

УДК 574:577.325.4:632.954

## ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ РЫБ К ДЕЙСТВИЮ ГЕРБИЦИДА РАУНДАП *IN VITRO*

И. Л. Голованова, А. И. Аминов

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН

Исследовано влияние некоторых экологических факторов (температура среды, магнитное поле, гербициды) на чувствительность гликозидаз молоди рыб к действию Раундапа *in vitro*. Повышение температуры воды может менять чувствительность гликозидаз в организме ротана *Percottus glenii* (Dyb) к действию Раундапа *in vitro*, при этом сила и направленность эффекта зависят не только от скорости нагрева воды, но и от типа фермента и субстрата. Действие магнитной бури (в диапазоне частот 0–5 Гц) в период раннего эмбриогенеза усиливает чувствительность гликозидаз кишечника плотвы *Rutilus rutilus* (L.) к действию Раундапа. Хроническое действие гербицида снижает чувствительность гликозидаз кишечника ротана к действию Раундапа *in vitro*.

Ключевые слова: рыбы; экологические факторы; температура; магнитное поле; гербицид Раундап; гликозидазы.

### I. L. Golovanova, A. I. Aminov. INFLUENCE OF SOME ECOLOGICAL FACTORS ON THE SENSITIVITY OF FISH GLYCOSIDASE TO HERBICIDE ROUNDUP *IN VITRO*

The influences of some ecological factors (ambient temperature, magnetic field, herbicides) on the sensitivity of glycosidase to *in vitro* action of Roundup in juvenile fish were studied. Higher water temperatures can modify glycosidase sensitivity in the Amur sleeper, *Percottus glenii* (Dyb), to Roundup *in vitro*. The force and direction of the effect depend not only on the rate of water heating, but also on the type of enzyme and substrate. The action of magnetic storms (in the frequency range 0–5 Hz) during early embryogenesis results in enhanced sensitivity of glycosidase in the intestine of roach, *Rutilus rutilus* (L.), fingerlings to Roundup. Chronic exposure to the herbicide reduces intestinal glycosidase sensitivity to Roundup in the Chinese sleeper *in vitro*.

Key words: fish; ecological factors; temperature; magnetic field; herbicide Roundup; glycosidase.

#### Введение

Нарушение температурного режима водоемов, появление искусственных магнитных полей, выпадение кислотных осадков,

избыточное поступление металлов и вновь синтезированных органических химикатов изменили привычную среду обитания рыб и создали ряд серьезных экологических проблем. Глобальное потепление климата, рост количества

атомных и тепловых электростанций повышают тепловую нагрузку на водоемы. В последнее столетие постоянно растет воздействие искусственных магнитных полей. Поэтому температура и магнитное поле в настоящее время становятся важными антропогенными факторами, которые могут изменять не только физиолого-биохимический статус гидробионтов, но и их реакцию на действие других химических и физических агентов.

Загрязнение водной среды пестицидами, возросшие масштабы их использования приводят к трансформации водных экосистем, негативно влияют на состояние водных животных [Vera et al., 2012] и могут представлять угрозу здоровью человека [Gasiner et al., 2009]. Раундап, созданный на основе изопропиламиновой соли глифосата (N-(phosphonomethyl) glycine), – один из самых известных неспецифических гербицидов широкого спектра действия. Его используют для уничтожения сорной растительности на сельскохозяйственных полях и приусадебных участках, а также в коллекторно-дренажных каналах, оросительных системах и прудах. В поверхностных водах концентрация глифосата обычно не превышает 10–15 мкг/л, однако в районах непосредственного применения она варьирует от 10 до 700 мкг/л в воде и от 0,35 до 5,0 мг/кг в осадках и почве [Struger et al., 2008; Peruzzo et al., 2008; Aparicio et al., 2013]. Широкое применение Раундапа обусловлено высокой эффективностью действия, биоразлагаемостью в окружающей среде (период полураспада глифосата в почве составляет от 6 до 835 дней, в воде – 7–14 дней, в донных отложениях водоемов – до 120 дней), а также появлением культур, генетически устойчивых к этому гербициду [Giesy et al., 2000]. Разложение глифосата происходит при действии микроорганизмов [Karpouzias, Singh, 2006], но связывание с хелатирующими металлами в донных отложениях значительно замедляет этот процесс [Tsui, Chu, 2008].

В ряде работ отмечена низкая токсичность Раундапа и глифосата для водных животных [Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2008]. В то же время установлено, что у рыб, являющихся хорошим биоиндикатором загрязнения водной среды, Раундап вызывает целый спектр морфологических и физиолого-биохимических изменений [Жиденко, Бибчук, 2009; Nwani et al., 2010; Cattaneo et al., 2011; Аминов и др., 2013; Sandrini et al., 2013]. Поступая в организм с водой и пищей, Раундап может оказывать прямое и опосредованное влияние на активность пищеварительных ферментов и многочисленных

лизосомальных гидролаз гидробионтов [Аминов и др., 2013; Тарлева и др., 2014]. Поскольку ферменты кормовых объектов могут принимать участие в процессах пищеварения у рыб [Кузьмина, 2000], целесообразно исследовать действие различных факторов не только на гидролазы пищеварительного тракта консумента, но и на ферменты в организме их жертвы. При этом действие Раундапа на гликозидазы рыб в зависимости от экологических факторов среды ранее практически не исследовалось [Филлипов и др., 2015].

