

УДК 636. 4. 082. 31. 087. 8: 612-015

ЦЕХМІСТРЕНКО С.І., д-р с.-г. наук

РАДЗІВІЛОВА Ю.О., аспірантка

Білоцерківський національний аграрний університет

ВПЛИВ БАГАТОКОМПОНЕНТНОГО ПРОБІОТИКУ «МУЛЬТИБАКТЕРІН» НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В СУБКЛІТИННИХ СТРУКТУРАХ СПЕРМІЙВ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ

Досліджено вплив багатокомпонентного пробіотику «Мультибактерін» на активність ферментів енергетичного обміну в субклітинних структурах спермійв кнурів-плідників. Встановлено стимулюючий вплив Мультибактеріну на активність малатдегідрогенази, α -кетоглутаратдегідрогенази та Mg-залежної АТФ-ази.

Ключові слова: сперма, спермії, кнурі-плідники, пробіотик, малатдегідрогеназа, α -кетоглутаратдегідрогеназа, Mg-залежна АТФ-аза.

Постановка проблеми. Свинарство є вагомим галуззю тваринництва, яка здатна певною мірою забезпечити продовольчий ринок м'ясом та салом. На сьогодні актуальним є вивчення системи енергетичного обміну у сперміях кнурів-плідників, оскільки основним завданням вчених та працівників промисловості є покращення якості сперми, її запліднювальної здатності з метою збільшення поголів'я та економічної ефективності вирощування свиней.

Рух є однією із важливих функціональних особливостей спермійв, що забезпечує їх запліднювальну здатність. Джерелом енергії у забезпеченні рухливості спермійв є окисно-відновні процеси циклу трикарбонових кислот з подальшою передачею протонів на Оксиген у дихальному ланцюзі мітохондрій [2, 3]. Процеси енергетичного обміну в організмі тварин вивчаються давно, але практично немає даних, що характеризують стимулюючий вплив багатокомпонентних пробіотиків на обмін енергії у сперміях кнурів-плідників. У тваринництві з метою профілактики захворювань, підвищення резистентності організму та стимулювання обміну енергії, досить успішно використовується пробіотик «Мультибактерін». Основними компонентами Мультибактеріну є: симбіотична ацидофільна закваска, що складається з бактерій *Lactobacillus acidophilus*, хелатних комплексів рибофлавіну з цинком, аскорбінової кислоти з цинком, рибофлавіну з марганцем, аскорбінової кислоти з марганцем, з амінокислот метіонін та лізин, а також натрій селеніт.

Метою роботи було вивчення впливу препарату «Мультибактерін» на активність ферментів циклу трикарбонових кислот та окисного фосфорилювання мітохондрій у сперміях кнурів-плідників та порівняльна оцінка його дії між породою Велика біла та синтетичною лінією SS23.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження проведено протягом 30 діб на кнурах-плідниках синтетичної лінії SS23 та великої білої породи, яких утримують у дослідному господарстві ВАТ «Еліта». За принципом аналогів було сформовано чотири групи кнурів-плідників по 4 голів у кожній. Кнурі-плідники перших двох груп слугували контролем, плідникам третьої і четвертої груп до складу корму додавали водний розчин препарату «Мультибактерін» у дозі 0,02 мл/кг маси тіла.

Для біохімічних досліджень використовували мітохондріальну фракцію спермійв кнурів-плідників. Мітохондрії виділяли методом диференційного центрифугування [3]. Відбір зразків сперми проводили на 15-й та 30-й день з моменту задавання препарату. У мітохондріях визначали активність Mg-залежної АТФ-ази та α -кетоглутаратдегідрогенази (α -КТГ), а також мітохондріальної і цитоплазматичної фракцій малатдегідрогенази (МДГ) за загальноприйнятими методиками [4, 5].

Результати досліджень та їх обговорення. Динаміка показників стану енергетичної системи в субклітинних структурах спермійв кнурів-плідників вказує, що активність α -КТГ у мітохондріях спермійв кнурів-плідників великої білої породи на 15-й день задавання препарату «Мультибактерін» порівняно з контролем була вищою на 22,2% ($p < 0,05$), а на 30-й день – вища на 40,7% ($p < 0,005$). У сперміях кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 на 15-у добу дослідження виявлено зростання даного показника на 9,6%, а на 30-й – на 34,5%. Ймовірно, таке підвищення активності α -КТГ зумовлене збільшенням кількості субстрату α -кетоглутарової кислоти, яка утворюється не тільки в циклі трикарбонових кислот, але й синтезується з амінокислот, що містяться в Мультибактеріні (табл. 1).

