

Назаренко Андрей Вячеславович

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ И СОПРЯЖЕННОСТЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ
МЕТАЛЛОВ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ СВИНЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ПОРОДЫ**

Специальность: 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет»

Научный руководитель:

Короткевич Ольга Сергеевна

доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры ветеринарной генетики и
биотехнологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ

Официальные оппоненты:

Бекенёв Виталий Алексеевич

доктор сельскохозяйственных наук, профессор ФГБУН
СФНЦА РАН

Чалова Наталья Анатольевна

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
доцент кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО Кузбасский ГАУ

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Алтайский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «» 2024 г. в часов на заседании диссертационного совета 35.2.025.03 (Д 999.107.02), созданного на базе ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.

тел./факс: 8(383)264-29-34, e-mail: norge@ngs.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ и на сайте <http://nsau.edu.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Маренков
Владимир Григорьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований и степень разработанности выбранной темы.

Свиноводство является одной из наиболее скороспелых отраслей животноводства, позволяющей относительно быстро увеличить производство мясной продукции. Решить проблему увеличения объемов мясной продукции можно только уделив основное внимание развитию свиноводства, как наиболее скороспелой и технологичной отрасли (Дунин И.М. и др. 2021; Бекенёв В.А., 2018).

Производство свинины в нашей стране выросло на 28,2% (с 2016–2021 гг.) и составило 4,3 млн т (Амико..., 2019). Подобных темпов прироста невозможно было бы добиться без сокращения объемов импорта, простимулировав, таким образом, собственный аграрно-промышленный комплекс (АПК). По прогнозам, производство свинины к 2025 г. составит 5 млн т. (Амико..., 2019).

В связи с этим ключевым вектором развития АПК представляется обеспечение население полноценной и экологически безопасной мясной продукцией собственного производства в постоянно изменяющихся экологических условиях. Это должно быть на уровне национальной идеи страны, отвечающей ее интересам в сфере агропромышленного комплекса (Башлакова О.И., 2015; Солошенко В.А. и др., 2023). Экономическая нерентабельность не должна быть единственным основанием для уничтожения локальных пород животных, потому что они могут быть разделены на три категории: научные, культурные и экономико-биологические. Локальные породы имеют научное значение, представляя собой отдельные популяции, которые могут быть полезны для изучения генетического фонда и эволюции видов. Они также являются культурно значимыми, поскольку могут быть связаны с историческими и традиционными практиками местного населения. Наконец, локальные породы представляют экономико-биологическое значение, поскольку они могут быть адаптированы к местным условиям и более устойчивы к изменениям окружающей среды. Таким образом, решение об уничтожении локальных пород должно приниматься с учетом не только экономических факторов, но и их научной, культурной и потенциальной экономико-биологической ценности (Зиновьева Н.А. и др., 2006; Алтухов Ю.П. и др., 2004).

Если в рационах животных присутствует недостаток или избыток одного или нескольких химических элементов, то это прямым образом может сказаться на развитии, здоровье и продуктивности. Поскольку животные наиболее чувствительны к подобного рода дисбалансам, то изменение уровня одного элемента ведет к изменению концентрации других. При этом идет нарушение метаболизма, в ходе которого ассимиляционные и диссимиляционные процессы перестают работать должным образом (Мирошников С.А. и др., 2016).

Оценка безопасности окружающей среды, ее компонентов и экологически безопасных продуктов питания для человека с помощью предельно допустимой концентрации не отражает объективного влияния на организм животного (Коваленок Ю.К., 2012; Костомахин

Н.М., 2013; Барановская Н.В., 2023). В данной ситуации основой диагностики тератогенного воздействия среды на макроорганизм может служить система оценки содержания химических элементов в органах и тканях, составляющая в совокупности элементный статус (Мирошников С.А. и др., 2016; Скальный А.В., 2021; Ильенок С.С., 2023). Однако до настоящего времени не существует официально признанных референсных диапазонных значений ни по одному химическому элементу в органах и тканях животных с учетом их направления продуктивности, породной принадлежности, географических и экологических условий (Зайчик В.Е., 2013). Более того, многие вопросы, связанные с ассоциацией биохимических, гематологических, а также макро- и микроэлементных показателей между собой в органах и тканях остаются малоизученными.

Поэтому необходимо проводить комплексные исследования интерьера животных, включая элементный статус, а также поиск и подбор подходящих биологических маркеров биоиндикации накопления тяжелых металлов в органах и тканях свиней с целью получения экологически чистой продукции.

Работа выполнялась в рамках гранта Российского фонда фундаментальных исследований «Закономерности депонирования и изменчивости тяжелых металлов в органах и тканях свиней Западной Сибири» (проект № 20-316-90029) и в рамках госбюджетной тематики «Изучение генофонда и фенотипа пород сельскохозяйственных животных в Сибири» (РК 01201362239).

Цель исследований: изучение содержания и изменчивости уровня меди, железа, цинка, марганца и кадмия в органах, мышечной ткани, копытном роге и щетине свиней кемеровской породы и установление связи между ними и интерьерными признаками, а также сравнение микроэлементного профиля с другими породами и видами животных.

В задачи исследований входило:

1. Определить содержание и изменчивость уровня тяжелых металлов (Cu, Fe, Zn, Mn, Cd) в печени, мышечной ткани, почках, селезенке и щетине свиней кемеровской породы.
2. Изучить межпородные (свиньи) и межвидовые (свиньи, овцы, крупный рогатый скот) различия в аккумуляции некоторых тяжелых металлов в органах и мышечной ткани.
3. Выявить корреляции между концентрациями меди, железа, цинка, марганца и кадмия в органах, мышечной ткани и щетине свиней. Изучить связь между концентрацией некоторых тяжелых металлов в органах и мышечной ткани с другими интерьерными показателями, а также живой массой животных.
4. Провести поиск прижизненных неинвазивных маркеров накопления микроэлементов в органах свиней в условиях Западной Сибири.