Цель работы – изучить влияние некоторых экологических факторов на чувствительность гликозидаз рыб к *in vitro* действию гербицида Раундапа.

## Материалы и методы

Эксперименты по влиянию повышения температуры воды на чувствительность гликозидаз к *in vitro* действию Раундапа проводили на молоди ротана *Perccottus glenii* (Dyb) (масса  $4,23 \pm 0,41$  г), отловленной в одном из прудов Ярославской области в осенний период. В течение 10 дней рыб акклиматизировали к температуре  $13\text{ }^{\circ}\text{C}$  в лабораторных условиях. В период акклиматизации рыб кормили один раз в сутки личинками хирономид *Chironomus sp.* из расчета 4 % от общей массы тела. Затем группы рыб (по 6 экз. в каждой, две повторности) помещали в экспериментальные аквариумы объемом 60 л, оборудованные системой нагрева и аэрации. Температуру воды в опытных аквариумах повышали со скоростью 0,02; 4; 8,5; 27 и  $42\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{ч}$  до нарушения локомоторной функции рыб – переворота на бок или кверху брюшком, сублетальное значение температуры фиксировали как критический термический максимум (КТМ) [Becker, Genoway, 1979]. Значения КТМ при всех скоростях нагрева не превышали  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . При прекращении нагрева и переносе рыб в воду с температурой на  $3\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$  ниже рыбы сохраняли жизнеспособность. Скорость повышения температуры воды  $0,02\text{ }^{\circ}\text{C}$  (примерно  $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{сут}$ ) может наблюдаться при естественных климатических изменениях, скорости 4 и  $8,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  – при сбросах подогретых вод промышленных предприятий, скорости 27 и  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  часто используются как модельные при определении термоустойчивости рыб [Голованов, 2013]. Продолжительность эксперимента составляла от 12,5 сут до 0,5 часа в зависимости от скорости нагрева. Рыб контрольной группы содержали при температуре  $13\text{ }^{\circ}\text{C}$  без нагрева. Все опыты проводили в условиях 12-часового периода освещения.

Затем рыб извлекали из аквариума, обездвигивали и использовали для биохимического анализа.

Действие магнитной бури (МБ) на чувствительность кишечных гликозидаз к действию Раундапа *in vitro* изучали на 4-месячных сеголетках плотвы *Rutilus rutilus* (L.) (масса  $0,25 \pm 0,01$  г), подвергнутых действию имитации магнитной бури в период раннего эмбриогенеза. Объектом экспозиции в условиях МБ была оплодотворенная икра плотвы. Половые продукты получены от 8 самок и 6 самцов, пойманных неводом на нерестилище Рыбинского водохранилища в мае 2012 г. Осеменение икры проводили сухим способом, после чего примерно по 3 тыс. икринок поместили в два кристаллизатора с речной водой (температура 16–18 °С), которую меняли дважды в сутки. Один кристаллизатор с развивающимися эмбрионами плотвы на протяжении всего эксперимента находился в условиях естественного геомагнитного поля (контрольная группа). Другой кристаллизатор через 48 ч после оплодотворения икры помещали в экспериментальную установку [Крылов и др., 2011], где в течение 24 ч воспроизводили МБ в диапазоне частот 0–5 Гц. Для опытов использовали широкополосный сигнал реальной магнитной бури, записанный 30–31 октября 2003 г. на широте проведения экспериментов. Опыты проводили во время спокойной геомагнитной обстановки. Выбранный отрезок эмбриогенеза (48–72 ч после оплодотворения) плотвы охватывает разные стадии органогенеза. После рассасывания желточного мешка по 500 личинок из опытного и контрольного вариантов помещали в пруды с естественной кормовой базой. Спустя 4 месяца из каждого пруда вылавливали по 20 экз. сеголеток, измеряли их и использовали для биохимического анализа.

Оценку хронического действия Раундапа проводили на молоди ротана (масса  $3,12 \pm 0,17$  г), отловленной в одном из прудов Ярославской области в осенний период. Рыб в течение 1 месяца перед экспериментом содержали в аквариумах вместимостью 200 л с постоянной аэрацией, 12-часовым периодом освещения, при температуре воды  $15 \pm 1$  °С. Затем рыб разделяли на две группы: по 25 экз. помещали в два аквариума с чистой водой, по 25 экз. – в два аквариума с водой, содержащей Раундап в концентрации 2 мкг/л (2 ПДК). Для поддержания исходной концентрации гербицида смену воды в аквариумах проводили 1 раз в 3 дня без отсадки рыб, основываясь на данных литературы о периоде распада глифосата [Giesy et al., 2000]. В период

акклимации и во время эксперимента рыб кормили один раз в сутки личинками хирономид из расчета 4 % от общей массы тела. По истечении 30 дней 12 особей из контрольной группы и 12 особей из опытной были взяты для определения активности гликозидаз в кишечнике.

