

На правах рукописи

КУЛИКОВА МАРИНА СЕРГЕЕВНА

**КОРРЕКЦИЯ ГИПОМИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ У ТЕЛЯТ И КОЗЛЯТ
СОЕДИНЕНИЯМИ Cu, Zn, Mn, Co, Fe И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО МЯСА.**

06.02.05 -ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная
экспертиза

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени кандидата
ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» (ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА)

Научный руководитель: **Крысенко Юрий Гаврилович**
доктор ветеринарных наук, профессор
ФГБОУ ВО «Ижевская государственная
сельскохозяйственная академия»

Официальные оппоненты: **Кадиков Ильнур Равилович**
доктор биологических наук, заведующий лабораторией
техногенных экотоксикантов ФГБНУ «Федеральный
центр токсикологической, радиационной и биологической
безопасности»

Дельцов Александр Александрович
доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой
физиологии, фармакологии и токсикологии им. А.Н.
Голикова и Е.И. Мозгова ФГБОУ ВО «Московская
государственная академия ветеринарной медицины
и биотехнологии-МВА имени К.И. Скрябина»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Защита диссертации состоится «23» июня 2022 г. в 13.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 220.059.04 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс: 8(812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» и на официальном сайте: [https:// www.spbguvm.ru](https://www.spbguvm.ru).

Автореферат размещен на сайтах: ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ: <https://vak.minobrnauki.gov.ru> «15» апреля 2022 г. и ФГБОУ ВО СПбГУВМ: <http://www.spbguvm.ru> «15» апреля 2022 г.

Автореферат разослан « _____ » _____ 20 ____ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Орлова Диана Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Состояние здоровья сельскохозяйственных животных в значительной мере зависит от достаточного поступления в их организм (преимущественно с кормом) жизненно важных микроэлементов, в том числе железа, цинка, кобальта, меди и марганца. При недостатке микроэлементов снижается продуктивность животных, ухудшается качество получаемой мясной продукции (О.С. Кошачева, 2018; Н.П. Усманова и др., 2015; А.Ю. Ивашенко и др., 2014).

Для восполнения дефицита микроэлементов применяют кормовые добавки. Наиболее широко используют неорганические соединения микроэлементов. Они относительно дешевы, но имеют невысокую усвояемость и достаточно токсичны при передозировке. Этим недостаткам в значительной мере лишены хелатные комплексные соединения металлов-микроэлементов, которые все шире применяются в животноводстве. Однако данные соединения стабильны только при определенных диапазонах значений pH. При прохождении через ЖКТ (где pH в разных отделах неодинакова) многие из них могут разлагаться, теряя свои преимущества.

При использовании хелатных соединений снижается проявление антагонизма металлов-микроэлементов на этапе всасывания в ЖКТ животных. Но, на наш взгляд, оно может сохраняться при вступлении их в метаболические процессы (в т.ч. из-за конкуренции за связывание с белками-переносчиками и включения в активные центры ферментов).

Таким образом, проблема повышения эффективности кормовых добавок остается актуальной.

Степень разработанности темы. В научной литературе широко описано применение кормовых добавок, содержащих хелатные комплексные соединения железа, меди, цинка, марганца и кобальта. Тем не менее, практически не уделяется внимания вопросам, связанным со стабильностью используемых комплексных соединений при различных значениях pH, а также антагонизму и синергизму при совместном использовании комплексных соединений разных металлов-микроэлементов. Следовательно, требуются дальнейшие исследования в указанных направлениях.

Цель исследования: оценить состояние здоровья животных, мясную продуктивность и качество мяса при коррекции гипомикроэлементозов хелатными соединениями Cu, Zn, Mn, Co, Fe.

Задачи:

1. Получить растворы хелатных соединений Cu, Zn, Co, Mn, Fe с нужными свойствами и оценить безопасность их использования в экспериментах на лабораторных животных.

2. Оценить влияние использования данных растворов, а также растворов неорганических солей на общее состояние, гематологические и биохимические показатели козлят и телят, испытывавших дефицит микроэлементов.

3. Определить химический состав и биологическую ценность мяса телят и козлят при использовании хелатных соединений Cu, Zn, Mn, Co, Fe.

4. Провести комплексную ветеринарно-санитарную экспертизу и оценку туш и органов телят и козлят при использовании хелатных соединений Cu, Zn, Mn, Co, Fe.

Научная новизна исследования. 1. Впервые в биогеохимической провинции Удмуртской Республики разработаны жидкие кормовые добавки, содержащие хелатные соединения Co, Zn, Fe, Cu, Mn. При этом в растворе возможно существование нескольких комплексных соединений того или иного из указанных микроэлементов с разными лигандами, находящихся в динамическом химическом равновесии. В подобных системах ионы (атомы) металлов находятся в хелатированном состоянии при достаточно широком диапазоне значений pH. Целенаправленно в работах других исследователей данный подход при разработке кормовых добавок не использовался. 2. Показана эффективность применения растворов полученных хелатных соединений по схеме, включающей их раздельное введение животным и обеспечивающей уменьшение проявления антагонизма микроэлементов. 3. Показана более высокая эффективность применения в качестве жидких кормовых добавок данных растворов хелатных комплексных соединений по сравнению с растворами неорганических солей (даваемых животным по той же схеме и в тех же дозировках). В частности, отмечено более выраженное повышение содержания вводимых микроэлементов в крови животных и мясе. 4. Разработаны наборы сухих реагентов для получения растворов хелатных комплексных соединений данных микроэлементов непосредственно перед применением.

Теоретическая и практическая значимость работы. В ходе работы были созданы жидкие кормовые добавки для сельскохозяйственных животных. Доказана эффективность и безопасность их применения, а также положительное влияние на качество получаемой мясной продукции. Предложено несколько новых решений, позволяющих упростить производство кормовых добавок, повысить усвояемость микроэлементов животными и максимально снизить проявление их антагонизма.

Методология и методы исследования. В экспериментах на мышах выполнялась оценка местного раздражающего и общего токсического действия растворов хелатных комплексных соединений металлов-микроэлементов и растворов их неорганических солей в дозировках, планируемых к дальнейшему использованию.

У козлят и телят оценивались прирост массы тела и общее состояние, выполнялось гематологическое и биохимическое исследование крови. В конце эксперимента все козлята и часть телят подвергались убою. Осуществлялась ветеринарно- санитарная экспертиза туш и мяса. Определялось содержание микроэлементов в мясе. Оценивалась биологическая ценность мяса.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. В экспериментах на лабораторных животных необходимо доказать безопасность применения предложенных растворов хелатных соединений Co, Zn, Fe, Cu, Mn.

2. Оценить эффективность восполнения дефицита микроэлементов при введении животным по предложенной схеме растворов хелатных соединений микроэлементов и растворов неорганических солей.

3. Сравнить динамику повышения содержания микроэлементов в крови, получаемом мясе при использовании хелатных соединений микроэлементов и растворов неорганических солей.