Научная новизна. Установлены средние уровни, доверительные интервалы и изменчивость концентрации тяжелых металлов (Cu, Fe, Zn, Mn, Cd) в печени, мышечной ткани, почках, селезенке и щетине свиней кемеровской породы в условиях Западной Сибири.

Выявлены разнонаправленные корреляции между концентрацией химических элементов и интерьерными показателями, а также живой массой свиней кемеровской

породы. Установлены межпородные и межвидовые различия в степени аккумуляции тяжелых металлов в органах и мышечной ткани животных.

Разработаны способы определения содержания цинка в почках по концентрации отдельных химических элементов в копытном роге (патент РФ № 2761031 от 02.12.2021).

Теоретическая и практическая значимость работы. Данные о содержании и изменчивости концентрации тяжелых металлов в органах и тканях сельскохозяйственных животных позволяют познать структуру организма, формообразовательные процессы в онтогенезе, выявить факторы, воздействующие на них, что можно использовать в селекционно-племенной работе по совершенствованию продуктивных и племенных качеств.

Полученные корреляции между концентрациями некоторых микроэлементов в органах и скелетной мускулатуре и их содержанием в волосе позволяют рекомендовать волосяной покров в качестве потенциального биоиндикатора элементного статуса организма животных.

Установленные межпородные и межвидовые различия в депонировании железа и марганца в волосе и почках животных указывают на определенную роль наследственности в аккумуляции тяжелых металлов.

Кроме того, исследование может иметь важное историческое значение, поскольку оно позволит сохранить информацию об элементном статусе свиней кемеровской породы для будущих исследований в направлении комплексного изучения генофонда и фенотипа пород и видов сельскохозяйственных животных.

Методология и методы исследования. Методологической основой послужили работы отечественных и зарубежных учёных в области биологических и сельскохозяйственных наук. Определение концентрации химических элементов в органах и мышечной ткани животных производилось методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной и электротермической атомизацией. Для установления содержания тяжелых металлов в копытном роге и щетине использовали метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной аргоновой плазмой.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Средние показатели, доверительные интервалы и изменчивость концентрации тяжелых металлов в органах и скелетной мускулатуре могут быть использованы в качестве характеристики интерьера по элементному статусу свиней кемеровской породы в условиях Западной Сибири.

2. Уровни некоторых химических элементов в копытном роге могут быть использованы для прогнозирования содержания цинка в почках свиней.

3. Содержание цинка и железа в органах коррелирует с живой массой животных.

4. Породная и видовая принадлежность влияет на накопление микроэлементов в почках и волосе животных.

Степень достоверности и апробация результатов исследований. Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов, изложенных в диссертационной работе, обеспечиваются объемом использованного материала,

применением стандартных методов его сбора и обработки, а также современными методами статистического анализа исходных данных.

Основные результаты исследований были представлены на конференциях: научно-практической конференции преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов Новосибирского ГАУ «Актуальные проблемы агропромышленного комплекса» (Новосибирск, 2016-2017), XX Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Монголии, Сибирского региона, Казахстана и Болгарии» (Новосибирск, 2017), XIV Международной научно-практической конференции «Пища. Экология. Качество» (Новосибирск, 2017), Международной конференции «33. Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements (GMS) with Zinc-UK and Zinc-Net COST Training School Zinc and other Transition Metals in Health and Disease» (Германия, 2017), 56-й Международной научной студенческой конференции «МНСК-2018: Сельскохозяйственные науки» (Новосибирск, 2018), Национальной (всероссийской) научной конференции «Теория и практика современной аграрной науки» (Новосибирск, 2018), VII Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Горно-Алтайского государственного университета «Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий» (Горно-Алтайск, 2019), IV Всероссийской (национальной) научной конференции «Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий» (Новосибирск, 2019), International Scientific and Practical Conference «BIO Web of Conferences» (Тюмень, 2021), научно-практической конференции научного общества студентов и аспирантов биолого-технологического факультета «Проблемы биологии, зоотехнии и биотехнологии» (Новосибирск, 2021).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК, – 4 статьи в журналах «Вестник НГАУ» и «Главный зоотехник»; в изданиях из списка Web of Science и Scopus – 2 работы в журнале «Trace Elements and Electrolytes» и сборнике трудов конференции BIO Web of Conferences. Получен патент на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста, содержит 23 таблицы и 4 рисунка. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения результатов исследований, предложений, библиографического списка. Библиографический список включает 477 источников, из которых 122 представлены отечественными и 355 зарубежными наименованиями.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе приведен аналитический обзор биологической роли в организме животных металлов-микроэлементов и экополлютантов, также рассмотрены особенности обмена тяжелых металлов в организме животных.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования были проведены в период с 2018 по 2021 г. на клинически здоровых свиньях кемеровской (n=26, Новокузнецкий р-н, Кемеровская обл.), скороспелой мясной (n=18, Новосибирский р-н, Новосибирская обл.) породы ландрас (n=20, Тальменский р-н, Алтайский край) в возрасте 6 месяцев. Материалом для исследования являлись пробы щетины, копытного рога, мышц, печени, почек, селезенки и крови свиней (рисунок 1). Для сравнительного анализа также были отобраны пробы почек овец романовской (n=18) и крупного рогатого скота голштинской (n=20) породы, выращенных в Промышленновском р-не Кемеровской области.

