

На правах рукописи



Поскачина Елена Рудольфовна

**ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ ЦИРИЦЫ ЗАПРОКИНУТОЙ (*AMARANTHUS
RETROFLEXUS L.*), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В УСЛОВИЯХ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

03.02.08 – экология
(биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Якутск – 2014

Работа выполнена в ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны
СО РАН

Научный руководитель доктор биологических наук, профессор
Журавская Алла Николаевна

Официальные оппоненты **Тарабукина Надежда Петровна**, доктор
ветеринарных наук, профессор.
ГНУ «Якутский научно-исследовательский
институт сельского хозяйства
Россельхозакадемии»

Корогодина Виктория Львовна, кандидат
биологических наук, с.н.с., лаборатории
радиационной биологии.
Объединенный институт ядерных исследований
РАН (Дубна).

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Якутская государственная
сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «27» января 2015 г. в 10.00 часов на заседании
диссертационного совета Д 212.306.03 при ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный
федеральный университет им. М.К. Аммосова» по адресу: 677000, г. Якутск,
Белинского 58.

факс (4112) 33-58-12; e-mail: dsovet_nefu@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВПО
СВФУ им. М.К. Аммосова: www.s-vfu.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2014 г. и размещен на сайтах
www.s-vfu.ru и www.vak.ed.gov.ru

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Данилова Надежда
Софроновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Высокий адаптивный потенциал представителей рода *Amaranthus* позволяет выращивать их в различных регионах [Прокофьев, 2000; Гинс, 2002; Гасимова, 2002; Куликов, 2008]. В природной флоре Центральной Якутии произрастает мало изученная до настоящего времени щирица запрокинутая (*Amaranthus retroflexus* L.), которая представляет безусловный интерес с точки зрения устойчивости к экологическим факторам среды и ее химического состава.

Вопросу изучения влияния экологических абиотических и биотических факторов среды на изменение морфологических признаков, физиологических характеристик, биохимического состава и т.д. растительных организмов посвящено большое количество научных исследований [Черняева, Перышкина, 1997; Алексеев и др., 1983; Макаров и др., 1989].

Отмечено, что у растений Якутии концентрация биологически активных веществ (витамины, антиоксиданты, гликозиды и т.д.) выше в 1,5-2,5 раз, чем в аналогичных видах, произрастающих в условиях умеренного климата [Егоров, 1953; Алексеев и др., 1983; Журавская, Кершенгольц, 1990; Журавская, Стогний, Кершенгольц, 1998; Кузьмина и др., 2006; Кершенгольц и др., 2007]. Кроме того, изменение условий среды обитания способно вызывать не только колебания количественного содержания определенных веществ, но и их изоструктурное и гомологичное разнообразие [Филиппова и др., 2002]

Изучение эколого-физиологических особенностей произрастания растительных организмов Центральной Якутии, их биохимического состава и свойств является актуальным направлением науки, особенно в отношении видов, перспективных в качестве сырья для разработки и получения препаратов лекарственного, пищевого и ветеринарного назначения.

Цель работы. Выявить эколого-физиологические и биохимические особенности щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus* L.), произрастающей в Центральной Якутии, изучить перспективы её использования на основе семян и надземной фитомассы данного вида для повышения стрессоустойчивости животных организмов.

Достижение цели включало решение **следующих задач:**

1. Выявить отличительные физиологические и биохимические особенности семян и листьев щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*), в сравнении с культурными сортами амаранта «Чергинский» и «Янтарь».
2. Исследовать адаптивный потенциал щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*) и двух сортов рода Амарант посредством острого предпосевного γ -облучения семян.

3. Исследовать влияние биологически активных комплексов веществ на основе надземной фитомассы щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*) на стрессоустойчивость порослят-отъёмышей в зимний период и радиорезистентность лабораторных мышей при однократном рентгеновском облучении летальной дозой.

Основные положения, выносимые на защиту.

Эволюционно выработанный неспецифический эколого-физиологический и биохимический адаптационный потенциал якутской популяции рода Амарант – щирицы запрокинутой благоприятствует её произрастанию в Центральной Якутии.

Комплекс биологически активных веществ в тканях щирицы запрокинутой, обладающий высокой физиологической активностью, позволяет использовать его в качестве адаптогена при стрессирующих воздействиях.

Научная новизна работы. Впервые установлены эколого-физиологические и биохимические особенности дикорастущего представителя рода *Amaranthus* – щирицы запрокинутой, произрастающей на территории Центральной Якутии. Определены количественный и качественный состав некоторых групп биологически активных веществ щирицы запрокинутой и показано их стресс-модифицирующее действие.

Практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы в области биотехнологии и переработки сырья. Надземная фитомасса щирицы запрокинутой может быть сырьём для получения кормовых добавок для животноводства как лечебно-профилактического, адаптогенного, противострессового действия, а также биоактивные комплексы радиопротекторного действия.

Апробация работы. Основные положения работы были доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции «Живые системы и конструкции материалы в условиях криолитозоны» (Якутск, 2011, 2014), на IV Съезде биофизиков России «Физика - медицине и экологии» (Нижний Новгород, 2012), на XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносова – 2012» (Москва, 2012), на междисциплинарной научной конференции «Адаптационные стратегии живых систем» (Киев, 2012), на Всероссийской конференции «Биологические проблемы криолитозоны», посвященной 60-летию со дня образования Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (Якутск, 2012).

