

15% увеличивает трансформацию обменной энергии в энергию прироста живой массы с 21,73 до 23,96 МДж или на 10,3%, что обеспечивает увеличение среднесуточных приростов на 7,9% и снижает затраты энергии корма на 7,1% в расчете на единицу энергии, отложенной в приросте.

По объему ejaculata бычки II опытной группы превосходили аналогов контрольной группы на 14,8%, а концентрация спермы - на 12%. Среднее количество замороженных доз спермы составило 65%.

Таблица 8. Основные показатели трансформации энергии корма в энергию прироста живой массы бычков

Группы	Энергия прироста, МДж	Трансформация ОЭ рациона в прирост живой массы, %	Затраты ОЭ рациона на 1 МДж в приросте живой массы, МДж
I	21,73	24,5	4,08
II	23,96	26,4	3,79
III	23,05	24,6	4,07

Список использованной литературы. 1. Богданов, Г.А. Кормление сельскохозяйственных животных / Г.А. Багданов // 2-е изд. перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1990. – 624 с. 2. Василюк, О.Я. Разные уровни легкопереваримых углеводов в рационе при откорме молодняка крупного рогатого скота / О.Я. Василюк // В кн.: Рациональные технологии заготовки высококачественных кормов и эффективного их использования. – Жодино, 1988. – С. 76-78. 3. Галочкина, В.П. Продуктивность интенсивно откармливаемых бычков в зависимости от деградируемости крахмалов в преджелудках / В.П. Галочкина // Зоотехния, ноябрь. – 2006. - // - С. 9-11. 4. Васильева К.Н. Влияние скармливания солей кобальта, марганца и патоки на качество спермы быков / К.Н. Васильева // Материалы конференции по биологии размножения сельскохозяйственных животных. – Минск, 1968. – С. 102-104. 5. Гечайте, Б.С. Спермопродукция быков, выращенных на различном уровне питания / Б.С. Гечайте, П.И. Пакенас // Материалы конференции по биологии размножения сельскохозяйственных животных. – Минск, 1968. – С. 90-92. 6. Григорьев, Н.Г., Эффективность использования энергии кормов при выращивании и откорме молодняка крупного рогатого скота / Н.Г. Григорьев, Н.П. Волков // Сельскохозяйственная биология. – 1986. – №6. – С. 70-73. 7. Григорьев Н.Г. К вопросу о современных проблемах в оценке питательности кормов и нормировании кормления животных / Н.Г. Григорьев // Сельскохозяйственная биология. – 2001. – № 2. – С. 89-100. 8. Биологическая полноценность кормов / Н.Г.Григорьев, Н.П.Волков, Е.С.Воробьев и др. – М.: Агропромиздат, 1989. – 287 с. 9. Дмитроченко, А.П. Потребность сельскохозяйственных животных в энергии и питательных веществах и нормы их кормления / А.П. Дмитроченко, В.П. Крылов // Записки ЛСХИ. – Л., 1973. – Т. 20. – С. 26, 39. 10. Фицев, А.И. Научное обоснование новой системы оценки качества протеина кормов для жвачных животных / А.А. Фицев // Автореф. дис... доктора с.-х. наук. – М., 1995. – 42 с.

УДК 577.112 : 573.6: 636

КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ФИТОЛЕКТИНОВ С УГЛЕВОДНЫМИ ДЕТЕРМИНАНТАМИ ЭРИТРОЦИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И α 1-4 D-ГЛЮКАНОМ

*Кубарев В.С., *Добровольский С.А., *Шишлов М.П. **Курдеко А.П., **Коваленок Ю.К.

* РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Республика Беларусь 222160

** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь 210026

Сопоставлены результаты взаимодействия некоторых фитолектинов с эритроцитами и α 1-4 D-глюканом.

