

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ
РЕСПУБЛИКИ
КЫРГЫЗСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени К.И. СКРЯБИНА
КЫРГЫЗСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ВЕТЕРИНАРИИ имени АРСТАНБЕКА ДУЙШЕЕВА**

Диссертационный совет Д. 16.09.397

На правах рукописи
УДК: 636: 611.78.

БАЗАРАЛИЕВА ЧЫНАРА АЗИМБЕКОВНА

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗРАСТА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ
ПО СЛОИСТОЙ СТРУКТУРЕ ЗУБОВ И КОСТИ**

06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Бишкек – 2011

Работа выполнена на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии факультета ветеринарной медицины и биотехнологии Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина.

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Арбаев Кубан Султанович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Курбанова Гульнара Вапахановна

кандидат ветеринарных наук,
старший научный сотрудник,
Мун Клим Борисович

Ведущая организация: Кыргызско-Турецкий университет «Манас»

Защита диссертации состоится «___»_____ 2011 года в _____ часов на заседании межведомственного диссертационного совета Д 16.09.397 при Кыргызском национальном аграрном университете им. К.И. Скрябина и Кыргызском научно-исследовательском институте ветеринарии им. А. Дуйшеева по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68.

Автореферат разослан «_____»_____ 2011 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук,
профессор

Акназаров Б.К.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Регистрирующие структуры, это структуры в организме животных, которые реагируют на изменения физиологического состояния организма и если они возникли, то сохраняются длительное время. К регистрирующим структурам животных относятся дентин и цемент зубов, периостальная костная ткань и т.д.

При решении практических вопросов по производственной деятельности человека возникает необходимость оперативного получения простых и надежных сведений о возрастной структуре животных. По внешнему виду можно лишь приблизительно судить о возрасте животных и дать заключение о том, что это животное молодое, старое или среднего возраста. При установлении возраста животного по внешнему виду их обращают внимание на следующие признаки: пропорциональность телосложения, состояние кожи и волосяного покрова. Обычно возраст, особенно у мелких животных, определяют по длине тела. Однако, назвать этот метод точным нельзя, так как по достижению половой зрелости рост животных замедляется, а индивидуальные различия в скорости роста могут быть велики. Наиболее точно определить дату рождения животного можно только по регистрирующим структурам в его организме.

Изучению выявления регистрирующих структур посвящены работы Ажыбекова Б.С. (2008) где они были выявлены у сельскохозяйственных, домашних животных, и некоторых животных дикой фауны и птиц. Годовые слои были выявлены в дентине и цементе зуба, в периостальной зоне трубчатой кости и у основания клюва.

Метод определения возраста по слоистым (регистрирующим) структурам дентина, цемента зубов и периостальной зоны кости посвящена настоящая работа. Этот метод дает возможность определять возраст животных с высокой точностью по слоистым структурам дентина, цемента корня зубов и периостальной зоне кости, что необходимо при проведении многих сравнительно-анатомических и морфологических исследований в области систематики, популяции изменчивости, что позволяет судить о доле участия грызунов разных возрастных групп в эпизоотическом процессе, в природных очагах инфекции. В этой связи детальное изучение указанных проблем для определения возраста грызунов и лабораторных животных по слоистым структурам зубов и периостальной зоне кости является актуальной и представляет собой научно-теоретическую и практическую значимость.

Связь темы диссертации с планами научно-исследовательских работ. Тема диссертации тесно связана с научным проектом, выполняемым сотрудниками кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии в рамках министерства образования и науки КР (Научно-инновационное обеспечение агропромышленного комплекса Кыргызской республики ОРНиНТ.1.2008) «Определение возраста вида животных и птиц

по регистрирующим структурам кости, когтей, зубов, волос и мышечной ткани, как доказательство в ветеринарно-судебной экспертизе».

Цель и задачи исследования. Целью данного исследования явилось определение возраста лабораторных животных по регистрирующим структурам - корня зуба (дентина, цемента), периостальной зоны нижней челюсти и трубчатой кости. Имея конкретные данные, о возрасте животных, можно установить возрастной состав популяции, изменение количественных соотношений различных возрастных групп в популяциях, что даст возможность судить об интенсивности размножения, гибели и о продолжительности жизни животных в природе.

Для достижения этой цели поставлены следующие задачи:

1. Уточнить методики исследования: взятие материала (зубов, костей), фиксация, уплотнение, резка, окраска гистологических препаратов и их читка.
2. Определить возраст грызунов (серые крысы и мыши, белые крысы и мыши, морские свинки) и зайцеобразные (кролики) по регистрирующим структурам.
3. Выявить регистрирующие структуры у земноводных и пресмыкающихся (обыкновенная жаба, озерная лягушка, питон).

Научная новизна результатов исследований. Впервые в Кыргызской Республике гистологическими методами определен возраст грызунов и зайцеобразных, земноводных и пресмыкающихся по слоистой структуре периостальной зоны кости и тканей зубов (дентин, цемент).

Практическая значимость. Полученные результаты проведенных исследований позволят углубить и расширить сведения в области определения возраста животных по слоистым структурам у грызунов, лабораторных животных, которые будут использоваться в научных разработках при проведении занятий по анатомии, зоологии и экологии в высших учебных заведениях ветеринарного и биологического профиля.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- разработка оптимальных параметров времени по фиксации, уплотнению и окраске гистологических препаратов у лабораторных животных при выявлении регистрирующих структур;
- особенности выявления регистрирующих структур у грызунов (серая крыса и мышь, белая крыса и мышь, морская свинка) и зайцеобразные (кролики);
- выявление регистрирующих структур у земноводных: обыкновенные жабы и озерные лягушки;
- выявление особенностей регистрирующих структур у пресмыкающихся (ромбический питон);

Личный вклад соискателя: исследования, результаты которых вошли в диссертационную работу, выполнены соискателем самостоятельно под руководством д.в.н. профессора, К.С. Арбаева.

Апробация результатов исследования. Материалы диссертационной работы обсуждены и одобрены на научно-практических конференциях: на международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы аграрного образования и науки на современном этапе» (Бишкек, 2006), на международной конференции «Проблемы и перспективы развития аграрного сектора в горных регионах Кыргызстана: инновационная политика» (Бишкек, 2007), на международной научно-практической конференции молодых ученых Казахского Национального аграрного университета (Алматы, 2007), международной научно-практической конференции, посвященной памяти Арстанбека Дуйшеева (Бишкек, 2007), международной научно-практической конференции, посвященной 90 летию доктора ветеринарных наук, профессора А.А. Алдашева (Бишкек, 2009), III Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2008), на научно-практических конференции «Современные аспекты ветеринарной медицины и биотехнологии в условиях Кыргызстана», посвященной 60 летию со дня рождения доктора ветеринарных наук, профессора К.С. Арбаева (Бишкек, 2009), на республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы сохранения биоразнообразия Кыргызстана» (Ош, 2009).