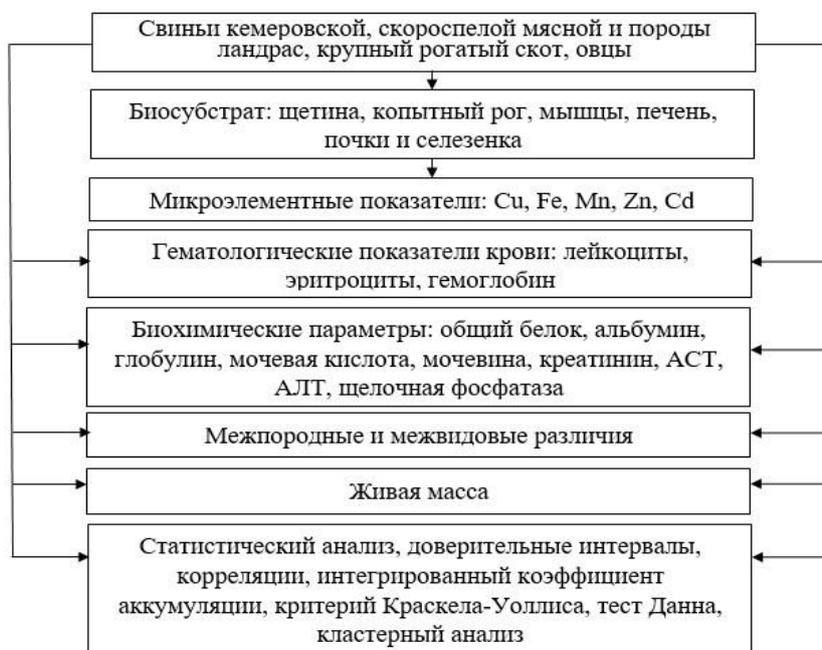


Рисунок 1 – Схема исследований

Пробы органов, мышечной ткани, копытного рога и щетины у животных отбирали с использованием механического ножа непосредственно после убоя (в случае с копытным рогом использовали копытный нож), затем они помещались в автомобильный морозильный бокс, где хранились при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, после производилась транспортировка биосубстрата в лабораторию для дальнейших исследований. Щетина свиней состригалась вдоль шейно-крестцового отдела позвоночника. Образцы мышечной ткани отбирались от длиннейшей мышцы (*longissimus dorsi*) спины — на уровне 8–12 позвонка. Пробы крови были взяты из поверхностной яремной вены до убоя после 10–12-часовой голодной диеты в вакуумные пробирки и транспортировались в специальном термоконтейнере при температуре $4\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Кровь в пробирках с антикоагулянтом не замораживалась, т.к. при

заморозке жидкость, содержащаяся в клетках крови расширяется и происходит механическая деструкция. Гематологические и биохимические исследования проводились не позднее 36 ч. с момента забора сыворотки крови на базе лаборатории кафедры ветеринарной генетики и биотехнологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ совместно с О.С. Короткевич и О.И. Себежко с применением унифицированных методов исследования крови.

Исследование биосубстрата проводили на базе Аналитического центра коллективного пользования Института геологии и минералогии им. В.С. Соболева Сибирского отделения Российской академии наук (АЦКП ИГМ СО РАН). Элементный анализ щетины и копытного рога проводился методом атомно-эмиссионной спектromетрии с индуктивно связанной плазмой IRIS Advantage Thermo Jarrell Ash (США) согласно МУК 4.1.1482-03 «Методы контроля. Химические факторы. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, поливитаминных препаратах с микроэлементами, в биологически активных добавках к пище и в сырье для их изготовления методом атомной эмиссионной спектromетрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой». Элементный анализ внутренних органов и тканей также проводился методом атомно-абсорбционной спектromетрии с пламенной и электротермической атомизацией на спектromетре SOLAAR M6 (США) согласно ГОСТ 26929-94 «Сырые и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов».

Определение гематологических параметров крови проводили на анализаторе HTI PCE-90Vet (США), показателей биохимического статуса — на анализаторе Photometer 5010 производства Robert Riele GmbH & Co KG (Германия) с помощью стандартных методик, разработанных для определения биохимических показателей животных и человека с использованием реактивов производства ЗАО «Вектор-Бест» и ООО «Ольвекс Диагностикум».

Статистическая обработка проводилась с использованием стандартного пакета Microsoft Office Excel 2016 и языка программирования R версии 3.0.1 на базе RStudio версии 2021.09.2+382 (RStudio, PBC, 2022). Нормальность распределения признаков оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка (W), сопряженность признаков — с помощью коэффициента корреляции Пирсона (r) и рангового коэффициента корреляции Спирмена (s). Для оценки факториальной изменчивости применяли критерий Краскела-Уоллиса как альтернативу однофакторному дисперсионному анализу (Kruskal W.H., 1952), для попарных сравнений после обработки данных критерием Краскела-Уоллиса — метод Данна. При оценке ненормально распределенных признаков был использован метод S.P. Hozo et al. (2005).

Оценка сходства внутренних органов и мышечной ткани животных по содержанию тяжелых металлов проводилась с использованием метода дендрограммы с манхэттэнскими дистанциями, при формировании кластеров в процессе построения дендрограмм — метод Уорда, чтобы минимизировать внутрикластерные дисперсии.

Межквартильный размах (IQR) вычисляли как разность между третьим и первым квартилями. Определяли интегрированный коэффициент аккумуляции тяжелых металлов (R_i).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Содержание и изменчивость концентрации тяжелых металлов в органах, скелетной мускулатуре и щетине свиней

Распределение элементов в органах, мышечной ткани и щетине в большинстве случаев происходило в следующей последовательности: Fe>Zn>Cu>Mn>Cd, за исключением мышечной ткани и щетины, где уровень цинка превышал содержание железа (таблица 1). Полученные данные о превышении концентрации цинка над уровнем железа в щетине и мышцах согласуются с аналогичными по другим породам (Зайко О.А., 2014).