Таблиця 1 – Активність ферментів енергетичного обміну у мітохондріях спермій при застосуванні Мультибактеріну ($M \pm m$, $n=4$)

Дні	Велика біла порода		Синтетична лінія SS23	
α-кетоглутаратдегідрогеназа, нмоль ТС/мг білка × хв				
	контроль	дослід	контроль	дослід
15	2,31±0,19	3,24±0,23**	3,08±0,16	3,41±0,29
30	3,18±0,13	4,56±0,12***	3,11±0,26	5,30±0,46**
Mg-залежна АТФ-аза, нмоль Фн/мг білка×хв				
15	3,99±0,22	5,12±0,13**	4,18±0,41	4,69±0,42
30	4,81±0,52	5,62±0,16	4,45±0,19	5,94±0,15***

Примітка. Тут і надалі дані достовірні порівняно з контролем при * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,005$ та груп великої білої породи та синтетичної лінії SS23 за * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,005$.

Також нами була визначена різниця α -КТГ у кнурів-плідників породи Велика біла та синтетичної лінії SS23. У плідників породи Велика біла було відмічено вищу активності α -КТГ на 25,3% проте, це не було достовірно порівняно з відповідним показником у кнурів-плідників синтетичної лінії SS23.

Активність Mg-залежної АТФ-ази у мітохондріях спермій кнурів-плідників великої білої породи на 15-й день додавання Мультибактеріну була вищою на 28,3% ($p<0,05$), а на 30-й день – на 16,8% порівняно з контролем. У сперміях кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 на 15-у добу дослідів виявлено зростання активності Mg-залежної АТФ-ази на 12,2%, а на 30-у добу – на 33,4% порівняно з контролем ($p<0,05$). Враховуючи склад Мультибактеріну, можливо саме за рахунок лактобактерій, які поліпшують всмоктування мікроелементів з кишечника, зокрема Магнію, проявляється зростання активності Mg-залежної АТФ-ази у мітохондріях спермій кнурів-плідників на всіх етапах досліджень. Більш як 300 ферментів мають потребу в їх активації іонів Mg^{2+} , у тому числі всі ферментні системи, в яких бере участь АТФ через активність Mg-залежних АТФ-аз [3]. Таким чином, Магній необхідний практично для всіх енергетично потребуючих процесів в організмі.

Активність Mg-залежної АТФ-ази плідників породи Велика біла та синтетичної лінії SS23 свідчить, що у плідників синтетичної лінії SS23 спостерігалася вища активність (на 4,5% порівняно з кнурами-плідниками породи Велика біла). Можливо, такі дані вказують на подібний перебіг енергетичних процесів між групами, що меншою мірою залежить від генотипу тварин.

Ферментативні реакції циклу Кребса локалізуються на внутрішній мембрані мітохондрій. Деякі ферменти циклу трикарбонових кислот, зокрема малатдегідрогеназа, знаходяться не тільки в самих мітохондріях, але й поза ними, в цитоплазмі [2]. Активність МДГ у мітохондріях спермій кнурів-плідників породи Велика біла на 15-й день додавання препарату «Мультибактерін» була вищою на 26,4% ($p<0,01$), а на 30-й день – на 27,1% порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 2 – Активність малатдегідрогенази у цитоплазмі та мітохондріях спермій кнурів-плідників при застосуванні Мультибактеріну, мккат НАДН/мг білка $\times$ хв ($M \pm m$, $n=4$)

Дні	Велика біла порода		Синтетична лінія SS23	
	контроль	дослід	контроль	дослід
спермоцитоплазма				
15	0,14 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01
30	0,15 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,01**	0,18 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,01**
мітохондрії				
15	0,53 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,05*	0,41 $\pm$ 0,03	0,52 $\pm$ 0,01***^
30	0,57 $\pm$ 0,08	0,72 $\pm$ 0,04	0,42 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,01

У сперміях кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 на 15-у добу дослідів виявлено зростання активності мітохондріальної МДГ на 19,2% ($p<0,01$), а на 30-у добу відповідний показник зріс на 2,3%, порівняно з контролем. Було відмічено достовірну різницю між активністю мітохондріальної

МДГ у сперміях великої білої породи та синтетичної лінії SS23. Також нами була визначена активність цитоплазматичної МДГ у кнурів-плідників великої білої породи: на 15-й день додавання Мультибактеріну вона була нижчою на 26,3%, а на 30-й день – вища на 40% порівняно з контролем ($p < 0,05$).

