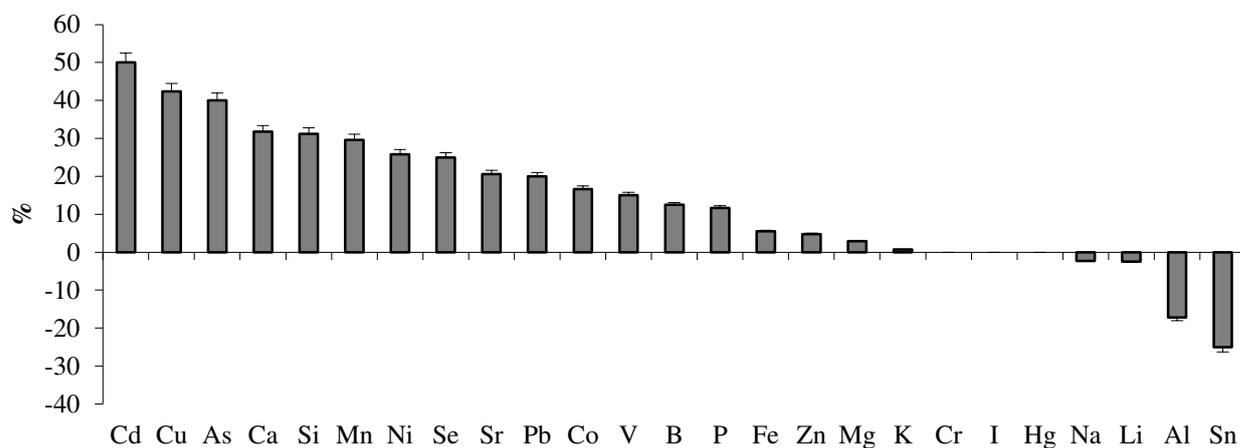
Так в рубцовой жидкости животных I и II опытных групп через 3 часа после кормления отмечалось достоверное снижение концентрации алюминия в 2,5 раза ( $P \leq 0,01$ ) и в 2,7 раза ( $P \leq 0,001$ ), олова в 3 раза ( $P \leq 0,01$ ) и в 2 раза ( $P \leq 0,05$ ), соответственно. Через 6 часов после кормления достоверные различия по концентрации токсических элементов отмечались нами только между II опытной и контрольной группами и распространялись на уровень алюминия и свинца (таблица 19).

Таблица 19 - Концентрация токсических химических элементов в рубцовой жидкости крупного рогатого скота (экспозиция 6 часов), мкг/г

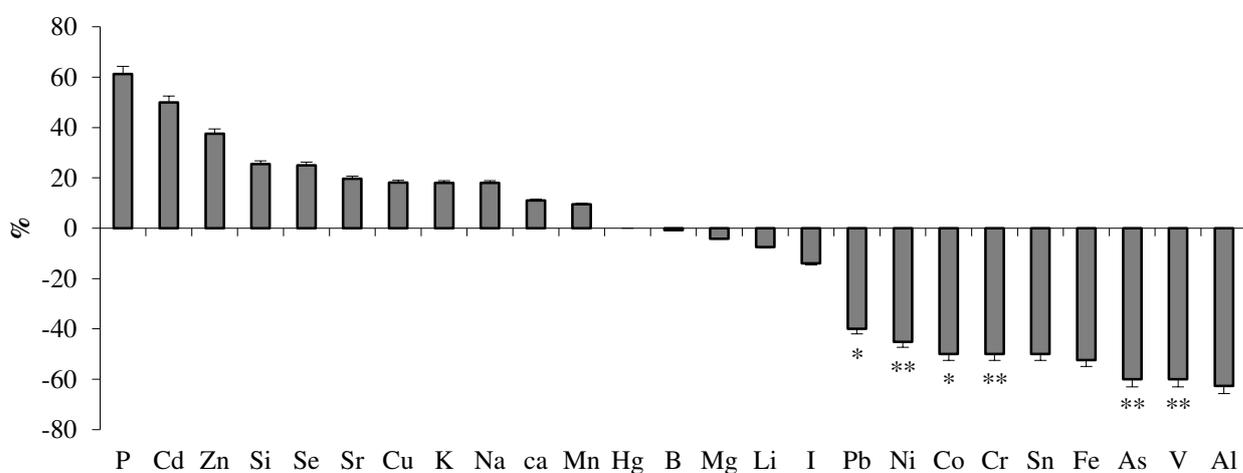
Элемент	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Al	53,8±5,38	24,3±2,43**	65,1±6,51
Cd	0,006±0,0011	0,006±0,001	0,004±0,0008
Hg	<0,0036	<0,0036	<0,0036
Pb	0,06±0,01	0,03±0,004*	0,05±0,007
Sn	0,003±0,0005	0,02±0,003	0,004±0,001
Sr	2,69±0,27	2,67±0,27	2,23±0,22

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$ .

Обобщение всех данных по элементному составу рубцовой жидкости в период через шесть часов после кормления позволило дать следующее графическое представление о процессе (рисунок 11).



A



B

Рисунок 11. Разница концентрации химических элементов в рубцовой жидкости животных опытных групп по сравнению с контрольной через 6 часов после введения: А – ВДЧ SiO<sub>2</sub> (II группа); В - ВДЧ FeCo (III группа), %.

Таким образом минеральный обмен в рубце молодняка крупного рогатого скота может быть скорректирован через дополнительное введение в рацион препараты высокодисперстных частиц металлов, в частности сплава железа и кобальта и оксида кремния. Причем динамика действия препаратов на элементный состав рубцового содержимого отличается.

### 2.3.3.4 Морфо-биохимические показатели подопытных животных

#### 2.3.3.4.1 Морфологический состав крови

Проведенные исследования показывают, что все изучаемые показатели всех групп находились в пределах допустимых физиологических норм. Однако при изучении морфо-биохимических параметров крови нельзя ограничиваться лишь физиологическими нормами, а важно оценивать наметившиеся тенденции и незначительные сдвиги, происходящих в пределах этой нормы (таблица 20).

Введение ВДЧ SiO<sub>2</sub> (I группа) сопровождается увеличением содержания моноцитов на 2 %, гранулоцитов на 3,6 % и достоверным снижением тромбоцитов на 15 % (P≤0,05) относительно контроля. Введение ВДЧ FeCo (II группа) приводило к снижению концентрации моноцитов на 25,6 % (P≤0,05), и повышению гемоглобина на 6,0 %. Наблюдается достоверное снижение тромбоцитов на 18,1 % (P≤0,05), относительно контроля при увеличении гранулоцитов на 4,7 %, лимфоцитов на 15,1 % (P≤0,05), и др.

Таблица 20 – Влияние ВДЧ SiO<sub>2</sub> и FeCo на морфологические показатели крови подопытных животных.

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	9,17±0,44	11,0±0,82	12,0±0,95
лимфоциты, %	33,8±1,15	41,0±1,40*	35,6±1,26
моноциты, %	28,2±1,77	20,6±0,97*	27,7±1,78
гранулоциты, %	37,9±1,83	38,3±1,40	36,6±1,78
эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,13±0,30	5,76±0,28	6,22±0,17
гемоглобин, г/л	84,3±2,84	89,0±1,61	84,0±1,52
гематокрит, %	24,4±0,75	25,9±1,23	24,8±0,33
объем эритроцитов, fL	48,4±1,46	43,5±0,95*	40,0±0,68
тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	192 ±5,86*	185±6,96*	226±6,05

Примечание: \* - P≤0,05.

В процентном соотношении отдельных видов лейкоцитов после введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> отмечалось относительное повышение доли лимфоцитов на 5,4 % относительно контрольной группы. В случае с уровнем моноцитов возникло небольшое повышение уровня моноцитов во второй группе на 1,5 %, а в первой группе моноциты на значительный процент уменьшились 12,6 %. Гранулоциты повышаются в опытных группах на 1,5 % по сравнению с контролем, (рисунок 12).

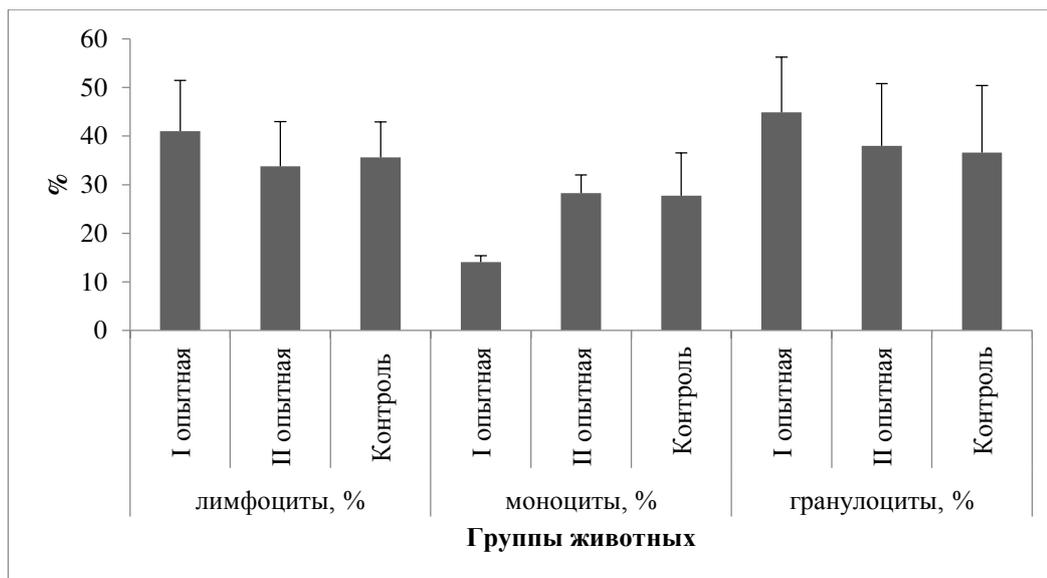


Рисунок 12 – Соотношение отдельных видов лейкоцитов после введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> и FeCo, %

#### 2.3.3.4.2 Биохимические показатели сыворотки крови молодняка крупного рогатого скота

По изменению состава крови можно судить о промежуточном обмене организма, его защитных реакциях и о многих других показателях, жизненно важных для животных. Поэтому для характеристики физиологического состояния животных был проведен биохимический анализ крови.

Анализ данных показывает, что введение ВДЧ приводит к недостоверному росту таких показателей как, АЛат, АСаТ, кальций, фосфор,

мочевина и др. Достоверные изменения были характерны только для щелочной фосфатазы.

Уровень аланинаминотрансферазы (АЛт) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в крови у животных при введении ВДЧ SiO<sub>2</sub> возрастает на 6,4 % и на 6 % относительно контроля.

Изменения достоверного значения щелочной фосфатазы характеризовались повышением её показателей в второй группе при введении ВДЧ FeCo на 21 % ( $P \leq 0,05$ ), по сравнению с контрольной. Содержание общего белка также достоверно повысилось на 4,6% ( $P \leq 0,05$ ), относительно контроля.

В группах содержание общего белка находились в пределах физиологической нормы. По анализу содержания белка сыворотки крови мы можем говорить о обменных процессах, происходящих в рубце.

Таблица 21 – Биохимические показатели крови подопытных животных при введении ВДЧ.

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
АЛТ, Е/л	33,1±2,79	36,1±2,15	31,1±0,26
АСТ, Е/л	106±7,18	98,5±6,41	100±8,21
Щелочная фосфатаза, Е/л	103±6,88	151±9,93*	125±7,72
ГГТ, Ед/л	8,33±0,28	9,00±0,61	7,67±0,33
Мочевая кислота, мкмоль/л	27,5±1,75	31,6±1,71	28,0±1,43
Креатинин, мкмоль/л	118±5,48*	119±5,94	134±3,67
Мочевина, ммоль/л	5,30±0,01	5,23±0,04	5,20±0,06
Магний, ммоль/л	0,44±0,01	0,42±0,03	0,42±0,02
Глюкоза, ммоль/л	3,64±0,03	3,44±0,16	2,56±0,08
Общий белок, г/л	74,4±3,11	84,4±1,28*	80,7±1,17
Альбумин, г/л	33,0±1,52	34,0±1,52	32,0±2,00
Холестерин, ммоль/л	3,17±0,09	3,15±0,01	2,81±0,03
Триглицериды, ммоль/л	0,24±0,03*	0,18±0,02	0,19±0,02
Железо, мкмоль/л	31,5±1,01*	28,8±1,02*	23,7±1,37

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ .

Об уровне углеводного обмена в организме жвачных животных можно судить по содержанию глюкозы в крови, уровень глюкозы в опытных группах был в пределах нормы.

Анализ содержания железа в крови животных I опытной группе показал увеличение показателя на 33 % ( $P \leq 0,05$ ), во II опытной группе на 21,5 % ( $P \leq 0,05$ ) в сравнении с контролем (таблица 21). Концентрация триглицеридов в I опытной группе повысилась на 26 % ( $P \leq 0,05$ ) относительно контроля.

Из азотистых соединений наблюдается достоверное снижение креатинина на 11,9 % ( $P \leq 0,05$ ), на фоне введения ВДЧ  $\text{SiO}_2$  (I группа) по сравнению с контролем. Введение ВДЧ  $\text{FeCo}$  (II группа) отзывается повышением мочевой кислоты на 13,1 %, по сравнению с контролем. Показатели мочевины имеют тенденцию к повышению в группах, получавших ВДЧ.

Крупный рогатый скот, как известно, достаточно чувствителен к несбалансированности рационов и в связи с этим необеспеченность животных даже по одному из элементов питания ведет к снижению усвоения питательных веществ, перерасходу кормов, нарушению обмена веществ, недополучению продукции, заболеваниям и гибели животных. Особенно ярко болезни обмена веществ у них проявляются при круглогодичном беспривязном содержании в помещениях.

Таким образом, морфологические и биохимические показатели сыворотки крови подопытных животных находились в пределах нормы, что говорит о хорошем самочувствии подопытных животных в период проведения эксперимента. Можно сказать, что окислительно-восстановительные процессы в организме животных при различных добавках ВДЧ протекают неодинаково.

### **2.3.3.4.3 Характеристики антиоксидантных систем крови подопытных животных**

Наиболее информативным комплексом биохимических показателей при изучении действия биоантиоксидантов являются параметры перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид (МДА)) и антиоксидантной системы защиты организм, (активность каталазы и спероксиддисмутазы) (Коробейникова Э.Н. и др., 2002).

Супероксиддисмутаза является катализатором обратной реакции - дисмутации (обратного превращения) АФК в кислород и перекись водорода. Поскольку АФК являются одним из главных клеточных ядов, СОД играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма. Экспериментально это было доказано на мышах: мыши, в клеточных митохондриях которых отсутствовала СОД, после рождения жили лишь несколько дней, из-за развития сильного оксидативного стресса. СОД работает в паре с каталазой, которая гонит реакцию дальше - разлагает перекись водорода на молекулярный кислород и воду. СОД ускоряет реакцию химического дисмутирования в 10 тысяч раз, а каталаза способна за одну секунду разложить 44 000 молекул  $H_2O_2$ .

Поскольку каталаза относится к числу наиболее "скоростных" ферментов, для работы ее нужно незначительное количество, поэтому ее дефицита, как правило, не возникает. В основном проблемы с каталазной активностью могут возникать при значительном дефиците витаминов группы В.

Малоновый диальдегид (МДА) — один из продуктов свободнорадикального окисления липидов, накопление которого отражает степень оксидативного стресса в организме. Оценка этого показателя необходима для определения причин и механизмов развития того или иного патологического процесса.

Мы изучили одни из ключевых антиоксидантных ферментов крови как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ) и продукт перекисного окисления липидов - малоновый диальдегид (МДА) (таблица 22, рисунок 13, 14, 15).