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедрах биологии, экологии, анатомии и физиологии Кыргызского национального аграрного университета им. К.С. Скрябина, на кафедре зоологии и экологии Ошского государственного университета.

Опубликованность результатов. По материалам исследования опубликовано 11 научных статей, методические рекомендации и методические указания

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 107 страницах компьютерного набора шрифтом Times New Roman (размер 14, интервал 1,5). Работа состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материала и метода исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений, списка опубликованных статей по теме диссертации, списка использованной литературы и приложения. Диссертация иллюстрирована 53 макро- и микрофотографиями, 6 гистограммами. Количество используемых литературных источников 123, из них 47 работ авторов дальнего зарубежья.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении работы обоснована актуальность темы исследований, даны сведения об определении возраста животных по слоистым структурам, которые используются в научных разработках.

В первой главе «Обзор литературы» по материалам отечественных и зарубежных публикаций даются сведения о слоистых структурах дентина и цемента зубов у грызунов, описывается их биология, а также затрагивается изученность слоистых структур зубов у лабораторных животных, земноводных и пресмыкающихся.

Во второй главе «Объекты и методы исследования» указаны объекты исследования и методический подход к выполнению исследований.

Объектами изучения служили: периостальная зона нижней челюсти, трубчатых костей, корни зубов (дентин, цемент) лабораторных животных, зайцеобразных и трубчатые кости земноводных. Это: морские свинки - 12 голов, лабораторные белые мыши - 14 голов, серые мыши - 8 голов, лабораторные белые крысы - 10 голов, серые крысы - 7 голов, кролики - 6 голов, озерные лягушки - 13 голов и обыкновенные жабы - 9 голов. Всего 79 голов.

Для проведения исследований по определению возраста у лабораторных животных материал отбирали из периостальной зоны нижней челюсти, трубчатых костей конечностей, дентина и цемента корня зуба.

Объекты, предназначенные для микроскопического изучения фиксировались в 10%-водном растворе нейтрального формалина, в 70° спирте и спирт - глицерине, а также использовали сухой материал.

Для декальцинации использовали 5 %-ную азотную кислоту. При проведении декальцинации в течение 5-7 суток раствор меняли раз в сутки. Время декальцинации зависело от размера материала и от возраста животных. После декальцинации кусочки тщательно промывали в проточной воде в течение суток.

Для получения целлоидина использовали киноленту со свойством воспламенения. С киноленты в начале удаляли слой фотографической эмульсии путем вымачивания ее в водном растворе гидроксида натрия (Na OH). В горячей воде, в течение нескольких часов (2-3ч) промывали пленку, высушивали и мелко нарезали. Пленку растворяли в стеклянной посуде в смеси спирт с эфиром 1:1 (готовность целлоидина наступала в течение 12-15 суток). Материал помещали в жидкий раствор целлоидина на 3-4 дня и после этого переносили в густой целлоидин на 2-3 суток, для уплотнения. Пропитанные целлоидином кусочки переносили в чашки Петри и заливали свежим густым целлоидином. На 5 сутки целлоидин подсыхал и уплотнялся, пропитанные целлоидином кусочки вырезали и наклеивали на деревянные колодки. Готовые целлоидиновые блоки помещали в банку с 70%-ным спиртом. Из целлоидиновых блоков на санном микротоме готовили срезы толщиной до 20 мкм.

Парафиновые блоки готовили следующим образом: материал после фиксации обезвоживался в спиртах возрастающей крепости - 70⁰; 80⁰; 90⁰; 96⁰; 96⁰, спирт - хлороформ, хлороформ, а для уплотнения материала использовали хлороформ - парафин(1:1), парафин I (37⁰C), парафин II (в термостате 55⁰C) и заливали чистым парафином. Из полученных парафиновых блоков на санном микротоме готовили срезы, толщиной 5-7мкм.

Гистологические препараты окрашивали гематоксилином Бемера и заключали в пихтовый бальзам. Из каждого блока готовили от 10 до 20 гистологических препаратов.

Гистологические препараты изучали под световым микроскопом (МБИ-1, МБИ-3, МБИ-15) при малом и среднем увлечениях в 80-120 раз.

Микрофотографии выполнялись с помощью микрофотонасадки МФИ-15 на фотопленке «Кодак».

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Подсчет годовых слоев регистрирующих структур

У разных групп млекопитающих в регистрирующих структурах образуются годовые слои. Годовые слои выявлялись в дентине и цементе корня зубов, периостальной зоне нижней челюсти и середина диафиза бедренной кости у подопытных животных.

Для подсчета годовых слоев в цементе, дентине корня зубов и в периостальной зоне кости использовали микроскоп. Подсчет слоев цемента производили по узким полосам годовых слоев. Подсчет слоев в периостальной зоне кости вели по линиям склеивания, ограничивающим слои.

На окрашенных гематоксилином срезах в дентине, цементе корня зубов и периостальной зоне кости выявлялись интенсивно окрашенные полосы. Эти полосы, составляли годовой слой цемента, они различались по относительному содержанию кальция (Ca) и по плотности цемтоцитов. В периостальной зоне кости, линия склеивания отличалась от слоя костной ткани, как по относительному содержанию солей кальция, так и по структуре основного вещества, эта линия было более четче выражена.

Годовые слои в основном формировались в зимний период и их четкость у разных видов животных была различна. Узкие полосы указывали на то, что в зимний период имеет место задержка (или замедление) тканевого роста цемента и кости.

Нами были установлены годовые слои в цементе, дентине корня зубов и периостальной зоне кости отдельных грызунов, земноводных, пресмыкающихся (лабораторные белые и серые мыши, лабораторные белые и серые крысы, кролики, жабы, озерные лягушки, питон).

3.2. Подсчет годовых слоев регистрирующих структур в организме отряда грызунов

3.2.1. Зубы и периостальная костная ткань морских свинок.

Гистологические исследования показывали, что у взрослых особей морских свинок формируются четкие годовые слои в цементе в виде 6 полос, подобные полосы, их такое же количество было обнаружено в нижней челюсти и трубчатой кости (рис. 1а,б,в). Возраст этих особей 6 лет, что свидетельствует о том, что перезимовали они 6 зим.

