

22. Thomas P., Wofford H.W. Effects of metal and organic compounds on hepatic glutathione, cysteine and acid-soluble thiol levels in Mullet (*Mygil Cephalus L.*)// *Toxical and appl. Pharmacol.*-1984.-76.-P.172-182.
23. Wong P.T.S., Chac G.K. Zinc toxicity to freshwater algae//*Toxicity Assess.*-1990.-5,N2.-P.167-177.

*Л.М. Романишина, С.В. Крутовський,  
Г.І. Калачнюк, О.С. Ревуцька*

УДК 543.866

## **ВПЛИВ СУЛЬФАТНОЇ СІРКИ НА ДЕЯКІ СТОРОНИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА ЛУСКАТОГО.**

Відомо, що сірка відіграє важливу роль в процесах життєдіяльності живих організмів. При надходженні цього мікроелементу у вигляді сульфату натрію у вмістимому передшлунків жуйних тварин підвищується концентрація білкового азоту [1], стимулюються процеси обміну речовин в організмі овець та покращується ріст вовни [5]. Особливого значення сірка набуває при підвищеній в ній потребі, що є характерним для організму коропа лускатого [3], як найбільш поширеного виду в рибовиробництві. В літературі є дані про можливість використання організмами сульфатної сірки для синтезу сіркувмісних сполук, зокрема, цистеїну [11]. При цьому частково "заощаджується" амінокислота метіонін.

Дані про дію сульфатної сірки досить обмежені. Тому метою нашого експерименту було вивчити вплив сірки сульфату натрію на деякі сторони білкового обміну в організмі коропа лускатого та встановлення оптимальної концентрації даної солі в лабораторних та виробничих умовах.

### **Матеріал і методика.**

Досліди проводили на дворічному коропі лускатому живою масою 200 г, який було розділено на п'ять груп по чотири риби в кожній. Піддослідних коропів утримували в акваріумах, наповнених водопровідною водою при температурі +4 - +8°C. Риба контрольної групи перебувала в чистій воді, коропи дослідних груп - у воді з розчиненим водним сульфатом натрію, концентрація якого становила від 50 до 200 мкМ/л з міжгруповим інтервалом 50 мкМ. Експеримент тривав 10 днів.

Під час весняно-літнього періоду (квітень-серпень місяці) було проведено дослід у виробничих умовах. Для цього зариблено п'ять невеликих водойм у воду яких запуснено по 1000 штук однолітнього коропа. Утримання риби та її годівля проводились згідно рекомендованих норм. Коропам контрольної групи згодовували комбікорм без добавок. Риба дослідних груп одержувала комбікорм разом із сульфатом натрію, вміст якого в кожній групі становив 0,5%, 1,0%, 1,5% і 2,0% від маси корму. В кінці дослідів, що проводився в акваріумах, а у виробничих умовах через кожні два тижні з піддослідної риби одержували кров, тканину м'язу, печінки і тонкого відділу кишечника, які піддавали біохімічному аналізу.

Вміст загальних білків в досліджуваних тканинах визначали біуретовим методом (Калачнюк і сп., 1974), який виражали в мг/кг тканини.

Визначення концентрації вільних амінокислот в плазмі крові і м'язі проводили хроматографічним методом за допомогою автоматичного аналізатора (ААА-888, Чехословаччина), яку виражали в мкМ/г сирової тканини або 1 мл плазми крові.

Активність глутаматдегідрогенази (ГДГ) визначали спектрофотометрично [9] та вміст глутамінової кислоти в мітохондріях [10].

Одержані цифрові результати дослідів обробляли статистично [7].

### Одержані дані та їх обговорення.

З наведених в таблиці 1 даних видно, що при дії різної концентрації розчиненого у воді сульфату натрію в крові коропа дослідних груп вміст сумарних білків знижувався в той час як у м'язах зростав.

Таблиця 1.