Таблица 22 – Ферментативная активность крови подопытных животных.

Группа	Малоновый диальдегид, нм/мл	СОД, %	Каталаза, мкМ Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /лхмин
I опытная	0,66±0,06	132±60,0	4 990±979
II опытная	0,96±0,14	177±15,0	9 784±1 678
Контрольная	1,03±0,58	204±59,2	5 745±1 855

Из таблицы видно, что произошло недостоверное изменение активности каталазы во II опытной группе на 70,3 %, в I группе этот показатель уменьшился на 13,1 % по отношению к контрольной группе. Уровень супероксиддисмутаза был снижен в I и II опытных группах по отношению к контролю на 35,3 % и 13,3 %, соответственно.

Так, уровень малонового диальдегида, который является вторичным, наиболее токсичным продуктом перекисного окисления липидов, в опытных группах подопытных бычков снизился. В I опытной группе МД недостоверно снизился по отношению к контролю на 36 %, а во II опытной группе на 6,8 %.

Активность супероксиддисмутаза тесно связана с активностью каталазы, которая защищает организм от высокотоксичных кислородных радикалов. Повышение активности СОД, без соответствующей активации каталазы, само по себе является цитотоксичным. Каталаза катализирует расщепление перекиси водорода с образованием воды и кислорода

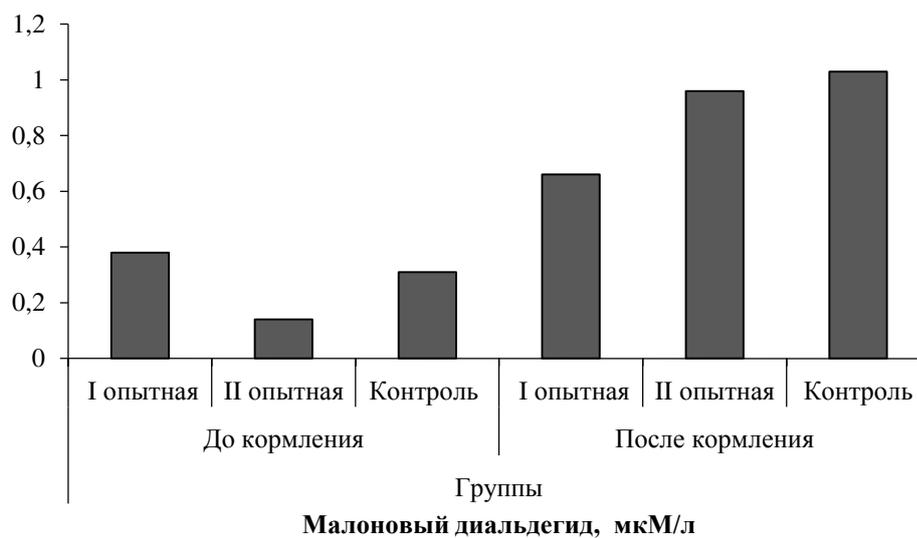


Рисунок 13 – Изменение активности малонового диальдегида (МДА) в крови подопытных животных после введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> (I опытная группа) и FeCo (II опытная группа).

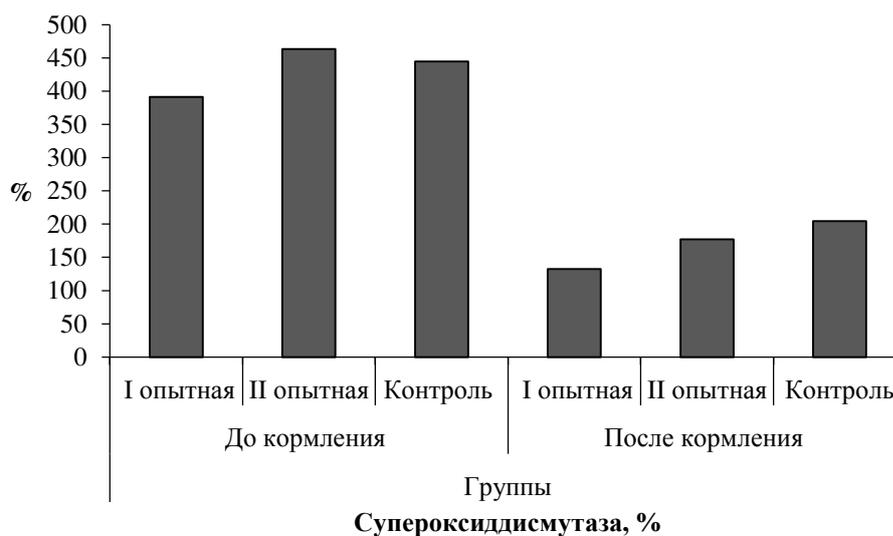


Рисунок 14 – Изменение активности супероксиддисмутазы в крови подопытных животных после введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> (I опытная группа) и ВДЧ FeCo (II опытная группа).

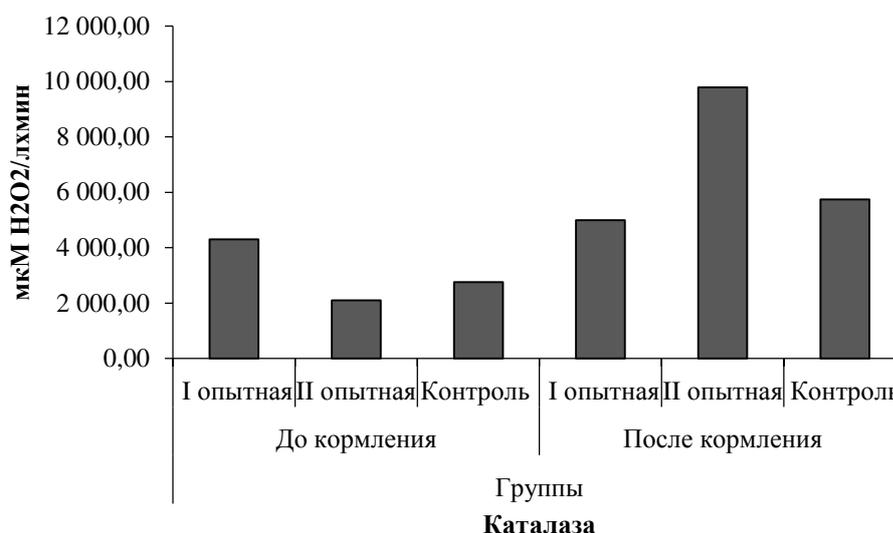


Рисунок 15 – Изменение активности каталазы в крови подопытных животных после введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> (I опытная группа) и ВДЧ FeCo (II опытная группа).

В целом при анализе взаимодействия ферментов-антиоксидантов крови подопытных животных необходимо отметить пропорциональную зависимость, сбалансированность в активности действия для предотвращения развития оксидативного стресса. Совместное действие определяется оксидантными факторами, а именно уровнем свободных радикалов кислорода, и возможно, пероксидом водорода. Ведь их совместное действие направлено на уменьшение содержания именно H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, что может, в свою очередь, вызывать ингибирование активности ферментов по принципу отрицательной обратной связи. Это позволяет сделать вывод, что изменение количества СОД, КАТ и МДА является ответственным за снижение уровня токсичных продуктов пероксидного окисления липидов, накопления окислительных повреждений в организме и, таким образом, предотвращения негативных последствий окислительного стресса.

### 2.3.3.5 Переваримость корма и эффективность использования азота и энергии подопытными животными

#### 2.3.3.5.1 Переваримость питательных веществ подопытными животными

Исследования влияния высокодисперсных препаратов  $\text{SiO}_2$  и  $\text{FeCo}$  на переваримость питательных веществ, выявили ряд различий в эффективности использования корма. Так, переваримость сухого вещества была увеличена в I опытной группе на 1,76 % ( $P \leq 0,01$ ), во II на 1% относительно контроля. Аналогичное повышение коэффициента переваримости органического вещества составило 1,7 % ( $P \leq 0,01$ ) и 1 % ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 23).

Значения переваримости сырого протеина увеличились в I, II опытных группах на 2,7 % ( $P \leq 0,01$ ) и на 1,3 % ( $P \leq 0,01$ ) соответственно. Переваримость сырого жира в сравнении с контролем оказалась выше во II опытной группе на 2,9 % ( $P \leq 0,01$ ). Коэффициент переваримости сырой клетчатки повышался в I и II опытных группах на 2,7 % ( $P \leq 0,01$ ) и на 1,87% ( $P \leq 0,01$ ). Аналогичное повышение переваримости отмечалось нами и для безазотистых экстрактивных веществ.

Таблица 23 – Коэффициенты переваримости питательных веществ рационов у подопытных животных, %

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Сухое вещество	65,73±0,17**	64,53±0,27	63,97±0,08
Органическое вещество	68,57±0,18**	67,43±0,17*	66,83±0,17
Сырой протеин	64,57±0,02**	63,09±0,18**	61,80±0,15
Сырой жир	68,10±0,55	70,64±0,02**	67,73±0,46
Сырая клетчатка	54,49±0,24**	53,67±0,08**	51,80±0,10
БЭВ	73,30±0,70	74,70±0,11**	71,70±0,06

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Таким образом, наиболее высокими показателями переваримости большинства питательных веществ обладали бычки, получавшие ВДЧ SiO<sub>2</sub>.

### 2.3.3.5.2 Обмен энергии и азота в организме подопытных животных

Рассмотрение обмена энергии в организме подопытных бычков выявило изменения в эффективности процессов на этапе пищеварения и межклеточного обмена. Различное кормление животных оказало влияние на эффективность превращения энергии корма в организме подопытных бычков (таблица 24).

Поступление энергии в организм было практически одинаковым. Переваримой энергии бычки потребляли больше в I и II группе на 2,9 % ( $P \leq 0,01$ ) и на 3,1 % ( $P \leq 0,01$ ) относительно контроля. Обменная энергия в I и II группах превосходила контрольную группу на 12 и 2 МДж.

Таблица 24 – Потребление питательных веществ и характер использования энергии подопытными животными

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Валовая энергия	122,12±0,011	122,13±0,002	122,08±0,041
Переваримая энергия	76,92±0,033**	77,09±0,080**	74,75±0,134
Обменная энергия	71,72±5,192	61,62±0,063**	59,69±0,103
обменная энергия на продукцию	39,72±6,700	29,52±0,465	30,03±0,231
чистая энергия прироста	12,83±2,164	9,58±0,148	9,44±0,056
КПИ ОЭ	32,30±0,000**	32,45±0,033**	31,44±0,054

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Коэффициент продуктивного использования обменной энергии в I и II группе был больше на 1 % в отношении контрольной группы. Существенных изменений в остальных опытных группах не отмечалось.

Таблица 25 – Среднесуточный баланс азота у подопытных животных, г

Показатели	I опытная группа	II опытная группа	Контрольная группа
Принято	167±0,12**	165±0,12	163±0,20
Выделено в кале, г	49,1±3,22	44,1±2,73	55,7±0,83
Выделено в моче	82,1±0,91	78,5±1,00	85,9±0,73
Переварено	118±3,27*	121±1,04**	107±0,85
Отложено на 1 гол.	36,3±3,55*	42,8±1,69**	21,5±0,17
Отложено на 100 кг ж.м	10,9±1,10*	12,8±0,47**	6,46±0,07
коэф.испол.от принятого	21,7±2,11*	25,8±1,03**	13,1±0,09
коэф.испол.от переваренного	30,6±2,19*	35,3±1,71**	20,0±0,20

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Белковый обмен имеет важное значение в сложных процессах обмена веществ между организмом и внешней средой. Характеризуя белковый обмен на этапе переваривания и всасывания компонентов следует обратиться к балансу азота в организме. На основании проведенных экспериментов нами было установлено, что у всех подопытных бычков баланс азота был положительным, а эффективность была разной (таблица 25).

Наибольшее поступление азота было в I и II опытных группах 165,0-167 г/гол/сут. Это можно объяснить большим потреблением корма животными опытных групп.

Так, подопытные животные первой и второй группы переваривали азот на 10,3 % ( $P \leq 0,05$ ) и на 13,1 % ( $P \leq 0,01$ ) больше относительно контроля. Сравнительную характеристику эффективности усвоения азота изучали путем расчета коэффициентов использования этого элемента от принятого и переваренного. Можно сказать, что лидирующую позицию занимала вторая группа бычков, в которой коэффициент использования азота от принятого был выше, чем в контроле и в первой опытной группе, а коэффициент использования азота от переваренного - на 76,5 % ( $P \leq 0,01$ ) и 15,4 % ( $P \leq 0,01$ ) соответственно.

### 2.3.3.5.3 Обмен кальция и фосфора в организме подопытных животных

Для выявления влияния скармливания препаратов ВДЧ на обмен кальция и фосфора в организме были изучены баланс этих веществ у подопытных животных.

По результатам исследований было выявлено, что применение препаратов ВДЧ в кормлении подопытных животных сопровождалось некоторыми изменениями в использовании кальция (таблица 26).

Лучшее использование кальция как в абсолютных, так и в относительных величинах по сравнению с контрольной группой отмечено у молодняка всех опытных групп. В организме опытных животных отложено больше кальция: в 1-опытной группе – на 30,8 % ( $P \geq 0,05$ ), 2-опытной – 30,3 % ( $P \geq 0,01$ ). По сравнению с контролем в опытных группах был выше коэффициент его использования: в 1-опытной группе на 27,3 % ( $P \geq 0,05$ ), 2-опытной – 28,2 % ( $P \geq 0,01$ ).

Таблица 26 – Среднесуточный баланс кальция у подопытных животных, г/гол

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Принято	71,20±0,115***	70,37±0,186**	69,43±0,260
Выделено с калом	37,91±1,616	37,49±1,641	41,82±1,057
Выделено с мочой	6,10±0,3005	5,80±0,5689	6,78±0,0033
Отложено на 1 гол.	27,2±1,324*	27,07±1,944**	20,8±0,928
Отложено на 100 кг ж.м	8,16±0,382*	8,13±0,574**	6,26±0,275
Коэффициент использования, %	38,19±1,854*	38,46±2,690**	30,00±1,389

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

Таким образом, подопытные животные были обеспечены кальцием, при этом бычки опытных групп его использовали лучше.

В настоящих исследованиях был изучен обмен фосфора в организме подопытных коров. При этом по использованию фосфора коровами подопытных групп наблюдалась аналогичная закономерность.

При изучении влияния типов кормления молодняка крупного рогатого скота мясного направления продуктивности на использование ими фосфора рационов было установлено, что баланс данного элемента в организме животных всех групп, не зависимо от возраста был положительным (таблица 27).

В период проведения опыта количество потребленного фосфора с кормом было выше на 3 %, чем в контрольной группе. С мочой выделено фосфора в I группе больше на 44,5 % ( $P \leq 0,05$ ) относительно контроля. Количество выделенного с калом фосфора достоверных различий между контрольной и опытной группой не наблюдалось. Так, содержание фосфора в моче бычков опытных групп составил в среднем 3,57 г. и 3,14 г., тогда как в контрольной – 2,47, что на 30,8 % ( $P \leq 0,05$ ) и 21,3 % меньше. Баланс фосфора во всех группах был положительный. Использование фосфора на отложения было выше на 34 % и на 6 % в контрольной группе, по отношению к опытным группам

Таблица 27 – Среднесуточный баланс фосфора у подопытных животных, г/гол

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Принято	41,87±0,017***	41,85±0,087***	40,40±0,208
Выделено с калом	18,13±0,928	22,78±0,318	22,87±1,488
Выделено с мочой	3,57±0,2833*	3,14±0,4997	2,47±0,3333
Отложено на 1 гол.	20,17±0,668**	15,94±0,668	15,06±0,992
Отложено на 100 кг ж.м	6,14±0,171**	4,78±0,200	4,52±0,285
Коэффициент использования, %	48,17±1,582**	38,08±1,557	37,30±2,613

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

Эффективность всасывания фосфора зависит от ряда факторов: возраста, массы тела животного, физиологического состояния, количества потребленного сухого вещества рациона, кальций-фосфорного отношения, концентрации в корме алюминия, кальция, железа, марганца, цинка, магния, калия жира, показателя рН в кишечнике; источника фосфора. Как следует из полученных нами данных на обмен фосфора действие ВДЧ было не выраженным.