The results of interaction some phytolectins with erythrocytes and α 1-4 D – glucane are collated

Введение. Для успешного решения актуальных вопросов производства животноводческой продукции необходимы глубокие исследования в области биохимии в целом и молекулярной биологии в частности. Прогресс и достижения в этой области науки тесно связаны с развитием новых методов исследований. Одним из них является изучение белков-лектинов.

Лектины тесно связаны с исследованием структуры и функций клеточных мембран, что важно при проведении различных биотехнологических работ, а также изучения патологических состояний (нарушение клеточного метаболизма, трансформация и разрушение клеток и т.д.) [1,2,3,4].

Лектины, входя в структуру тканей растений, микроорганизмов, животных, принимают участие в регулировании их метаболизма, а также в защите от некоторых агентов внешней среды. С другой стороны, лектины, будучи выделенными из живых объектов, являются ценными биохимическими реагентами, использование которых перспективно в экспериментальной цитохимии, в диагностике и лечении некоторых болезней животных, в биотехнологических процессах выделения некоторых сложных углеводсодержащих веществ.

В основе биологической активности лектинов лежит их способность к комплексообразованию. В таком комплексе сам лектин является ядром, а лигандами выступают углеводные детерминанты цитоплазматических мембран и стенок клеток, капсидов и суперкапсидов вирусов, а также другие углеводы. [5,6,7]

Цель работы – изучить взаимодействие фитолектинов с эритроцитами крупного рогатого скота и α 1-4 D глюканом

Материалы и методика исследований. Для проведения эксперимента использовали семена сои сорта Вилия, фасоли белой – Ольга, ярового ячменя – ВМ-МГФ, пшеницы Акогомуги. Семена тонко размалывали, и

для выделения лектинов использовали метод солевой экстракции.[5] Полученные экстракты хранились при температуре -18 С.

Сравнение комплексобразующей активности взаимодействия лектинов с углеводами системы гликокалекса эритроцитов проводилось с использованием эритроцитарной тест-системы, полученной из цельной крови крупного рогатого скота.

Эритроцитарная тест-система бралась в концентрации форменных элементов $12,4 \cdot 10^{12}/л$. Подсчет эритроцитов проводился в камере Горяева.

Реакция гемагглютинации, вызванная фитолектинами семян, фиксировалась на спектрофотометре Helios Alfa and Beta (Великобритания) в режиме турбодиметрии при фиксированной длине волны 420 нм [8,9,10,11,12,13]. Турбодиметрия реакционной смеси проводилась на протяжении 40 минут.

Статистическо - математическая обработка экспериментальных данных проводилась с использованием программного обеспечения спектрофотометра и пакета программ Microsoft office персонального компьютера.

Глюкозная специфичность лектиновых белков определялась по модифицированному методу I.J. Goldstein гаптенного ингибирования реакции преципитации исследуемого лектина с полисахаридами [14], с применением иод-крахмальной тест – системы [11].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты турбодиметрии суспензии эритроцитов после добавления экстрактов лектинов различных культур, после программной обработки были представлены графически.

Разница в способности лектинов формировать комплексы с эритроцитами обусловлена разным пространственным соответствием углеводных доменов лектинов семян, используемых в эксперименте сельскохозяйственных культур и распознаваемыми ими углеводными детерминантными участками антигенного комплекса системы гликокалекса эритроцитов

Снижение пропускной способности эритроцитарной взвеси с 88 % до 51%, т.е. на 37%, или в 1,72 раза, в течение 40 минут свидетельствует о высокой интенсивности реакции агглютинации эритроцитов лектинами сои. Интенсивное падение светопропускной способности эритроцитарной суспензии наблюдалось с первых минут эксперимента и продолжалось до 30-ой минуты турбодиметрии. Затем наклон кривой гемагглютинации несколько уменьшается, что свидетельствует о снижении интенсивности гемагглютинации. Однако и на последней минуте эксперимента с использованием лектинов семян сои кривая гемагглютинации имеет незначительный наклон к оси абсцисс. Это позволяет сделать выводы о том, что к концу эксперимента в реакционной смеси все еще существуют активные молекулы лектина, способные к дальнейшей реакции гемагглютинации.