Публикации. по теме диссертации опубликовано 11 печатных работ: 4 статьи в журналах ВАК РФ и 7 тезисов.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, литературного обзора, описания материалов, использованных методик, четырех глав с анализом собственных результатов и их обсуждения, выводов и списка использованной литературы, включающего 297 наименований иностранных и отечественных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулирована цель и задачи работы, научная новизна и практическая значимость, перечислены основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1. Литературный обзор. Приведена характеристика природно-климатические условия Центральной Якутии, проанализированы эколого-физиологические и биохимические особенности адаптации растений в Якутии и представителей рода Амарант (*Amaranthus*). Рассмотрено действие острого предпосевного γ -облучения на физиологические и биохимические показатели растительного организма. Проведен анализ данных, представленных в литературных источниках по применению в качестве биосырья представителей рода *Amaranthus* для получения биодобавок и препаратов медицинского и ветеринарного назначения

Глава 2. Материал и методики. Материалом для исследования служили семена, проростки, вегетативные части дикорастущего вида щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus* L.) центральной якутской популяции в сравнении с сортовыми представителями рода *Amaranthus* (на примере «Чергинский» и «Янтарь»). Семена двух сортов амаранта были получены из лаборатории генофондов и систем размножения растений Института Цитологии и Генетики Сибирского Отделения Российской Академии Наук.

При исследовании растительного материала определены показатели: энергии прорастания, всхожесть и масса 1000 семян, выживаемость проростков.

Радиостойчивость семян исследованных растений оценивали по всхожести семян. γ -облучение семян проводили в Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии» Россельхозакадемии (Калужская обл., г. Обнинск). Облучали γ -квантами ^{60}Co на установке типа «Исследователь» при мощности экспозиционной дозы 10,4 рад/с в диапазоне от 0,5 до 1000 Гр. Для определения радиостойчивости семян растений (по критериям всхожести и выживаемости проростков на определенный срок наблюдений и др.) анализировались дозовые кривые выживаемости

одномесячных растений на стадии листообразования, выполненные в логарифмических координатах. Установлены значения пороговой дозы (D_q) или дозы перегиба [Ярмоненко, 1977; Кудряшов, Беренфельд, 1982; Гродзинский, 1989; Журавская, 2011] и тангенса угла наклона кривой «доза-эффект» ($\text{tg}\alpha$) [Журавская, 2011]

Биохимические исследования (растительных объектов, крови животных) проводили по методикам С.Н. Giannopolitis, S.K. Ries (активность супероксиддисмутаза - СОД) [1977], О.В. Лебедева (активность пероксидазы) [1977], А.И. Ермакова (определения суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов - НМАО) [1987], F.E. Hunter et. all, Ю.А. Владимиров и др., (интенсивность перекисного окисления липидов - ПОЛ) [1963; 1972], E. Vidal-Escapes, S. Borros (определения содержания сквалена в масле) [2004], Piatelli et al., (определения содержания амарантина) [1969], масла получили путем отжима ручным прессом (марка пресса ручного 12-ти тонный, модернизированный ПР12Т-1М).

Органолептические, химико-токсикологические и биохимические исследования растительной муки из биомассы щирицы запрокинутой (протокол №1495/23;24), аминокислотный состав исследованных растений (протокол №140) проведены в Государственном бюджетном учреждении Республики Саха (Якутия) «Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории».

Для проведения производственного опыта было сформировано две группы поросят «Крупной белой» породы по 10 голов в каждой. При формировании групп соблюдали принцип однородности опытных животных по живой массе (средняя масса 17-18 кг), возрасту (60 суток), полу (самцы), экстерьерных особенностей. Поросята контрольной группы получали основной рацион, опытная группа дополнительно к основному рациону скармливали травяную муку в количестве 15 г в сутки на одну голову в течение 30 дней. Опыт проводили в зимний период, начиная с первого дня отъема от свиноматки.

Влияние травяной муки из щирицы запрокинутой на адаптацию поросят к технологическому стрессу отъёму проводили в зимний период в условиях промышленного производства на базе фермерского свиноводческого хозяйства «Сибирь» в г. Якутске. Эффективность действия травяной муки оценивали на биохимическом уровне по показателям состояния прооксидантно-антиоксидантного равновесия в крови животных, по сохранности поголовья (на 30 суток эксперимента) и приросту массы поросят по И.М.Дунину [1996]. Сбор анализируемых данных проводили по

основной схеме в 4-5 этапов: день отъема, сутки после отъема, на 5, 15 и 30 дни после отъема.

Для изучения действия лиофилизированного экстракта из щерицы запрокинутой на радиорезистентность лабораторных мышей при однократном рентгеновском облучении летальной дозой было отобрано 45 клинически здоровых 2-х месячных самцов белых беспородных мышей со средней массой $21,1 \pm 2,1$ г. Содержание и кормление животных, как до эксперимента, так и во время осуществляли по нормативным правовым актам (Этический кодекс (1985), включающий раздел «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», Хельсинская декларация Всемирной Медицинской Ассоциации (2000) и др.). Животные содержались в условиях вивария по 7-8 особей в клетке с однократным кормлением лиофилизированным экстрактом с 9 до 11 часов каждые сутки. Доступ животных к стандартному гранулированному корму и воде не ограничивался. Для постановки эксперимента были сформированы 3 группы животных по 15 голов в каждой: 1 группа - биологический контроль; 2 группа – облученные животные (контроль облучения); 3 группа – облученные животные, получавшие водный раствор лиофилизированного экстракта щерицы запрокинутой (опытная группа). Животных (2 и 3 группы) подвергли однократному облучению на рентгеновской терапевтической установке РУМ-17, в летальной дозе для мышей 900 Р (7,83 Гр) [Владимиров и др., 1989], при фокусном расстоянии 50 см, при силе тока 10 мА, напряжении 180 кВ., фильтр 0.5мм Cu + 1.0 мм Al, мощность экспозиционной дозы 38,2 Р/мин. Биологическую контрольную группу животных подвергали «ложному облучению». Животным 3 группы перорально вводили по 50 мкл водного раствора лиофилизированного экстракта с концентрацией 20 мг_{лиоф.}/мл (50 мг_{лиоф.}/кг_{массы тела}) ежедневно в течение 30 дней, первое введение произвели по истечению одного часа после облучения. Для оценки радиорезистентности организмов животных были определены ФИД (фактор изменения дозы) по критерию выживаемости и по показателю массы тела животных [Владимиров и др., 1989; Гребенюк и др., 2011]. Наблюдения за выживаемостью и приростом массы тела проводили в сочетании с исследованиями количественного содержания форменных элементов в крови животных по И.П. Кондрахину [2004]. Сбор анализируемых данных производили по основной схеме: до облучения → после облучение через: → 1 сутки → 3 сутки → 5 сутки → 15 сутки → 20 сутки → 30 сутки.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1. Эколого-физиологические особенности щирицы запрокинутой и двух сортов рода Амарант (*Amaranthus*)

