

confirmed in the reserve area, 12 of them have been detected in stationaries: *Muscardinus avellanarius* L., *Sorex arenarius* L., *Microtus agrestis* L., *Microtus arvalis* Pallas, *Terricola subterraneus* L., *Miodes glareolus* Schreber, *Sylvaemus tauricus* L., *Sylvaemus sylvaticus* L., *Apodemus agrarius* Pallas, *Sorex minutus* L., *Cricetus cricetus* L., *Microtus minutus* Pallas.

During the research, data have been obtained that make it possible to analyze the occurrence of species in biocenoses, to establish their relative number, the criterion of which is the falling into traps and the proportion of the sample in the calculation per 100 trap-days and the point of the species abundance on the teriostationary. During the research 21700 trap-days were worked out, 3057 individuals of mouse rodents were found. Dominant species in all stationaries with abundance score 5 are: *Sylvaemus tauricus* L., *Sylvaemus sylvaticus* L., *Myodes glareolus* Schreber.

The subdomains with the abundance score 4 are: *Terricola subterraneus* L., *Microtus agrestis* L. Out of 12 species of mouse rodents, outbreaks of numbers in stationary accountings were recorded in five species: *Miodes glareolus* Schreber at ST-1 41 individuals in 2007, at CT-2 – 53 individuals in spring and autumn 2007, at ST-4 in 2007 – individuals, at ST-5 in 2006 – 21 individuals, at ST-7 in 2006 – 37 individuals, *M. agrestis* at ST-3 in 2007 41 individuals; *Microtus arvalis* Pallas 37 individuals in 2002 at the same stationary; *Sylvaemus sylvaticus* L. at ST-4 in spring 2015 and *Sylvaemus tauricus* L. at ST-4 in autumn 2005, 2007, 2016, at ST-5 in 2007, 2017 and at ST-6 in 2007, 2008, 2016. During the researches from 1994 to 2015 (CT-1 – CT-3) and from 2005 to 2017 (CT-4 – CT-7) several outbreaks of mouse rodents number marked at all stationaries simultaneously in almost the same number of years: 2000-2001, 2007-2008, 2013-2014. We associate this with the presence of favorable climatic conditions of autumn and winter and the yield of tree seeds these years.

*Key words: reserve, teriology, research, mouse rodents, dominant*

Рекомендує до друку  
В. В. Грубінко

Надійшла 02.03.2018

UDC 639.215.2: 504.054: 661.874

<sup>1</sup>I. M. KONOVS, <sup>1</sup>O. M. ARSAN, <sup>2</sup>V. V. GRUBINKO

<sup>1</sup>Institute of Hydrobiology National Academy of Sciences of Ukraine  
Heroiv Stalinhrada ave. 12, Kyiv, 04210

<sup>2</sup>Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University  
Махума Kryvonosa str. 2, Ternopil, 46027

## **EFFECT OF NICKEL ON FUNCTIONING OF ADAPTIVE SYSTEMS RESPONSIBLE FOR ENDOGENOUS AMMONIA BINDING AND EXCRETION IN CARP**

Effect of 20 mg/L nickel ions on ammonia metabolism in carp (*Cyprinus carpio*) during 14 days exposure at 7, 20 and 25°C was studied. Accumulation of nickel by organs does not demonstrate temperature-dependent correlations. Favorable temperature conditions (20°C, and to a lesser extent 25°C) facilitate adaptive mechanisms aimed at control of nickel migration in organism. Increasing of ammonia concentration in the gill, kidney and brain at 7°C demonstrates an inadequate functioning of detoxification and excretion processes. Increasing of alanine aminotransferase role in regulation of ammonia homeostasis at low temperature is found. Active functioning of glutamine system at higher water temperatures (20 and 25°C) provides decreasing or stabilization of endogenous ammonia content under effect of nickel ions.

*Key words: Cyprinus carpio, nickel, nitrogen metabolism, ammonia, tissue distribution, adaptation*

Rate and direction of protein metabolism are among the major indicators of functional status of organism under normal and unfavorable environmental conditions. Maintenance of homeostatic level of ammonia in tissues can be considered as the main factor in regulation of protein metabolism, balance between catabolic and anabolic processes, and formation of physiological response of freshwater fish organisms [2].