Для получения ферментативно-активных препаратов рыб обездвигивали, вскрывали брюшную полость, извлекали кишечника и помещали их на ледяную баню (при изучении влияния температуры среды на активность гликозидаз использовали всю тушку). Затем кишечник очищали от жира, освобождали от химуса и промывали охлажденным до 2–4 °С раствором Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl, 1,9 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,4). Специальным скребком снимали слизистую оболочку с медиальной части кишечника. Для устранения индивидуальной вариабельности использовали суммарные гомогенаты от 6–20 экз. рыб из каждой группы. Гомогенаты готовили из измельченного организма рыб или слизистой оболочки кишечника при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный раствор Рингера в соотношении 1 : 9. Растворы субстратов – растворимый крахмал (18 г/л) и мальтозу (50 ммоль/л) – готовили на таком же растворе Рингера. Гомогенаты и растворы субстратов инкубировали при температуре 20 °С, pH 7,4, при непрерывном перемешивании в течение 20–60 мин.

При оценке влияния Раундапа *in vitro* гомогенаты предварительно выдерживали в присутствии гербицида в течение 1 ч при стандартных значениях температуры и pH. Ферментативную активность в каждой точке определяли в пяти повторностях с учетом фона (содержания глюкозы в исходном гомогенате) и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации ферментативно-активного препарата и субстрата в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/г × мин).

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20), оценивали по приросту гексоз методом Нельсона [Nelson, 1944] в модификации Уголева и Иезуитовой [1969]. Активность мальтазы определяли глюкозо-оксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия).

Для приготовления растворов токсиканта использовали коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название «Раундап» (произведен и расфасован ЗАО фирма «Август» (Россия) по лицензии фирмы «Монсанто

Таблица 1. Влияние скорости нагрева воды на активность гликозидаз в организме ротана в присутствии Раундапа *in vitro*

Скорость нагрева, °С/ч	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0,1	1	10	25	50
Амилолитическая активность, мкмоль/г × мин						
0	8,12±0,12	7,24±0,12**	7,52±0,31	7,96±0,16	8,58±0,15	8,04±0,16
0,02	7,04±0,16	6,24±0,28*	6,48±0,20	6,80±0,36	5,68±0,24**	6,16±0,20*
4,2	6,44±0,12	7,00±0,19*	7,12±0,19*	7,28±0,14**	6,68±0,05	6,92±0,16*
8,5	4,76±0,17	5,12±0,23	5,12±0,16	5,08±0,14	4,88±0,14	5,32±0,08*
27	7,56±0,17	7,80±0,09	7,72±0,05	7,60±0,09	7,36±0,18	8,24±0,16*
42	6,40±0,06	6,36±0,13	6,32±0,15	6,48±0,10	6,52±0,10	7,56±0,20**
Активность мальтазы, мкмоль/г × мин						
0	8,02±0,16	7,60±0,09	7,03±0,07**	7,53±0,10*	6,69±0,10***	8,25±0,31
0,02	11,50±0,34	9,46±0,44*	18,90±0,31***	19,50±1,17**	21,40±0,96***	20,90±0,60***
4,2	21,20±0,33	20,40±0,62	22,60±0,20*	22,10±0,77	18,60±0,87*	17,30±1,04*
8,5	27,30±0,63	26,80±1,48	26,90±0,83	27,40±0,76	22,30±1,04**	23,20±0,82**
27	20,50±0,53	22,70±0,63*	11,70±0,61***	9,64±0,56***	15,60±0,72**	11,60±0,04***
42	11,40±0,13	11,00±0,30	11,80±0,19	9,25±0,76*	12,00±0,05*	11,10±0,50

Примечание. Здесь и в табл. 2:  $M \pm m$  – среднее значение показателя и его ошибка; статистически достоверные различия показателей в строке по сравнению с активностью ферментов при отсутствии Раундапа (ANOVA, Dunnett-тест) \*  $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,005$ , \*\*\* $p \leq 0,0005$ .

Таблица 2. Влияние магнитной бури в период эмбриогенеза на активность гликозидаз в кишечнике сеголеток плотвы в присутствии *in vitro* Раундапа

Фактор	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0,1	1	10	25	50
Амилолитическая активность, мкмоль/г × мин						
Контроль	29,3±0,94	26,1±0,65*	25,7±0,72*	26,4±0,17*	-	25,9±0,74*
Магнитная буря	34,7±0,89	22,1±0,80***	22,9±1,25***	25,5±0,98***	-	25,3±1,09***
Активность мальтазы, мкмоль/г × мин						
Контроль	13,4±0,43	18,3±0,56***	17,9±0,43*	19,9±0,44***	20,1±0,2***	22,6±0,43***
Магнитная буря	13,0±0,19	20,9±0,52***	21,0±0,79**	21,5±0,33***	21,3±0,1***	22,0±0,57**

Примечание. Прочерк – данные отсутствуют.

Европа С. А.» (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-й водный раствор глифосата, возможные инертные ингредиенты в аннотации не указаны. Выбор концентраций Раундапа был обусловлен установленными значениями ПДК для воды (1 мкг/л) [Перечень..., 1999], а также значениями средних полумлетальных концентраций ( $LC_{50}$ ) Раундапа для рыб и беспозвоночных [Tsui, Chu, 2003; Папченкова и др., 2009]. Концентрации 0,1; 1 и 10 мкг/л соответствуют содержанию глифосата в природных водах; концентрации 25 и 50 мкг/л обнаружены в почве, воде и донных отложениях в районах непосредственного применения гербицида [Struger et al., 2008; Aparicio et al., 2013].

Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами [Коровов, Горбач, 2010]. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ( $M \pm m$ ). Все исследуемые показатели протестированы на нормальность распределения (критерий

Шапиро-Уилка) и гомогенность (критерий Левена). Достоверность различий показателей у рыб контрольной и экспериментальных групп оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, Dunnett-тест,  $p \leq 0,05$ ).

## Результаты

Данные о чувствительности гликозидаз, гидролизующих крахмал и мальтозу в организме молоди ротана к *in vitro* действию Раундапа при разных скоростях нагрева воды, представлены в таблице 1. При отсутствии нагрева амилолитическая активность снижается на 11 % лишь при минимальной концентрации Раундапа. Медленная скорость нагрева воды 0,02 °С/ч вызывает снижение амилолитической активности на 11–19 % при концентрации Раундапа 0,1; 25 и 50 мкг/л. При более высоких скоростях нагрева в ряде случаев выявлен

стимулирующий эффект Раундапа: амилолитическая активность повышалась на 11–13 % при скорости нагрева 4,2 °С/ч, а при концентрации Раундапа 50 мкг/л – на 9 и 18 % при скоростях нагрева 27 и 42 °С/ч соответственно.

Активность мальтазы при отсутствии нагрева снижается на 12–16 % при концентрации Раундапа 1 и 25 мкг/л, при скоростях нагрева 4,2; 8,5; 42 °С/ч – на 12–19 % при более высоких концентрациях гербицида. Наибольший тормозящий эффект Раундапа на 24–53 % от контроля выявлен при скорости нагрева 27 °С/ч. Медленная скорость нагрева 0,02 °С/ч, как правило, приводит к повышению активности мальтазы в присутствии Раундапа на 64–86 %.

Действие МБ в период эмбриогенеза приводит к усилению чувствительности гликозидаз в кишечнике сеголеток плотвы к действию Раундапа *in vitro* (табл. 2).

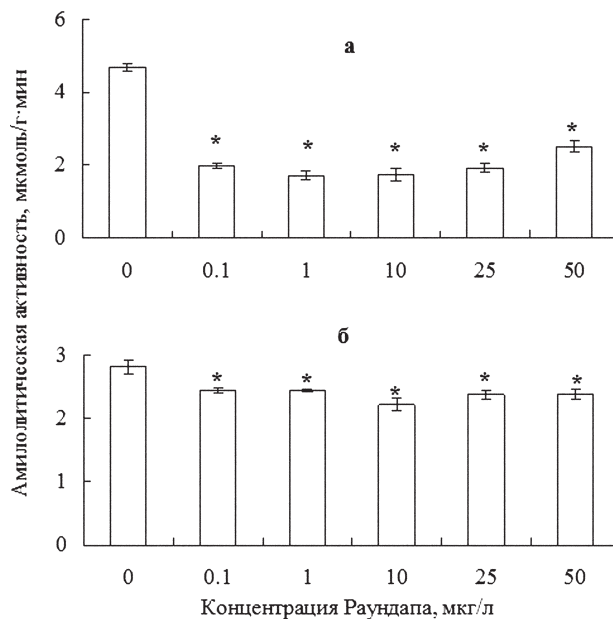
Амилолитическая активность у рыб контрольной группы снижается на 10–12 %, у рыб опытной группы – на 27–36 % во всем диапазоне концентраций. Активность мальтазы, напротив, повышается на 34–69 % у рыб контрольной группы и на 61–69 % у рыб опытной группы. При этом зависимость эффекта от концентрации гербицида отсутствует.

При хроническом 30-суточном действии Раундапа в концентрации 2 мкг/л установлено снижение чувствительности гликозидаз, гидролизующих крахмал, к действию Раундапа *in vitro* (рис.).

Так, торможение амилолитической активности в кишечнике у рыб контрольной группы в присутствии Раундапа *in vitro* в концентрации 0,1–50 мкг/л составило 47–64 %, а у рыб опытной группы лишь 13–21 % от таковой при концентрации Раундапа 0 мкг/л. Зависимость величины эффекта от концентрации гербицида не выявлена.

## Обсуждение

Известно, что температура является одним из основных абиотических факторов среды, определяющих основные параметры жизнедеятельности эктотермных животных. Повышение температуры в результате глобальных климатических изменений, а также природных и антропогенных феноменов может изменять не только физиолого-биохимические показатели рыб, но и реакцию организма на химические агенты [Sappal et al., 2014; Fernandes et al., 2015]. Медленное повышение температуры окружающей среды увеличивает активность пищеварительных гликозидаз рыб во все сезоны, в то время как резкие изменения температуры,



Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике ротана у рыб контрольной (а) и опытной (б) (хроническая 30-суточная экспозиция в растворе Раундапа в концентрации 2 мкг/л) групп в присутствии Раундапа *in vitro*; \* – статистически достоверные различия показателей по сравнению с активностью ферментов при концентрации Раундапа 0 мкг/л

не позволяющие организму адаптироваться, снижают активность ферментов и термоустойчивость рыб [Golovanova et al., 2013].