В данной главе приведены данные следующих параметрических и физиологических характеристик семян и проростков исследуемых растений: масса 1000 семян, энергия прорастания (на 3-тьи сутки), всхожесть (на 7-е сутки) семян и выживаемость проростков (на 30-е сутки). Определены изменения всхожести семян в зависимости от сезона и глубины посева семян. Поскольку вероятность выживания всходов тесно связана с условиями окружающей среды, а также с конкурентоспособностью самого растения, важно учитывать данные показатели, указывающие на запас и расход энергии при прорастании семян. Установлено, что масса 1000 семян статистически достоверного различия между массой семян двух исследуемых сортов амаранта не обнаружено, что соответствует их характеристике, описанной разработчиком этих сортов [Железнов, 2009]. Для щирицы запрокинутой данный показатель в 1,8 раз ниже по сравнению с вышеуказанными сортами. Показано, что оптимальная глубина заделки семян щирицы запрокинутой в условиях Центральной Якутии составляет 1,0 - 2,0 см. Данный вид имеет сезонную особенность прорастания с максимумом всхожести в июне. Несмотря на низкие показатели натуральных значений всхожести семян и выживаемости по сравнению с сортовыми амарантами, коэффициент выживаемости проростков щирицы запрокинутой имеет самое большое значение среди исследуемых сортовых растений, что, по-видимому, является одной из основных стратегий адаптации, позволяющей данному виду конкурировать за эдафическое пространство в начале периода вегетации.

3.2. Эколого-биохимические особенности произрастания щирицы запрокинутой и двух сортов рода Амарант (*Amaranthus*)

В данной главе представлены результаты исследований по содержанию в семенах щирицы запрокинутой и двух сортов амаранта масла и сквалена, общего белка и аминокислот, а также содержание амарантина и аминокислот в листьях генеративных растений.

В табл. 1 представлены данные количества масла (а) в 100 г семян и сквалена (б) в масле изученных представителей рода Амарант. Установлено, что масло, полученное из семян дикорастущего вида щирицы запрокинутой, по показателям общего количества масла статистически достоверно не отличалась от культурных сортов. По результатам ВЭЖХ анализа определено, что концентрация сквалена в масле семян щирицы запрокинутой

статистически не отличалось от сорта «Янтарь» ($6,6 \pm 0,01 \text{ мг/г}_{\text{сух.тк.}}$), у сорта «Чергинский» отмечено снижение 1,4 раза концентрации сквалена.

Таблица 1

Содержание масла полученного из 100 г. семян сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой и концентрация сквалена в масле.

Сорт, вид	Масло			Сквален	
	объем масла при ручном отжиге, мл	объем масла при экстракции и гексаном жмыха, мл	Общее количество масла, мл	ручной пресс, ω сквалена, об. %	экстрагирование гексаном, ω сквалена, об. %
Чергинский	$1,2 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,3$	$4,5 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,1$
Янтарь	$0,8 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,3$	$6,8 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$
щирица запрокинутая	$1,8 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$

Проведенные исследования по содержанию общего белка в семенных исследуемых растений показали, что в семенах щирицы запрокинутой содержание белка составляло 210 мг/г, у сорта «Янтарь» - 192 мг/г, для сорта «Чергинский» этот показатель составил 157 мг/г (рис. 1).

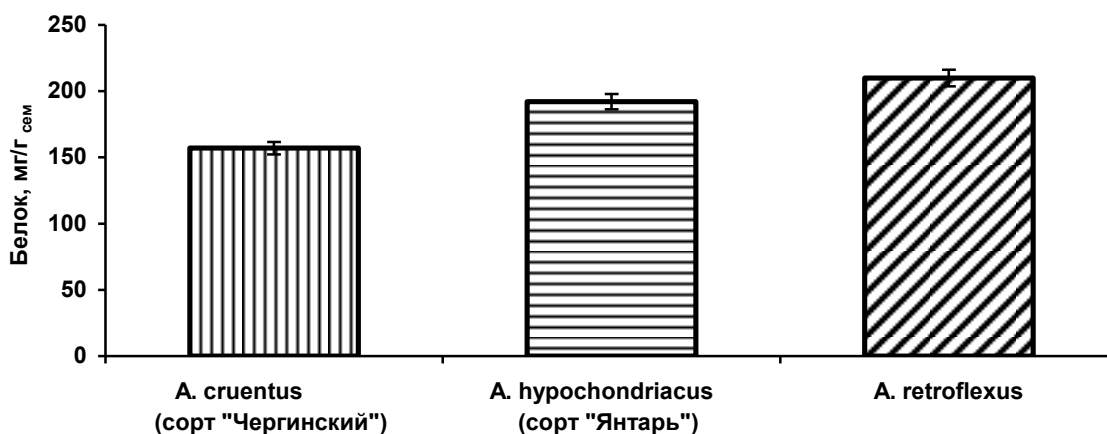


Рис.1. Содержание общего белка в семенах сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой

В табл. 2. представлены сравнительные данные по содержанию 14 аминокислот в семенах и листьях исследуемых растений. Установлено, что у двух сортов амаранта и щирицы запрокинутой содержание исследуемых аминокислот в семенах и листьях статистически достоверно не отличается. Следует отметить, что семена и листья наиболее богаты такими аминокислотами как аргинин, серин, лейцин и изолейцин. Проведенные нами