Impact of toxic substances leads to activation of catabolic processes aimed at maintenance of energy homeostasis, resulting in accumulation of metabolic products in the tissues. Intensive catabolism of nitrogen-containing substances accompanied by utilization of their carbon 'skeleton' as an energy source leads to an intensive ammonia production in the tissues. Glutamine system is the predominant way of endogenous ammonia detoxification in carp [13]. It includes ammonia binding to non-toxic glutamine in glutamine-synthetase reaction (hepatopancreas, muscles, brain), its transportation to the gills and further deamination by glutaminase and excretion of ammonia into environment. In addition to glutamine system, functioning of alanine pathway in carp organism was shown [1], which consists in amination of pyruvic acid by alanine aminotransferase in the muscles, transportation of alanine to the liver and its transamination in this tissue, followed by utilization of produced pyruvic acid in gluconeogenesis pathway and ammonia excretion with kidneys. Imbalance in gill and kidney routes of ammonia excretion caused by toxic substances and alterations in activities of certain enzymes providing this process may lead to broad spectrum of metabolic disorders in fish organism.

Nickel is a ubiquitous trace metal in the biosphere. In natural waters  $Ni^{2+}$  is the dominant chemical species [9]. Concentration of nickel in unpolluted and low-polluted freshwater surface waters varies between 0.8 and 10  $mg/L$  [7]. It should, however, be noted that Ukrainian maximal allowed concentration (PDK) of nickel ions in the water bodies of fish-breeding purpose is close to the upper level mentioned above (10  $mg/L$ ).

It is well known that an effect of metal on aquatic organisms depends both on the chemical nature of the metal and physical and chemical parameters of aquatic environment. Temperature is a major factor as it determines the rate of metabolic activity and can modify dramatically the impact of toxic substances, and nickel in particular [12]. The aim of present paper is the study of physiological and biochemical mechanisms of detoxification and excretion of ammonia under effect of sub-lethal concentrations of nickel ions and their accumulation in tissues at different temperatures of water during sub-chronic experiment.

### **Material and methods**

For experimental study one-year-age carp, *Cyprinus carpio* L., of both genders (weight 180–200g) were collected from fish-breeding station of the Institute of Hydrobiology (Bila Tserkva, Kyiv region). Fishes were divided into three groups and acclimatized to laboratory conditions and test temperatures 7, 20 and 25°C for a period of 21 days prior to the experiment. Thereafter each temperature group was divided into two groups, 6 fishes in each in 100 L aquariums. As a result three groups served as control and were maintained without treatment, other three groups of the fishes were treated with sub-lethal concentration 20  $mg/L$  of  $Ni^{2+}$  (nickel chloride, chemically pure grade) for a period of 14 days. To avoid the effect of exometabolites and to maintain desired nickel ions concentration half of volume of experimental medium was renewed daily in both control and experimental aquariums.

At the end of 14<sup>th</sup> day fishes from control and treated groups were dissected out for the removal of muscle, liver, kidneys, gills, intestine and brain tissues. Activity of glutamine synthetase (GS) was determined with 'phosphate' method [4] in modification [3], glutaminase (GA) – [5], alanine aminotransferase (AlAT) – [6]. Content of ammonia in the tissues was determined with 'microdiffusion' method [18], glutamine (Gln) – [8]. Concentration of nickel in the organs was determined with atomic absorption spectroscopy method (AAS-2, Carl Zeiss). All data are represented as mean  $\pm$  standard deviation.

**Results and discussion**

Content of nickel in the organs of control fish in this study decreased in the sequence: kidney>liver>intestine>gill>muscle (see table), which to a certain extent corresponds to the data obtained in other investigations [19]. The highest concentration of nickel in kidneys could testify to suggestion of the leading role of this organ in excretion of this metal from the organism [11]. Nickel ion, having more affinity to oxygen and nitrogen donor electron pairs on the contrary to sulfones [14], is not capable of strong binding to proteins and is excreted more easily in comparison to the other heavy metals.