4. Оценить органолептические и физико-химические показатели мяса телят и козлят и их биологическую ценность.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы представлены на следующих конференциях (мероприятиях): Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука - сельскохозяйственному производству» (Ижевск, 2019 г.); Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 80-летию профессора Н.Н. Новых (Ижевск, 2019 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная 20-летию факультета ветеринарной медицины Ижевской ГСХА (Ижевск, 2020 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная 70-летию ректора Ижевской ГСХА профессора А.И. Любимова (Ижевск, 2020 г.); Национальная научно-практическая конференция молодых ученых «Интеграционные взаимодействия молодых ученых в развитии аграрной науки» (Ижевск, 2020 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная году науки и технологии в России (Ижевск, 2021г.); Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 70-летию доктора ветеринарных наук, профессора Геннадия Николаевича Бурдова и 60-летию доктора ветеринарных наук, профессора Юрия Гавриловича Крысенко (Ижевск, 2021 г.); Всероссийский конкурс на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства РФ по Приволжскому федеральному округу. (II этап) ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана» (Казань, 2020 г.); Всероссийский конкурс на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых

высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства РФ по Приволжскому федеральному округу. (II этап) «Вятский государственный агротехнологический университет» 2021 г., (диплом 3 степени); Всероссийский конкурс на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных вузов РФ по направлению «Биологические науки» в дистанционной форме. (III этап) «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина» 2021 г.

Внедрение результатов научных исследований. Результаты исследований внедрены в работу животноводческого хозяйства: АО «Путь Ильича», а также в работу предприятий (организаций) химической промышленности: ООО «Приволжская химия», ООО «Производственная компания Ижсинтез - Химпром», ООО «Торговый дом Ижсинтез – Химпром», ООО «Камский Агронаб» (г. Ижевск). Теоретические положения внедрены в учебный процесс факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия».

Достоверность полученных результатов. Данные представлены в виде средней арифметической величины (M) и среднего квадратического отклонения (σ). Оценку достоверности различий двух совокупностей проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Личный вклад автора в выполнении научной работы. Самостоятельно выполнялось приготовление растворов комплексных соединений и оценка их стабильности при разных значениях pH, проведение всех экспериментов на лабораторных и сельскохозяйственных животных, часть лабораторных исследований (кроме проводимых в специализированных лабораториях), обработка полученных результатов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 3 в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 1 статья в журнале, индексируемом Scopus, 9 статей и тезисов в других изданиях, а также 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 166 страницах печатного текста, включает 41 таблицу и 34 рисунка и содержит разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение». Список цитируемой литературы включает 201 источник (159 отечественных и 42 зарубежных).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в 2018 – 2021 г. в ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА на кафедрах «Ветеринарно-санитарной экспертизы и радиобиологии» и «Анатомии и физиологии».

Исследования на сельскохозяйственных животных проведены в хозяйствах, благополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям.

Животные, использованные в эксперименте: 190 нелинейных белых мышей массой $28 \pm 2,5$ г; 70 нелинейных лабораторных белых крыс (самцов), массой 120 ± 10 г.; 40 козлятах (самцов) зааненской породы, в возрасте 3 месяцев, массой 12 ± 1 кг, а также 30 одномесячных телятах холмогорской голштиinizированной породы, массой 44 ± 2 кг.

Методы лабораторных исследований. Гематологические исследования выполнялись с помощью анализатора Mindray BC-2800Vet, а биохимические исследования крови – с использованием анализатора «STAT FAX 1904+». Зоогигиенические параметры выполнялись по общепринятым методикам. Определение содержания микроэлементов в крови, кормах, питьевой воде и мясе выполнялось атомно-адсорбционным и фотометрическими методами в аттестованных лабораториях.

Убой козлят и телят, а также ветеринарно-санитарная экспертиза туш и внутренних органов выполнялась в соответствии с существующими нормативными требованиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка кормовой добавки

Была использована концепция отдельного введения соединений микроэлементов в организм животных по схеме, позволяющей свести к минимуму проявления антагонизма и повысить эффективность использования кормовой добавки.

Разработанная многокомпонентная жидкая кормовая добавка, состояла из 5 растворов, каждый из которых содержал смесь хелатных комплексных соединения одного из металлов- микроэлементов (Fe, Cu, Zn, Mn или Co) с глицерином, молочной кислотой, сахарозой и фруктозой. Растворы давались животным по отдельности с интервалом в 1 сутки.

Растворы хелатных соединений были получены путем добавления к раствору неорганической соли металла-микроэлемента глицерина, молочной кислоты, сахарозы и фруктозы в расчетных количествах. Величину pH растворов доводили до необходимых значений добавлением NaOH.

Данные вещества обратимо реагировали друг с другом с образованием комплексных соединений. В растворе устанавливалось динамическое химическое равновесие. В результате получалась система, позволяющая поддерживать ионы (атомы) металла в хелатированном состоянии при широком диапазоне значений pH. Если при изменении pH одно соединение разлагалось, то сразу же происходило образование нового.

Использование такого решения при создании кормовых добавок представляется перспективным, поскольку в разных отделах ЖКТ животных рН сильно различается.

Исследования на лабораторных животных

Оценка местного раздражающего действия растворов (с концентрациями, планируемыми к дальнейшему использованию) осуществлялась в экспериментах на лабораторных мышах. Оценивалось воздействие растворов CoSO_4 , MnSO_4 , CuSO_4 , FeCl_3 , ZnSO_4 и смеси данных солей, а также растворов хелатных комплексных соединений Cu , Zn , Mn , Co , Fe . Растворы хелатных соединений микроэлементов не вызывали местного раздражающего действия, а у растворов CoSO_4 , MnSO_4 , CuSO_4 , ZnSO_4 оно было слабым и более выраженным у FeCl_3 . Такие же растворы в дальнейшем перорально давались сельскохозяйственным животным. Раздражения слизистой оболочки рта у них при этом не обнаруживалось.

Оценка общего токсического действия данных растворов также выполнялась в опытах на мышах. Кормление и содержание лабораторных животных соответствовали общепринятым требованиям. Растворы давались им перорально (по 50 мкл) при той же дозировке микроэлементов (мг/кг массы тела) и по тем же схемам, что и в дальнейшем - сельскохозяйственным животным. Мыши были разделены на 7 групп по 10 особей в каждой. Обозначенные группы мышей № 1-4 использовались для моделирования эксперимента на козлятах, а № 5, 6 и 7 – опыта на телятах.

1-я группа мышей в течение 5 дней получала последовательно (с интервалом в один день) растворы хелатных комплексных соединений микроэлементов. Каждый раствор давался однократно. Каждая мышь при этом получила 0,119 мг Cu ; 0,525 мг Mn ; 0,0055 мг Co ; 0,467 мг Zn ; 0,583 мг Fe .

2-я группа мышей по точно такой же схеме получала растворы CuSO_4 , MnSO_4 , CoSO_4 , ZnSO_4 , FeCl_3 с такой же дозировкой по содержанию микроэлементов.