Таблица 1 – Содержание (Me) тяжелых металлов в органах, мышечной ткани и щетине свиней, мг/кг

Биосубстрат	Cu	Fe	Zn	Mn	Cd
Щетина	39,00	69,5	170,0	19,00	0,009
Мышцы	0,82	11,5	18,5	0,12	–
Печень	8,18	218,0	75,0	3,52	–
Почки	3,80	37,0	19,0	1,40	0,140
Селезенка	0,55	190,0	24,0	0,19	0,014

Медь больше всего аккумулировалась в щетине. Концентрация данного металла в ней от 3,8 до 69,1 раза выше, чем в паренхиматозных органах и мышечной ткани. Содержание микроэлемента в мышцах и селезенке было примерно на одном уровне. При этом селезенка менее других органов насыщена медью. Установлены доверительные интервалы (ДИ) по содержанию меди в щетине и мышечной ткани (36,20–42,60; 0,70–0,98 соответственно).

Концентрация меди находилась в пределах референсных значений (5 мг/кг), регламентирующих содержание данного микроэлемента в мясе, мясных субпродуктах и продуктах переработки всех видов убойных, промысловых и диких животных (СанПиН 2.3.2.1078-01).

В органах, мышечной ткани и щетине кемеровских свиней наибольшая концентрация железа отмечается в селезенке. Его уровень в мышцах был минимальным — в 21,7 раза меньше, чем в селезенке. Концентрация железа в печени была в 6 раз выше, чем в почках. ДИ уровня железа в щетине, печени и скелетной мускулатуре составили 61,40–84,10; 194,90–238,40; 9,23–12,11 соответственно.

Концентрация цинка в щетине была максимальной при сравнении с уровнем микроэлемента в скелетной мускулатуре и паренхиматозных органах. При этом содержание химического элемента в печени по отношению к другим паренхиматозным органам было в 3 раза выше. ДИ по концентрации цинка в скелетной мускулатуре — 17,23–20,70.

Содержание марганца в щетине оказалось максимальным по сравнению с мышечной тканью и паренхиматозными органами. Минимальный уровень микроэлемента был отмечен в мышцах — в 30 раз ниже, чем в печени и в 168,3 раза, чем в щетине.

Минимальная концентрация кадмия была обнаружена в щетине и селезенке. ДИ уровня кадмия в щетине и почках 0,009–0,011; 0,130–0,170 соответственно.

Согласно интегрированным коэффициентам аккумуляции, максимальное накопление тяжелых металлов отмечается в почках и селезенке. Меньше всего микроэлементы накапливаются в мышцах (таблица 2).

Таблица 2 – Ранги органов и мышечной ткани по аккумуляции тяжелых металлов

Орган, ткань	Cu	Fe	Zn	Mn	R _{im}
Мышцы	3	4	4	4	0,06
Печень	1	2	1	1	0,31
Почки	2	3	3	2	0,37
Селезенка	4	1	2	3	0,37

Примечание. R_{im} – интегрированный коэффициент аккумуляции микроэлементов.

Ранжированный ряд по степени аккумуляции химических элементов в организме свиней можно представить в следующем виде: селезенка=почки > печень > мышцы.

Высокие значения критерия Краскела-Уоллиса (H=32,5–57,8) подтверждают отличия паренхиматозных органов в зависимости от концентрации тяжелых металлов (таблица 3).

Таблица 3 – Отличия между паренхиматозными органами по концентрации тяжелых металлов

Элемент	n	H	P
Медь	73	54,2	< 0,05
Железо	73	57,8	< 0,05
Цинк	73	48,7	< 0,05
Марганец	51	32,5	< 0,05

Факториальная изменчивость уровня цинка и марганца была ниже, чем меди и железа. При этом медь и железо в паренхиматозных органах распределены относительно равномерно.

Тест Данна показал, что существуют достоверно значимые отличия по содержанию железа в паренхиматозных органах между парами: «почки–печень» (3,8), «почки–селезенка» (–3,8), «печень–селезенка» (–7,6, p<0,05); меди: «почки–печень» (–3,3), «почки–селезенка» (4,05), «печень–селезенка» (7,3, p<0,05); цинку: «почки–печень» (–6,8), «почки–селезенка» (–2,3), «печень–селезенка» (4,5, p<0,05).

Для оценки фенотипического сходства по изучаемым микроэлементам установлены манхэттенские дистанции. Они позволяют произвести оценку органов и мышц по степени их сходства в аккумуляции тяжелых металлов. Наибольшее сходство по концентрации изученных элементов наблюдается между скелетной мускулатурой и селезенкой.

3.2 Межпородные и межвидовые различия в аккумуляции тяжелых металлов в органах и волосе животных

Изучение межпородных различий по содержанию микроэлементов в органах и щетине свиней в условиях Западной Сибири является важной задачей исследования элементного статуса животных.

Выявлены межпородные различия по содержанию железа и марганца в щетине и почках. Уровень железа в щетине и почках у кемеровской породы можно представить в виде

ранжированного ряда: щетина > почки в соотношении 1,8 : 1, скороспелой мясной — почки > щетина в соотношении 7,8 : 1, ландрас — щетина > почки в соотношении 2:1. Депонирование марганца в щетине и почках у кемеровской, скороспелой мясной и породы ландрас также можно представить в виде ранжированного ряда: кемеровская — щетина > почки в соотношении 13,6 : 1; скороспелая мясная – почки > щетина в соотношении 4,1 : 1; ландрас – щетина > почки в соотношении 17,3 : 1.