Table

Content of nickel in carp organs after 14-day exposition to 20 mg/L of  $Ni^{2+}$ , mg/g of wet weight

Experiment conditions	T°C	Organs				
		Muscle	Liver	Gill	Kidney	Intestine
Control	7	0.53±0.15	1.60±0.14	1.03±0.16	3.15±0.12	1.55±0.22
Treatment		3.89±0.11*	3.41±0.16*	2.49±0.08*	5.43±0.12*	4.36±0.20*
Control	20	0.70±0.35	1.53±0.12	0.96±0.19	3.23±0.18	1.45±0.12
Treatment		1.22±0.14	3.24±0.14*	2.33±0.22*	5.77±0.10	2.87±0.16*
Control	25	0.60±0.22	1.49±0.12	1.10±0.15	3.20±0.13	1.62±0.17
Treatment		1.97±0.27*	3.47±0.18*	2.45±0.23*	6.18±0.56	3.81±0.36*

Note. Here and hereinafter: \* – difference with control is statistically significant,  $p < 0.05$

Data on the accumulation of nickel by carp organs after 14 day exposition in nickel ions enriched medium did not demonstrate positive temperature-dependent correlation. It can be suggested that favorable temperature conditions (20°C, and to a lesser extent 25°C) facilitate active functioning of adaptive mechanisms aimed at control of nickel migration in organism and its excretion to environment. Revealed nickel accumulation patterns under different temperature conditions are clearly reflected in the peculiarities of ammonia metabolism. Tendency to decreasing of ammonia concentration has been found almost in the all organs at 20 and 25°C under influence of  $Ni^{2+}$  in our study (fig. 1). It should be pointed out that available literature data on ammonia dynamics in the freshwater fish tissues under impact of different chemical nature substances are controversial if even described by one and the same team of researchers [15, 16, 17].

Direction of ammonia metabolism is obviously dependent on the strength of adverse effect, and mild intoxication leads preferably to reserving of nitrogen-containing substances pool. In contrast, increasing of ammonia concentration at 7°C found in our study is an indication of disorders in adaptive response and is primarily due to the insufficient functioning of ammonia detoxification systems. The low rate of ammonia transformation to non-toxic species is caused probably by the temperature stress and insufficient energy supply resulting from shifting to anaerobic metabolism. In this regard we investigated transamination processes which provide ammonia binding to non-toxic form.

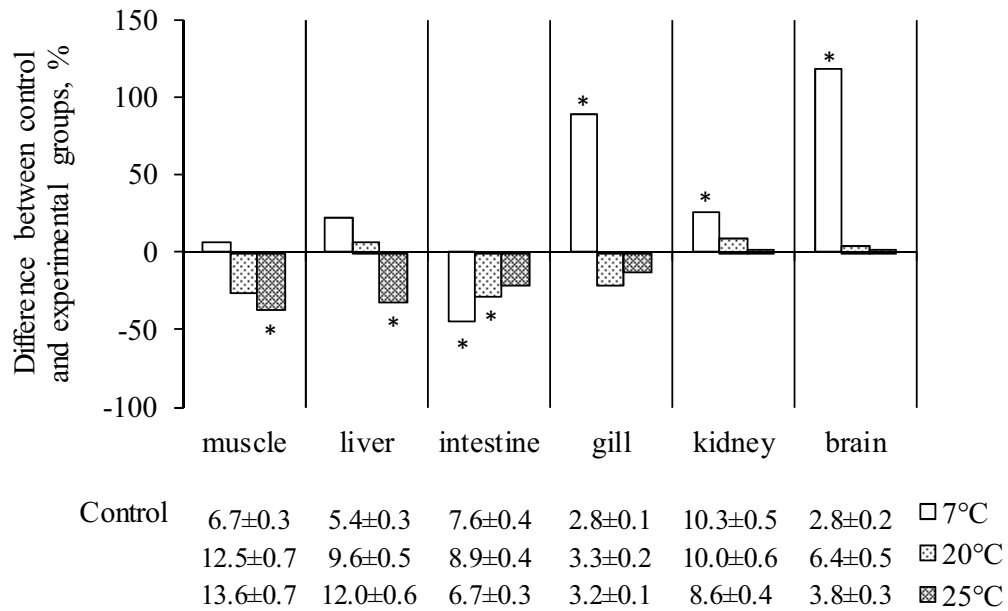
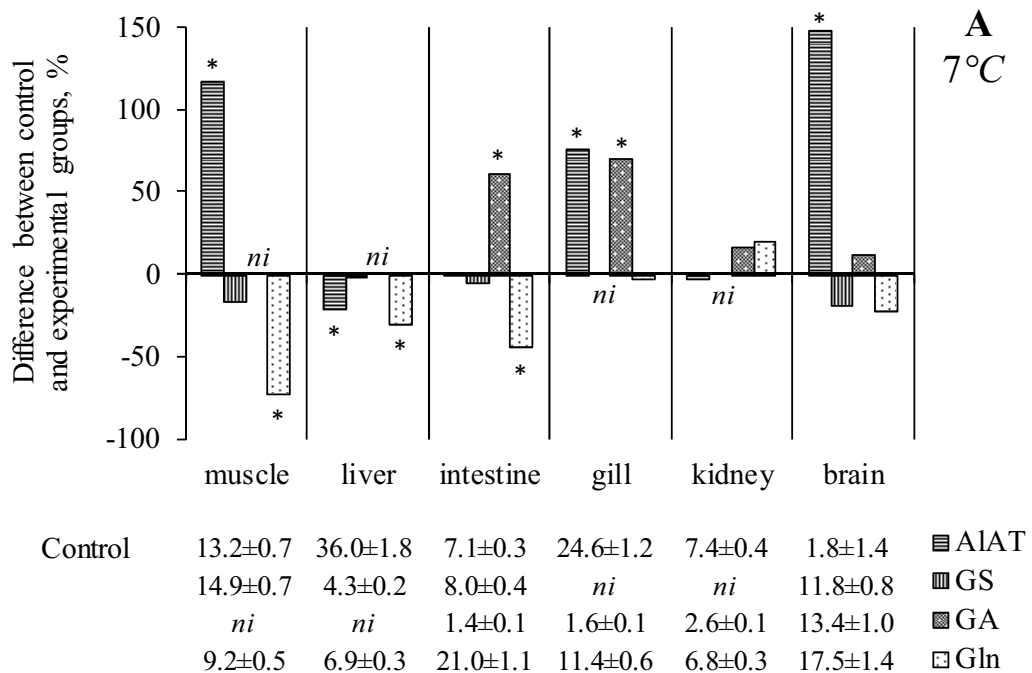


Fig. 1. Changes in ammonia concentration in carp organs under effect of 20 *mkM/L Ni<sup>2+</sup>* at different temperatures, *mkM/g* wet weight

At the temperature 7°C increasing in A1AT activity was found in muscles, gills and brain. In contrast, drop in this index in the liver is indicative of decrease of its role in ammonia utilization in this organ (fig. 2A). The enzyme is likely to play active part in both maintaining of acid-base homeostasis by binding of intensively produced pyruvate and detoxification of ammonia at low temperatures. Increasing of pyruvate and lactate content under effect of nickel was reported in the literature [10].



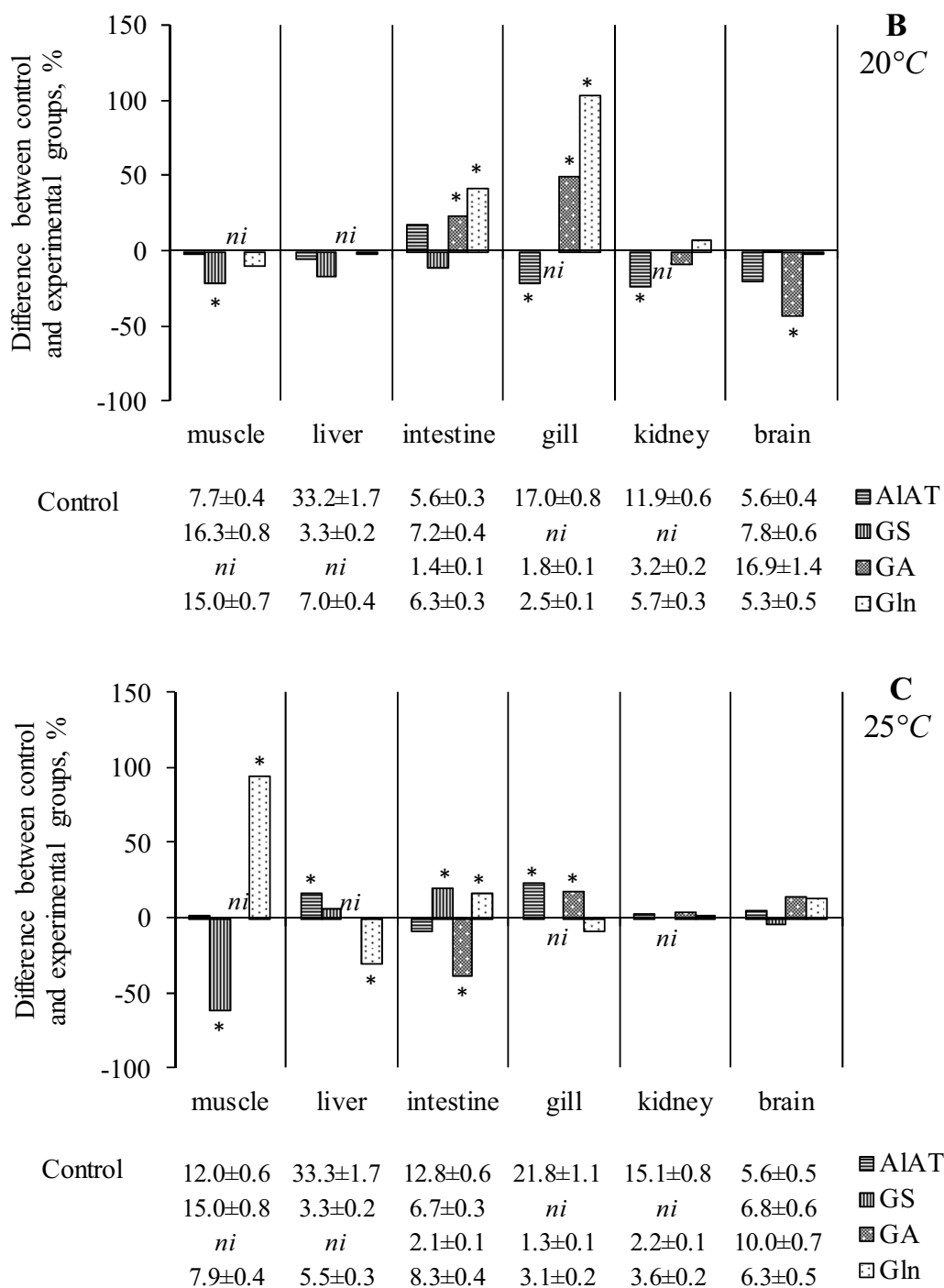


Fig. 2. Changes in activity of alanine aminotransferase (AIAAT, *mkM* pyruvate/*min*/*mg* protein), glutamine synthetase (GS, *mkMP<sub>i</sub>*/*min*/*mg* protein), glutaminase (GA, *mkM* ammonia/*min*/*mg* protein) and concentration of glutamine (Gln, *mkM*/*g* wet weight) in carp organs under effect of 20 *mkg/LNi<sup>2+</sup>* at 7, 20 and 25°C. Note: *ni* – not investigated.

The role of alanine pathway of ammonia detoxification at higher temperatures under effect of nickel is probably not so crucial, as changes in AIAAT activity were not statistically significant in the

most cases (fig. 2 B, C). Obtained patterns of glutamine detoxification system components can support this suggestion.

Concentration of glutamine decreased considerably in muscles, liver and intestine at 7°C, and the tendency to reduction in GS activity was observed in all organs. However a notable activation of GA was not in accordance with these changes (fig. 2 A), that can be caused by providing of increased ALAT activity with glutamate. It is indicative that GS activity decreased in the tissues on 20% against the dropping of glutamine concentration on 40–90%. Predominant role of alanine pathway of ammonia detoxification at low water temperatures can be caused by the deficiency of ATP reserves required for glutamine system functioning.