Падение пропускной способности суспензии эритроцитов на протяжении 40 мин. эксперимента после добавления лектинов из семян пшеницы произошло с 42 до 27 % , т.е. в 1,55 раза. Такое падение светопропускной способности также высокое и характеризует высокую комплексобразующую активность лектинов пшеницы по отношению к углеводным детерминантам гликокалекса эритроцитов. Лектины ячменя оказались менее специфичны к эритроцитам крупного рогатого скота. Падение светопропускной способности с 61 до 53% – т.е. в 1,15 раза—характеризует их низкую гемагглютинирующую активность.

Лектины фасоли белой, как ни странно, также показали низкую гемагглютинирующую активность. Образование агрегатов вызвало падение светопропускной способности взвеси эритроцитов при добавлении лектинового экстракта семян фасоли с 52 до 45 % – в 1,15 раза соответственно. В то же время в мировой литературе приводятся сведения о высоком содержании лектинов в семенах этой культуры. Низкую агглютинацию эритроцитов крупного рогатого скота лектинами фасоли можно объяснить специфичностью углеводов гликокалекса эритроцитов, к которым углеводсвязывающие участки доменных структур лектина имеют невысокое пространственное соответствие.

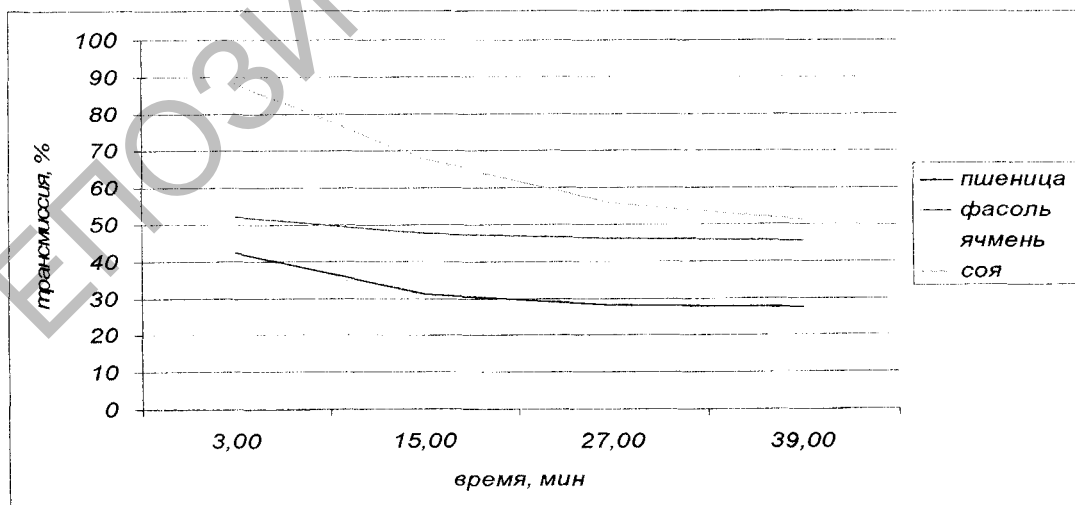


Рисунок 1. Кривые гемагглютинации по результатам турбодиметрии.

Выход кривых гемагглютинаций на плато через полчаса после начала эксперимента (кроме кривой гемагглютинации лектинами сои) и отсутствие дальнейшего падения светопропускной способности взвеси эритроцитов показывает отсутствие агглютинации в реакционной смеси. Это можно объяснить тем, что в результате комплексобразования при связывании лектина с углеводными детерминантами эритроцитов в реакционной смеси не осталось активных, свободных от углеводных лигандов молекул лектина.

Оценка ген-специфичности лектинов с α 1-4 D глюкозаминид-галактозилтрансферазой. Для определения взаимодействия лектинов с крахмалом была приготовлена йод-крахмальная тест-система.[3] Для ее приготовления к приготовленному желатинизированному прозрачному раствору крахмала был прилит 0,5% раствор йода в объеме 0,3 мл. В результате чего приготовленный йод-крахмальный комплекс приобрел насыщенный интенсивно синий цвет.