исследования по изучению содержания амарантина в листьях показали, что наибольшее количество амарантина - 0,74 мг/г_{сух. тк.} - отмечено в листьях сорта «Чергинский» и щирицы запрокинутой, для сорта «Янтарь» этот показатель был ниже в 1,5 раза и составил 0,48 мг/г_{сух. тк.}

Таблица 2

Процентное содержание аминокислот в семенах и листьях (100 мг) щирицы запрокинутой и двух сортов рода *Amaranthus* (p=0.95)

Аминокислоты, %	«Чергинский»		«Янтарь»		Щирица запрокинутая	
	семена	листья	семена	листья	семена	листья
Аргинин	0,46±0,18	0,54±0,21	0,65±0,26	0,36±0,14	0,55±0,20	0,51±0,20
Лизин	0,19±0,06	0,24±0,08	0,26±0,08	0,20±0,06	0,21±0,07	0,21±0,07
Тирозин	0,20±0,06	0,11±0,03	0,32±0,09	0,15±0,04	0,16±0,05	0,23±0,06
Фенилаланин	0,16±0,05	0,42±0,12	0,26±0,08	0,31±0,09	0,24±0,06	0,27±0,08
Гистидин	0,19±0,09	0,23±0,11	0,21±0,10	0,29±0,14	0,21±0,10	0,29±0,14
Лейцин и изолейцин	0,43±0,11	0,75±0,19	0,56±0,14	0,57±0,15	0,46±0,12	0,66±0,17
Метионин	0,15±0,05	0,06±0,02	0,18±0,06	0,10±0,03	0,12±0,04	0,08±0,02
Валин	0,14±0,05	0,22±0,08	0,19±0,07	0,25±0,10	0,15±0,06	0,27±0,10
Пролин	0,25±0,06	0,31±0,08	0,31±0,08	0,34±0,09	0,25±0,06	0,46±0,12
Треонин	0,18±0,07	0,35±0,14	0,25±0,10	0,28±0,11	0,18±0,07	0,34±0,13
Серин	0,43±0,11	0,36±0,09	0,45±0,12	0,29±0,07	0,49±0,13	0,25±0,06
Аланин	0,19±0,05	0,36±0,09	0,25±0,06	0,31±0,08	0,20±0,05	0,32±0,08
Глицин	0,38±0,13	0,33±0,11	0,45±0,15	0,31±0,10	0,50±0,17	0,33±0,11

Глава 3.3. Исследование адаптивного потенциала щирицы запрокинутой и двух сортов рода Амарант (*Amaranthus*), выросших из γ -облученных семян.

В данной главе рассмотрены особенности влияния предпосевного острого провокационного облучения γ -квантами ^{60}Co (в диапазоне 0.5÷1000 Гр) семян амаранта сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой на радиочувствительность, физиологические и биохимические характеристики их семенного потомства.

3.3.1. Радиочувствительность семян сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой

Установлено, что по значению пороговой дозы рассчитанной по показателям всхожести семян наиболее чувствительной к облучению

является щирица запрокинутая ($Dq=225$ Гр), устойчивым к облучению - сорт «Чергинский» ($Dq=800$ Гр), среднее положение занимает сорт «Янтарь» ($Dq=300$ Гр).

3.3.2. Влияние предпосевного облучения семян на изменение массы семян сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой

Отмечено, что масса семян поколений F1 и F2, независимо от дозы облучения, всех исследуемых представителей рода Амарант статистически достоверно не отличалось от контроля (родительские семена, не получавшие облучение). Исключение составляли семена F2 сорта «Чергинский», где выявлено статистически достоверное снижение массы 1000 семян в диапазонах 0,5 – 400 Гр и 800 – 1000 Гр. Полученные результаты на примере массы семян указывают на специфичность действия острого облучения в отношении не только разных видов растений, но и сортов одного вида, обладающих различной радиоустойчивостью.

3.3.3. Влияния предпосевного острого облучения γ -квантами ^{60}Co семян двух сортов амаранта «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой на показатели активности про- и антиоксидантных систем

На уровне функционирования систем про- и антиоксидантной защиты клеток 7-ми дневных проростков выявлены видо- и сортоспецифические различия. Для сортов новосибирской репродукции отмечен высокий разброс значений активности пероксидазы и супероксиддисмутазы (СОД), суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) и малонового диальдегида (МДА) при сохранении прооксидантно-антиоксидантного равновесия в клетках проростков F1 и F2.

Острое провокационное облучение семян показало, что в тканях проростков F1 и F2 щирицы запрокинутой пероксидазная активность статистически достоверно не изменилась в зависимости от полученной семенами родителей дозы γ -облучения, за исключением вариантов 50 и 300 Гр, где была отмечена пероксидазная активация в 1,6 – 1,7 раза, относительно контроля (исходные необлученные семена).

Активность супероксиддисмутазы в тканях проростков F1 и F2 была ниже контрольных значений (0Гр, Р), кроме варианта 300 Гр, где было зафиксирована в 1,3 раза активация СОД. У проростков F2 отмечены незначительные изменения активности фермента, относительно контроля. Можно отметить вариант с облучением 300 Гр, где активность СОД возросла в 1,9 раза, относительно контроля.

Отмечен разнонаправленный эффект действия предпосевного облучения родительских семян на содержание НМАО в тканях 7-ми дневных

проростков семян щиряцы запрокинутой. У проростков первого поколения отмечено снижение на 50% содержания НМАО во всем диапазоне доз (кроме 200 Гр). Содержание НМАО в проростках второго поколения оставалось на уровне контрольных (кроме вариантов 5 и 10 Гр). Показано, что концентрация МДА в клетках проростков у F1 и F2 статистически достоверно не изменялась. Исключением являются дозы 5 и 300 Гр, при которых уровень концентрации МДА в клетках проростков увеличилась в 2,0 и 1,5 раза для F1 и F2, соответственно.