**Вплив сульфату натрію на вміст загальних білків в тканинах коропа лускатого ( в мг/кг, n=4 )**

Групи коропа	Кров		М'яз	
	М + m	P	М + m	P
Контрольна	161.0+9.50		206.0+11.40	
I дослідна	122.0+12.80	>0.05	248.0+13.80	>0.05
II дослідна	119.0+11.00	>0.02	254.0+11.00	<0.05
III дослідна	131.0+13.20	>0.1	250.0+14.40	>0.05
IV дослідна	130.0+10.00	<0.1	232.0+17.30	>0.2

При цьому найбільш виразні зміни відмічені в досліджуваних тканинах коропа II дослідної групи, який витримували у воді в якій вміст розчиненого сульфату натрію становив 100 мкМ/л.

Встановлені відмінності в концентрації загальних білків, очевидно, свідчать про стимулюючий вплив сульфатної сірки на організм риби. Подібна дія цього мікроелементу може бути пояснена не тільки активним синтезом амінокислоти цистеїну [4], але й утворенням таурину [11] та інших біологічно активних сполук, стимулюючих окремі анаболітичні процеси, в тому числі і реакції синтезу білка. Це може бути доказом підвищеного вмісту загальних білків в м'язі. Крім цього на синтез білків цієї тканини, очевидно, активно використовувались білки крові, про що свідчить зниження їх вмісту.

В таблиці 2 представлені результати зміни вмісту вільних амінокислот в досліджуваних тканинах коропа при дії різної концентрації розчиненого у воді сульфату натрію.

Таблиця 2.

**Залежність концентрації вільних амінокислот в досліджуваних тканинах коропа при дії сульфатної сірки.**

(в мкМ/г сирової тканини, або 1 мл плазми крові; n=4)

Назва амінокислот	Плазма крові					М'яз				
	Групи коропа					Групи коропа				
	конт.	I	II	III	IV	конт.	I	II	III	IV
Ліз	0.38	0.38	0.38	0.36	0.38	1.53	1.60	1.86	1.76	1.52
Гіс	0.40	0.39	0.39	0.37	0.40	3.51	3.02*	2.22*	2.30*	3.05
Арг	0.18	0.16	0.15	0.15	0.17	0.96	0.80	0.75	0.84	0.79
Асп	0.09	0.08	0.07	0.09	0.10	0.37	0.36	0.39	0.35	0.39
Тре	0.13	0.13	0.13	0.12	0.13	0.59	0.52	0.49	0.55	0.47
Сер	0.22	0.20	0.16*	0.18	0.20	1.01	0.91	0.70*	0.78	0.80
Глю	0.12	0.14	0.16*	0.17*	0.13	0.87	0.90	1.29*	1.01	0.96
Про	0.68	0.28*	0.08*	0.40	0.38	0.51	0.39	0.26*	0.30*	0.42
Глі	0.29	0.28	0.30	0.27	0.30	3.33	3.23	3.07	3.10	3.29
Ала	0.55	0.48	0.40*	0.42	0.49	2.26	2.18	2.09	2.12	2.30
Цис	0.15	0.12	0.08*	0.10	0.13	0.18	0.20	0.30*	0.27	0.22
Вал	0.33	0.32	0.34	0.34	0.35	0.60	0.42	0.45	0.50	0.56
Мет	0.11	0.09	0.05*	0.09	0.08	0.59	0.34	0.17*	0.20*	0.39

Лей	0.28	0.25	0.22	0.25	0.26	0.54	0.42	0.30*	0.40	0.46
Гле	0.44	0.43	0.44	0.40	0.42	0.96	0.91	0.67	0.80	0.76
Тир	0.16	0.12	0.08*	0.09	0.12	0.43	0.36	0.23*	0.30	0.34
Фен	0.12	0.12	0.10	0.13	0.10	0.45	0.33	0.21*	0.36	0.41

\* - показник ймовірності різниці між контролем і дослідними групами.

З наведених у таблиці даних видно, що вміст вільних амінокислот в плазмі крові коропів дослідних груп знижувався в основному за рахунок аргініну, серину, проліну, аланіну, цистеїну і тирозину. При цьому концентрація глютамінової кислоти в крові зростала.