Йод-крахмальный комплекс был разлит по 16 пробиркам в объеме 3 мл. Каждые четыре пробирки из 16 использовались для определения глюкозоспецифичности лектинов одного из исследуемых экстрактов.

В партию по четыре пробирки приливали последовательно разведенные дистиллированной водой исследуемые лектиновые экстракты в соотношении 1/1; 2/1; 4/1. Контролем служил йод-крахмальный комплекс с прилитым к нему дистиллированной водой в таких же объемах, в которых вода приливалась в экстракты. Инкубация проводилась при температуре 20°C на протяжении трех часов.

Оценка активности лектинов по комплексообразующей способности взаимодействия с крахмалом проводилась по общепринятой методике в крестах.

Таблица. Взаимодействие фитолектинов с α 1-4 D глюкозаминид-галактозилтрансферазой.

культура	Последовательное разведение			
	экстракт	1/1	2/1	4/1
соя	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +
пшеница	+ + +	+ + +	+ + +	+ +
Фасоль	+ +	+ +	+ +	+ +
Ячмень	+	-	-	-

- + - обесцвечивание раствора незначительно, осадка практически не наблюдается;
- + + - сильное обесцвечивание раствора, в растворе наблюдается интенсивная муть;
- + + + - полное обесцвечивание раствора, хлопья на дне пробирки и в супернатанте;
- + + + + - полное обесцвечивание раствора с формированием мощного слоя осадка.

Из таблицы видно, что изучаемые лектины сельскохозяйственных культур обладают различной комплексообразующей активностью по отношению к крахмалу, являющемуся основным компонентом используемой тест-системы. Так как йод-крахмальная тест-система служит для определения глюкозоспецифичности лектинов, то можно сделать заключение о том, что лектины различных сельскохозяйственных культур изучаемых в эксперименте, имеют различную аффинность к глюкозе.

Наиболее интенсивное комплексообразование наблюдалось при взаимодействии с глюкозными мономерами крахмала лектинов сои, преципитация в этом случае составила 4+. Снижение концентрации лектинов за счет разведения лектинового экстракта дистиллированной водой даже в объеме 1/4 влияния на комплексообразующую активность белков данного класса не оказало. Лектины семян пшеницы также оказались активными преципитинами тест-системы. Однако при разведении экстракта 1/4, как в случае с лектинами сои, наблюдалось незначительное изменение активности лектинов. Если при использовании экстракта лектинов пшеницы разведенного дистиллированной водой в соотношении 1/1 и 1/2 активность лектинов составила 3+, то при использовании разведения 1/4 преципитация составила 2+. Фасоль проявила менее выраженную лектиновую активность по сравнению с двумя предыдущими образцами лектинов. При разведении экстракта лектинов фасоли как в соотношении 1/1, так и в 1/4 изменения активности в осаждении крахмала не наблюдалось. Комплексообразующая активность, проявляющаяся в виде формирования преципитата, составила в обоих случаях 2+. Наиболее низкая комплексообразующая способность наблюдалась при исследовании глюкозоспецифичности лектинов семян ячменя. Так при исследовании экстракта семян ячменя, содержащего максимальную концентрацию лектинов, преципитация составила всего лишь 1+. При экспериментальном разведении экстракта преципитирующая активность лектинов ячменя визуально не фиксировалась. В контроле изменений не происходило, растворы оставались цветные и прозрачные.