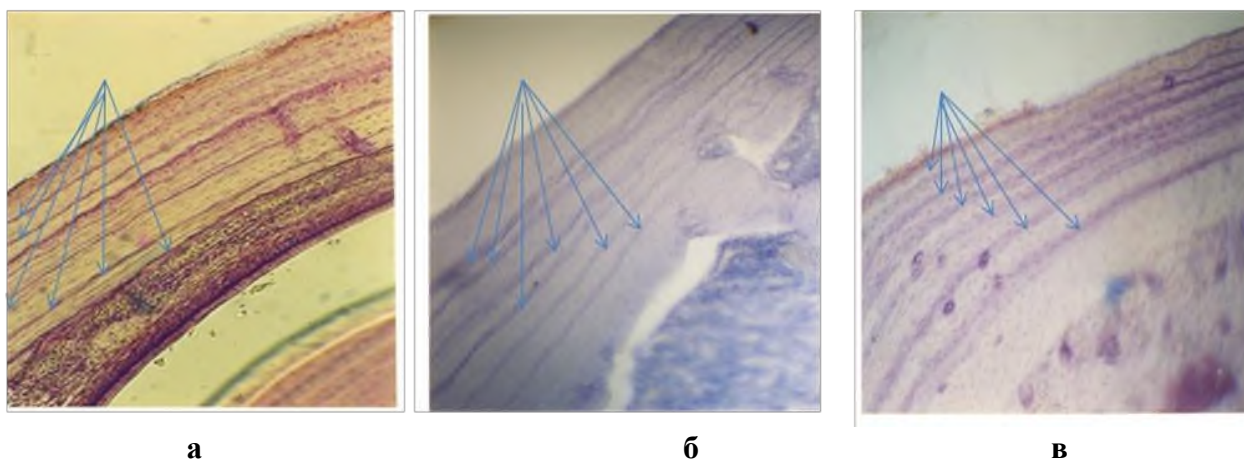


Рис. 1. Поперечный срез цемента зуба (а), периостальная зона нижней челюсти (б) и середина диафиза трубчатой кости (в) морской свинки в возрасте шесть лет. Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

В нижней челюсти у этих животных просматривается четкая мезостальная зона и линия резорбции. Как отмечалось выше, у морских свинок для гистологических исследований можно использовать не только слоистые структуры зубов, но и периостальную зону нижней челюсти и средние части диафиза трубчатых костей. В трубчатых костях, в середине диафиза четко проявляется мезостальная зона и линии резорбции. В исследованных костях периостальная зона наиболее хорошо развита в средней части диафиза трубчатых костей.

В заключении можно сказать, что у морских свинок наблюдается полное совпадение числа годовых слоев в цементе корня зуба, периостальной зоне нижней челюсти и трубчатых костях (середина диафиза). Даже у старых животных (5-7 лет) число слоев в цементе корня зуба соответствует числу годовых слоев в периостальной зоне нижней челюсти и в трубчатых костях. В целях определения возраста по регистрирующим структурам лучше использовать цемент корня зуба, а также периостальную зону костной ткани. Слои цемента нарастают в течение всей жизни особи. В норме они не подвержены резорбции и перестройке, и потому ростовые слои в цементе образуются и сохраняются в течение всей жизни особи.

Периостальная костная ткань как регистрирующая структура в целом обладает большой чувствительностью, но малым периодом сохранения

записи и поэтому она удобна для определения возраста у молодых животных, но в дальнейшем она подвергается резорбции. Слои цемента корня зуба в резце видны четче, чем в дентине корня зуба, а число слоев соответствует прожитым особью годам. При этом линия прироста формируется осенью и зимой.

3.2.2. Зубы и периостальная костная ткань лабораторных белых крыс.

Гистологической обработке и читке подвергались срезы следующих костей скелета белых крыс: периостальная зона нижней челюсти, цемент корня зуба и трубчатая кость (середина диафиза). Микроскопические исследования показали, что годовые слои лучше всего выражены в цементе корня зуба, периостальной зоне нижней челюсти и в середине диафиза трубчатых костей.

Материал отбирался от белых крыс двух возрастов - это трехлетние, возраст их был заранее известен и от крыс, возраст которых не был известен. В трубчатых костях, в середине диафиза четко проявлялась мезостальная зона и линии резорбции.

Результаты наших исследований показали, что у белых крыс, выросших в виварии, у которых возраст был известен идет полное совпадение годовых слоев в цементе коренных зубов, периостальной зоне нижней челюсти и в середине диафиза трубчатых костей с годовыми слоями аналогичных костей у зверьков неизвестного возраста.

3.2.3. Зубы и периостальная костная ткань серых крыс. Годовые слои в цементе корня зуба, периостальной зоне нижней челюсти и середина диафиза трубчатой кости у серой крысы (пасюк) образуются в зимний период. Наши исследования показали, что возраст этих серых крыс от 1 года до 3 лет.

На рис. 2а,б,в показаны 3 линии склеивания, в цементе корня зуба, так и в периостальной зоне нижней челюсти, и в трубчатой кости, это свидетельствует о том, что эти животные прожили 3 года.

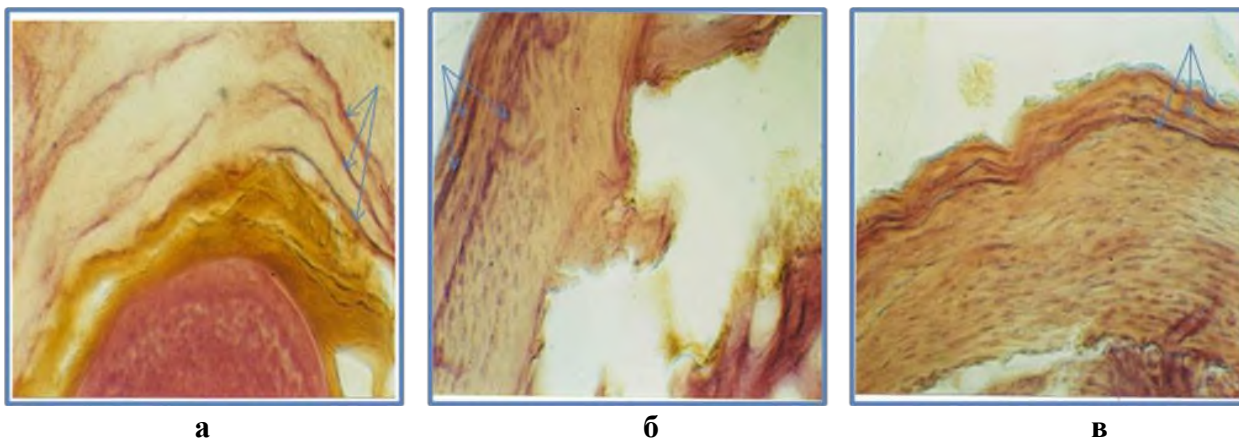


Рис. 2. Поперечный срез цемента зуба (а), периостальная зона нижней челюсти (б) и середина диафиза трубчатой кости (в) у крыс в три года. Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

В заключении можно сказать, что у серых крыс (пасюк) в цементе корня зуба, в периостальной зоне нижней челюсти и трубчатой кости, есть регистрирующие структуры. Линия резорбции, отделяющая мезостальную зону кости от периостальной отличалась от линии склеивания и годового слоя большей извилистостью и размытостью границ.