Повышение температуры воды с медленной скоростью 0,02 °С/ч (как и у рыб контрольной группы, содержащихся без нагрева воды) вызывает снижение амилолитической активности в организме ротана в присутствии Раундапа, тогда как при более высоких скоростях нагрева (особенно при 4,2 °С/ч) Раундап оказывает стимулирующий эффект. Активность мальтазы, напротив, в присутствии Раундапа снижается при всех скоростях нагрева, исключая скорость 0,02 °С/ч, при которой выявлен стимулирующий эффект. Интересно отметить, что наибольшие изменения чувствительности гликозидаз к Раундапу выявлены при скорости нагрева воды 4,2 °С/ч (амилолитическая активность) и 27 °С/ч (мальтаза). Эти различия могут быть связаны с разной термостабильностью α-амилазы, входящей в состав ферментов, гидролизующих крахмал, и мальтазы, а также разным влиянием скорости нагрева воды на свойства существующих изоформ указанных ферментов.

Магнитная буря – это изменения геомагнитного поля, связанные с воздействием возмущенных потоков солнечного ветра на магнитосферу Земли. Амплитуда флуктуаций геомагнитного поля во время магнитной бури редко превышает 1 % от напряженности магнитного

поля Земли, но даже такие слабые воздействия могут вызывать значительные биологические эффекты [Голованова и др., 2013; Krylov et al., 2014; Филиппов и др., 2015]. У сеголеток плотвы, подвергнутых спустя 72 часа после оплодотворения действию МБ (продолжительностью 24 ч, в диапазоне частот 0–5 Гц), выявлен более низкий уровень амилолитической активности и активности мальтазы в кишечнике, однако температурные характеристики гликозидаз (температурный оптимум и энергия активации) не отличались от контроля [Filipov et al., 2014]. В нашей работе установлено, что действие МБ в период 48–72 ч после оплодотворения усиливает тормозящий эффект Раундапа на амилолитическую активность в кишечнике сеголетков плотвы и стимулирующий эффект на активность мальтазы. Такой разнонаправленный эффект связан главным образом с типом фермента, на который оказывал влияние Раундап. Усиление чувствительности гликозидаз к действию Раундапа *in vitro* после действия МБ может быть связано с влиянием МБ в период раннего эмбриогенеза на процессы синтеза панкреатических и мембранных ферментов. Поскольку существует несколько изоформ  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы, нельзя исключить и молекулярную разнокачественность гликозидаз, функционирующих в кишечнике сеголетков плотвы контрольной и опытных групп.

Хроническое 15-суточное действие Раундапа в сублетальных концентрациях 25,0 и 50,0 мг/л (в пересчете на глифосат) приводит к снижению активности гликозидаз и повышению активности протеиназ в I поколении рачков *Daphnia magna* Straus [Папченкова и др., 2009]. Выявленные изменения, наряду со снижением отношения активности гликозидазы/протеиназы, могут отражать увеличение роли белков в метаболизме у дафний при действии сублетальных концентраций гербицида. Во II и III поколениях происходит двукратное снижение величины наблюдаемых эффектов, свидетельствующее о снижении адаптационного потенциала в последующих поколениях. Ранее было установлено, что пребывание рыб в условиях хронического загрязнения медью повышает устойчивость популяций к действию этого металла [Gale et al., 2003]. В нашей работе впервые показано, что хроническое 30-суточное действие гербицида вызывает снижение чувствительности гликозидаз в кишечнике ротана к *in vitro* действию Раундапа. Вероятно, во время хронической экспозиции у рыб активируются механизмы резистентности к действию гербицида, вследствие чего торможение амилолитической активности в присутствии Раундапа *in vitro* снижается.

## Заключение

Чувствительность гликозидаз молоди рыб к *in vitro* действию гербицида Раундап может меняться при влиянии изученных экологических факторов. Изменение температуры окружающей среды меняет чувствительность гликозидаз к действию гербицида, при этом сила и направленность эффектов зависят как от скорости нагрева воды, так и от структуры фермента и субстрата (типа гидролизуемых связей). Действие МБ (в диапазоне частот 0–5 Гц) в период раннего эмбриогенеза приводит к усилению чувствительности гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы к действию Раундапа *in vitro*. Однако хроническое 30-суточное действие Раундапа в концентрации 2 мкг/л (2 ПДК) снижает чувствительность гликозидаз, гидролизующих крахмал в кишечнике ротана, к *in vitro* действию Раундапа в широком диапазоне концентраций. Таким образом, различные факторы химической и физической природы могут изменять не только активность пищеварительных гликозидаз рыб, но и их чувствительность к действию гербицида Раундап.

Авторы искренне признательны сотрудникам ИБВВ РАН д. б. н. В. К. Голованову и к. б. н. В. В. Крылову за помощь в постановке экспериментов *in vivo*.

## Литература

- Аминов А. И., Голованова И. Л., Филиппов А. А. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз в организме беспозвоночных животных и молоди рыб // Биология внутр. вод. 2013. № 4. С. 82–88. doi: 10.1134/S1995082913040032
- Голованов В. К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб. М.: Полиграф-Плюс, 2013. 300 с.
- Голованова И. Л., Филиппов А. А., Крылов В. В. и др. Действие магнитного поля и меди на активность гидролитических ферментов у сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 2013. Т. 53, № 2. С. 227–232. doi: 10.1134/S0032945213020045
- Жиденко А. А., Бибчук Е. В. Изменения биохимических показателей в печени карпа в условиях действия Раундапа // Совр. проблемы теорет. и практ. ихтиологии: тез. II Межд. науч.-практ. конф. 16–19 сент. 2009. Севастополь, 2009. С. 50–52.
- Коросов А. В., Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных: метод. пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2010. 84 с.
- Крылов В. В., Зотов О. Д., Клайн Б. И. Устройство для генерации магнитных полей и компенсации локального низкочастотного магнитного поля: Патент на полезную модель. RUS 108 640 от 13.05.2011.