Obtained data show that glutamine system is active at higher water temperatures (fig. 2 B, C). Multidirectional changes in the glutamine system components dynamics were found at 20°C. Glutamine content increased considerably against the moderate loss or constancy in activity GS and GA that may be attributed to reservation of nitrogen as glutamine for further utilization in biosynthetic processes [15, 16]. Positive correlation between activities of GS and GA and glutamine content was found at 25°C. Taking into account decreasing of ammonia concentration in the liver and muscles at this temperature it may be an indication of high activity of glutamine system and its satisfactory involvement in endogenous ammonia excretion.

### Conclusions

Influence of low and high temperatures on ammonia metabolism in carp results in inactivation of adaptive systems of its detoxification and excretion, which can be affected by impact of toxic substances. Hence intoxication of organism by endogenous ammonia under unfavorable conditions occurs. Effect of nickel ions at concentration 20 mg/L and 7°C leads to accumulation of ammonia in the gill, kidney and brain that may reflect the inadequate functioning of detoxification and excretion processes. It is found increasing of alanine aminotransferase role in regulation of ammonia homeostasis at low temperatures. Active functioning of glutamine system at higher water temperatures (20 and 25°C) provides decreasing or stabilization of endogenous ammonia content under effect of nickel ions. Data on the accumulation of nickel by carp organs after 14 day exposition did not demonstrate temperature-dependent correlation. Favorable temperature conditions (20°C, and to a lesser extent 25°C) facilitate adaptive mechanisms aimed at control of nickel migration in organism and its excretion.

1. Грубинко В.В. Роль глюкозо-аланинового цикла в адаптации рыб к аммиаку / В. В. Грубинко, О. М. Арсан // Доповіді НАН України. — 1995. — № 1. — С. 102—105.
2. Грубинко В. В. Роль глутаміна в забезпеченні азотистого гомеостазу у рыб / В. В. Грубинко // Гидробиол. журн. — 1991. — № 4 (27). — С. 46—56.
3. Грубинко В. В. Субклеточная локализация глутаминсинтетазной активности в мышечной ткани и печени карпа / В. В. Грубинко, Б. В. Яковенко, А. Ф. Явоненко // Укр. биохим. журн. — 1987. — № 3 (59). — С. 73—76.
4. Евстигнеева З. Г. Определение активности глутаминсинтетазы / З. Г. Евстигнеева, Е. Г. Громыко, К. Б. Асеева // Биохимические методы. — М.: Наука, 1980. — С. 84—86.
5. Магарламов А. Г. Прямой фенолгипохлоритный метод определения глутаминазной активности / А. Г. Магарламов, А. А. Заикин, Л. В. Беляева // Укр. биохим. журн. — 1979. — № 5 (51). — С. 549—551.
6. Осадчая Л. М. Определение активности аминотрансфераз в тканях / Л. М. Осадчая // Методы биохимических исследований (липидный обмен) [под ред. М. И. Прохорова]. — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. — С. 246—250.
7. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши [под ред. А. Д. Семенова]. — Л.: Гидрометеиздат, 1977. — 541 с.
8. Силакова А. И. Микрометод определения аммиака и глутаміна в тканевых ТХУ экстрактах / А. И. Силакова, Г. П. Труш, А. Являкова // Вопр. мед. химии. — 1962. — № 5. — С. 538—542.
9. Ambient water quality criteria for nickel (EPA440/5-80-060) / US EPA. Office of Water Regulations and Standards. — Washington DC, 1980.
10. Chaudhry H. S. Effect of nickel on blood pyruvate in a freshwater teleost, *Colisa fasciatus* / H. S. Chaudhry, K. Nath // Ind. Health. — 1984. — № 1 (22). — P. 45—47.

11. *Eichenberger E.* The interrelation between essentiality and toxicity of metals in the aquatic ecosystem / E. Eichenberger // *Metal Ions in Biological Systems* [in ed. H. Sigel]. New York: Marcel Dekker, 1986. — P. 67—100.
12. *Gluth G.* A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentration — II. The dependency on the temperature / G. Gluth, W. Hanke // *Comp. Biochem. Physiol. C.* — 1984. — № 1 (79). — P. 39—45.
13. *Konovets I. N.* Effect of Temperature on the Functioning of Adaptive Systems for the Detoxification of Ammonia in Carp / I. N. Konovets, V. V. Grubinko, O. M. Arsan, V. A. Kulik // *Hydrobiol. J.* — 1994, — № 6 (30).—P. 55—61.
14. *Martin R. B.* Bioinorganic chemistry of metal ion toxicity / R. B. Martin // *Metal Ions in Biological Systems* [in ed. H. Sigel]. — New York: Marcel Dekker, 1986. —P. 21—65.
15. *Rao K. S.* Changes in nitrogen metabolism in tissues of fish (*Sarotherodonmos sambicus*) exposed to benthocarb / K. S. Rao, K. M. Sreenivasa, M. D. Naidu [et al.] // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* — 1983. —№ 30. — P. 473—478.
16. *Sahib I. K. A.* Effect of malathion on some functional aspects of nitrogen utility in the teleost, *T. mossambica* (Peters) / I. K. A. Sahib, K. S. Rao, Ch. Mahdu, K. V. R. Rao // *Nat. Acad. Sci. Letters.* — 1981. —Vol. 4(10).—P. 417—420.
17. *Sahib I. K. A.* Regulation of glutamate dehydrogenase, ammonia and free amino acids in the tissues of the teleost *Tilapia mossambica* (Peters) consequent to sublethal malathion exposure: a time course study / I. K. A. Sahib, K. S. Swami, K. V. R. Rao // *Current Science.* — 1980.— Vol. 20 (49). — P. 779—782.
18. *Seligson D.* A microdiffusion method for the determination of nitrogen liberated as ammonia / D. Seligson, H. Seligson// *J. Lab. Clin. Med.* — 1951. —Vol. 2 (38). — P. 324—330.
19. *Van Hoof F.* Distribution of nickel in the roach (*Rutilus rutilus* L.) after exposure to lethal and sub-lethal concentrations. / F. Van Hoof, J. P. Nauwelaers // *Chemosphere.* —1984. — Vol. 9(13).— P. 1053—1058.

*I. М. Коновець, О. М. Арсан, В. В. Грубінко*

Інститут гідробіології Національної Академії Наук України

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

#### ВПЛИВ ІОНІВ НІКЕЛЮ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ АДАПТИВНИХ СИСТЕМ ЗВ'ЯЗУВАННЯ ТА ВИВЕДЕННЯ ЕНДОГЕННОГО АМОНІЮ У КОРОПА

Досліджено дію іонів нікелю у концентрації 20 мкг/дм<sup>3</sup> на метаболізм амонію у коропа (*Cyprinus carpio*) при експозиції 14 діб за температури 7, 20 та 25°C. Отримані дані не виявили прямого кореляційного зв'язку між накопиченням нікелю органами коропа та температурою середовища. За сприятливих температур (20°C, у меншій мірі 25°C) функціонування адаптивних механізмів забезпечує контроль міграції нікелю в організмі риби. Зростання концентрації амонію у зябрах, нирках та мозку при 7°C свідчить про недостатню активність процесів його детоксикації та виведення. Виявлено зростання ролі аланін-амінотрансферази у регуляції гомеостазу амонію за низьких температур. Активне функціонування глутамінової системи при вищих температурах середовища (20 та 25°C) забезпечує зменшення або стабілізацію концентрації ендogenous амонію за дії іонів нікелю.