3.2.4. Зубы и периостальная костная ткань лабораторных белых мышей.

Для определения возраста белых мышей исследовали ряд костей и зубы у белых мышей разного возраста (не перезимовавших и перезимовавших). Исследованы участки следующих костей: периостальная зона нижней челюсти, середина диафиза трубчатой кости и цемент корня зуба. Интенсивный рост периостальной костной ткани и цемент корня зуба идет в основном в летний период, а задержка или замедление роста отмечается в зимний период. У белых мышей по количеству линий склеивания (годовые слои) можно судить, перезимовали животные или нет.

Результаты исследований приведенные на рис. 3а,б,в свидетельствуют о том, что белые мыши пережили зиму и им около года, так как на поперечных срезах цемента корня зуба, в периостальной зонах кости нижней

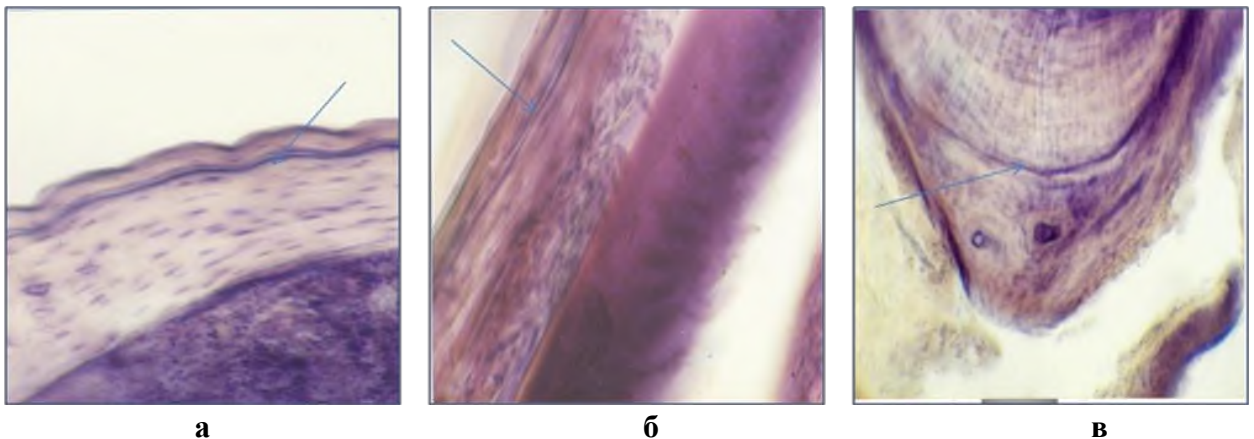


Рис. 3. Поперечный срез цемента зуба (а), периостальная зона нижней челюсти (б) и середина диафиза трубчатой кости (в) у мышей до года. Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

челюсти и трубчатой кости обнаружили по 1 полосе линий склеивания, то есть эти животные пережили зиму и им 1 год. Возраст этих животных был заранее известен, так как они росли в виварии института биотехнологии НАН и оттуда были приобретены.

В заключении можно сказать, что у одной и той же особи, а в частности у белых лабораторных мышей, выявлялись регистрирующие структуры по цементу корня зубов, периостальной зоне нижней челюсти и трубчатой кости.

3.2.5. Зубы и периостальная костная ткань серых мышей. Обычно мыши редко переживают две зимы и в связи с этим, метод определения возраста по

слоистой структуре мы использовали, чтобы показать отличие перезимовавших особей от не перезимовавших.

У не перезимовавших серых мышей в цементе корня зуба, периостальной зоне нижней челюсти и середина диафиза трубчатых костей отсутствовали регистрирующие линии на гистологических препаратах, они не просматривались, тогда как линия резорбции четко просматривается, эти у животные не пережили 1 зиму (Рис. 4а,б,в).

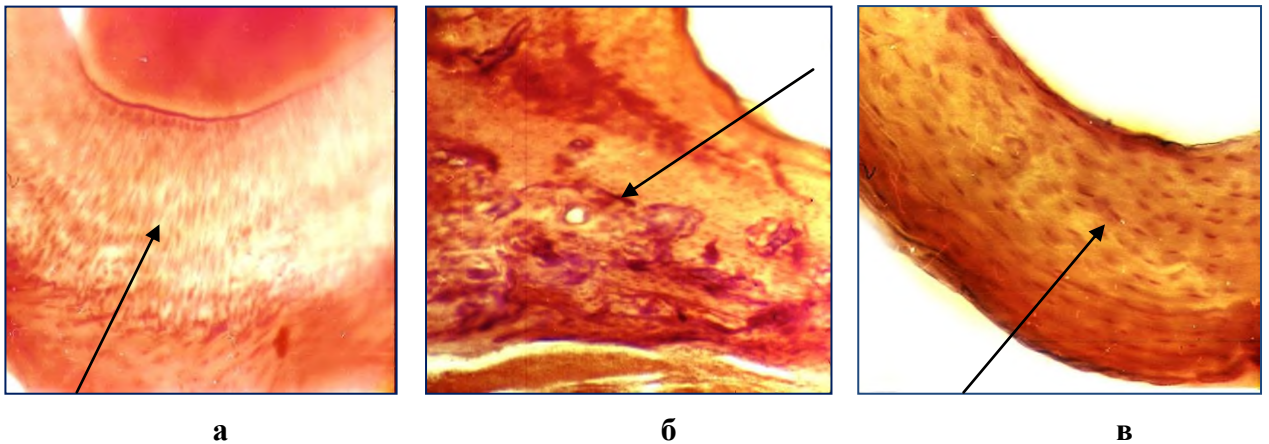


Рис. 4. Поперечный срез цемента зуба (а), периостальная зона нижней челюсти (б) и середина диафиза трубчатой кости (в) у не перезимовавших мышей. Окраска - гематоксилином (Ув.80 раз).