У цитоплазмі спермій кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 на 15-у добу дослідження виявлено підвищення активності цитоплазматичної МДГ на 23,1%, а на 30-у добу даний показник достовірно зріс на 38,9% ($p < 0,005$).

Щодо дії Мультибактеріну на активність МДГ у мітохондріях спермій кнурів-плідників, то спостерігалось вірогідне зростання її активності. Це є вкрай важливим, оскільки спермії в процесі запліднення потребують значної кількості енергії для руху. Дослідження активності МДГ дає уявлення про інтенсивність перебігу реакцій циклу Кребса, оскільки вона бере участь в окисненні малату до оксалоацетату. За наявності ацетил-КоА оксалоацетат знову включається у цикл трикарбонових кислот [1].

Також нами була визначена різниця активності мітохондріальної і цитоплазматичної МДГ між кнурами-плідниками синтетичної лінії SS23 та великої білої породи. У плідників синтетичної лінії SS23 було відмічено вищу активність мітохондріальної МДГ на 26,2% ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником у кнурів-плідників великої білої породи. Активність цитоплазматичної МДГ у кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 була вищою на 7,7% порівняно з даним показником у кнурів-плідників породи Велика біла. Можливо отримані дані показують, що активність МДГ певною мірою залежать від генотипу тварин.

Висновки. При дослідженні впливу препарату «Мультибактерін» на показники енергетичного обміну у спермі кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23 було встановлено, що він позитивно впливає на якість сперми шляхом активації ферментів циклу трикарбонових кислот та окисного фосфорилування мітохондрій. Зростання активності мітохондріальної та цитоплазматичної МДГ, а також α -КТГ і Mg-залежної АТФ-ази у мітохондріях спермій на початкових етапах додавання Мультибактеріну в дозі 0,02 мг/кг маси тіла свідчить про доцільність застосування даного препарату для кнурів-плідників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Montoya-Perez R. / Mitochondrion membranes / R. Montoya-Perez, A. Saavendra-Molina, X. Trujillo // J. Bioenerg. Biomembr. – 2010. – 42(1). – P. 21–27.
2. Чака О.Г. Вплив нормобаричної гіпоксії та обмеженого раціону на енергетичний метаболізм гепатоцитів / О.Г. Чака, Р.В. Янко // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Зб. наук. праць. – 2009. – В. 60, Ч. 2. – С. 142–145.
3. Вац Ю.О. Кінетичні характеристики Ca^{2+} - Mg^{2+} -АТФаз клітин підчелепної слинної залози щурів / Ю.О. Вац, М.Ю. Клевець, Н.В. Федірко // Укр. біохім. журн. 2004. – Т. 76, № 6. – С. 44–54.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учеб. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
5. New pulsed EPR methods and their application to characterize mitochondrial complex I / T. Maly, K. Zwicker, A. Cernescu, [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. – V. 1787, № 6. – 2009. – P. 584–592.

Действие многокомпонентного пробиотика «Мультибактерин» на активность ферментов энергетического обмена в субклеточных структурах спермиев хряков-производителей

С.И. Цехмистренко, Ю.А. Радзивилова

Исследовано влияние многокомпонентного пробиотика "Мультибактерин" на состояние активности ферментов энергетического обмена в субклеточных структурах спермиев хряков-производителей. Установлено стимулирующее влияние Мультибактерина на активность малатдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназы и Mg-зависимой АТФ-азы.

Ключевые слова: сперма, спермии, хряки-производители, пробиотик, малатдегидрогеназа, α -кетоглутаратдегидрогеназа, Mg-зависимая АТФ-аза.

Operating of multicomponent probiotic of "Maltibakterin" on activity of enzymes of oxidizing phosphorylating exchange in the subcellular structures spermatozoa male hogs

S. Tsekhmistrenko, Y. Radzivilova

Influence is investigational multicomponent to the probiotic of «Maltibakterin» on the state of activity of enzymes oxidizing phosphorylating in the subcellular structures of spermatozoa of hogs-producers. Stimulant influence of Maltibakterin is set on activity of malatdehidrogenaza, α -ketoglutaratdehidrogenaza and Mg-ATP-aza.

Key words: sperm, spermatozoa, hogs-producers, probiotic, malatdehidrogenaza, α -ketoglutaratdehidrogenaza, Mg-ATP-aza.