В целом, показано, что предпосевное острое γ -облучение исходных семян щиряцы запрокинутой не вызвало существенных колебаний в работе систем про- и антиоксидантной защиты клеток проростков у F1 и F2, что свидетельствует о высоком адаптивном потенциале.

Глава 3.4. Влияние комплекса биологически активных веществ щиряцы запрокинутой на адаптацию животных.

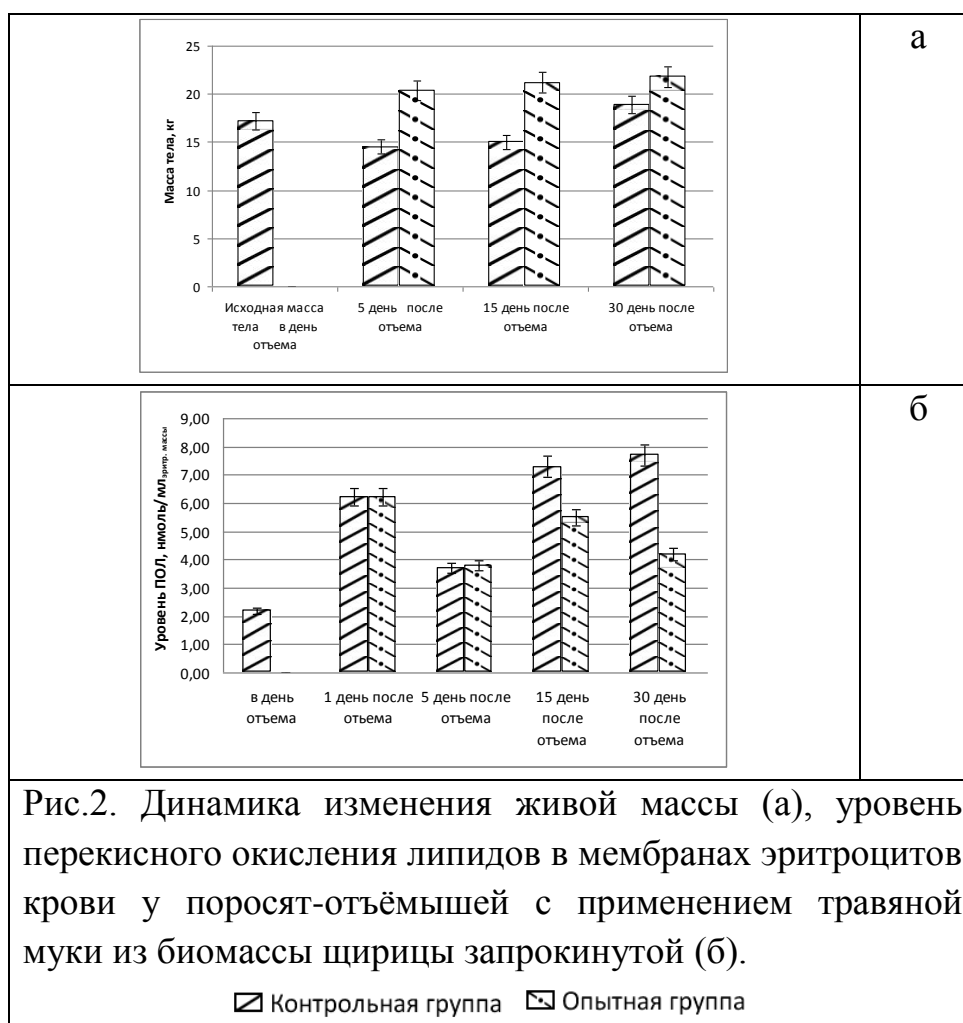
3.4.1. Влияние травяной муки из щиряцы запрокинутой на адаптацию поросят к технологическому стрессу отъёму в зимний период в условиях Центральной Якутии

В данной главе проведены результаты исследований по адаптации поросят к технологическому стрессу отъёму в зимний период. Рассмотрено одно из перспективных направлений использования травяной муки из щиряцы запрокинутой, произрастающей в условиях Центральной Якутии, в области ветеринарии, в частности, в свиноводстве.

Проведенные органолептические, химико-токсикологические и биохимические исследования растительной муки мелкого помола из биомассы щиряцы запрокинутой выявили соответствие всем нормам безопасности. В частности, обнаружены следовые количества токсических элементов (ртуть, свинец, кадмий и мышьяк), что согласно нормативным документам позволяет использовать полученную растительную муку в пищевых целях. Хлорорганические вещества и пестициды не обнаружены.

В результате полученных данных по эффективности действия травяной муки из биомассы щиряцы запрокинутой на адаптацию поросят к технологическому стрессу отъёму показал, что определение массы тела у поросят через 30 дней после начала эксперимента выявило, что среднесуточные привесы у опытной группы, получавших травяную муку, составляли $157,0 \pm 16,0$ г, у контрольной группы – $56,0 \pm 6,0$ г. Прирост массы показал истинную скорость роста по сравнению с контролем и составил 24,2% (рис.2.а).

Следует отметить, что на 30 день эксперимента в контрольной группе у поросят, по-видимому, наблюдалась третья стадия стресса - «истощение» т.к. у животных прослеживались диарея в течение всего эксперимента, незначительный набор веса и 20 % падеж поголовья. Тогда как в опытной группе была зафиксирована 100% сохранность поголовья, обусловленная использованием в рационе поросят травяной муки из щирницы запрокинутой, которая поспособствовала повышению устойчивости животных организмов к технологическим стрессовым воздействиям, связанных с отъемом (стадия резистентности).