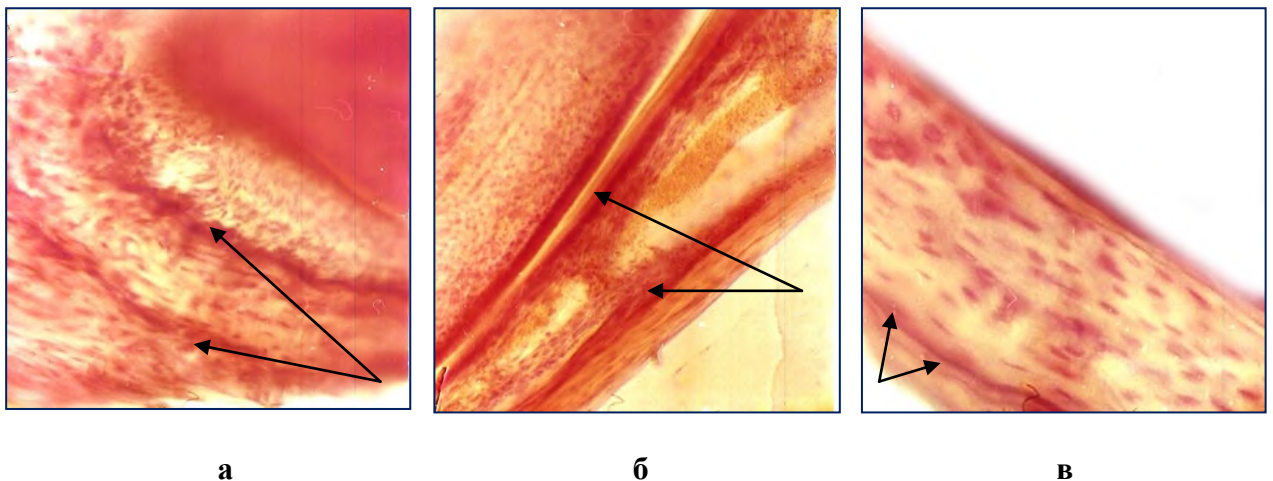


Рис. 5. Поперечный срез цемента зуба (а), периостальная зона нижней челюсти (б) и середина диафиза кости (в) у серых мышей в возрасте два года. Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

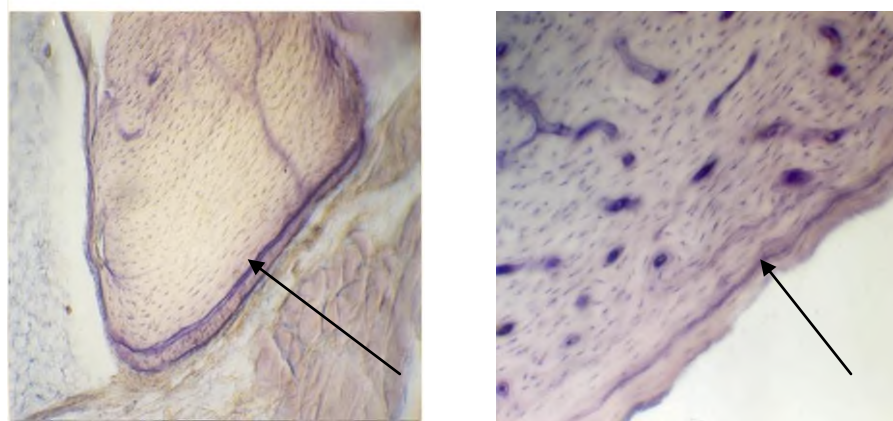
У перезимовавших особей просматриваются две слоистые линии, это видно в цементе корня зуба на рис. 5а, то есть животное прожило две зимы. На рис. 5б также видно 2 линии склеивания в периостальной зоне нижней челюсти, то есть животное пережило две зимы. Поперечный срез трубчатой кости (рис.5 в) так же показал две линии склеивания, которые свидетельствуют о том, что животное пережило две зимы.

В заключении можно сказать, что как и у белых лабораторных мышей, у серых мышей есть линии склеивания или регистрирующие годовые слои как в цементе корня зуба, периостальной зоне нижней челюсти, так и в середине диафиза трубчатой кости. Число полос показывали количество пережитых зим.

3.2.6. Подсчет годовых слоев отряда зайцеобразных (кролики). В дентине и цементе зубов у кроликов четких годовых слоев обнаружить не удалось, поэтому ни дентин, ни цемент не годятся для определения возраста, так как не только резцы, но и бескорневые коренные зубы постоянно растут, стачиваются и довольно быстро обновляются.

У кроликов исследования слоистых структур наиболее удобно проводить по периостальной зоне кости нижней челюсти и трубчатой кости. В связи с этим для определения возраста использовали только периостальную зону нижней челюсти и середину диафиза трубчатых костей, где годовые слои выражены наиболее четко. На полученных гистологических препаратах просматривались четкие линии склеивания в периостальной зоне кости, а их количество соответствовало числу пережитых зим.

У годовалого (однолетнего) кролика за линией резорбции проходил широкий слой периостальной зоны нижней челюсти и одна линия периостальной зоны трубчатой кости, где просматривалась одна линия склеивания (Рис. 6а,б). Первый годовой слой менее четко выражен по сравнению с последующим.



а

б

Рис. 6. Поперечный срез периостальной зоны нижней челюсти (а), середина диафиза трубчатой кости (б) у кроликов в возрасте один год. Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

У трехгодовалого кролика зафиксировано три линии склеивания (Рис.7а,б), как в периостальной зоне нижней челюсти, так и в трубчатой кости. Исследованным объектам по 2 и 3 года. Возраст животных заранее был известен. У подопытных кроликов, слои в кости были четкие, линии склеивания обычно одинарные, без дополнительных полос.

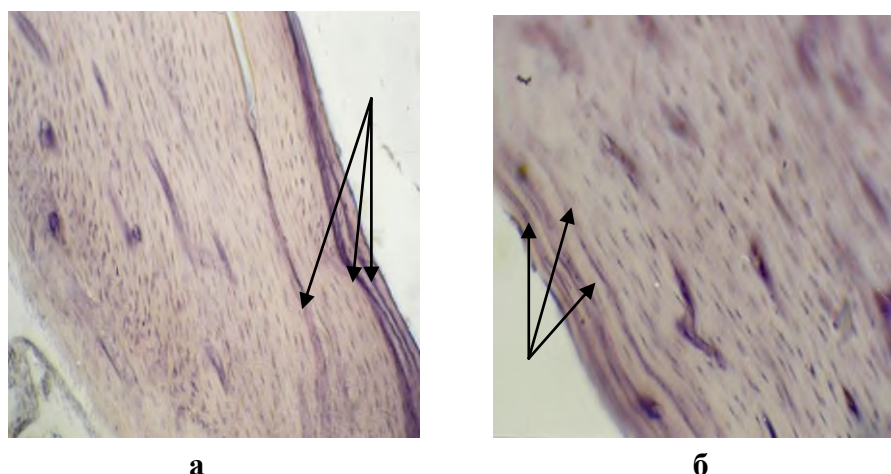


Рис. 7. Поперечный срез периостальной зоны нижней челюсти (а), середина диафиза трубчатой кости (б) у кроликов, в три года. Окраска - гематоксилином (Ув. 120 раз).