## **2.4 Результаты научно-хозяйственного опыта**

### **2.4.1 Корма и кормление подопытных животных**

В период проведения научно-хозяйственного опыта кормление подопытных животных было аналогично физиологическим опытам, все рационы были сбалансированы по основным питательным веществам.

Методикой проведения научно-хозяйственного опыта предполагалась формирование трёх групп двенадцатимесячных бычков красной степной породы. По истечению подготовительного периода (30 суток), животные в течение 90 суток находились на режиме основного учетного периода, где I опытная группа получала в составе рациона ВДЧ  $\text{SiO}_2$ , II опытная ВДЧ сплав  $\text{FeCo}$  в тех же дозировках, что и в ходе физиологического эксперимента.

В ходе научно-хозяйственного опыта отмечалась незначительная разница между группами в поедаемости сена (люцернового, суданки), силоса кукурузного (3-6 %). В контрольной группе поедаемость сена люцернового составила 90 %, сена суданки – 92 %, силоса кукурузного – 90 %. В I опытной группе при введении в рацион ВДЧ  $\text{SiO}_2$  поедаемость кормов составила 95-96,4%, во II опытной 93,2-96 %. Фактическое потребление кормов и питательных веществ подопытными животными оказалось следующим (таблица 28).

Таблица 28 – Фактическое потребление кормов и питательных веществ подопытными животными за период опыта, кг/голову/сут.

Корма	Группы		
	Контрольная	I опытная	II опытная
Сено люцерновое	2,7	2,85	2,84
Сено суданской травы	2,3	2,41	2,4
Силос кукурузный	4,5	4,79	4,66
Жмых	-	-	-
Премикс	-	-	-
Отруби пшеничные	-	-	-
ВДЧ SiO <sub>2</sub> , мг/кг	-	13	-
ВДЧ FeCo, мг/кг	-	-	5
В рационе содержится:			
сухого вещества, г	6450	6938	6775
обменной энергии, МДж	60,5	71,7	71,6
сырой протеин, г	925	995	971
сырой клетчатки, г	1913	2058	2011
сырой жир, г	183,5	197,4	192,7
БЭВ, г	2908	3128	3054
Кальций	71,20	70,37	69,43
Фосфор	41,87	41,85	40,4

Наибольшее фактическое потребление сухого вещества наблюдалось в I и II опытных группах.

#### 2.4.2 Рост и развитие подопытного молодняка

Действие роста отражает количественные стороны развития, в основном это выражается через живую массу и её прирост. В результате наших исследований мы установили действие изучаемых препаратов на рост животных, что хорошо прослеживается из динамики живой массы подопытных животных (таблица 29).

Таблица 29 – Динамика живой массы подопытных животных, кг

Возраст, мес.	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
13	322±2,26	324±1,44	318±2,05
14	353±2,27	353±1,79	347±2,12
15	384±2,28*	383±1,80*	375±2,13
16	413±2,29**	416±1,81**	402±2,13

Примечание: \* - P≤0,05; \*\* - P≤0,01

В начале нашего эксперимента (13 месяцев) разница между группами была незначительной, а также недостоверной. К концу экспериментального периода разница между группами бычков (контрольная, I группа) была около 5 кг.

Можно сказать, что использование высокодисперсных частиц в кормлении подопытных животных молочного направления привели к высоким показателям первой опытной группы, о чём говорят данные приростов живой массы. Наименьший прирост наблюдался в контрольной группе.

Показатели среднесуточного прироста в течение месяца (13-14) у подопытных животных I-ой группы были выше на 8,6 %, в этот же период у II-ой группы – на 4,4 % в сравнении с контролем. Характер кормления повлиял на показатели.

Среднесуточный прирост за период исследования был выше в первой группе на 8,5 %, во второй группе – на 4,1 %, чем в контрольной группе. Для полной характеристики развития животных были исследована скорость роста в разные возрастные периоды. За все время эксперимента первая опытная группа была выше по скорости роста.

Следовательно, можно сказать, что при использовании высокодисперсных частиц в кормлении крупного рогатого скота молочного направления, где основной рацион были одинаковым, наблюдается наилучшие показатели приростов живой массы у животных.

#### **2.4.3 Экономическая эффективность выращивания бычков**

Применение высокодисперсных частиц в кормлении подопытных животных молочного направления, показало влияние на экономические показатели их выращивания (таблица 30).

Таблица 30 – Экономическая эффективность выращивания молодняка, руб./гол.

Показатель	Группа		
	I опытная	II опытная	Контрольная
Абсолютный прирост, кг	91,1	92,9	83,5
Производственные затраты, руб./гол	8137,1	8311,5	7616,7
Себестоимость 1 ц. прироста	8932,1	8946,7	9121,8
Реализационная стоимость прироста, руб./кг	100	100	100
Реализационная стоимость прироста, руб./гол	9110	9290	8350
Прибыль, руб.	972,9	978,5	733,3
Уровень рентабельности, %	12,0	11,8	9,6

Высокая интенсивность роста животных было во I и II опытных группах при примерно одинаковых затратах, predetermined факт уменьшения себестоимости 1 ц. прироста во II опытной группе до 8946,7 рублей, что на 175,1 рублей меньше относительно контрольной группы. Во первой опытной группе себестоимости 1 ц. прироста была ниже чем в контрольной группе на 189,7 рублей на голову.

Как следует из анализа полученных данных наибольшая рентабельность производства говядины была в I и II опытных группах 12,0 и 11,8 %, что на 2,4 и 2,2 % превосходило аналогичный показатель в контрольной группе.

### 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе поиска новых высокоэффективных источников микроэлементов в питании животных особое внимание исследователей в последние десять лет обращено на препараты ВДЧ (Богословская О.А. и др., 2007; Miroshnikova E. et al, 2015). Нельзя сказать, что это направление в науке является принципиально новым, отнюдь. Первые исследования, связанные с использованием ВДЧ в питании сельскохозяйственных животных проведены в 60-70 годы прошлого века научными школами профессора Н.Н. Глущенко и академика РАН И.А.Егорова. Полученные результаты позволили авторам рекомендовать использование ВДЧ в питании кур.

В последние годы на фоне беспрецедентного бума в развитии нанотехнологий, наращивания производства наноматериалов до 100-150 тысяч тонн и роста совокупного валового продукта в нанотехнологиях до 3,4 трлн. долларов в год, исследования по проблеме использования ВДЧ в животноводстве получили дальнейшее развитие. Подготовка высокодисперсных препаратов является одним из главных направлений усиления биодоступности компонентов пищи (Mishra B. et al, 2010; Rein M.J. et al, 2013).

Это в полной мере относится и к препаратам, использованным нами при выполнении исследований. В частности, ВДЧ SiO<sub>2</sub> рассматриваются в качестве иммуностимуляторов (Panos R.J. et al, 1992; Claudio E. et al, 1995) и протекторов вакцин (Cheng J. et al, 2017), показаны перспективы их использования при вакцинации, особенно противотуберкулезной (Акугинова З.Д. и др. 1995) и др.

Перечень целей, с которыми используют ВДЧ в животноводстве настолько широк, что с полной очевидностью можно утверждать – это технологическое решение обеспечит производство продукции животноводства на новом технологическом уровне (Verma A.K. et al, 2012). Это хорошо понимают ведущие мировые производители, в числе которых

Американская ассоциация производителей кормов (Afia), Министерство науки и техники Индии (DST), ведущие мировые корпорации и др.

Понимание этого предопределило необходимость проведения и нашего исследования. Принципиально важными для нас были материалы исследований по влиянию микроэлементов на пищеварения животных, в общем, и рубцовое, в частности (Alimohamady R. et al, 2013; Cui H. et al, 2017). В связи с чем повышение биодоступности для микрофлоры микроэлементов из ВДЧ на наш взгляд должно было способствовать развитию микроорганизмов преджелудков и повышению эффективности использования корма.

Анализ литературных данных по проблеме использования ВДЧ в кормлении жвачных позволил нам сформулировать цель и задачи исследования. Выбор препаратов ВДЧ определялся жизненнонеобходимостью металлов микроэлементов, входящих в их состав. Исключением являлся только препарат диоксида кремния (кремний относится к условно жизненно необходимым элементам). При выборе последнего мы опирались на опыт использования кремнесодержащих добавок в кормлении сельскохозяйственных животных (Воронков М.Г., Дьяков В.М., 1978; Воронков М.Г., Кузнецов И.Г., 1984; Кирилов М.П. 2006; Федин А.С., 1995; Темираев В.Х. и др., 2011; Лобанов К.Н. и др. 2016), в том числе в высокодисперсной форме (Ленкова Т.Н., Егорова Т.А., Сысоева И.Г., Кривопишина Л.В., 2015).

На начальном этапе исследований мы использовали результаты исследований Е.А. Сизовой (2017) и др. и предприняли исследования, по биологической оценке, подобранных препаратов ВДЧ.

Для этих целей на основании исследований Д.Г. Дерябина и др., (2010, 2011) нами был выбран метод оценки биолюминесценции, с использованием генно-инженерного штамма *Echerichia coli* K12 TGI, конститутивно экспрессирующий luxCDABE-гены природного морского организма *Photobacterium leiongnathi* 54D10, производство НВО «Иммунотех» (Россия,

Москва) в лиофилизированном состоянии под коммерческим названием «Эколюм». Помимо этого, нами были проведены сравнения исследования биологической активности высокодисперсных частиц в комплексе с рубцовой жидкостью в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции. Из полученных данных следует, что отобранные нами препараты ВДЧ в выбранном диапазоне концентраций не оказывают токсического действия на клетки бактерий и могут быть использованы в дальнейшей серии экспериментов. Специфические отличия имел только препарат ВДЧ CuZn, который проявлял токсичное действие. Однако нивелирование токсичности ВДЧ CuZn компонентами рубцовой жидкости позволили нам оставить данный комплекс для дальнейших исследований.

Проведённое исследование *in vitro* показало, что введение дополнительных добавок в виде ВДЧ сопровождается неоднозначными изменениями в переваримости кормового субстрата. Так введение в корм препаратов ВДЧ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и CuZn определило факт достоверного снижения переваримости корма. Тогда как использование ВДЧ FeCo позволило увеличить переваримость *in vitro* сухого вещества на 0,9 - 2,1%, ВДЧ SiO<sub>2</sub> на величину до 10%. Аналогичные результаты получены нами на модели «корм-рубец», использование ВДЧ FeCo позволило увеличить переваримость корма *in situ* на 2,9 % (P≤0,001), ВДЧ SiO<sub>2</sub> на 2,5 % (P≤0,001). На первый взгляд, действие ВДЧ кремния на переваримость корма сложно объяснить. Действительно кремний не является жизненно необходимым элементом, его значимость для организма определяется условной эссенциальностью (Ступень Н.С., Коваленко В.В., 2007). Причем в отдельных исследованиях на жвачных в дикой природе (свободно пасущиеся сайгаки) показано, что кремний на 97,4–99,5% не переваривается (Абатуров Б.Д. и др., 1997, 1998). Между тем переваримость корма на моделях *in vitro* и *in situ* в наших исследованиях, равно как и было показано позже на модели *in vivo*, оказалась в прямой зависимости от присутствия в кормах ВДЧ кремния. Аналогичные результаты получены в исследованиях (Faulkner M.J., Weiss W.P., 2017). С

полной очевидностью можно утверждать, что причиной этого явления стало влияние кремния, равно и ВДЧ FeCo, на микробиоценозы преджелудков. Так в эксперименте нами установлено, что использование ВДЧ, сопряжено с увеличением биомассы простейших и бактерий в содержимом рубца. Как следует из полученных данных, количество простейших через 3 часа после кормления повышалось во всех опытных группах. Это непосредственно было связано с изменением микробиома и ферментативной активности отдельных групп микроорганизмов.

В этой связи интересными представляются факты, накопленные наукой по проблеме. Следует сказать, что ВДЧ SiO<sub>2</sub> является одним из наиболее распространенных высокодисперсных материалов, с годовым мировым производством более 1,5 миллиона тонн (Holden P.A. et al, 2014). ВДЧ SiO<sub>2</sub> используются в строительстве – в качестве строительных материалов; в медицине - в качестве носителей лекарств; пищевой промышленности - в качестве наполнителей, пищевой упаковке, при производстве полупроводниковых материалов (Singh R.K. et al, 2002). Это и то, что растворенный Si широко присутствует в природных водах (концентрации от 0,9 до 23 мг/ л) (Georg R.V. et al, 2006; Jansen N. et al, 2010) привлекало особое внимание ученых к проблеме влияния кремния в различных формах на биологические системы. Одной из таких систем, схожих по комплексу признаков с рубцом, является модель активного ила на очистных сооружениях.

Как следует из данных накопленных наукой, с одной стороны существует большая группа ВДЧ депрессирующих микробиоценозы илов, в том числе ВДЧ ZnO, SiO, CoO, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> и Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ввиду их цитотоксического действия, развития окислительного стресса (Kaweeteerawat S. et al, 2015). С другой, существует большое число препаратов ВДЧ способных улучшить биологические процессы очистки. Например, длительное воздействие до 50 мг/л магнитный ВДЧ приводит к активному развитию микрофлоры и всей биосистемы илов (Ni S. et al, 2013). При

анаэробном сбраживании, использование ВДЧ железа эффективно повышает добычу метана (Su L. et al, 2013).

При этом, как показано для ВДЧ кремния, последние адсорбируются и/или, встраиваются в мембрану микробной клетки, стабилизируют клеточный цитоскелет и цитоплазматические мембраны, что способствует росту и дифференциации клеток (Grna A. et al, 1992). ВДЧ кремния изменяют состав липидов микробной мембраны и тем самым оказывают непосредственное влияние на биологическую активность ила через ингибирование поглощения кислорода (Sibag M., 2014).

Вместе с тем, в литературе есть указания на отсутствие кого-либо эффекта со стороны ВДЧ кремния на микробные сообщества активных илов и некоторых другим микробных систем (Mu H., Chen Y., Xiao N., 2011; Esmaeili-Faraj S.H., Nasr Esfahany M., 2017; Shamsi A., Ahmed A., Bano B., 2017; Zhang Z.Z., 2018).

Но, как и в любом другом случае действие ВДЧ на биологическую систему зависит от концентрации. Установлено, что наличие экологически значимой концентрации (1 мг/л) ВДЧ SiO<sub>2</sub> не оказывает неблагоприятного, острого и хронического, воздействия на жизнеспособность и удаление азота и фосфора из сточных вод активными илами. Однако хроническое воздействие 50 мг/л SiO<sub>2</sub> индуцирует увеличение концентрации нитратов в сточных водах и, таким образом, снижает эффективность удаления общего азота. Удаление фосфора сточных вод было нечувствительным к депазону концентраций 1 и 50 мг/л SiO(2) NPs после острой или хронической экспозиции (Zheng X. et al, 2012).

Таким образом относительно низкие концентрации ВДЧ способны стимулировать микробиологические процессы (Wang T. et al, 2016). Это в свое время было показано и для ВДЧ SiO<sub>2</sub> (Chai H., 2015).