3-я группа мышей в течение 5 дней получала раствор, содержащий CuSO_4 , MnSO_4 , CoSO_4 , ZnSO_4 , FeCl_3 . При этом концентрация каждой из солей была в 5 раз меньше, чем в растворах, даваемых животным 2-й группы. Но общая доза каждого из микроэлементов, полученная за 5 дней, была такой же, как и во 2-й группе.

4-я (контрольная) группа мышей 5 дней получала дистиллированную воду.

5-я группа мышей в течение 30 дней получала отдельно (с интервалом в 1 сутки) растворы хелатных комплексных соединений. Каждый курс введения соединений 5 микроэлементов занимал 5 дней. В течение 30 дней было выполнено 6 таких курсов введения. Каждая мышь за 1 курс введения получила 0,0254 мг Cu ; 0,1495 мг Mn ; 0,0022 мг

Co; 0,168 мг Zn; 0,191 мг Fe, а за 6 курсов 0,152 мг Cu; 0,897 мг Mn; 0,0132 мг Co; 1,008 мг Zn; 1,146 мг Fe.

6-я группа получала растворы CuSO₄, MnSO₄, CoSO₄, ZnSO₄ и FeCl₃. по точно такой же схеме и в тех же дозировках (по содержанию микроэлементов), что и 5-я группа.

7-я (контрольная) группа мышей 30 дней получала дистиллированную воду. Мыши выводились из эксперимента путём декапитации (группы №1-4 на 6 день, а группы № 5- 7 на 31 день). При патологоанатомическом исследовании у мышей 1-й и 5-й групп, а также 4-й и 7-й (контрольных) групп изменений внутренних органов не выявлено.

Таким образом, растворы хелатных комплексных соединений в исследованных дозировках не оказали заметного токсического влияния. У мышей 2-й, 3-й и 6-й групп отмечены патологические изменения кишечника, желудка, желчного пузыря, печени, почек, селезенки, которые могут свидетельствовать о токсическом влиянии растворов CuSO₄, MnSO₄, CoSO₄, ZnSO₄ и FeCl₃.

Исследования на козлятах

Исследования были проведены в зимне-весенний период на 40 козлятах (самцах) зааненской породы возрастом 3 месяца и живой массой 12±1 кг. Козлята были разделены на 4 группы по 10 голов в каждой. Параметры микроклимата и условия содержания козлят соответствовали зоогигиеническим требованиям.

1-я группа козлят в течение 5 дней перорально (по 5 мл) получала растворы хелатных комплексных соединений. Дозировка по содержанию микроэлементов была следующей: Cu 51 мг; Fe 250 мг, Zn 200 мг, Co 2,3 мг, Mn 225 мг. Раствор комплексных соединений каждого из микроэлементов давался 1 раз. Введение раствора комплексных соединений каждого следующего микроэлемента осуществлялось через 1 сутки после введения предыдущего.

2-я группа козлят по точно такой же схеме получала растворы (5 мл) CuSO₄, MnSO₄, CoSO₄, ZnSO₄, FeCl₃ в тех же дозировках по содержанию микроэлементов.

3-я группа козлят в течение 5 дней получала свежеприготовленный раствор (5 мл), содержащий CuSO₄, MnSO₄, CoSO₄, ZnSO₄, FeCl₃. Дозировка по содержанию микроэлементов была следующей: Cu 10,2 мг; Fe 50 мг, Zn 40 мг, Co 0,46 мг, Mn 45 мг.

Таким образом, разовая дозировка по каждому из микроэлементов была в 5 раз меньше, чем в 1-й и 2-й группах. Но общая доза, полученная за 5 введений, была такой же.

4-й (контрольной) группе в течение 5 дней давали по 5 мл дистиллированной воды. Доза каждого из микроэлементов, полученных козлятами 1-й, 2-й и 3-й групп (независимо от схемы введения) в течение 5 дней соответствовала рекомендуемой (А.П. Калашников и

др., 2003).

После завершения введения растворов осуществлялось наблюдение за состоянием животных. Взятие крови для проведения гематологического и биохимического исследования выполнялось до начала эксперимента (0 день), а также на 6, 13, 20 и 27 день.

В ходе исследования было определено содержание меди, цинка, кобальта и железа в крови козлят (рис. 1).

До начала эксперимента (0 день) содержание железа и цинка было ниже нормы, содержание меди и кобальта соответствует норме, но приближается к ее нижней границе. (Нормой считалось следующее содержание микроэлементов: Zn 100-200 мкг%, Cu 80-120 мкг%, Fe 17,9-35,8 мкмоль/л, Co 3,0-5,0 мкг%).

В образцах крови, взятых на следующий день после завершения введения растворов (6 день эксперимента) в опытных группах отмечено достоверное повышение содержания меди ($p < 0,01$ в 1-й группе и $p < 0,05$ во 2-й группе), Co, Fe и Zn ($p < 0,01$ в 1-й, 2-й и 3-й группах).

Далее содержание микроэлементов постепенно снижалась. К 20 дню достоверно более высоким по сравнению с контролем оставалось содержание Zn и Fe у животных всех опытных групп ($p < 0,01$) и Cu у козлят 1-й группы ($p < 0,05$), а к 27 дню только содержание Fe ($p < 0,05$), Cu ($p < 0,01$) и Zn ($p < 0,01$) в 1 группе, и Zn ($p < 0,01$) во 2-й группе.

У животных опытных групп содержание кобальта было достоверно выше, чем в контроле только в образцах крови, взятых на 6-й и 13-й дни исследования ($p < 0,01$).