В заключении можно сделать вывод, что полученные результаты дали основание предполагать, что при изучении характера периостальной зоны трубчатых костей конечностей (в середине диафиза) у кроликов, количество слоев в трубчатых костях совпадает с таковыми в нижней челюсти, а дентин и цемент корня зуба не годятся для определения возраста.

У кроликов темп роста и резорбции костной ткани нижней челюсти не столь велик как у грызунов, и для использования этого участка кости стоит подходить с осторожностью.

3.3. Подсчет годовых слоев класса земноводных

3.3.1. Отряд бесхвостые, амфибии

3.3.1.1. Периостальная костная ткань жабы обыкновенной. У амфибий регистрирующей структурой является костная ткань и в связи с этим исследования проводили на трубчатых костях. Кость нижней челюсти у амфибии вообще не показательна, и поэтому мы ее не стали использовать. Линии склеивания в трубчатых костях жаб хорошо выявляются, и они рассматривались как критерий определения возраста амфибий по периостальной зоне кости.

В периостальной зоне трубчатых костей и середина диафиза у трех молодых жаб линия склеивания не были обнаружены. Так как, эти обыкновенные жабы зиму не пережили и появились весной. У четырех жаб хорошо просматривалась одна линия склеивания и линия резорбции, служащая границей мезостальной и периостальной зон кости (Рис.8). Эти линии (слои) появились после первой зимовки (Рис. 8а,б,в). У жабы пережившей зиму была обнаружена узкая одна полоса (годовой слой), то есть линия склеивания, которая интенсивно окрашивалась гематоксилином. У взрослых обыкновенных жаб в возрасте 3-4 года выявилась слоистость в периостальной зоне кости, где просматривались по 3 и 5 линии склеивания,

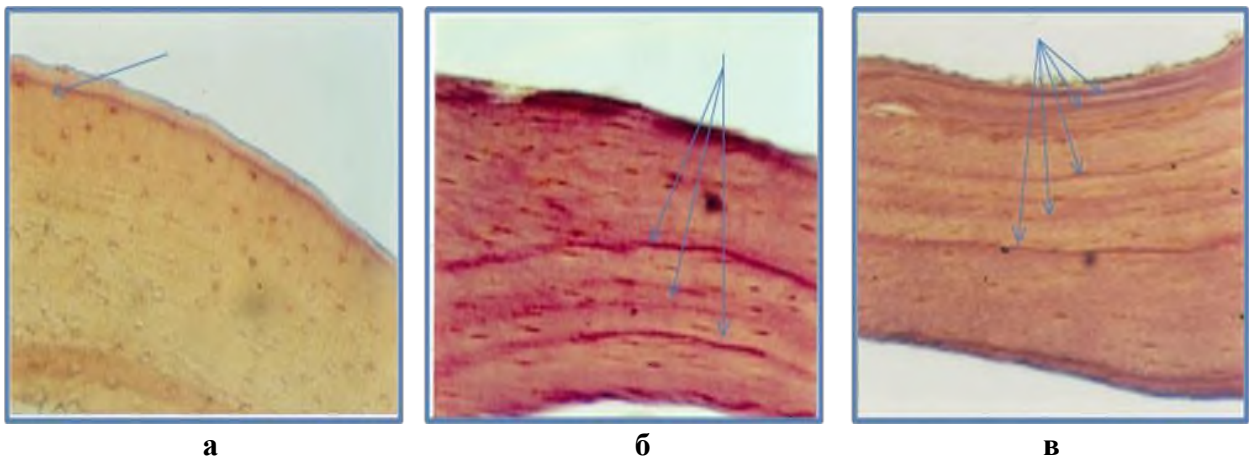


Рис. 8. Поперечный срез середины диафиза трубчатой кости у обыкновенной жабы в один год (а), в три года (б), в пять лет (в). Окраска - гематоксилином (Ув. 80 раз).

что соответствовало 3 и 5 годам жизни. После каждой зимовки появлялась только одна полоса. Узкие линии склеивания свидетельствуют о пережитой зиме, а по количеству годовых слоев периостальной зоны кости можно судить о возрасте жаб.

В заключении можно сделать вывод, что возраст жаб обыкновенной определяется только по трубчатым костям, тогда как нижняя челюсть непригодна и непоказательна.

3.3.1.2. Периостальная костная ткань озерной лягушки. У озерной лягушки возраст выявляли по слоистым структурам трубчатых костей в периостальной зоне.

На гистологических препаратах выявили одну линию (Рис. 9а) и пришли к заключению, что данная озерная лягушка прожила 1 год, то есть она перезимовала 1 зиму (возраст этой особи заранее был известен). Возраст у двухлетней особи известен не был. На рис. 10б показывались две полосы, то есть это лягушка прожила 2 года т.е. эта особь пережила 2 зимы и ей 2 года.

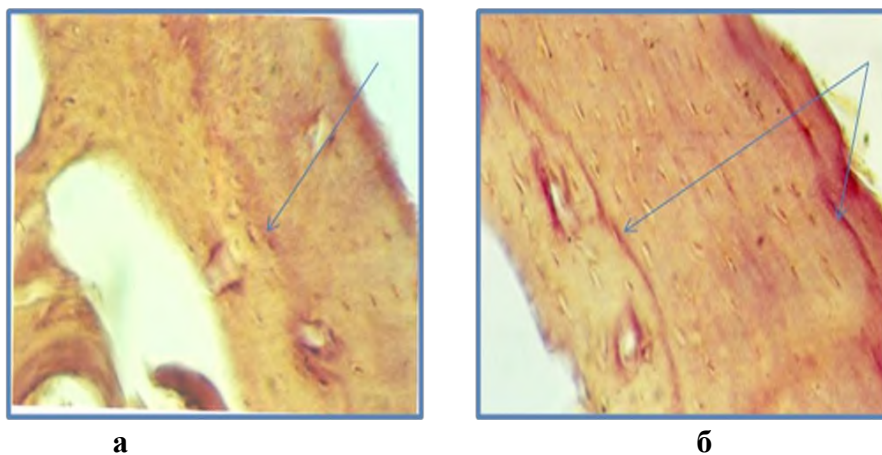


Рис. 9. Поперечный срез середина диафиза трубчатой кости у озерной лягушки один год (а), два года (б), Окраска – гематоксилином (Ув. 120 раз).

В заключении можно сказать, что для подсчета годовых слоев у озерных лягушек лучше брать поперечные срезы трубчатых костей середина диафиза, тогда как кости нижней челюсти непоказательны.