Показано, что накопление железа и марганца у породы кемеровская и ландрас имеет одинаковую тенденцию.

Согласно критерию Краскела-Уоллиса ($H=40,83$; $p<0,05$), на депонирование марганца в почках оказывает влияние фактор породы. Это подтверждается и тестом Данна, согласно результатам которого, существуют достоверно значимые отличия между парами: «кемеровская–скороспелая мясная» ($-6,3$, $p<0,05$) и «ландрас–скороспелая мясная» ($-4,33$, $p<0,05$). Генофонд породы влияет также и на накопление марганца в щетине ($H=37,4$; $p<0,05$), что подтверждается тестом Данна, результаты которого отображают достоверно значимые отличия между парами: «кемеровская–скороспелая мясная» ($5,22$, $p<0,05$) и «ландрас–скороспелая мясная» ($5,61$, $p<0,05$). Аналогичное влияние породного фактора было отмечено на аккумуляцию железа в почках ($H=41,95$; $p<0,05$), что подтверждается тестом Данна, по результатам которого, между парами «кемеровская–ландрас», «кемеровская–скороспелая мясная» и «ландрас–скороспелая мясная» были установлены достоверные различия ($-2,04$, $-6,43$ и $-4,15$; $p<0,05$ соответственно). Было установлено также влияние породы на депонирование железа в щетине ($H=18,53$; $p<0,05$), что тоже подтверждается критерием Данна, согласно результатам которого, между парами «кемеровская–скороспелая мясная» и «ландрас–скороспелая мясная» существуют достоверно значимые отличия ($3,95$ и $3,64$; $p<0,05$ соответственно).

В других исследованиях установлено влияние генофонда линий и семейств на содержание тяжелых металлов (Зайко О.А., 2013).

В таблице 4 представлены данные по уровню марганца в почках животных разных видов.

Таблица 4 – Содержание марганца в почках разных видов животных, мг/кг

Виды животных	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	σ	Me	Q1	Q3	IQR	Lim
Крупный рогатый скот	1,600±0,170	0,900	1,08	0,960	2,620	1,660	0,660–3,540
Свиньи	1,380±0,050	0,233	1,40	1,300	1,500	0,200	0,720–1,900
Овцы	0,030±0,001	0,004	0,03	0,029	0,031	0,002	0,020–0,036

Содержание микроэлемента в почках животных можно представить в виде ранжированного ряда: свиньи > крупный рогатый скот > овцы в соотношении 46,7 : 36,0 : 1. При этом концентрация тяжелого металла в почках разных видов животных характеризовалась ненормальным распределением.

Что касается применения критерия Краскела-Уоллиса, то по его результатам наблюдается влияние вида на аккумуляцию марганца в паренхиматозном органе ($H=26,52$;

$p < 0,05$). Этот факт подтверждается и тестом Данна, согласно результатам которого, существуют достоверно значимые отличия между парами: «крупный рогатый скот–овцы» (4,23, $p < 0,05$) и «овцы–свиньи» (-5,09, $p < 0,05$).

Для оценки фенотипического сходства по изучаемому микроэлементу также были установлены манхэттенские дистанции. Наибольшее сходство по концентрации изученного тяжелого металла наблюдается между крупным рогатым скотом и свиньями.

Межпородные и межвидовые различия влияния генофонда линий и семейств (Нарожных К.Н., 2019), генотипов производителей и др. свидетельствуют о роли наследственности в устойчивости или восприимчивости к накоплению тяжелых металлов в органах и тканях животных (Зайко О.А., 2014). Поэтому в зонах антропогенного воздействия возможно включение в селекционные программы показателя устойчивости или восприимчивости к накоплению тяжелых металлов.

Таким образом, полученные результаты отражают сложные процессы депонирования тяжелых металлов в паренхиматозных органах у животных разных видов.

3.3 Гематологический и биохимический статус кемеровских свиней

Для того чтобы увеличить производство экологически безопасной и чистой продукции животноводства, требуется качественное улучшение племенной работы с учетом актуальных научных достижений в биологии. В частности, гематологические и биохимические интерьерные показатели сыворотки крови представляют большой практический интерес для оценки животных и ускорения темпов селекции (Abeni F. et al., 2018; Ježek J. et al., 2018).

Исследования гематологических и биохимических параметров сыворотки крови свиней проведены совместно с О.И. Себежко, О.С. Короткевич и Т.В. Коноваловой. Содержание лейкоцитов и гемоглобина в сыворотке крови свиней соответствовало нормальному распределению с фактическим значением критерия Шапиро-Уилка $W = 0,93-0,94$.

Количество эритроцитов было на 3% выше нормы ($6,0-7,5 \times 10^{12}/л$, Аксенова В.М., 2019), в то время как уровень лейкоцитов приближался к верхней границе референсных значений ($8-16 \times 10^9/л$, Аксенова В.М., 2019). По-видимому, имеют место быть компенсаторные явления, поскольку нами не было отмечено никаких качественных и количественных изменений в печени и селезенке. При этом концентрация гемоглобина была на 25,2% выше стандартного интервала (90–110 г/л, Аксенова В.М., 2019). Это можно объяснить воздействием таких факторов, как генетика и география. В множестве работ показано, генетическая компонента оказывает влияние на гематологический профиль свиней, в частности, на содержание лейкоцитов (Abeni F. et al., 2018; Clapperton M. et al.; 2006, Thorn S.E. et al., 2010), эритроцитов и гемоглобина в кровяном русле (Abeni F. et al., 2018; Jegou M. et al., 2016). Некоторые исследователи полагают, что повышенный уровень лейкоцитов в сыворотке крови свиней может быть связан с высоким содержанием нейтрофилов в конкретной популяции (Grindem S.V. et al., 2011). В научной литературе также имеются

данные о том, что стресс является еще одним фактором, способным вызывать нейтрофилию и лимфопению у свиней при заборе крови наряду с вирусной инфекцией (Boulbria G. et al., 2021; Gauger P.C. et al., 2011; Ladinig A., 2014; Nielsen J. et al., 2003). Опыты на миниатюрных свиньях показали, что повышенные концентрации лейкоцитов и кортизола снижались с возрастом (Lee H.S. et al., 2018). Еще одно исследование показывает, что высокие значения гемоглобина могут характеризовать половую зрелость свиноматок и их готовность к опоросу (Bhattarai S. et al., 2018).