На биохимическом уровне адаптивный ответ на стрессовые условия оценивали по показателям состояния антиоксидантной системы крови животных: интенсивность перекисного окисления липидов, активность СОД и содержание НМАО. На 30 день после отъема в контрольной группе животных на фоне низкого содержания НМАО ($0,2 \pm 0,1$ мг-ЭКВ_{кверцетина}/мл_{эритроц. массы}) количество МДА достигло максимума ($7,7 \pm 1,0$ нмоль/мл_{эритроц. массы}), что свидетельствовало о развитии оксидативного стресса в эритроцитах, что,

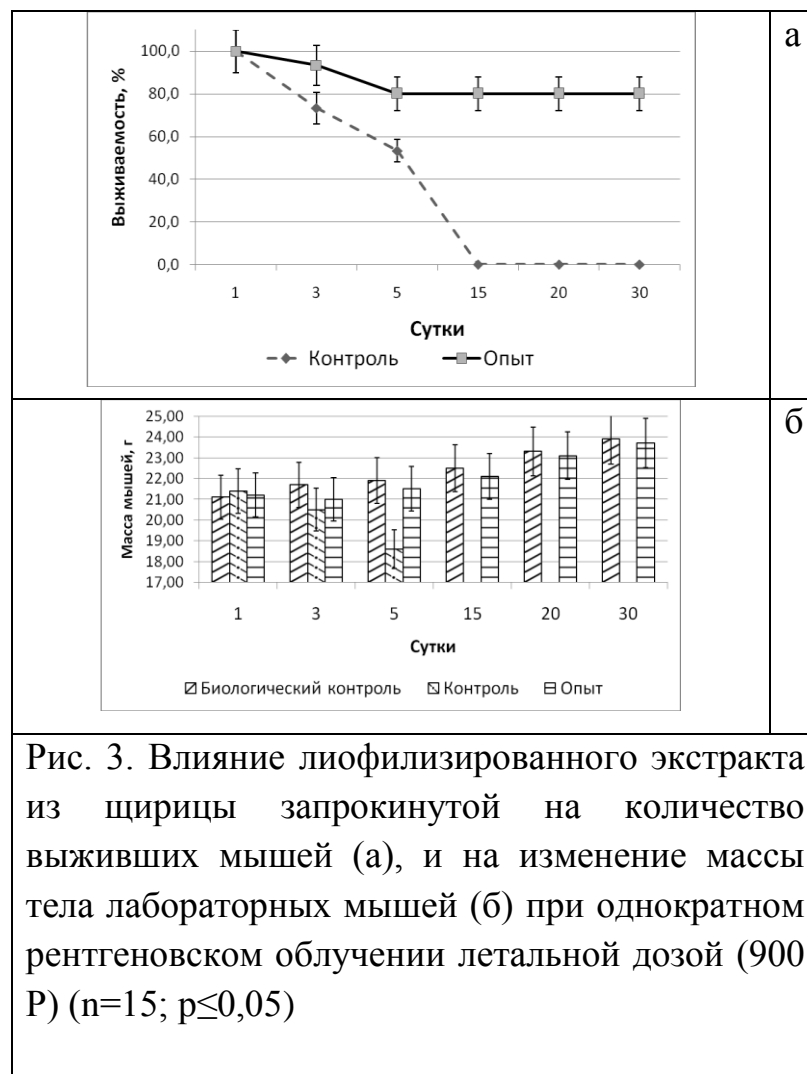
вероятно, связано с чрезмерным образованием инициаторов свободнорадикального окисления. В опытной группе животных на 30 день эксперимента отмечен рост общей резистентности организма поросят, выразившийся в достоверном снижении уровня ПОЛ в эритроцитах крови животных.

3.4.2. Влияние лиофилизированного экстракта из щерицы запрокинутой на радиорезистентность лабораторных мышей при однократном рентгеновском облучении летальной дозой

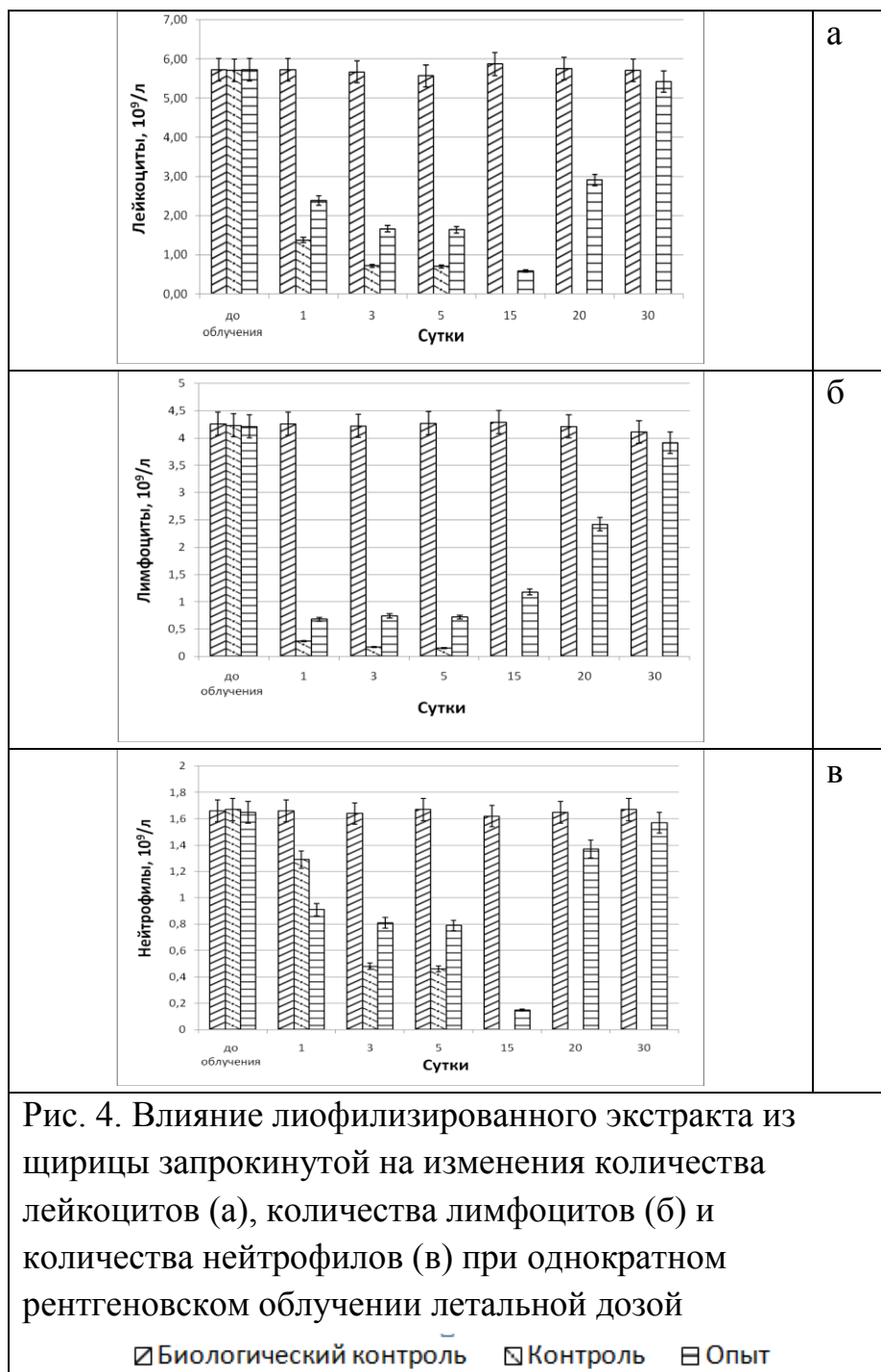
В данной главе приведены результаты эксперимента по влиянию лиофилизированного экстракта из вегетативных частей щерицы запрокинутой произрастающей в условиях Центральной Якутии на формирование радиорезистентности организма мышей при однократном рентгеновском облучении летальной дозой 900 Р (7,83 Гр).