Это было продемонстрировано и в нашем опыте. Проведенное исследование позволили установить, что использование препаратов ВДЧ сопровождается повышением целлюлозолитической активности микрофлоры

рубца подопытных животных через 3 часа после кормления на 8,5-10,7 %, и на 8,6-13,7 % через 6 часов в пользу опытных групп.

Как следует из анализа полученных результатов рубцовая экосистема состоит из широкого разнообразия микроорганизмов, которые находятся в симбиотических отношениях в строгих анаэробных условиях (Ozutsumi Y. et al, 2005; Pitta D.W. et al, 2010). Микробиоценоз рубца состоит из бактерий рубца, простейших и грибов. Бактериальные популяции наиболее уязвимы к физико-химическому воздействию (McAllister T.A. et al, 1990), к тем питательным веществам и пищевым добавкам, которые сельскохозяйственные животные получают в своем рационе (Chen Y.H. et al, 2011; Logachev K. et al, 2015).

В ходе проведенных нами исследований установлено, что более 99% содержимого рубца подопытных животных в нашем эксперименте представлено филумом *Bacteria*. При этом доминирующими филумами являлись *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Основными классами бактерий, населяющих рубец крупного рогатого скота, были *Bacteroidia* и *Sphingobacteria*. Среди семейств, которые удалось классифицировать, выделялись *Prevotellaceae*, *Streptococcaceae*, *Lachnospiraceae* и *Bacteroidaceae*. При оценке родового разнообразия было выявлено 6 родов, численность которых превышала 3,5%. Однако при идентификации рубцового микробиома на уровне вида отмечено полное превалирование *Streptococcus bovis*.

Внесение в рацион животных минеральных добавок в виде высокодисперсных частиц не приводило к качественному изменению микробиоценоза, что аналогично ранее полученным результатам (Li S. et al, 2017). Однако, в эксперименте показан сдвиг видового состава микрофлоры в сторону тех микроорганизмов, которые отвечают за лучшую перевариваемость кормов (Karimov I. et al, 2017; Kim E.T. et al, 2013; Williams K. et al, 2015), в частности, повышение численности *Streptococcus bovis* в ряду контроль - FeCo - SiO<sub>2</sub>.

Ранее уже показано, что ВДЧ SiO<sub>2</sub> повышают микробную активность, стимулируя ферментные системы бактерий (Chai H. et al, 2015), что указывает на отсутствие цитотоксического эффекта у изучаемых наночастиц и создание наиболее благоприятных условий для жизнедеятельности микрофлоры. По различным оценкам микробные популяции, связанные с кормовыми частицами, отвечают за 88 - 91 % эндогликаназной, ксиланазной активностей, 70 % амилазной и 75 % протеазной активностей в рубце жвачных и толстом кишечнике моногастричных (Miron J., Forsberg C.W., 1999).

В ходе наших исследований мы детально рассмотрели влияние оцениваемых препаратов на метаболический статус животных. Позитивное влияние ВДЧ на здоровье и обмен веществ иллюстрируют морфо-биохимические показатели крови. Так, в эксперименте отмечалось повышение концентрации гемоглобина в результате введения ВДЧ. Способность к увеличению концентрации гемоглобина также описана для других ВДЧ (Ajday M. et al, 2015; Быкова О.А., 2015). Тенденция уменьшения количества тромбоцитов на фоне введения ВДЧ SiO<sub>2</sub> приводит к снижению вязкости крови и облегчению перфузии через микрососуды. Схожие результаты описанными для наночастиц титана (Nemmar A. et al, 2008; Шумакова А.А. и др., 2014).

Кремний обладает способностью активировать функциональную активность гранулоцитов, увеличивать интенсивность метаболических процессов (Колбин И.А., Колесников О.Л., 2010). Помимо этого, отмечена способность кремния к активированию моноцитов и развитию перитониальных макрофагов, что приводит к высвобождению интерлейкина-1 (Parantainen J. et al, 1987).

В эксперименте активность щелочной фосфатазы была самой высокой в группе, получавшей ВДЧ FeCo. Известно о влиянии кобальта на активизацию остеобластов на фоне активного использованием кальция и фосфора при увеличении активности щелочной фосфатазы (Shah K.M. et al,

2015), что объясняет пониженное содержание фосфора и кальция. Высокую активность метаболизма подтверждает динамика концентрации мочевины и креатинина. Креатинин, являясь дегидратированной формой креатина, участвующей в обмене энергии в мышцах (Saraiva L.A. et al, 2014) уменьшается на фоне введения ВДЧ по сравнению с контролем, что вполне закономерно, вследствие активного перехода креатинина в креатинфосфат и поступления в виде энергии в мышцы при активизации биохимических процессов (Mora L. et al, 2007).

Микроэлементы, поступая в рубец, поглощаются микроорганизмами, число которых при введении минеральных добавок увеличивается на фоне роста их ферментативной активности (Arelovich H.M. et al, 2000) по трофической причине (Оберлис Д. и др., 2008), в тесном взаимодействии с растительным материалом (Huws S.A. et al, 2018).

В этой связи, механизм действия высокодисперсных частиц на микробиоценозы может быть описан, в том числе как результат трансформации высокодисперсных частиц с образованием ионов (Brunner T.J. et al, 2006; Vázquez-Armijo J.F. et al, 2011). Предполагаем, что это может стать причиной накопления химических элементов микроорганизмами рубца.

В эксперименте отмечено снижение концентрации железа и кобальта в рубцовой жидкости на фоне поступления ВДЧ FeCo. Одной из вероятных причин такого снижения может являться запуск механизмов гомеостаза, приводящих к снижению негативных эффектов избытка железа в организме, сопровождаемые образованием свободных радикалов, подавлением иммунитета и др. в норме, сдерживающихся хорошо работающей системой стабилизации его уровня (Aslam M.F. et al, 2014). Подобный эффект снижения концентрации железа был отмечен в мышцах крыс при введении ВДЧ железа (Sizova E. et al, 2015).

При сравнении двух опытных групп, выявлено, что введение ВДЧ SiO<sub>2</sub> способствует повышению содержания в рубцовой жидкости кремния, цинка, фосфора, кальция и других элементов. Тогда как введение ВДЧ FeCo

сопровождалось снижением концентрации железа и кобальта в рубцовой жидкости, с нарастанием во времени. Возможно, это связано, со способностью многих видов бактерий рубца аккумулировать микроэлементы. До сих пор недостаточно изучен стимулирующий эффект небольших доз ВДЧ на процессы рубцового метаболизма. В то же время стенка рубца проницаема для микроэлементов в обоих направлениях. Важно знать, что бактерии являются «пищей» для простейших и уменьшение макро- и эссенциальных элементов в них через три и шесть часов после кормления может быть следствием поглощения или обычного пищеварительного процесса.

В рубце жвачных углеводы и жиры корма путем микробиологической ферментации расщепляются до летучих жирных кислот (ЛЖК), которые являются основным энергетическим и пластическим материалом для всего организма. ЛЖК является основным источником энергии для жвачных.

Анализируя данные, полученные в результате эксперимента, мы выяснили, что наибольшая концентрация ЛЖК в рубцовой жидкости наблюдалась у бычков I опытной группы через 3 и 6 часов после кормления. У животных в первой опытной группе в содержимом рубца было больше ЛЖК на 37,7–38,1%, а во второй – 8,39 – 9,8 %. Чем выше концентрация летучих жирных кислот, тем интенсивнее происходит ферментация углеводистой части рациона (Биктимиров Р.А., Никулин В.Н., 2014). Концентрация ЛЖК повлияла на среду рубцового содержимого (Бабичева И.А., Мустафин Р.З., 2016).

Азотистый обмен включает обмен простых и сложных белков, нуклеиновых кислот, продуктов их распада (пептидов, аминокислот и нуклеотидов), содержащих азот жироподобных веществ (липидов), гормонов, витаминов и др. Азотосодержащие вещества (протеины) находятся в рубце жвачных в виде промежуточных или конечных продуктов азотистого обмена. Концентрация протеинов зависит от множества факторов: характера кормления, сезон и время кормления, внешние условия и др.

Увеличение значений общего азота у подопытных животных первой опытной группы и повышение уровня белкового азота второй опытной группы по отношению к друг другу, это можно объяснить активной деятельностью микрофлоры рубца и переход азота корма в рубцовую жидкость. Уровень белкового азота второй опытной группы имел высокие показатели по сравнению с первой группой, возможно это связано с высокой активностью микрофлоры. Количество небелкового азота в первой группе наблюдалось больше, чем во второй на 11,3 %. Таким образом, увеличение уровня небелкового азота в опытных группах свидетельствует об усилении интенсивности протекающих в рубце процессов, следовательно, идет повышение эффективности использования и усвоения питательных веществ.

Под влиянием ВДЧ диоксида кремния подопытные животные откладывали азота в теле более интенсивно, степень использования этого элемента в организме от принятого оказалась существенно выше. Это означает, что кремний как элемент связи активизирует белковый обмен, усиливает доставку аминокислот к органам и тканям и ускоряет формирование мышечной ткани и в целом согласуется с ранее проведенными исследованиями (Пентюк А.А., Луцюк Н.Б., 2003; Ivkovic S. et al, 2004; Ivkovic S. et al, 2005; Боголюбова Н.В. и др., 2015), демонстрирующими перспективы использования кремния в питании животных.

Результаты физиологических исследований получили полное подтверждение в ходе научно-хозяйственного опыта. Использование предлагаемых препаратов оказалось экономически выгодным.

Обработка полученных экспериментальных данных позволила нам сформулировать следующие выводы.

#### 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Используемые в исследованиях ВДЧ  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  характеризовались гидродинамическим размером  $103 \pm 11$  нм;  $\text{SiO}_2$   $109,6 \pm 16,6$ ;  $\text{FeCo}$   $265 \pm 25$ ;  $\text{CuZn}$   $125 \pm 75$  нм, с содержанием действующего вещества 99,8-99,9%. Высокодисперсные частицы  $\text{SiO}_2$  и  $\text{FeCo}$ , в выбранном диапазоне концентраций не оказывают токсического действия на нативную культуру *Echerichia coli K12 TG1* и смесь её с рубцовой жидкостью. ВДЧ  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  и  $\text{CuZn}$  нетоксичны, только в комплексе с рубцовой жидкостью.

2. Введение ВДЧ  $\text{FeCo}$  и  $\text{SiO}_2$  не оказывает негативного воздействия на показатели переваримости кормового субстрата *in vitro*, *in situ*. Напротив, использование этих препаратов в дозировках 0,75 и 2 мкг/мл сопровождается повышением переваримости сухого вещества модельного корма *in vitro* и *in situ*.

3. Исследования по оценке биологической активности ВДЧ на модели рубца выявили изменения в биомассе бактерий при включении в корм ВДЧ  $\text{SiO}_2$ , на 35,3%, через 3 часа после кормления и биомассы простейших на 5,5% через 6 часов после кормления.

4. Включение в рацион молодняка крупного рогатого скота оцениваемых кормовых добавок сопровождалось изменениями в микробиоме рубца. При использовании ВДЧ  $\text{SiO}_2$  численность класса *Bacilli* повысилась в 1,83 раза, таксон *Bacteroidetes* в основном был представлен одним классом *Bacteroidia*, численность которого снижалась на 8,64%. Введение в рацион высокодисперсных частиц  $\text{SiO}_2$  приводило к смене доминирующего семейства - увеличению встречаемости представителей семейства *Streptococcaceae* в 2,07 раза и уменьшению доли *Prevotellaceae* в 1,29 раза.

Внесение в рацион крупного рогатого скота ВДЧ  $\text{FeCo}$  сопровождалось увеличением численности доминирующего вида *Streptococcus bovis* на 7,46%, ВДЧ  $\text{SiO}_2$  на 8,01% в сравнении с контролем.

5. Использование ВДЧ  $\text{SiO}_2$  в питании молодняка крупного рогатого скота сопровождается повышением целлюлозолитической активности

содержимого рубца на 2,8 % после 3, и на 3,6 % после 6 часов экспозиции. Аналогичный результат от использования ВДЧ FeCo составляет 2,2%. Исследования по амилолитической активности рубцовой жидкости, показали, что использование ВДЧ стимулирует активность рубцовой жидкости на 7,4 и 6,6% через 3, и на 5,0 и 5,4 % через 6 часов после кормления.

6. Анализ биохимических характеристик рубцового пищеварения подопытных животных показал, что концентрация ЛЖК достигает максимального значения при введении ВДЧ SiO<sub>2</sub>. Показатель pH достигал своего минимума через 6 часов после кормления у животных, получавших ВДЧ FeCo.

7. Использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота ВДЧ SiO<sub>2</sub> и сплава FeCo сопровождается изменением обмена химических элементов в рубце. Причем в период первых трех часов действие оцениваемых препаратов оказалось одинаковым и выражалось в снижении концентрации в рубцовой жидкости хрома на 73-90%, железа на 65-85%, мышьяка на 50,0 %, ванадия на 88,9- 240%, алюминия в 2,5 - 2,7 раза, олова в 2-3 раза на фоне повышения концентрации фосфора на 72-89 % и цинка в 2,1 - 2,3 раза. Однако, по окончании шести часов пищеварения действие ВДЧ SiO<sub>2</sub> уже не распространялось на минеральный состав рубцовой жидкости, в то же время — это действие сохранилось для ВДЧ FeCo.

8. Морфологические и биохимические показатели крови подопытных животных находились в пределах физиологической нормы. Скармливание препарата ВДЧ SiO<sub>2</sub> сопровождается увеличением концентрации в крови подопытных животных эритроцитов, лимфоцитов, гранулоциты, тромбоцитов. Введение в корм ВДЧ FeCo сопровождалось повышением уровень в крови лейкоцитов, моноцитов и гемоглобина.

9. Скармливание подопытным животным препаратов ВДЧ сопровождается повышением коэффициентов переваримости питательных веществ рационов. Таким образом, наиболее высокими показателями

переваримости большинства питательных веществ обладали бычки, получавшие ВДЧ FeCo.

10. Использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота препаратов ВДЧ SiO<sub>2</sub> и FeCo в дозировках 13 и 5 мг/кг позволяет повысить интенсивность роста животных на 9,1-9,9 %. Это обеспечивает дополнительное увеличение рентабельности производства говядины на 2,2-2,4%.

## **5. ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ**

В целях повышения эффективности рубцового пищеварения и снижения затрат на производство прироста живой массы молодняка крупного рогатого скота целесообразно в питании животных использовать препараты высокодисперсных частиц диоксида кремния в дозировке 13 мг/кг или сплава железа и кобальта в дозировке 5 мг/кг живой массы. Это позволит повысить интенсивность роста животных на 9-10% и увеличить рентабельность производства говядины на 2-3%.

## **6. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Тема диссертационного исследования перспективна к дальнейшей разработке в части:

формирования новых подходов к управлению метаболизмом в организме сельскохозяйственных животных с использованием высокодисперсных препаратов металлов-микроэлементов;

исследований по оценке действия высокодисперсных препаратов по минеральному обмену жвачных на всех этапах метаболизма, с детализацией изменений в микробиоме преджелудков.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абатуров, Б. Д. Использование лигнина и кремния кормовой растительности в качестве индикаторов переваримости для количественной оценки потребления пищи свободнопасущимися сайгаками / Б. Д. Абатуров, М. П. Колесников, О. П. Лихнова, Б. И. Петрищев, О. А. Никонова // Зоол. журн. 1997. – № 76(1). – С. 104-113.
2. Абатуров, Б. Д. Сезонная динамика кормовых ресурсов и питание сайгака на естественном пастбище в полупустыне / Б. Д. Абатуров, Б. И. Петрищев, М. П. Колесников, А. Е. Субботин // Успехи современной биологии. 1998. – № 118(5). – С. 564-584.
3. Акугинова, З. Д. Формирование протективного противотуберкулезного иммунитета после вакцинации БЦЖ у мышей при недостатке кремния в воде и кормах / З. Д. Акугинова, Г. Э. Акугинова, Б. В. Никоненко, М. М. Авербах, С. М. Ляшенко // Проблемы туберкулеза. 1995. – № 2. – С. 23-24.
4. Алексеева, Л. В. Изменение лейкограммы крови у бычков герефордской породы при введении в рацион нанопорошков микроэлементов / Л. В. Алексеева, Л. В. Кондакова, О. А. Камынина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2013. – Т. 214. – С. 38-43.
5. Алексеева, Л. В. Процессы рубцового метаболизма в организме бычков при введении в рацион нанопорошка меди и её соли / Л. В. Алексеева, А. А. Лукьянов // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2016. – № 2.
6. Алексеева, Л. В. Концентрация биоэлементов в крови бычков герефордской породы при введении в рацион меди в разных формах / Л. В. Алексеева, Н. А. Лукьянова, А. А. Лукьянов // Зоотехния. 2017. – № 1. – С. 15-18.
7. 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. – № 2 (40). – С. 113-116.

8. Аринжанов, А. Е. К вопросу об использовании наночастиц металлов в животноводстве / А. Е. Аринжанов, Ю. В. Килякова, И. С. Мужиков, & Л. М. Рыжкова // Вестник мясного скотоводства. 2013. – №1. – С. 132-135

9. Аринжанов, А. Е. Перспективы использования наночастиц в животноводстве (обзор) / А. Е. Аринжанов, Е. П. Мирошникова, Ю. В. Килякова // Вестник мясного скотоводства. 2014. – №2. – С. 7-12.

10. Бабин, Я. А. Влияние подкормок коров йодистым калием и комплексом солей микроэлементов на уровень общего и белкового йода в крови, межклеточный обмен и продуктивность / Я. А. Бабин, В. М. Гамаюнов и др. // Материалы 6-ой Всесоюз. конф. по физиологическим и биохимическим основам повышения продуктивности с.-х. животных. Боровск.1969. – С. 112.

11. Бабичева, И. А. Физиолого-биохимический статус крови молодняка крупного рогатого скота при скармливании БВД и пробиотического препарата / И. А. Бабичева, Р. З. Мустафин // Животноводство и кормопроизводство. 2016. – № 1 (93).

12. Биктимиров, Р. А. Естественная резистентность бычков красной степной породы при использовании лактоамиловорина и препарата селена / Р. А. Биктимиров, В. Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. – № 3.

13. Боголюбова, Н. В. Процессы пищеварения и переваримость питательных веществ у овец при использовании минерала шунгит как источника эрготропных соединений / Н. В. Боголюбова, В. Н. Романов, В. А. Девяткин // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. – № 1. – С. 168-171.

14. Богословская, О. А. Сравнительное исследование ранозаживляющего действия веществ различной природы / О. А.

Богословская, Т. А. Лобаева, Т. А. Байтукалов, Н. Н. Глущенко, А. С. Шеремет, И. П. Ольховская, С. А. Лопатин, В. П. Варламов // Естественные и технические науки. 2007. – № 6(32). – С. 9199.

15. Богословская, О. А. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / О. А. Богословская, Е. А. Сизова, В. С. Полякова и др. // Вестник Оренбургского гос. ун-та. 2009. – № 2. – С. 124-127.

16. Быков, А. В. К пониманию действия кавитационной обработки на свойства отходов производств / А.В. Быков, С.А. Мирошников, Л.В. Межуева // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. – № 12. – С. 77.

17. Быкова, О. А. Рубцовый метаболизм и морфологический состав крови бычков при использовании в рационах минеральных добавок из местных источников сырья / О. А. Быкова // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2015. – № 11-12. – Р. 15-21.

18. Венедиктов, А. М. Применение макроэлементов в кормлении крупного рогатого скота / А. М. Венедиктов // Справочник по кормовым добавкам. МН.: Ураджай. 1990. – С. 142-149.

19. Воронков, М. Г. Кремний и жизнь / М. Г. Воронков, Г. И. Зелчан, Э. Я. Лукевиц // Монография. Рига: Знание. 1978. – С. 587.

20. Воронков, М. Г. Кремний в живой природе / М. Г. Воронков, И. Г. Кузнецов // Монография. Новосибирск: Наука. 1984. – С. 157.

21. Галиев, Д. М. Минеральные и сорбционные добавки в рационе цыплят-бройлеров / Д. М. Галиев // Аграрное образование и наука. 2015. – № (1). – С. 3-3.

22. Георгиевский, В. И., Анненков, Б. Н., Самохин, В. Т. // Минеральное питание животных, М. 1979.

23. Глущенко, Н. Н. Физикохимические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов / Н. Н. Глущенко // автореферат докт. дис. 1988. – С. 50.

24. Глущенко, Н. Н. Физикохимические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская // Химическая физика. 2002. – Т.21. – №4. – С. 7985.

25. Глущенко, Н. Н. Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия. / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская // Материалы Международной научнопрактической конференции — Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века. Москва. 2006. – С. 93-95. 110 30.

26. Глущенко, Н. Н. Исследование структуры и функциональной активности наночастиц железа / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, Т. А. Байтукалов // XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: Тез. докл. Москва, 2007. – С. 28. 31.

27. Глущенко, Н. Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская // Вестник ОГУ. 2009. – № 2. – С. 47-49.

28. Дерябин, Д. Г. Особенности реагирования природного и рекомбинантного люминесцирующих микроорганизмов в присутствии ионов  $Fe^{2+}$  // Д. Г. Дерябин, И. Ф. Каримов // Прикл. биохим. и микробиол. 2010. – Т. 46. – № 1. – С. 35-40.

29. Дерябин, Д. Г. Биологическая активность ионов, нано- и микрочастиц  $Cu$  и  $Fe$  в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции / Д. Г. Дерябин, Е. С. Алешина, Т. Д. Дерябина, Л. В. Ефремова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химий. 2011. – №6. – С. 31-36.

30. Дерябина, Т. Д. Адаптивные реакции и пределы толерантности *Triticum Aestivum* и *allium cepa* к наночастицам меди и железа. Автореферат дис. ... кандидата биологических наук / Оренбург. гос. пед. ун-т. Оренбург, 2015 – 22 с.
31. Егоров, И. А. Значение минеральных веществ в кормлении птицы / И. А. Егоров // Ценовик. 2004. – № 4. – С. 11.
32. Егоров, И. Новые тенденции в кормлении птицы / И. Егоров, Н. Селина // Комбикорма. 2004. – № 6. – 5 с.
33. Егоров, И. Современные тенденции в кормлении птицы / И. Егоров, Т. Папазян // Птицеводство. 2007. – № 8. – С. 9-11
34. Егоров, И. А. Современные подходы к кормлению птицы / И. А. Егоров // Птицеводство. – 2014. – №4. – С. 11-16.
35. Иванов, И. С. Влияние микроэлементов Cu, Co, Zn и Mn в органической форме на организм животных / И. С. Иванов, В. А. Руденок, Е. И. Трошин, А. Н. Куликов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. Санкт-Петербург. 2016. – № 4. – С. 246-249.
36. Ильичев, Е. Переваримость рациона и баланс питательных веществ при скармливании телятам нанопорошков кобальта и меди / Е. Ильичев, А. Назарова, С. Полищук, В. Иноземцев // Молочное и мясное скотоводство. 2011. – №5. – С. 27-29.
37. Кальницкий, Б. Д. Эффективность применения минеральной смеси и тесты для контроля обеспеченности животных минеральными элементами / Б. Д. Кальницкий // Справочник по кормовым добавкам. Мн.: Ураджай. 1990. – С. 190-194.
38. Камынина, О. А. Физиологическое состояние бычков герефордской породы при введении в рацион нанопорошков меди и кобальта / О. А. Камынина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. – №1 (39). – С. 62-64.
39. Каширина, Л. Г. Ветеринарно-санитарная оценка качества продуктов убоя свиней при введении в рацион наноразмерного порошка

железа / Л. Г. Каширина, В. В. Кулаков // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2012. – № 4 (16). – С. 36-38.

40. Каширина, Л. Г. Высокодисперсные металлы в животноводстве / Л. Г. Каширина, В. В. Кулаков, Э. О. Сайтханов, А. В. Антонов // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2013 – № 2(18). – С. 21-24.

41. Кирилов, М.П. Новое поколение биологически активных веществ в кормлении животных / М. П. Кирилов // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2006. – №3. – С.34-37.

42. Коваленко, Л. В. Биологически активные нанопорошки железа / Л. В. Коваленко, Г. Э. Фолманис // М.: Наука. 2006. – С.124.

43. Ковальский, В. В. Применение микроэлементов в кормлении с.-х. животных / В. В. Ковальский // М., Колос. 1964. – С. 21.

44. Колбин, И. А. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов при воздействии наночастиц диоксида кремния / И. А. Колбин, О. Л. Колесников // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2010. – № 3.

45. Коробейникова, Э.Н., Зурочка, А.В. and Евдокимова, Е.В., 2002. Показатели липидного обмена в сыворотке крови практически здорового населения, проживающего в Южно-Уральском регионе в условиях адаптации к климатическим и техногенным воздействиям: Методические указания. Челябинск: Чел. ГМА

46. Короткова, А. М. Влияние наночастиц металлов и их оксидов на физиолого-биохимические показатели растения *Triticum Vulgare Vill.* Автореферат дис. ... кандидата биологических наук. / Башкир. гос. ун-т. Уфа, 2017 – 22 с.

47. Кремний и его соединения: учебн. -метод. указания для студентов биол. фак отд-ний «Химия и биология», «Биология и химия» / [сост.: Н.С.

Ступень, В.В. Коваленко]; Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина, Каф. химии. – Брест: БрГУ. 2007. – 43 с.

48. Кузнецова, А. С. Влияние клинкерсодержащих экструдатов на эффективность использования питательных веществ, обмен химических элементов и продуктивность цыплят-бройлеров. Автореферат диссертационной работы на соискания ученой степени кандидата биологических наук. Оренбург, 2008 – 22с.

49. Куликова, О. В. Влияние нанокристаллических металлов на процессы кроветворения при введении в рацион кроликов / О. В. Куликова, А. А. Назарова, С. Д. Полищук // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2012. – № 2. – С. 70-73.

50. Куренева, В. П. Использование высокодисперсных металлов в составе премиксов и комбикормов для бройлеров / В. П. Куренева, И. А. Егоров, Ю. И. Федоров, Н. Н. Глущенко, Л. Д. Фаткуллина // Новое в кормлении и содержании сельскохозяйственной птицы. Загорск. 1984. – С. 3-8.

51. 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 сельскохозяйственной науки. 2010. – № 6. – С. 73-75.

52. Курилкина, М. Я. Эффективность использования микропорошков металлов в составе экструдата при кормлении цыплят-бройлеров / М. Я. Курилкина, С. А. Мирошников, Т. Н. Холодилина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. – Т. 4. – № 32-1. – С. 169-171.

53. Ларин, С. Л. / Российский Медико-Биологический Вестник Им. Академика И.П. Павлова. // С. Л. Ларин, А. Р. Звягинцева, А. А. Хабаров, Е.

В. Будко, Е. Б. Артюшкова. 2017. – № 25. – С. 193-201. DOI: 10.23888/PAVL0VJ20172193-201.

54. Лебедев, П. Т. Методы исследования кормов, органов и тканей животных [Текст] / П. Т. Лебедев, А. Т. Усович, - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва: Россельхозиздат. – 1976. – 389 с

55. Ле Вьет Фьонг. Использование высокодисперсных порошков железа, меди, марганца, цинка в премиксах цыплят-бройлеров // Диссертация на соискание канд. с.-х. наук. М.:2005. – С. 114.

56. Левахин В. И., Левахин Г. И., Мирошников С. А. Воздействие ферментных препаратов на обмен энергии в организме цыплят-бройлеров / В. И. Левахин, Г. И. Левахин, С. А. Мирошников // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2002. – № 1. – С. 84-85.

57. Лемеш, В. Ф. Применение микроэлементов в кормлении сельскохозяйственных животных / В. Ф. Лемеш // Химизация животноводства. М. 1975.

58. Ленкова, Т. Н. Хелатная форма кремния в комбикормах для бройлеров / Т. Н. Ленкова, Т. А. Егорова, И. Г. Сысоева, Л. В. Кривопишина // Птицеводство. 2015. – № 4. – С. 21-24.

59. Лобанов, К. Н. Кремнийсодержащий препарат "Черказ" в рационах птицы / К. Н. Лобанов, В. С. Сушков, В. А. Бабушкин, Т. Р. Трофимов, А. И. Гонтюрёв, А. Е. Антипов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2016. – №2 – С. 64-70.

60. Лукьянов, А. А. Влияние нанопорошков меди и её соли на метаболические процессы в рубце бычков герефордской породы / А. А. Лукьянов, Л. В. Алексеева, Н. А. Лукьянова // Зоотехния. 2016. – № 3. – С. 11-12.

61. Макаров, Д. В. Прогноз развития мирового рынка нанопорошков / Д. В. Макаров // Вест. КРАУНЦ. Физ.-мат. науки. 2014. – No1 (8) – С.97-102.

62. Макарец, Н. Г. Биологическая роль микроэлементов и их влияние на обмен веществ и продуктивность молодняка свиней / Н. Г. Макарец // Премиксы в питании растущих и откармливаемых свиней в промышленных комплексах. М.: Изд-во «Ноосфера». 2010. – С. 14-26.

63. Малюшин, Е. Ферментный препарат в рационе курочек / Е. Малюшин, А. Осипов, Г. Левахин, С. Мирошников // Птицеводство. 2001. – № 4. – С. 29-31.

64. Малюшин, С. Ферменты и состояние помета / С. Малюшин, А. Осипов, Г. Левахин, С. Мирошников // Птицеводство. 2002. – № 5. – С. 19-21.

65. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / под ред. И.П. Кондрахина. М.: Колос. 2004. – С. 520.

66. Мирошников, И. С. Влияние препаратов наночастиц металлов-микроэлементов на рубцовое пищеварение и метаболизм химических элементов в системе "бактерии-простейшие" рубца / И. С. Мирошников // Вестник мясного скотоводства. 2017. – № 1 (97). – С. 68-77.

67. Мирошников, С. А. Влияние ферментного препарата на обмен меди в организме цыплят-бройлеров / С. А. Мирошников, С. С. Мартыненко, Г. Б. Родионова // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2000. – № 3. – С. 58.

68. Мирошников, С. А. Действие мультиэнзимных композиций на обмен веществ и использование энергии корма в организме птицы. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН. Оренбург. 2002. – 315 с.

69. Мирошников, С. А. Неоднозначность влияния пробиотиков на обмен токсических элементов в организме кур-несушек / С. А. Мирошников, О. В. Кван, Д. Г. Дерябин // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. – № 2. – С. 142.

70. Мирошников, С. А. Гигиеническая оценка селенового статуса Оренбургского региона / С. А. Мирошников, Т. И. Бурцева, Н. А. Голубкина,

С. В. Нотова, А. В. Скальный, О. И. Бурлуцкая // Вестник Оренбургского государственного университета. 2008. – № 12. – С. 97.

71. Мирошников, С. А. Роль нормальной микрофлоры в минеральном обмене животных / С. А. Мирошников, О. В. Кван, Б. С. Нуржанов // Вестник Оренбургского государственного университета. 2010. – № 6 (112). – С. 81-83.

72. Мирошников, С. А. Новые подходы к созданию кормовых продуктов на основе поли компонентных растительно-минеральных смесей, подвергнутых кавитационной обработке / С. А. Мирошников, Д. М. Муслимова, А. В. Быков, Ш. Г. Рахматуллин, Л. А. Быкова // Вестник мясного скотоводства. 2012. – № 3 (77). – С. 7-11.

73. Мирошников, С. А. Наноматериалы в животноводстве (обзор) / С. А. Мирошников, Е. А. Сизова // Вестник мясного скотоводства. 2017. – № 3 (99). – С. 7-22.

74. Мирошникова Е.П. Прямое и остаточное действие ферментного премикса на трансформацию корма и баланс энергии в организме курочек. автореферат дис. ... кандидата сельскохозяйственных наук. Оренбург, 1997.

75. Мирошникова, Е. П. Нужно ли вводить ферменты в рацион молодняка племенной птицы? / Е. П. Мирошникова, А. Я. Сенько, С. А. Мирошников, А. И. Галузин // Комбикорма. 1998. – № 3. – С. 76-78.

76. Мирошникова, Е. П. Обмен химических элементов в организме карпа при использовании наночастиц кобальта и железа в корме / Е. П. Мирошникова, А. Е. Аринжанов, Н. Н. Глущенко, С. П. Василевская // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. – № 6 (142). – С. 170-175.

77. 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.

78. Мирошникова, Е. П. О токсичности и прооксидантном эффекте наночастиц  $\text{CeO}_2$  и  $\text{SiO}_2$  (на модели *Danio Rerio*) / Е. П. Мирошникова, Д. Б. Косян, А. Е. Аринжанов, Е. А. Сизова, В. В. Калашников // Сельскохозяйственная биология. 2016. – Т. 51. – № 6. – С. 921-928.

79. Назарова, А. А. Влияние нанокристаллического железа на минеральный обмен в организме животных / А. А. Назарова, С. Д. Полищук // Сборник тезисов докладов участников Второго международного конкурса научных работ молодых ученых в области нанотехнологий. Москва. 2009. – С. 790-792.

80. Неретин, Н. А. Влияние электроактивированной клинкерной пыли на использование питательных веществ, энергии и мясную продуктивность бычков симментальной породы при откорме на барде // Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Оренбург. 2000. – 127 с.

81. Никонов, И. Н. Наноразмерное железо кормовая добавка для сельскохозяйственной птицы / И. Н. Никонов, Ю. Г. Фолманис, Г. Э. Фолманис, Л. В. Коваленко, Г. Ю. Лаптев, И. А. Егоров, В. И. Фисинин, И. Г. Тананаев // Доклады Академии наук. 2011. – Т. 440. – № 4. – С. 565-569.

82. Нотова, С. В. Необходимость учета региональных особенностей в моделировании процессов межэлементных взаимодействий в организме человека / С. В. Нотова, С. А. Мирошников, И. П. Болодурина, Е. В. Дидикина // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. – № S2. – С. 59-63.

83. Оберлис, Д. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. Оберлис, Б. Харланд, А. Скальный // монография СПб. Наука. 2008. – 347.

84. Околелова, Т. М. Витаминно-минеральное питание сельскохозяйственной птицы / Т. М. Околелова, А. В. Кулаков, С. А. Молоскин // М.: 2000. – 77 с.

85. Патент РФ 2450532. Российская Федерация, А23К. Способ кормления цыплят-бройлеров / Рахматуллин Ш.Г., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Русакова Е.А., Вишняков А.И., Сизова Е.А., Кван О.В. Заявлено № 25.02.2011. Опубликовано 20.05.2012 Бюл. №14.

86. Пентюк, А. А. Токсикологические исследования силикса / А. А. Пентюк, Н. Б. Луцюк // Химия и клиническое применение диоксида кремния. Под ред. А.А.Чуйко. Київ: Наукова Думка. 2003.

87. Пресняк, А. Р. Использование наночастиц микроэлементов – перспективное направление при производстве мяса цыплят-бройлеров / А. Р. Пресняк // Молодой ученый. 2015. – №5 (2). – С. 40-42.

88. Райкова, А. П. Исследование влияния высокодисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений / А. П. Райкова, Л. А. Паничкин, Н. Н. Райкова // Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века: материалы Международной научно-практической конференции. Москва. 2006. – С. 108-111.

89. Сайтханов, Э. О. Влияние высокодисперсного порошка железа на переваримость питательных веществ рациона поросят / Э. О. Сайтханов, Л. Г. Каширина // Вестник Воронежского Государственного Аграрного Университета. 2011. – № 2. – С. 78-80.

90. Сизова, Е. А. Биохимические и морфологические показатели крови цыплят-бройлеров при различном уровне обменной энергии и минеральном составе рациона / Е. А. Сизова, Ш. Г. Рахматуллин, Н. Ю. Чурсина, О. В. Боярова, Р. Р. Ибряева // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. – № 6 (112). – С. 340-343.

91. Сизова, Е. А. Влияние парэнтерального введения наноразмерных частиц меди на элементный статус тканей крыс / Е. А. Сизова, С. А. Мирошников, С. В. Лебедев, А. В. Скальный, Н. Н. Глущенко // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. – № 6 (142). – С. 188-190.

92. Сизова, Е. А. Влияние сульфата и наночастиц железа на особенности обмена химических элементов в мышечной ткани / Е. А. Сизова, С. В. Лебедев, О. Ю. Сипайлова, Д. В. Нестеров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2014. – Т. 217. – С. 251-255.

93. Сизова, Е. А. Особенности обмена химических элементов в организме животных при внутримышечном введении наночастиц элементарного железа / Е. А. Сизова, И. С. Мирошников // Вестник мясного скотоводства. 2014. – № 3 (86). – С. 80-84.

94. Сизова, Е. А. Обмен веществ и продуктивность цыплят-бройлеров при использовании в питании высокодисперсных препаратов-микроэлементов. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН. Оренбург. 2017 – 50 с.

95. Сизова, Е. А. Сравнительные испытания ультрадисперсного сплава, солей и органических форм Cu и Zn как источников микроэлементов в кормлении цыплят-бройлеров / Е. А. Сизова, С. А. Мирошников, С. В. Лебедев, Ю. И. Левахин, И. А. Бабичева, В. И. Косилов // Сельскохозяйственная биология. 2018. – Т. 53. – № 2. – С. 393-403.

96. Синкина, Е. Б. Влияние высокодисперсного порошка цинка на процесс свертывания крови / Е. Б. Синкина, Н. Н. Глущенко, Ю. И. Федоров // Доклады МОИП. М.1985. – С. 76-79.

97. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков // М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир. 2004. – С. 272.

98. Соколова, О. Я. Значение экструдированных кормов в регулировании обмена условно токсичных и эссенциальных микроэлементов в организме кур-несушек / О. Я. Соколова, С. А. Мирошников, Е. А. Дроздова, Т. Н. Холодилина // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. – № 12-2 (62). – С. 230-232.

99. Степанова, И. А. Влияние нанопорошка кобальта на показатели липидного обмена телок голштинской породы / И. А. Степанова, А. А. Назарова, С. Д. Полищук // Ветеринария. 2018. – № 2. – С. 45-48.
100. Тезиев, Т. К. Минеральный и аминокислотный состав мяса бычков при использовании наножелеза / Т. К. Тезиев, А. Т. Кокоева, Ал. Т. Кокоева, А. Х. Дзанагов // Известия Горского Государственного Аграрного Университета. 2012. – Т. 49. – № 4. – С. 126-129.
101. Темираев, В. Х. Переваримость питательных веществ рациона с пивной дробинкой и кремнием ремонтными свинками / В. Х. Темираев, Г. Н. Чохатариди, Т. З. Мильдзихов, Л. Г. Чохатариди // Известия Горского государственного аграрного университета. 2011. – Т. 48. – № 1 – С. 72-74.
102. Урзаев, Н. А. Биогеоценоз и болезни животных / Н. А. Урзаев // М., Колос. 1978. – С. 208.
103. Фаткуллина, Л. Д. Действие высокодисперсного порошка цинка на синтез ДНК в клетках регенерирующей печени мышей / Л. Д. Фаткуллина, Н. Н. Глущенко, Л. Г. Яглова, Г. В. Коссова, Е. Б. Бурлакова, Ю. И. Федоров // В сборнике: «Физико-химические и биологические основы функционирования живых систем». М.: Наука. 1985. – С. 1719.
104. Федин, А. С. Кремний в питании молодняка сельскохозяйственных животных: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Саранск. 1995.
105. Федоров, Ю. И. К вопросу о возможности применения высокодисперсных порошков металлов для введения в организм животных / Ю. И. Федоров, Е. Б. Бурлакова, И. Г. Ольховская // ДАН СССР. 1979. – Т. 248. – №5. – С. 1277-1280.
106. Фисинин В. И., Современные подходы к кормлению высокопродуктивной птицы / В. И. Фисинин, И. А. Егоров // Птица и птицеводство. 2015. – № 3. – С. 27-29.
107. Холодилина, Т. Н. Биодоступность зольных элементов из экструдсодержащих рационов / Т. Н. Холодилина, С. А. Мирошников, А. И.

Гречушкин, Е. А. Дроздова, Г. Б. Зинюхин // Вестник Оренбургского государственного университета. 2007. – № 12-2 (78). – С. 146-149.

108. Хубулова, З. Использование нанопорошка железа при откорме бычков / З. Хубулова, А. Т. Кокоева // Научные труды студентов горского государственного аграрного университета "Студенческая наука - агропромышленному комплексу". В 2-х частях. Владикавказ. 2016. – С. 93-96.

109. Шипилов, В. Новое в кормлении птицы / В. Шипилов, И. Переслегина // Птицеводство. 1999. – № 6. – С. 30-31.

110. Шумакова, А. А. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния I. Интегральные показатели, аддукты ДНК, уровень тиоловых соединений и апоптоз клеток печени / А. А. Шумакова, Е. А. Арианова, В. А. Шипелин, Ю.С. Сидорова, А. В. Селифанов, Э. Н. Трушина, О. К. Мустафина, И. В. Сафенкова, И. В. Гмошинский, С. А. Хотимченко, В. А. Тутельян // Вопросы питания. 2014. – № 83(3).

111. Яушева, Е. В. Исследование наночастиц металлов в качестве источника микроэлементов для животных / Е. В. Яушева, А. Г. Зелепухин, Н. И. Рябов, О. В. Кван, В. А. Раменский, А. Х. Заверюха, Ф. Х. Сиразетдинов // Современные проблемы науки и образования. 2013. – № 5. – С. 470.

112. Яушева, Е. В. Исследование влияния высокодисперсных частиц металлов на гомеостаз показателей общего белка и интенсивности роста цыплят-бройлеров / Е. В. Яушева, С. А. Мирошников // Современные проблемы науки и образования. 2014. – № 2. – С. 508.

113. Яушева, Е. В. Наночастицы Fe в сочетании с аминокислотами изменяют продуктивные и иммунологические показатели у цыплят-бройлеров / Е. В. Яушева, С. А. Мирошников, Д. Б. Косян, Е. А. Сизова // Сельскохозяйственная биология. 2016. – Т. 51. – № 6. – С. 912-920.

114. Ajdary, M. Sub-chronic toxicity of gold nanoparticles in male mice / M. Ajdary, M. Z. Ghahnavieh, N. Naghsh // Adv Biomed Res. 2015. – 4.

115. Alimohamady, R. Influence of different amounts and sources of selenium supplementation on performance, some blood parameters, and nutrient digestibility in lambs / R. Alimohamady, H. Aliarabi, A. Bahari, A. H. Dezfoulian // *Biological trace element research*. 2013. – № 154(1). – P. 45-54.

116. Arelovich, H. M. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea / H. M. Arelovich, F. N. Owens, G. W. Horn, J. A. Vizcarra // *Journal of Animal Science*. 2000. – V. 78. – № 11. – P. 2972-2979.

117. Aslam, M. F. Ferroportin mediates the intestinal absorption of iron from a nanoparticulate ferritin core mimetic in mice / M. F. Aslam, D. M. Frazer, N. Faria, S. F. Bruggraber, S. J. Wilkins, C. Mirciov, J. J. Powell, G. J. Anderson, D. I. Pereira // *FASEB J*. 2014. – № 28(8). – P. 3671-3678.

118. Abhauer, K. P. "On the estimation of metabolic profiles in metagenomics." / K. P. Abhauer, P. Meinicke // *German Conference on Bioinformatics 2013*. Schloss Dagstuhl-Leibniz-Zentrum fuer Informatik, 2013.

119. Bikker, P. Phytase inclusion in pig diets improves zinc status but its effect on copper availability is inconsistent / P. Bikker, J. T. van Diepen, G. P. Binnendijk, A. W. Jongbloed // *J Anim Sci*. 2012. – 90. – Suppl 4. – P. 197-9. doi: 10.2527/jas.53907.

120. Briens, M. Comparative study of a new organic selenium source v. seleno-yeast and mineral selenium sources on muscle selenium enrichment and selenium digestibility in broiler chickens / M. Briens, Y. Mercier, F. Rouffineau, V. Vacchinaand, P. A. Geraert // *British Journal of Nutrition*. 2013. – 110(4). – P. 617-624.

121. Brunner, T. J. Mauser P In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: Comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility / T. J. Brunner, P. Wick // *Environmental Science and Technology*. 2006. – 40. – № 14. – P. 4374-4381.

122. Chai, H. The effect of metal oxide nanoparticles on functional bacteria and metabolic profiles in agricultural soil / H. Chai, J. Yao, J. Sun, C. Zhang, W.

Liu, M. Zhu, B. Ceccanti // *Bull Environ Contam Toxicol*. 2015. – № 94(4). – P. 490-5. Doi: 10.1007/s00128-015-1485-9.

123. Chamberlain, C. C. Effect of Fluoride, Magnesium and Manganese Ions on in Vitro Cellulose Digestion by Rumen Microorganisms / C. C. Chamberlain, W. Burroughs // *J Anim Sci*. 1962. – №21. – P. 428. Doi: 10.2527/jas1962.213428x.

124. Chatterjee, D. K. Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy / D. K. Chatterjee, P. Diagaradjane, S. Krishnan // *Ther Deliv*. 2011. – №2 (8). – P. 1001-1014.

125. Chaucheyras-Durand, F. Review: The rumen microbiome: Composition, abundance, diversity, and new investigative tools / F. Chaucheyras-Durand, F. Ossa // *Professional Animal Scientist*. 2014. – №30 (1). P. 1-12. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30076-0

126. Chen, Y. H. Changes in bacterial diversity associated with epithelial tissue in the beef cow rumen during the transition to a high-grain diet / Y. H. Chen, G. B. Penner, M. J. Li, M. Oba, L. L. Guan // *Appl Environ Microbiol*. 2011. – №77. P. 5770-5780.

127. Cheng, J. gp85 protein vaccine adjuvanted with silica nanoparticles against ALV-J in chickens / J. Cheng, S. Wen, S. Wang, P. Hao, Z. Cheng, Y. Liu, P. Zhao, J. Liu // *Vaccine*. 2017. – V. 5. – № 35(2). – P. 293-298

128. Chopra, A. Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004-2013.

129. Claudio, E. Activation of murine macrophages by silica particles in vitro is a process independent of silica induced cell death / E. Claudio, F. Segade, K. Wrobel, S. Ramos, P. S. Lazo // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 1995. – № 13(5). –P. 547-554.

130. Cui, H. Effects of sources and concentrations of zinc on growth performance, nutrient digestibility, and fur quality of growing-furring female mink

(*Mustela vison*) / H. Cui, T. T. Zhang, H. Nie, Z. C. Wang, X. L. Zhang, B. Shi, F. H. Yang, X. H. Gao // *J Anim Sci*. 2017. – № 95(12). – P. 5420-5429.

131. Del Aguila, E. M. Natural antimicrobials in food processing: Bacteriocins, peptides and chitooligosaccharides / E.M. Del Aguila, L. P. Gomes, C. S. Freitas, P. R. Pereira and V. M. F. Paschoalin // *Front. Anti-Infect. Drug Discov*. 2017. – 5. – P. 55-108.

132. Dominguez, A. Nanoparticles and blood–brain barrier: the key to central nervous system diseases / A. Dominguez, B. Suarez-Merino, F. Goni-de-Cerio // *J Nanosci Nanotechnol*. 2014. – 14(1). – P. 766-779.

133. Gordon, M. E. Effects of added chelated trace minerals, organic selenium, yeast culture, direct-fed microbials, and *Yucca schidigera* extract in horses. Part I: Blood nutrient concentration and digestibility / M. E. Gordon, M. S. Edwards, C. R. Sweeney, M. L. Jerina // *J Anim Sci*. 2013. – 91(8). – P. 3899-908. doi: 10.2527/jas.2013-6122.9

134. Esmaeili-Faraj, S. H. Influence of SiO<sub>2</sub> and graphene oxide nanoparticles on efficiency of biological removal process / S. H. Esmaeili-Faraj, M. Nasr Esfahany // *Environ Technol*. 2017. – № 38(21). – P. 2763-2774. doi: 10.1080/09593330.2016.1278045.

135. European Commission (2013) Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee. Second regulatory review on nanomaterials. Brussels, 3.10.2012, COM (2012) 572 final.

136. Faulkner, M. J. Effect of source of trace minerals in either forage- or by-product-based diets fed to dairy cows: 1. Production and macronutrient digestibility / M. J. Faulkner, W. P. Weiss // *J Dairy Sci*. 2017. – № 100(7). – P. 5358-5367.

137. Faulkner, M. J. Source of supplemental dietary copper, zinc, and manganese affects fecal microbial relative abundance in lactating dairy cows / M. J. Faulkner, B. A. Wenner, L. M. Solden, W. P. Weiss // *Journal of Dairy Science*. 2017. – № 100(2). – P. 1037-1044. 10.3168/jds.2016-11680.

138. Fisinin, V. I. Metal particles as trace-element sources: current state and future prospects / V. I. Fisinin, S. A. Miroshnikov, E. A. Sizova, A. S. Ushakov, E. P. Miroshnikova // *World's Poultry Science Journal*. 2018. – T. 74. – № 3. – P. 523-540.
139. Georg, R. B. Mechanisms controlling the silicon isotopic compositions of river waters / R. B. Georg, B. C. Reynolds, M. Frank, A. N. Halliday // *Earth Planet Sci Lett*. 2006. – № 249(3–4). – P. 290-306.
140. Gonzales-Eguia, A. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets / A. Gonzales-Eguia, C. M. Fu, F. Y. Lu, T. F. Lien // *Livestock Sci*. 2009. – 126. – P. 122 -129.
141. Gouin, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends / S. Gouin // *Trends Food Sci. Technol*. 2004. – 15. – P. 330–347. 10.1038/nature.2015.17987.
142. Grna, A. Antitumor effect of novel silatranes on renal cell carcinoma in mice / A. Grna, P. H. Koo, J. Hogan // *Anticancer Res*. 1992. – № 12(2). – P. 565-569.
143. Grobe, A. Nanotechnologies in agriculture and food – an overview of different fields of application, risk assessment and public perception / A. Grobe, M. E. Rissanen // *Recent Pat Food Nutr Agric*. 2012. – № 4(3). – P. 176-186.
144. Holden, P. A. Evaluation of exposure concentrations used in assessing manufactured nanomaterial environmental hazards: are they relevant? / P. A. Holden, F. Klaessig, R. F. Turco, J. H. Priester, C. M. Rico, H. Avila-Arias, M. Mortimer, K. Pacpaco, J. L. Gardea-Torresdey // *Environ Sci Technol*. 2014. – № 48(18). – P. 10541-10551.
145. Huws, S. A. Addressing Global Ruminant Agricultural Challenges Through Understanding the Rumen Microbiome: Past, Present, and Future / S. A. Huws, C. J. Creevey, L. B. Oyama, I. Mizrahi, S. E. Denman, M. Popova, R. Muñoz-Tamayo, E. Forano, S. M. Waters, M. Hess, I. Tapio, H. Smidt, S. J. Krizsan, D. R. Yáñez-Ruiz, A. Belanche, L. Guan, R. J. Gruninger, T. A.

McAllister, C. J. Newbold, R. Roehe, R. J. Dewhurst, T. J. Snelling, M. Watson, G. Suen, E. H. Hart, A. H. Kingston-Smith, N. D. Scollan, R. M. do Prado, E. J. Pilau, H. C. Mantovani, G. T. Attwood, J. E. Edwards, N. R. McEwan, S. Morrisson, O. L. Mayorga, C. Elliott, D. P. Morgavi // *Front Microbiol.* 2018. – 25. – № 9. – P. 2161.

146. Ivkovic, S. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system / S. Ivkovic, U. Deutsch, A. Silberbach et al. // *Adv. Ther.*, 2004. – № 21(2). – P.135-147.

147. Ivkovic, S. TMAZ nanoparticles as potential drugs influencing the cellular signal transduction pathways / S. Ivkovic, T. Baranek, P. Bendzko, J. Schulz // *Nanotech.* 2005. – V.1. Chapter 2: Medical Applications. – P. 85-88.

148. Jami, E. Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency / E. Jami, B. A. White, I. Mizrahi // *PLoS ONE.* 2014. – 9(1). – P. e85423. 10.1371/journal.pone.0085423.

149. Jansen, N. Dissolved silica mobilization in the conterminous USA / N. Jansen, J. Hartmann, R. Lauerwald, H. H. Dürr, S. Kempe, S. Loos, H. Middelkoop // *Chem Geol.* 2010. – № 270(1–4). – P. 90-109.

150. Joshua, C. High-throughput Methods Redefine the Rumen Microbiome and Its Relationship with Nutrition and Metabolism / C. Joshua, T. A. W. McCann, J. J. Loo // *Bioinformatics and Biology Insights.* 2014. – № (8). – P. 109–125. 10.4137/BBI.S15389

151. Karimov, I. Inhibition of bacterial Quorum sensing by the ruminal fluid of cattle / I. Karimov, G. Duskaev, K. Inchagova, M. Kartabaeva // *International Journal of GEOMATE.* 2017. – № 13(40). – P. 88-92.

152. Kaur, L. Microwave grafted, composite and coprocessed materials: drug delivery applications / L. Kaur, I. Singh // *Ther Deliv.* 2016. – 17. DOI: 10, 4155 / TDE-2016-0055.

153. Kaweeteerawat, C. Toxicity of metal oxide nanoparticles in escherichia coli correlates with conduction band and hydration energies / C.

Kaweeteerawat, A. Ivask, R. Liu, H. Zhang, C. H. Chang, C. Low-Kam, H. Fischer, Z. Ji, S. Pokhrel, Y. Cohen and D. Telesca // *Environ. Sci. Technol.* 2015. – № 49. – P. 1105-1112.

154. Khafipour, E. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis / E. Khafipour, S. Li, J. C. Plaizier, D. O. Krause // *Applied and environmental microbiology.* 2009. – 75(22). – P. 7115-24. 10.1128/AEM.00739-09

155. Kim, H. J. A novel mycotoxin purification system using magnetic nanoparticles for the recovery of aflatoxin B1 and zearalenone from feed / H. J. Kim, S. H. Kim, J. K. Lee et al. // *J Vet Sci.* 2012. – №13 (4). – P. 363-369.

156. Kim, E. T. The Effect of Plant Extracts on In-vitro Ruminant Fermentation, Methanogenesis and Methane-related Microbes in the Rumen / E. T. Kim, K.-S. Min, C. H. Kim, Y. H. Moon, S. C. Kim, S. S. Lee // *Asian-Australas J Anim Sci.* 2013. – 26(4). – P. 517-522.

157. Kišidayová, S. The effects of high dose of two manganese supplements (organic and inorganic) on the rumen microbial ecosystem / S. Kišidayová, P. Pristaš, M. Zimovčáková, M. Blanár Wencelová, L. Homol'ová, K. Mihaliková, K. Čobanová, L. Grešáková, Z. C. Váradyová // *PLoS One.* 2018. – № 11. 13(1). – P. e0191158. doi: 10.1371/journal.pone.0191158.

158. Klindworth, A. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies / A. Klindworth, E. Pruesse, T. Schweer, J. Peplies, C. Quast, M. Horn et al. // *Nucleic Acids Research.* 2013. – 41(1). – e1. 10.1093/nar/gks808

159. Kowalczyk, M. Ferumoxytol: a new era of iron deficiency anemia treatment for patients with chronic kidney disease / M. Kowalczyk, M. Banach, J. Rysz // *J Nephrol.* 2011. – 24(6). – P. 717-22. doi: 10.5301/jn.5000025

160. Langille, M. G. I. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences / M. G. I. Langille, J. Zaneveld, J. G. Caporaso, D. McDonald, D. Knights, J. A. Reyes et al. // *Nature Biotechnology.* 2013. – № 31(9). – P. 814-821. 10.1038/nbt.2676

161. Li, S. Performance evaluation and microbial community shift of a sequencing batch reactor under silica nanoparticles stress / S. Li, S. Gao, S. Wang, B. Ma, L. Guo, Z. Li, Q. Xu, Z. She, M. Gao, Y. Zhao, F. Gao, C. Jin // *Bioresour Technol.* 2017. – № 245(Pt A). – P. 673-680. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.018.

162. Liu, D. F. Magnetic resonance imaging of post-ischemic blood-brain barrier damage with PEGylated iron oxide nanoparticles / D. F. Liu, C. Qian, Y. L. An, D. Chang, S. H. Ju & G. J. Teng // *Nanoscale.* 2014. – V. 21. – № 6(24). – P. 15161-15167.

163. Logachev, K. Study of Intercellular Interaction of Ruminant Microorganisms of Beef Cattle / K. Logachev, I. Karimov, G. Duskaev, A. Frolov, S. Tulebaev, O. Zav`yalov // *Asian Journal of Animal Sciences.* 2015. – № 9. – P. 248-253. DOI: 10.3923/ajas.2015.248.253.

164. Long, M. Effects of the acid-tolerant engineered bacterial strain *Megasphaera elsdenii* H6F32 on ruminal pH and the lactic acid concentration of simulated rumen acidosis in vitro / M. Long, W. J. Feng, P. Li, Y. Zhang, R. X. He, Yu, L. H., J. B. He, W. Y. Jing, Y. M. Li, Z. Wang and G. W. Liu // *Research in Veterinary Science.* 2014. – № 96(1). – P. 28-29. 10.1016/j.rvsc.2013.11.013

165. McAllister, T. A. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion / T. A. McAllister, L. M. Rode, D. J. Major, K. J. Cheng, J. G. Buchanan-Smith // *Can J Anim Sci.* 1990. – № 70. – P. 571-579.

166. Miron, J. Characterisation of cellulose-binding proteins that are involved in the adhesion mechanism of *Fibrobacter intestinalis* DR7 / J. Miron, C.W. Forsberg // *Appl Microbiol Biotechnol.* 1999. – 51(4). – P. 491-497.

167. Miroshnikov, S. A. Comparative Assessment of Effect of Copper Nano- and Microparticles in Chicken / S. A. Miroshnikov, E. V. Yausheva, E. A. Sizova and. E. P. Miroshnikova // *Oriental Journal of Chemistry.* 2015. – T. 31. – № 4. – P. 2327-2336.

168. Miroshnikova, E. Antagonist metal alloy nanoparticles of iron and cobalt: impact on trace element metabolism in carp and chicken / E. Miroshnikova, A. Arinzhanov, Y. Kilyakova, E. Sizova, S. Miroshnikov // *uman & Veterinary*

Medicine. International Journal of the Bioflux Society. 2015. – Vol. 7. – Iss. 4. – P. 253-259.

169. Mishra, B. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery / B. Mishra, B. B. Patel, S. Tiwari // *Nanomed-Nanotechnol.* 2010. – № 6. – P. 9-24.

170. Mohapatra, P. Effects of dietary nano-selenium on tissue selenium deposition, antioxidant status and immune functions in layer chicks / P. Mohapatra, R.K. Swain, S.K. Mishra, T. Behera, P. Swain, S.S. Mishra, N.C. Behura, S.C. Sabat, K. Sethy, K. Dhama and P. Jayasankar // *Int J Pharmacol.* 2014. – № 10(3). – P.160-167.

171. Mora, L. Hydrophilic chromatographic determination of carnosine, anserine, balenine, creatine, and creatinine Journal of agricultural and food chemistry / L. Mora, M. A. Sentandreu, F. Toldrá // 2007. – V. 55. – № 12. – P. 4664-4669.

172. Morgan, X. C. Chapter 12: Human Microbiome Analysis / X. C. Morgan, C. Huttenhower, R. Butler, J. Choudhuri, H. Chuang // *PLoS Computational Biology.* 2012. – № 8(12). – P. e1002808  
10.1371/journal.pcbi.1002808

173. Morgavi, D. P. Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production / D. P. Morgavi, W. J. Kelly, P. H. Janssen, G. T. Attwood // *Animal.* 2013. – № 7(s1). – P. 184-201. 10.1017/S1751731112000419

174. Mroczek-Sosnowska, N. Effect of copper nanoparticles administered in ovo on the activity of proliferating cells and on the resistance of femoral bones in broiler chickens / N. Mroczek-Sosnowska, M. Łukasiewicz, D. Adamek, M. Kamaszewski, J. Niemiec, A. Wnuk-Gnich, A. Scott, A. Chwalibog, E. Sawosz // *Arch Anim Nutr.* 2017. – 71(4). P. 327-332. doi: 10.1080/1745039X.2017.1331619.

175. Mu, H. Effects of metal oxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> and ZnO) on waste activated sludge anaerobic digestion / H. Mu, Y. Chen, N. Xiao //

Bioresour Technol. 2011. – № 102(22). – P. 10305-11. doi: 10.1016/j.biortech.2011.08.100.

176. Neagu, M. Protein bio-corona: critical issue in immune nanotoxicology / M. Neagu, Z. Piperigkou, K. Karamanou, A. B. Engin, A. O. Docea, C. Constantin, C. Negrei, D. Nikitovic, A. Tsatsakis // Arch Toxicol. 2016. – 20. DOI: 10.1007/s00204-016-1797-5

177. Nemmar, A. The acute proinflammatory and prothrombotic effects of pulmonary exposure to rutile TiO<sub>2</sub> nanorods in rats / A. Nemmar, K. Melghit, B. H. Ali // Exp Biol Med (Maywood) 2008. – № 233(5). – P. 610-619.

178. Ni, S. Effect of magnetic nanoparticles on the performance of activated sludge treatment system / S. Ni, J. Ni, N. Yang & J. Wang // Bioresour. Technol. 2013. – № 143. – P. 555-561.

179. Nisbet, D. J. Effects of the Dicarboxylic Acids Malate and Fumarate on *E. coli* O157:H7 and Salmonella enterica Typhimurium Populations in Pure Culture and in Mixed Ruminant Microorganism Fermentations / D. J. Nisbet, T. R. Callaway, T. S. Edrington, R. C. Anderson, N. Krueger // Current Microbiology. 2009. – № 58(5). – P. 488-492. 10.1007/s00284-008-9351-1

180. Ogbomida, E. T. Accumulation patterns and risk assessment of metals and metalloids in muscle and offal of free-range chickens, cattle and goat in Benin City, Nigeria / E. T. Ogbomida, S. M. M. Nakayama, N. Bortey-Sam, B. Oroszlany, I. Tongo, A.A. Enuneku, O. Ozekeke, M.O. Ainerua, I.P. Fasipe, L.I. Ezemonye, H. Mizukawa, Y. Ikenaka, M. Ishizuka // Ecotoxicol Environ Saf. 2018. – 30(151). – P. 98-108. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.12.069.