Кузьмина В. В. Вклад индуцированного аутолиза в процессы пищеварения вторичных консументов на примере гидробионтов // Докл. РАН. 2000. Т. 339, № 1. С. 172–174.

Палченкова Г. А., Голованова И. Л., Ушакова Н. В. Репродуктивные показатели, размеры и активность гидролаз у *Daphnia magna* в ряду поколений при действии гербицида Раундап // Биология внутр. вод. 2009. № 3. С. 105–110. doi: 10.1134/S1995082909030158

Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. Приказ от 28 апреля 1999 года № 96.

Тарлева А. Ф., Шептицкий В. А., Кузьмина В. В. Влияние гербицида Раундап на активность пептидаз химуса и слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов // Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного Причерноморья: материалы V Межд. науч.-практ. конф. 14 ноября 2014 года. Тирасполь, 2014. С. 254–255.

Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.

Филиппов А. А., Крылов В. В., Голованова И. Л. Влияние флуктуаций локального магнитного поля во время эмбриогенеза на чувствительность пищеварительных гликозидаз сеголеток плотвы к *in vitro* действию меди, цинка и гербицида Раундап // Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство. 2015. № 3. С. 119–125.

Aparicio V. C., De Geronimo E., Marino D. et al. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins // Chemosphere. 2013. Vol. 93. P. 1866–1873. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.041

Becker C. D., Genoway R. G. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish // Env. Biol. Fish. 1979. Vol. 4, no. 3. P. 245–256.

Cattaneo R., Clasen B., Loro V. L. et al. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2011. Vol. 87, no. 6. P. 597–602. doi: 10.1007/s00128-011-0396-7

Fernandes J., Pal A. K., Kumar P., Chandrachoodan P. P., Akhtar M. S. Combined Effect of Heat Shock and Chlorine Fails to Elicit Acquired Thermal Tolerance in *Labeo rohita* Spawns // Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci. 2015. doi: 10.1007/s40011-014-0478-5

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Effect of magnetic storms on the temperature characteristics of digestive glycosidase in roach fingerlings // Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство. 2014. № 2. С. 101–105.

Gale S. A., Smith S. V., Lim R. P. et al. Insights into the mechanisms of copper tolerance of a population of black-banded rainbowfish (*Melanotaenia nigra*) (Richardson) exposed to mine leachate, using <sup>64/67</sup>Cu

// Aquat. Toxicol. 2003. Vol. 62, no. 2. P. 135–153. doi: 10.1016/S0166-445X(02) 00081-4

Gasiner C., Dumont C., Benachour N. et al. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines // Toxicology. 2009. Vol. 262. P. 184–191. doi: 10.1016/j.tox.2009.06.006

Giesy J. P., Dobson S., Solomon K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2000. Vol. 167. P. 35–120.

Gluszczak L., Miron D. S., Moraes B. S. et al. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) // Comp. Biochem. Physiol. 2007. Part. C, vol. 146. P. 519–524. doi: 10.1016/j.cbpc.2007.06.004

Golovanova I. L., Golovanov V. K., Smirnov A. K., Pavlov D. D. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish // Fish Physiol. Biochem. 2013. Vol. 39, no. 6. P. 1497–1504. doi: 10.1007/s10695-013-9803-9

Karpouzias D. G., Singh B. K. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis // Advances in microbial physiology. Elsevier Ltd. 2006. Vol. 51. P. 119–185. doi: 10.1016/S0065-2911(06) 51003-3

Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. et al. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plants and animals // J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics. 2014. Vol. 110–111. P. 28–36. doi: 10.1016/j.jastp.2014.01.020

Nelson N. J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153. P. 375–381.

Nwani C. D., Nagpure N. S., Kumar R. et al. Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch) // Int Aquat Res. 2010. Vol. 2. P. 105–111.

Peruzzo P. J., Porta A. A., Ronco A. E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soil associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina // Environmental Pollution. 2008. Vol. 156, no. 1. P. 61–66. doi: 10.1016/j.envpol.2008.01.015

Rossi C. R., da Silva M. D., Piancini L. D. S. et al. Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2011. Vol. 87. P. 603–607. doi: 10.1007/s00128-011-0397-6

Sandrini J. Z., Rola R. C., Lopes F. M. et al. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies // Aquatic Toxicology. 2013. Vol. 130–131. P. 171–173. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.01.006

Sappal R., Mac Donald N., Fast M. et al. Interactions of copper and thermal stress on mitochondrial bioenergetics in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Aquatic Toxicology. 2014. Vol. 157. P. 10–20. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.09.007

Struger J., Thompson D., Staznik B. et al. Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario // Bull Environ Contam Toxicol. 2008. Vol. 80. P. 378–384. doi: 10.1007/s00128-008-9373-1