3.4. Подсчет годовых слоев класса пресмыкающихся

3.4.1. Отряд чешуйчатые

3.4.1.1. Периостальная зона нижней челюсти ромбического питона. У ромбического питона регистрирующей структурой является периостальная зона нижней челюсти (питон был известного возраста). При чистке гистологических препаратов были обнаружены 4 темные линии склеивания, как видно на рис. 10, что соответствует 4 годам прожитых ромбическим питоном и соответствует его возрасту (по данным хозяина питона).

Поскольку число линии склеивания по костям нижней челюсти соответствует возрасту особи по годам, предположительно эти линии склеиваний сформировались в зимний период, нами они использовались для подсчета возраста животного. Подсчет линий склеивания велся по направлению к наружному краю кости.

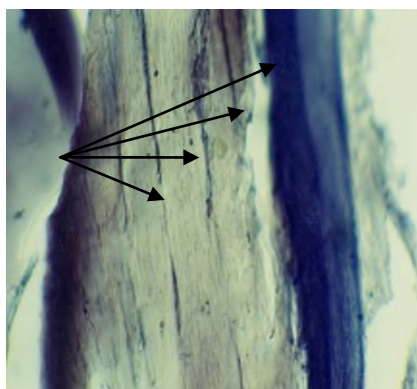


Рис. 10. Поперечной срез периостальной зоны нижней челюсти у ромбического питона в четыре года. Окраска – гематоксилином (Ув. 80 раз).

Мы провели эксперимент на экзотическом животном (представитель отряда чешуйчатых) с целью выявления возможности определения возраста пресмыкающихся по костям, и убедились, что это возможно.

3.5. Сравнительный анализ регистрирующих структур грызунов, земноводных и пресмыкающихся

Анализ показал, что в цементе зубов слои регистрирующих структур проявляются у морской свинки, лабораторных белых и серых крыс, лабораторных белых и серых мышей. У выше перечисленных животных дентин корня зубов непригоден как регистрирующая структура.

Слоистые структуры проявляются в периостальной зоне трубчатых костей у всех животных, но наиболее четко они проявляется у грызунов, зайцеобразных и земноводных. У морских свинок, крыс и мышей годовые слои в основном регистрируются по цементу корня зубов.

В периостальной зоне нижней челюсти годовые слои просматриваются у всех грызунов (морские свинки, лабораторные и серые крысы, лабораторные и серые мыши), кроликов и у питона, а по периостальной зоне трубчатых костей у всех животных (кроме питона).

В заключение можно сказать, что только у грызунов (морские свинки, крысы и мыши) годовые слои хорошо выявляются в цементе корня зубов. У грызунов, зайцеобразных и пресмыкающихся годовые слои выявляются в периостальной зоне нижней челюсти; а у остальных (кроме питона), выше перечисленных животных, выявляются и по периостальной зоне трубчатых костей.

У всех исследованных животных имеются регистрирующие структуры и по ним можно определять их возраст.

ВЫВОДЫ

1. Оптимальными участками взятия материала для определения состояния регистрирующих структур являются цемент корня зуба, нижняя челюсть с аркадами зубов и середина диафиза трубчатой кости. При этом качество гистологических срезов лучше при фиксации экспериментального материала в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина, в 70⁰-ном этиловом спирте и спирт – глицерине, чем при получении срезов из «сухого» материала.

2. Декальцинация корней зубов, периостальной зоны нижней челюсти, трубчатых костей у морских свинок, белых и серых крыс, белых и серых мышей, у кроликов, обыкновенных жаб, озерных лягушек и питона дают лучшие результаты при 5%-ном растворе HNO₃;

- уплотнение экспериментального материала целлоидином, парафином на качество гистологических срезов не влияет, но основная заливка – лучше целлоидиновая.

- окраска гистологических срезов выявила лучшие качества гематоксилина Бемера, чем Эрлиха и Крутзай.

3. Выявлены регистрирующие структуры:

- у отряда грызунов (морские свинки, серые и лабораторные крысы, серые и лабораторные белые мыши) в цементе корня зуба, в периостальной зоне нижней челюсти и середина диафиза трубчатых костях; в дентине корня зуба регистрирующие структуры не выявлялись;

- у отряда зайцеобразных (кролики) выявлялись слоистые структуры в периостальной зоне нижней челюсти и трубчатой кости.

- у отряда земноводных (обыкновенные жабы, озерные лягушки) регистрирующие структуры зафиксированы в периостальной зоне трубчатых костей.

- у отряда пресмыкающихся (ромбический питон) слоистые структуры зафиксированы в периостальной зоне нижней челюсти;

4. Предложенный метод выявления регистрирующих структур у лабораторных животных, земноводных, чешуйчатых, применим в практическом и теоретическом отношении в области биологии, экологии, ветеринарии и других областях биологической науки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные результаты помогут более точно определять возраст исследуемых особей по регистрирующим структурам, позволят установить индивидуальный возраст каждого животного и будут иметь решающее значение в решении спорных и судебно-биологических вопросах в области биологии и экологии.

По материалам диссертации даны рекомендации и разработаны два методических указания:

1) Судебная ветеринарно-санитарная экспертиза. Методические указания для самостоятельной работы студентов по специальности Ветеринария и ветеринарная санитария - Бишкек, ОсОО «Кут-Бер», 2007. – 30 с.

2) Гистологические методы определения возраста и вида млекопитающих по слоистым структурам зубов, кости и волоса (рекомендация). – Бишкек, ОсОО «Кут-Бер», 2007. – 8 с.

СПИСОК

научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Перспективы использования регистрирующих структур млекопитающих для определения их возраста / К.С. Арбаев, Б.С. Ажыбеков, Ч.А. Базаралиева, Л.Ю. Лыхина, А.М. Орозбаева // Вестник Кыргызского аграрного университета. - 2006. - №2(6). - С. 99-101.

2. Методика определения возраста по зубам (дентина и цемента) и периостальной кости нижней челюсти и трубчатой кости конечностей животных / К.С. Арбаев, Б.С. Ажыбеков, Ч.А. Базаралиева, Л.Ю. Лыхина, А.М. Орозбаева, К.А. Арбаев // Сб. науч. тр., посв. междунар. конф. молодых ученых. - Алма-Ата, 2007. - С. 183-185.

3. Базаралиева Ч.А. Слоистость периостальной зоны нижней челюсти и трубчатых костей как критерий для определения возраста у кроликов // Вестник Кыргызского аграрного университета. - 2007. - 1(7). - С. 180-183.

4. Роль кальция в формировании регистрирующих структур периостальной зоны кости, дентина и цемента зубов млекопитающих и птиц / Б.С. Ажыбеков, Ч.А. Базаралиева, Л.Ю. Лыхина, К.А. Арбаев, А.М. Орозбаева, К.С. Арбаев // Вестник Кыргызского НИИ животноводства, ветеринарии и пастбищ им. А. Дюшеева. - 2007. - №2. - С.110-112.