Подібні дані було одержано в експерименті, в якому вивчалась дія на організм коропа екзогенного інсуліну [8]. Було встановлено, що введений гормон значно знижував вміст всіх вільних амінокислот в досліджуваній тканині. Звідси вплив сульфатної сірки слід вважати інсуліноподібним. Ініціатором такого ефекту, очевидно, є таурин, який активно синтезується в умовах дії на організм сірки сульфатів, що доказано радіоактивними дослідженнями [11].

Більш висока концентрація вище вказаних амінокислот в крові риби контрольної групи свідчить про недостатнє їх використання в метаболізмі. Така обмеженість виникає, мабуть, з причини дефіциту на сіркувмісні амінокислоти, що знижує можливість синтезу білка.

Що стосується вмісту вільних амінокислот в тканині м'язу то їх загальна кількість при дії сульфату натрію знижувалась за рахунок гістидину, серину, проліну, метіоніну, лейцину, тирозину і фенілаланіну. Дані амінокислоти в умовах дослідження, очевидно, найбільш активно використовувались на біосинтез м'язевих білків, що зв'язане з активним синтезом цистеїну та створенням оптимального співвідношення між вільними амінокислотами. Найбільш суттєві зміни у вмісті вільних амінокислот м'язу і крові відзначені при дії на організм риби водного розчину сульфату натрію концентрацією 100 мкМ/л.

В проведеному досліді у виробничих умовах в крові і м'язі коропа при його вирощуванні відмічено аналогічні зміни у вмісті загальних білків та концентрації і співвідношенні вільних амінокислот. Однак, в даному експерименті встановлена відмінність в кількісних змінах білкових метаболітів, що головним чином залежало від віку коропа та періоду його вирощування. Найбільш виразні зміни в концентрації досліджуваних білкових компонентів встановлено в червні-липні місяцях, тобто в період інтенсивного росту білкової маси риби. Найвищу активність в синтезі м'язевих білків та зміну у вмісті вільних амінокислот в досліджуваних тканинах виявлено в організмі коропа II дослідної групи, якому згодовували комбікорм з 1% - вим вмістом кристалічного сульфату натрію. В кінці дослідження риба даної групи мала найбільшу живу масу, яка перевершувала контроль на 24,6 % - ка.

При вивченні реакції відновного амінування  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти в тканинах коропа контрольної групи виявлено найвищу активність глютаматдегідрогенази (1.4.1.2) в печінці у травні місяці, а в червні місяці-в м'язах.

Під впливом 1% і 2% - ного розчинів сульфату натрію активність цього ферменту знижувалась (табл. 3).

Найбільше зниження активності ферменту глютаматдегідрогенази відмічено в червні місяці тобто в період активного нарощування білкової маси риби.

Таблиця 3.

Вплив водного розчину сульфату натрію на активність ГДГ в мітохондріях досліджуваних тканин коропа лускатого.

(  $M \pm m$  ;  $n = 4$  ; в м/М НАД\*Н за 1 хв. на 1 мг білка)

Умови досліджу	Печінка	М'яз
	травень місяць	
контроль	0.042+0.004	0.040+0.006
1% розчин	0.005+0.000	0.003+0.000
2%-розчин	0.007+0.000	0.002+0.000
	червень місяць	
контроль	0.040+0.002	0.062+0.006
1% розчин	0.002+0.000	0.008+0.001
2%-розчин	0.003+0.000	0.004+0.001

В цей же період виявлено суттєві зміни в концентрації глютамінової кислоти, як кінцевого продукту реакції відновного амінування. В контрольній групі коропів як в травні так і в червні місяцях спостерігалось підвищення вмісту глютамінової кислоти, особливо в м'язах де вміст цієї сполуки був вищим в 11,6 раз, що видно із табл. 4.

Таблиця 4

Вплив сульфату натрію на вміст глютамінової кислоти в мітохондріях коропа в процесі реакції відновного амінування.