181. Ozutsumi, Y. The effect of protozoa on the composition of rumen bacteria in cattle using 16S rRNA gene clone libraries / Y. Ozutsumi, K. Tajima, A. Takenaka, H. Itabashi // Biosci Biotechnol Biochem. 2005. – № 69. – P. 499-506.

182. Pan, D. Synthesis of NanoQ, a copper-based contrast agent for high-resolution magnetic resonance imaging characterization of human thrombus / D. Pan, S. D. Caruthers, A. Senpan, C. Yalaz, A. J. Stacy, G. Hu, J. N. Marsh, P. J.

Gaffney, S. A. Wickline, G. M. Lanza // *J. Am.Chem. Soc.* 2011. – № 133(24). – P. 9168-9171.

183. Panos, R. J. Alterations in eicosanoid production by rat alveolar type II cells isolated after silica-induced lung injury / R. J. Panos, N. F. Voelkel, G. R. Cott, R. J. Mason, J. Y. Westcott // *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1992. – № 6(4). – P. 430-438.

184. Parantainen, J. Milk and blood levels of silicon and selenium status in bovine mastitis / J. Parantainen, E. Tenhunen, R. Kangasniemi, S. Sankari, F. Atroshi // *Vet Res Commun.* 1987. – № 11(5). – P. 467-477.

185. Patel, S. Toxicity evaluation of magnetic iron oxide nanoparticles reveals neuronal loss in chicken embryo / S. Patel, S. Jana, R. Chetty, S. Thakore, M. Singh, R. Devkar // *Drug Chem Toxicol.* 2017. – № 27. – P. 1-8. doi: 10.1080/01480545.2017.1413110

186. 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, E. Sawosz, C. Lauridsen, R. M. Engberg, J. Elnif, A. Hotowy, F. Sawosz and A. Chwalibog // *Open Access Anim Physiol.* 2012. – № 4. – P. 1-8.

187. Pitta, D. W. Rumen bacterial diversity dynamics associated with changing from bermudagrass hay to grazed winter wheat diets / D. W. Pitta, E. Pinchak, S. E. Dowd, J. Osterstock, V. Gontcharova, E. Youn, K. Dorton, I. Yoon, B. R. Min, J. D. Fulford, T. A. Wickersham, D. P. Malinowski // *Microb Ecol.* 2010. – № 59. – P. 511-522.

188. Prasad, R. Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges, and Perspectives / R. Prasad, Atanu Bhattacharyya, and D. Nguyen Quang // *Front Microbiol.* 2017. – № 8. – P. 1014. Published online 2017 Jun 20. doi: 10.3389/fmicb.2017.01014

189. Raspopov, R. V. Bioavailability of nanoparticles of ferric oxide when used in nutrition / R. V. Raspopov, É. N. Trushina, I. V. Gmoshinskiï, S. A.

Khotimchenko // Experimental results in rats. *Vopr Pitan.* 2011. – № 80(3). – P. 25-30.

190. Rein, M. J. Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy / M. J. Rein, M. Renouf, C. Cruz-Hernandez, L. Actis-Goretta, S. K. Thakkar and da M. Silva Pinto // *British journal of clinical pharmacology.* 2013. – № 75(3). – P. 588-602. doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.

191. Roco, M. M. The long view of nanotechnology development: the national Nanotechnology Initiative at 10 years / M. M. Roco // *J. Nanopart. Res.* –2011. – № 13. – P. 427-447.

192. Saraiva, L. A. Serum urea, creatinine and enzymatic activity of alkaline phosphatase in Nelore cattle raised in the Micro Upper Middle Gurguéia / L. A. Saraiva, T. P. D. Silva, P. E. Paraguaio, M. S. Araújo, S. V. Sousa, L. P. Machado // *Anim Vet Sci.* 2014. – № 2. – P. 105-108.

193. Sawosz, F. Nano-nutrition of chicken embryos. Effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses and morphology of pectoral muscle / F. Sawosz, L. Pineda, A. Hotowy, P. Hyttel, E. Sawosz, M. Szmidt, T. Niemiec, A. Chwalibog // *Balt. J. Comp. Clin. Syst. Bio.* 2012. – № 2. – P. 29-45.

194. Scott, A. Effect of different levels of copper nanoparticles and copper sulphate on performance, metabolism and blood biochemical profiles in broiler chicken / A. Scott, K. P. Vadalasetty, M. Łukasiewicz, S. Jaworski, M. Wierzbicki, A. Chwalibog, E. Sawosz // *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2018. – № 102(1). – P. e364-e373. doi: 10.1111/jpn.12754.

195. Shah, K. M. Cobalt and chromium exposure affects osteoblast function and impairs the mineralization of prosthesis surfaces in vitro / K. M. Shah, J. M. Wilkinson, A. Gartland // *J Orthop Res.* 2015. – № 33(11). – P. 1663-1670.

196. Shamsi, A. Structural transition of kidney cystatin induced by silicon dioxide nanoparticles: An implication for renal diseases / A. Shamsi, A. Ahmed, B. Bano // *Int J Biol Macromol.* 2017. – № 94(Pt B). – P. 754-761.

197. Shi, Y. H. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks / Y. H. Shi, Z. R. Xu, J. L. Feng, C. Z. Wang // *Animal Feed Science and Technology*. 2006. – № 129(1-2). – P. 138-148.
198. Shirsat, S. Protective role of biogenic selenium nanoparticles in immunological and oxidative stress generated by enrofloxacin in broiler chicken / S. Shirsat, A. Kadam, R. S. Mane, V. V. Jadhav, M. K. Zate, M. Naushad, K. H. Kim // *Dalton Trans*. 2016. – № 45(21). – P. 8845-8853. doi: 10.1039/c6dt00120c.
199. Schultz, L. H. Relationship of rearing rate of dairy heifers to mature performance / L. H. Schultz // *Journal of Dairy Science*. 1969. – № 52(8). – P. 1321-1329.
200. Sibag, M. Inhibition of total oxygen uptake by silica in activated sludge / M. Sibag, B. G. Choi, C. Suh, K. H. Lee, J. W. Lee, S. K. Maeng, J. Cho // *J Hazard Mater*. 2015. – № 283. – P. 841-6. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.032.
201. Silva, G. A. Nanotechnology approaches to crossing the blood-brain barrier and drug delivery to the CNS / G. A. Silva // *BMC Neurosci*. 2008. – 9(Suppl 3). – P. S4.
202. Singh, R. K. Fundamentals of slurry design for CMP of metal and dielectric materials / R. K. Singh, S. M. Lee, K. S. Choi, G. B. Basim, W. S. Choi, Z. Chen, B. M. Moudgil // *MRS Bull*. 2002. – № 27(10). – P. 752-760.
203. Sizova, E. Influence of Cu<sub>10x</sub> copper nanoparticles intramuscular injection on mineral composition of rat spleen / E. Sizova, S. Miroshnikov, A. Skalny, N. Glushchenko // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2011. – T. 25. – № SUPPL. 1. – P. 84-89.
204. Sizova, E. Assessment of morphological and functional changes in organs of rats after intramuscular introduction of iron nanoparticles and their agglomerates / E. Sizova, S. Miroshnikov, E. Yausheva, V. Polyakova // *BioMed Research International*. 2015. – T. 2015. – C. 243173.
205. Su, L. Stabilization of sewage sludge in the presence of nanoscale zero-valent iron (nZVI): abatement of odor and improvement of biogas production

/ L. Su, X. Shi, G. Guo, A. Zhao & Y. Zhao // *J. Mater. Cycles Waste Manage.* 2013. – № 15. – P. 461-468.

206. Takeda, K. Health effects of nanomaterials on next generation / K. Takeda [et al.] // *Yakugaku Zasshi.* 2011. – V. 131 (2). – P. 229-236.

207. Tang, H. Q. The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats / H. Q. Tang, M. Xu, Q. Rong, R. W. Jin, Q. J. Liu, Y. L. Li // *Int J Nanomedicine.* 2016. – № 11. – P. 4275-85. doi: 10.2147/IJN.S109031.

208. Taschetto, D. Iron requirements of broiler breeder hens / D. Taschetto, S.L. Vieira, C.R. Angel, C. Stefanello, L. Kindlein, M.A. Ebbing, C.T. Simões // *Send to Poult Sci.* 2017. – 1. – 96(11). – P. 3920-3927. doi: 10.3382/ps/pex208.

209. Ungvári, É. Protective effects of meat from lambs on selenium nanoparticle supplemented diet in a mouse model of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced immunotoxicity / É. Ungvári, I. Monori, A. Megyeri, Z. Csiki, J. Prokisch, A. Sztrik, A. Jávör and I. Benkő // *Food and chemical toxicology.* 2014. – № 64. – P. 298-306.

210. Vázquez-Armijo, J. F. In vitro gas production and dry matter degradability of diets consumed by goats with or without copper and zinc supplementation / J. F. Vázquez-Armijo, J. J. Martínez-Tinajero, D. López, A. F. Salem, R. Rojo // *Biological Trace Element Research.* 2011. – № 144(1-3). – P. 580-587.

211. Verma, A. K. Application of nanotechnology as a tool in animal products processing and marketing: an overview / A. K. Verma, V. P. Singh, P. Vikas // *American Journal of Food Technology.* 2012. – № 7(8). – P. 445-451.

212. Wahajuddin, A. S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers / A. S. Wahajuddin // *Int J Nanomedicine.* 2012. – № 7. – P. 3445-3471.

213. Wang, M.Q. Effects of chromium-loaded chitosan nanoparticles on growth, blood metabolites, immune traits and tissue chromium in finishing pigs / M.Q. Wang, C. Wang, H. Li, Y.J. Du, W.J. Tao, S.S. Ye and Y.D. He // *Biol Trace Elem Res.* 2012. – № 149. – P. 197-203. doi: 10.1007/s12011-012-9428-3.

214. Wang, M. Q. Effects of chromium-loaded chitosan nanoparticles on growth, carcass characteristics, pork quality, and lipid metabolism in finishing pigs / M. Q. Wang, C. Wang, H. Li, Y. J. Du, W. J. Tao, S. S. Ye and Y. D. He // *Livest Sci*. 2014. – № 161. – P. 123-129. doi: 10.1016/j.livsci.2013.12.029
215. Wang, T. Effects of Metal Nanoparticles on Methane Production from Waste-Activated Sludge and Microorganism Community Shift in Anaerobic Granular Sludge / T. Wang, D. Zhang, L. Dai, Y. Chen, X. Dai // *Sci Rep*. 2016. – № 6. – P. 25857. doi: 10.1038/srep25857.
216. Weinstein, J. S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: diagnostic magnetic resonance imaging and potential therapeutic applications in neurooncology and central nervous system inflammatory pathologies, a review / J. S. Weinstein, C. G. Varallyay, E. Dosa, S. Gahramanov, B. Hamilton, W. D. Rooney, L. L. Muldoon, E. A. Neuwelt // *J Cereb Blood Flow Metab*. 2010. – № 30. – P. 15-35.
217. Williams, K. Effects of subchronic exposure of silver nanoparticles on intestinal microbiota and gut-associated immune responses in the ileum of Sprague-Dawley rats / K. Williams, J. Milner, M. D. Boudreau, K. Gokulan, C. E. Cerniglia S. Khare // *Nanotoxicol*. 2015. – № 9(3). – P. 279-289.
218. Wu, X. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, tissular copper deposition and fur quality of growing-furring mink (*Mustela vison*) / X. Wu, Z. Liu, T. Zhang, Y. Yang, F. Yang and X. Gao // *Biological trace element research*. 2014. – № 158(2). – P.166-175.
219. Xun, W. Effect of high-dose nano-selenium and selenium-yeast on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep / W. Xun, L. Shi, W. Yue, C. Zhang, Y. Ren, Q. Liu // *Biol Trace Elem Res*. 2012. – № 150(1-3). – P. 130-136. doi: 10.1007/s12011-012-9452-3.
220. Yausheva, E. Influence of zinc nanoparticles on survival of worms *Eisenia fetida* and taxonomic diversity of the gut microflora / E. Yausheva, E. Sizova, S. Lebedev, A. Skalny, S. Miroshnikov, A. Plotnikov, Y. Khlopko, N.

Gogoleva, S. Cherkasov // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016. – № 23(13). – P. 13245-54. doi: 10.1007/s11356-016-6474-y.

221. Yausheva, E. Intestinal microbiome of broiler chickens after use of nanoparticles and metal salts / E. Yausheva, S. Miroshnikov, E. Sizova // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018. – 25(18). – P. 18109-18120. doi: 10.1007/s11356-018-1991-5.

222. Yazdankhah, S. Zinc and copper in animal feed – development of resistance and co-resistance to antimicrobial agents in bacteria of animal origin / S. Yazdankhah, K. Rudi, A. Bernhoft // *Microb Ecol Health Dis.* 2014. – № 25. – P. 25862. 10.3402/mehd.v25.25862

223. Zhang, J. Elemental selenium at Nano Size (Nano-Se) as a potential chemopreventive Agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with Se-Methelselenocysteine in mice / J. Zhang, X. Wang, T. Xu // *Toxicological sciences.* 2008. – № 101 (1). – P. 22.

224. Zhang, J. Biological properties of red elemental selenium at nano size (Nano-Se) in vitro and in vivo. In: Sahu SC, Casciano D, editors. *Nanotoxicity: From In Vivo and In Vitro Model To Health Risks.* West Sussex, UK: John Wiley and Sons; 2009.

225. Zhang, J, Spallholz, J. Toxicity of selenium compounds and nano-selenium particles. In: Casciano D, Sahu SC, editors. *Handbook of Systems Toxicology.* West Sussex, UK: John Wiley and Sons; 2011.

226. Zhang, J. S. Biological effects of a nano red elemental selenium / J. S. Zhang, X. Y. Gao, L. D. Zhang and Y. P. Bao // *Biofactors.* 2001. – 15(1). – P. 27-38.

227. Zhang, X. D. Size-dependent in vivo toxicity of PEG-coated gold nanoparticles / X. D. Zhang, D. Wu, X. Shen, P. X. Liu, N. Yang, B. Zhao, H. Zhang, Y. M. Sun, L. A. Zhang, F. Y. Fan // *Int J Nanomedicine.* 2011. – №6. – P. 2071-2081.

228. Zhang, Z. Z. Evaluating the effects of metal oxide (TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> and CeO<sub>2</sub>) on anammox process: Performance, microflora and properties / Z. Z.

Zhang, Y. F. Cheng, L. Z. Xu, Y. H. Bai, J. J. Xu, Z. J. Shi, Y. Y. Shen, R. C. Jin // *Bioresour Technol.* 2018. – № 266. – P. 11-18. doi: 10.1016/j.biortech.2018.06.052.

229. Zheng, S. Antagonistic Effect of Selenium on Lead-Induced Inflammatory Factors and Heat Shock Protein mRNA Level in Chicken Cartilage Tissue / S. Zheng, H. Song, Hangao, C. Liu, Z. Zhang, Jingfu // *Biological Trace Element Research.* 2016. – № 173(1). – P.177-184

230. Zheng, X. Acute and chronic responses of viability and performance to silica nanoparticles / X. Zheng, Y. Su, Y. Chen // *Environ Sci Technol.* 2012. – № 46(13). – P. 7182-8. doi: 10.1021/es300777b.

231. Zhou, X. Influence of dietary nano elemental selenium on growth performance, tissue selenium distribution, meat quality, and glutathione peroxidase activity in Guangxi Yellow chicken / X. Zhou, Y. Wang // *Poult Sci.* 2011. – 90 (3). – P. 680-686. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00977>