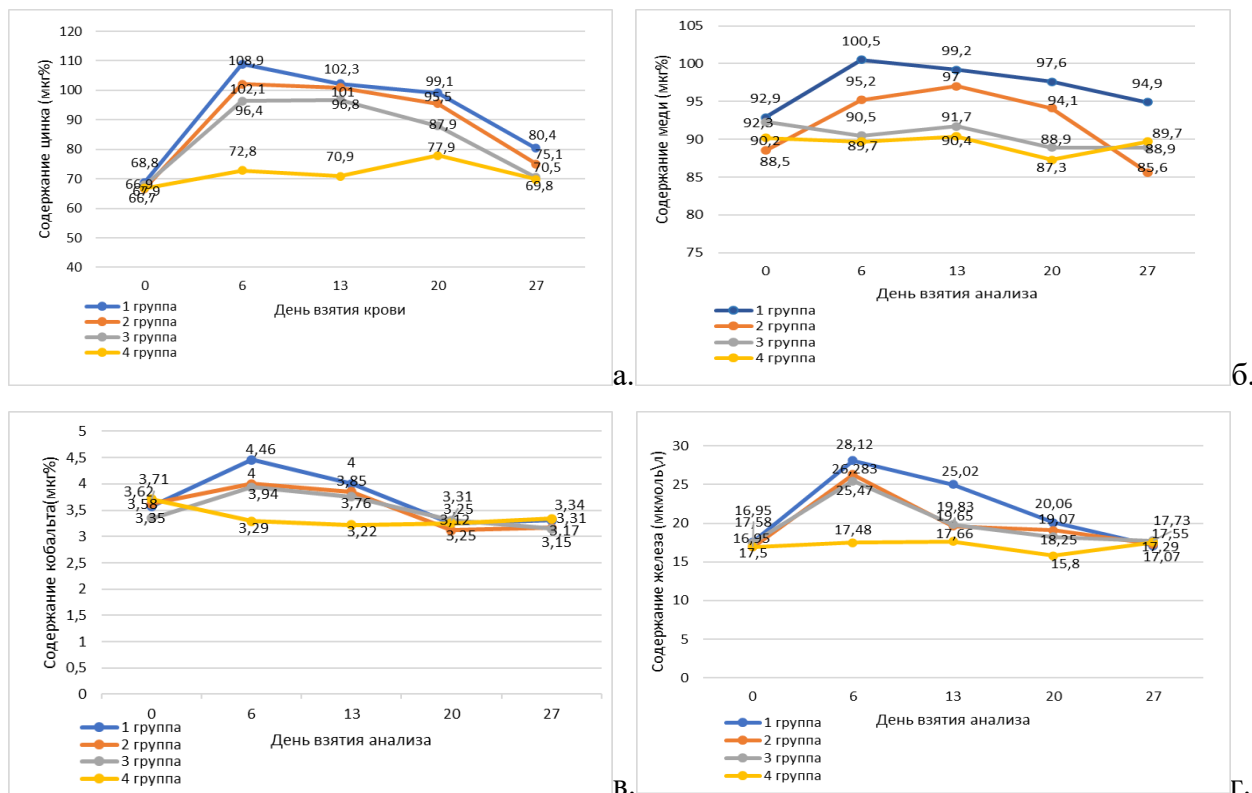


Рис. 1. Динамика изменения содержания а) цинка; б) меди; в) кобальта; г) железа в крови козлят в ходе проведения эксперимента.

Таким образом, повышение содержания микроэлементов в крови являлось наиболее выраженным у животных 1-й группы, получавших хелатные комплексные соединения.

В крови животных 2-й группы оно оказалось несколько выше по сравнению с 3-й группой. Это можно объяснить, их лучшим усвоением из-за снижения антагонистического влияния при раздельном введении растворов неорганических солей.

Такие показатели, как активность АСТ и АЛТ, концентрация мочевины, креатинина и общего белка в опытных группах не имели достоверных различий по сравнению с контролем ($p > 0,05$).

До введения растворов (в 0 день) у животных всех четырех групп содержание эритроцитов соответствовало норме, а содержание гемоглобина приближалось к ее нижней границе. (Нормальным считалось содержание эритроцитов $8-18 \cdot 10^{12}/л$, а гемоглобина 80-120 г/л).

После введения соединений микроэлементов у козлят 1-й группы отмечено достоверное повышение (по сравнению с контролем) содержания эритроцитов в пробах крови взятых на 13-й ($p < 0,01$), 20-й ($p < 0,05$) и 27-й ($p < 0,01$) дни, а также гемоглобина в пробах крови взятых на 6-й ($p < 0,05$), 13-й ($p < 0,01$), 20-й и 27-й ($p < 0,01$) дни. У животных 2-й и 3-й групп различия данных показателей не имели достоверных различий по сравнению с 4-й (контрольной) группой ($p > 0,05$).

Полученные результаты (рис. 2) свидетельствуют об усилении интенсивности эритропоэза у животных 1-й группы.

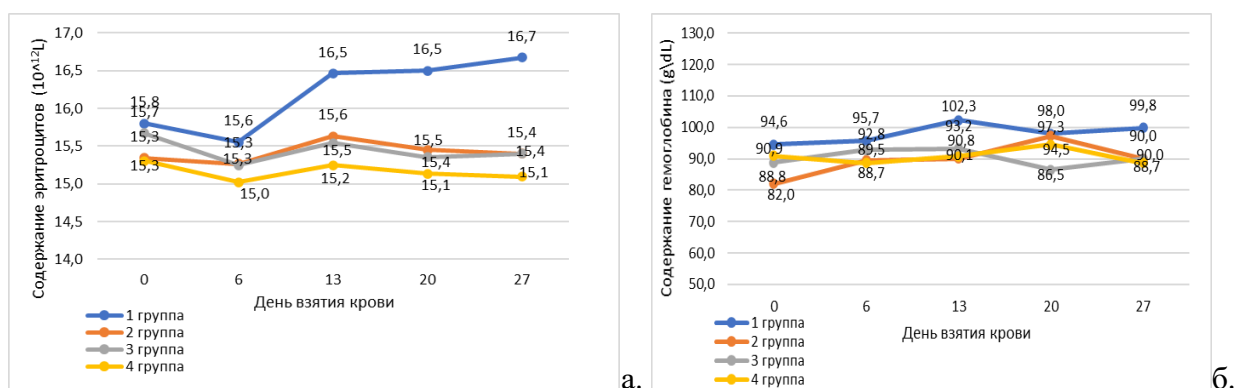


Рис. 2. Изменение содержания эритроцитов (а) и гемоглобина (б) в крови козлят в ходе исследования.

До начала исследования и в ходе его выполнения общее содержание лейкоцитов, а также содержание лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов не выходило за пределы нормы.

В ходе эксперимента достоверных различий данных показателей у опытных и контрольной групп не отмечалось ($p > 0,05$).

Также оценивалось общее состояние козлят. До начала исследования у козлят наблюдались снижение двигательной активности, слабость, взъерошенный и тусклый волосяной покров, очаги аллопеции, уменьшение эластичности кожи, снижение и извращение аппетита. У некоторых животных периодически наблюдалась диарея. Данные признаки характерны для недостатка микроэлементов:

В последующем состояние животных опытных групп улучшилось. Наиболее выраженной положительная динамика была в 1-й группе. Во 2-й и 3-й группах изменения происходили медленнее, а у животных 4-й (контрольной) группы их не отмечалось.

Оценивалась масса козлят и её среднесуточный прирост (табл. 1).

Таблица 1– Масса козлят (кг) и её среднесуточный прирост.

Дни исследования	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
до исследования (0 день)	12,1±0,3	11,7±0,3	11,8±0,2	12,0±0,2
6 день	12,6±0,2**	12,0±0,3	12,3±0,2	12,2±0,3
13 день	13,5±0,3**	12,6±0,3	12,9±0,2*	12,5±0,2
20 день	14,2±0,2**	13,3±0,2**	13,2±0,1**	12,9±0,1
27 день	15,1±0,2**	14,2±0,2**	13,9±0,1**	13,2±0,1
Среднесуточный прирост (кг)	0,115	0,096	0,080	0,046

Примечание. Достоверность различий по сравнению с контролем * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$).

У животных 1-й группы прирост массы (общий и среднесуточный) был наиболее высоким, а у 4-й (контрольной) группы- самым низким. У козлят 2-й группы он был выше, чем у 3-й, но ниже, чем у 1-й.

После завершения основной части исследования (на 28 день) был осуществлен убой всех козлят (достигших 4-х месячного возраста) и выполнена ветеринарно-санитарная экспертиза туш и внутренних органов. Показатели мясной продуктивности козлят представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели мясной продуктивности козлят.

Показатели	Группы животных			
	1 группа	2 группа	3-я группа	4-я группа (контрольная)
Абсолютный прирост, кг	3,0±0,2**	2,5±0,4**	2,1±0,2**	1,2±0,1
Предубойная масса, кг	14,8±0,3**	13,8±0,5**	13,5±0,5*	13,0±0,4
Убойная масса, кг	6,8±0,3**	6,3±0,3**	5,9±0,3**	5,4±0,4
Убойный выход, %	45	45	43	41
Категория туш	1	2	2	2
Показатели упитанности туши	соответствуют ГОСТ 31777-2012			
Органолептические показатели	соответствуют ГОСТ 7269-2015			

Биохимические показатели	соответствуют нормативным требованиям			
Масса субпродуктов (общая), г	740±7,4**	691±11,6**	720±10,2**	647±11,6
Сердце, г	100±3,4*	95±3	97±4,1	97±3,3
Лёгкие, г	240±6,8**	200±4,6**	220±8,1**	190±5,2
Печень, г	350±7,2**	345±5,8**	340±5,4**	310±8,9
Почки, г	50±3,9	51±3,4	45±3,8*	50±3,9

*Примечание. Достоверность различий по сравнению с контролем * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$).*

По данным органолептического, микроскопического, физико-химического и микробиологического исследования, мясо козлят всех четырёх групп являлось свежим и доброкачественным.

В средних пробах (образцах, содержащих равномерно перемешанное мясо всех животных группы) было определено содержание микроэлементов. Результаты представлены в таблице 3.

В мясе козлят 1-й группы содержание микроэлементов было наибольшим, а в мясе козлят 4-й (контрольной) группы - наименьшим.

Таблица 3 – Содержание микроэлементов в мясе козлят.

Микроэлемент	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
Кобальт (мг/кг)	0,20	0,12	0,035	0,010
Железо (мг/кг)	17,7	17,66	15,85	15,8
Цинк (мг/кг)	31,75	29,1	27,25	20,31
Медь (мг/кг)	1,18	0,88	0,84	0,83
Марганец (мг/кг)	2,25	<0,010	<0,010	<0,010

В эксперименте на лабораторных крысах была проведена биологическая проба мяса козлят. Четырем группам крыс (по 10 животных) в течение 28 дней вволю скормливалось мясо вышеуказанных 4 групп козлят. В конце опыта привес у крыс, получавших мясо козлят 1-й группы, составил 130 г; 2-й группы - 113 г; 3-й группы - 106,3 г; 4-й группы - 76 г. Таким образом, мясо козлят 1-й группы (получавших хелатные соединения металлов-микроэлементов) имело наибольшую биологическую ценность. Полученные результаты можно объяснить неодинаковым содержанием микроэлементов в мясе козлят указанных групп (табл. 3).

Исследования на телятах

Исследования были проведены в зимне-весенний период на 30 одномесячных телятах, разделенных на 3 группы по 10 голов. Телята испытывали дефицит микроэлементов, подтвержденный результатами клинических и лабораторных

исследований. Параметры микроклимата и условия содержания телят соответствовали зоогигиеническим требованиям.

1-я группа телят перорально получала водные растворы (по 15 мл) хелатных комплексных соединений Cu, Zn, Fe, Co, Mn. При этом соединения разных микроэлементов давались по отдельности с интервалом в 1 сутки (т.е. один курс введения соединений 5 микроэлементов занимал 5 дней). За 30 дней было выполнено 6 таких циклов введения. Дозировка микроэлементов на 1 введение составляла: Fe 300 мг; Cu 40 мг; Zn 265 мг; Mn 235 мг; Co 3,5 мг.

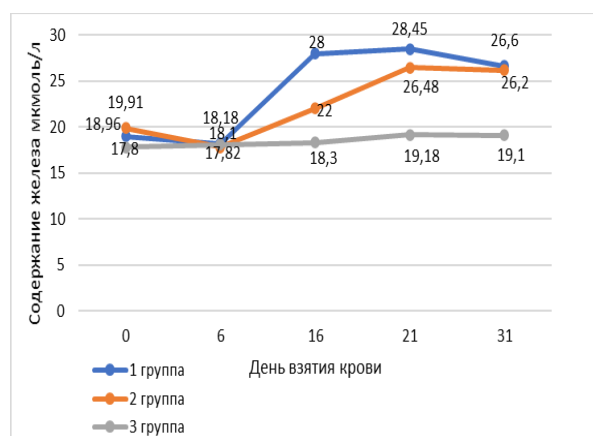
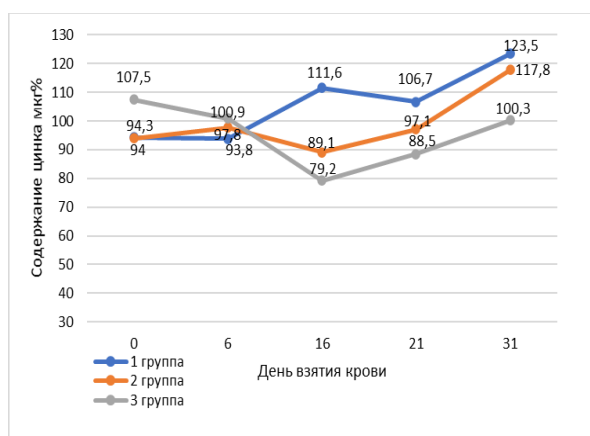
2-я группа получала растворы CoSO_4 , ZnSO_4 , MnSO_4 , CuSO_4 , FeCl_3 по такой же схеме и в тех же дозировках по содержанию микроэлементов.

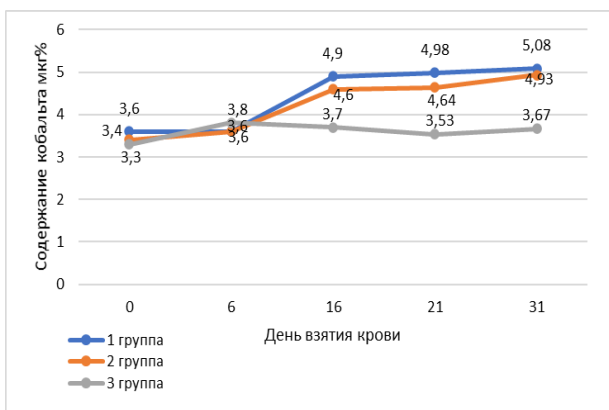
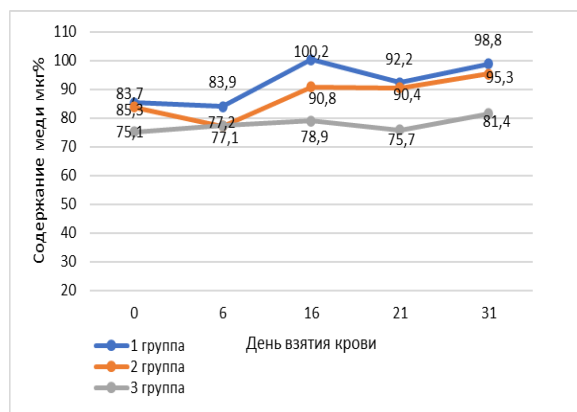
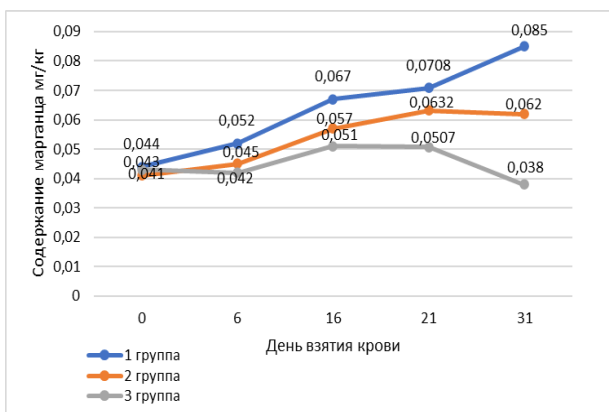
3-я (контрольная) группа каждый день получала дистиллированную воду

Взятие крови для проведения биохимических и гематологических исследований осуществлялось до начала эксперимента (0 день), а также на 6-й, 16-й, 21-й и 31-й дни его выполнения.

До начала введения растворов (в 0 день) у животных всех трех групп содержание Zn и Mn в крови было ниже нормы, а содержание Cu, Fe и Co приближалось к нижней ее границе (рис. 3). (Нормальным считалось следующее содержание микроэлементов: Zn 100-150 мкг%, Cu 80-120 мкг%, Fe 17,9-35,8 мкмоль/л; Co 3,0-5,0 мкг%; Mn 0,15-0,25 мг/кг).

В ходе исследования отмечено повышение содержания микроэлементов в крови телят по сравнению с контролем. Данные изменения стали достоверными к 16 дню эксперимента: в 1-й группе ($p < 0,01$ для Zn, Cu, Fe, Co и $p < 0,05$ для Mn); во 2-й группе ($p < 0,05$ для Zn, Cu, Fe, Co). Более высоким содержание микроэлементов в крови телят опытных групп было и в последующие дни эксперимента. При этом у телят 1-й группы данные изменения были более выраженными, чем у 2-й. Необходимо отметить, что содержание марганца в крови животных 1-й и 2-й групп увеличилось по сравнению с контролем, но так и не достигло нормальных значений к концу эксперимента.





В.

Г.

Д.

Рис. 3. Изменение содержания микроэлементов в крови телят в ходе исследования а) цинка; б) железа; в) марганца; г) меди; д) кобальта

До начала исследования (в 0 день) содержание мочевины и креатинина, а также активность АСТ и АЛТ соответствовали норме. Общий белок был снижен.

Было отмечено достоверное повышение содержания общего белка у животных 1-й ($p < 0,01$) и 2-й ($p < 0,05$) групп по сравнению с контролем в пробах крови, взятых на 16 день и далее. Причем у телят 1-й группы оно было более выраженным, чем у 2-й (рис. 4).

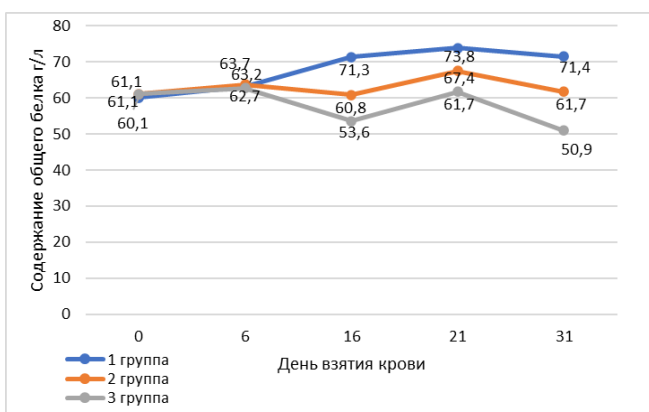


Рис. 4. Изменение содержания общего белка в крови телят в ходе исследования.

Такие показатели, как активность АСТ и АЛТ, содержание мочевины и креатинина за пределы нормы не выходили и достоверных различий у телят 1-й, 2-й и 3-й групп не имели. ($p > 0,05$).

До начала исследования (0 день) содержание эритроцитов в крови телят всех групп соответствовало норме, но содержание гемоглобина было сниженным. (Нормальным считались содержание эритроцитов $5-7,5 \cdot 10^{12}/л$, гемоглобина 90-120 г/л). В ходе эксперимента достоверного изменения содержания эритроцитов у животных 1-й и 2-й групп по сравнению с контролем не выявлено. Но отмечено достоверное повышение содержание гемоглобина ($p < 0,05$) (рис. 5).

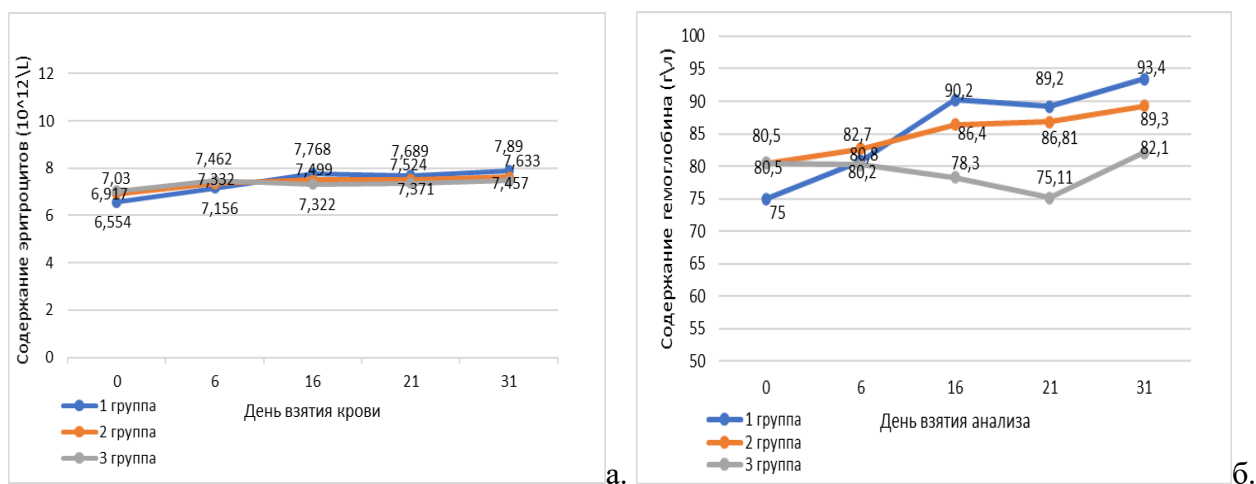


Рис. 5. Изменение содержание эритроцитов (а) и гемоглобина (б) в крови телят в ходе исследования.

В ходе эксперимента содержания лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов не выходило за пределы видовой нормы и не имело достоверных различий у телят опытных и контрольной групп ($p > 0,05$).

Выполнялась оценка общего состояния телят. У всех животных до начала исследования отмечалась периодическая диарея, сниженная двигательная активность, извращение аппетита. Волосяной покров был грубым и тусклым. Имелись зализы и большие участки аллопеции в области бедер. У некоторых телят отмечалось нарушение развития (короткие конечности), отставание в росте и наборе веса. Данные проявления характерны для гипомикроэлементозов.

В ходе эксперимента состояние животных опытных групп постепенно улучшилось. Более выраженной положительная динамика была в 1-й группе. У телят 3-й (контрольной) группы изменений не отмечено.

Также оценивалась масса телят и её среднесуточный прирост (табл. 4).

Таким образом, в конце эксперимента (на 31 день) живая масса телят 1-й и 2-й групп была выше по сравнению с контролем. Но различия оказались достоверными только для 1-й группы ($p < 0,01$). Среднесуточные привесы в 1-й группе также были наиболее высокими.

Таблица 4 – Живая масса телят и её среднесуточный прирост.

Дни исследования	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До начала исследования	43,72±2,5	44,04±4,9	44,44±3
6 день	46,42±2,6	46,54±4,06	46,7±2,6
16 день	52,09±2,9	49,54±4,1	50,54±3
21 день	55,09±2,2	54,22±4,6	54,94±2,6
31 день	61,84±5,6**	60,49±8,6	57,80±4,4
Среднесуточный прирост, г	571	518	420

Примечание. Достоверность различий по сравнению с контролем * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$).

После завершения основной части исследования был осуществлен убой телят. В связи с ценностью животных, убою подвергались не все телята, а только по 3 из каждой группы.

Была выполнена оценка мясной продуктивности, а также ветеринарно-санитарная экспертиза туш и внутренних органов. В таблице 5 приводятся показатели мясной продуктивности телят.

Таблица 5 – Показатели мясной продуктивности телят.

Показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Абсолютный прирост, кг	17,7±1,3	16,08±0,2	13,04±0,2
Предубойная масса, кг	61,44±1,4	60,12±0,9	57,48±1,5
Убойная масса, кг	30,9±1,1	29,9±1,2	27,9±0,5
Убойный выход, %	50,2	49,7	48,6
Категория туш	первая	первая	вторая

После созревания мяса (через сутки после убоя) была выполнена его ветеринарно-санитарная экспертиза. По результатам органолептического, микроскопического, микробиологического и физико-химического исследования мясо животных всех трех групп являлось свежим и доброкачественным.

В мясе телят оценивалось содержание белка, жира и влаги. Было определено содержание микроэлементов в средних пробах (равномерно перемешанном мясе телят каждой группы). Наилучшие показатели имело мясо телят 1-й группы (табл. 6).

Таблица 6 – Результаты биохимических исследований мяса телят.

Показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Содержание кобальта (мг/кг)	0,185	0,135	0,02
Содержание железа (мг/кг)	17,63	16,60	15,85
Содержание цинка (мг/кг)	27,10	26,20	23,40
Содержание меди (мг/кг)	0,91	0,88	0,80
Содержание марганца (мг/кг)	0,010	0,005	0,005

Продолжение таблицы 6.

Содержание белка (%)	22,34 ±1,79	22,2 ±1,70	20,1 ±1,6
Содержание жира (%)	0,7 ±0,1	0,7 ±0,1	0,6 ±0,1
Содержание влаги (%)	72,0 ±5,8	71,2 ±4,3	73,2 ±5,4

Биологическая проба мяса телят оценивалась в экспериментах на крысах (3 группы по 10 самцов) возрастом 1 месяц. Крысы 1-й, 2-й и 3-й групп в течение 28 дней вволю получали мясо телят из групп с такими же номерами. Масса тела крыс увеличивалась равномерно. В конце опыта привесы крыс составили 105 г в 1-й группе, 86,3 г во 2-й группе и 53,6 г в 3-й группе. Таким образом, мясо телят 1-й группы имело более высокую биологическую ценность по сравнению с мясом животных 2-й и 3-й групп.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование в качестве кормовой добавки предложенных растворов хелатных соединений обеспечило наилучший прирост массы и более выраженное улучшение общего состояния козлят и телят, повышение содержания микроэлементов в крови животных и их мясе по сравнению с применением растворов неорганических солей. Биологическая ценность мяса при этом также оказалась выше.

1. Полученные растворы хелатных соединений Cu, Zn, Co, Mn, Fe не проявляли общетоксического и местного раздражающего действия.

2. У козлят и телят, испытывавших дефицит микроэлементов, нормализация общего состояния и биохимических показателей при использовании растворов хелатных соединений происходила быстрее, чем при использовании растворов неорганических солей.

3. При использовании предложенных растворов хелатных соединений микроэлементов козлята и телята имели более высокий прирост массы на 6,3% и 2,2%, массу туш на 7,9% и 3,4% соответственно, чем при применении растворов неорганических солей.

4. Мясо животных получавших предложенные растворы хелатных соединений имело более высокое содержание микроэлементов (у козлят Zn на 9,1%, Cu на 34,4% и у телят Co на 37%, Zn на 3,4%, Cu на 3,3%, Fe на 6,2%), чем у животных, получавших растворы неорганических солей по такой же схеме.

5. Введение в рацион телят и козлят хелатных соединений Cu, Zn, Mn, Co, Fe не оказало отрицательного влияния на органолептические, физико-химические, микробиологические показатели мяса.

6. Использование телятам хелатных соединений в течение 30 дней обеспечивает дополнительную прибыль 264,26 руб. с одной туши.

Таким образом, показана эффективность использования данных растворов хелатных соединений в качестве кормовой добавки по предложенной схеме.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработанные жидкие кормовые добавки целесообразно производить в виде водных растворов с высокой концентрацией веществ. Это существенно снижает себестоимость продукции и расходы, связанные с хранением и транспортировкой.
2. Разработанные кормовые добавки могут применяться как с использованием автоматических систем поения животных, так и без их применения. В последнем случае они смешиваются с водой для выпаивания, либо разводятся водой и смешиваются с кормом в кормосмесителе, а также индивидуально. Возможно орошение корма разбавленными водой растворами на кормовом столе.
3. Является целесообразным использование предложенной схемы раздельного введения соединений разных микроэлементов.
4. С учетом содержания микроэлементов в кормах, применяемых в том или ином животноводческом хозяйстве, могут использоваться не все, а лишь некоторые из предложенных растворов хелатных комплексных соединений. Это позволит исключить риск передозировки и снизить расходы.
5. Необходима корректировка дозировки вводимых соединений металлов- микроэлементов с учетом особенностей каждого конкретного животноводческого хозяйства. Для этого необходимо периодически определять содержание микроэлементов в крови, по крайней мере, у части животных.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие исследования могут осуществляться по следующим направлениям.

1. Создание новых кормовых добавок, содержащих комплексные соединения не только Fe, Cu, Zn, Mn, Co, но и других металлов-микроэлементов, а также легко усвояемые соединения микроэлементов-неметаллов (например, I, Se) и другие компоненты (в т.ч. антиоксиданты, витамины, витаминоподобные вещества и др.).
2. Дальнейшее совершенствование схем введения соединений микроэлементов (и других компонентов), сводящих к минимуму проявления антагонизма и использующих явление синергизма для достижения наибольшей эффективности.
3. Дальнейшее совершенствование разработки может быть связано с созданием наборов реагентов для получения растворов хелатных комплексных соединений непосредственно перед применением. Они должны обеспечить дополнительные

преимущества в плане простоты производства, снижения себестоимости и издержек при хранении и транспортировке.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рецензируемых ВАК

1. **Куликова М.С.** Оценка мясной продуктивности и качества мяса телят, получавших кормовые добавки на основе хелатных комплексных соединений и неорганических солей металлов-микроэлементов / М.С. Куликова, А.Н. Куликов, А.В. Шишкин, Е.А. Михеева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. Казань. – 2021. – Том 246 (II) – с. 117-121.
2. **Куликова М.С.** Влияние хелатных комплексных соединений некоторых металлов - микроэлементов и их неорганических солей на биохимические показатели телят / М.С. Куликова, А.В. Шишкин, А.Н. Куликов, Е.А. Михеева // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2021. – № 3 (59). – С. 43-49.
3. **Куликова М.С.** Содержание микроэлементов в крови телят, получавших кормовые добавки на основе их хелатных комплексных соединений и неорганических солей / М.С. Куликова, А.В. Шишкин, А.Н. Куликов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. Казань. – 2021. – Том 247 (III) – с. 108-112.

Статья в журнале, индексируемом Scopus

4. Berestov D.S. Influence of additive components with separate introduction of antagonistic components on gastrointestinal microorganization and microelements content in mouse blood serum / D.S. Berestov, M.S. Kulikova, I.S. Ivanov, Y.G. Krysenko, V.B. Milaev, E.V. Maksimova, S.Y. Smolentsev, Y.G. Vasilev. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences – 2020. – 11(3). – P. 4182-4186.

Статьи, опубликованные в других изданиях

5. **Куликова М.С.** Оценка показателей качества туш и мяса телят, получавших жидкие кормовые добавки, содержащие неорганические соли и хелатные комплексные соединения металлов-микроэлементов / М.С. Куликова, А.Н. Куликов, А.В. Шишкин, И.С. Иванов // В сборнике: Технологические тренды устойчивого функционирования и развития АПК. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной году науки и технологии в России. Ижевск. – 2021. – С. 125-128.
6. **Куликова М.С.** Сравнение токсичности растворов сульфатов меди и цинка и растворов различных хелатных комплексных соединений данных микроэлементов / М.С. Куликова, А.В. Шишкин, А.Н. Куликов, Е.А. Михеева, И.С. Иванов // В сборнике: Современная

ветеринарная наука: теория и практика. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 20-летию факультета ветеринарной медицины Ижевской ГСХА. Ижевск. – 2020. – С. 79-83.

7. **Куликова, М.С.** Изучение гематологических и биохимических показателей крови телят при коррекции гипомикроэлементозов с помощью минеральных солей и хелатных комплексов Fe, Mn, Co, Zn, Cu / М.С. Куликова, А.В. Шишкин, А.Н. Куликов, Ю.Г. Крысенко, И.С. Иванов // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 3 (56). – С. 44-49.

8. Куликов, А.Н. Получение хелатных комплексных соединений железа, меди, цинка, кобальта, марганца с глицином / А.Н. Куликов, А.В. Шишкин, Т.Р. Галлямова, **М.С. Куликова** // В сборнике: Интеграционные взаимодействия молодых ученых в развитии аграрной науки. Материалы Национальной научно-практической конференции молодых ученых. В 3 томах. – 2020. – С. 407-410.

9. Куликов А.Н. Изучение местно-раздражающего действия на кожу хелатных соединений Co, Fe, Cu, Zn, Mn с глицином и их неорганических солей / А.Н. Куликов, А.В. Шишкин, И.С. Иванов, **Куликова М.С.** // В сборнике: Аграрная наука - сельскохозяйственному производству материалы Международной научно-практической конференции: в 3 томах. Ижевская ГСХА – 2019. – С. 115-117.

10. Куликов, А.Н. Оценка некоторых биохимических и гематологических показателей телят при введении соединений Cu, Fe, Mn, Zn, Co по схеме, уменьшающей антагонистическое влияние данных микроэлементов / А.Н. Куликов, А.В. Шишкин, И.С. Иванов, **М.С. Куликова** // В сборнике: Актуальные вопросы зооветеринарной науки. материалы Всероссийской научно-практической конференции. – 2019. – С. 46-50.

11. Шишкин, А.В. Новый подход к созданию кормовых добавок на основе хелатных комплексных соединений металлов-микроэлементов /А.В. Шишкин, А.Н. Куликов, **М.С. Куликова**, Е.А. Михеева, Т.Р. Галлямова // В сборнике: Аграрное образование и наука - в развитии животноводства. Материалы международной научно-практической конференции. В 2-х томах. – 2020. – С. 228-230.

12. Шишкин, А.В. Разработка высокоэффективной жидкой кормовой добавки для сельскохозяйственных животных / А.В. Шишкин, А.Н. Куликов, Е.В. Куртеев, Е.А. Михеева, **М.С. Куликова** // В сборнике: Роль ветеринарной и зоотехнической науки на современном этапе развития животноводства. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 70-летию доктора ветеринарных наук, профессора Геннадия Николаевича Бурдова и 60-летию доктора ветеринарных наук, профессора Юрия Гавриловича Крысенко. Ижевск, 2021. С. 384-387

13. Шишкин, А.В. Проблемы, связанные с применением соединений металлов-микроэлементов в составе кормовых добавок, и возможные пути их решения / А.В. Шишкин, М.С. Куликова, А.Н. Куликов, Т.Р. Галлямова, И.С. Иванов // в сборнике: Интеграционные взаимодействия молодых ученых в развитии аграрной науки. Материалы национальной научно-практической конференции молодых ученых. в 3 томах. – 2020. – С. 448-452.

Патент на изобретение

Патент «Кормовая добавка на основе комплексного соединения металла с аминокислотой» РФ 2705297 С1 СПК А23К 20/142/ заявитель и патентообладатель А.Н. Куликов – 2018141897/10. – Опубликовано 06.11.2019. Шишкин А.В., Куликов А.Н. Овчинина Н.Г., Куликова М.С., Иванов И. С, – Бюл. № 31. – 2с.