(  $M \pm m$  ;  $n = 4$  ; в мг на 1 мг білка )

Умови досліджу	Момент реакції	Печінка	М'яз
		травень місяць	
контроль	до реакції	1.87+0.42	0.68+0.09
	після реакції	8.68+0.39	7.95+0.48
1% розчин	до реакції	4.01+0.23	1.31+0.09
	після реакції	2.01+0.12	1.03+0.14
2% розчин	до реакції	2.82+0.21	2.45+0.43
	після реакції	2.15+0.18	2.21+0.38
		червень місяць	
контроль	до реакції	1.63+0.10	1.32+0.29
	після реакції	4.33+0.12	4.38+0.45
1% розчин	до реакції	5.33+0.28	2.33+0.63
	після реакції	2.48+0.13	3.12+0.73
2% розчин	до реакції	3.28+0.29	2.48+0.63
	після реакції	2.13+0.32	2.08+0.73

Це свідчить про те, що за рахунок аміногруп інших амінокислот відновне амінування в м'язах відбувалося більш інтенсивно, а це створювало умови для активного синтезу білків.

При дії розчинів сульфату натрію зростав вміст глютамінової кислоти як в печінці так і м'язах, особливо при 1% -вій концентрації. Це свідчить про те, що в мітохондріях тканин коропа під впливом сульфатної сірки в травні і червні місяцях підвищувався запас глютамінової кислоти, що стимулювало білоксинтетичні процеси. Вивчення реакції відновного амінування *in vitro* підтвердило це, так як в ході реакції знижувався вміст

глутамінової кислоти за рахунок витрати її аміногруп на синтез інших амінокислот, а відповідно і білка.

В проведених дослідах встановлено оптимальну концентрацію сульфату натрію, яка становить в акваріумних умовах - 100 мкМ/л, а при вирощуванні коропа у виробничих умовах - 1%- ний вміст сульфату натрію від маси комбікорму.

В кінці виростного періоду жива маса коропа, що вирощувався при добавках до корму 1%-ку сульфату натрію була на 24,6 % а вищою від контрольного варіанту.

#### ЛІТЕРАТУРА.

1. Врьдник Ф.И. Некоторые показатели азотистого обмена при скармливании коровам мочевины и сульфата натрия. // Сб. тезисов конференции по физиологии сельскохозяйственных животных. - Львов.- 10.1961. - С.16-17.
2. Калачнюк Г.І., Гжицький С.З. Визначення концентрації білка у вмістимому рубця за принципом виявлення пептидних зв'язків. // ДАН УРСР, 1974. - N 4. - С. 354-355.
3. Крутовський С.В., Лутцев О.В., Курант В.З., Шандрук Р.М., Столяр О.Б., Романишина Л.М., Явоненко О.Ф. Вплив різних доз сульфату натрію на вміст деяких компонентів обміну речовин в тканинах коропа та його ріст і розвиток. // Зб. тезів V Укр. біохімічного з'їзду. - Ів-Франківськ.- 09.1987. -Ч.2.-С. 32.
4. Лагодюк П.З., Ратыч И.Б., Скварук В.И., Стражнык З.Я., Назаревич Л.Е. Исследование превращения серусодержащих соединений организмом кур. // Прикладная биохимия и микробиология. - Т. XX. - М, 1984. - С.260-266.
5. Макар И.А. Биохимические основы шерстной продуктивности овец. М.: Колос.-1977. - 276 с.
6. Мещлер Д. // В кн.: Биохимия. - 3 т.-М,1980.-132 с.
7. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. // Патол. физиология и эксперим. терапия.- К, 1960. - N 4. -С.76-85.
8. Яковенко Б.В., Крутовский С.В., Шандрук Р.Н., Курант В.З., Явоненко А.Ф. Влияние бычьего инсулина на содержание некоторых метаболитов в мышечной ткани карпа чешуйчатого. // Гидробиологический журнал.-К,1986. : ВИНТИ 5723-В.-11 с.
9. Balazs R., Haslam R. Exchange transamination and the metabolism of glutamate in brain // Biochem. J.- 1965. -N 94. -P. 131-133.
10. Katgeri S.N., Mahadevappa D.S., Naidu H.M.K. A rapid method for the estimation of glutamic acid with chloramine. // Talanta.-1979.-N 5. -P. 420-422.
11. Martin W. Sulfate metabolism and taurine synthesis in the skin. // Poult. Sci.-1961.-V.51.- P.701-703.