

РОЛЬ МІНЕРАЛЬНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У ДЕТОКСИКАЦІЇ НІТРАТІВ У РУБЦІ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

МЕЛІКЯН С. М., СОЛОГУБ Л. І., ДУДКЕВИЧ Р. М.

*Інститут біології тварин УААН, Львів, Україна;
e-mail: salahub@mail.lviv.ua*

Серед антропогенних токсикантів, які поступають в організм великої рогатої худоби з кормами є нітрати. Наявні у рубці симбіотичні бактерії відновлюють їх до нітритів і аміаку, який використовується як джерело азоту для тварин. Відомо, однак, що окремі реакції перетворення нітратів протікають з неоднаковою швидкістю, причому активність нітритредуктази є значно меншою, ніж активність нітратредуктази, в результаті чого може нагромаджуватись особливо токсичний для мікроорганізмів і тварини-господаря нітрит. У зв'язку з цим важливими є дослідження регуляції відновлення останнього до аміаку під впливом різних кормових добавок, і зокрема мінеральних елементів, та впливу цих чинників на життєдіяльність рубцевої мікрофлори і мікрофауни.

Дослідження проводилися на вмістимому рубця 12-місячних бичків шляхом інкубації зразків в анаеробних умовах протягом 24-х годин з додаванням до культурального середовища нітрату натрію і окремих мінеральних елементів (по 10 мМ). У досліджуваних зразках до і після інкубації визначали активність нітрат- і нітритредуктази, вміст аміаку і летких жирних кислот.

Установлено, що катіони і аніони різних мінеральних елементів впливають неоднаково на активність досліджуваних нітрат- і нітритредуктаз і на продукцію аміаку. Так, зокрема, цинк і залізо (II) посилюють відновлення і нітратів, і нітритів, а разом з цим збільшують утворення аміаку. Особливо помітне зростання цих показників спостерігається при додаванні до інкубаційного середовища молібдату, що, очевидно, пов'язане з активацією молібдоптерину, який служить кофактором названих редуктаз. Помітне збільшення активності нітритредуктази, при незмінній активності нітратредуктази, відмічено під впливом міді і хрому (III). У той же час, хромат, селеніт, сульфат пригнічують активність обох досліджуваних ферментів. Очевидно, ці аніони діють, в даному випадку, як окислювачі, конкуруючи з нітрат- і нітритредуктазними системами за відновлені еквіваленти. Що стосується летких жирних кислот, то концентрація їх у середовищі при додаванні сульфату, міді і цинку зростає, тоді як сульфід, навпаки, знижує їх продукцію.

СЕЗОННА ДИНАМІКА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ГЕРБІЦИДІВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КІНЦЕВИХ РЕАКЦІЙ ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗУ І РІВЕНЬ ГЛЮКОЗИ В ТКАНИНАХ КОРОПА

МЕХЕД О. Б., ЯКОВЕНКО Б. В.

*Чернігівський державний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка, Україна;
e-mail: imc @ chspu.edu. ua*

Серед органічних речовин, що викликають явно виражений токсикоз у риб, особливе місце посідають пестициди, в тому числі гербіциди. Тому надзвичайно важливу роль відіграє вивчення фізіологічних та біохімічних показників життєдіяльності риб, у відповідь на отруєння даними речовинами. Об'єктом дослідження слугував короп (*Cyprinus carpio* L.). Метою роботи було дослідити вплив гербіцидного токсикозу (зенкор та амонійна сіль 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота (2,4-ДА) на активність ферментів глюконеогенезу (глюкозо-6-фосфатаза (Г-6-Фаза) та фруктозо-1,6-дифосфатаза (Ф-1,6-ДФаза)) та на вміст глюкози в різних тканинах коропа (білі м'язи, печінка, мозок). Кількість риб експериментальних та контрольної груп становила по 5 штук. Усі результати були оброблені статистично за І. А. Ойвіним. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при * - $P < 0,05$. Результати експерименту дозволяють відмітити загальну тенденцію до зменшення вмісту глюкози в усіх досліджуваних тканинах під дією обох гербіцидів: в залежності від токсиканту, пори року та досліджуваного органа зменшення кількості вуглеводу на грам тканини коливається від 1,33 раза (білі м'язи, під дією зенкору у жовтні) до 2,91 раза у мозку під дією 2,4-ДА у квітні. Можна також зробити висновок, що 2,4-ДА викликає більші зміни її вмісту

