

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОКЦИДИЯМИ *EIMERIA TENELLA*
НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ ИЗ КЛЕТКИ ХОЗЯИНА
ДЛЯ СИНТЕЗА СВОИХ БЕЛКОВ

А. Е. Хованских

Всесоюзный научно-исследовательский институт по болезням птиц,
Ленинград

При изучении включения C^{14} -глицина в белки слепых отростков у зараженных *E. tenella* цыплят установлено повышенное включение радиоактивной аминокислоты на 2-е, 4-е и 6-е сутки инвазии. По-видимому, это связано с усвоением глицина кокцидиями для синтеза своих белков в процессе внутриклеточных стадий развития. При изучении использования кокцидиями разных аминокислот из клетки хозяина обнаружено, что *E. tenella* избирательно используют аминокислоты из клетки хозяина. Отмечено, что наиболее усвояемой кокцидиями аминокислотой является абсолютно незаменимая аминокислота для хозяина — лизин.

Важным звеном в понимании паразито-хозяйинных отношений является выяснение вопросов механизма питания кокцидий на разных стадиях развития. Изучение этих вопросов позволит объяснить сущность их паразитизма и определить наиболее уязвимые звенья в их питании. Результаты подобных работ представляют большой интерес не только для расшифровки жизнедеятельности паразита, но и могут иметь важное практическое значение в рационализации методов борьбы с кокцидиозами.

В настоящее время известна потребность для млекопитающих и птиц не только в необходимом количестве белка для жизнедеятельности организма, но и главным образом в обеспечении качества белка, белка с определенным соотношением незаменимых аминокислот (Harper, 1959, 1965; Григорьев и Тружников, 1970; Григорьев, 1972). Следует отметить, что в отличие от животных и взрослой птицы глицин является незаменимой аминокислотой для цыплят (Григорьев, 1972). Для кокцидий неизвестно потребление аминокислот и их незаменимость. Однако есть основания предполагать, что в процессе своего развития кокцидии используют свободные аминокислоты и аминокислоты белка клеток хозяина, предварительно подвергнув белки ферментативному гидролизу до уровня аминокислот. Для прямого доказательства этого предположения требуется провести тщательные исследования с использованием меченых аминокислот с целью выяснения возможности их включения в состав белков кокцидий.

Цель данной работы — выяснить, какие аминокислоты преимущественно потребляют кокцидии *E. tenella* из клетки хозяина для синтеза своих белков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Биохимическое исследование внутриклеточных стадий развития кокцидий весьма затруднительно, поэтому в настоящей работе изучение включения C^{14} -глицина в белки инфицированной кокцидиями ткани слепых отростков проводили в сравнении с неинфицированной тканью. На боль-

шее можно рассчитывать в исследовании белков ооцист, которые можно получить в чистом виде, т. е. свободными от бактерий и тканей хозяина.

В данной работе были проведены две серии опытов. В первой серии изучали интенсивность включения C^{14} -глицина в белки слепых отростков инвазированных кокцидиями *E. tenella* на разных стадиях их эндогенного развития. Исследования проводили на 100 цыплятах 14-дневного возраста русской белой породы кросс линий А и С. Цыплят разделили на две группы одну заразили 10 тыс. спорулированных ооцист кокцидий *E. tenella*, другую, контрольную, заражению не подвергали. Обеим группам цыплят внутрибрюшинно ввели раствор меченой аминокислоты C^{14} -глицин из расчета 10 мккюри/100 г веса. Декапитацию птиц производили натошак на 1-й, 2-й, 4-й, 6-й, и 10-й день после заражения по 10 голов в опытной и контрольной группе. В указанные сроки убоя от птиц обеих групп для исследования брали слепые отростки, которые растирали в жидком азоте, и из гомогената выделяли белки осаждением 10% трихлоруксусной кислотой с последующей обработкой этиловым спиртом, спиртом с эфиром и эфиром.

Во второй серии опытов изучали степень использования нескольких аминокислот кокцидиями из клетки хозяина для синтеза своих белков. Известно, что большинство стадий развития кокцидий протекает внутриклеточно и получение этих стадий для биохимических исследований представляет определенные трудности. Однако можно легко получить внеклеточную стадию развития паразита — ооцисты, свободные от бактерий и тканей хозяина для последующего биохимического исследования. В настоящей работе опыты проводили на 150 цыплятах породы русская белая кросс линий А и С, выращенных в условиях, исключающих спонтанное заражение их кокцидиями. В возрасте 14 дней цыплят заразили кокцидиями *E. tenella* в дозе 2 тыс. ооцист на одного цыпленка. Каждую меченую аминокислоту C^{14} -глицин, C^{14} -аланин, S^{35} -метионин, C^{14} -фенилаланин и C^{14} -лизин раздельно вводили 30 инвазированным цыплятам внутрибрюшинно из расчета 50 мккюри/100 г веса три раза через 24, 48 и 84 часов после их заражения для постоянного насыщения среды обитания кокцидий (клеток кишечника хозяина) мечеными аминокислотами. Затем из собранного от инвазированных цыплят помета за первые пять суток патентного периода были получены ооцисты *E. tenella*. Вначале ооцисты растирали в гомогенизаторе Поттера, а затем из гомогената выделяли белок осаждением 10% трихлоруксусной кислотой по общепринятой методике. Полученные осадки белков как в первой, так и во второй серии опытов растворяли в 0.3 н. КОН при 37°. Количество белка в образцах белковых растворов определяли по биуретовой реакции на ФЭК-60. Радиоактивность белка измеряли на сцинтилляционном счетчике. Удельную радиоактивность проб выражали в имп./мин./мг белка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования включения C^{14} -глицина в белки слепых отростков цыплят, инфицированных разными стадиями развития *E. tenella*, приведены в табл. 1.