*Ключові слова:* *Cyprinus carpio*, іони нікелю, азотистий обмін, амоній, тканинний розподіл, адаптація

*И. Н. Коновец, О. М. Арсан, В. В. Грубинко*

Институт гидробиологии Национальной Академии Наук Украины

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

#### ВИЯНИЕ ИОНОВ НИКЕЛЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ СИСТЕМ СВЯЗЫВАНИЯ И ВЫВЕДЕНИЯ ЭНДОГЕННОГО АММОНИЯ У КАРПА

Исследовано влияние ионов никеля в концентрации 20 мкг/дм<sup>3</sup> на метаболізм аммонія у карпа (*Cyprinus carpio*) при експозиції 14 сут і температурах среды 7, 20 та 25°C. Полученные данные не выявили прямой корреляционной связи между накоплением никеля органами карпа и температурой среды. При благоприятных температурах (20°C, в меньшей степени 25°C) функционирование адаптивных механизмов обеспечивает контроль миграции никеля в организме рыб. Увеличение концентрации аммония в зябрах, почках и мозге при 7°C свидетельствует о недостаточной активности процессов его детоксикации и выведения.

Выявлено увеличение роли аланин-аминотрансферазы в регуляции гомеостаза аммония при низких температурах. Активное функционирование глутаминовой системы при более высоких температурах среды (20 та 25°C) обеспечивает уменьшение или стабилизацию концентрации эндогенного аммония при действии ионов никеля.

*Ключевые слова:* *Syrpinus carpio*, ионы никеля, азотистый обмен, аммоний, тканевое распределение, адаптация

Рекомендує до друку  
В. З. Курант

Надійшла 02.03.2018

УДК 581.1:[661.162.65:582.930.12]

О. О. КРАВЕЦЬ, В. Г. КУР'ЯТА

Вінницький державний педагогічний університет імені Михайла Коцюбинського  
вул. Острозького, 32, Вінниця, 21100

## **ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕРОЗПОДІЛУ ЕЛЕМЕНТІВ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТОМАТІВ ЗА ДІЇ ФОЛІКУРУ ТА ЕСФОНУ**

Вивчено вплив триазолпохідного препарату фолікуру та етиленпродуценту есфону на морфогенез, накопичення та перерозподіл азоту, фосфору і калію рослинами томатів сорту Солеросо. Встановлено, що фолікур сприяв формуванню більшої листової поверхні, потовщенню листків з кращим розвитком хлоренхіми, що сприяло збільшенню показника чистої продуктивності фотосинтезу і створювало передумови для підвищення продуктивності культури. З'ясовано, що в період плодоношення відбувалася реутилізація азоту, фосфору і калію з вегетативних органів на потреби карпогенезу, причому процеси посилювалися під впливом триазолпохідного препарату фолікуру. Оптимізація морфогенезу та транспортних процесів за дії цього препарату призводить до достовірного підвищення врожайності культури. Застосування есфону на культурі томатів виявилася неефективним.

*Ключові слова:* *Lygopersicon esculentum L.*, ретарданти, донорно-акцепторна система, елементи мінерального живлення, продуктивність

**Вступ.** Регуляція донорно-акцепторної системи рослини за допомогою фітогормонів або модифікаторів їх дії відкриває перспективи штучного перерозподілу асимілятів (продуктів фотосинтезу) до господарсько цінних органів, що відіграє важливу роль у підвищенні продуктивності сільськогосподарських культур [7]. Відомо, що у рослин регуляція донорно-акцепторних відносин визначається системою прямих і зворотних зв'язків [13], де процеси фотосинтезу слугують основним донором, а процеси росту (відкладання речовин у запас) – акцептором асимілятів [3, 5, 9].

Застосування синтетичних регуляторів росту дає можливість з'ясувати, через які морфологічні та фізіолого-біохімічні зміни відбувається посилення або послаблення транспорту потоків асимілятів та елементів мінерального живлення на потреби карпогенезу (формування і росту плодів) [2, 4, 8]. Разом з тим, у літературі практично відсутні дані про перерозподіл елементів мінерального живлення при штучній зміні потужності донора й акцептора за дії ретардантів.

Однією з найбільш поширених груп ретардантів є триазолпохідні препарати, які пригнічують перетворення ент-каурену в кауренову кислоту, що забезпечує надзвичайно високу і стабільну ретардантну активність [1]. Інші ретарданти – етиленпродуценти не переривають синтез гібереліну. Антигібереліновий ефект їх здійснюється на стадіях