

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 632.937.15

Г. В. БАРАЙЩУК
Л. И. ФРОЛОВА
М. Н. МОЛЧАНСКАЯ

Омский государственный
аграрный университет

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ ЗЕЛЁНЫХ ЧЕРЕНКОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ХВОЙНЫХ ПОРОД

Приведены результаты пятилетних опытов по укоренению зелёных черенков хвойных декоративных видов под действием экологически чистых препаратов. Показано увеличение выхода саженцев вследствие сиюменного развития грибных болезней и выпадения зелёных черенков благодаря защитному и стимулирующему действию биологических препаратов.

Кипарисовые (Cupressaceae) самое большое по числу родов и третье по числу видов семейство хвойных. Одной из ценностей этих растений является огромное количество эфирных масел, испаряющихся из листьев, которые очищают воздух от микробов. Кипарисовые – вечнозелёные долгоживущие (90 – 800 лет) кустарники и деревья. В зелёном строительстве городов Сибири используются туи и можжевельники. Поэтому выращивание посадочного материала этих декоративных растений востребовано и актуально.

В лесном хозяйстве основным является семенное размножение, однако для освоения в культуре ценных разновидностей и форм, зелёное черенкование может занять должное место. Сущность вегетативного размножения состоит в получении целого растения от его части, при этом потомство наследует все особенности и свойства материнского организма (Тарасенко, 1991). Основой вегетативного размножения растений является их естественная способность в процессе роста и развития образовывать (дифференцировать) ткани и органы. Физиологическая

сущность процессов регенерации при черенковании во многом определяется свойством полярности, которое присуще клеткам, тканям и органам растений. Оно заключается в способности черенков воспроизводить на морфологически нижнем конце корни, а на верхнем — элементы наземной части. Для укоренения черенков необходима высокая влажность, но при этом возникают условия для развития грибных болезней, что значительно уменьшает выход посадочного материала. Одним из вариантов решения данной проблемы может явиться использование биологических препаратов, обладающих защитными и стимулирующими свойствами.

Объекты и методика исследований

Объектами исследования являются: можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.) и можжевельник казацкий (*Juniperus sabina* L.), относящиеся к роду можжевельник (*Juniperus*), трибе можжевельниковые (*Junipereae*), подсемейству кипарисовые (*Cupressoidae*), семейству кипарисовые (*Cupressaceae*). Туя западная (*Thuja occidentalis* L.), относящаяся к роду (*Thuja*), трибе туевиковые (*Thujaeae*), подсемейству кипарисовые (*Cupressoidae*), семейству кипарисовые (*Cupressaceae*).

Черенкование проводилось ежегодно в конце июня. Посадку черенков производили в парники с размещением 5х5 см (400 шт./м²). Высаживали черенки на глубину 2,5 см, плотно обжимая субстрат вокруг черенка. В качестве субстрата, наносимого слоем 3...5 см на поверхность дерново-перегнойной почвы, использовали речной песок.

Общезвестно, что большой отход уже укоренившихся черенков наблюдается за счёт их загнивания в условиях высокой влажности. Наиболее вероятной причиной является накопление фитопатогенной микрофлоры в почвенных субстратах. Инфекционное полегание черенков чаще вызывается грибами родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Phoma* (Громовых, 2005). Одним из возможных вариантов усовершенствования технологии зелёного черенкования может явиться использование биологических препаратов, обладающих защитным и стимулирующим действием.

Изучалась эффективность применения следующих препаратов: препарат Планриз, вырабатывающийся на основе бактерий *Pseudomonas fluorescens*; препарат Росток, представляющий собой 1%-ный раствор гуминовых кислот, полученный из торфа; препарат Триходермин, созданный на основе почвенного гриба *Trichoderma lignorum*. В качестве химического эталона, подавляющего фитопатогенную микрофлору, использовали препарат Фундазол. В качестве стимулятора роста использовали рекомендуемую (4-индол-3-ил) масляную кислоту (Тарасенко, 1991). Контролем был опыт без обработки черенков препаратами.

Поскольку образование корней у хвойных пород процесс длительный и в основном каллус и корни образуются через 30–50 дней после посадки черенков (Тарасенко, 1991) в схему опыта было заложено трёх- или пятикратное применение препаратов через 15 дней. Создатели препарата Росток рекомендуют трёхкратное его применение (Грехова, 2005). Триходермин вносился двукратно через месяц согласно регламенту его применения «Списком разрешённых препаратов...».

Результаты опытов статистически обработаны как двухфакторный опыт методом дисперсионного

анализа (Доспехов, 1985) с помощью стандартных приложений программы Excel.

Результаты исследования

Практически все разновидности туи западной (*Thuja occidentalis* L.) удовлетворительно размножаются зелёными черенками. Укореняемость черенков можжевельников (*Juniperus* L.) сильно варьирует в зависимости от вида можжевельника и условий укоренения: от 8 до 44...100 % (Тарасенко, 1991). Одним из эффективных и экологически целесообразных путей повышения продуктивности лесных питомников является использование биологических препаратов (Громовых, 2005). Не использование данных препаратов приводит к тому, что питомники, призванные быть источником распространения здорового посадочного материала, зачастую сами заражены опасными болезнями, особенно фузариозом и альтернариозом, что является причиной гибели десятилетних лесных культур во многих лесхозах (Орловский, 2001).

Цель настоящей работы — изучить эффективность биологических препаратов при выращивании посадочного материала хвойных пород из зелёных черенков в сравнении с химическим препаратом Фундазол и стимулятором роста (4-индол-3-ил) масляной кислотой (ИМК), обработка которыми рекомендуется существующей технологией для повышения результатов укоренения.

В 2002 г. осенняя ревизия укоренения зелёных черенков хвойных пород достоверно установила увеличение процента укоренения в опытах с применением биологических препаратов по сравнению с контролем без их использования (рис. 1).

Полученные данные обработаны статистически. При дисперсионном анализе данных двухфакторного полевого опыта была установлена достоверность опыта 2002 года, как по фактору А (культуры хвойных), так и по фактору В (препараты). Самый высокий процент укоренения был у можжевельника казацкого. Укоренение в опытах с химическими эталонами достоверно превышал лишь опыт с пятикратным внесением препарата Росток.

Укоренение можжевельника обыкновенного в опытах с применением биологических препаратов достоверно превышало контроль без обработки, и то время как в опытах с применением химического препарата Фундазол и использованием стимулятора

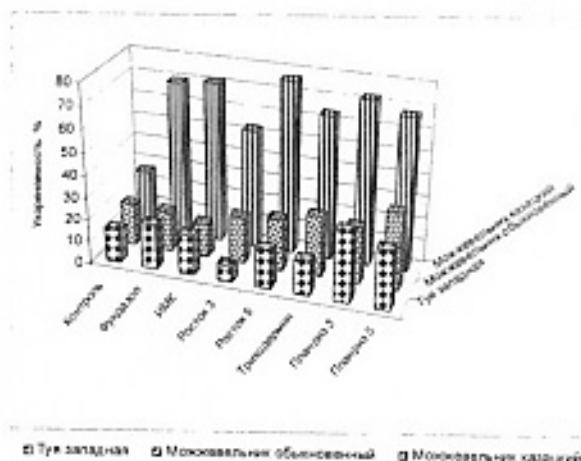


Рис. 1. Эффективность биологических препаратов при укоренении зелёных черенков хвойных пород в 2002 г.: $HSP_A = 3,79$ $HSP_B = 2,13$ $HSP_{AB} = 1,72$

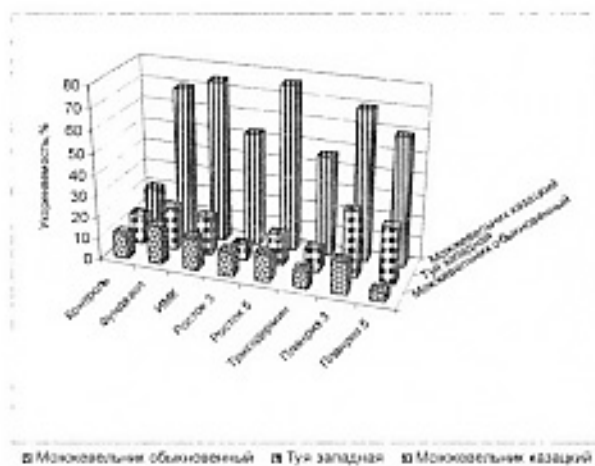


Рис. 2. Эффективность биологических препаратов при укоренении зелёных черенков хвойных пород в 2003 г.: $HSP_A = 2,33$ $HSP_B = 2,01$ $HSP_{AB} = 1,63$

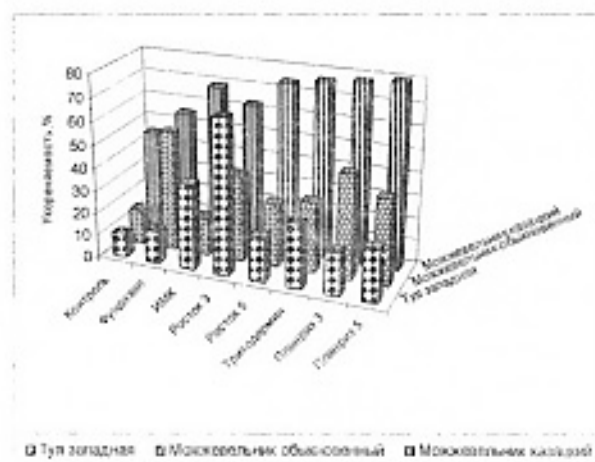


Рис. 3. Эффективность биологических препаратов при укоренении зелёных черенков хвойных пород в 2004 г.: $HSP_A = 2,5$ $HSP_B = 1,2$ $HSP_{AB} = 0,97$

роста ИМК процент укоренения был ниже контрольного (рис. 1).

Достоверно отличались по лучшему укоренению туи западной от контроля без обработки и опытов с применением Фундазола и ИМК только результаты опытов с трёх- и пятикратным внесением препарата Планриз (рис. 1). На уровне химических эталонов были результаты опытов с использованием препарата Триходермин и с пятикратным внесением препарата Росток.

В 2003 г. осенняя ревизия укоренения черенков зафиксировала увеличение процента укоренения в опытах с биологическими препаратами по сравнению с контролем без обработки. Дисперсионный анализ данных двухфакторного полевого опыта установил достоверность опыта 2003 года. Так же как и в 2002 г., опыт с пятикратным использованием препарата Росток достоверно показал увеличение укореняемости зелёных черенков в сравнении с опытами с применением ИМК и препарата Фундазол при укоренении можжевельника казацкого (рис. 2).

Достоверно лучшее укоренение туи западной было зарегистрировано в опытах с трёх- и пятикратным применением Планриза. Укоренение можжевельника обыкновенного в опытах с биологическими препаратами было достоверно ниже химических

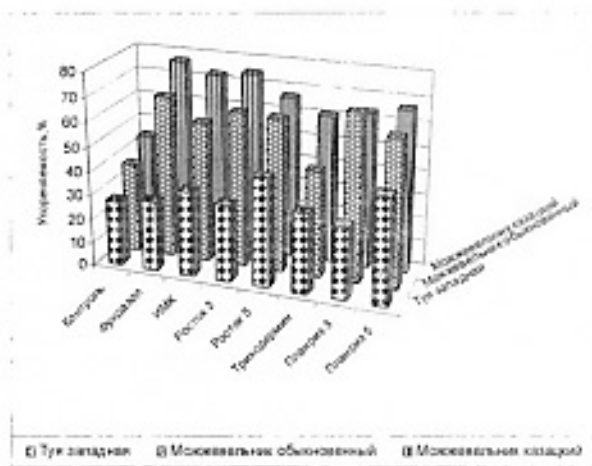


Рис. 4. Эффективность биологических препаратов при укоренении зелёных черенков хвойных пород в 2005 г.: $HSP_A = 2,29$ $HSP_B = 3,43$ $HSP_{AB} = 2,77$

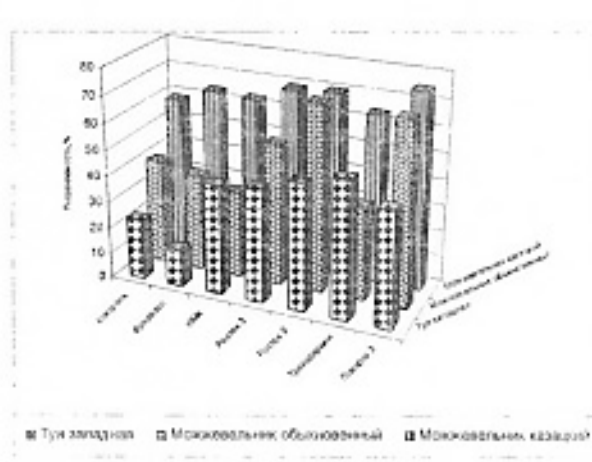


Рис. 5. Эффективность биологических препаратов при укоренении зелёных черенков хвойных пород в 2006 г.: $HSP_A = 1,92$ $HSP_B = 1,74$ $HSP_{AB} = 1,54$

эталонов. Возможно, это связано с неблагоприятными погодными условиями для этого вида можжевельника в самом начале укоренения — во второй и третьей декадах июля 2003 г. было 15,4-15,5°C при относительной влажности воздуха — 75%.

Осенняя ревизия 2004 г. зарегистрировала увеличение укоренения черенков в опытах с использованием биологических препаратов по сравнению с контролем без обработки. По можжевельнику казацкому в этом году получено достоверное превышение укореняемости во всех опытах с применением биологических препаратов по сравнению с контролем без обработки и эталонами: использование химического препарата Фундазол и стимулятора роста ИМК (рис. 3).

Процент укореняемости можжевельника обыкновенного в опытах с биологическими препаратами достоверно превышал контроль и эталон ИМК. Самое лучшее укоренение этой культуры в 2004 году было при использовании химического препарата Фундазол.

Повышенное укоренение туи западной в опытах с применением биологических препаратов достоверно отличалось от контроля без обработки и опыта с использованием препарата Фундазол. Самый большой выход укоренившихся черенков отмечен в

опыте с трёхкратным применением препарата Росток (рис. 3).

В 2005 году осенняя ревизия укоренения зелёных черенков позволила констатировать увеличение выхода укоренившихся черенков во всех опытах по сравнению с контролем без обработки (рис. 4).

При анализе средних значений процента укоренения очевидно, что опыт с применением стимулятора роста ИМК не существенно отличался от опыта с применением препарата Росток при укоренении можжевельника казацкого, т.е. действие препарата Росток в трёхкратном внесении аналогично действию индолилмасляной кислоты (ИМК) (рис. 4). Трёх- и пятикратное применение препарата Планриз при укоренении данной культуры также существенно не отличаются. При применении препарата Росток в трёх- и пятикратном внесении не получено существенной разницы при укоренении можжевельника обыкновенного.

При выращивании посадочного материала туи западной не получено достоверного преимущества использования химического препарата Фундазол. Не выявлено также существенной разницы между ИМК и трёхкратным применением Ростка, Планриза и Триходермина. Это свидетельствует, что эффективность биологических препаратов была на уровне химических эталонов и преимуществ последних не выявлено (рис. 4).

Осенняя ревизия укоренившихся зелёных черенков в 2006 г. зафиксировала увеличение процента укоренения в опытах с биологическими препаратами по сравнению с контролем без обработки (рис. 5).

Результаты дисперсионного анализа указывают на отсутствие достоверной разницы в укоренении можжевельника казацкого между трёх- и пятикратным применением препарата Росток, а также на отсутствие разницы в укоренении этой культуры между опытами с применением препаратов Фундазол, Триходермин и стимулятора роста ИМК. То есть эффективность Триходермина на уровне химических эталонов (рис. 5). По можжевельнику обыкновенному не получено достоверной разницы в укоренении между применением препаратов Фундазол и Триходермин, означающее, что укоренение в опыте с использованием Триходермина было на уровне химического эталона Фундазол, а в остальных опытах —

выше. В опыте с туей западной не обнаружено достоверной разницы в укоренении между использованием ИМК и трёхкратным применением Ростка и Планриза. То есть эффективность в этих опытах была на уровне ИМК, остальные — выше. Во всех опытах с применением биологических препаратов эффективность укоренения зелёных черенков хвойных пород была выше в сравнении с контролем без обработки (рис. 5).

В результате проведенных пятилетних экспериментов можно сделать следующие выводы:

1. Биологические препараты (Триходермин, Росток, Планриз) значительно улучшают результаты укоренения зелёных черенков хвойных пород: в среднем на 35-55% по сравнению с контролем.
2. Можжевельник казацкий является лучшей культурой по укореняемости.

Библиографический список

1. Грехова И.В. Тюменский гуминовый препарат /И.В. Грехова, И.Д. Комиссаров //Земледелие, №4, 2005. — С. 30-32.
2. Громоных Т.И. Биологический контроль болезней сеянцев хвойных в лесных питомниках Средней Сибири /Т.И. Громоных, Ю.А. Литовка, О.Н. Андреева — Красноярск: СибГТУ, 2005. — 264 с.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
4. Орловский С.Н. Оборудование для борьбы с вредителями и болезнями в лесных питомниках /С.Н. Орловский, Н.В. Кривец, А.Ю. Лобанов //Защита и карантин растений. — 2001. — № 10. — С. 42-43.
5. Тарасенко М.Т. Зелёное черенкование садовых и лесных культур /М.Т. Тарасенко. М.: Колос, 1991. — 269 с.

БАРАЙЩУК Галина Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой лесоводства и защиты растений.

ФРОЛОВА Людмила Ивановна, аспирант кафедры лесоводства и защиты растений.

МОЛЧАНСКАЯ Мария Николаевна, студентка 5-го курса специальности «Лесное хозяйство».

Статья поступила в редакцию 28.09.06 г.

© Барайщук Г. В., Фролова А. И., Молчанская М. И.

Книжная полка

Практикум по лесной энтомологии: учеб. пособие: Допущено Минобразованием России / Е. Г. Мозолевская, Н. К. Белова, Г. С. Лебедева и др.; Под ред. Е. Г. Мозолевской. — М.: Высш. шк., 2007. — 288 с.

В учебном пособии изложен порядок проведения лабораторных занятий по следующим темам: основные классы типа Членистоногие; внешнее и внутреннее строение насекомых; фазы и стадии развития насекомых; систематика насекомых; вредители древесных растений и насаждений; насекомые-энтомофаги. Даны методические указания к лабораторным занятиям и учебной практике по энтомологии, приведен указатель латинских названий.

Для студентов учреждений высшего профессионального образования.

Семенкова И. Г., Соколова Э. С. Фитопатология: учебник: Допущено Минобразованием России. — М.: Высш. шк., 2007. — 480 с.

В учебнике изложены основы биологии, экологии и систематики грибов и грибоподобных организмов, бактерий, вирусов, фитонематод и других возбудителей болезней растений. Дано описание болезней лесных и декоративных растений, вызываемых абиотическими факторами, инфекционных болезней семян и плодов древесных растений, цветочных культур и газонных трав. Рассмотрены методы защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении.

Для студентов учреждений высшего профессионального образования.

БАКТЕРИИ РОДА *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS* — АНТАГОНИСТЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРАЯ ГНИЛЬ *BOTRYTIS CINEREA*

Была выявлена способность штаммов бактерий рода *Pseudomonas* и *Bacillus* подавлять рост и развитие возбудителя серой гнили *Botrytis cinerea* *in vitro* при сосуществовании микроорганизмов на различных средах. Бактерия *P. fluorescens* Pf1543 в концентрации $3 \cdot 10^4$ колоний/мл, *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 в концентрации $3 \cdot 10^7$ колоний/мл ингибируют рост и развитие *B. cinerea* на агаризованной и жидкой средах при одновременной инокуляции патогеном и бактериями.

Введение

Botrytis cinerea — возбудитель серой гнили, имеющий огромный ареал распространения, который характеризуется высокой вирулентностью и способностью инфицировать более 200 видов растений [13], включая землянику садовую. При благоприятных для гриба условиях (повышенная относительная влажность воздуха, составляющая 70–80%, и температура в пределах от 5 до 30°C) у земляники, например, может погибнуть 50 и более процентов урожая [3, 4]. Важным резервом сохранения урожайности сельскохозяйственных культур, увеличения производства, а также повышения качества является защита от возбудителя серой гнили.

Одной из характеристик *B. cinerea* на землянике садовой является способность инфицировать растение на ранних стадиях роста и развития, сохраняя при этом латентную форму до момента созревания ягод, что затрудняет борьбу с ним [9]. Использование химических средств обеспечивает защиту культуры на начальных этапах применения и причина тому — появление резистентных штаммов *B. cinerea* к применяемым фунгицидам [6]. Более того, отмечено накопление средств химизации в зрелой продукции, что ухудшает пищевую ценность ягод и изменяет содержание микроэлементов. На фоне перечисленных негативных последствий от применения фунгицидов биологический контроль выступает многообещающей альтернативой.

Одним из методов биологической защиты растений от болезней является использование бактериальных препаратов, созданных на основе живых культур бактерий-антагонистов, среди которых осо-

бое внимание заслуживают представители родов *Pseudomonas* Migula 1894 и *Bacillus* Cohn [2].

Почвенная бактерия *Pseudomonas* на основании своих полезных свойств против фитопатогенов, включающих способность синтезировать вторичные метаболиты (антибиотики), хитиномитическая и целлюлолитическая активность, а также способность индуцировать системную резистентность растений против многообразия патогенных микроорганизмов [7], завоевала особое внимание. Явление антагонизма ко многим микромикетам свойственно также и для бактерий рода *Bacillus*, которое обеспечивается синтезом широкого спектра соединений антибиотической природы [5].

Цель эксперимента заключалась в выявлении способности различных штаммов бактерий *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas brassicacearum*, *Bacillus subtilis* подавлять рост и развитие гриба-возбудителя серой гнили *B. cinerea* в лабораторных условиях *in vitro* с целью их дальнейшей апробации в качестве биологических агентов в полевых условиях для защиты сельскохозяйственных культур от серой гнили.

Материалы и методы

B. cinerea

В опытах использовался штамм *B. cinerea* 63375. Чашки Петри размером 80 мм с картофелем — декстрозным агаром, содержащие мицелий *B. cinerea*, выращивались в термостате при температуре 23°C до момента образования обильного споронения. Сбор спор *B. cinerea* осуществлялся добавлением в чашку Петри 5 мл дистиллированной воды с содер-

жанием 0,05 % раствора Tween 80, по методике, использованной Сансоне и коллег [10]. Для этого 100 % раствор Tween 80 пропускать через фильтр диаметром 0,02 м (Minisart, Single use filter unit, SARTORIUS), разбавлялся дистиллированной водой для получения нужной концентрации. Собранные споры отделялись от мицелия при помощи сепаратора Sterile Cell Strainer "FALCON" (40 µm Nylon). Двукратным центрифугированием в течение 5 минут при 6000 об/мин был получен чистый спорный осадок, в который добавлялся очищенный через фильтр глюкозол с целью длительного хранения. В таком виде споры *B. cinerea* хранились в морозильной камере при -80°C в течение экспериментального периода. Для инокуляции концентрация спор в рабочем растворе доводилась до $3 \cdot 10^6$ спор/мл добавлением стерильной деонизированной воды. Количество спор в растворе определялось гемоцитометром.

Штаммы бактерий

Объектами лабораторных исследований являлись малоизученные штаммы *P. fluorescens* Pf1543, *P. brassicacearum* H12, *B. subtilis* SLU3, *B. subtilis* FDK21. Также в эксперимент были включены более изученные штаммы *P. fluorescens* A506 и CHA0, которые синтезируют антимикробные вещества, в частности антибиотик 2,4-Диацетилфлорглюцин. Более того, объектом исследований являлся *B. subtilis* штамм QST713, на основе которого производится препарат Серенадо, демонстрирующий эффективность против ряда фитопатогенов, включая *B. cinerea*. Отсутствие научных публикаций, отражающих результаты экспериментальных исследований взаимоотношений *B. subtilis* QST713 и *B. cinerea* [8], позволяло на желание включить данный штамм в работу по выявлению способности бактерий подавлять рост и развитие *B. cinerea*.

Для осуществления экспериментов бактерии переносились на агаризованную среду Standart I (Merck, Darmstadt, Germany) для чего 25 г среды Standart I смешивалось с 15 г агар агара (Agar Agar SERVA high-gel-strength). Компоненты среды разводились 1 л деонизированной воды и стерилизовались при температуре 120°C в течение 2 ч. При достижении температуры 60°C среда разливалась в чашки Петри размером 80 мм. После застывания среды агаризованные чашки Петри инокулировались бактерией, используя метод штрихов, и помещались в термостат, где выдерживались в течение 24 часов при температуре 27°C . Чашки Петри с инокулятом запаивались парафиновой лентой и в таком состоянии хранились в течение месяца в морозильной камере при температуре $+2^{\circ}\text{C}$. По истечении срока хранения инокулятом переносился на свежеприготовленную питательную среду Standart I, полученную методом, описанным выше.

Для приготовления рабочей бактериальной суспензии бактерии культивировались в жидкой среде Standart I на ротационном шейкере в течение 12 ч при температуре 27°C и 200 об/мин. Стерильные колбы объемом 100 мл заполнялись стерильной средой Standart I в объеме 20 мл. В колбы бактериальный инокулятом переносился лабораторной петлей из чашек Петри, хранившихся запаянными парафиновой лентой в холодильной камере.

После культивирования на ротационном шейкере культуральная жидкость, содержащая колонии бактерий, промывалась буферным раствором КР (pH 7,1), содержащим K_2HPO_4 (1,285 г/л) и KH_2PO_4 (0,595 г/л), путем центрифугирования. Для этого полученная

культуральная жидкость в объеме 20 мл переливалась в капроновые стерильные колбы и центрифугировалась для получения осадка, содержащего колонии бактерий. Процесс центрифугирования составлял 10 мин при 6000 об/мин. Полученный осадок разбавлялся буферным раствором КР в объеме 10 мл, основательно взбалтывался и процедура центрифугирования повторялась для финального промывания осадка. В полученный осадок добавлялось 5 мл буферного раствора.

Для подсчета колоний бактерий 1 мл раствора помещался в кювету и анализировался при 600 нм, используя спектрофотометер SPECORD 200. Полученная концентрация доводилась до желаемой. В варианте с применением бактерии рода *Pseudomonas* концентрация рабочей суспензии составляла $3 \cdot 10^6$ колоний/мл и $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, тогда как в варианте с применением бактерии рода *Bacillus* концентрация рабочей суспензии составляла $3 \cdot 10^7$ колоний/мл и $3 \cdot 10^9$ колоний/мл.

Инокуляция агаризованной среды бактериями и *B. cinerea*

Для анализа сосуществования бактерией рода *Pseudomonas*, *Bacillus* и *B. cinerea* картофельно-декстрозная среда в чашках Петри размером 80 мм инокулировалась бактериальной суспензией в объеме 0,02 мл. Рядом с бактерией был нанесен инокулятом *B. cinerea* в объеме 0,02 мл и концентрации $3 \cdot 10^6$ спор/мл. В качестве контроля вместо бактерий использовался буферный раствор КР. Инокулированные чашки помещались в термостат при температуре 23°C на экспериментальный период. Наблюдения за ростом и развитием *B. cinerea* и бактерий проводились после шести и двенадцати дней инкубации. Опыт повторялся три раза, в двукратной повторности.

Инокуляция жидкой среды

Стерильные стеклянные пробирки объемом 10 мл наполнялись картофельно-декстрозным бульоном (24 г на 1 л деонизированной воды) в объеме 5 мл. Среда в пробирках инокулировалась 0,1 мл *B. cinerea* в концентрации $3 \cdot 10^6$ спор/мл. После чего следовала инокуляция жидкой среды в объеме 0,1 мл бактерией рода *Pseudomonas* в концентрации $3 \cdot 10^6$ или $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, бактерией рода *Bacillus* в концентрации $3 \cdot 10^7$ или $3 \cdot 10^9$ колоний/мл. Колбы помещались на ротационный шейкер на 20 ч при температуре 25°C и 50 об/мин [14]. Наличие антагонизма между *B. cinerea* и бактериями определялось микроскопически, используя микроскоп марки Leika DM4000B.

Содержимое пробирок перед началом микроскопического анализа взбалтывалось для получения однородной массы без осадка. 0,01 мл суспензии наносилось на предметное стекло и анализировалось под микроскопом. Исследование заключалось в визуальном осмотре образцов путем их сравнения с контрольным вариантом, где вместо бактерий использовался буферный раствор КР. При анализе существенным являлось, имеет ли анализируемый раствор споры гриба-патогена и в каком они состоянии. Эксперимент повторялся три раза в двукратной повторности.

Результаты и обсуждения

Сосуществование бактерий рода *Pseudomonas*, *Bacillus* и гриба-патогена *B. cinerea* на агаризованной среде.



Рис. 1. Рост и развитие *B. cinerea* в присутствии бактерий рода *Pseudomonas* после шести дней культивирования.