Содержание альбуминовой фракции белка и мочевины находилось в пределах установленных физиологических норм (19–39 г/л и 3,6–10,7 ммоль/л, Fielder S., 2015). Показатели общего белка, альбуминов, глобулинов и мочевины соответствовали нормальному распределению признаков с фактическим значением критерия Шапиро-Уилка $W=0,94-0,97$.

Концентрация общего белка на 1,8% ниже установленного стандартного интервала (79–89 г/л, Fielder S., 2015), в то время как уровень глобулинов был на 19,9% ниже минимально допустимой границы референсных значений (53–64 г/л, Fielder S., 2015). В случае с креатинином его содержание также не укладывалось в интервал средних популяционных значений (141–239 мкмоль/л, Fielder S., 2015).

Активность ферментов переаминирования аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови считается хорошим маркером повреждения мягких тканей, включая изменения проницаемости мембран и последующее высвобождение ферментов во внеклеточную жидкость.

Концентрация сывороточных ферментов АЛТ и АСТ была существенно ниже стандартных интервалов (31–58 и 32–84 ед/л, Fielder S., 2015). Показатели АСТ соответствовали нормальному распределению с фактическим значением критерия Шапиро-Уилка $W=0,94$.

Содержание щелочной фосфатазы находилось в пределах референсных значений (118–395 ед/л, Fielder S., 2015). Данный фермент, как и другие фосфатазы, требуется для гидролиза эфиров фосфорной кислоты, но в отличие от них она представляет собой металлопротеин. Имеются данные о том, что концентрация фермента в сыворотке крови свиней снижается с возрастом (Dubreuil P. et al., 1997). При этом некоторые исследователи отмечают, что, напротив, повышенный уровень щелочной фосфатазы указывает на увеличенную остеобластную активность у растущих свиней (Ventrella D. et al., 2017).

3.4 Корреляции между содержанием тяжелых металлов в органах, мышечной ткани и щетине свиней кемеровской породы

Связь между медью и железом отмечается в щетине и мышцах. Во всех случаях она была положительной, причем в мышечной ткани имела более сильный характер ($r=0,54$; $p<0,01$ и $r=0,77$; $p<0,001$ соответственно). Это связано с тем, что медь является синергистом железа, поскольку оба элемента необходимы для правильного эритропоэза. Более того,

баланс меди в организме тесно связан с абсорбцией железа, поскольку железо и медь обладают схожими физико-химическими и токсикологическими свойствами (Ha J.-H. et al., 2016). Положительная связь между концентрацией цинка и меди отмечается в мышечной ткани ($r=0,86$; $p<0,001$), почках ($r=0,68$; $p<0,001$) и селезенке ($r=0,56$; $p<0,01$), между кадмием и железом — в щетине ($r=0,64$; $p<0,001$).

Выявлена положительная связь между содержанием кадмия и уровнем железа в щетине ($r=0,64$; $p<0,001$). Белковый состав волос может варьироваться, т.к. он богат полярными и заряженными аминокислотами, представленными гидроксилами, амидами, кислыми и основными аминокислотами и дисульфидами, которые могут легко координироваться с эндогенно и экзогенно включенными металлами (Eastman R.R. et al., 2013). Определена отрицательная корреляция между уровнем железа в щетине и таковым в печени ($r=-0,52$; $p<0,05$), а также между цинком в щетине и медью в печени ($r=0,52$; $p<0,05$). Между медью и железом в щетине, а также между марганцем в щетине и цинком в почках отмечается прямая положительная связь ($r=0,54$; $p<0,01$; $r=0,49$; $p<0,05$). Следует отметить, что во встреченных нами данных литературы описываются преимущественно связи макро- и микроэлементов между собой в сыворотке крови либо при патологиях различного генеза. Некоторые механизмы взаимодействия между тяжелыми металлами до сих пор не изучены.

3.5 Связь уровня тяжелых металлов в органах, мышечной ткани и щетине с биохимическими показателями

В щетине между содержанием железа и концентрацией мочевины, уровнем марганца и содержанием мочевого кислоты установлены положительные связи (таблица 5). Положительная связь между железом в щетине и мочевиной в сыворотке крови обуславливается тем, что данный микроэлемент оказывает непосредственное влияние на выделительную систему и связан с анемией и почечной недостаточностью, поскольку при данных патологиях синтез эритропоэтина, гепсидина и других железосодержащих белков больными органами снижается (Ifudu O. et al., 1997).

Таблица 5 – Ассоциации тяжелых металлов в органах, скелетной мускулатуре и щетине с биохимическими показателями крови

Коррелирующие признаки	$r \pm S_r$	p
Fe _{щетина} – мочевина	0,39±0,18	< 0,05
Mn _{щетина} – мочевого кислоты	0,48±0,17	< 0,05
Mn _{мышцы} – АЛТ	0,49±0,17	< 0,05
Cd _{селезенка} – мочевого кислоты	0,47±0,18	< 0,05

Положительная корреляция между марганцем в щетине и мочевого кислотой в сыворотке крови объясняется тем же механизмом, что описан выше, поскольку концентрация циркулирующего в кровяном русле микроэлемента напрямую зависит от функциональной активности почек (Sánchez-González C. et al., 2015). Аналогичные положительные корреляции обнаружены в мышцах между уровнем марганца и концентрацией АЛТ, а также в селезенке между содержанием кадмия и уровнем мочевого кислоты.