в досліджуваних органах порівняно з зерном. Із усіх досліджуваних тканин найменших змін зазнав мозок: достовірні відмінності відмічено лише у січні ($18,3 \pm 1,70$ проти $33,14 \pm 6,16$ мкмоль/г тканини, $P < 0,05$). В результаті експериментів виявилось, що 2,4-ДА викликала збільшення активності обох досліджуваних ферментів глюконеогенезу (Г-6-Фаза та Ф-1,6-ДФаза), в той час як дія зерноку проявилась неоднозначно. Зміни Ф-1,6-ДФазної активності в умовах токсикозу 2,4-ДА у печінці та м'язах максимально проявлялись у січні ($5,46$ ($P < 0,01$) та $8,22$ рази ($P < 0,001$)), а найсуттєвіше збільшення активності у мозку спостерігалось у квітні, аналогічно Г-6-Фазній, і становило $6,45$ рази ($P < 0,01$). Дія зерноку на інтенсивність протікання ферментних реакцій протягом року неоднозначна. Так, вказаний гербіцид гальмував активність Г-6-Фази в усіх тканинах в усі досліджувані пори року, за виключенням весни, коли спостерігалось підвищення активності ферменту у $2,39$ рази ($P < 0,05$) у печінці, $1,94$ рази у мозку і $1,89$ рази ($P < 0,05$) у білих м'язах. Висновок: токсичний вплив пестицидів у великій мірі визначається порою року, оскільки сезонні фактори впливають на активність ферментів та вміст енергетичних субстратів в організмі риби.

α-АМІЛАЗИ *BACILLUS SUBTILIS*

МИШАК К. В.

*Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ;
e-mail: varbanets@rambler.ru*

α-Амілаза (КФ 3.2.1.1, декстриногенамілаза, α-1,4-глюкан-4-глюканогідролаза) гідролізує α-1,4-глікозидні зв'язки в полісахаридах, що містять три і більше залишків D-глюкози. У процесі ферментативної реакції гідролізу крохмалю утворюються головним чином низькомолекулярні декстрини і невелика кількість мальтози.

У результаті скринінгу серед 224 штамів *Bacillus subtilis* були відібрані три найбільш активні штами: 147, 149, 222. Ступінчастим фракціонуванням сульфатом амонію (від 30% до 90%) були отримані ферментні препарати, активність яких перевищувала таку культуральної рідини в 6,9, 23,5 і 1,1 рази. Подальші дослідження стосувалися визначення рН- і термооптимумів, за яких діють α-амілази, а також стабільності отриманих ферментів при оптимальних значеннях рН і температури. α-Амілаза *B. subtilis* 147 мала два оптимуми рН – 5,35 і 8,2, α-амілаза *B. subtilis* 149 – три оптимуми при рН 5,0, 5,8 і 9,1, а α-амілаза *B. subtilis* 222 – при рН 5,0 і 9,1. Усі ферменти лишилися повністю стабільними при оптимальних значеннях рН протягом двох годин, а α-амілаза *B. subtilis* 149 з рН-оптимумом 9,1 виявилася найбільш стабільною, оскільки виявляла половину початкової активності навіть через 24 години.

Амілолітичні ферменти виявляли максимальну активність за температури 60 °С (α-амілаза *B. subtilis* 147 з $rH_{\text{опт}}$ 5,35), 70 °С (α-амілаза *B. subtilis* 149 з $rH_{\text{опт}}$ 5,0 і 5,8 та α-амілаза *B. subtilis* 222 з $rH_{\text{опт}}$ 5,0) і 80 °С (α-амілаза *B. subtilis* 149 з $rH_{\text{опт}}$ 9,1 і α-амілаза *B. subtilis* 222 з $rH_{\text{опт}}$ 9,1). α-Амілаза *B. subtilis* 147 з $rH_{\text{опт}}$ 8,2 виявляла максимальну активність в інтервалі температур від 4 до 95 °С. Усі ферменти були стабільними при оптимальних значеннях температури протягом 2–3 годин в залежності від штаму. Найбільш активною була α-амілаза *B. subtilis* 147 з $rH_{\text{опт}}$ 5,35, яка навіть через 3 години виявляла половину початкової активності.

Відомо, що потреба в термостабільних амілазах вкрай висока у таких виробництвах, як крохмало-патокове, спиртове, пивоварне, оскільки використання термостабільної амілази дає змогу знизити вартість ферментного процесу за рахунок скорочення часу гідролізу крохмалю. Поряд з цим підвищення температурного режиму реакції значно зменшує ймовірність мікробного інфікування матеріалу, що використовується, і збільшує кількість ферментативних атак.