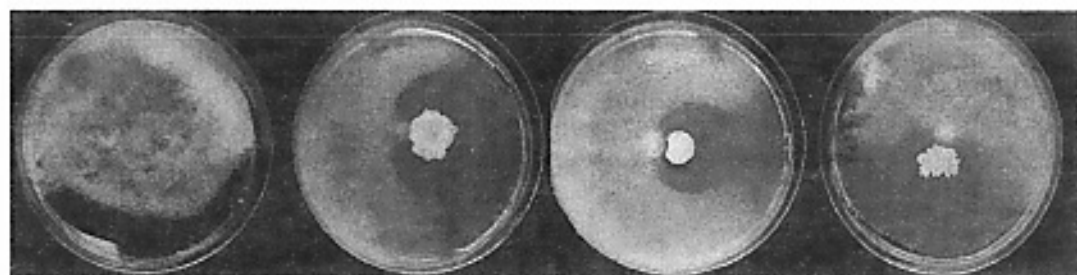


Рис. 2. Рост и развитие *B. cinerea* в присутствии бактерий рода *Bacillus* после шести дней культивирования.

Цель эксперимента заключалась в выявлении способности бактерий рода *Pseudomonas* и *Bacillus* ингибировать рост и развитие *B. cinerea* при одновременной инокуляции агаризованной среды микроорганизмами.

Одновременная инокуляция центральной части чашек Петри с картофельно-декстрозной агаризованной средой осуществлялась бактерией и грибом-патогеном в равном объеме, равном 0,02 мл. Титр спорового инокулята *B. cinerea*, использованный для инокуляции среды, составляет $3 \cdot 10^6$ спор/мл и равен концентрации бактерии рода *Pseudomonas*, составляющей $3 \cdot 10^6$ колоний/мл. Концентрация бактерии *Bacillus subtilis* составляет $3 \cdot 10^7$ колоний/мл.

Визуальный обзор чашек Петри в контрольном варианте после шестидневного культивирования свидетельствовал об интенсивном росте *B. cinerea* с обильным спороношением (рис. 1).

Подобный рост гриба-патогена обнаружен в вариантах с использованием бактерий *P. fluorescens* A506 и *P. fluorescens* CHA0. Культивируясь, образуя пушистый белый мицелий, *B. cinerea* заполнил емкости полностью, достигая краев чашек Петри. Данные публикаций [11] свидетельствуют о том, что оба микроорганизма обладают способностью синтезировать антибиотики или вещества-токсины, обладающие антимикробными свойствами. Однако наличие антагонизма по отношению к *B. cinerea* в конкретных случаях замечено не было. Возможное объяснение этого наблюдения заключается в том, что бактерия, в силу своего медленного роста и развития по сравнению с *B. cinerea*, при одновременной инокуляции в равном объеме и концентрации, не способна достигнуть той концентрации, при которой начинает синтезироваться токсичное вещество, способное ингибировать рост гриба-патогена. Подобное явление, когда для синтеза того или иного вещества микроорганизму нужно достичь определенной концентрации, носит название Quorum-sensing [1] и играет огромную роль при биологической защите растений. Предположительно, при данной концентрации бактерий *P. fluorescens* A506 и *P. fluorescens* CHA0, а именно $3 \cdot 10^6$ колоний/мл, концентрация сигнальных

молекул не достигает уровня, при котором активируется синтез антибиотика.

Сосуществуя с бактерией *P. brassicacearum* I112, *B. cinerea* демонстрирует признаки роста только со стороны инокулята гриба-патогена. Возможно, бактерия при данной концентрации синтезирует токсин, выделяет его в агар, предотвращая рост *B. cinerea*. Однако на рисунке 1 едва заметны признаки роста гриба вокруг бактериального инокулята. Можно предположить, что бактерия *P. brassicacearum* I112 обладает способностью активно синтезировать токсин, тем самым сдерживая рост и развитие *B. cinerea*, но только до определенного момента, а именно момента активации защитного механизма. Доказано, что *B. cinerea* обладает несколькими защитными механизмами против токсичных веществ, такими как лакказа и АТФ-соединяющая кассета ABC-переносчиков (транспортёров) [12].

Если допустить, что *P. brassicacearum* I112 синтезирует антибиотик, выделяя его в среду, тогда как данный штамм *B. cinerea* обладает лакказой или ABC-переносчиками (или же штамму свойственны оба механизма защиты) для активации любого механизма защиты потребуется время, только по истечении которого гриб способен колонизировать, что и было замечено в опыте.

Интересный характер роста *B. cinerea* отмечен в варианте при использовании бактерии *P. fluorescens* Pf1543 в качестве антагониста. Хорошо заметно, что рост *B. cinerea* имеет огибательный характер, колонизируя вокруг бактериальной суспензии, заполняя пространство. Возможно, бактерия данного штамма синтезирует вещество, токсичное для гриба-патогена, выделяя его в агар. Таким образом, *B. cinerea* культивируется только на свободном от токсина участке.

Для вариантов с применением бактерии *Bacillus* в качестве биологического агента также свойственен огибательный характер роста *B. cinerea* (рис. 2).

Бактерии *B. subtilis* QST713, *B. subtilis* SLU3 и *B. subtilis* FDK21, предположительно, имеют свойства синтезировать антибиотик, задерживая рост гриба-патогена.

Для проверки способности *B. cinerea* колонизировать на участках без признаков роста после шестидневной инкубации в вариантах с использованием *P. fluorescens* Pf1543 и *P. brassicacearum* I112, а также *B. subtilis* QST713, *B. subtilis* SLU3 и *B. subtilis* FDK21 было принято решение о пролонгации инкубирования чашек Петри с микроорганизмами. Таким образом, антагонизм между бактерией рода *Pseudomonas* и грибом-патогеном наблюдался через 12 дней культивирования, между бактерией *B. subtilis* и *B. cinerea* наблюдался через девять дней культивирования.

Присутствие бактерий *P. fluorescens* A506, *P. fluorescens* CHA0, а также *P. brassicacearum* I112 не ингибирует рост и развитие *B. cinerea*, сравнивая с контрольным вариантом, демонстрируя обильное спороношение после 12 дней культивирования на агаризованной среде. Основываясь на этом наблюдении, можно сделать вывод, что перечисленные микроорганизмы при одновременной инокуляции с грибом-патогеном в равном объеме и концентрации, не способны задерживать рост *B. cinerea*.

Интересный результат и в то же время оправдывающий ожидания был получен в варианте с использованием *P. fluorescens* Pf1543. Как поле шести дней культивирования, так и после 12 дней инкубации, *B. cinerea* успешно развивался только вокруг бактериального инокулята. Это наблюдение еще раз подтверждает теорию о способности *P. fluorescens* Pf1543 синтезировать токсин (антибиотик), который, выделяясь в среду, ингибирует рост *B. cinerea*.

В сравнении с контрольным вариантом рост *B. cinerea* не ингибировался *B. subtilis* SLU3, тогда как после девятидневного культивирования в вариантах с применением *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 в качестве антагонистов замечена область без признаков роста патогена. Как и в варианте с использованием *P. fluorescens* Pf1543, вероятнее всего, причина такого роста *B. cinerea* заключается в способности перечисленных штаммов *B. subtilis* синтезировать антибиотик.

Очевидно, что при концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл бактерия *P. fluorescens* Pf1543, также как *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 при концентрации $3 \cdot 10^7$ колоний/мл, способна синтезировать вещество, которое выделяется в среду, диффундируя. Однако степень распространения антибиотика не столь велика, так как *B. cinerea* колонизирует, оставляя без признаков роста только участок вокруг инокулята бактерий. Можно предположить, что, во-первых, быстрый темп роста и развития гриба опережает темп распространения антибиотика. Во-вторых, предполагая, что антибиотик обладает быстрым темпом распространения, находясь в среде, не препятствует росту и развитию *B. cinerea* благодаря наличию у гриба защитного механизма. Третье предположение заключается в том, что агар в силу своих свойств тормозит распространение антибиотика, в результате чего антибиотик концентрируется только в области бактериального инокулята.

Для того, чтобы подтвердить или опровергнуть вышеизложенные предположения, был проведен эксперимент по выявлению антагонистических свойств бактерий по отношению к *B. cinerea* в жидкой среде.

Проявление антагонистических свойств бактерий по отношению к *B. cinerea* в жидкой среде

Цель эксперимента заключалась в анализе влияния различных концентраций бактерий рода *Pseudomo-*

nas и *Bacillus* на рост и развитие *B. cinerea* в жидкой среде при одновременной инокуляции среды антагонистом и патогеном.

Для реализации эксперимента картофельно-декстрозный бульон в объеме 5 мл инокулировался 0.1 мл *B. cinerea* в концентрации $3 \cdot 10^6$ спор/мл. После чего следовала инокуляция жидкой среды в объеме 0.1 мл бактерией рода *Pseudomonas* в концентрации $3 \cdot 10^6$ или $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, бактерией рода *Bacillus* в концентрации $3 \cdot 10^7$ или $3 \cdot 10^9$ колоний/мл. После 20 часового культивирования на ротационном шейкере при 50 об/мин и 25°C наличие антагонизма между *B. cinerea* и бактериями определялось микроскопически. При анализе существенным являлось, имели ли анализируемый раствор споры *B. cinerea* и в каком состоянии они находятся.

В контрольном варианте после 20 часов культивирования отмечено скопление проросших спор, которые образуют большие кластеры. Подобное скопление проросших спор *B. cinerea* с хорошо развитым мицелием, образующих кластеры, характерно для вариантов при одновременном культивировании гриба-патогена и бактерий *P. fluorescens* A506 и *P. brassicacearum* I112 в концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл.

При увеличении концентрации *P. fluorescens* A506, равной $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, в анализируемом растворе были обнаружены только единичные споры *B. cinerea*, находящиеся в непроросшем и проросшем состоянии. Увеличение же концентрации бактерий *P. brassicacearum* I112, равной $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, не оказало ингибирующего эффекта на прорастание спор *B. cinerea*, сравнивая с контрольным вариантом. Обильный мицелий в вариантах с применением *P. brassicacearum* I112 в различной концентрации и *P. fluorescens* A506 в концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл свидетельствует о неспособности этих микроорганизмов ингибировать прорастание спор *B. cinerea* при условии одновременной инокуляции жидкой среды патогеном и антагонистом. Наличие же единичных спор *B. cinerea*, находящихся в непроросшем и проросшем состоянии после 20 часового культивирования в присутствии бактерии *P. fluorescens* A506 в концентрации $3 \cdot 10^8$ колоний/мл, позволяет высказать предположение о способности бактерии при данной концентрации синтезировать и выделять в жидкую среду вещество с токсичными свойствами для гриба-патогена.

Подобное наблюдение, где при увеличении концентрации бактерии существенно снижается количество спор *B. cinerea* в анализируемом растворе, характерно и для вариантов при использовании *P. fluorescens* CHA0, *B. subtilis* QST713, *B. subtilis* FDK21.

При концентрации инокулята $3 \cdot 10^6$ колоний/мл бактерии *P. fluorescens* CHA0 в анализируемом растворе в основном зафиксировано наличие непроросших спор *B. cinerea*. В вариантах при использовании *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 в концентрации $3 \cdot 10^8$ колоний/мл в качестве антагонистов в борьбе с *B. cinerea* были обнаружены только единичные проросшие споры патогена. Предположительно, данные бактерии при высокой концентрации бактериального инокулята при условии одновременной инокуляции и культивирования с патогеном в жидкой среде синтезируют токсин, действующий негативно на прорастание спор *B. cinerea*. Более того, сравнивая с контрольным вариантом, даже при низкой концентрации бактериального инокулята *P. fluorescens* CHA0, *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21, присутствие бактерий негативно влияет на рост и развитие *B. cinerea*.

При использовании в качестве антагониста *B. subtilis* SLU3 также отмечено закономерное снижение количества спор *B. cinerea* в растворе при увеличении концентрации бактериального инокулята. Однако в данном варианте в отличие от вариантов с использованием *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 при концентрациях бактерии $3 \cdot 10^7$ колоний/мл и $3 \cdot 10^9$ колоний/мл отмечены большие и малые кластеры проросших спор *B. cinerea* с хорошо развитым мицелием, соответственно. Возможно, данная бактерия все же синтезирует вещество, которое ингибирует прорастание спор патогена, поскольку их количество в растворе после 20 часов культивирования значительно меньше, сравнивая с контрольным вариантом, но степень токсичности вещества не столь значительна.

Культивируясь при одновременной инокуляции в жидкой среде, замечен положительный эффект *P. fluorescens* Pf1543 в концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл на рост и развитие *B. cinerea*. Количество проросших спор гриба, сгруппированных в небольшие кластеры, значительно меньше по сравнению с контрольным вариантом, вероятнее всего, благодаря синтезу антибиотика. Данное наблюдение может служить еще одним подтверждением теории, полученной ранее, при сосуществовании бактерии и *B. cinerea* на агаризованной среде.

Выводы

1. Бактерия *P. fluorescens* Pf1543 в концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл, *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 в концентрации $3 \cdot 10^7$ колоний/мл ингибируют рост и развитие *B. cinerea* на агаризованной и жидкой средах при одновременной инокуляции патогеном и бактериями.

2. Огнательный характер роста *B. cinerea* на агаризованной среде после 12 дней культивирования в присутствии *P. fluorescens* Pf1543, а также после девяти дней культивирования в присутствии *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 свидетельствует о способности данных микроорганизмов синтезировать токсины (антибиотики).

3. Бактерии *P. fluorescens* A506, *P. brassicaciarum* H112 при концентрации $3 \cdot 10^6$ колоний/мл не ингибируют рост и развитие *B. cinerea* на агаризованной и жидкой средах при одновременной инокуляции среды патогеном и бактериями.

4. Бактерии *P. fluorescens* A506, *P. fluorescens* CHA0 при более высокой концентрации, равной $3 \cdot 10^9$ колоний/мл, подобно бактериям *B. subtilis* QST713 и *B. subtilis* FDK21 в концентрации $3 \cdot 10^7$ колоний/мл при условии одновременной инокуляции и культивирования с патогеном в жидкой среде, предположительно, синтезируют токсин, действующий негативно на прорастание спор *B. cinerea*.

Библиографический список

1. Веселова М.А. Quorum sensing регуляция у почвенных псевдомонад / М.А. Веселова, В.А. Линасова, О.Б. Астаурова, Э.Э. Атамова, М.А. Проценко, Н.А. Буза, А.З. Метлицкая, Н.Н. Данилова, А.С. Чернин, И.А. Хмель // Микробиология. 2006. — Т. 75. — № 4. — Июль-Август. — С. 465-467.
2. Кузьмина А.Ю. Эффективность бактериальных препаратов при защите растений яровой пшеницы от твердой го-

ловни / А.Ю. Кузьмина, О.Н. Логинов, Т.Ф. Бойко, Р.Ф. Исаев, Е.В. Свешникова, А.И. Мелентьев // Сельскохозяйственная биология. Серия биология растений, 2003. — № 5. — С. 69-73.

3. Наталья О. Б. Болезни ягодников / О.Б. Наталья // М.: Колос, 1963. — 245 с.

4. Шашкин Н. И. Земляники в колхозном саду / Н.И. Шашкин // М.: Колос, 1956. — 87 с.

5. Штерншис, М.В. Биологическая защита растений / М.В. Штерншис, Ф. С.-У. Джамаев, И.В. Андреева, О.Г. Томилова // Под ред. М.В. Штерншис [Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений]. — М.: КолосС, 2004. — 264 с.

6. Brent, K.J. Fungicide resistance: the assessment of risk / K.J. Brent, D.W. Hollomon // FRAC Monograph, 1998. - No. 2. Brussels.

7. Garbeva P. Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes / P. Garbeva, J.A. van Veen, J.D. van Elsas // - 2004. - Vol. 47. - P.51-64.

8. Paulitz, T. C. Biological control in greenhouse systems / T. C. Paulitz, R. R. Belanger // Annu. Rev. Phytopathology, 2001. - Vol. 39. - P. 103-133.

9. Rosslenbroich H.-J. Botrytis cinerea history of chemical control and novel fungicides for its management / H.-J. Rosslenbroich, D. Stuebler // - 2000. - Vol. 19. - P. 557-561.

10. Sansone, G. Control of Botrytis cinerea strains resistant to iprodione in apple with rhodotorulic acid and yeasts / G. Sansone, I. Rezza, V. Calvente, D. Benuzzi, M. I. Sanz de Tosetti // Postharvest Biology and Technology, 2005. - Vol. 35. - P. 245-251.

11. Schnider-Keel, U. Autoinduction of 2,4-Diacetylphloroglucinol biosynthesis in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and repression by the bacterial metabolites salicylate and pyoluteorin / U. Schnider-Keel, A. Seematter, M. Maurhofer, C. Blumer, B. Duffy, C. Gigit-Bonnetoy, C. Reimann, R. Notz, G. Ve de Fago, D. Haas, C. Keel // Journal of bacteriology, 2000. - Vol. 182. - No 5. - P. 1215-1225.

12. Schouten, A. Resveratrol acts as a natural antifungal and induces self-intoxication by a specific laccase / A. Schouten, L. Wagemakers, F. L. Stefanato, R.M. Van der Kaaij, J.A.L. van Kan // Molecular Microbiology, 2000. - Vol.43. - No 4. - P. 883-894.

13. Wubben J.P. Cloning and characterisation of endopolygalacturonase genes from *Botrytis cinerea* / J.P. Wubben, W. Mulder, A. Ten Have, J.A.L. van Kan, J. Visser // Applied and Environmental Microbiology, 1999. - Vol. 65. - No 4. - P.1596-1602.

14. Xiaodong Zheng. Effects of *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) Skinner on biocontrol of postharvest decay of arbutus berries Bot.Bull / Z. Xiaodong, Z. Hongyin, X. Yufang // Acad. Sin., 2004. - Vol. 45. - P. 55-60.

ХРАБРЫХ Олеся Леонидовна, аспирант кафедры лесоводства и защиты растений Омского государственного аграрного университета.

БАРАЙЦУК Галина Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой лесоводства и защиты растений Омского государственного аграрного университета.

KOLLAR Andreas, доктор, Федеральный биологический исследовательский центр сельского хозяйства и леса, Институт защиты плодовых культур, г. Дозенхайм, Германия.

JELKMANN Wilhelm, доктор, профессор, Федеральный биологический исследовательский центр сельского хозяйства и леса, Институт защиты плодовых культур, г. Дозенхайм, Германия.

Статья поступила в редакцию 28.11.06 г.

© Храбрых О. А., Барайцук Г. В., Kollar A., Jelkmann W.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МЕМБРАННЫХ СТРУКТУР ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ КРИОДЕСТРУКЦИИ

В развитии посткриодеструктивных нарушений функции печени экспериментальных крыс важную роль играет перегрузка неповрежденных холодом гепатоцитов продуктами глубокого распада пуриновых мононуклеотидов. Они образуются в очаге деструкции в результате расщепления нуклеиновых кислот и макроэргических соединений до гипоксантина. Последний, накапливаясь в клетках, активирует ксантиноксидазу, генерирующую активные формы кислорода. Они истощают системы антирадикальной и антиперекисной защиты с последующим развитием чрезмерной липопероксидации мембранных структур гепатоцитов, приводящей к функциональной недостаточности этих клеток.

Обширные операции на печени трудны в технике исполнения, длительны и травматичны. Сложность и вариабельность анатомических взаимоотношений элементов ворот печени, а также нередкое вовлечение в патологический процесс крупных кровеносных сосудов и магистральных желчных протоков диктует, является причиной их частого повреждения во время операции. В 63,5% случаев оно приходится на кровотечения, как следствие повреждения крупных венозных структур ворот печени [2, 7]. Низкотемпературное воздействие обладает рядом преимуществ в комплексном лечении обширных поражений печени. По сравнению с общепринятыми методами, а именно: малой травматичностью, простотой техники исполнения, криовоздействие относительно легко переносится больными. В экспериментальных исследованиях содержатся противоречивые сведения о влиянии криодеструкции на функцию печени. Одними авторами констатируется полное отсутствие токсического эффекта и отмечается, что криовоздействие не вызывает изменений в показателях функции печени [1, 5]. Другими описываются нарушения белковообразовательной и антиоксидантной функции печени, а также ее структуры в сроки от 1 до 30 суток после криодеструкции [9, 11]. Отмечается, что под влиянием крионекроза в послеоперационном периоде в течение месяца у больных имели место гипохромная анемия, выраженный синдром цитолиза, достоверное снижение белковообразовательной функции печени. Нарушения в гомеостазе были обусловлены неблагоприятным воздействием продуктов распада тканей в очаге криодеструкции и явлениями гепатита в непораженной части печени. При этом авторы отметили, что увеличение объема замороженных тканей прямо пропорционально метаболическим нарушениям. Было установлено, что относительно безопасный объем замораживания составляет 50 см³, с увеличением его 50–100 см³, степень описанных выше нарушений резко возрастает, а при увеличении объема замороженных тканей более 120 см³, можно ожидать серьезных осложнений в послеоперационном периоде, обусловлен-

ных влиянием криодеструкции. Данные влияния продуктов распада тканей в очаге криодеструкции на функциональное состояние печени после криовоздействия в доступной нам литературе не обнаружены. Вместе с тем побочный токсический эффект этой процедуры может стать причиной грозных осложнений в послеоперационном периоде [11]. Недостаточное понимание его механизма препятствует широкому применению криохирургического метода в клинической практике.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли чрезмерной липопероксидации мембранных структур в патогенезе повреждения печени, вызванного низкотемпературным воздействием на ее ткани.

Материал и методы исследования. В опытах использовали 200 белых беспородных крыс-самцов массой 200 ± 20 г из Раппаловского и Алма-Атинского питомников. Животные содержались в обычных условиях вивария ОГМИ и получали стандартный лабораторный корм. Все они были разделены на три группы. Первая группа (интактные животные) состояла из 10 крыс, которые не подвергались экспериментальным воздействиям. Для определения исходных показателей у них под легким эфирным проводили забор материала, который подвергали биохимическому и морфологическому исследованию. Вторая контрольная группа («контроль») включала в себя 97 белых крыс, которых подвергали тем же воздействиям, что и животных в 3-й группе (наркозу, фиксации, лапаротомии), за исключением криовоздействия для изучения влияния операционной травмы на исследуемые биохимические показатели ПОЛ. Так как подобное вмешательство способно вызвать стрессовую реакцию с соответствующими нейрогуморальными сдвигами в организме подопытных животных [4]. В сроки от 1 часа до 40 суток у подопытных животных забирали материал для биохимических и морфологических исследований. Третья группа («криодеструкция») состояла из 94 белых крыс, которым под эфирным наркозом производили лапаротомию и криодеструкцию участка

левой латеральной доли печени со скоростью охлаждения 200°C в минуту до температуры - 20°C, с экспозицией 3 минуты и последующим произвольным оттаиванием.

Крыс забивали под эфирным наркозом декапитацией через 1, 6, 12 часов и на 1, 3, 7, 14, 21, 30, 40 сутки после криовоздействия. Для исследования биохимических показателей в ткани печени, орган прижизненно фиксировали и хранили в жидком азоте. Забирали ткань печени для морфологических исследований.

Из тканей печени готовили липидный экстракт по Folch et al [15]. В нем определяли содержание диеновых конъюгатов (DC) - по Plazer [17], липофусциноподобного пигмента (АФП) - по Fletcher et al [14]. Для определения активности ферментов замороженную ткань печени гомогенизировали при 0-20°C в стеклянном гомогенизаторе Поттера с 0,25 М раствором сахарозы, приготавленном на 10 мл растворе трис-HCl, pH 7,4 и центрифугировали в течение 20 минут при 2000 g и температуре 0-2°C. Активность супероксиддисмутазы (SOD) [1.15.1.1] определяли методом В. Н. Чумакова и Л. Ф. Осинской [13], каталазы (KAT) [1.11.1.6] - по В. Д. Конвай и А. В. Лукош-

кину [10], глутатионпероксидазы (GPO) [1.11.1.9] - по Paglia et Valentine [16], глутатионредуктазы (GR) [1.6.4.2] - по Racker [19], а глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G-6-PDH) [1.1.1.49] - по Ю. А. Захарыну [8]. Содержание глутатиона (G-SH) определяли по Sedlak et Linsey [20].

В сыворотке крови исследовали содержание мочевой кислоты (Ur), лактата (Lac), глюкозы, активность аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST), гаммаглутамилтрансферазы (GGT), щелочной фосфатазы (ALP) с помощью унифицированных лабораторных методов исследования.

Результаты исследования, полученные в группе «криодеструкция» сравнивали с данными, полученными в группах «контроль» и «интактные крысы» с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

Полученные данные и их обсуждение. Общую реакцию организма на криовоздействие изучали с помощью общей термометрии и визуального наблюдения. Ректальная температура в процессе низкотемпературного воздействия снижалась до 30-32°C. В послеоперационном периоде животные группы

Показатели энергетического обмена и перекисного окисления липидов в плазме крови и печени крыс в группах «контроль» (К) и «криодеструкция» (КД) в течение 3-х суток после криовоздействия, М ± m для каждой группы, (n=9-11)

Таблица 1

Показатели	Часы эксперимента									
	1		6		12		24		72	
	К	КД	К	КД	К	КД	К	КД	К	КД
В КРОВИ										
Ur (ммоль/л)	153 ±4	162 ±16	149 ±4	170* ±9	150 ±4	187* ±11	154 ±4	192* ±5	149 ±5	198* ±5
Глюкоза (ммоль/л)	8,85 ±0,15	9,34 ±0,22	8,67 ±0,13	9,09 ±0,21	8,97 ±0,14	9,14 ±0,68	8,66 ±0,29	9,82* ±0,26	9,21 ±0,29	8,88 ±0,48
Lac (ммоль/л)	5,28 ±0,40	5,95 ±0,40	4,38 ±0,37	4,74 ±0,38	5,27 ±0,42	8,18* ±0,52	5,10 ±0,41	6,80* ±0,49	5,14 ±0,32	6,55* ±0,52
ALT (МЕ/л)	87,3 ±5,3	143* ±3	106 ±5	602* ±29	96,3 ±5,2	1313* ±37	110 ±4	1193* ±20	94,8 ±3,1	1307* ±13
AST (МЕ/л)	253 ±15	462* ±18	266 ±12	1175* ±94	227 ±12	2595* ±200	237 ±11	2 301* ±125	217 ±13	2 594* ±169
GGT (МЕ/л)	3,0 ±0,35	4,27* ±0,25	3,82 ±0,24	4,6 ±0,36	4,6 ±0,28	6,33* ±0,47	4,09 ±0,39	7,0* ±0,27	4,1 ±0,19	5,11 ±0,65
ALP (МЕ/л)	525 ±17	550 ±18	465 ±12	629* ±11	495 ±11	643* ±39	439 ±11	538* ±6	449 ±6	459 ±14
В ПЕЧЕНИ										
SOD (единиц/г ткани)	3 079 ±205	3 567 ±244	2 278 ±111	2 553 ±93	2 540 ±246	3 577* ±330	1 929 ±147	2 116 ±184	1 629 ±197	3 257* ±244
KAT (единиц/г ткани)	1 691 ±75	1945* ±85	2 011 ±74	2 674* ±78	1 938 ±58	2 392* ±153	1 738 ±94	2641* ±86	1 416 ±42	1 893* ±130
DC (М экв/мг липидов)	7,28 ±0,24	7,89 ±0,94	5,71 ±0,14	10,92* ±2,23	7,47 ±0,47	13,51* ±1,22	6,85 ±0,43	13,83* ±0,77	5,33 ±0,18	12,26* ±0,75
АФП (ед. флуоресценции/мг липидов)	5,93 ±0,17	7,11 ±1,30	4,81 ±0,29	11,03* ±2,51	8,09 ±0,23	14,21* ±1,69	8,02 ±0,87	17,76* ±1,16	11,09 ±0,63	15,90* ±1,23
GPO ммоль/(г ткани*мин)	3,88 ±0,09	3,72 ±0,12	3,05 ±0,07	3,30 ±0,16	3,91 ±0,24	3,44 ±0,27	3,68 ±0,08	3,23 ±0,24	3,47 ±0,10	3,01* ±0,10
G-SH (ммоль/г ткани)	4,31 ±0,17	3,90 ±0,15	4,03 ±0,23	4,56 ±0,33	4,60 ±0,36	5,53 ±0,39	3,91 ±0,17	4,24 ±0,13	3,77 ±0,19	4,10 ±0,64
GR ммоль/(г ткани*мин)	2,88* ±0,13	3,46* ±0,18	2,67 ±0,04	3,15* ±0,12	3,15 ±0,16	3,62 ±0,24	2,80 ±0,05	3,76* ±0,15	2,76 ±0,09	2,91 ±0,06
G-6-PDH (ммоль/(г ткани*мин)	439 ±18	405 ±29	456 ±23	456 ±30	550 ±16	641* ±6	477 ±9	674* ±7	498 ±11	541 ±29

* - различие по сравнению с контролем достоверно, p < 0,05

«криодеструкция» были вялыми, адинамичными, внимание к окружающей обстановке отсутствовало, реакция на болевые раздражения вялая. Крысы с опозданием реагировали на слуховые раздражители, движения были заторможены. В первые часы после эксперимента у животных отмечался озноб и сильно выраженный пиломоторный рефлекс. В первые 3-е суток крысы отказывались от приема пищи, температура в прямой кишке повышалась до субфебрильных цифр. После 3-х суток общее состояние экспериментальных животных прогрессивно улучшалось и на 6-7-е сутки, приходило к норме.