Проведенные исследования показали, что на 2-е, 4-е и 6-е сутки после заражения цыплят ооцистами *E. tenella* происходит повышенное включение C^{14} -глицина в белки слепых отростков инвазированных цыплят кокцидиями в 1.3—1.5 раза ($P < 0.05—0.01$). На 1-е и 10-е сутки паразитемии различий во включении C^{14} -глицина в белки слепых отростков у зараженных и контрольных цыплят не обнаружено ($P > 0.05$). Максимальная интенсивность включения аминокислоты C^{11} -глицина в белки слепых отростков у больных цыплят установлена на 4-й день инвазии, т. е. в период образования шизонтов и мерозоитов второй генерации.

Таким образом, повышенное включение C^{14} -глицина в белки слепых отростков на 3-и, 4-е и 6-е сутки паразитемии, возможно, связано с усвоением C^{14} -глицина кокцидиями в процессе эндогенных стадий их развития.

Т а б л и ц а 1

Включение C^{14} -глицина в белки слепых отростков зараженных цыплят *E. tenella* (имп./мин./мг белка)

	Статистические показатели	Время после заражения цыплят (в сутках)									
		1-е		2-е		4-е		6-е		10-е	
		О	К	О	К	О	К	О	К	О	К
Слепые отростки	М +m Р	2630 400	2380 410 >0.05	1950 300	1470 250 <0.05	1040 140	690 120 <0.01	990 110	700 140 <0.01	510 100	500 110 >0.05

Примечание. О — опыт; К — контроль; М — средняя арифметическая; m — средняя ошибка средней арифметической; Р — статистическая достоверность различий.

Результаты исследований использования *E. tenella* различных меченых аминокислот приведены в табл. 2, из которой видно, что все пять меченых аминокислот, введенных в организм зараженных *E. tenella* цыплят, включаются в состав их белков, т. е. паразит в процессе эндогенных

Т а б л и ц а 2

Радиоактивность белков ооцист кокцидий *E. tenella*

Аминокислоты	Статистические показатели	Удельная активность белков ооцист (имп./мин./мг белка)
C^{14} -аланин	М+m	238+60
C^{14} -глицин	М+m	1000+95
S^{35} -метионин	М+m	1020+80
C^{14} -фенилаланин	М+m	1300+65
C^{14} -лизин	М+m	1640+90

стадий развития использует аминокислоты хозяина для синтеза своих белков. Однако следует отметить, что *E. tenella* в 4 раза интенсивнее усваивают незаменимые аминокислоты хозяина глицин и метионин, в 5 раз фенилаланин и в 7 раз лизин по сравнению с заменимой аминокислотой аланином. Таким образом, из пяти изученных аминокислот наиболее усвояемой является

вероятно, C^{14} -лизин. Это позволяет предположить, что существует избирательность в ассимиляции кокцидиями различных аминокислот в ходе биохимического синтеза, когда и выясняется потребность кокцидий в той или иной аминокислоте. С другой стороны, потребление кокцидиями незаменимых аминокислот для птицы, таких как метионина и лизина, может создать дефицит их у хозяина, вследствие этого недостаток аминокислот в организме будет лимитировать процесс биосинтеза белков, так как известно, что для синтеза белка обязательно наличие в необходимом количестве и в нужном соотношении одновременно всех аминокислот, входящих в состав этого белка.

ВЫВОДЫ

1. Повышенное включение C^{14} -глицина в белки слепых отростков инвазированных цыплят, по-видимому, связано с усвоением аминокислоты кокцидиями *E. tenella* для синтеза своих белков. Следует отметить, что максимальное включение C^{14} -глицина выявлено на 4-й день после заражения, т. е. в период образования шизонтов и мерозоитов второй генерации.

2. В процессе развития и размножения кокцидий *E. tenella* избирательно используют аминокислоты из клетки хозяина.

Из пяти изученных аминокислот наиболее усвояемой является лизин, который для хозяина незаменим.

Л и т е р а т у р а

Г р и г о р ь е в Н. Г и Т р у ж н и к о в а Т. М. 1970. Аминокислоты рациона и метаболизм белка у бройлеров. Вестн. сельскохозяйственной науки, 7 : 91—95.

- Григорьев Н. Г. 1972. Аминокислотное питание сельскохозяйственной птицы.
Изд. «Голос», М. : 15—24.
Harper A. E. 1959. Amino acid balance and imbalance. J. Nutrition, 68 (3): 405—408.
Harper A. E. 1965. Amino acid imbalance. Proc. of the Nutrition Soc., 24 (1): 3—22.
-

THE USE OF AMINO ACIDS FROM THE HOST'S CELL
FOR PROTEIN SYNTHESIS BY EIMERIA TENELLA

A. E. Khovanskykh

S U M M A R Y

A study of the inclusion of C¹⁴-glycine into proteins of blind appendages of chicks infected with *E. tenella* established a higher inclusion of the radioactive amino acid on the 2nd, 4th and 6th day after the infection. This seems to be associated with the glycine assimilation by coccidians for synthesis of their proteins in the course of intracellular stages of development. It was found that coccidians of *E. tenella* use aminoacids from the host's cell selectively. Of aminoacids used by coccidians lisin was found to be most assimilable.