Установлено, что водный раствор лиофилизированного экстракта щерицы запрокинутой проявил радиозащитные свойства, выразившиеся в увеличении выживаемости опытной группы животных, которая составила 80% на 30 день эксперимента при гибели на 15 день эксперимента всех животных из облученной группы. Фактор изменения дозы (ФИД) лиофилизированного экстракта, по критерию выживаемости мышей при введении в дозе 50 мг на кг массы тела мышей составил 1,5.

К моменту гибели 30% лабораторных мышей в группе контроль облучения (на 5-ый день) ФИД лиофилизированного экстракта щерицы запрокинутой по показателю массы тела составил 1,2. Можно предположить, что животные из опытной группы, в которой применялся лиофилизат экстракта щерицы запрокинутой, перенесли лучевое поражение в более легкой форме, выражающейся в сохранении аппетита и лучшем усвоением питательных веществ (рис.3. а,б).



Проведенные гематологические исследования показали изменение количества лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови мышей, получивших летальную дозу рентгеновского облучения (рис.4. а,б,в.). В течение эксперимента, у животных контрольной группы, получивших облучение, развивался классический ответ на облучение. Так, на 1 сутки наблюдения отмечено резкое снижение лейкоцитов ($1,38 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$) в крови мышей, в отличие от показателя количественного содержания лейкоцитов в крови мышей из группы биологического контроля ($5,73 \pm 0,3 \cdot 10^9/\text{л}$). На 5 сутки число лейкоцитов в крови составляло $0,70 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$ (рис. 4. а). К 5-му дню эксперимента число лимфоцитов и нейтрофилов в крови облученных животных также значительно снизилось на 96,5% и 72,5% соответственно по сравнению с аналогичными показателями у мышей из группы биологического контроля (рис. 4. б,в).



В группе мышей, подвергшихся облучению летальной дозой (7,83 Гр) на фоне введения лиофилизированного экстракта щерицы запрокинутой, в первые сутки также наблюдалось снижение числа лейкоцитов ($2,39 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$) по сравнению с показателями крови животных из группы биологического контроля ($5,73 \pm 0,3 \cdot 10^9/\text{л}$). В этот период число лейкоцитов снизилось на 58,3%. Минимальное значение отмечено на 15 сутки ($0,59 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$), на 20 сутки прослеживается восстановительный период и к моменту завершения опыта (на 30 сутки) количество лейкоцитов выровнялись с аналогичными показателями биологического контроля (рис. 4. а).

Отмечено, что число лимфоцитов и нейтрофилов в крови мышей этой группы снижалось не столь интенсивно по сравнению с животными из группы контрольного облучения (рис. 4. б,в). Минимальное значение лимфоцитов наблюдалось на 5 сутки эксперимента ($0,72 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$), на 15 сутки отмечается повышение уровня лимфоцитов ($1,18 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$), а к 20-30 суткам число лимфоцитов восстанавливается и приходит к исходному уровню, то есть к физиологической норме ($3,91 \pm 0,2 \cdot 10^9/\text{л}$). Минимальное значение числа нейтрофилов наблюдалось на 15 сутки эксперимента ($0,15 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$). С 20 суток отмечается повышение числа нейтрофилов, к концу эксперимента (на 30 день) их количество достоверно не отличались от аналогичного показателя у животных из биологической контрольной группы.

Установлено, что введение в течение 30 дней лиофилизированного экстракта щирицы запрокинутой облученным летальной дозой мышам позволило ускорить сроки восстановления форменных элементов крови животных и нормализовать количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов до уровня в биологическом контроле.

Таким образом, применение лиофилизированного экстракта надземной фитомассы щирицы запрокинутой произрастающей в условиях Центральной Якутии в ранние сроки после острого однократного облучения в летальной дозе способно предотвратить проявление последствий лучевой болезни, выраженное в снижении общего числа лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови у подопытных мышей и ускорении темпов их восстановления до нормальных физиологических значений.