Положительная ассоциация между концентрацией марганца в скелетной мускулатуре и уровнем АЛТ обуславливается содержанием микроэлемента в митохондриях клеток в виде Mn-SOD для защиты от оксидативного стресса, в то время как АЛТ — преимущественно печеночный фермент, но циркулирующий как в общем кровотоке, так и присутствующий в изоферментной форме в мышцах, являясь тем самым биоиндикатором некроза тканей (Zhu X. et al., 2020, Nathwani R.A. et al., 2005). Положительная корреляция между содержанием кадмия в селезенке и уровнем мочевой кислоты объясняется тем, что микроэлемент в органе связан с металлотеинеином, который имеет в своем составе аминокислоту цистеин, и его задача состоит в детоксикации физиологических и ксенобиотических тяжелых металлов (Suzuki K.T. et al., 1983). В свою очередь, мочевая кислота является биомаркером активации воспалительных цитокинов, резистентности к инсулину и окислительному стрессу и может участвовать в возникновении и развитии многих заболеваний, таких как подагра, рак и неврозы различного генеза (Kovacik A. et al., 2019; Krishnan E. et al., 2012; Kuo C.C. et al., 2015; Park J. et al., 2011; Sun H. et al., 2017).

3.6 Ассоциации между живой массой и содержанием тяжелых металлов в органах свиней

Нами определена средняя живая масса кемеровских свиней. Фенотипическая изменчивость свиней по этому показателю была умеренной ($Cv=9,9$).

Выявлены ассоциации между содержанием тяжелых металлов в органах и живой массой животных (таблица 6). Так, уровень цинка в печени и железа в селезенке положительно коррелировал с живой массой животных.

Таблица 6 – Корреляции между содержанием тяжелых металлов в органах и живой массой животных

Коррелирующие признаки	$r \pm S_r$	p
Zn _{печень} –m _{жив.} *	0,71±0,25	<0,05
Fe _{селезенка} –m _{жив.}	0,73±0,24	< 0,05

*m_{жив.} – живая масса животных.

Физиологическая роль цинка заключается в участии его в ферментативной деятельности и структурном поддержании многочисленных ферментов и белков (Grüngreiff K. et al., 2016; Prasad A.S., 1995; Stamoulis I. et al., 2007). Что касается железа, то концентрация ферритина и гемосидерина в сыворотке крови отражает запасы микроэлемента в организме. Они хранят тяжелый металл в нерастворимой форме и присутствуют в основном в печени, селезенке и костном мозге (Wood E.J. et al., 2005).

3.7 Связь уровня микроэлементов в копытном роге с концентрацией цинка в почках

Очень важным диагностическим инструментом является прижизненный поиск малоинвазивных и неинвазивных маркеров аккумуляции макро- и микроэлементов в биосубстратах, что позволяет обнаруживать изменения в элементном статусе организма животного.

Исследованы особенности накопления цинка в почках и копытном роге свиней. Наибольшая концентрация цинка наблюдалась в почках. Ранжированный ряд по уровню микроэлемента в представленных биосубстратах выглядел следующим образом: почки > копытный рог в соотношении 1,12 : 1.

Удобными биоиндикаторами, помимо копытного рога, являются также щетина и сыворотка крови. Изучена связь уровня кобальта в копытном роге с концентрацией цинка в почках. Это позволит прижизненно прогнозировать аккумуляцию данного микроэлемента в паренхиматозном органе (патент на изобретение № 2761031).

Показана средняя по величине связь между концентрацией кобальта в копытном роге и цинка в почках ($r = 0,575$; $p < 0,05$). Для определения уровня цинка в почках рассчитаны уравнения прямолинейной регрессии, позволяющие по концентрации микроэлементов в копытном роге предсказать аккумуляцию цинка в почках (патент на изобретение № 2761031). Это позволяет своевременно корректировать накопление биогенного элемента для получения экологически чистой и безопасной продукции.

ВЫВОДЫ

1. Установлена избирательность в аккумуляции тяжелых металлов и их доверительные интервалы в органах, мышечной ткани и щетине свиней кемеровской породы в условиях Западной Сибири. Распределение элементов в органах, мышечной ткани и щетине в большинстве случаев происходило в следующей последовательности: $Fe > Zn > Cu > Mn > Cd$, за исключением мышечной ткани и щетины, где уровень цинка превышал содержание железа. Эти данные можно использовать при комплексной оценке интерьера животных.

2. Показано, что концентрация тяжелых металлов значительно отличается в зависимости от вида паренхиматозного органа, о чем свидетельствуют значения критерия Краскела-Уоллиса ($N = 32,5 - 57,8$; $p < 0,05$). Факториальная изменчивость цинка и марганца была ниже, чем меди и железа. При этом медь и железо в паренхиматозных органах распределены относительно равномерно.