Из представленных в таблицах данных видно, что через 1 час после криодеструкции в крови оперированных животных повышена активность ALT и AST, что могло быть связано с выходом этих ферментов из разрушенных холодом гепатоцитов. Тем не менее, концентрация мочевого кислоты в крови крыс не возрастает, это свидетельствует о том, что катаболизм нуклеиновых кислот до нуклеотидов, нуклеозидов и азотистых оснований в разрушенных гепатоцитах в первые 60 минут после криодеструкции резко не увеличен. Это предотвращает поступление в неповрежденные клетки гипоксантина. Последний, окисляясь ксантиноксидазой, может усиливать продукцию супероксидных радикалов и перекиси водорода, способных вызвать повышенную липопероксидацию мембранных структур. Отсутствие увеличения диеновых конъюгатов (DC) и липофусциноподобного пигмента (ЛФП) в неповрежденных долях печени также свидетельствует о том, что катаболизм пуринов в печени в первые 60 мин эксперимента резко не нарушается.

Торможению липопероксидации способствует также активация системы антиперекисной защиты. Активность каталазы и глутатионредуктазы (GR) в неповрежденных долях печени через 1 ч после криодеструкции увеличена соответственно на 15,0 и 20,1 %, что можно связать с конформационными изменениями молекул данных энзимов. Несмотря на активацию GR, содержание глутатиона (G-SH) в гепатоцитах не только не возрастает, но и снижается, что можно связать с усиленным вовлечением данного трипептида в реакции, катализируемые глутатион-пероксидазой (GP) и глутатион-S-трансферазой. Все это дает основание для предположения, что в первые 60 мин после криодеструкции скорость образования перекисных соединений в неповрежденных участках печени возрастает. Это приводит к интенсификации реакций инактивации перекисных соединений, связанных с использованием G-SH.

Поскольку деструкция нуклеиновых кислот гепатоцитов в течение этого промежутка времени не усиливается, отсутствие повышения активности КсО в свою очередь предотвращает увеличение уровня DC и ЛФП в печени животных, содержание которых находится на контрольном уровне. Тем не менее, деструкция клеток печени в очаге криовоздействия в этот период времени выражена, на что указывает повышение активности ALT, AST и GGT в плазме крови оперированных животных. Это явление, на наш взгляд, связано не с усилением перекисного окисления липидов, а с разрушением клеток печени под воздействием факторов вымерзания воды в процессе кристаллизации.

Наше предположение подтверждается данными морфологического исследования, при котором нами четко обнаруживается очаг некроза гепатоцитов, состоящего из детрита печеночных клеток, которые пропитаны эритроцитами. В гистологических пре-

паратах ткани печени в сроки до 1 суток после локального криовоздействия определялась четко ограниченная зона деструкции, состоящая из полностью разрушенных гепатоцитов. Ткань печени в зоне деструкции теряла балочное строение, превращаясь в сплошную массу клеточного детрита. Кровеносные сосуды печеночных балок были полностью разрушены. В ткани, прилегающей к зоне некроза, отмечались циркуляторные нарушения в виде отека, сосудистых стазов и тромбоза. Клетки печени, удаленные от места локального криовоздействия, морфологически выглядели интактными.

В дальнейшем процессы некроза в зоне деструкции приводят к расщеплению нуклеиновых кислот. Продукты этого процесса, в частности аденозин, инозин и гипоксантин поступают в неповрежденные участки печени, где подвергаются дальнейшему катаболизму. Окисление ксантиноксидазой гипоксантина приводит к усиленному выводу в кровь мочевого кислоты. Уровень урикемии в первые 7 суток после криодеструкции прогрессивно возрастает и остается достоверно повышенным в течение следующих 3-х недель наблюдения.

Определенный вклад в усиление катаболизма пуринов в период между 12 ч и 7 суток после криодеструкции вносит, вероятно, и гиперлактацидемия. Можно полагать, что продукты деструкции гепатоцитов тормозят энергопродукцию в митохондриях с последующей интенсификацией реакции гликолиза. Образующийся при этом лактат вызывает сдвиг pH в кислую сторону. Это способствует активации АМФ-деаминазы [10], катализирующую реакцию деаминации АМФ до инозина и усилению в период между 12 ч и 7 суток катаболизма АМФ через «неаденозиновый путь». Распад ГМФ, образующегося при деструкции нуклеиновых кислот, происходит под действием 5'-нуклеотидазы. Оба описанных выше пути приводят в итоге к образованию инозина, который способен как расщепляться пуринонуклеозидфосфорилазой в лейкоцитах и макрофагах, так и выходить в кровь, где под воздействием данного энзима клеток эндотелия или лейкоцитов он превращается в гипоксантин. Поскольку гипоксантин в лейкоцитах подвергается дальнейшему катаболизму очень медленно, он током крови доставляется в неповрежденные клетки печени, где последовательно окисляется до ксантина и мочевого кислоты в результате ксантиноксидазной реакции. В норме КсДГ, катализирующая обе реакции не продуцирует активных форм кислорода, а лишь восстанавливает НАД [10]. Но при патологических состояниях возможен переход дегидрогеназной формы фермента в оксидазную, которая является одним из сильнейших продуцентов супероксидного радикала и перекиси водорода [21]. По литературным данным возможны несколько путей конверсии КсДГ в КсО: 1. Путем частичного протеолитического отщепления фрагмента молекулы; 2. Посредством конформационных изменений с окислением SH-групп; 3. В результате повреждения активными формами кислорода [18]. При этом увеличивается соотношение между ксантиноксидазными и ксантиндегидрогеназными формами фермента. Мы полагаем, что этот процесс наиболее выражен к исходу 3-х и 7-х суток эксперимента, когда наиболее резко снижается содержание в клетках печени окисленного глутатиона.

Массивное поступление в неповрежденные гепатоциты гипоксантина, конверсия КсДГ в КсО и продукция последней супероксидного радикала и перекиси водорода приводит к усиленной липо-

Показатели энергетического обмена и перекисного окисления липидов в плазме крови и печени крыс в группах «контроль» (К) и «криодеструкция» (КД) от 7 до 40 суток после криовоздействия.
М ± m для каждой группы. (n=8-10)

Таблица 2

Показатели	Сутки эксперимента									
	7		14		21		30		40	
	К	КД	К	КД	К	КД	К	КД	К	КД
В КРОВИ										
Uг (мкмоль/л)	144 ±6	274* ±18	145 ±3	187* ±4	132 ±6	159* ±4	129 ±5	141 ±19	136 ±6	147 ±4
Глюкоза (ммоль/л)	7,79 ±0,34	7,99 ±0,33	6,76 ±0,10	6,77 ±0,13	6,92 ±0,12	6,60 ±0,11	6,79 ±0,13	6,75 ±0,07	6,97 ±0,09	6,53 ±0,10
Лас (ммоль/л)	4,54 ±0,48	8,01* ±0,42	4,66 ±0,55	5,16 ±0,26	4,60 ±0,41	4,94 ±0,58	4,29 ±0,21	4,47 ±0,56	4,85 ±0,37	3,92 ±0,28
ALT (МЕ/л)	81,6 ±5,8	1048* ±31	88,3 ±7,2	743* ±10	78,4 ±5,0	362* ±10	78,8 ±3,5	148* ±4	94,9 ±6,5	92,0 ±4,8
AST (МЕ/л)	250 ±22	2130* ±130	211 ±8	1155±62*	209 ±6	548* ±22	192 ±4	298* ±27	218 ±10	239 ±7
GGT (МЕ/л)	4,0 ±0,4	4,11 ±0,54	3,75 ±0,44	3,1 ±0,46	3,3 ±0,35	3,67 ±0,43	3,67 ±0,35	3,75 ±0,27	3,6 ±0,17	3,44 ±0,19
ALP (МЕ/л)	477 ±17	499 ±19	470 ±12	469 ±11	466 ±10	462 ±15	441 ±29	472 ±22	496 ±10	483 ±10
В ПЕЧЕНИ										
SOD (единиц/г ткани)	1 436 ±148	2 695 ±201	1 408 ±157	2 529 ±250	1 566 ±167	2 678 ±304	1 405 ±145	2 528 ±247	1 492 ±82	1 661 ±92
KAT (единиц/г ткани)	1 403 ±82	1 852 ±194	1 246 ±21	2 045 ±94	1 337 ±17	1 528 ±247	1 298 ±12	1 509 ±138	1 367 ±20	1 335 ±13
DC (М экв/мг липидов)	5,02 ±0,34	8,95* ±0,81	7,12 ±0,40	4,84* ±0,72	7,24 ±0,61	3,91* ±0,39	7,49 ±0,51	2,70* ±0,20	7,12 ±0,33	4,44* ±0,19
АФП (ед. флуоресценции/ мг липидов)	9,58 ±1,07	15,36 ±2,30	7,02 ±0,46	30,1 ±10,0	5,78 ±0,17	12,38 ±2,88	6,5 ±0,37	11,13 ±1,66	6,63 ±0,40	11,1 ±1,12
GPO ммоль/ (г ткани*мин)	3,57 ±0,16	2,87* ±0,13	3,69 ±0,12	3,47 ±0,13	3,61 ±0,19	2,99* ±0,16	3,58 ±0,11	3,42 ±0,26	3,51 ±0,13	3,44 ±0,17
G-SH (мк-моль/ г ткани)	3,58 ±0,35	2,71 ±0,27	3,75 ±0,31	2,44* ±0,17	3,77 ±0,10	3,45 ±0,22	4,15 ±0,12	4,13 ±0,25	4,03 ±0,30	4,42 ±0,21
GR ммоль/ (г ткани*мин)	2,68 ±0,05	2,98 ±0,16	2,75 ±0,10	3,52* ±0,10	2,67 ±0,12	2,89 ±0,13	2,78 ±0,06	2,74 ±0,13	2,57 ±0,09	2,78 ±0,07
G-6-PDH ммоль/ (г ткани*мин)	471 ±12	481 ±24	468 ±15	555 ±29	474 ±11	478 ±11	483 ±12	451 ±24	482 ±11	490 ±10

* - различие по сравнению с контролем достоверно, $p < 0,05$

перекисидации, о чем свидетельствует повышенное содержание в данных структурах DC (в первые 7 суток после криодеструкции) и АФП (в течение 40 суток эксперимента). В период между 14 и 40 сутками эксперимента уровень DC в неповрежденных участках печени не только не повышен, а даже снижен. Данное явление можно объяснить тем, что DC являются лишь промежуточным продуктом ПОЛ и содержание их в печени зависит не только от скорости образования, но и от вовлечения в дальнейшие этапы липоперекисидации.

Известно, что наряду с факторами, влияющими на скорость продукции активных форм кислорода, степень перекисидации мембранных структур во многом зависит и от эффективности инактивации образующихся радикалов в результате группы ферментов глутатиона GPO, GR и G-6-PDH. Повышение активности этих энзимов мы рассматривали как компенсаторную меру, направленную на предотвращение чрезмерной липоперекисидации. Торможение активности GR, принимающего непосредственное

участие в инактивации перекиси водорода и гидроперекисей липидов [6], несмотря на активизацию других ферментов системы антиперекисной защиты, приводит к торможению функции этой антиоксидантной системы в целом. Оно является одним из факторов, способствующих повреждению intactных клеток печени.

С конца 1-х суток в печени экспериментальных животных начинается процесс ограничения зоны деструкции, который полностью заканчивается к исходу 3-х суток эксперимента. В эти же сроки отмечены явления фагоцитоза клеточного детрита. Процессы рассасывания и фагоцитирования некротических масс достигали максимума через 7 суток после криовоздействия. Параллельно происходило замещение разрушенной низкими температурами клеток печени грануляционной тканью с формированием к 30-40-м суткам соединительнотканного рубца.

Сопоставляя результаты морфологического исследования с динамикой активности в плазме крови

ферментов, содержащихся в печени (ALT, AST, GGT и ALP), можно сделать заключение, что, вероятно, в первые 3-е суток после криодеструкции источником их поступления в кровь является, преимущественно, разрушенные гепатоциты из зоны деструкции. В последующие сроки наблюдения (от 7-х до 30-х суток) главным фактором, ведущим к повышению активности трансаминаз в плазме крови, по всей вероятности, можно считать повышенную липопероксидацию мембранных структур гепатоцитов, не подвергшихся воздействию низких температур. Она, по нашему мнению, вызывает повреждение клеточной мембраны не поврежденных клеток печени и обуславливает выход в кровь ферментов, содержащихся в ткани печени.

Выводы:

1. В развитии сопутствующих криодеструкции функциональных нарушений важную роль играет поступление в неповрежденные холодом гепатоциты продуктов глубокого распада пуриновых мононуклеотидов, образующихся результате расщепления в деструктированных клетках нуклеиновых кислот.
2. Накопление в печени гипоксантина приводит к активации ксантиноксидазы, которая генерирует активные формы кислорода, истощающая системы антирадикальной и антиперекисной защиты и вызывающие чрезмерную липопероксидацию мембранных структур клеток печени.
3. Вызванные перекисидацией повреждения гепатоцитов приводят к нарушению их функций.

Библиографический список

1. Альперович Б.И. Крихирургия печени и поджелудочной железы. / Б.И. Альперович, А.М. Парамонова, Н.В. Мерзляк-кин. — Томск, 1985. — 26 с.
2. Веронский Г.И. Анатомо-физиологические аспекты резекции печени. — Новосибирск, 1983.
3. Владимир Ю.А. Кинетика реакций перекисного окисления липидов и механизмы регуляции этого процесса в клетке // V Всесоюзный биохимический съезд. Тез. симпозиум. — Т.1. — М.: Наука, 1985. — С. 300.
4. Владимир Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Медицина, 1972. — 252 с.
5. Вторушкин Е.С. Гемодинамические и морфологические изменения при криовоздействии на печень и их коррекция. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 1990.
6. Герасимов А.М. Внутриклеточные механизмы защиты от токсического действия кислорода. / А.М. Герасимов, П.М. Грамешинский, А.Ф. Панченко // Гипербарическая оксигенация: Тез. докл. II Всесоюзного симпозиума. — М., 1976. — С. 251-252.
7. Журавлев В.А. Большие и предельно большие резекции печени. — Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1986.
8. Захарьин Ю.А. Изменение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы в

печени и мозге крыс под влиянием различных физиологических факторов // Вопр. мед. химии. — 1968. — Т. 14, № 4. — С. 348-355.

9. Киндзальский А.П. Динамика показателей белков сыворотки при криохирургии экспериментальных опухолей / А.П. Киндзальский, Н.Д. Бухрай // Эксперим. онкология. — 1981. — Т. 13, № 1. — С. 67-70.

10. Конвай В.Д. Нарушение пуринового обмена в печени в постреанимационном периоде и его профилактики. Автореф. дисс. ... доктора мед. наук. — Томск, 1988. — С. 37.

11. Милонов О.Б. Результаты применения криовоздействия в хирургическом лечении распространенного альвеококкоза печени / О.Б. Милонов, О.Е. Колос, С.М. Минкина и соавт. // Хирургия. — 1988. — № 2. — С. 40-44.

12. Ферменты детоксикации активных форм кислорода и липоперексиды при экспериментальной ишемии и инфаркте миокарда // В.З. Ланкин, А.Х. Коган, А.А. Ковалевский и др. / Бюлл. эксперим. биологии и медицины. — 1982. — Т. 83, № 5. — С. 58-60.

13. Чумаков В.Н., Осинская А.Ф. Количественный метод определения активности цинк-, медьзависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале // Вопр. мед. химии. — 1977. — Т. 23, № 5. — С. 712-716.

14. Fletcher B.L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues / B.L. Fletcher, C.J. Dillard, A.L. Tappel // Anal. Biochem. — 1973. — V.52, No.1. — p. 1-9.

15. Folch J. A simple method for the isolation and purification of lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G.M. Stone-Stanley // J. Biol. Chem. — V.226, No 2. — p. 497-509.

16. Paglia D.E., Valentine W. Studies on the quantitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase / D.E. Paglia, W. Valentine // J. Lab. Clin. Med. — 1967. — V.70, No2. — p. 158-169.

17. Plazer Z. Lipoperoxidationsysteme in biologischen Material 2. Mitt. Bestimmung der Lipoperoxidation im Säugetierorganismus / Nahrung. — 1968. — Bd. 12, No 6. — S. 679-684.

18. Properties of the xanthine oxidase from human liver / E. Della Corte, G. Grossetti, E. Novella, F. Stirpe // Biochim. Biophys. Acta. — 1969. — V.191, No.1. — P.164-166.

19. Racker E. Glutathione reductase from baker's yeast and beef liver // J. Biol. Chem. — 1955. — V.217, No.2. — P.855-865.

20. Sedlak J. Estimation of Total, Protein-Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent / J. Sedlak, R.A. Lindsey // Analyt. Biochem. — 1968. — V.25. — p. 192-205.

21. Stirpe F., Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O) / F. Stirpe, E. Della Corte // J. Biol. Chem. — 1969. — V.244, No 14. — p. 3855-3863.

ВОРОНОВ Олег Эдуардович, кандидат медицинских наук, онколог НУЗ ОКБ станции Омск.

КОНВАЙ Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры химии Омского государственного аграрного университета.

Статья поступила в редакцию 09.10.06 г.

© Воронов О. Э., Конвай В. Д.

СОСТОЯНИЕ ЛИМФО-ГЕМОДИНАМИКИ, КЛЕТОЧНОГО И БЕЛКОВОГО СОСТАВА КРОВИ У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ПОВЕДЕНИЯ

В экспериментах на крысах проведено комплексное исследование интегративной деятельности мозга, состояния лимфообразования и лимфотока, клеточного и белкового состава крови в зависимости от их индивидуально-типологических особенностей поведения в норме. Показана сопряженность поведенческих и вегетативных параметров у интактных крыс в зависимости от их индивидуально-типологических особенностей ВВД.

Тип ВВД играет важную роль в развитии различного рода заболеваний, особенно неврозов и сопутствующих психосоматических расстройств. В первом случае он определяет форму невроза, во втором — выбор «мишени», т.е. выбор органа или системы.

Данные представления получили подтверждение результатами клинических исследований, показавших, что есть люди, обладающие как устойчивостью, так и предрасположенностью к развитию определенных болезненных состояний в одной и той же среде проживания [1–3]. Отмечалось, что скорость адаптационных механизмов в меняющейся среде существенно зависит от состояния организма, питания, истории развития, возраста, пола, психологических особенностей и т.д. Все эти особенности указывали на высокую роль индивидуальных типологических особенностей высшей нервной деятельности человека и животных в проявлении чувствительности к изменениям внешней среды [4, 5]. Цель настоящей работы — выявить особенности биохимических показателей крови и лимфы у животных с разными индивидуально-типологическими особенностями поведения (ИТОП).

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 48 взрослых беспородных лабораторных крысах-альбиносах обоего пола массой 200–280 г с учетом требований Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [Приказ Минздрава СССР № 755 от 12 августа 1977 г.].

Определение индивидуально-типологических особенностей (ИТО) высшей нервной деятельности (ВНД) у крыс по методикам «открытое поле» (ОП) и «эмоциональный резонанс» (ЭР) [7], по результатам которых животных подразделяли на 3 группы, условно обозначенных как крысы с «сильным», «промежуточным» и «слабым» типом.

В острых опытах под нембуталовым наркозом (4 мг/100 г массы тела, внутримышечно) канюлировали общую сонную артерию для регистрации системного артериального давления и взятия проб

крови. Для предотвращения свертывания крови в качестве антикоагулянта вводили гепарин (500 МЕ/кг внутривенно).

После вскрытия брюшной полости по белой линии живота в отпрепарированный кишечный лимфатический сосуд вставляли полистиленовую канюлю для сбора лимфы и регистрации скорости лимфотока с помощью присоединенной к канюле микропипетки известного объема, расположенной горизонтально на уровне кишечного лимфатического сосуда [8]. Контролировали перемещение окрашенного столбика жидкости в единицу времени.

После этого брали кровь и в ней определяли содержание клеток крови стандартными методами с использованием счетной камеры Горяева. Далее кровь центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g, и в плазме крови, а также в кишечной лимфе определяли концентрацию общего белка биуретовой методикой. О проницаемости обменных микросудов кишечника судили по отношению C_L/C_P , где C_L — концентрация белка в лимфе, а C_P — концентрация белка в плазме крови. Рассчитывали транспорт общего белка лимфой в единицу времени (ТБЛ, мкг/мин), для чего умножали скорость кишечного лимфотока (мкл/мин) на концентрацию белка в лимфе (мкг/мкл).

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и изменения параметров с учетом непарного критерия Фишера — Стьюдента считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Данные контрольных исследований показали, что у крыс системное артериальное давление (САД) в среднем равнялось 114 ± 3 мм рт.ст. При этом у животных с «сильным» типом САД составляло 118 ± 5 мм рт.ст., в группе промежуточного поведения — 114 ± 4 мм рт.ст., а у животных со «слабым» типом — 112 ± 3 мм рт.ст. Скорость кишечного лимфотока (ЛТ) составляла у животных «сильного» типа — $4,3 \pm 0,3$ мкл/(мин \times 100г), в промежуточной

Показатели	Группы животных в соответствии с ИТО ВНД		
	«Сильный»	«Промежуточный»	«Слабый»
Количество эритроцитов, $10^{12}/л$	$6,12 \pm 0,47$	$5,34 \pm 0,38$	$5,12 \pm 0,42$
Содержание гемоглобина, г/л	$168,33 \pm 9,28$	$165,48 \pm 8,89$	$161,33 \pm 10,10$
Количество лейкоцитов в крови, $10^9/л$	$6,02 \pm 0,31$	$6,16 \pm 0,29$	$5,94 \pm 0,22$
Количество лейкоцитов в лимфе, $10^9/л$	$6,58 \pm 0,35$	$6,24 \pm 0,24$	$6,72 \pm 0,33$
Содержание общего белка в плазме крови, г/100 мл	$78,18 \pm 4,61$	$73,57 \pm 5,11$	$68,96 \pm 3,44$
Содержание общего белка в лимфе, г/100 мл	$35,87 \pm 1,22$	$33,64 \pm 2,65$	$31,43 \pm 3,25$

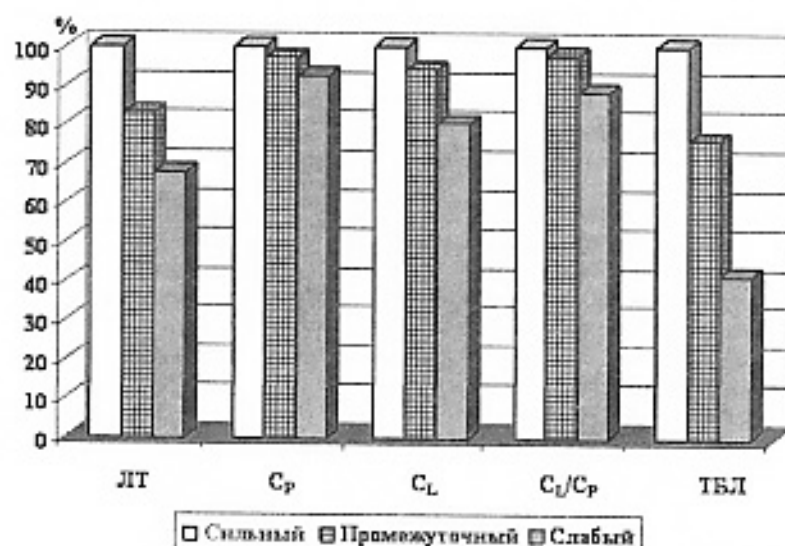


Рис. 1. Сравнительные величины (параметры у «сильного» типа взяты за 100%) скорости кишечного лимфотока (ЛТ), концентраций белка в плазме крови (C_p) и лимфе (C_l), отношения концентраций белка в лимфе и плазме крови (C_l/C_p) и транспорта белка лимфой (ТБЛ) у крыс с различными ИТО ВНД

группе — $3,8 \pm 0,4$ мкл/(мин \times 100г), а у крыс со «слабым» типом — $3,3 \pm 0,4$ мкл/(мин \times 100г).

В экспериментах были выявлены различия в клеточном и белковом составе крови и лимфы у крыс в соответствии с их ИТО ВНД (табл. 1).

Проведенные расчеты показывают, что скорость лимфотока у крыс с «сильным» типом превосходила таковую у животных с «промежуточным» и «слабым» типом, соответственно на 17,1% и 32,3% ($p < 0,05$), а концентрация общего белка в плазме крови у животных «сильного» типа была на 2,7% выше, чем у крыс «промежуточного» типа и на 5,9% выше, чем у животных «слабого» типа, хотя различия недостоверны. Для содержания общего белка в лимфе у контрольных крыс отмечалась та же тенденция, что и для плазмы крови — у крыс «сильного» типа количество белка в лимфе было на 5,8% выше, чем у крыс «промежуточного» типа и на 19,7% выше ($p < 0,05$), чем у животных со «слабым» типом.

В результате проведенных нами расчетов было установлено, что коэффициент C_l/C_p , представляющий собой соотношение концентраций общего белка в лимфе и плазме крови и отражающий проницаемость капиллярной стенки, равнялся в контрольных экспериментах $0,48 \pm 0,03$, $0,47 \pm 0,02$ и $0,43 \pm 0,02$ у крыс, соответственно с «сильным», «промежуточным» и «слабым» типом, т.е. можно отметить отсутствие достоверных различий в величинах этого показателя.

В проведенных экспериментах мы также сопоставили величины транспорта белка лимфой (ТБЛ) в

кишечнике у крыс трех типов ВНД, умножив скорость кишечного лимфотока на концентрацию белка в лимфе. Полученные данные свидетельствуют, что у животных с «сильным», «промежуточным» и «слабым» типом контрольных групп с кишечной лимфой транспортировалось $148,42 \pm 8,81$ мкг/мин \times 100 г белка, $119,77 \pm 6,77$ мкг/мин \times 100 г белка и $93,74 \pm 4,35$ мкг/мин \times 100 г белка, т.е. транспортная функция лимфатической системы, отражающая интенсивность лимфообразования в регионе, также зависит от типологии ВНД. При этом у крыс с «сильным» типом уровень образования лимфы в кишечнике превышал таковой у животных «промежуточного» типа на 23,9% ($p < 0,05$), а у крыс «слабого» типа — на 58,3% ($p < 0,001$).

Для наглядности на рис. 1 в сравнительном плане представлены регистрируемые параметры лимфодинамики в контрольных условиях у крыс трех типов поведения, причем за 100% были взяты показатели у животных с «сильным» типом.

Переходя к обсуждению полученных данных, следует отметить, что сохранение гомеостаза при действии факторов внешней и внутренней среды обусловлено реализацией многих неспецифических реакций, одинаковых как для всех органов и тканей, так и для всех уровней адаптации: изменением количества активно функционирующих структур, интенсификацией обновления структур, усиленным их образованием, а также адаптивной перестройкой ферментных систем, путей метаболизма и др.

До настоящего времени изучение клинко-биохимических изменений у больных неврозами с целью их систематизации и выделения диагностического критерия, не дали убедительных результатов. Одной из причин такого положения называется отсутствие сведений о типологической принадлежности исследуемых. Из полученных данных следует, что изменения содержания клеток крови напрямую зависят от ИТО ВНД животных. Животные с «сильным» типом, обладая высоким уровнем метаболизма, нуждаются в большем количестве эритроцитов и гемоглобина. Животные со «слабым» типом подвержены воздействию внешней среды в большей степени, так как их активность снижена, и потребности в большом числе эритроцитов они не испытывают. Однако число лейкоцитов у них несколько увеличено, что свидетельствует об активности иммунной системы, обусловленной реализацией многих неспецифических реакций на разных уровнях, в том числе и в структурах мозга, особенности протекания которых, как известно, носят индивидуальный характер, свойственный типу ВНД.

В данной работе проведено комплексное исследование состояния лимфообразования и лимфотока, клеточного и белкового состава крови и состояния клеточных мембран у крыс в зависимости от их индивидуально-типологических особенностей поведения в норме. Показана прямая сопряженность поведенческих и вегетативных параметров у интактных крыс в зависимости от их индивидуально-типологических особенностей ВНД.

Полученные материалы и разработанные на их основе рекомендации могут найти свое применение в практическом здравоохранении. Они могут быть включены в курс лекций для студентов вузов биологического, медицинского и ветеринарного профилей.

1. Карвасарский Б.Д. Психотерапия / Под ред. Б.Д. Карвасарского. — С.-Пб.: Питер, 2000. — 344 с.
2. Карвасарский Б.Д. Медицинская психология / Б.Д. Карвасарский. — Л.: Медицина, 1982. — 310 с.
3. Валдман А.В., Александровский Ю.А. Психотерапевтическая неврологическая психология (экспериментально-теоретический и клинико-фармакологический анализ) / А.В. Валдман, Ю.А. Александровский. — М.: Наука, 1987. — 256 с.
4. Медведев В.И. Взаимодействие физиологических и психологических механизмов в процессе адаптации // Физиология человека / Медведев В.И. — 1998. — № 4. — С.7-13.
5. Александровский Ю. А. Пограничные психические расстройства: руководство для врачей. / Александровский Ю. А. — М.: Медицина, М.: ГЭОТАР. — 2003. — 400 с.
6. Hall C.S., Ballachey E.L. A study of the rat's behavior in a field: a contribution to method in comparative psychology, by Calvin Hall and E. L. Ballachey / C.S.Hall, E.L.Ballachey. - University of California publications in psychology. — Berkeley, 1932. - V.6, No 1. — 12 p.
7. Симонов П.В. Условные реакции эмоционального резонанса у крыс. Нейрофизиологический подход к анализу инстинктивного поведения / П.В.Симонов. — М., 1976. — С. 6-28.
8. Rutli G., Granger D.N., Taylor A.E. Analysis of lymphatic protein data. IV. Comparison of the different methods used to estimate reflection coefficients and permeability — surface area product / G. Rutli, D.N. Granger, A.E. Taylor // Microvasc. Res. — 1982. — V.23. — P.347-360.

КОЛБАЙ Ибрагим Сулейменулы, доктор биологических наук, профессор.

КАПЫШЕВА Унзира Наурзбаевна, кандидат биологических наук, доцент.

Статья поступила в редакцию 07.11.06 г.

© Колбай И. С., Капышева У. Н., Бахтиярова Ш. К.

УДК 591.492+591.8

А. Д. ЯЦЕНКО
Т. М. ЛЮТИКОВА

Омская медицинская
государственная академия

МОРФО-ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА У СИНАНТРОПНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ

Исследовались популяции мотонейронов медлальных ядер шейного и поясничного отделов спинного мозга у серой и белой рас мыши домовая. Выявлены особенности морфометрических показателей нейронов в отношении их плотности, размеров тел, цитоплазмы и ядер, СЯЦК; цитохимические отличия касались содержания и концентрации структурированных белков, их функционального и регуляторного коэффициентов, что расценивалось нами как адаптивные реакции к условиям обитания.

Медлально-расположенные мотонейроны, впервые дифференцированные в спинном мозге у хрящевых рыб и обособившиеся в отдельную группу у хвостатых амфибий, в процессе эволюции позвоночных животных претерпели радикальные изменения:

формировались многочисленные контакты с клетками соседних сегментов и с клетками противоположной стороны спинного мозга, создавая основу для координированной деятельности мышц туловища и конечностей [3,11]. У рептилий мотонейроны

спинного мозга обособились в две группы: вентро-медиальную, иннервирующую осевую мускулатуру и вентролатеральную, иннервирующую мускулатуру конечностей. У млекопитающих мышцы шейного отдела сохраняют филогенетически древний способ иннервации — двумя типами мотонейронов, расположенными в разных ядрах. Мускулатура других отделов туловища не имеет двойной иннервации [3]. Мотонейроны, иннервирующие осевую мускулатуру млекопитающих, изучались у представителей неродственных отрядов — крыс и кошек [7]. Однако подробные морфологические, в том числе морфометрические и цитохимические данные о моторных клетках медиальных ядер недостаточны. Сопоставление таких показателей у близкородственных животных, различающихся двигательной активностью, необходимо для более полного изучения основных направлений нейrogenеза.

Целью исследования было проведение сравнительного анализа морфометрических и цитохимических показателей популяций мотонейронов медиальных ядер переднего рога спинного мозга у грызунов одного вида, различающихся условиями существования и локомоторными реакциями.

Материалы и методы

Объектом исследования были избраны серая и белая расы мыши домашней. Мышь домашняя (*Mus musculus*) [МД] и мышь белая (*Mus musculus* var. *alba*) [МБ] — представители одного вида (*Mus musculus*), рода Мышь (*Mus*), отряда Грызуны (*Rodentia*) и одной экологической группы — полуподземные животные. Мышь домашняя — синантропное животное, адаптировавшееся к жилищу человека для своего существования. Мышь белая — лабораторное полуподомашнее животное клеточного содержания.

Освобожденные от позвоночника шейный (ШО) и поясничный (ПО) отделы спинного мозга были фиксированы в жидкости Карнуа, разложены на срезы и окрашены по методу Ниссля. На препаратах определяли характер распределения базофильного вещества в нейронах, их количество в 1 мм^2 и размеры нервных клеток (площадь тела — St , цитоплазмы — Sc , ядер — Sa и структурный ядерно-цитоплазматический коэффициент — $сЯЦК$).

Цитохимическое исследование — измерение содержания и концентрации структурированных белков в телах нейронов, цитоплазме и ядрах, а также ядерно-цитоплазматические коэффициенты (функциональный по содержанию — $фЯЦК$, регуляторный по концентрации — $рЯЦК$) [5] проводили с помощью компьютерной цитометрии, используя систему Анализатора Изображений Видео Тест Морфо-4 (Санкт-Петербург, 1999). Структурированные белки выявляли проведением гистохимической реакцией с амидочерным 10 Б, который стехиометрически связывается с белками в клетках [14].

Определение нормальности распределения проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Для сравнительного анализа особенностей взаимосвязей между полученными результатами, определяющими морфометрические и цитометрические характеристики нейронных популяций медиальных ядер (МЯ), был проведен межвидовой и внутривидовой корреляционный анализ (методами Краскала-Уоллиса и Спирмена). Статистическую обработку проводили с привлечением программ «EXCEL» и «Статистика-6». Материал в таблицах представлен как среднее значение \pm сред-

нее квадратичное отклонение, а на «коробочных» графиках, представляющих распределение количественных данных с использованием диаграмм диапазонов — как минимальное значение — нижний квартиль — медиана — верхний квартиль — максимальное значение признака [12].

Результаты исследования

Нейронные популяции медиальных ядер спинного мозга белой и серой рас мышей на микропрепаратах, окрашенных по Ниссля, были однотипными (рис. 1А, 1Б). В поле зрения хорошо различались многостроччатые крупные, средние и мелкие мотонейроны с расположенным в центре более светлым ядром и хорошо различимым ядрышком. В цитоплазме апикноморфных клеток тигроид находился в виде мелких глыбок, зерен или мелкой пыли. По особенностям распределения базофильного вещества у мышей определяли архихромные, архистихохромные и гриохромные мотонейроны (по классификации Никулеску, 1963). Пикноморфные клетки (по классификации Ю.М. Жаботинского, 1965) определялись редко.

Моторные клетки, расположенные в медиальной части переднего рога спинного мозга, у белой и серой рас мыши домашней отличались по ряду морфометрических показателей. Количество клеток в 1 мм^2 нейронной популяции МЯШО мыши домашней колебалось от 355,9 до 712,0, а в популяции ПО — от 355,9 до 801,0. Средние значения клеточной плотности в популяции МЯШО и ПО у мыши домашней были почти одинаковые и составили в ШО: $583,4 \pm 103,7$; в ПО: $581,5 \pm 128,7$. Значения клеточной плотности в популяции МЯШО мыши белой варьировали от 355,9 до 1008,6; в МЯПО — от 444,9 до 791,1 клеток в единице площади. У лабораторного животного средний показатель плотности клеток в популяции МЯШО оставался примерно на том же уровне ($578,3 \pm 147,7$), а в популяции ПО ($556,1 \pm 89,2$) снизился на 25,4 (или 4,4%) ($p < 0,001$).

Наряду с изменением клеточной плотности, у мышей обнаружилось отличие в линейных размерах их клеток. Размеры мотонейронов МЯШО мыши домашней варьировали в пределах: $317,0 - 847,9 \text{ мкм}^2$, а размеры мотонейронов ПО — в пределах $317,0 - 770,0 \text{ мкм}^2$. В нейронной популяции ШО преобладали клетки, имеющие средние параметры; в популяции ПО — мелкие и средние клетки (рис. 2). У мыши домашней нейроны ШО в среднем ($549,2 \pm 153,2$) были крупнее мотонейронов ПО ($487,7 \pm 124,9$) в 1,21 раза. Параметры цитоплазмы мотонейронов МЯШО синантропного животного колебались в пределах: $235,0 - 659,0$, размеры ядер — в пределах: $66,0 - 299,0$. Среднее размеры цитоплазмы составили $400,9 \pm 115,8$, а средние размеры ядер — $148,3 \pm 50$. Площадь цитоплазмы клеток МЯПО была в пределах $208,0 - 605,0 \text{ мкм}^2$, а площадь клеточных ядер — от $66,0$ до $208,0 \text{ мкм}^2$. Средние размеры цитоплазмы и ядер составили $364,8 \pm 103,9$ и $122,9 \pm 29,1 \text{ мкм}^2$ и были меньше размеров цитоплазмы и ядер мотонейронов МЯШО, соответственно в 1,1 и в 1,2 раза. Значение $сЯЦК$ мотонейронов МЯПО ($0,348 \pm 0,07$) в сравнении с нейронами ШО ($0,376 \pm 0,1$) также было меньше.

Размеры мотонейронов МЯШО мыши белой варьировали в пределах: $216,0 - 565,0 \text{ мкм}^2$, а размеры мотонейронов ПО в пределах $209,0 - 619,0 \text{ мкм}^2$. В нейронной популяции ШО лабораторного животного преобладали клетки, имеющие мелкие и средние параметры, а в популяции ПО было больше кле-

ток со средними размерами (рис. 2). Средние значения площади мотонейронов в ШО ($0,373 \pm 0,09$) и ПО ($370,7 \pm 1,02$) у мыши белой были почти одинаковые. Параметры цитоплазмы мотонейронов МЯШО лабораторного животного колебались в пределах: $152,0 - 455,0$, размеры ядер — в пределах: $48,0 - 175,0$ мкм². Среднее размеры цитоплазмы составили $284,0 \pm 80,3$, а средние размеры ядер — $103,2 \pm 28,5$ мкм². Площадь цитоплазмы клеток МЯПО была в пределах $145,0 - 510,0$ мкм², а площадь клеточных ядер — $51,0 - 194,0$ мкм². Средние размеры цитоплазмы и ядер составили $275,4 \pm 83,8$ и $95,3 \pm 29,8$ мкм² и почти равнялись размерам цитоплазмы и ядер мотонейронов МЯШО. У мыши белой в сравнении с мышью домового средние размеры тел нейронов, цитоплазмы и ядер нейронов ШО были меньше, соответственно на 29,4% ($p < 0,001$); — 29,2% ($p < 0,001$) и 30,4% ($p < 0,001$). Мотонейроны МЯ ПО мыши белой также имели гораздо меньшие параметры. Размеры нейронов были меньше на 23,9% ($p < 0,001$); размеры цитоплазмы — на 25,5% ($p < 0,001$) и размеры ядер — на 22,5% ($p < 0,001$). Значения структурных коэффициентов мотонейронов ШО у мышей были почти одинаковые (МД - МБ: $0,376 \pm 0,10 - 0,373 \pm 0,09$) ($p < 0,01$), а в ПО немного превышали у мыши белой ($0,348 \pm 0,07 - 0,360 \pm 0,10$) ($p < 0,01$). Уменьшение линейных размеров нейронов МЯ у лабораторной мыши не изменило

показателей СЯЦК, которые, вероятно, являются критерием функциональной деятельности нейронов. В клетках МЯШО у мыши домового в процессе становления вида сформировались слабые положительные связи между плотностью клеток и СЯЦК. У мыши белой эти взаимосвязи отсутствуют (рис. 1А, 1Б).

Содержание белков в телах мотонейронов МЯШО мыши домового варьировало в пределах: $73,8 - 342,4$; в цитоплазме: $56,2 - 260,3$ и в ядре: $11,7 - 95,9$. Границы изменчивости белкового фонда в мотонейронах ПО были почти на том же уровне и составляли в телах нейронов: $70,7 - 327,3$; в цитоплазме: $57,4 - 246,6$ и в ядрах нейронов $13,3 - 80,7$. Однако средние показатели количественной оценки белков цитоплазмы и ядер мотонейронов ШО были выше средних показателей количества цитоплазматических и ядерных белков мотонейронов ПО, соответственно на 17,8% и 26,5%.

Уменьшение площади цитоплазмы и ядер нейронов у лабораторной мыши, вероятно, определило изменение белкового фонда в них. Границы изменчивости белкового фонда общих ($82,6 - 225,7$), цитоплазматических ($57,4 - 184,6$) и ядерных ($15,5 - 71,7$) белков в мотонейронах ШО у мыши белой имели гораздо меньший размах. Среднее количество структурированных белков в моторных клетках лабораторной мыши (рис. 1Г; табл.) в сравнении со сред-

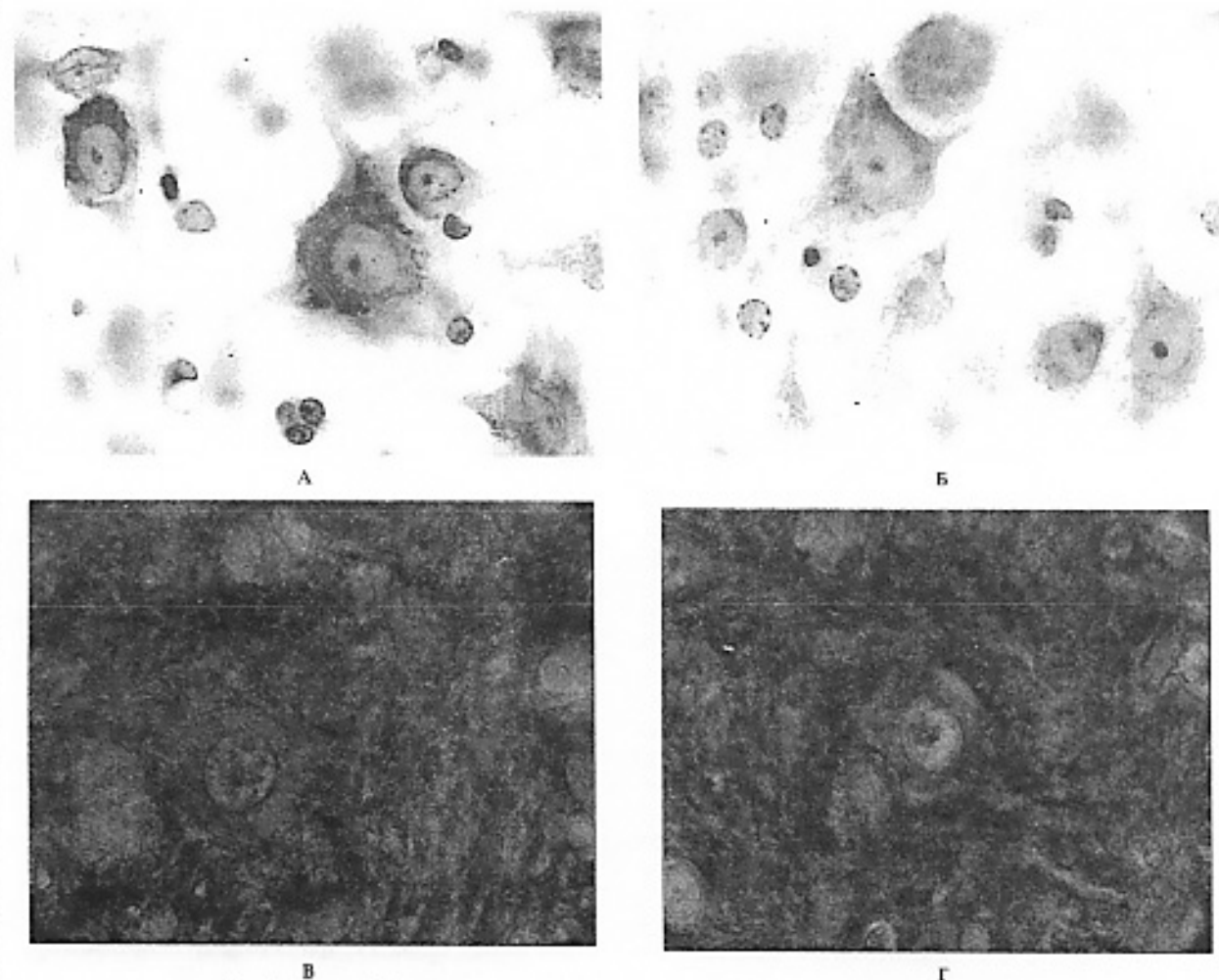


Рис. 1. Мотонейроны медлальных ядер переднего рога спинного мозга мышей:

А — пылевидный тигроид в мотонейронах МЯПО мыши домового — гринокромный тип распределения базофилии.

Окраска по методу Ниссля, ув. 400;

Б — глыбчато-сетчатый тигроид в мотонейронах МЯШО мыши белой — гринокромный тип распределения базофилии.

Окраска по методу Ниссля, ув. 400;

В — мотонейроны МЯШО мыши домового. Окраска амидочерным 10Б, ув. 400;

Г — мотонейроны МЯПО мыши белой. Окраска амидочерным 10Б, ув. 400

ними показателями белкового фонда в мотонейронах синантропного животного значительно уменьшилось. В ядрах нейронов ШО мыши белой количество структурированных белков стало меньше на 18,8% ($p < 0,001$), в цитоплазме — на 26,4% ($p < 0,001$) и в телах мотонейронов — на 24,6% ($p < 0,001$). Содержание белков в нейронах ШО и ПО у мыши белой значительно не отличалось и в нейронах ПО границы изменчивости количества белков составили: в телах клеток 78,0 – 252,2; в цитоплазме 53,6 – 222,5 и в ядрах 14,9 – 71,7. В мотонейронах МЯПО у лабораторного животного в сравнении с синантропным животным, содержание белка также было ниже: в цитоплазме (МД-МБ: $122,3 \pm 37,7$ – $104,1 \pm 33,7$) на 14,9% и в телах нейронов (МД-МБ: $155,9 \pm 51,2$ – $136,3 \pm 34,7$) на 12,6%, а в ядрах (МД-МБ: $33,6 \pm 13,4$ – $32,2 \pm 11,3$) лишь намечалась тенденция к снижению.

Проведенный внутривидовой корреляционный анализ показал, что у мыши домового сформирована сильная положительная зависимость между линейными размерами нейронов и содержанием белков в

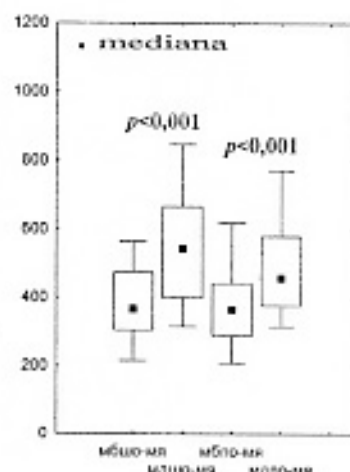
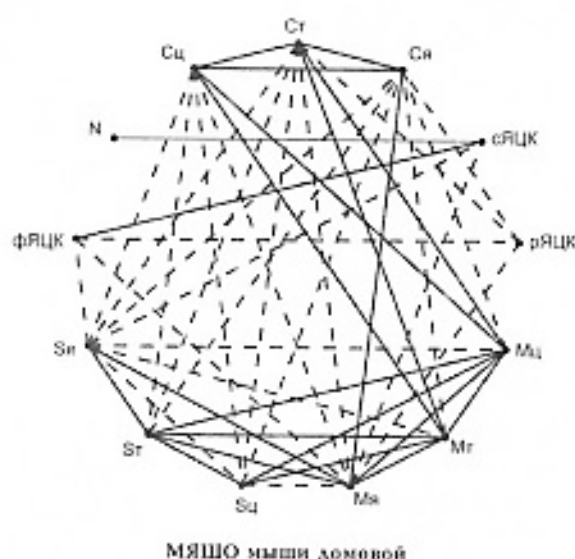
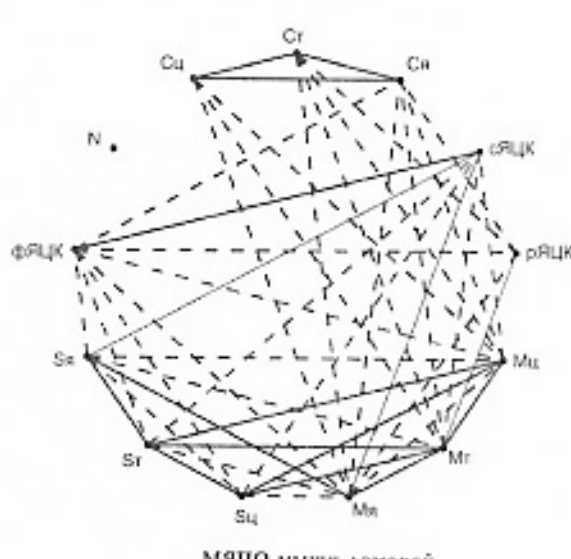


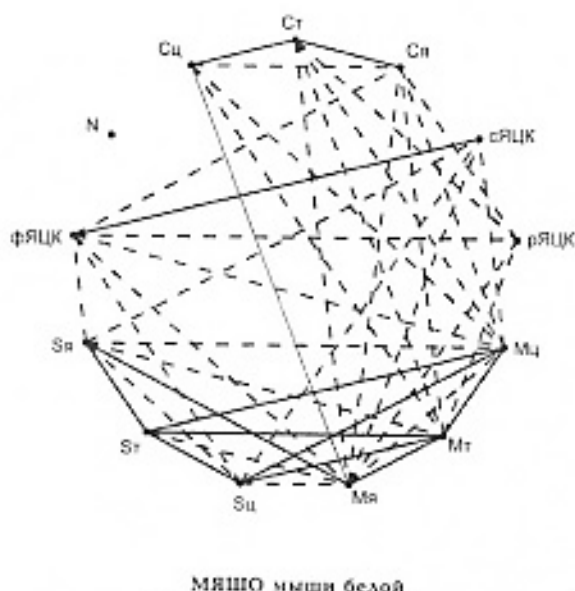
Рис. 2. Линейные параметры мотонейронов медиальных ядер шейного и поясничного отделов спинного мозга мышей



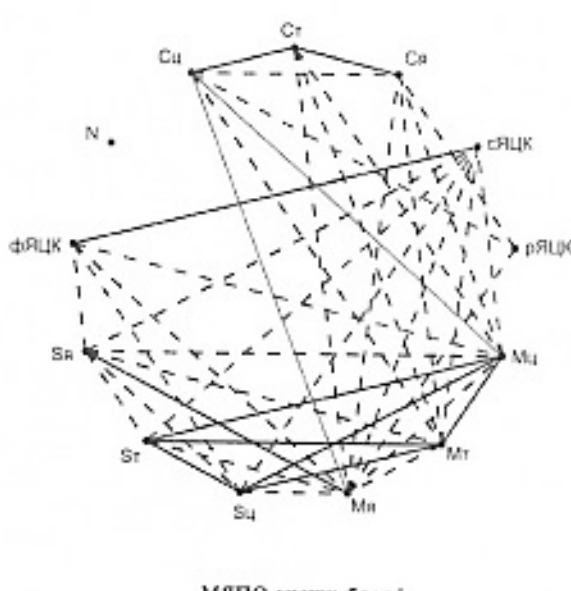
МЯШО мыши домового



МЯПО мыши домового



МЯШО мыши белой



МЯПО мыши белой

Рис. 3. Корреляционная зависимость морфометрических и цитофлуориметрических признаков в мотонейронах медиальных ядер шейного и поясничного отделов спинного мозга мышей

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| — Сильная прямая корреляция | — Сильная обратная корреляция |
| - - - Умеренная прямая корреляция | - - - Умеренная обратная корреляция |
| ... Слабая прямая корреляция | ... Слабая обратная корреляция |

Таблица 1
Показатели содержания и концентрации структурированных белков
в мотонейронах медиальных ядер шейного и поясничного отделов
спинного мозга мышей

	МД M±s	МБ M±s		МД M±s	МБ M±s
ШО: Мг	194,6±53,6	146,6±28,5	ШО: Сг	0,347±0,05	0,378±0,04
Мц	148,8±40,7	109,5±25,3	Сц	0,347±0,06	0,385±0,03
Ма	45,7±16,8	37,1±11,2	Са	0,302±0,06	0,359±0,05
фЯЦК	0,311±0,09	0,349±0,10	рЯЦК	0,825±0,07	0,931±0,11
ПО: Мг	155,9±51,2	136,3±34,7	ПО: Сг	0,319±0,05	0,366±0,04
Мц	122,3±37,7	104,1±33,7	Сц	0,335±0,05	0,377±0,04
Ма	33,6±13,4	32,2±11,3	Са	0,271±0,05	0,337±0,03
фЯЦК	0,280±0,06	0,322±0,08	рЯЦК	0,806±0,08	0,895±0,07

Примечание: * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001 по сравнению с группой мышей донорных

них (рис. 3А, 3Б). В нейронах мыши белой данная взаимосвязь сохранилась (рис. 3В, 3Г). Уменьшение количества белков в структурных компонентах мотонейронов МЯ у лабораторного животного определило достоверное увеличение его фЯЦК: в клетках ШО (МД-МБ: 0,311±0,09—0,349±0,10) на 0,038 (10,9%); в клетках ПО (МД-МБ: 0,280±0,06—0,322±0,08) — на 0,042 (13,0%) (p<0,001). У мыши донорной в моторных клетках ПО обнаружилась отрицательная умеренная зависимость между размерами цитоплазмы и функциональным ЯЦК, то есть увеличение площади цитоплазмы нейронов определяло уменьшение коэффициента. У мыши белой подобная зависимость сохраняется в клетках ПО и формируется в нейронах ШО. У серой и белой рас мыши донорной выявлены сильные положительные связи между структурным и функциональным коэффициентами (рис. 3А, 3Б, 3В, 3Г).

Показатели концентрации структурированных белков в телах мотонейронов МЯШО мыши донорной варьировали в пределах: 0,206—0,491; в цитоплазме: 0,216—0,505 и в ядре: 0,149—0,459. Размах значений концентрации белков в мотонейронах ПО был гораздо меньше и составил в телах нейронов: 0,194—0,437; в цитоплазме: 0,215—0,457 и в ядрах нейронов 0,129—0,392. В телах и в цитоплазме мотонейронов ШО в сравнении с нейронами ПО, наметилась тенденция к увеличению концентрации белков, а средние показатели концентрации ядерных белков в мотонейронах ШО превышали на 10,3% (табл.). У мыши донорной в мотонейронах МЯШО сформировались положительные умеренные связи между линейными размерами нейронов и концентрацией структурированных белков (рис. 3А, 3Б). В клетках лабораторной мыши такие связи не выявлены (рис. 3В, 3Г).

Размах значений концентрации в телах нейронов (0,239—0,463), в цитоплазме (0,267—0,465) и в ядрах клеток (0,188—0,458) ШО, а также в телах нейронов (0,277—0,479), в цитоплазме (0,277—0,479) и в ядрах клеток (0,245—0,431) ПО мыши белой был меньше, чем у мыши донорной. Однако средние показатели концентрации у лабораторного животного заметно превышали. У мыши белой в сравнении с мышью донорной концентрация белков в телах нейронов ШО

была выше на 8,2% (p<0,001); в цитоплазме — на 9,9% (p<0,001); в клеточных ядрах — на 15,9% (p<0,001) и в телах нейронов, цитоплазме и в ядрах клеток ПО превышала соответственно на 12,8% (p<0,001), 12,5% (p<0,001) и 19,6% (p<0,001) (табл.). Корреляционный анализ показал, что увеличение концентрации белков в нейронах мыши белой обусловило увеличение ее регуляторного ЯЦК. В клетках ШО лабораторного животного, в сравнении с синантропным, рЯЦК увеличился на 0,106, или 11,4%; в клетках ПО — на 0,089, или 9,9%. В клетках МЯШО и ПО мыши донорной обнаружена положительная умеренная зависимость между функциональным и регуляторным коэффициентами. У мыши белой подобная связь сохраняется лишь в нейронах ШО (рис. 3А, 3Б, 3В, 3Г).

Заключение

Проведенное нами исследование популяции моторных клеток медиальных ядер шейного и поясничного отделов у белой и серой рас мыши донорной, отличающихся условиями обитания, обнаружило как признаки сходства, так и значительные различия по ряду морфометрических и цитохимических показателей. Количество клеток в единице площади нейронных популяций было почти на одном уровне. Мотонейроны, связанные с определенными мышцами, занимают строго определенное положение в мотонейронном пуле [3], и вероятно, поэтому их количество постоянно у генетически близких мышей.

По размерам нейронов обнаружились различия. У серых и белых мышей мотонейроны поясничного отдела имели меньшие размеры, что, вероятно, можно объяснить особенностями иннервации осевой мускулатуры. Мышцы шейного отдела получают импульсы от мотонейронов, расположенных в разных ядрах, а в поясничном отделе каждая мышца иннервируется нейронами одного ядра, что, по мнению ряда авторов [3, 11] является филогенетически новым приспособлением. У мыши белой в сравнении с мышью донорной в отделах спинного мозга были выявлены гораздо меньшие нейроны. Это, вероятно, свидетельствует о том, что размеры цитоплазмы и ядер мотонейронов являются более лабильными.

ми морфометрическими признаками и объясняют характер идиоадаптационных изменений в формировании подтида. Уменьшение площади нейронов у лабораторной мыши не изменило показателей сЯЦК. Ядерно-цитоплазматические отношения, вероятно, являются специфическим морфологическим критерием для особей одного вида. Между структурным ЯЦК и плотностью клеток в нейронах МЯШО синантропного животного была обнаружена слабая положительная связь, которая у мыши лабораторной не выявлялась (рис. 1А, 1Б).

В процессе видообразования у мыши домовая сформировалась сильная положительная зависимость между размерами нейронов и содержанием белков в них (рис. 3А, 3Б) у мыши белой сохранилась (рис. 3В, 3Г). Уменьшение размеров цитоплазмы и ядер нейронов у лабораторного животного, отмеченное нами, определило изменение белкового фонда. Количество белков в нейронах шейного и поясничного отделов у мыши белой было гораздо меньше, чем у мыши домовая, а показатели фЯЦК достоверно были высокими. У мышей обнаружилась отрицательная умеренная зависимость между размерами цитоплазмы и функциональным ЯЦК, а между структурным и функциональным коэффициентами — сильная положительная связь (рис. 3А, 3Б, 3В, 3Г). Подобное сочетание взаимосвязей у белой и серой рас можно расценивать как видовой признак.

У мыши домовая в мотонейронах МЯШО сформировались положительные умеренные связи между линейными размерами нейронов и концентрацией структурированных белков. (рис. 3А, 3Б), а клетках лабораторной мыши такие связи не выявлены (рис. 3В, 3Г). Средние показатели концентрации у лабораторного животного заметно превышали подобные цифры у мыши домовая. Корреляционный анализ показал, что увеличение концентрации белков в нейронах мыши белой сопровождалось увеличением ее регуляторного ЯЦК. В клетках МЯШО и ПО мыши домовая была обнаружена положительная умеренная зависимость между функциональным и регуляторным коэффициентами, у мыши белой подобная связь сохранилась лишь в нейронах ШО (рис. 3А, 3Б, 3В, 3Г).

Мышь домовая была избрана нами в качестве объекта исследования, так как имеет наиболее длительный путь синантропного существования. Ее ископаемые останки известны с позднего плиоцена и найдены в составе фауны пещерных стоянок человека эпохи мезолита [1,8]. Ориентировочно-исследовательское поведение, высокая локомоторная активность, стремительное освоение пространства, хорошо развитые манипуляционные способности, обеспечили процессы домостроения и повсеместное расселение [9]. Белые лабораторные мыши содержатся и размножаются в клеточных условиях, лишены возможности поиска пищи и жилища и в меньшей мере зависят от сезонных изменений природы. Длина светового дня изменяется за счет искусственного освещения и соответственно, увеличивается время дневной активности животных.

Сформированные в процессе исторического становления вида и выявленные нами вариации морфометрических и биохимических признаков двигательных клеток спинного мозга, обеспечивших интенсивность моторных реакций, дали мыши домовая возможность приближенного существования к жилью человека. [2, 4, 8]. Согласно работам И.Д. Стрельникова [1970], изменение условий обитания и, соответственно, моторики нервно-мышечного аппарата

вызывает определенные морфофизиологические и гистохимические перестройки на всех уровнях нервной системы. Содержание животных в клеточных условиях в течение нескольких поколений, под действием индукционно-формативных и нервнотрофических регуляций, определяющих гистогенные процессы в организме [6], приводит к определенным морфофизиологическим и гистохимическим перестройкам [13], в том числе в мотонейронах, иннервирующих осевую мускулатуру.

Обнаруженные нами морфометрические и гистохимические отличия, а также вновь выявленные корреляционные связи у лабораторной мыши, вероятно можно расценивать, как адаптивные реакции на клеточно-популяционном уровне в ответ на антропогенное воздействие.

Библиографический список

1. Агаджанян А. К. Грызуны из плейстоценовых отложений Мамонтовой горы // Терофауна плейстоцена. — М.: Изд-во МГУ, 1972. — С. 24-69.
2. Александров В.Я. Реактивность клосток и белки / В.Я. Александров. — Л.: Наука, Ленинградское отделение 1985. — 317 с.
3. Андреева Н.Г. Эволюционная морфология нервной системы позвоночных. 2-е изд., переработ. и доп. / Н.Г. Андреева, Д.К. Обуков. — СПб.: Лань, 1999. — 384 с.
4. Воробьева Э.И. Проблема происхождения наземных позвоночных / Э.И. Воробьева. — М.: Наука, 1992. — 343 с.
5. Герштейн А.М. Цитохимические проявления кратковременной и длительной активации дофаминэргической системы мозга крыс / А.М. Герштейн, Т.А. Чеботарева, А.В. Сергеева. // Бюллетень эксперим. биол. и медицины. — 1991. — Т. 112. — № 7. — С. 41-42.
6. Евгеньева Т.П. Межклеточные взаимодействия и их роль в эволюции. / Т.П. Евгеньева. — М.: Наука, 1976. — 223 с.
7. Маматов А. Исследование РНК и белка в чувствительных нейронах симпатических ганглиев и в моторных нейронах спинного мозга. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Аджикан, 1970. — 17 с.
8. Мелкова В.Г. Синантропия грызунов / В.Г. Мелкова, С.А. Квашнина. — М.: Изд-во РАН 1994. — 197 с.
9. Мешкова Н.Н. Ориентировочно-исследовательское поведение: сравнительный анализ синантропных диких животных форм домовых мышей надвидового комплекса *Mus musculus* к. lato / Н.Н. Мешкова, Е.В. Котенкова, Н.В. Заторуйко // Зоология. — 1999. — № 2. — С. 175-182.
10. Моторина М.В. Синантропическая организация мотонейронов спинного мозга позвоночных: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук - М.: АН СССР инст. зool. и физиол. и биохимии им. И.М. Сеченова, 1991. — 64 с.
11. Обуков Д.К. Эволюционная морфология конечного мозга позвоночных. / Д.К. Обуков. — СПб.: Знак, 1999. — 203 с.
12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. — М., МедиаСфера, 2002. — 305 с.
13. Стрельников И.Д. Аватомо-физиологические основы видообразования позвоночных / И.Д. Стрельников. — Л.: Наука, 1970. — 368 с.
14. Geyer G. Far Einweißfarbung mit amido Schwarz 10 B. / G. Geyer. // Acta Histocem. - 1960. - V. 10. - P. 286-292.

ЛЮТИКОВА Татьяна Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой мед. биологии.

ЯЦЕНКО Александра Дмитриевна, старший преподаватель кафедры мед. биологии.

Статья поступила в редакцию 19.12.06 г.

© Лютикова Т. М., Яценко А. Д.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ СЕЛЕНА

В статье приведены результаты исследований, полученных в ходе острого и хронического экспериментов по влиянию селена на гистологические изменения костной ткани белых беспородных крыс. Установлено, что увеличение концентрации селена в пищевом рационе приводит к реактивным изменениям костеобразовательного процесса.

Селен является одним из микроэлементов, участвующих в антиоксидантной защите организма [1, 2, 3]. Однако при профилактическом и терапевтическом его применении возникает вероятность токсического действия. Это объясняется небольшими различиями между терапевтическими и токсическими дозами.

На сегодняшний день проведено недостаточное количество исследований влияния повышенных концентраций селена на костную ткань. В связи с этим целью наших исследований явилось изучение картины гистологических изменений костной ткани при интоксикации селеном в условиях хронического и острого экспериментов.

Материалы и методы исследований

При хроническом эксперименте в течение 6 месяцев в рацион животных (белых беспородных крыс) вводили кормовые культуры, выращенные с применением селена в дозах 12, 24, 48 кг/га, что соответствует 0,5, 1 и 2 ПДК этого элемента в почве [4]. Селен вносили в почву в виде селенита натрия. Эксперимент проводили на лугово-черноземной почве Омской области. Острый эксперимент проводили с парентеральным введением белым беспородным крысам селенита натрия в дозе 3 мг/кг.

Материалом исследования послужили участки альвеолярной кости верхней челюсти, фиксированные в 10%-ном формалине. Декальцинацию проводили с использованием жидкости Дженкинса, после чего материал промывался в двух сменах абсолютного спирта и заливался в парафин по общепринятой методике. Из полученных блоков изготавливались срезы толщиной 4 мкм, которые в дальнейшем окрашивались гематоксилином и эозином.

Результаты исследований и их обсуждение

В группе контроля фрагменты альвеолярных отростков верхней челюсти представлены губчатой костной тканью, характеризовавшейся переплетением костных балок одинаковой толщины, внутри которых равномерно распределены полости, содер-

жащие мелкие преимущественно овальной формы клетки с гиперхромным ядром. Основное вещество костной ткани гомогенного вида, неравномерно эозинфильное. Усиление окраски отмечалось ближе к периферии трабекул, где имеет место костеобразовательный процесс, характеризующийся накоплением коллагеновых волокон и межклеточного вещества костной ткани. По длиннику всех балок выявлялись линии склеивания. Они выглядели в виде темно-синих ровных, местами волнистых полосок, идущие параллельно друг к другу.

По сравнению с группой контроля при гистологическом исследовании срезов губчатой костной ткани выявлялись признаки перестройки кости, что проявлялось как в виде явлений остеосклероза, так и в виде резорбтивных процессов.

Признаки реактивного костеобразования сводились к утолщению балок предсуществующей кости и образованию новых перекладин, зарастанию гаверсовых каналов. Новообразованная кость характеризовалась богатством костного вещества, увеличением прямых и ровных базофильных линий склеивания, приобретающих концентрический характер.

На фоне явлений реактивного костеобразования имели место поля зрения с признаками убыли костного вещества в виде различных форм резорбции. Характерным было наличие участков лакунарной резорбции. По краю костных балок образовывались ямки (так называемые говшиповские лакуны), в которых выявлялись остеокласты, представляющие собой крупные гигантские клетки, содержащие до 8 ядер. Кроме того, встречались участки пазушной резорбции в виде формирования пространств, заполненных «жидкой» костью в виде плазмоподобного аморфного вещества, окрашенного в розовый цвет. Эти участки быстро замещались нежнотканной соединительной тканью, бедной сосудами.

Таким образом, увеличение концентрации селена в пищевом рационе приводит к реактивным изменениям костеобразовательного процесса, имеющего двоякий характер. С одной стороны, возникает усиление продукции основного вещества губчатой кости, что проявляется явлениями остеосклеротического процесса. С другой – избыток новообра-

зованной кости приводит к активации резорбтивных процессов, проявляющейся как клеточными (лакунарная), так и неклеточными (пазушная) формами. В результате чего происходит разрастание волокнистой соединительной ткани в участках потери костного вещества.

При гистологическом исследовании фрагментов костной ткани животных в остром эксперименте обнаружено увеличение клеточного состава губчатой костной ткани по сравнению с контрольной группой. Каналы остеонных выстилки расширенными и содержали спавшие сосуды. Гиперплазия остеонцитов обнаруживалась преимущественно в зоне периоста и сопровождалась увеличением и размытостью аппозиционных линий роста, принимавших волнистый характер, что свидетельствует об интенсивном процессе регенераторного костеобразования. В то время как в срезах костной ткани контрольной группы выявлялась бледность окраски основного вещества костной ткани, базофильные линии склеивания выглядели прямыми, четкими с регулярным расположением.

Таким образом, в остром эксперименте показано, что при избытке в пищевом рационе селена, активируются процессы гипертрофии костной ткани. В заключение необходимо отметить, что Омская область относится к регионам с недостаточным содержанием селена [1]. В связи с этим разрабатываются мероприятия по селенизации продуктов питания и применению биологических добавок, содержащих селен. Однако при данных мероприятиях надо учи-

тывать токсическое действие селена, в частности его влияние на костную ткань.

Библиографический список

1. Бобко Е.В. Избранные сочинения / Е.В. Бобко. — М.: Сельскохозяйственная литература, 1963. — 360 с.
2. Каббата-Пендьяс А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Каббата-Пендьяс, Х. Каббата-Пендьяс. — М.: Мир, 1989. — 439 с.
3. Орлов Д.С. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении / Д.С. Орлов, А.К. Садовников, И.Н. Лозановская. — М.: Высш. шк., 2002. — 334 с.
4. Черников В.А. Агроэкология / В.А. Черников, А.И. Чекарес. — М.: Высш. шк., 2000. — 536 с.

КОНВАЙ Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры химии Омского государственного аграрного университета.

СИНДИРЕВА Анна Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и биологии Омского государственного аграрного университета.

ЗАЙКО Олег Александрович, заместитель директора оздоровительного центра «Камелот».

СИМАХОВ Роман Вячеславович, врач-ординатор кафедры ортопедической стоматологии Омской государственной медицинской академии.

Статья поступила в редакцию 27.09.06 г.

© Конвай В. Д., Синдирева А. В., Зайко О. А., Симахов Р. В.

УДК 577.121: 636.2

**И. П. СТЕПАНОВА
И. В. КОНЕВА
В. В. МУГАК
К. Н. СИНЮГИН
Я. С. МАКАРОВА**

Омский государственный
аграрный университет

К ВОПРОСУ О ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ НАДЕЖНОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ

Изучена диагностическая надежность биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени и почек, у крупного рогатого скота разного возраста и при разных физиологических состояниях.

В настоящее время для оценки функционирования физиологических систем детоксикации в основном используются биохимические показатели, отражающие функциональное состояние печени и почек. Детоксицирующая и экскреторная функции печени оцениваются по таким показателям как мочевина и билирубин. Первая является продуктом обезвреживания аммиака и выделяется из организма почками. Билирубин, который в основном образуется в ретикулоэндотелиальной системе, поступает в печень, где конъюгируется и экскрети-

руется с желчью в кишечник. Эффективность этих процессов зависит, в частности, от адекватного функционирования данного органа.

Известно, что печень, помимо обезвреживания токсических веществ, осуществляет экскреторную и белоксинтезирующую функции. При этом и общее количество белка, и его основные физико-химические параметры зависят от состояния гепатоцитов. Поэтому важное диагностическое значение имеют такие показатели как общий белок и тимоловая проба. Последняя характеризует функциональное со-

стояние печени и используется в клинической практике для диагностики воспалительного поражения данного органа.

Клетки печени имеют прямой контакт как с интерстициальным, так и с внутрисосудистым пространством. К тому же проницаемость стенок капилляров в печени высока. Следовательно, при патологии гепатоцитов ферменты, освобождающиеся из клеток, быстро оказываются в плазме крови. Особенно ярко проявляются изменения активности аминотрансфераз при острых и хронических воспалительных процессах в печени. Показано, что активность этих энзимов существенно возрастает и при токсическом поражении печени.

Почки являются основным экскретирующим органом, обеспечивающим поддержание постоянства состава внутренней среды и кислотно-основного состояния организма. Обе эти глобальные функции связаны, в частности, с осморегулирующей ролью почек, способной изменяться при их поражении.

Состояние этого основного выделительного органа в клинической практике оценивается и по такому показателю как креатинин. Установлено, что гиперкреатининемия обусловлена нарушением функции почек любого происхождения и наблюдается в тех случаях, когда разрушено более 60 % тканей почки.

Целью исследования явилось изучение биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени и почек, для совершенствования методов диагностики.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на крупном рогатом скоте красной степной породы в ряде хозяйств Омской области. Схема проведения исследований представлена на рис. 1. В первой серии исследований изучалась группа клинически здоровых телок в разные возрастные периоды (по $n = 15$) и коров в возрасте 3–4 лет с аналогичными показателями массы, молочной продуктивности (средней) и количеством лактаций (2–3) при разных физиологических состояниях (по $n = 30$). Продолжительность сухостойного периода составляла 60, раздоя – 100 суток после отела. Кроме того, обследовалась группа живот-

ных с клиническими признаками сдвигов в обмене веществ. У телок наблюдались отставание в росте, снижение массы тела, потеря шерстного покрова в области живота и шеи и т.д. Группа коров делилась на две подгруппы (по $n = 10$): с 1-й (слабой) и 2-й (явной) степенью выраженности метаболических нарушений (названия – условные). Животные 1-й подгруппы характеризовались снижением молочной продуктивности, 2-й – снижением массы тела, потерей шерстного покрова в области живота и шеи и т.д. Вторая серия исследований проводилась на группах-аналогах крупного рогатого скота по 15 голов в каждой. Общепринятые биохимические показатели сыворотки крови: общий белок, мочевины, креатинин, общий билирубин, аспартатаминотрансфераза (АсАТ), аланинаминотрансфераза (АлАТ), тимоловая реакция определялись унифицированными методами с помощью наборов реактивов фирмы «Клини-Тест» (Россия).

Результаты исследования

Биохимическому обследованию были подвергнуты клинически здоровые телки в онтогенезе. При анализе результатов более пристальное внимание обращалось на значения показателей у животных раннего возраста. Известно, что в определенные периоды индивидуального развития животного в организме в результате внутренних причин может развиваться стрессовое состояние, характеризующееся как «физиологический» стресс. Акт рождения и ранний постнатальный период индивидуума являются классической биологической моделью физиологического стресса, когда развитие стрессового состояния с проявлением всех его неотъемлемых атрибутов у новорожденного сочетается с необходимостью осуществления специфических адаптивных реакций. Это во многом связано с существенными различиями в метаболизме плода и новорожденного из-за различного характера и типа поступления питательных веществ в организм, а также их использования.

Известно, что белки сыворотки крови играют ведущую роль в обменных процессах в организме крупного рогатого скота. Поскольку они быстро об-

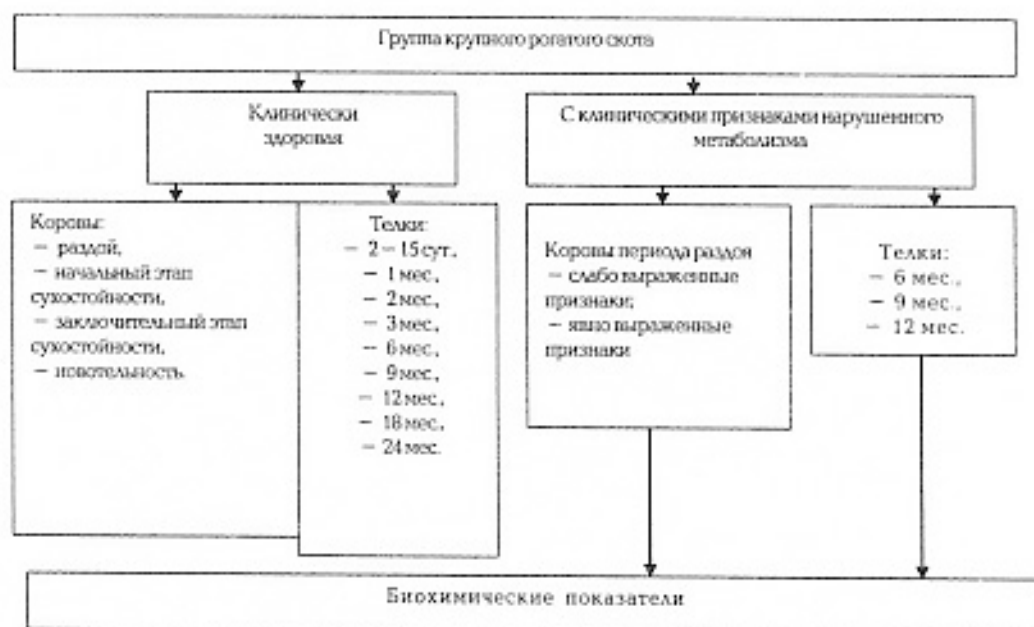


Рис. 1. Схема проведения исследования

Таблица 1
Содержание общего белка, мочевины и креатинина сыворотки крови
клинически здоровых тёлочек ($\bar{X} \pm Sd$)

Возраст тёлок, n = 15	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
285 сут.	58,79 \pm 3,71 ***	2,90 \pm 0,21	0,095 \pm 0,009 ***
1 мес. (контроль)	66,21 \pm 2,86	3,27 \pm 0,20	0,062 \pm 0,004
3 мес.	67,87 \pm 2,69	3,56 \pm 0,21	0,053 \pm 0,004 *
6 мес.	69,44 \pm 2,26	3,76 \pm 0,13 *	0,047 \pm 0,005 *
9 мес.	71,05 \pm 4,62	3,83 \pm 0,35 *	0,043 \pm 0,005 ***
12 мес.	74,60 \pm 4,61 *	3,84 \pm 0,37 *	0,043 \pm 0,005 ***
18 мес.	76,87 \pm 2,63 ***	3,83 \pm 0,35 *	0,043 \pm 0,005 ***
24 мес.	80,34 \pm 3,09 ***	3,89 \pm 0,40 *	0,046 \pm 0,006 **

Примечание: *, **, *** – достоверность различий по сравнению с контролем (соответственно $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$).

Таблица 2
Содержание общего билирубина и значения тимоловой реакции
сыворотки крови здоровых тёлочек ($\bar{X} \pm Sd$)

Возраст тёлочек, n = 15	Общий билирубин, мкмоль / л	Тимоловая реакция, ед.
285 сут.	4,27 \pm 1,07 *	0,77 \pm 0,16 *
1 мес. (контроль)	6,93 \pm 1,54	1,15 \pm 0,20
3 мес.	8,27 \pm 1,90	1,24 \pm 0,25
6 мес.	8,46 \pm 1,83	1,29 \pm 0,23
9 мес.	7,97 \pm 1,68	1,37 \pm 0,19
12 мес.	8,27 \pm 1,90	1,33 \pm 0,26
18 мес.	8,27 \pm 1,90	1,35 \pm 0,28
24 мес.	7,84 \pm 1,44	1,47 \pm 0,34

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,05$.

новляются и переходят в другие ткани, считают, что возрастные изменения концентрации белков в крови отражают их динамику в организме в целом.

Каждому возрастному и физиологическому периоду развития животных присущи определенные изменения белкового обмена. Так, сыворотка крови новорожденных тёлочек относительно бедна белком (табл. 1).

Уже к 1-месячному возрасту животных его количество достоверно увеличивается, в последующем до 12 месяцев продолжается постепенное повышение концентрации общего белка. К годовалому возрасту тёлочек его содержание стабилизируется и соответствует уровню взрослых животных.

Полученные результаты согласуются с данными М.Ф. Юдина и др. [5] и об увеличении количества общего белка сыворотки крови по мере развития организма животного. Возрастное увеличение значений этого показателя отражает, по-видимому, лучшее усвоение азота корма, связанное с совершенствованием пищеварительной системы. Имеются сообщения о резком увеличении концентрации общего белка в 9 месяцев и о ее снижении к 12 месяцам [2]. Этот факт, возможно, объясняется изменением обмена веществ в период полового созревания тёлочек. По сведениям Е.Ф. Зоган [9], с возрастом снижается

содержание альбуминов относительно количества общего белка и повышается уровень глобулинов. Абсолютная же концентрация альбуминов возрастает за счет повышения уровня общего белка.

Важно заметить, что наиболее выраженные возрастные изменения присущи глобулиновым фракциям белков [2]. У животных в возрасте от 1 до 6 месяцев содержание α -глобулинов постепенно снижается. Наиболее низкий уровень этой фракции отмечен в возрасте 6 месяцев, что, возможно, связано с полным переходом телят на безмолочное питание. В 7 месяцев концентрация α -глобулинов возрастает и сохраняется на этом уровне до достижения животными годовалого возраста. Количество β -глобулинов снижается к 6 месяцам, незначительно увеличивается к 7 месяцам и остается постоянным до 12-месячного возраста. Содержание γ -глобулинов увеличивается с 3 месяцев, что, очевидно, связано с иммунобиологическим созреванием организма.

Исследования выявили, что концентрация мочевины сыворотки крови к 6-месячному возрасту тёлочек постепенно повышается, а с 6 месяцев устанавливается на стационарном уровне, характерном для взрослых животных. Полученные данные согласуются с выводами Я.З. Лебенгарца и др. [2], но противостоят сведениям J. Ide [8]. Согласно данным

Активность аминотрансфераз сыворотки крови
клинически здоровых телок ($\bar{X} \pm Sd$)

Таблица 3

Возраст телок, n = 15	АЛАТ, ммоль/л·ч	АсАТ, ммоль/л·ч
285 сут.	0,42 ± 0,03	0,72 ± 0,03
1 мес. (контроль)	0,39 ± 0,02	0,69 ± 0,03
3 мес.	0,36 ± 0,02	0,67 ± 0,03
6 мес.	0,35 ± 0,02	0,64 ± 0,04
9 мес.	0,36 ± 0,03	0,63 ± 0,04
12 мес.	0,36 ± 0,03	0,63 ± 0,04
18 мес.	0,36 ± 0,03	0,64 ± 0,05
24 мес.	0,36 ± 0,04	0,64 ± 0,04

Содержание общего белка, мочевины и креатинина сыворотки крови
клинически здоровых коров ($\bar{X} \pm Sd$)

Таблица 4

Физиологическое состояние, n = 30	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
раздой (контроль)	80,46 ± 2,83	3,96 ± 0,34	0,045 ± 0,003
начальный этап сухостойности	81,69 ± 2,36	3,74 ± 0,16	0,045 ± 0,002
заключительный этап сухостойности	82,22 ± 3,34	3,81 ± 0,36	0,044 ± 0,004
новотельность	84,58 ± 3,88	3,88 ± 0,23	0,045 ± 0,004

нижеупомянутого автора, наибольшее содержание мочевины сыворотки крови наблюдается в раннем возрасте, что свидетельствует о более интенсивном обмене и повышенной утилизации азота в организме и, как следствие этого, повышенном синтезе белка в тканях.

Самая высокая концентрация креатинина сыворотки крови характерна для новорожденных телок, к 3 месяцам она снижается и устанавливается на уровне, соответствующем взрослым животным. Данные литературы о возрастной динамике креатинина противоречивы. В частности, имеются сообщения об увеличении его содержания по мере роста животных [6].

У здоровых телок в сыворотке крови конъюгированный билирубин практически не определяется, поэтому представленное в табл. 2 количество общего билирубина соответствует концентрации его неконъюгированной фракции.

Следует отметить, что у новорожденных животных значения этого показателя ниже, чем у телок других возрастных групп.

Пробы на коллоидоустойчивость проводятся при всех заболеваниях, сопровождающихся диспротеинемией. Существуют более 300 коллоидно-химических реакций, но чаще всего применяется тимоловая проба. Самые низкий уровень этого показателя выявлен у новорожденных животных, начиная с 1-месячного возраста телок значения пробы стабилизируются (табл. 2).

Физиологическая роль аминотрансфераз в организме животных весьма многообразна. Реакции переаминирования служат промежуточным звеном при синтезе аминокислот из аммиака и кетокислот, при окислительном дезаминировании аминокислот, а также при инверсии аминокислот в организме. Установлено, что активность АЛАТ и АсАТ сыворотки крови телок в онтогенезе практически не изменяется (табл. 3).

Полученная возрастная динамика каталитической функции аминотрансфераз соответствует

данным A. Guzikiewicz et J. Bombowski [7]. В то же время имеются сведения о резком увеличении активности ферментов по мере роста животных [2]. По-видимому, сочетание замедленного распада белков с повышением активности анаболических энзимов в значительной мере определяет быстрый рост животных в молодом возрасте. Наряду с этими данными, есть сообщения о снижении каталитической функции сывороточных АЛАТ и АсАТ от 3 до 12-месячного возраста животных [2]. Результаты собственных исследований и данные литературы показывают недостаточную изученность возрастной динамики аминотрансфераз.

В целом при исследовании белкового метаболизма у клинически здоровых телок разного возраста установлено, что содержание общего белка, мочевины, билирубина, креатинина сыворотки крови, значения тимоловой пробы (табл. 2, 3) соответствуют референтным значениям с учетом возраста, представленных Б.В. Ушой и др. [3]. Концентрации общего билирубина, креатинина, мочевины и общего белка стабилизируются к 1-, 3-, 6- и 12-месячному возрасту животных соответственно. Значения тимоловой реакции устанавливаются на уровне характерном для взрослых животных, начиная с 1 месяца.

Период родов сопровождается развитием стрессового состояния, которое характеризуется максимальным напряжением компенсаторно-адаптационных механизмов материнского и плодового организмов. При этом, кроме существенной активации симпат-адреналового звена эндокринной системы, происходят изменения в процессах обмена веществ, в частности, белков [4].

При обследовании клинически здоровых коров в периоды начального и заключительного этапов сухостойности, новотельности и раздоя выявлено, что в сыворотке крови содержание общего белка, мочевины и креатинина практически не различается (табл. 4).

Сведения литературы об уровне белкового обмена у коров при разных физиологических состояниях

Таблица 5
Содержание общего билирубина и значения тимоловой реакции сыворотки крови здоровых коров ($\bar{X} \pm Sd$)

Физиологическое состояние, n = 30	Общий билирубин, мкмоль/л	Тимоловая реакция, ед
раздой (контроль)	7,55 \pm 1,2	1,41 \pm 0,25
начальный этап сухостойности	8,67 \pm 1,9	1,30 \pm 0,25
заключительный этап сухостойности	8,48 \pm 1,5	1,78 \pm 0,39
новотельность	9,11 \pm 1,7	1,85 \pm 0,29

Таблица 6
Активность аминотрансфераз сыворотки крови клинически здоровых коров ($\bar{X} \pm Sd$)

Физиологическое состояние, n = 30	АлАТ, нмоль/л·ч	АсАТ, нмоль/л·ч
раздой (контроль)	0,36 \pm 0,01	0,65 \pm 0,04
начальный этап сухостойности	0,27 \pm 0,01 ***	0,60 \pm 0,03
заключительный этап сухостойности	0,30 \pm 0,01 *	0,60 \pm 0,04
новотельность	0,25 \pm 0,03 ***	0,54 \pm 0,03 **

Примечание: *, **, *** – достоверность различий по сравнению с контролем (p<0,05; p<0,01; p<0,001)

Таблица 7
Содержание общего белка, мочевины, креатинина сыворотки крови клинически здоровых телок (контроль) и с клиническими признаками метаболических нарушений ($\bar{X} \pm Sd$)

Возраст телок, n = 15	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
6 мес. (контроль)	69,44 \pm 2,26	3,76 \pm 0,13	0,047 \pm 0,005
6 мес.	72,10 \pm 2,92	3,83 \pm 0,30	0,045 \pm 0,005
9 мес. (контроль)	71,05 \pm 4,62	3,83 \pm 0,35	0,043 \pm 0,005
9 мес.	75,91 \pm 4,51	3,97 \pm 0,17	0,047 \pm 0,004
12 мес. (контроль)	74,60 \pm 4,61	3,84 \pm 0,37	0,043 \pm 0,005
12 мес.	72,73 \pm 2,57	3,95 \pm 0,17	0,045 \pm 0,002

противоречивы. Так, по данным Р.Е. Габриелян [1], у животных, находящихся на разных стадиях лактации, концентрации в крови общего белка, альбуминов, α -, β -, γ -глобулинов являются близкими. У сухостойных же коров некоторые показатели существенно отличаются, в частности, наблюдается повышение количества общего белка, альбуминов и γ -глобулинов.

При исследовании содержания общего билирубина сыворотки крови клинически здоровых коров обнаружено, что его значения не выходят за пределы нормативных величин (табл. 5). Хотя следует отметить тенденцию к повышению этого показателя в периоды начального и заключительного этапов сухостойности и новотельности.

В целом исследование основных общепринятых биохимических показателей функционального состояния печени и почек у здоровых коров показало, что они, так же как и у клинически здоровых телок, соответствуют норме с учетом физиологического состояния.

Активность АлАТ достоверно снижается при начальном и заключительном этапах сухостойности и при новотельности, активность АсАТ – при новотельности относительно контроля (табл. 6).

Практически такая же картина наблюдается у животных с клиническими признаками нарушенно-

го метаболизма. Так, в группе телок содержание общего белка, мочевины и креатинина не изменяется по сравнению с контролем (табл. 7).

У коров с отклонениями в обмене веществ значения этих показателей соответствуют норме (табл. 8).

Однако следует отметить тенденцию к повышению общего белка, мочевины и креатинина сыворотки крови животных с высокой степенью выраженности обменных нарушений.

В группах телок с клиническими проявлениями сдвигов в обмене веществ активность аминотрансфераз сыворотки крови соответствует норме (табл. 9).

У коров со слабо выраженными проявлениями метаболических отклонений каталитическая функция аминотрансфераз сыворотки крови практически не отличается от нормы. В то же время у коров с явно выраженными признаками метаболических нарушений наблюдается достоверное повышение активности АлАТ по отношению к здоровым животным – аналогам (табл. 10).

Содержание общего билирубина у 6-, 9- и 12-месячных телок с проявлениями сдвигов в обмене веществ практически не изменяется по сравнению с контролем, принимая соответственно следующие значения: 9,87 \pm 2,13; 8,65 \pm 1,72; 9,37 \pm 1,84 мкмоль/л (p>0,05). У коров периода раздоя со слабо и явно

Таблица 8
Содержание общего белка, мочевины, креатинина сыворотки крови здоровых коров периода раздоя (контроль) и с клиническими признаками метаболических нарушений ($\bar{X} \pm Sd$)

Группа коров	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
контроль, n = 30	80,46 \pm 2,83	3,96 \pm 0,34	0,045 \pm 0,003
слабо выраженные признаки, n = 10	85,25 \pm 3,85	4,32 \pm 0,29	0,046 \pm 0,003
явно выраженные признаки, n = 10	85,55 \pm 4,86	4,41 \pm 0,35	0,050 \pm 0,002

Таблица 9
Активность аминотрансфераз сыворотки крови клинически здоровых телок (контроль) и с клиническими признаками метаболических нарушений ($\bar{X} \pm Sd$)

Возраст телок, n = 15	ААТ, ммоль/л·ч	АсАТ, ммоль/л·ч
6 мес. (контроль)	0,35 \pm 0,02	0,64 \pm 0,04
6 мес.	0,36 \pm 0,03	0,66 \pm 0,04
9 мес. (контроль)	0,36 \pm 0,03	0,63 \pm 0,04
9 мес.	0,38 \pm 0,03	0,65 \pm 0,04
12 мес. (контроль)	0,36 \pm 0,03	0,63 \pm 0,04
12 мес.	0,38 \pm 0,03	0,68 \pm 0,02

Таблица 10
Активность аминотрансфераз сыворотки крови клинически здоровых коров периода раздоя (контроль) и с клиническими признаками метаболических нарушений ($\bar{X} \pm Sd$)

Группа коров	ААТ, ммоль/л·ч	АсАТ, ммоль/л·ч
контроль, n = 30	0,36 \pm 0,01	0,65 \pm 0,04
слабо выраженные признаки, n = 10	0,37 \pm 0,03	0,67 \pm 0,04
явно выраженные признаки, n = 10	0,43 \pm 0,03 **	0,68 \pm 0,04

Примечание: ** — достоверность различий по сравнению с контролем ($p < 0,01$)

выраженными клиническими признаками метаболических нарушений концентрация общего билирубина соответственно равна $10,40 \pm 2,55$ и $11,37 \pm 2,61$ ($p > 0,05$).

Значения тимоловой реакции у крупного рогатого скота с проявлениями нарушенного метаболизма находятся на уровне здоровых животных. Этот показатель у телок в возрасте 6, 9, и 12 месяцев соответственно равен $1,60 \pm 0,35$; $1,40 \pm 0,32$; $1,84 \pm 0,41$ ед. ($p > 0,05$). У коров периода раздоя со слабо и явно выраженными признаками обменных отклонений коллоидно-осадочная проба принимает значения $2,34 \pm 0,48$ ($p < 0,05$) и $2,4 \pm 0,40$ ед. ($p < 0,01$). Однако, несмотря на достоверное повышение тимоловой реакции, ее значения находятся в пределах нормы.

Выводы

1. Каждый индивидуальный период развития животного характеризуется определенной интенсивностью обмена веществ.

2. Общепринятые биохимические показатели, отражающие функциональное состояние печени и почек, не всегда объективно характеризуют метаболический статус. Они не позволяют выявлять в организме адекватное усиление функциональной системы детоксикации в ответ на гиперпродукцию «первичных токсинов», а неадекватное ее усиление обнаруживают только при локализации первичного патологического очага в печени или почках.

Библиографический список

1. Габриелин, Р.Э. Особенности обмена веществ у коров в зависимости от физиологического состояния / Р.Э. Габриелин // Зоотехника. — 2001. — № 7. — С. 21-23.
2. Лебенгарц, Я.З. Возрастные особенности иммунологической реактивности и обмена веществ крупного рогатого скота / Я.З. Лебенгарц // С.-х. биология. — 1994. — № 6. — С. 66-67.
3. Уша, Б.В. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных: учебники и учеб. пособия для высш. учеб. заведений / Б.В. Уша, И.М. Беляков, Р.П. Пушкарёв. — М.: КолосС, 2003. — 487с.
4. Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях / Под ред. А.Г. Шахова. — Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2001. — 209 с.
5. Юдин, М.Ф. Этология крупного рогатого скота / М.Ф. Юдин, Н.Г. Фенченко, В.Н. Азаренко. — Троицк, 2001. — 165 с.
6. Berglund, B. Blood levels of leukocyte, glucose, urea, creatinine, calcium, inorganic phosphorus and magnesium in dairy heifers from three months of age to calving. zbl. / B. Berglund // Veter. Med. 1983. — Vol. 30. — № 1. — P. 59-71.
7. Guzikiewicz, A. Levels of ASAT patane ALAT aldolase and phosphatase in blood serum of some breeds and crosses of cattle // A. Guzikiewicz, J. Bombowski // Genet. Pol. — 1991. — Vol. 42. — № 4. — P. 503-515.
8. Ide J. Effect of dietary condition upon serum and milk urea nitrogen in cows. I. Serum and milk-urea nitrogen as effected by protein intake / J. Ide // Japan J. Veter. Sci. — 1985. — Vol. 48. — № 6. — P. 321-327.

СТЕПАНОВА Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой химии.
КОНЕВА Ирина Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии.

МУТАК Вера Васильевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии.

СИНЮГИН Константин Николаевич, аспирант кафедры химии.

МАКАРОВА Янина Станиславовна, аспирант кафедры химии.

Статья поступила в редакцию 22.11.06 г.

© Степанова И. П., Конева И. В., Мутак В. В.,

Синюгин К. Н., Макарова Я. С.

УДК. 619:612.12:636.2

**Т. В. ПОСТНОВА
И. П. СТЕПАНОВА**

ЭКЦ УВД по Омской области

Омский государственный
аграрный университет

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОГЕННЫХ АЦЕТАЛЬДЕГИДА И ЭТИЛОВОГО СПИРТА КРОВИ КОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ И РАЦИОНАХ

Получены данные о содержании эндогенных ацетальдегида и этилового спирта в крови коров при различных физиологических состояниях. Выявлены различия в содержании этих метаболитов в крови животных в зависимости от рациона.

Этанол и ацетальдегид — естественные метаболиты организма животных. Эти вещества в физиологических концентрациях имеют важное физиологическое значение, тогда как в высоких концентрациях способны оказывать токсическое воздействие на организм [1, 2, 3]. Ввиду того, что в последние годы в рацион крупного рогатого скота вводят отходы пивоваренного производства, сведения о содержании этих метаболитов в крови с учетом физиологического состояния животных представляют интерес. Период стельности и родов характеризуется максимальным напряжением компенсаторно-адаптационных механизмов материнского и плодового организмов. При этом существенно активизируется функция эндокринной системы, и в частности, ее симпатoadrenalовое звено. Это состояние сопровождается усилением биосинтеза и увеличением уровня в крови катехоламинов. Помимо этого активируются процессы обмена липидов, белков и углеводов [5].

Материалы и методы исследований

Проводилось две серии исследований. В первой серии изучалась группа коров черно-пестрой породы ($n = 10$) в возрасте 3–4 лет с аналогичной массой и молочной продуктивностью при различных физиологических состояниях, содержащихся в хозяйстве «Рассвет» Любинского района Омской области в типовых животноводческих помещениях. Изучались следующие группы животных: 15 дней сухостоя (группа 1), 7–10 дней до отела (группа 2), 15 дней

после отела (группа 3) и 3–4 месяца после отела (группа 4). Вторая серия исследований проведена на группах коров (по $n = 10$) при одинаковом физиологическом состоянии (15 дней после отела), содержащихся в разных хозяйствах и получавших принятый в данных хозяйствах рацион (группы 3 и 5).

Определялось содержание эндогенных этанола и ацетальдегида цельной крови с помощью метода капиллярной газовой хроматографии [4]. Метод основан на газохроматографическом разделении исследуемых компонентов с использованием капиллярной колонки и последующем количественном определении ацетальдегида и этилового спирта в дистиллятах цельной крови крупного рогатого скота.

Диапазон измеряемых концентраций ацетальдегида и этилового спирта — от 0,5 до 1000 мг/дм³.

Разделение веществ дистиллятов крови и их количественное определение проводилось на газовом хроматографе фирмы «Хьюлетт Паккард» (США), модель 5890, серия 2, с пламенно-ионизационным детектором и системой электронного регулирования потока газа-носителя; колонка хроматографическая капиллярная «HP-FFAP» (США) 50м × 0,32 мм × 0,52 мкм.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью непараметрических методов анализа.

Результаты и их обсуждение

Исследования выявили, что концентрация эндогенного этилового спирта в крови коров при различных физиологических состояниях находится при-

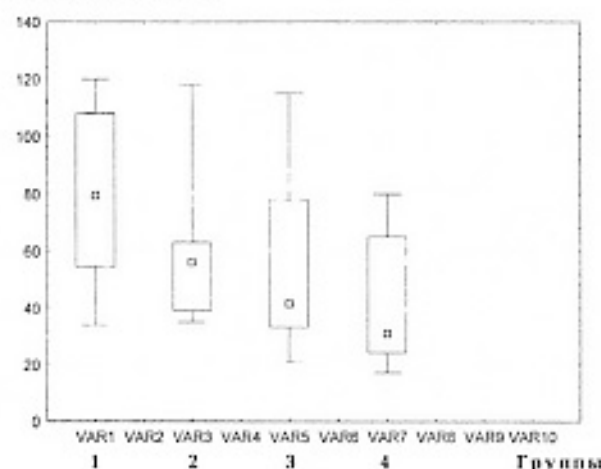
Концентрация, 10^{-5} %

Рис. 1. Содержание эндогенного этанола в крови коров при различных физиологических состояниях

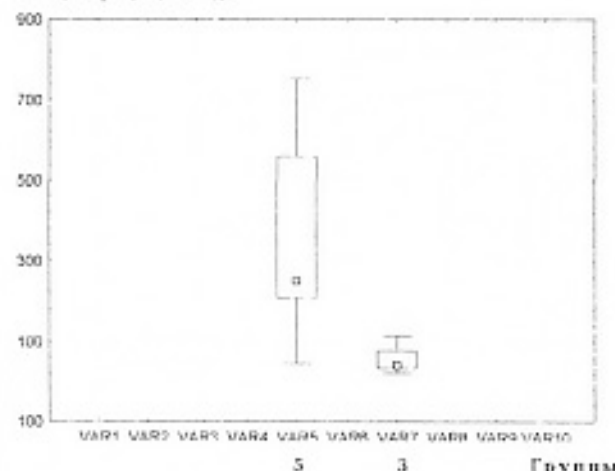
Концентрация, 10^{-5} %

Рис. 2. Содержание эндогенного этанола в крови коров при одинаковых физиологических состояниях, имеющих разный рацион

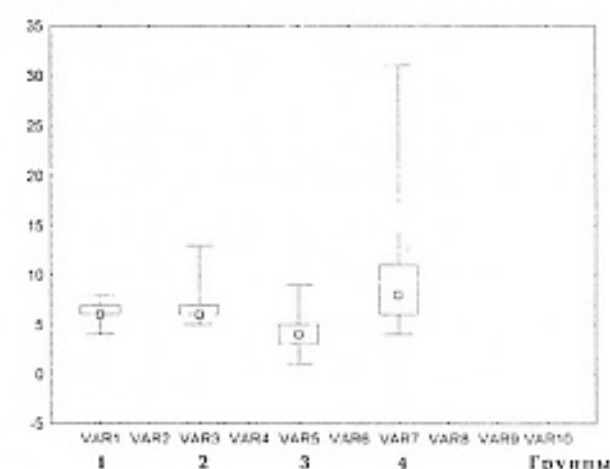
Концентрация, 10^{-5} %

Рис. 3. Содержание эндогенного ацетальдегида в крови коров при различных физиологических состояниях

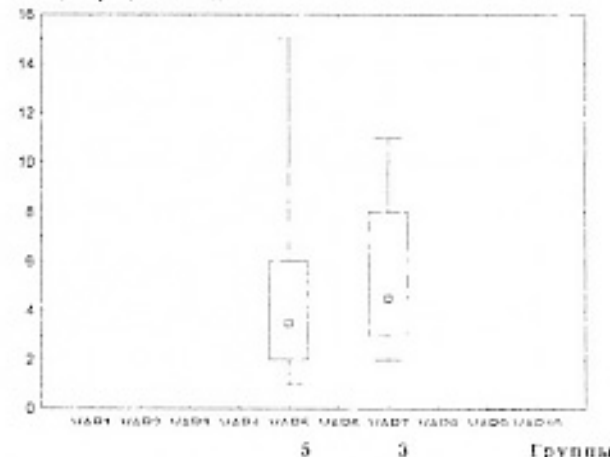
Концентрация, 10^{-5} %

Рис. 4. Содержание эндогенного ацетальдегида в крови коров при одинаковых физиологических состояниях (15 дней после отела), но имеющих разный рацион

мерно на одном уровне (табл. 1, рис. 1). Наблюдаются отличия в содержании этого метаболита в крови животных при одинаковом физиологическом состоянии, но с разным рационом (табл. 1, рис. 2).

Концентрация эндогенного ацетальдегида во всех изучаемых группах значительно ниже уровня этилового спирта, особенно существенны различия в группе 5 (табл. 1). Следует, однако, отметить, примерно одинаковое содержание уксусного альдегида в крови животных при различных физиологических состояниях (рис. 3). При разных рационах кормления существенных отличий в содержании этого метаболита, в отличие от этанола, не выявлено (рис. 2, 4). У животных группы 5 отмечаются значительные отклонения в концентрации эндогенного ацетальдегида. Аналогичная картина в данной группе наблюдается и для эндогенного этанола (рис. 2).

Следует отметить, что у животных всех групп выявлены отличия в уровне этанола и ацетальдегида. Концентрация эндогенного этилового спирта примерно в 10 раз выше концентрации эндогенного ацетальдегида (табл. 1). Данный факт может быть объяснен большой реакционной способностью ацетальдегида и его высокой биологической активностью, а так же, по-видимому, более низким его содер-

Таблица 1
Концентрация эндогенных этанола и ацетальдегида в крови коров (10^{-5} %)

Группы	Этанол	Ацетальдегид
1	79,60 ± 20,77	6,10 ± 0,79
2	62,20 ± 41,38	7,40 ± 3,99
3	54,30 ± 22,78	5,40 ± 2,11
4	41,80 ± 16,60	11,70 ± 7,22
5	338,11 ± 181,09	5,50 ± 3,51

жанием в кормах. Эндогенный этиловый спирт может регулировать концентрацию ацетальдегида в клетках млекопитающих и являться его поставщиком в необходимых для обменных процессов количествах, что и объясняет более высокое его содержание в крови.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Статистически достоверных отличий в содержании эндогенных ацетальдегида и этилового спирта в крови коров при различных физиологических состояниях не имеется.

2. Содержание эндогенного этанола в крови животных в отличие от ацетальдегида зависит от рациона.

Полученные результаты, несомненно, представляют интерес, так как могут быть использованы при составлении рационов кормления животных.

Библиографический список

1. Корнеев А.А. О биологическом значении ацетальдегида как клеточного регулятора дыхательной цепи митохондрий / А.А. Корнеев, И.А. Комиссарова // Успехи современной биологии. — 1994. — Т. 114, вып.2. — С. 212-220.
2. Островский Ю.М. Биологический компонент в генезисе алкоголизма / Ю.М. Островский, В.И. Сатановский, М.Н. Садовник. — Минск: Наука и техника, 1986.
3. Сторожок С.А. Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу / С.А. Сторожок, А.Ф. Панченко, Ю.Д. Филиппович.

В.С. Глушков // Вопросы медицинской химии — 2001. — № 2. — С. 31 — 35.

4. Постнова Т.В. Новая методика определения эндогенных ацетальдегида и этилового спирта в крови крупного рогатого скота методом капиллярной газовой хроматографии / Т.В. Постнова // Омский научный вестник. — Омск: Изд-во ОмГТУ — 2006. — № 3 (36). — С. 158-160.

5. Шахов А.Г. Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях. — М., 2001. — 207с.

ПОСТНОВА Татьяна Вячеславовна, эксперт-криминалист, Экспертно-криминалистический центр УВД по Омской области, соискатель кафедры химии Омского государственного аграрного университета.

СТЕПАНОВА Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой химии Омского государственного аграрного университета.

Статья поступила в редакцию 20.11.06 г.

© Постнова Т. В., Степанова И. П.

УДК 577.1:636.2

**К. Н. СИНЮГИН
И. П. СТЕПАНОВА**

Омский государственный
аграрный университет

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КОРОВ

Определена активность ферментов антиоксидантной системы крови клячиески здоровых коров с помощью современных методик и лабораторного оборудования.

В последние годы усилился интерес к изучению свободнорадикального метаболизма у сельскохозяйственных животных, поскольку сведения об интенсивности процессов перекисного окисления липидов и состоянии антиоксидантной системы необходимо учитывать при составлении рационов. Кроме того, своевременное определение дисбаланса в деятельности про- и антиоксидантной систем позволяет устранить выявленные нарушения с помощью сбалансированного кормления или системной антиоксидантной терапии [4, 5].

В стационарных условиях перекисное окисление липидов протекает на крайне низком уровне, тем не менее продукты свободнорадикальных реакций участвуют в регуляции проницаемости клеточных мембран, необходимы для стабильности липопротеиновых комплексов. Важной физиологической функцией этих процессов является обновление фосфолипидного состава мембран, индукция биоэнергетических процессов, активация ряда ферментов, регулирующих переключение метаболических путей клетки. В результате перекисидации липидов создаются условия для синтеза прогестерона, простагландинов, лейкотриенов и ряда других активных веществ. Работы последних лет свидетельствуют о том, что свободнорадикальные реакции липидов

лежат в основе реакций фагоцитоза. Между тем длительная интенсификация процессов перекисного окисления липидов приводит к повреждению мембран липидов, нарушению ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты, накоплению токсичных продуктов перекисидной денатурации липидов [1, 2, 3].

Возможные нарушения предотвращаются за счет функционирования антиоксидантной системы, объединяющей антирадикальные и антиперекисидные механизмы. Этот комплекс реакций, встречающихся во всех живых организмах от растений до высших животных и человека, рассматривается как универсальная биологическая система естественной детоксикации [7]. По современным представлениям система антиоксидантной защиты в клетке состоит из неферментативного и ферментативного звеньев, согласованное действие которых обеспечивает неспецифическую резистентность организма.

Неферментативное звено включает водо- и жирорастворимые антиоксиданты. Водорастворимыми являются низкомолекулярные белковые соединения на основе глутатиона, а также аскорбиновая кислота (витамин С). Жирорастворимые антиоксиданты включают: вещества из группы витамина Е, стероидные гормоны, витамины А и К, флавоноиды (витамин Р) и полифлавоноиды (убихинон). Эти вещества

являются либо ловушками свободных радикалов, либо разрушают пероксидные соединения. Ферментативное звено антиоксидантной защиты представлено оксидоредуктазами (глутатионредуктаза) а также антирадикальными и антипероксидными (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и др.) ферментами.

Традиционно для оценки устойчивости антиоксидантной системы в биохимических лабораториях определяют активность ферментов. В недалеком прошлом такие методики требовали специального оборудования, дорогостоящих реактивов, отличались сложностью и длительностью проведения анализов, а самое главное — низкой воспроизводимостью. В настоящее время эти недостатки устраняются путем использования наборов реактивов для фотометрических определений. Однако до сих пор сведений об активности ферментов антиоксидантной системы крови коров, эксплуатирующихся в хозяйствах Омской области, полученных с помощью современных методик, не имеется, что и явилось целью исследования.

Материалы и методы

Научные исследования выполнены на базе СПК им. Кирова Крутинского района Омской области на группе клинически здоровых коров черно-пестрой породы в возрасте 3-4 лет в период лактации с аналогичными показателями массы и молочной продуктивности, у которых общепринятые показатели белкового, углеводного, липидного и минерального обменов находились в пределах референтных значений. Исследования проведены в зимний стойловый период. Животные каждой подгруппы получали одинаковый по структуре и питательности рацион, принятый в хозяйстве.

Состояние антиоксидантной системы крови животных изучалось путем определения активности супероксиддисмутазы ($n = 43$) и глутатион-6-фосфатазы ($n = 15$). Супероксиддисмутаза обеспечивает превращение супероксидного анион-радикала в менее активный окислитель — пероксид водорода. Образующийся пероксид водорода элиминируется каталазой и пероксидазами, восстанавливающими пероксид водорода до воды. В этих реакциях принимает участие трипептид глутатион, обладающий редуцирующими свойствами.

Активность ферментов определялась фотометрическими методами с использованием наборов реак-

тивов фирмы «Ольвекс» на биохимическом анализаторе Screen Master в лаборатории резистентности молодняка ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет».

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью непараметрических методов анализа, так как функция распределения значений изучаемых показателей имеет незначительно выраженную левую асимметрию (рис. 1, 2). В этом случае вычисление традиционного симметричного доверительного интервала ($\pm t_{\alpha,n} \cdot S_d / \sqrt{n-1}$) значений показателя (\bar{X}) параметрическим методом наименьших квадратов привело бы к неправильному выводу о вероятности появления положительных значений показателя ($\bar{X} \pm t_{\alpha,n} \cdot S_d / \sqrt{n-1}$).

Функция распределения значений изучаемого показателя имеет незначительно выраженную левую асимметрию. В этом случае вычисление традиционного симметричного доверительного интервала ($\pm t_{\alpha,n} \cdot S_d / \sqrt{n-1}$) значений показателя (\bar{X}) параметрическим методом наименьших квадратов приведет к неправильному выводу о вероятности появления положительных значений показателя ($\bar{X} \pm t_{\alpha,n} \cdot S_d / \sqrt{n-1}$).

Результаты и их обсуждение

Значения активности антиоксидантных ферментов крови коров для уровня значимости 0,05 представлены в таблице.

Выявлена значительную вариабельность значений, что, по-видимому, объясняется индивидуальными особенностями организма. Референтный интервал для активностей энзимов антиоксидантной системы до сих пор не определен, хотя имеются единичные сообщения о их значениях в работах М.И. Рецкого [4, 5].

Полученные результаты представляют интерес, поскольку активность ферментов в отличие от рутинных биохимических анализов позволяет своевременно определять состояние оксидативного стресса в организме. Высокую чувствительность изучаемых показателей можно объяснить исходя из современных представлений о функциональном взаимодействии в животном организме процессов адаптации и детоксикации.

Организм с помощью компенсаторно-приспособительных реакций ведет непрерывную борьбу за сохранение гомеостаза. В ответ на всякое изменение условий возникает серия стереотипных приспособ-

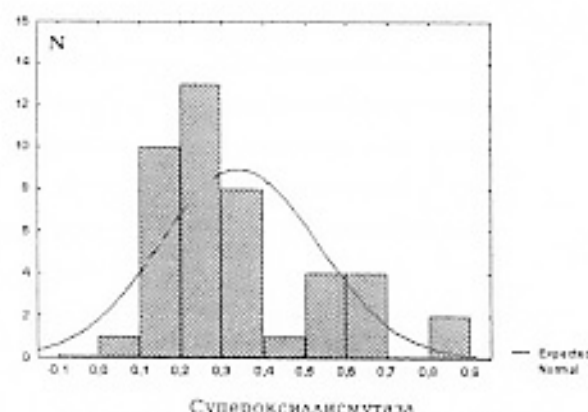


Рис. 1. Гистограмма распределения значений супероксиддисмутазы. N — число зарегистрированных значений показателя в принятых интервалах

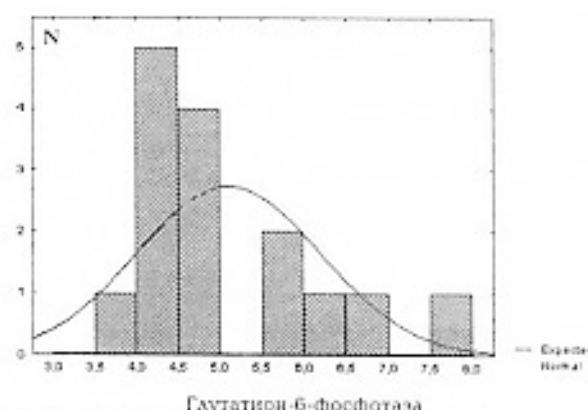


Рис. 2. Гистограмма распределения значений глутатион-6-фосфатазы. N — число зарегистрированных значений показателя в принятых интервалах

Показатель	Супероксиддисмутаза, МЕ / л, n = 43	Глутатион-6-фосфатаза, МЕ / л, n = 15
Среднее значение (\bar{X})	0,34	5,09
Среднее квадратичное отклонение (S_d)	0,03	0,28
Медиана	0,28	4,66
25 -й процентиль	0,19	4,36
75 -й процентиль	0,43	5,99
Минимальное значение	0,06	3,77
Максимальное значение	0,85	7,7

бительных реакций, направленных на обеспечение защиты как клетки, так и целостного организма. Причем эти реакции не являются специфическими, а представляют собой разнообразные комбинации функций организма, «развертывающихся на той же материальной основе, что и в норме, но протекающие с большей интенсивностью» [6]. По своей сути адаптация есть прежде всего изменение скорости естественно протекающих биохимических реакций.

При воздействии какого-либо эндо- или экзогенного фактора независимо от своей природы и происхождения, который воспринимается клеткой как стресс, разворачивается стандартная стресс-реакция. В результате чего активируется регуляторная стресс-система, призванная осуществлять «настройку» органов и тканей, вовлеченных в адаптацию, на функционирование в новых условиях.

Основным результатом активации стресс-системы является увеличенный выброс стресс-гормонов — глюкокортикоидов, катехоламинов и др., ангиотензина II, цитокинов и цитокинов, способствующих мобилизации функций органов и тканей, ответственных за адаптацию, и обеспечивают увеличение их энергообеспечения.

Интенсивность стресс-реакции определяется соотношением активации стресс-системы, реализующей ответ организма на стрессор и «стресс-лимитирующих систем», которые могут ограничивать активность первых.

Слабые эффекты этиологического фактора купируются приспособительными реакциями, в то время как при чрезмерно интенсивной и длительной стресс-реакции начинают продуцироваться в высоких концентрациях «первичные токсины», в том числе активные формы кислорода. Кратковременный выброс этих соединений, сигнализируя о неблагополучии и мобилизуя многочисленные реакции, способствует нормализации химических процессов, а сами свободные радикалы устраняются действием антирадикальной системы. Однако если такой «выброс» является продолжительным или очень мощным, антиоксидантная система (одна из стресс-лимитирующих систем) не справляется с огромным количеством свободных радикалов. В результате чего индуцируется или активируется комплекс взаимосвязанных реакций, который приводит к образованию патогенетически очень сложного метаболического каскада. Наблюдается активация системы комплемента, стимуляция продукции цитокинов, активация метаболизма арахидоновой кислоты по липоили оксигеназным путям, активация системы свертывания крови и фибринолиза, активация кали-

креин-кининовой системы, дисбаланс в регуляции сосудистого тонуса, активация фагоцитов и т.д.

Разобщение функционирования про- и антиоксидантной систем приводит к развитию оксидативного стресса, который характеризуется внутриклеточной кальциевой перегрузкой, угнетением энергопродукции, накоплением в тканях и биологических жидкостях веществ нормального и извращенного метаболизма.