Tsui M. T. K., Chu L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors // *Chemosphere*. 2003. Vol. 52, no. 7. P. 1189–1197. doi: 10.1016/S0045-6535(03)00306-0

Tsui M. T. K., Chu L. M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland // *Chemosphere*. 2008. Vol. 71. P. 439–446. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.10.059

Vera M. S., Fiori E. D., Lagomarsino L. et al. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities // *Ecotoxicology*. 2012. Vol. 21, no. 7. P. 1805–1816. doi: 10.1007/s10646-012-0915-2

Поступила в редакцию 30.09.2016

## References

Aminov A. I., Golovanova I. L., Filippov A. A. Vliyanie gerbicide Raundap na aktivnost' glikozidaz v organizme bespozvonochnykh zhivotnykh i molodi ryb [Impact of Roundup herbicide on glycosidase activity in the invertebrates and young fishes]. *Biologiya vnutr. vod [Inland Water Biology]*. 2013. No. 4. P. 82–88. doi: 10.1134/S1995082913040032

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Vliyaniye fluktuatsii lokal'nogo magnitnogo polya vo vremya embriogeneza na chuvstvitel'nost' pishchevaritel'nykh glikozidaz segoletok plotvy k *in vitro* deistviyu medi, tsinka i gerbitsida Raundap [Impact of the fluctuations of local magnetic field during embryogenesis on digestive glycosidase sensitivity of underyearling roach to *in vitro* activity of copper, zinc and Roundup herbicide]. *Vestnik AGTU. Seriya Rybnoe khozyaistvo [Vestnik of Astrakhan St. Technical Un. Series Fishing Industry]*. 2015. No. 3. P. 119–125.

Golovanov V. K. Temperaturnye kriterii zhiznedeyatel'nosti presnovodnykh ryb [Temperature criteria of the life activity of freshwater fish]. Moscow: Poligraf-Plyus, 2013. 300 p.

Golovanova I. L., Filippov A. A., Krylov V. V. i dr. Deistvie magnitnogo polya i medi na aktivnost' gidroliticheskikh fermentov u segoletok plotvy *Rutilus rutilus* [Magnetic field and copper activity on hydrolytic enzymes of *Rutilus rutilus* underyearling roach]. *Vopr. ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 2013. Vol. 53, no. 2. P. 227–232. doi: 10.1134/S0032945213020045

Geoekologicheskie i bioekologicheskie problemy severnogo Prichernomor'ya. Materialy V Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii 14 noyabrya 2014 goda [Geological and bioecological problems of the northern part of the Black Sea Region. Proceed. of the V Int. Res. and Practical Conf., November 14, 2014]. Tiraspol', 2014. P. 254–255.

Korosov A. V., Gorbach V. V. Komp'yuternaya obrabotka biologicheskikh dannykh: metod. posobie [Computer processing of biological data: handbook]. Petrozavodsk: PetrGU, 2010. 84 p.

Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. Ustroystvo dlya generatsii magnitnykh polei i kompensatsii lokal'nogo nizkochastotnogo magnitnogo polya [Device for magnetic fields generation and local low-frequency magnetic field compensation]: Patent na poleznuyu model' [Utility patent]. RUS 108640 ot 13.05.2011.

Kuz'mina V. V. Vklad indutsirovannogo autoliza v protsessy pishchevareniya vtorichnykh konsumentov na primere gidrobiontov [Contribution of induced autolysis to digestive processes of secondary consumers

(hydrobionts as example)]. *Dokl. RAN [Dokl. RAS]*. 2000. Vol. 339, no. 1. P. 172–174.

Papchenkova G. A., Golovanova I. L., Ushakova N. V. Reprodukativnye pokazateli, razmery i aktivnost' gidrolaz u *Daphnia magna* v ryadu pokolenii pri deistvii gerbitsida Raundap [Reproduction parameters, sizes, and activity of hydrolases in *Daphnia magna* successive generations treated with Roundup herbicide]. *Biologiya vnutr. vod [Inland Water Biology]*. 2009. No. 3. P. 105–110. doi: 10.1134/S1995082909030158

Perechen' rybokhozyaistvennykh normativov: predel'no dopustimye kontsentratsii (PDK) i orientirovchno bezopasnye urovni vozdeistviya (OBUV) vrednykh veshchestv dlya vody vodnykh ob'ektov, imeyushchikh rybokhozyaistvennoe znachenie [A list of fishery standards: maximum permissible concentrations and reference safe levels of impact of harmful substances on water bodies of commercial fishing importance]. Priказ ot 28 aprelya 1999 goda No. 96 [Order # 96 dated 28.04.1999].

Tarleva A. F., Sheptitskii V. A., Kuz'mina V. V. Vliyaniye gerbitsida Raundap na aktivnost' peptidaz khimusa i slizistoi obolochki kishechnika u ryb raznykh vidov [Effect of Roundup herbicide on peptidase activity of chyme and intestinal mucosa in different fish species]. Geoekologicheskie i bioekologicheskie problemy severnogo Prichernomor'ya: materialy V Mezhd. nauch.-prakt. konf. 14 noyabrya 2014 goda [Geoecological and Bioecological Problems of the Northern Part of the Black Sea Region: Proceed. of the Int. Conf., November 14, 2014]. Tiraspol', 2014. P. 254–255.