5. Определение возраста морской свинки по регистрирующим структурам зубов и кости / Ч.А. Базаралиева, Б.С. Ажыбеков, А.М. Орозбаева, К.А. Арбаев, Л.Ю. Лыхина, К.С. Арбаев // Вестник Кыргызского НИИ животноводства, ветеринарии и пастбищ им. А. Дюшеева. - 2007. - №2. - С. 119-122.

6. Определение возраста у лисиц по слоистым структурам цемента клыка / Б.С. Ажыбеков, Ч.А. Базаралиева, Л.Ю. Лыхина, К.А. Арбаев, К.С. Арбаев // Вестник Кыргызского аграрного университета. - 2007. - №3(8). - С.166-167.

7. Морфологические и морфометрические показатели волос КРС и яков, обитающих в Кыргызстане, как критерии доказательства в судебно-ветеринарной экспертизе / Л.Ю. Лыхина, Б.С. Ажыбеков, Ч.А. Базаралиева, К.А. Арбаев, К.С. Арбаев // Вестник Кыргызского аграрного университета. - 2007. - №3(8). - С.162-165.

8. Базаралиева Ч.А., Ажыбеков Б.С., Арбаев К.С. Определение возраста лабораторных животных (мышей и крыс) по слоистым структурам цемента и периостальной зоне нижней челюсти // III Международной научно-практической конференции. - Барнаул, 2008. - С. 241-243.

9. Базаралиева Ч.А. Тиштердин жана сөөктөрдүн периосталдык зонасындагы катмарлуу структуралар боюнча боз келемиштин жашын аныктоо // Кыргыз агрардык университетинин жарчысы. - 2009. - №2(13). - С. 75-78.

10. Базаралиева Ч.А. Кадимки карганын жашын сөөктөрүнүн периосталдык зонасындагы катмарлуу структуралары боюнча аныктоо // Ош мамлекеттик университетинин жарчысы. - 2009. - №3. - С. 133-135.

11. Базаралиева Ч.А. Особенности использования определения возраста некоторых видов мелких животных // Вестник Кыргызского национального аграрного университета. - 2009. - №4 (15). - С. 134-136.

Базаралиева Чынара Азимбековнанын «Лабораториялык жаныбарлардын сөөктөрүнүн жана тиштеринин катмарлуу структуралары боюнча жашын аныктоо» деген темада 06.02.01 – ылаңдарды диагностикалоо жана малдарды дарылоо, малдардын патологиясы, онкологиясы жана морфологиясы адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты илимий даражасына изденүү үчүн жазылган диссертациясынын кыскача

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: каттоо түзүлүштөрү, периосталдык бөлүгү, дентин жана цементи, кальцийсиздендирүү, целлоидин.

Изилдөө объектиси: майда кемирүүчүлөрдүн жана муздак кандуулардын жилигинин, жаагынын периосталдык бөлүгү тиштин дентини жана цементи, канаттуулардын тумшугу.

Изилдөөнүн максаты: лабораториялык жаныбарлардын периосталдык сөөгүндөгү, тиштеринин дентининдеги жана цементиндеги «каттоочу түзүлүштөрү» аркылуу жашын аныктоо.

Изилдөө ыкмалары жана колдонулган жабдыктар: гистологиялык изилдөө ыкмасы, термостат, кургатуучу шкаф, микротом, микроскоп, фотоаппарат «Кодак».

Алынган жыйынтыктар жана жаңылыктар: Кыргыз Республикасында биринчи жолу лабораториялык жаныбарлардын (кемирүүчүлөрдүн, бакма коёндордун), жерде-сууда жашоочулардын (кадимки баканын, кашка баканын) жана сойлоп жүрүүчүлөрдүн (питон) астыңкы жаагынын периосталдык аймагындагы, көңдөйлүү сөөктөрдүн диафизинин ортосунун жана жаныбарлардын тиштеринин тамырынын

цементиндеги катмарлары боюнча жаш курагын аныктоо изилденди жана өздөштүрүлдү. Гистологиялык препараттардан тиштердин тамырынын цементинен, сөөктөрдүн периосталдык аймактарынан жана морфологиялык изилдөөлөрдөн лабораториялык жаныбарлардын жаш курагы изилденди.

Колдонуу тармагы: соттук-биологиялык экспертиза, биология, ветеринария, зоология, экология.

РЕЗЮМЕ

диссертации Базаралиевой Чынары Азимбековны на тему: «Определение возраста лабораторных животных по слоистой структуре зубов и кости» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных

Ключевые слова: регистрирующая структура, периостальная зона, дентин, цемент, декальцинация, целлоидин.

Объект исследования: периостальная зона нижней челюсти, трубчатой кости, дентин и цемент зуба животных.

Цель работы: определение возраста лабораторных животных по регистрирующим структурам корня зуба (дентина, цемента) и периостальной зоны нижней челюсти, трубчатой кости.

Методы исследований и аппаратуры: гистологический метод исследования, термостат, сушильный шкаф, микротом, микроскоп и фотоаппарат «Кодак».

Полученные результаты и их новизна: Впервые в Кыргызстане изучен и освоен метод определения возраста лабораторных животных (грызуны, кролики), земноводных (жабы, лягушки) и пресмыкающихся (питон), где в периостальной зоне нижней челюсти, середина диафиза трубчатой кости и цементе корня зубов животных выявлены «регистрирующие структуры».

На гистологических препаратах из цемента корня зубов, периостальной зоны кости лабораторных животных по числу годовых слоев определялся их возраст.

Область применения: судебно-биологическая экспертиза, ветеринария, биология, зоология, экология.

Bazaralievna Chinara Azimbekovna.

Using of register structures for identifying of laboratory animals ages.

THE RESUME

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of biology sciences on a specialty 06.02.01 – diagnosis of diseases and therapy of animals, pathology, oncology and morphology of animals

Keywords: register structures, periosteal zone, dentine, cement, morphological researches, decalcification, and celloidin.

Object of research: periosteal bottom a jaw, a tubular bone, dentine and cement of a tooth of animals.

The purpose of work: Definition age mammal laboratory animals and birds on registering structures of teeth, a periosteal zone.

Methods of research and equipments: histological method, thermostat, exsiccator, microtome, microscope and camera of “Kodak”.

The received results and their novelty:

Occurrence of register structures in periosteal bones, dental cement of laboratory animals have large value in solving some veterinarian, ecological and biological problems. On histologic specimens which have been received from dental cement and periosteal zone of bone of laboratory animals author through morphological researchs identified ages that allows to assess intensive reproduction, about length of live and death of animals.

Field of application: forensic biological examination, veterinary, biology, zoology, ecology.