Чрезвычайно высокие концентрации биологически активных веществ с низкой и средней молекулярной массой, прежде всего пептидной природы, оказывают дезорганизующее действие на функциональные системы организма, вызывая многообразные патофизиологические изменения на молекулярном, клеточном и системном уровнях. При этом для полной нейтрализации избытка протеаз эндогенных ингибиторов оказывается недостаточно. Возникают структурно-функциональные изменения в клетках, в первую очередь, интенсивно функционирующих и повреждаемых этиологическим фактором тканей, органов, физиологических систем.

Фактически нормальные регуляторные системы активируются до такой степени, что компоненты и продукты деятельности этих систем, продуцируемые в высоких концентрациях, дают цитотоксические эффекты или обладают способностью стимулировать такие эффекты, т.е. стресс-реакция из звена адаптации превращается в звено патогенеза.

Все сказанное выше означает, что по состоянию антиоксидантной системы можно своевременно выявить появление в организме избытка «первичных токсинов», поэтому при диспансеризации животных в комплекс традиционно определяемых метаболических показателей обязательно следует включать и показатели свободнорадикального метаболизма.

Заключение

С помощью современных фотометрических методов при использовании наборов реактивов фирмы определены активности супероксиддисмутазы и глутатион-6-фосфатазы крови клинически здоровых коров черно-пестрой породы в период лактации, значения которых следует учитывать при составлении рационов животных. Эти методики могут быть широко использованы на практике для выявления состояния оксидативного стресса в организме животных, что позволит своевременно корректировать отклонения в свободнорадикальном метаболизме с помощью системной антиоксидантной терапии.

1. Владимирова, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимирова // Вестн. РАМН. — 1998. — № 7. — С. 43–51.
2. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // Вопросы мед. химии. — 2001. — Т. 47, № 6. — С. 561–581.
3. Зенков, Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Земщиков. — М., 2001. — 343 с.
4. Рецкий, М.И. Система антиоксидантной защиты у животных при стрессе и его фармакологической регуляции: дисс. ... докт. биол. наук / М.И. Рецкий. — Воронеж, 1997. — 396 с.
5. Молекулярно-биохимические механизмы стресса и адаптации. — М.И. Рецкий и [др.] / В монографии: Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности жи-

вотных в современных условиях / Под ред. А.Г. Шахова. — Воронеж: Воронежский гос. университет, 2001. — С. 29–85.

6. Саркисов, Д.С. Очерки общей патологии / Д.С. Саркисов. — М., 1993. — 512 с.

7. Тиунов, А.А. Биохимические механизмы адаптации и компенсации нарушенных функций при действии на организм химических веществ / А.А. Тиунов // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. — М. Медицина, 1998. — С. 366–381.

СИНЮГИН Константин Николаевич, аспирант.
СТЕПАНОВА Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой химии.

Статья поступила в редакцию 14.12.06 г.

© Синюгин К. Н., Степанова И. П.

УДК 591.105:636.2

Т. П. МИЦУЛЯ
И. П. СТЕПАНОВА

Омский государственный
аграрный университет

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РАЗНОГО ВОЗРАСТА И ПОЛА

Определены возрастные и половые отличия в содержании эндогенных этанола и ацетальдегида крови крупного рогатого скота с использованием хроматографического метода анализа.

Каждому возрастному периоду развития животного соответствует определенный уровень обмена веществ в силу многочисленных факторов: совершенствование системы пищеварения, половое созревание, смена режима кормления и условий содержания и т.д. Изменение уровня основных метаболитов азотистого, углеводного, липидного и минерального обмена в возрастном и половом аспекте достаточно подробно представлено рядом исследователей [1]. В то же время данные об уровне эндогенных этанола и ацетальдегида крови крупного рогатого скота практически отсутствуют.

Эти метаболиты выполняют в организме важную биологическую роль. Так, например, ацетальдегид является одним из регуляторов работы дыхательной цепи клетки, причем свое регуляторное действие он проявляет посредством изменения структурно-функционального состояния убикинона [2].

В физиологических условиях существует равновесие между ферментативными реакциями, образующими этанол и ацетальдегид и реакциями, утилизирующими эти вещества. Результатом этих процессов является низкий уровень эндогенных этанола и ацетальдегида. Однако он может повышаться вследствие нарушения метаболизма либо вследствие поступления этих соединений с кормами и биодобавками [3]. В то же время этанол, и ацетальдегид в концентрациях, превышающих физиологическую

норму, способны оказывать токсическое действие. Так, этанол способен оказывать непосредственное воздействие на биологические мембраны, в результате которого изменяются процессы мембранного транспорта, системы трансмембранной передачи информации и активность мембраносвязанных ферментов [4]. Ацетальдегид способен образовывать аддукты с белками и нуклеиновыми кислотами, вызывая образование антител, инактивацию ферментов, нарушение репарации ДНК. Кроме того, это соединение может снижать уровень восстановленного глутатиона, стимулировать продукцию цитокинов и цитокинов [5]. В связи с тем, что в последние годы в рацион животных добавляются отходы пивоваренного производства, актуальность определения этанола и ацетальдегида крови животных возрастает.

Целью настоящего исследования явилось определение концентраций этанола и ацетальдегида крови крупного рогатого скота с учетом пола и возраста.

Материалы и методы

Уровень содержания эндогенных этанола и ацетальдегида крови изучены на группах телок (n = 10) и бычков (n = 10) 1-, 3-, 9- и 12- месячного возраста черно-пестрой породы, содержащихся в типовых животноводческих помещениях. Кровь для исследо-

Таблица

Определение достоверности рядов данных по полу с использованием парного коэффициента Стьюдента ($p < 0,05$)

Возраст, мес.	Вероятность Р	
	этанол	ацетальдегид
1	0,113	0,417
3	0,522	0,945
9	0,594	0,649
12	0,803	0,748

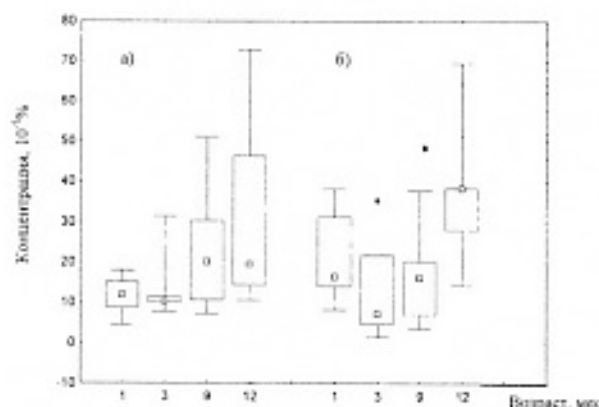


Рис. 1. Содержание эндогенного этанола крови бычков (а) и телок (б) разного возраста. Примечание: * $p < 0,05$ относительно контроля (животные 12 мес)

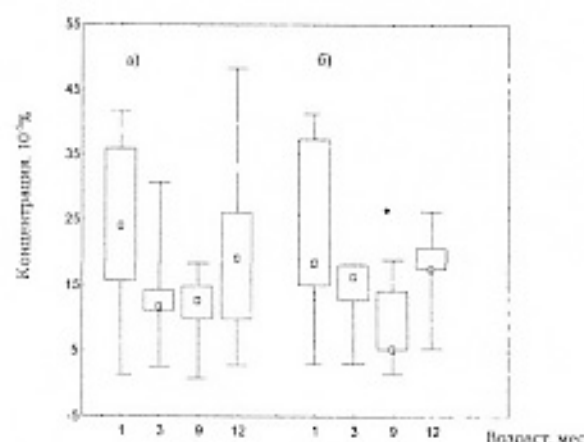


Рис. 2. Содержание эндогенного ацетальдегида крови бычков (а) и телок (б) разного возраста. Примечание: * $p < 0,05$ относительно контроля (животные 12 мес).

ваний брали из яремной вены в утреннее время. Рационы кормления в зависимости от возраста включали следующие корма:

- 1-месячные телята: молоко, мел, поваренная соль;
- 3-месячные телята: молоко, сено, силос, овес, мел, поваренная соль;
- 9-месячные: сено, силос, кормосмесь, мел, поваренная соль;
- 12-месячные: сено, силос, кормосмесь, мел, поваренная соль [6].

Исследования проводены методом капиллярной газовой хроматографии, разработанным на кафедре химии ФГОУ ВПО ОмГАУ [7].

Определение веществ осуществляли на газовом хроматографе фирмы «Хьюлетт Паккард» (США), модель 5890, серия 2, с пламенно-ионизационным детектором и системой электронного регулирования потока газа-носителя.

Принцип метода основан на газохроматографическом разделении исследуемых компонентов с использованием капиллярной колонки и последующем количественном определении ацетальдегида и этилового спирта в дистиллятах цельной крови. Разделенные на хроматографической колонке «НР-FFAP» (США) компоненты смеси поочередно поступают в пламенно-ионизационный детектор, сигналы которого регистрируются в виде ряда хроматографических пиков. Установление подлинности ве-

ществ производится по времени их удерживания, которое исчисляется от момента введения анализируемого вещества в колонку до появления максимума пика. Расчет концентрации этилового спирта и ацетальдегида осуществляется с помощью внутреннего стандарта, в качестве которого используется 1,2-пропиленгликоль.

Результаты обработаны статистически с использованием непараметрических методов анализа.

Результаты исследования

Выявлена значительная вариабельность уровня эндогенных этанола и ацетальдегида внутри каждой изучаемой группы животных, что, по-видимому, объясняется индивидуальными особенностями метаболизма особей.

Возрастные закономерности изменения концентрации эндогенных этанола и ацетальдегида изучались отдельно для бычков и телок. При изучении содержания этанола установлено, что у 1- и 3-месячных бычков оно находится примерно на одном уровне, к 9-месячному возрасту наблюдается тенденция к повышению этого метаболита, в диапазоне с 9 до 12 месяцев его уровень практически одинаковый (рис. 1а). У телок наблюдается волнообразное изменение концентрации этанола: к 3 месяцам происходит ее незначительное снижение, а к 12 месяцам – достоверное повышение (рис. 1б).

Анализ содержания эндогенного ацетальдегида крови бычков и телок выявил, что у бычков уровень этого метаболита незначительно снижается с 1 до 3 месяцев, у 3-, 9- и 12-месячных животных находится на одном уровне (рис. 2а). У телок наблюдается несколько иная картина: с 1- до 9-месячного возраста наблюдается снижение концентрации уксусного альдегида, затем к 12-месяцам – достоверное увеличение (рис. 2б).

Полученные возрастные динамика содержания эндогенных этанола и ацетальдегида объясняется завершением развития пищеварительной системы (6-9 месяцев) и изменением обмена веществ в период полового созревания животных (9-12 мес.).

При сопоставлении концентраций этанола и уксусного альдегида крови в одновозрастных группах разного пола статистически достоверных отличий не выявлено (табл.).

Заключение

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Уровень эндогенных этанола и ацетальдегида крови внутри каждой одновозрастной группы животных, причем как бычков, так и телок, значительно варьирует.

2. Содержание эндогенных этанола и ацетальдегида крови в группах бычков разного возраста не отличается. У телок наблюдается достоверное увеличение обоих метаболитов с 9 до 12 месяцев.

3. Концентрации этанола и уксусного альдегида крови в одновозрастных группах разного пола между собой не отличаются.

Полученные результаты могут быть использованы для своевременной диагностики нарушения метаболизма при добавлении в рацион животных отходов пивоваренных производств.

Библиографический список

1. Уша, Б.В. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных: учебники и учеб. пособия для высш. учеб. заведений / Б.В. Уша, И.М. Беляков, Р.П. Пушкарев. — М.: КолосС, 2003. — 487 с.
2. Корнеев, А.А. О биологическом значении ацетальдегида как клеточного регулятора дыхательной цепи митохондрий / А.А. Корнеев, И.А. Комисарова // Успехи соврем. биологии. — 1994. — Т. 114, вып. 2. — С. 212-220.
3. Виноградов, В.А. Кормовые дрожжи-белотин в рационе коров / В.А. Виноградов, М.Н. Кириллов // Молочное и мясное скотоводство. — 2003. — № 1. — С. 19-22.

4. Сторожок, С.А. Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу / С.А. Сторожок, А.Ф. Панченко, Ю.Д. Филиппович, В.С. Глушков // Вопросы медицинской химии. — 2001. — № 2. — С. 31-35.

5. Silerct, S. De novo lipogenesis, lipid kinetics and whole-body lipid balance in humans after acute alcohol consumption / S. Silerct, R. Neese, M. Hellerstein // American J. Clin. Nutr. — 1999. — Vol. 70. — p. 928-936.

6. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных / под ред. А.П. Калашникова. — М.: Знание, 1994. — 350 с.

7. Постнова, Т.В. Новая методика определения эндогенных ацетальдегида и этилового спирта в крови крупного рогатого скота методом капиллярной газовой хроматографии / Т.В. Постнова // Омский научный вестник. — Омск: Изд-во ОмГТУ — 2006. — № 3 (36). — С. 158 — 160

МИЦУЛЯ Татьяна Петровна, заведующая учебно-химической лабораторией, кафедра химии.

СТЕПАНОВА Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой химии.

Статья поступила в редакцию 19.12.06 г.

© Мицуля Т. П., Степанова И. П.

УДК. 619:612.12:636.2

Т. П. МИЦУЛЯ

Омский государственный
аграрный университет

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА В КРОВИ ТЕЛЯТ

Проведено сравнение содержания эндогенных этанола и ацетальдегида, активности аминотрансфераз, транспептидазы и концентраций молочной и пировиноградной кислот в крови одномесячных телят и человека. Выявлено значительное отличие содержания этанола и ацетальдегида как по абсолютным значениям, так и по соотношению у млекопитающих с разным типом питания.

В связи с добавлением в рацион сельскохозяйственных животных, в том числе крупного рогатого скота, продуктов переработки пивоваренной промышленности проблема изучения метаболизма эндогенных этанола и ацетальдегида является актуальной не только для здравоохранения, но и для зоотехнии и ветеринарии. В отходах таких производств присутствуют мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы [1], способные метаболизировать клетчатку в организме крупного рогатого скота с образованием ряда естественных метаболитов, в том числе ацетальдегида и этанола. В свою очередь, высокие концентрации этих соединений могут приводить, в частности, к изменению активности гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), нарушению соотношения активностей аспартат- (АсАТ) и аланинаминотрансфераз (АлАТ) и к повышению содержания оксикислот [2, 4].

Однако сведения о концентрациях эндогенных этанола и ацетальдегида в крови крупного рогатого скота, а также их соотношения с активностями вышеперечисленных энзимов и оксикислот в доступной

литературе отсутствуют, что и явилось целью исследования.

Материалы и методы

Проанализированы образцы цельной крови ($n = 10$) телят черно-пестрой породы месячного возраста одинаковой массы, содержащихся в типовых животноводческих помещениях и получавших рацион, соответствующий нормам кормления, методом газовой хроматографии, разработанным на кафедре химии ФГОУ ВПО ОмГАУ [3].

Исследования проводились на газовом хроматографе фирмы «Хьюлетт Паккард» (США), модель 5890, серия 2, с пламенно-ионизационным детектором и системой электронного регулирования потока газа-носителя.

Принцип метода основан на газохроматографическом разделении исследуемых компонентов с использованием капиллярной колонки и последующем количественном определении ацетальдегида и этилового спирта в дистиллятах цельной крови.

Таблица 1
Биохимические показатели крови млекопитающих ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показатель	Содержание	
	телята	человек
АлАт, МЕ/л	48,50 \pm 3,20	17,50 \pm 2,50
АсАт, МЕ/л	57,50 \pm 4,50	24,20 \pm 3,23
ГГТ, МЕ/л	20,10 \pm 6,10	60,50 \pm 5,86
Молочная кислота, ммоль/л	8,26 \pm 0,42	1,04 \pm 0,07
ПБК, ммоль/л	0,10 \pm 0,02	0,09 \pm 0,01

Расчет концентрации ацетальдегида и этилового спирта осуществлялся с помощью внутреннего стандарта, качество которого использовался 1,2-пропиленгликоль.

Активность аминотрансфераз и ГГТ, содержание молочной и пировиноградной кислот изучались на полуавтоматическом биохимическом анализаторе открытого типа «Screen Master LHD-113», производство фирмы «Хоспитекс» (Швейцария-Италия) с использованием биохимических наборов для определения фирмы «Ольвекс».

Активность аминотрансфераз определялась кинетическим методом, основанном на проведении сопряженных ферментных реакций.

Активность ГГТ определялась по конечной точке с использованием хромогенного субстрата – гамма-глутамил-р-нитроанилина. Количество образовавшегося р-нитроанилина соответствовало активности энзима в сыворотке крови.

Концентрация пировиноградной кислоты (ПБК) исследовалась в безбелковом центрифугате крови конденсированием с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием гидразона, который в щелочной среде приобретает красно-коричневую окраску. По интенсивности окраски определялась концентрация ПБК.

Энзиматическое установление содержания молочной кислоты основано на дегидрировании ее молекул с участием лактатдегидрогеназ в присутствии НАД. По количеству образовавшегося НАД H_2 находилось содержание молочной кислоты [5].

Обсуждение результатов

Выявлена значительная вариабельность концентраций эндогенных этанола и ацетальдегида у телят. Содержание этанола колеблется от 6,22 до 23,77 ммоль/л, ацетальдегида – от 1,68 до 3,98 ммоль/л, что, очевидно, определяется индивидуальным состоянием систем окисления этих соединений. Эти значения показателей приняты нами за норму (для одомашненных телят).

При сопоставлении полученных данных крови животных с многокамерным желудком и имеющимися аналогичными сведениями литературы для моногастрических млекопитающих установлено значительное различие как в плане абсолютных значений, так и в плане соотношения этих метаболитов (у человека концентрация этанола – от 8,69 до 21,74 ммоль/л, а ацетальдегида – от 0 до 2,3 ммоль/л).

По сравнению с человеком у телят уровень этанола в крови выше в 30-45, а уровень ацетальдегида – в 100-1000 раз. Кроме того, соотношение этанола / ацетальдегида у телят – от 2 до 15 и человека от 100 до 1000.

Содержание АлАТ, АсАТ, ГГТ, молочной кислоты и ПБК приведено в табл. 1.

Выявлено значительное отличие эндогенных этанола и ацетальдегида у человека и телят, что, вероятно, связано, в первую очередь, в различном типом пищеварения. Отделы желудков крупного рогатого скота с первых дней жизни животных заселяется различными микроорганизмами и бактериями, одним из результатов жизнедеятельности которых является образование пировиноградной кислоты из простых сахаров. Дальнейшее превращение этого метаболита, возможно, и приводит к повышенному содержанию ацетальдегида.

Значения показателей активности ферментов согласуются с литературными данными для клинически здоровых животных соответствующего возраста.

Заключение

Уровень эндогенных этанола и ацетальдегида животных с многокамерным желудком и моногастрических млекопитающих существенно различается, поэтому представляется интересным изучить динамику концентраций этих метаболитов в постнатальном онтогенезе, выявить зависимость их содержания от рациона, а также определить корреляцию указанных метаболитов с некоторыми биохимическими показателями крови.

Библиографический список

1. Сницарь, А.А. Эффективность производства и перспективы использования сухой выжимки / А.А. Сницарь [и др.] // Свиноферма. – 2005. – №7. – С. 27–28.
2. Биохимические основы патологических процессов: учеб. пособие / под ред. Е.С. Северина. – М.: Медицина, 2000. – 304 с.
3. Постнова, Т.В. Новая методика определения эндогенных ацетальдегида и этилового спирта в крови крупного рогатого скота методом капиллярной газовой хроматографии / Т.В. Постнова // Омский научный вестник. – Омск: Изд-во ОмГТУ – 2006. – №3 (38). – С. 158–160.
4. Высокогорский, В.Е. Метаболические процессы алактолизма / В.Е. Высокогорский и др. // Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины: материалы фундаментальных и прикладных исследований по ведущим направлениям, разрабатываемым в ОГМА. – Омск: Изд-во ОГМА, 1999. – С. 10–13.
5. Камышников, В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: в 2 т. – 2-е изд. – М.: Интерпрессервис, 2003. – 495 с.

МИЦУЛЯ Татьяна Петровна, заведующая учебно-химической лабораторией, кафедра химии.

Статья поступила в редакцию 14.12.06 г.
© Мицуля Т. П.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ЯЙЦА КУРИНОГО ПИЩЕВОГО

Рассматривается возможность применения математического моделирования для прогнозирования показателей качества яйца куриного в зависимости от условий и сроков хранения.

Куриные яйца – неотъемлемая часть питания людей любого возраста, являются скоропортящимся продуктом, поэтому с целью защиты потребителей от некачественного продукта требуется постоянная проверка их показателей качества.

Контроль качества осуществляется различными методами, в том числе физико-химическими, многие из которых являются весьма дорогостоящими и трудоемкими. Прогнозирование показателей качества возможно с помощью методов математического моделирования, которое заключается в построении математической модели изучаемого объекта с целью более полного понимания его строения и свойств, а также возможности управления этим объектом. Оно позволяет избежать дополнительных исследований, а следовательно, и дополнительных затрат, однако используется крайне редко.

Цель исследования. Построение математической модели, характеризующей изменения качества яиц в зависимости от условий и сроков хранения.

Материалы и методы. Математическая модель построена на основе данных о состоянии индекса желтка яиц столовых отборных. Яйца хранились при температуре -2°C, +5°C, +10°C, +15°C, +20°C; индекс желтка определяли на 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 30-е, 60-е сутки хранения.

Математическое моделирование состояло из трех этапов. На первом этапе происходил сбор экспериментальных данных и представление их в виде таблиц. При этом исключались грубые промахи. Для объективности определения вида регрессионной зависимости проводилась математическая обработка результатов исследований. Для этого определялась однородность оценок дисперсий с помощью критерия Кохрена по следующей зависимости [1]:

$$G_p = \frac{\max S_i^2}{\sum_{i=1}^N S_i^2} \quad (1)$$

где $\max S_i^2$ – максимальная дисперсия серии параллельных опытов;

$\sum_{i=1}^N S_i^2$ – сумма дисперсий.

Для каждой серии параллельных опытов вычислялось среднее арифметическое значение функции отклика:

$$Y_{cp} = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k Y_{\alpha i} \quad (2)$$

Дисперсия серии параллельных опытов рассчитывалась по формуле [2]:

$$S_i^2 = \frac{1}{k-1} \sum_{i=1}^k (Y_{\alpha i} - Y_{cp})^2 \quad (3)$$

где i – номер серии;

k – число параллельных опытов, проведенных при одинаковых условиях;

N – число серий опытов (число оценок дисперсий).

Среди всех оценок дисперсий находилась наибольшая – $\max S_i^2$, которая подставлялась в формулу 1.

Гипотеза об однородности дисперсий принималась, если расчетное значение критерия Кохрена G_p меньше табличного $G_{таб}$, т.е. $G_p < G_{таб}$. Критические, т.е. предельно допустимые значения критерия Кохрена определялись по таблицам [3]. Для нахождения критерия Кохрена G необходимо знать общее число N оценок дисперсий и число степеней свободы f , связанных с каждой из них, причем $f = k-1$. Опыты считались воспроизводимыми, когда выполнялось условие $G_p < G_{таб}$.

Определение оптимального числа параллельных замеров производилось по формуле:

$$n_{opt} = \left(\frac{t \cdot S}{\Delta_{max}} \right)^2 \quad (4)$$

где t – значение аргумента функции Лапласа, при доверительной вероятности $p = 0,95$ $t = 1,96$ (табличная величина);

S – среднее квадратическое отклонение;

Δ_{max} – максимальная абсолютная погрешность.

Если опыты являлись воспроизводимыми, то дисперсии воспроизводимости серии параллельных опытов рассчитывались по формуле:

$$S_{восп}^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N S_i^2 \quad (5)$$

При этом число степеней свободы определялось по формуле [4]:

$$f = N(k-1) \quad (6)$$

На втором этапе математической обработке определялись коэффициенты b уравнения регрессии.

Из предварительных опытов известно, что зависимость между функцией отклика Y и выбранными

факторами в исследуемой области носит линейный характер (графическая иллюстрация). В связи с этим искалась эта зависимость в виде линейного уравнения регрессии [5]:

$$Y_p = b_0 + b_1 x_0 + b_2 x_1 + b_3 x_2 + \dots + b_k x_k. \quad (7)$$

В матричной форме система нормальных уравнений запишется следующим образом:

Матрицу независимых переменных представляли в виде:

$$X = \begin{bmatrix} x_{01} & x_{11} & \dots & x_{k1} \\ x_{02} & x_{12} & \dots & x_{k2} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{0N} & x_{1N} & \dots & x_{kN} \end{bmatrix}, \quad (8)$$

$$X = \begin{bmatrix} 1 & x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1m} \\ 1 & x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2m} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & x_{n1} & x_{n2} & \dots & x_{nm} \end{bmatrix}.$$

Матрицу вектора - наблюдения в виде:

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_N \end{bmatrix}, \quad (9)$$

Матрицу-столбец коэффициентов уравнения регрессии:

$$B = \begin{bmatrix} b_0 \\ b_1 \\ \vdots \\ b_k \end{bmatrix}. \quad (10)$$

При использовании метода наименьших квадратов система нормальных уравнений, для определения коэффициентов b_0, b_1, \dots, b_k , имеет вид:

$$\begin{cases} b_0 \sum x_{0i}^2 + b_1 \sum x_{0i} x_{1i} + \dots + b_k \sum x_{0i} x_{ki} = \sum x_{0i} y_i \\ b_0 \sum x_{1i} x_{0i} + b_1 \sum x_{1i}^2 + \dots + b_k \sum x_{1i} x_{ki} = \sum x_{1i} y_i \\ \dots \\ b_0 \sum x_{ki} x_{0i} + b_1 \sum x_{ki} x_{1i} + \dots + b_k \sum x_{ki}^2 = \sum x_{ki} y_i \end{cases} \quad (11)$$

Матрица-столбец коэффициентов b определялась следующим образом [5]:

$$b = (X \times X)^{-1} X \times Y. \quad (12)$$

В частном случае, когда рассматривается однофакторная зависимость коэффициенты расчетных зависимостей, полученные методом наименьших квадратов, рассчитывались по формулам [2]:

$$b_1 = \frac{\sum x_i \sum y_i - n \sum x_i y_i}{(\sum x_i)^2 - n \sum x_i^2}, \quad (13)$$

$$b_0 = \frac{(\sum y_i - b_1 \sum x_i)}{n}. \quad (14)$$

Расчет коэффициентов регрессии производился по разработанному алгоритму в компьютерных системах MathCAD Pro, Maple и Excel.

На третьем этапе осуществлялась проверка гипотезы о значимости коэффициентов регрессии b_i . Чтобы установить, значим коэффициент или нет, вычислялась оценка дисперсии, с которой он определялся:

$$S_b^2 = \frac{S_y^2}{N}. \quad (15)$$

Известно, что коэффициент регрессии значим, если выполнено условие:

$$|b| \geq S_b \cdot t, \quad (16)$$

где t – значение критерия Стьюдента определялся из таблицы при заданной достоверности эксперимента (p) и числа степеней свободы (f).

Причем число степеней свободы равно:

$$f = N(k - 1), \quad (17)$$

N – число опытов;

k – повторности каждого опыта.

Если соотношение (16) не выполняется, то соответствующий коэффициент регрессии можно исключить из уравнения.

Получив уравнение регрессии, проверялась его адекватность, т.е. способность достаточно хорошо описывать поверхность отклика и прогнозировать результаты опытов. Для проверки адекватности вычислялась оценка дисперсии адекватности по формуле:

$$S_{\text{ад}}^2 = \frac{1}{N - B} \sum_{i=1}^N (y_{\text{эк}} - y_{\text{р}})^2, \quad (18)$$

где B – число значимых коэффициентов регрессии, $y_{\text{эк}}, y_{\text{р}}$ – экспериментальное и расчетное значение функции отклика в i -м опыте;

N – число опытов полного факторного эксперимента.

С оценкой дисперсии адекватности связано число степеней свободы:

$$f = N - B.$$

Последующим шагом обработки являлось определение расчетного значения критерия Фишера:

$$F_p = \frac{S_{\text{ад}}^2}{S_y^2}, \quad (19)$$

Напомним, что S_y^2 – дисперсия воспроизводимости опытов.

Уравнение регрессии считается адекватным, если выполняется условие:

$$F_p \leq F, \quad (20)$$

где F – критическое (табличное) значение критерия Фишера [2].

Для оценки адекватности уравнения регрессии нами также использовалось корреляционное отношение, которое рассчитывалось по формуле [5]:

$$\eta = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^n (Y_{\text{эк}} - Y_{\text{р}})^2}{\sum_{i=1}^n (Y_{\text{эк}} - Y_{\text{ср}})^2}}, \quad (21)$$

где $Y_{\text{ср}}$ – экспериментальные значения;

Таблица 1
Матрица экспериментальных данных изменения индекса желтка куриных яиц

Температура, °C	Срок хранения, сутки					
	3	5	7	10	30	60
-2	0,52	0,50	0,49	0,48	0,46	0,44
5	0,51	0,49	0,48	0,47	0,44	0,40
10	0,50	0,48	0,47	0,45	0,40	0,36
15	0,49	0,47	0,46	0,44	0,37	0,30
20	0,46	0,44	0,42	0,40	0,32	0,24

$Y_{p,i}$ – значения функции отклика рассчитанные по формуле;

Y_{cp} – среднее значение экспериментальных данных.

В таблице корреляционное отношение равно 0,999, что говорит о высокой (близость к 1,0) коррелированности параметров и адекватности модели.