3. Наибольшая аккумуляция меди, цинка и марганца наблюдалась в щетине. Ранжированные ряды по содержанию микроэлементов в органах, мышцах и щетине имеют следующий вид: Cu — щетина > печень > почки > мышцы > селезенка в соотношении 71,0 : 14,8 : 6,9 : 1,5 : 1; Fe — печень > селезенка > щетина > почки > мышцы в соотношении 18,9 : 16,5 : 6,0 : 3,2 : 1; Zn — щетина > печень > селезенка > почки > мышцы в соотношении 9,2 : 4,0 : 1,3 : 1,0 : 1; Mn — щетина > печень > почки > селезенка > мышцы в соотношении 158,3 : 29,3 : 11,7 : 1,6 : 1; Cd — почки > селезенка > щетина в соотношении 15,5 : 1,55 : 1. Таким образом, наблюдаются различия по чередованию и соотношению среди ранжированных рядов по уровню микроэлементов в органах, скелетной мускулатуре и щетине.

4. Выявлены межпородные различия по содержанию железа и марганца в щетине и почках. Имеется определенная взаимосвязь по характеру распределения железа и марганца в представленных биосубстратах у двух пород — кемеровской и ландрас. Кластерный анализ

показал, что между ними существует связь по накоплению железа и марганца в щетине и почках. Таким образом, генофонд породы оказывает непосредственное влияние на аккумуляцию микроэлементов в щетине и почках свиней, что может свидетельствовать об определенной роли наследственности в накоплении тяжелых металлов у животных.

5. Показано влияние вида ($N=26,52$; $p<0,05$) на накопление марганца в почках животных, что свидетельствует об определенной доле наследственности в аккумуляции этого химического элемента в паренхиматозном органе. Этот факт подтверждается и тестом Данна, согласно результатам которого, существуют достоверно значимые отличия между парами: «крупный рогатый скот–овцы» ($4,23$, $p<0,05$) и «овцы–свиньи» ($-5,09$, $p<0,05$). Определены средние популяционные концентрации тяжелого металла, характерные для каждого вида животных.

6. Установлены фенотипические дистанции между органами и скелетной мускулатурой по концентрации микроэлементов. При группировке были выделены три основных кластера, из которых в первый кластер входила только печень, во второй — почки. Третий кластер состоял из двух подкластеров, представленных мышечной тканью и селезенкой.

7. Изучены корреляции некоторых биохимических показателей с содержанием микроэлементов в селезенке, мышцах и щетине. Уровень железа в щетине был положительно ассоциирован с уровнем мочевины в сыворотке крови ($r= 0,39$; $p<0,05$). Концентрация марганца в щетине прямо коррелировала с содержанием мочевой кислоты в сыворотке крови ($r= 0,48$; $p<0,05$). Между марганцем в скелетной мускулатуре и АЛТ в сыворотке крови была обнаружена положительная связь ($r= 0,49$; $p<0,05$). Накопление кадмия в селезенке было положительно ассоциировано с мочевой кислотой в сыворотке крови ($r= 0,47$; $p<0,05$). Поэтому некоторые биохимические показатели могут быть использованы для оценки интерьера кемеровской породы свиней по степени аккумуляции микроэлементов в органах, мышечной ткани и щетине.

8. Выявлена связь некоторых тяжелых металлов с живой массой. Так, содержание цинка в печени и железа в селезенке имеет значительную положительную корреляцию с живой массой животных ($r= 0,71$ и $0,73$; $p<0,05$).

9. Установлена средняя корреляция между уровнем кобальта в копытном роге и цинка в почках ($r= 0,575$; $p<0,05$). Таким образом, содержание кобальта в копытном роге может выступать в качестве неинвазивного прижизненного маркера депонирования цинка в почках свиней.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Использовать средние значения содержания тяжелых металлов в органах и мышечной ткани свиней в условиях Западной Сибири для оценки влияния абиотических факторов, при характеристике интерьера и оценке состояния здоровья животных.

2. Проводить прижизненную оценку накопления цинка в почках свиней неинвазивными методами, описанными в патенте № 2761031 (от 02.12.2021).

**Список основных работ, опубликованных
по теме диссертации**

В изданиях, рекомендованных ВАК

1. Закономерности аккумуляции кадмия в органах и щетине свиней кемеровской породы / **А.В. Назаренко**, О.А. Зайко, Т.В. Коновалова [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – № 1(66). – С. 140–149. – DOI 10.31677/2072-6724-2023-66-1-140-149.

2. **Назаренко А.В.** Корреляция марганца в щетине с некоторыми биохимическими показателями сыворотки крови свиней / А.В. Назаренко, О.А. Зайко, Т.В. Коновалова // Главный зоотехник. – 2021. – № 9(218). – С. 47–52. – DOI 10.33920/sel-03-2109-06.

3. Белковый обмен у свиней кемеровской породы / **А.В. Назаренко**, О.И. Себежко, В.А. Андреева [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2019. – № 4(53). – С. 55–64. – DOI 10.31677/2072-6724-2019-53-4-55-64.

4. Влияние генофонда породы на содержание и изменчивость меди в печени свиней / **А.В. Назаренко**, О.А. Зайко, Т.В. Коновалова [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – № 3(68). – С. 262–271. – DOI 10.31677/2072-6724-2023-68-3-262-271.

5. Lead content in bristle in aboriginal pigs of Siberia / **A.V. Nazarenko**, O.A. Zaiko, T.V. Konovalova [et al.] // Trace Elements and Electrolytes. – 2021. – Vol. 38. – N 3. – P. 150.

6. Correlation of the iron level in the bristles of Kemerovo pigs with macro- and essential microelements / **A.V. Nazarenko**, O.A. Zaiko, O.S. Korotkevich [et al.] // BIO WEB of Conferences: International Scientific and Practical Conference, Tyumen, 19–20 July 2021. – Tyumen: EDP Sciences, 2021. – P. 06032.

Патенты

7. Патент № 2761031 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48. Способ определения уровня цинка в почках свиней: № 2021101423: заявл. 22.01.2021: опубл. 02.12.2021 / О.А. Зайко, **А.В. Назаренко**, О.И. Себежко [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет».