

УДК 636.4.082:612

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕСТОВ В РАЗВЕДЕНИИ ЖИВОТНЫХ

Дементьев А.В.

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

Изучена активность оксидоредуктаз в митохондриях различных органов свиней трех линий породы СМ-1 новосибирской селекции. Исследована активность цитохромоксидазы, сукцинатдегидрогеназы в митохондриях, супернатанте печени и сердца животных. Анализ всех экспериментальных групп показал, что по изменению ферментативной активности митохондрий лучшими являются свиньи линий Светлого и Совета.

Энергию клетке поставляют митохондрии. В состав митохондрий входят цитохромы, в частности, цитохром аа₃(цитохромоксидаза), сукцинатдегидрогеназа. Во внутренней митохондриальной мембране приблизительно четвертую часть от общего белка составляют ферменты, которые принимают участие в транспорте электронов и тканевом дыхании: флавопротеиды, цитохромы и ферменты, участвующие в синтезе макроэргов. Остальная часть общего белка внутренней мембраны митохондрий выполняет структурные функции вместе с входящими в ее состав липидами [1].

Установлено, что во внутренней митохондриальной мембране флавиновые ферменты и цитохромы располагаются в виде отдельных комплексов, включающих в себя НАД-дегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу, цитохромы б, с₁, с, цитохромоксидазу. Эти энзимы формируют дыхательные ансамбли, равномерно распределенные по внутренней мембране митохондрий. На каждую митохондрию в печени приходится около 5000, а в сердце – около 20000 таких ферментативных комплексов [5].

Цитохромоксидаза (цитохромС:О₂-оксидоредуктаза, К.Ф. 1.9. 3.1.) тесно связана с митохондриальными структурами. Этот энзим катализирует транспорт электронов в дыхательной цепи с цитохрома С на кислород.

Сукцинатдегидрогеназа (сукцинат:цитохром С – оксидоредуктаза, К.Ф. 1.3.9.1.) – фермент, в состав которого входит ФАД (флавинаденидинуклеотид). Сукцинатдегидрогеназа принимает участие в каталитических превращениях цикла лимонной кислоты.

Двусторонний обмен фосфатами и промежуточными продуктами цикла трикарбоновых кислот идет между митохондриями и цитоплазмой клеток. Необходима компартментализация промежуточных соединений для интеграции и регуляции биологического окисления, гликолиза, ме-

таболических путей, к которым относится цикл Кребса [3].

Энергетические превращения в митохондриях способствуют осуществлению биологических функций организма.

Известны немногочисленные исследования активности оксидоредуктаз в митохондриях различных органов сельскохозяйственных животных [2].

В литературе отсутствуют сообщения по изучению активности ферментов в митохондриальной и микросомально-цитозольной фракциях различных органов свиней породы СМ-1 новосибирской селекции, поэтому необходимы исследования в этом направлении.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент поставлен в учебно – опытном хозяйстве «Тулинское» при Новосибирском аграрном университете. Объектом для исследования служили свиньи скороспелой мясной породы СМ-1 новосибирской селекции в возрасте 6 месяцев. Животных содержали в соответствии с технологией, предусмотренной для комплексов и ферм. Опытные животные по принципу аналогов были разделены на три группы. В первую группу были включены свиньи линии Светлого, во вторую – Совета, в третью – Сигнала. Изучена активность цитохромоксидазы, сукцинатдегидрогеназы (6,8) в митохондриях, супернатанте пе-

чени и сердца свиней. Во время контрольного убоя были взяты пробы тканей у шести животных из каждой группы. Митохондрии изолировали из 10 % гомогената в 0,25 М растворе сахарозы методом дифференциального центрифугирования. Чистоту митохондриальной фракции проверяли в фазовом контрасте. Для анализов было взято количество митохондрий, соответствующее 0,1-0,2 мг митохондриального белка. Белок определяли с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта [7]. Полученные результаты обработаны статистически на PC Intel Celeron 1.3 GHz.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В эксперименте отмечено превосходство животных линии Светлого по активности цитохромоксидазы в сердце над сверстниками линии Сигала (табл.1) на 8,65 % ($p < 0,01$).

Молодняк линии Совета по энзиматической активности находился в промежуточном положении между линиями Сигнала и Светлого. Найдено некоторое уменьшение активности фермента у свиней линии Совета по сравнению со Светлым. При изучении активности цитохромоксидазы в митохондриях сердца выявлено максимальное значение ее у подсвинков линии Светлого.

Таблица 1. Активность цитохромоксидазы (ммкМ цитохрома С/мин/мг белка) митохондрий и супернатанта сердца и печени свиней

Группа	Линия	Сердце		Печень	
		митохондрии	супернатант	митохондрии	супернатант
1-я	Светлый	1949,86	21,38	504,02	4.18
		± 23,14	± 0,33	± 9,61	± 0.13
2-я	Совет	1872,87	20,78	519,73	4.32
		± 24,08	± 0.37	± 8,23	± 0,14
3-я	Сигнал	1794.63	22,27	471,54	4,58
		± 21,32	± 0.29	± 10,47	± 0,11

В опыте установлена невысокая ферментативная активность в супернатанте сердца у животных всех линий. Наблюдалась тенденция к спаду активности энзима у молодняка линии Совета относительно сверстников Сигнала и некоторое нарастание цитохомоксидазной активности у свиней линии Светлого.