В технологических исследованиях чаще всего встречаются сложные взаимосвязи между явлениями (параметрами). Отсюда возникает задача определения интенсивности, или тесноты, связи между более чем двумя явлениями (переменными). Для этой цели в работе использовался коэффициент множественной корреляции, или совокупный коэффициент корреляции, который характеризует тесноту связи одной из переменных с совокупностью других.

Чем больше значение коэффициента приближается к единице, тем взаимосвязь сильнее. В случае если переменные x_1 и x_2 не коррелированы т.е. связь между ними отсутствует, то квадрат коэффициента множественной корреляции вычисляется по формуле:

$$R_{Y12}^2 = R_{Y1}^2 + R_{Y2}^2 \quad (22)$$

Чем теснее данные примыкают к линии регрессии, тем выше значение коэффициента корреляции. Таким образом, коэффициент множественной корреляции, как и коэффициент парной корреляции, может служить измерителем качества подбора уравнения регрессии. Чем ближе R к ± 1 , тем лучше подобрана регрессия.

Средняя относительная ошибка прогнозирования (%) рассчитывалась по формуле:

$$E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{Y_{exp,i} - Y_{p,i}}{Y_{exp,i}} \right| \quad (23)$$

где $Y_{exp,i}$, $Y_{p,i}$ и Y_{cp} – экспериментальное, расчетное и среднее значение величины Y ; n – количество экспериментальных значений Y , используемых для проверки адекватности.

На следующем этапе на основании таблиц и графиков происходило построение модели в программах Excel, MathCAD. При этом оценивалась адекватность модели, т.е. соответствие расчетных данных экспериментальным. Адекватность проверялась по коэффициенту корреляции и по ошибке прогнозирования. При адекватной модели значение коэффициента корреляции должно быть близко к 1, ошибка прогнозирования < 5%. Если же погрешность прогнозирования > 5%, тем более 20-30%, то погрешность слишком большая и модель не имеет смысла.

Результаты и их обсуждение. Динамики индекса желтка в зависимости от температуры и сроков хранения представлены в таблице 1.

По этим данным построены изотермы (рис.1). Они в логарифмических координатах характеризуют зависимость и интенсивность изменения индекса желтка от сроков хранения при заданной температуре. При этом видна точка бифуркации – критическое значение параметра системы, при котором возможен переход в новое качественное состояние, она приходится на десятые сутки хранения при любых температурных режимах. Бифуркация – скачкообразный переход системы из одного состояния в другое. Поэтому для детального рассмотрения свойств модели до точки бифуркации возможно построение

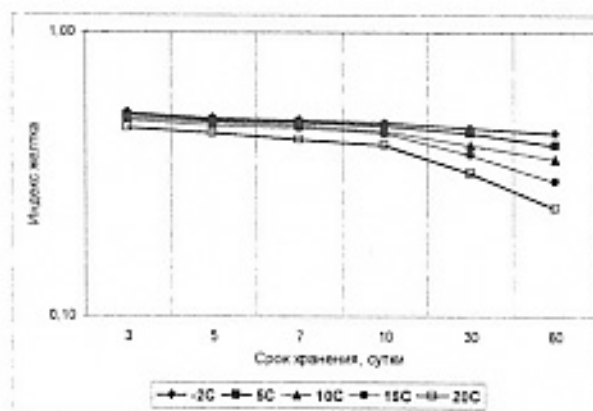


Рис. 1. Изотермы индекса желтка в логарифмических координатах

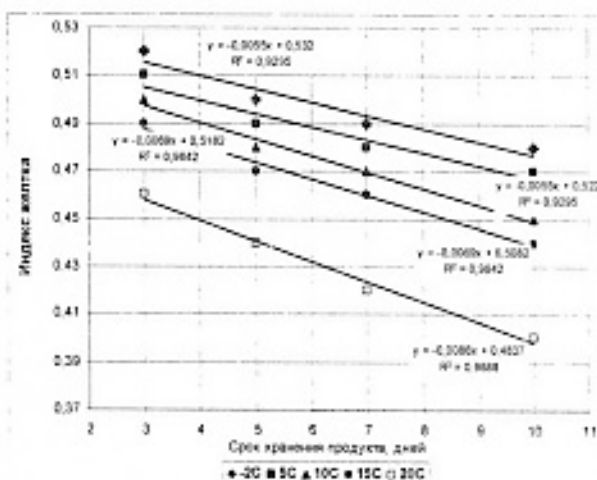


Рис. 2. Изменение индекса желтка в процессе хранения

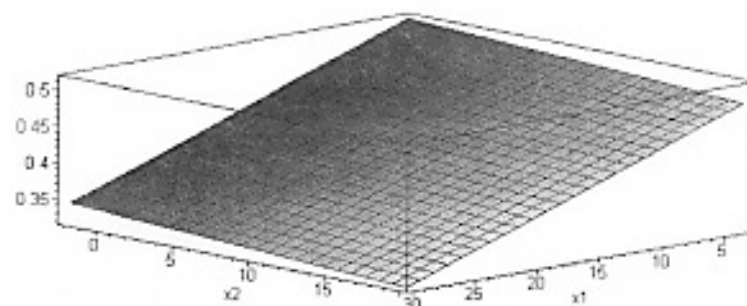


Рис. 3. Множественная линейная регрессия изменения индекса желтка. x_1 —срок хранения продукта, сутки; x_2 —температура хранения продукта

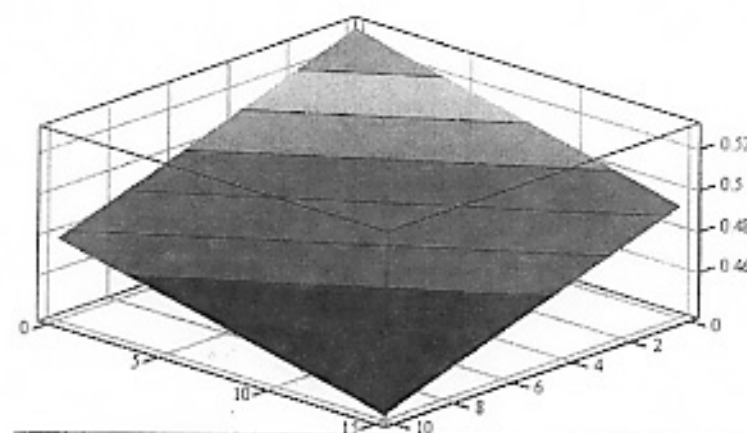


Рис. 4. Линейная регрессионная модель индекса желтка в зависимости от температуры и сроков хранения

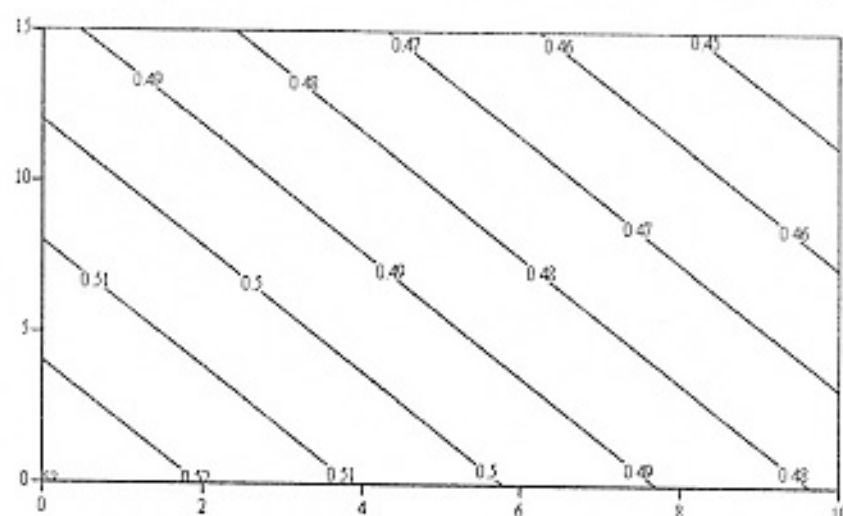


Рис. 5. Контурные линии равного уровня индекса желтка в зависимости от температуры и сроков хранения

модели индекса желтка яиц в процессе хранения при температурах хранения от -2°C до 15°C сроках хранения от 3 до 10 суток включительно (рис. 2).

Линейная регрессионная модель при $t = -2^{\circ}\text{C}$ имеет вид $y = -0.0055x + 0.532$ (коэффициент корреляции $R = 0.9295$); при $t = 5^{\circ}\text{C}$ $y = -0.0055x + 0.522$ ($R = 0.9295$); при $t = 10^{\circ}\text{C}$ $y = -0.0069x + 0.5182$ ($R = 0.9842$); при $t = 15^{\circ}\text{C}$ $y = -0.0069x + 0.5082$ ($R = 0.9842$); при $t = 20^{\circ}\text{C}$ $y = -0.0086x + 0.4837$ ($R = 0.9888$). Средняя ошибка прогнозирования составляет $E = 5,08\%$, что также подчеркивает высокий уровень адекватности регрессионной модели. Производим математическое моделирование изменения индекса желтка в зависимости от сроков хранения (3...10 суток) и температуры ($-2...15^{\circ}\text{C}$) хранения продукта (рис. 4, 5):

$$N := 4 \quad k := 1 \quad t := 0..N - 1$$

$$XY = \begin{pmatrix} 3 & -2 \\ 5 & 5 \\ 7 & 10 \\ 10 & 15 \end{pmatrix};$$

$$VZ = \begin{pmatrix} 0.52 \\ 0.49 \\ 0.47 \\ 0.44 \end{pmatrix};$$

$$\text{rows}(XY) = 4;$$

$$Rg := \text{regress}(XY, VZ, k);$$

$$Rg = \begin{pmatrix} 3 \\ 3 \\ 1 \\ -5.211 \times 10^{-3} \\ -2.51 \times 10^{-3} \\ 0.53 \end{pmatrix};$$

coeffs := submatrix (Rg, 3, length (Rg) - 1, 0, 0);

fit(x) := interp(Rg, XY, VZ, x);

$$\text{pred VZ} := \text{fit} \left[(XY^T)^{(0)} \right];$$

$$\text{coeffs} = \begin{pmatrix} -5.211 \times 10^{-3} \\ -2.51 \times 10^{-3} \\ 0.53 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a1 \\ a2 \\ a0 \end{pmatrix}.$$

Уравнение множественной линейной регрессии:

$$Z = a0 + a1 \cdot X1 + a2 \cdot X2$$

$$X1 := \begin{pmatrix} 3 \\ 5 \\ 7 \\ 10 \end{pmatrix}; \quad X2 := \begin{pmatrix} -2 \\ 5 \\ 10 \\ 15 \end{pmatrix};$$

$$Z = 0.53 - 5.211 \cdot 10^{-3} \cdot X1 - 2.51 \cdot 10^{-3} \cdot X2.$$

Частные коэффициенты корреляции:

$$\text{corr}(VZ, X1) = -0.995,$$

$$\text{corr}(VZ, X2) = -0.996,$$

$$Z = \begin{pmatrix} 0.519 \\ 0.491 \\ 0.468 \\ 0.44 \end{pmatrix}.$$

Коэффициент детерминации:

$$\frac{\sum (\text{predVZ} - \text{mean}(VZ))^2}{\sum (VZ - \text{mean}(VZ))^2} = 0.999.$$

Методика построения двумерного графика:

$$X := XY^{(0)}, \quad Y := XY^{(1)}.$$

$$x := 0, 1 \dots \max(X); \quad y := 0, 1 \dots \max(Y);$$

$$F_{x,y} := \text{interp} \left[Rg, XY, VZ, \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \right].$$

Множественная линейная регрессия изменения индекса желтка в зависимости от условий и сроков хранения до 30 суток (рис. 3) и до 10 суток (рис. 4).

При вводе параметров можно получить значение индекса желтка как внутри модели, так и за ее пределами. Так, при хранении яиц при температуре 5°C в течение 5 дней индекс желтка будет равен 0.493; при температуре 5°C в течение 15 дней — 0.482 и т.д.

Изменение индекса желтка в зависимости от температуры и сроков хранения наглядно демонстрируют контурные линии равного уровня (рис. 5).

Заключение. Математическое моделирование можно использовать при анализе показателей качества яиц. Исследование свойств построенной модели является значительно более легким и дешевым, по сравнению с проведением реального эксперимента, позволяет определить значения как внутри модели, так и за ее пределами, а также выявить детали поведения изучаемого объекта, ускользающие при прямом экспериментальном изучении.

Библиографический список

1. Ахназарова, С.А., Кафаров, В.В. Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии / С.А. Ахназарова, В.В. Кафаров. — М.: Высшая школа, 1978. — 317 с.
2. Саутин, С.Н., Пунин, А.Е. Мир компьютеров и химическая технология / С.Н. Саутин, А.Е. Пунин. — Л.: Химия, 1991. — 140 с.
3. Митков, А.А., Кардашевский, С.В. Статистические методы в сельскохозяйственном производстве / А.А. Митков, С.В. Кардашевский. — М.: Машиностроение, 1978. — 360 с.
4. Дьяконов, В.П. Maple / В.П. Дьяконов. — М.: Питер, 2002. — 665 с.
5. Кафаров, В.В. Методы кибернетики в химии и химической технологии / В.В. Кафаров. — М.: Химия, 1985. — 445 с.

КОЗЛОВА Евгения Петровна, старший преподаватель кафедры товароведения.

Статья поступила в редакцию 28.12.06 г.
© Козлова Е. П.

Книжная полка

Биологические основы сельского хозяйства: учебник: Допущено УМО / И. М. Ващенко, В. Г. Лошаков, Б. А. Ягодин и др.; Под ред. И. М. Ващенко. — М.: Высш.шк., 2007. — 544 с.

В учебнике представлены основы почвоведения, земледелия и агрохимии, способствующие повышению биологической продуктивности почв и урожайности растений. Приведены биологические и агротехнические особенности полевых, овощных, плодово-ягодных культур и технологии их выращивания. Рассмотрены биологические основы животноводства, разведения, кормления и содержания разных видов животных и птицы.

Для студентов учреждений высшего педагогического профессионального образования.

СТЕПЕНЬ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ И СРОКОВ ХРАНЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЯИЦ КУРИНЫХ ПИЩЕВЫХ

Рассматривается возможность применения дисперсионного анализа для изучения степени влияния условий хранения на показатели качества яйца куриного пищевого.

Куриные яйца входят в рацион питания большинства людей благодаря превосходным питательным качествам и идеальному для человека аминокислотному балансу. В то же время они являются скоропортящимся продуктом, качество которых зависит от множества факторов, в том числе от условий и сроков хранения [1]. В исследованиях все шире используются современные статистические методы анализа. Однако дисперсионный анализ, несмотря на то, что он позволяет оценить степень влияния различных, одновременно действующих факторов на результат наблюдения, используется крайне редко [2, 3, 4]. Так, нам не известны случаи использования этого метода для оценки качества яиц куриных пищевых.

Цель исследования

Изучение возможности использования дисперсионного анализа для выявления степени влияния условий хранения на показатели качества яйца куриного пищевого для выбора оптимальных режимов хранения.

Материалы и методы

Степень влияния температуры и сроков хранения на показатели качества яйца куриного пищевого изучались на примере индекса желтка с помощью двухфакторного дисперсионного анализа. Яйца хранились при температуре -2°C , $+5^{\circ}\text{C}$, $+10^{\circ}\text{C}$, $+15^{\circ}\text{C}$, $+20^{\circ}\text{C}$; индекс желтка определяли на 3-, 5-, 7-, 10-, 30-, 60-е сутки хранения. Обработка данных осуществлялась в 2 этапа.

Результаты и их обсуждение

Этап 1. Ввод исходных данных

$\sigma = 0,05$ уровень значимости, необходимый для оценки критических параметров F-статистики;
 $A = 5$ количество строк в таблице, содержащих исходные данные индекса желтка при различной температуре хранения (от -2 до 20°C);
 $B = 6$ количество столбцов в таблице, содержащих исходные данные индекса желтка при различных сроках хранения (от 3 до 60 дней);
 $n = A \cdot B$ количество значений в таблице с исходными данными:

	0,52	0,50	0,49	0,48	0,46	0,44
	0,51	0,49	0,48	0,47	0,44	0,40
$X =$	0,50	0,48	0,47	0,45	0,40	0,36
	0,49	0,47	0,46	0,44	0,37	0,30
	0,46	0,44	0,42	0,40	0,32	0,24

 $i = 1 \dots A$ $j = 1 \dots B$

$i =$
1
2
3
4
5
6

$j =$
1
2
3
4
5
6

	1	2	3	4	5	6
1	0,52	0,5	0,49	0,48	0,46	0,44
2	0,51	0,49	0,48	0,47	0,44	0,4
3	0,5	0,48	0,47	0,45	0,4	0,36
4	0,49	0,47	0,46	0,44	0,37	0,3
5	0,46	0,44	0,42	0,4	0,32	0,24

 $X =$

Этап 2. Расчеты

Расчет общей средней результатов измерений индекса желтка:

$$Cp = \frac{\sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^B x_{ij}}{n}; \quad Cp = 0,438.$$

Расчет групповых средних арифметических значений индекса желтка при различных значениях температуры хранения (влияние фактора A):

$$CpA_i = \frac{\sum_{j=1}^B x_{ij}}{n}$$

Расчет групповых средних арифметических значений индекса желтка при различных сроках хранения (влияние фактора B):

$$CpB_j = \frac{\sum_{i=1}^A x_{ij}}{n}$$

Расчет средней изменчивости индекса желтка, вызванного влиянием фактора A:

$$\sigma_A := \frac{B \cdot \sum_{i=1}^A (CpAi - Cp)^2}{A-1}; \quad \sigma_A = 9,442 \cdot 10^{-3}$$

Расчет средней изменчивости индекса желтка, вызванного влиянием фактора В:

$$\sigma_B := \frac{A \cdot \sum_{j=1}^B (CpBj - Cp)^2}{B-1}; \quad \sigma_B = 0,015.$$

Расчет общей изменчивости индекса желтка, вызванного влиянием случайных (неучтенных) факторов:

$$\sigma_O := \frac{\sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^B (X_{ij} - CpAi - CpBj + Cp)^2}{(n-1)-(A-1)-(B-1)}; \quad \sigma_O = 5,517 \cdot 10^{-4}$$

Расчет общей изменчивости индекса желтка:

$$\sigma := \sigma_A + \sigma_B + \sigma_O; \quad \sigma = 0,025.$$

Расчет наблюдаемого, экспериментального критерия Фишера (влияние фактора А):

$$FA := \frac{\sigma_A}{\sigma_O}; \quad FA = 17,115.$$

Расчет наблюдаемого, экспериментального критерия Фишера (влияние фактора В):

$$FB := \frac{\sigma_B}{\sigma_O}; \quad FB = 17,115.$$

Расчет критического критерия Фишера (влияние фактора А):

$$qF[1-\alpha, A-1, (A-1)(B-1)] = 2,866.$$

Расчет критического критерия Фишера (влияние фактора В):

$$qF[1-\alpha, B-1, (A-1)(B-1)] = 2,711.$$

Расчет коэффициента детерминации фактора А:

$$rA := \frac{\sigma_A}{\sigma}; \quad rA = 0,374.$$

Расчет коэффициента детерминации фактора В:

$$rB := \frac{\sigma_B}{\sigma}; \quad rB = 0,605.$$

Таким образом, выявлено, что влияние температурного фактора на изменение индекса желтка составляет 37,4%, а влияние сроков хранения продукта — 60,5%, неучтенные факторы оказывают незначительное влияние и составляют 1,1% (100-37,4-60,5).

Вывод. Срок хранения оказывает влияние в два раза больше на изменение индекса желтка, чем температурный фактор.

Библиографический список

1. Папазян, Т.Т., Фисинин, В.И. Обогащенные куриные яйца — новый продукт функционального питания / Т.Т. Папазян, В.И. Фисинин // Птица и птицепродукты. — 2003. — № 2. — С.51.
2. Грановский, В.А. Методы обработки экспериментальных данных при измерениях / В.А. Грановский. — А.: Энергоатомиздат, 1990. — 288 с.
3. Тюрин, Ю.Н. Статистический анализ данных на компьютере / Ю.Н. Тюрин. — М, 1998. — 328 с.
4. Дьяконов, В.П. Maple / В.П. Дьяконов. — М.: Питер, 2002. — 665 с.

СТЕПАНОВА Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой химии.

КОЗЛОВА Евгения Петровна, старший преподаватель кафедры товароведения.

Статья поступила в редакцию 24.11.06 г.

© Степанова И. П., Козлова Е. П.

Российские научные журналы

«Агрохимический вестник»

Журнал — отраслевое издание Государственной агрохимической службы России, в котором обобщается теория и практика производства удобрений и других средств химизации, опыт работы по эффективному и экологически безопасному их использованию (экологическая экспертиза), а также состояние и динамика изменения почвенного плодородия, поведение радионуклидов, пестицидов и других токсикантов. На страницах журнала приведены материалы по использованию информационно-измерительных систем, комплекс наблюдений на реперных участках и методы дистанционного зондирования. Большое внимание уделяется проблемам методики исследований по сертификации средств химизации, земельных участков и сельскохозяйственной продукции. Докторский по агрономии и лесному хозяйству.

Издание входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук по агрономии и лесному хозяйству.

Журнал выходит один раз в два месяца. Индекс журнала — 71049 (для индивидуальных подписчиков), 38216 (для предприятий и организаций) в Объединенном каталоге Федеральной почтовой связи. Подписку также можно оформить в редакции журнала.

Адрес редакции: 107807, Москва, Б-78, Садовая-Спасская, 18. Тел. (095) 207-24-10. Факс (095) 975-43-72.

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЖИРОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ МУЧНЫХ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ С ЦЕЛЬЮ ПРОДЛЕНИЯ ИХ СРОКА ГОДНОСТИ

Статья посвящена вопросу использования растительных жиров в производстве мучных кондитерских изделий.

Растительные жиры — заменители маргарина, поставляемые на российский рынок различными компаниями, применяют на многих кондитерских предприятиях. Их основное преимущество — это возможность продления сроков годности готовой продукции [1, 6]. Кроме того, растительные жиры, в отличие от маргарина, имеют следующие достоинства [3]:

- они обезвожены, массовая доля сухих веществ (т.е. жира) 99,9%;
- содержат незаменимые натуральные жирные кислоты и не содержат коротких углеродных цепочек (C_4-C_{10});
- имеют высокий срок годности (от 12 до 24 месяцев) благодаря сбалансированности природного состава;
- не содержат холестерина, хорошо усваиваются организмом человека из-за высокого содержания ненасыщенных жирных кислот;
- изделия в процессе хранения не приобретают мыльного привкуса, поскольку жиры не содержат лауриновой кислоты.

Хорошо очищенные растительные жиры экологически чистые, имеют нейтральный вкус, в расплавленном состоянии прозрачные, при комнатной температуре — полутвердые. Жиры технологичны на стадии приготовления эмульсий и мучных полуфабрикатов.

Растительные жиры с успехом используются в производстве крекера затяжного, сахарного и сдобного печенья, пряников, вафельных листов, кексов, рулетов, сдобных хлебобулочных изделий [4, 5, 6].

В производстве мучных кондитерских изделий жир, подвергаясь сбиванию или интенсивному перемешиванию, насыщается мельчайшими воздушными пузырьками, которые во время выпечки под воздействием тепла, образующегося пара оксида углерода (IV), увеличиваются и приводят к образованию равномерной пористости по всему объему изделия. Межпоровые перегородки становятся более равномерными, истончаются, изделия лучше намокают, легче пережевываются [3].

Цель исследования

Перед нами стояла задача выбрать жир, который, не ухудшая качественных показателей продукта, снижал бы себестоимость изделия, удешевлял рецептуру и позволял продлить сроки годности, т.е. повысить конкурентоспособность продукции на рынке.

Материалы и методы

Изучались растительные жиры на основе пальмового масла следующих наименований: «Пальмалеон», «Мона», «Бутаон», «Вегаон», «Марго», «Эфкон» и др. Вместе с общими для всех достоинствами, каждый из них обладает индивидуальными преимуществами.

Исследования проводились на рецептуре сдобного печенья «Капелька» торговой марки «Н-Н-Ника», вырабатываемого по ТУ 9131-003-0088766224Т-2003 на кондитерском производстве ЧП «Курцаев А.В.» г. Омска.

Результаты и их обсуждение

Оптимальными по вышеперечисленным показателям оказались пальмовые жиры «Мона» (производитель Малайзия) и пальмовое масло (производитель масложировой комбинат г. Новгорода). Эти жиры были рекомендованы для использования в экспериментальных выработках продукции для закладки их на хранение с целью продления сроков годности.

Экспериментальная партия печенья «Капелька», выработанная 03.02.06 г., была заложена на исследования сроком на 4 месяца в ФГУ ЦГСЭН Омской области. Изучались органолептические, физико-химические и микробиологические показатели.

Как показали исследования, используемые нами растительные жиры на основе пальмового масла с температурой плавления $37-38^{\circ}C$ усиливают в тесте пластичные свойства, стабилизируют процессы подготовки теста к формованию, улучшают структуру готовых изделий и их вкусовые качества.

Сдобное печенье «Капелька» на пальмовом жире имело желто-золотистый цвет, правильную форму, рассыпчатую структуру, приятный вкус, соответствующий данному виду изделий. По физико-химическим и микробиологическим показателям печенье соответствовало требованиям нормативно-технической документации [1, 2].

На основании результатов исследования и протокола испытаний продукции от 17.07.06 г. получено экспертное заключение ФГУ ЦГСЭН Омской области от 28.08.06 г. на продление сроков годности сдобного печенья торговой марки «Н-Н-Нака» с 2 до 4 месяцев.

На основании полученных документов и результатов исследований разработаны, согласованы и утверждены в согласованном порядке изменения в ТУ и ТИ в части продления сроков годности сдобного печенья торговой марки «Н-Н-Нака» до 4 месяцев. В случае использования маргарина срок годности продукции остался прежним — 2 месяца со дня выработки.

По результатам работы в Управлении Роспотребнадзора по Омской области получено Санитарно-Эпидемиологические заключения на продукцию и производство сдобного печенья торговой марки «Н-Н-Нака» с продленным до 4 месяцев сроком годности.

Перевод на жиры всего ассортимента сдобного печенья позволил производству сэкономить энергоресурсы, удешевить рецептуру, снизить на 30% себестоимость продукции.

Полученный экономический эффект и продленные сроки годности продукции повысили ее конкурентоспособность на рынке и способствовали увеличению объема продаж.

Заключение

Проведенное исследование показало экономическую эффективность привлечения нового вида сырья для изготовления кондитерских изделий, выяви-

ло возможность подбора жиров, необходимых для производства вырабатываемого ассортимента, позволило расширить ассортимент и производить изделия высокого качества.

Библиографический список

1. Сан. Пин. 2.3.2 1293 — 2003. Гигиенические требования по применению пищевых добавок. Санитарно-эпидемиологические требования и нормативы.
2. ТУ 9131-003-0088766224Т-2003 Печенье сдобное торговой марки «Н-Н-Нака»
3. Лурье, И.С. Технологии кондитерского производства / И.С. Лурье. — М.: Агропромиздат. 1992. — 206 с.
4. Евгеньева, В.С. Новые технологии кондитерского производства / В.С. Евгеньева // Пищевая промышленность. Передовой производственный и научный опыт, рекомендации для внедрения в кондитерской промышленности: информационный сб. АгроНИИТЭИПП. — 1992 — Вып. 2. — С. 36–39.
5. Зайцева, Г.И. Использование нетрадиционных видов сырья в производстве кондитерских изделий / Г.И. Зайцева // Пищевая промышленность. — 1989 — №3. — С. 67–69.
6. Синькевич, М.А. Инновационные технологии и ингредиенты в производстве мучных кондитерских изделий, печенья, вафель и некоторых видов бисквитных изделий при формировании их качественных показателей / М.А. Синькевич // Современное состояние и перспективы развития материалов Междунар. конф. — М. — 2005. — С. 122–126.

ИВКОВА Ирина Александровна, кандидат технических наук, доцент, заведующая кафедрой товароведения и экспертизы товаров Омского государственного аграрного университета.

СТЕПАНОВ Алексей Игоревич, студент товароведческого факультета Омского государственного аграрного университета.

ГОРШКОВА Светлана Александровна, технолог кондитерской фабрики ООО «Бакалея-сервис».

Статья поступила в редакцию 30.10.06 г.

© Икова И. А., Степанов А. И., Горшкова С. А.

Российские научные журналы

Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический

Один из старейших отечественных естественноисторических журналов. Основан в 1829. Имеет разделы: памятные даты; критика и библиография. До Октябрьской революции большинство работ печаталось на иностранных языках. Публиковались статьи по всем разделам естествознания, преимущественно по ботанике, зоологии, генетике, геологии, палеонтологии и истории естествознания. В 1922 «Бюллетень...» разделился на два отдела: биологический (тираж в 1970 около 1600 экз.) и геологический (тираж в 1970 около 1300 экз.). Статьи печатаются на русском языке с иностранным резюме.

Издание входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук по биологическим наукам.

Публикует оригинальные научные статьи по флоре и фауне России, систематике, морфологии и экологии растений и животных, биогеографии, медицинской зоологии, охотничьему хозяйству, генетике и селекции растений и животных, биологическим основам животноводства и плодоводства. В «Кратких сообщениях» публикуются заметки, преимущественно посвященные наблюдениям в природе и новоописаниям. Выходит в Москве 6 раз в год.