ВЫВОДЫ

1. Определена оптимальная глубина заделки семян (1,0 - 2,0 см), отмечена сезонная особенность прорастания семян (максимум всхожести - в июне) для дикорастущего вида щирицы запрокинутой и установлено, что масса 1000 семян щирицы запрокинутой в 1,8 раз ниже по сравнению с сортами амаранта «Чергинский» и «Янтарь».

2. Установлено, что у центральоякутской популяции щирицы запрокинутой в сравнении с сортовыми представителями рода *Amaranthus* (сорта «Чергинский» и «Янтарь») имеется ряд преимуществ, заключающихся в высоком содержании общего белка (210 мг/г) в семенах и амарантина (0,74 мг/г) в листьях. Показано, что щирица запрокинутая не уступает рекомендованным для возделывания в Сибири сортам рода *Amaranthus* по таким показателям, как содержание масла (3,5%) и сквалена (6,4 об.%) в семенах, аминокислотному составу семян и листьев.

3. Установлено, что щирица запрокинутая наиболее радиочувствительна к провокационному острому предпосевному γ -облучению ($Dq=225$ Гр) в сравнении с сортами «Чергинский» ($Dq=800$ Гр) и «Янтарь» ($Dq=300$ Гр). Для сортов «Чергинский» и «Янтарь» во втором поколении острое γ -облучение привело к эффекту взаимокompенсации между суммарным содержанием низкомолекулярных антиоксидантов и активностью пероксидазы. У щирицы запрокинутой, на фоне незначительного увеличения содержания низкомолекулярных антиоксидантов, активность ферментативных антиоксидантов варьировала в пределах контроля.

4. Установлено, что мука мелкого помола из биомассы щирицы запрокинутой соответствует нормам безопасности по показателям органолептических, химико-токсикологических и биохимических исследований и может использоваться в пищевых целях.

5. Показано, что введение 15 г/сут в течение 30 дней травяной муки из надземной фитомассы щирицы запрокинутой к основному корму порослят-отъемышей породы «Крупная белая» повысило на 24,2% относительный прирост массы тела и позволила сохранить 100% поголовья в зимний период.

6. Установлено, что лиофилизат, полученный из экстракта надземной части щирицы запрокинутой, обладает радиопротекторным эффектом в отношении рентгеновского облучения однократной летальной дозой 900 Р лабораторных мышей. Пероральное введение водного раствора лиофилизата объемом по 50 мкл водного раствора лиофилизированного экстракта с концентрацией 20 мг лиоф./мл (50 мг лиоф /кг_{массы тела}) привело к повышению радиорезистентности животных по выживаемости (ФИД=1,5) и по массе лабораторных мышей (ФИД=1,2). Выявлено снижение тяжести течения лучевой болезни, выраженной в ускорении сроков восстановления и нормализации количества форменных элементов крови животных до уровня биологического контроля.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Влияние предпосевного облучения семян амаранта [*Amaranthus L.*] на физиологические и цитолого-биохимические характеристики семенного потомства // Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова. – 2011. - №2. – С.20-25.
2. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Влияние предпосевного облучения семян амаранта (*Amaranthus L.*) на фотосинтез семенного потомства // Наука и образование. - 2011. - №4. - С.65-68.

3. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Определения компонентного состава семян и листьев представителей рода *Amaranthus L.*, произрастающих в условиях Центральной Якутии // Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова. – 2012. - №2. – С.47-52.
4. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р., Слепцов И.В. Радиомодифицирующее действие лиофилизата щерицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus L.*) на физиологические и биохимические характеристики проростков пшеницы // Наука и образование. - 2014. - №1. - С.96-102.
5. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Содержание сквалена в маслах семян семейства *Amaranthus L.*, произрастающих в Центральной Якутии // Материалы Международной заочной научно-практической конференции 27 декабря 2011г. «Актуальные проблемы биологии, химии, физики». Новосибирск: Изд-во «ЭКОР-книга». 2011. С. 13-16
6. Воронов И. В., Шеин А.А., Поскачина Е.Р. Влияние различных концентраций гидроксиламина на физиолого – биохимические характеристики амаранта // Сборник трудов. Всероссийской научно-практической конференции с элементами научной школы для молодежи 11 - 12 ноября 2011г. «Живые системы и конструкции материалы в условиях криолитозоны». Якутск. 2011. С. 122-128
7. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Ответные физиолого-биохимические реакции проростков семян *Amaranthus L.* на действие предпосевного γ -облучения // Тезисы докладов Междисциплинарной научной конференции «Адаптационные стратегии живых систем», 2012, Новый свет, Украина. Киев: Издатель В.С. Мартынов. С.229-230.
8. Воронов И. В., Шеин А.А., Поскачина Е.Р. Управление адаптационными процессами растений *Amaranthus L.* в условиях Центральной Якутии с помощью гидроксиламина в целях повышения содержания сквалена в масле семян // Тезисы докладов Междисциплинарной научной конференции «Адаптационные стратегии живых систем», 2012, Новый свет, Украина. Киев: Издатель В.С. Мартынов. С.229-230.
9. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Физиолого-биохимические реакции проростков семян *Amaranthus L.* на действие предпосевного γ -облучения // Материалы Всероссийской конференции «Биологические проблемы криолитозоны» посвященной 60-летию со дня образования Института биологических проблем криолитозоны СО РАН. Якутск. 30 июля – 05 августа. 2012. С.38-39.

10. Журавская А.Н., Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Влияние предпосевного γ -облучения семян амаранта (*Amaranthus L.*) на физиологические и цитолого-биохимические характеристики семенного потомства // Материалы докладов IV Съезд биофизиков России. Симпозиум III «Физика - медицине и экологии». Нижний Новгород. 20-26 августа. 2012. С.93.
11. Воронов И. В., Поскачина Е.Р. Содержание амарантина в листьях представителей рода *Amaranthus L.* произрастающих в условиях Центральной Якутии // Тезисы докладов XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Ломоносова – 2012. секция «Биология». Москва. 9-14 апреля. 2012. С. 247-248.