Исследование, проведенное в учхозе «Гулинское», показало увеличение активности цитохромоксидазы в митохондриальной фракции печени (табл.1) у подсвинков Светлого в сравнении с животными линии Сигнала на 6,89 % ($p < 0,05$). Максимальное значение активности фермента обнаружено у молодняка линии Совета, оно было выше на 10,22 % ($p < 0,001$), чем у сверстников Сигнала. Установлено, что подсвинки всех изучаемых линий имели идентичный и низкий уровень энзиматической активности в супернатанте печени.

Изучено изменение активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях и супернатанте сердца и печени свиней разных линий (табл.2).

Более низкая активность фермента была у животных линии Сигнала. Отмечено наибольшее нарастание ферментативной активности в сердце свиней линии Светлого по сравнению с худшим хряком (на 9,83 %, $p < 0,001$). Несколько меньшая активность изучаемого фермента найдена у подсвинков Совета. Выявлен спад сукцинатдегидрогеназной активности в супернатанте сердца у животных Светлого и Совета относительно Сигнала.

Установлено нарастание активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени (табл.2) у молодняка первой и второй экспериментальных групп. Обнаружено превосходство по энзиматической активности свиней Светлого на 12,24 % ($p < 0,001$) по сравнению со сверстниками худшего хряка. У животных второй экспериментальной группы показано уменьшение ферментативной активности в митохондриальной фракции печени по сравнению с предыдущей группой.

Таблица 2. Активность сукцинатдегидрогеназы (ммкМ цитохрома C/ мин·мг белка) в митохондриях и супернатанте сердца и печени свиней

Группа	Линия	Сердце		Печень	
		митохондрии	суперна-тант	митохонд-рии	суперна-тант
1-я	Светлый	2833,18	23,35	1352,20	25,18
		± 42,06	± 0,68	± 28,15	± 0,54
2-я	Совет	2711,94	22,72	1295,16	24,02
		± 36,14	± 0,83	± 43,27	± 0,77
3-я	Сигнал	2579,61	24,83	1204,74	26,73
		± 28,43	± 0,50	± 31,63	± 0,62

Выявлена низкая активность сукцинатдегидрогеназы в супернатанте печени у подсвинков всех изучаемых групп. Было определено падение активности фермента до 24,02 и 25,18 ммкМ цитохрома C/ мин·мг белка у свиней линий Совета и Светлого.

Таким образом, в опыте установлено, что по активности оксидоредуктаз в митохондриальной фракции различных органов свиней лучшими являются линии Светлого и Совета.

Изучение межлинейных различий по активности цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы в митохондриях различных органов животных показало увеличение активности ферментов у подсвинков линий Светлого и Совета. Это может быть связано с нарастанием обмена энергии, выработки макроэргов, активированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования у молодняка этих линий. Подобное предположение может вытекать из имеющихся представлений об участии оксидоредуктаз в процессах биологического окисления [4].

Литература

- 1.Келети Т. Основы ферментативной кинетики/Пер.с англ. – М.: Мир, 1990. – 348 с.
2. Кузнецов С.Г. // Новые аспекты участия биологически активных веществ в регуляции метаболизма и продуктивности сельскохозяйственных животных: Тез. докл. Всесоюз.совещ., Боровск, 1991.-С.57.
- 3.Кумс Ю.Ю., Ченас Н.К. Ферментативный перенос электрона: Монография / АН Лит.ССР. Ин-т биохимии – Вильнюс: Мокслас, 1988. – 177 с.
4. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3 т. / Пер. с англ. – М.: Мир, 1985.- Т.2. – 368 с.
- 5.Марри Р., Гренер Д., Мейс П. И др. Биохимия человека: В 2 т.- М.: Мир, 1993. – Т.1 – 381 с.
6. Hess Н.Н., Pope А.С. // J. Biol. Chem., 1953.- V.204. – p.295.
- 7.Lowry O., Rosebrough N., Farr A.et.al. // J. Biol. Chem., 1951. – V.193. – p.265.
- 8.Potter V. R., Schneidar W. C.// J. Biol. Chem., 1942. – V.142. – p. – 543.

The Use of Molecular Tests in Animal Breeding

A.V.Demetyev

The activity of oxidoreductases was examined in the mitochondrions of different organs of three SM-1 pig lines of Novosibirsk breeding. The activity of cytochromoxidase, succinatdehydrogenase was studied in the mitochondrions and supernatant of the animal heart and liver. The analysis of all the experimental groups showed that the best pigs for the change in the fermentative activity of mitochondrions are those of lines Svetly and Sovet.