Проведенные исследования с использованием йод-крахмального комплекса показывают, что самую высокую аффинность и avidность к глюкозе имеют лектины семян сои и пшеницы. Значительно более низкое пространственное соответствие к глюкозе у глюкозузнающих доменов лектинов семян ячменя и фасоли. Следует отметить, что незначительное обесцвечивание йод-крахмального кватратного комплекса в случае использования в качестве преципитина лектинов ячменя косвенно указывает на наличие в экстракте семян моновалентных лектинов. Такие лектины, в свою очередь, не способны к осаждению глюкозных полимеров, однако при этом могут менять пространственную конфигурацию йод-крахмального кватратного комплекса, высвобождая или экранируя ионы йода, что приводит к изменению интенсивности окраски используемого в качестве лиганда йод-крахмального комплекса. Таким образом полученные данные позволяют сделать заключение о том, что лектины ячменя способны сорбироваться на глюкозных детерминантах эритроцитов крупного рогатого скота, не вызывая значительную агрегацию последних.

При сопоставлении результатов, полученных в ходе турбодиметрии взаимодействия лектинов исследуемых культур и суспензией эритроцитов, а также постановке реакции комплексообразования между лектинами сельскохозяйственных культур и крахмалом йод-крахмального комплекса проявляющейся в виде серологической реакции преципитации, наблюдается схожесть в интенсивности обеих типов реакций.

Высокая гемагглютинирующая и преципитирующая активность лектинов сои и пшеницы, менее выраженная у фасоли и низкая у лектинов семян ячменя, позволяет сделать выводы о том, что данные фитогемагглюти-

нины в обоих случаях распознают схожие углеводные участки. Соответственно углеводом, оказывающим основное влияние на формирование агрегатов эритроцитов крупного рогатого скота, который выступает лигандом при взаимодействии с лектинами семян сои и пшеницы является глюкоза, а также ее производные.

Заключение. В результате проведенных исследований дана сравнительная характеристика гемагглютинирующей активности фитолектинов некоторых бобовых и зерновых культур по отношению к эритроцитам крупного рогатого скота и преципитирующая с α 1-4 D-глюканом. Интенсивная преципитация α 1-4 D-глюкана наблюдалась при его взаимодействии с лектинами сои и пшеницы и менее выраженная при взаимодействии с лектинами фасоли и ячменя.

Установлено, что основным структурным элементом гликокалекса эритроцитов, который детектируют фитолектины сои, фасоли, пшеницы и ячменя являются мономеры глюкозы или ее производные.

Литература. 1. Игнатов, В.В. Углеводоузнающие белки- лектины. / В.В. Игнатов // Соросовский образовательный журнал. –1997.– №2.– С.14–20. 2. Луцки, А.Д. Лектины / Е.Н Панасюк., М.Д Луцки.– Львов: Выща школа, 1981. –С.156 3. Луцки, А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д Луцки, Е.С Детюк, М.Д Луцки. Львов: Выща школа, 1989. –С.142 4. Лахтин, В.М. Лектины – регуляторы метаболизма /В.М. Лахтин// Биотехнология. 1986 –№ 6. –С.66–69. 5. Кубарев, В.С. Изучение реакции агглютинации лектинов зерновых и бобовых культур с микроорганизмами- возбудителями желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных. / В.С. Кубарев, М.П. Шишлов // Известия Национальной Академии Наук, –2006.– №5.– С.105–107 6. Кубарев, В.С. Перспективы использования лектинов бобовых культур в медицине, ветеринарии и селекции. / В.С. Кубарев, С.А. Добровольский, М.П.Шишлов // Роль молодых ученых в развитии науки: материалы науч.-практ. конф., Великие Луки, 9-12 апреля 2007. –С. 106-112 7. Кубарев, В.С. Определение детерминант – специфичности микроорганизмов вида *Chlamidia psittaci* и вирус-возбудителей желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных с помощью фитолектинов, содержащихся в экстрактах бобовых культур материнских конференций / В.С.Кубарев, П.А. Красочко, С.А. Добровольский, М.П. Шишлов / Биоресурсы и вирусы; мат. междунар. конференц. 10-13 сентября 2007г. / Киевский нац. универ. им. Т. Шевченко – г.Киев, 2007 8. Арора, С.К. Химия и биохимия бобовых растений / С.К.Арора; перевод с англ. Спектров К.С.– Москва; Агропромиздат, 1986.–С.. 222-225 9. Самаль А.Б., Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы. / А.Б Самаль//, Мн., 1990. 10. Губен- Вейель. Методы органической химии: в 6т. / Губен- Вейель.– Москва: Химия, 1967. –6 т. 11. Кубарев, В.С. Лектины семян зерновых и зернобобовых культур и оценка их гемагглютинирующей активности. / В.С. Кубарев, С.А. Добровольский, И.Н. Мисник, М.П. Шишлов // Приложение к журналу Известия Национальной Академии Наук. Биологическая серия 2008г. 12. Ляликов, Ю.С. Физико-химические методы анализа. / Ю.С.Ляликов:– Москва: Химия 1964. –128–246 с. 13. Булатов, М.И., Практическое руководство по фотокolorиметрическому и спектрофотометрическому методам анализа: учебн. пособ./ М.И Булатов, .И.П. Калинин. –Ленинград: Химия, 1972. 14. Голдштейн, И.Дж. Использование конканавалина А в структурных исследованиях / И.Дж. Голдштейн, Методы исследования углеводов Москва: Мир, 1975 – С. 88-99 Пер.с англ В.А.Несмеянова Под редакц. А.Я. Хорлина

УДК 619:618.14-002-084:636.7

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОРМА, ОБОГАЩЕННОГО БЕТА-КАРОТИНОМ, ПРИ КОРМЛЕНИИ СОБАК

Кузьмич Р.Г., Мирончик С.В.*, Голынец В.Г. **

*УО «Витебская государственная ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210032

**«Государственный пограничный комитет Республики Беларусь», г. Минск, Республика Беларусь, 220050

При проведении научно-исследовательского эксперимента по изучению эффективности β -каротина при добавлении его в корм собакам наблюдали положительные тенденции в картине крови под воздействием данного компонента, которые свидетельствуют о нормализации ферментативной системы организма, характеризующей работу печени, почек, поджелудочной железы, кишечника и других жизненно важных органов. Оптимальной дозой антиоксиданта для собак явилось 12,8 мг β -каротина на животное в день.

During the scientific research experiment in the study of β -carotene efficiency when adding it to the dog feed, positive tendencies in the picture of blood under the influence at this component were noticed, which shows the normalisation of the enzyme system of the organism characterising the function of the liver, kidneys, pancreas, intestine and other vital organs. The optimal dose of the antioxidant was 12,8 mg of β -carotene per animal per day.

ВВЕДЕНИЕ. В силу объективных и необъективных обстоятельств большинство научно-исследовательских работ в ветеринарии посвящены сельскохозяйственным животным. Изучению же домашних питомцев, в частности собак, всегда отводилось второстепенное значение. Однако в последнее десятилетие значительно возрос интерес к этим животным [2]. Специально обученные собаки – поводыри, саперы, охранники, спасатели – уже сотни лет верно служат человеку. Несмотря на то, что техническое оснащение органов пограничной службы и МВД существенно возрастает, значимость служебных собак не снижается, а наоборот, постоянно растет. Однако собака для большинства людей не просто помощник, а друг. В последние годы в медицине даже появилось новое направление психотерапии – анималтерапия – лечение с помощью животных. Поэтому в настоящее время в ветеринарной науке начали появляться серьезные исследования, посвященные проблемам этиологии, течения, диагностики, лечения и профилактики болезней мелких домашних животных [1].

Как известно, работоспособность и заболеваемость животных существенно зависит от правильного кормления и содержания, что вызывает необходимость разработки и усовершенствования рецептуры кормов для собак. Смертность от незаразных болезней, возникающих при неполноценном кормлении, достигает до 40% [3]. Несбалансированный рацион, особенно по витаминам, минеральным веществам и антиоксидантам, сказывается на росте, развитии и функции воспроизводства. Витамины активизируют и нормализуют обменные про-