Ugolev A. M., Iezuitova N. N. Opredeleniye aktivnosti invertazy i drugikh disakharidaz [Determination of invertase and other disaccharidases activity]. Issledovanie pishchevaritel'nogo apparata u cheloveka [Study of Digestive Tract of Humans]. Leningrad: Nauka, 1969. P. 192–196.

Zhidenko A. A., Bibchuk E. V. Izmeneniya biokhimicheskikh pokazatelei v pecheni karpa v usloviyakh deistviya Raundapa [Changes of biochemical indicators in carp livers treated with Roundup]. Sovr. problemy teoret. i prakt. ikhtiologii: tez. II Mezhd. nauch.-prakt. konf. 16–19 sent. 2009 [Modern Problems of Theoretical and Practical Ichthyology: Abs. of II Int. Res. and Practical Conf., September 16–19, 2009]. Sevastopol', 2009. P. 50–52.

Aparicio V. C., De Geronimo E., Marino D. et al. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*. 2013. Vol. 93. P. 1866–1873. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.041



Becker C. D., Genoway R. G. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Env. Biol. Fish.* 1979. Vol. 4, no. 3. P. 245–256.

Cattaneo R., Clasen B., Loro V. L. et al. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2011. Vol. 87, no. 6. P. 597–602. doi: 10.1007/s00128-011-0396-7

Fernandes J., Pal A. K., Kumar P., Chandrachoodan P. P., Akhtar M. S. Combined Effect of Heat Shock and Chlorine Fails to Elicit Acquired Thermal Tolerance in *Labeo rohita* Spawns. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* 2015. doi: 10.1007/s40011-014-0478-5

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Effect of magnetic storms on the temperature characteristics of digestive glycosidase in roach fingerlings. *Vestnik AGTU. Seriya Rybnoe khozyaistvo [Vestnik of Astrakhan St. Technical Un. Series Fishing Industry]*. 2014. No. 2. P. 101–105.

Gale S. A., Smith S. V., Lim R. P. et al. Insights into the mechanisms of copper tolerance of a population of black-banded rainbowfish (*Melanotaenia nigrans*) (Richardson) exposed to mine leachate, using <sup>64/67</sup>Cu. *Aquat. Toxicol.* 2003. Vol. 62, no. 2. P. 135–153. doi: 10.1016/S0166-445X(02)00081-4

Gasiner C., Dumont C., Benachour N. et al. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology.* 2009. Vol. 262. P. 184–191. doi: 10.1016/j.tox.2009.06.006

Giesy J. P., Dobson S., Solomon K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 2000. Vol. 167. P. 35–120.

Gluszcak L., Miron D. S., Moraes B. S. et al. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comp. Biochem. Physiol.* 2007. Part. C, vol. 146. P. 519–524. doi: 10.1016/j.cbpc.2007.06.004

Golovanova I. L., Golovanov V. K., Smirnov A. K., Pavlov D. D. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amyloplitic activity in freshwater fish. *Fish Physiol. Biochem.* 2013. Vol. 39, no. 6. P. 1497–1504. doi: 10.1007/s10695-013-9803-9

Karpouzias D. G., Singh B. K. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis. *Advances in microbial physiology. Elsevier Ltd.* 2006. Vol. 51. P. 119–185. doi: 10.1016/S0065-2911(06)51003-3

Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. et al. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic

storm and its constituents on plants and animals. *J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics.* 2014. Vol. 110–111. P. 28–36. doi: 10.1016/j.jastp.2014.01.020

Nelson N. J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 1944. Vol. 153. P. 375–381.

Nwani C. D., Nagpure N. S., Kumar R. et al. Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Int Aquat Res.* 2010. Vol. 2. P. 105–111.

Peruzzo P. J., Porta A. A., Ronco A. E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soil associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution.* 2008. Vol. 156, no. 1. P. 61–66. doi: 10.1016/j.envpol.2008.01.015

Rossi C. R., da Silva M. D., Piancini L. D. S. et al. Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2011. Vol. 87. P. 603–607. doi: 10.1007/s00128-011-0397-6

Sandrini J. Z., Rola R. C., Lopes F. M. et al. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies. *Aquatic Toxicology.* 2013. Vol. 130–131. P. 171–173. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.01.006

Sappal R., Mac Donald N., Fast M. et al. Interactions of copper and thermal stress on mitochondrial bioenergetics in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology.* 2014. Vol. 157. P. 10–20. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.09.007

Struger J., Thompson D., Staznik B. et al. Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2008. Vol. 80. P. 378–384. doi: 10.1007/s00128-008-9373-1

Tsui M. T. K., Chu L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere.* 2003. Vol. 52, no. 7. P. 1189–1197. doi: 10.1016/S0045-6535(03)00306-0

Tsui M. T. K., Chu L. M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland. *Chemosphere.* 2008. Vol. 71. P. 439–446. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.10.059

Vera M. S., Fiori E. D., Lagomarsino L. et al. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Gli-fosato Atanor on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology.* 2012. Vol. 21, no. 7. P. 1805–1816. doi: 10.1007/s10646-012-0915-2

Received September 30, 2016

## **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**

### **Голованова Ирина Леонидовна**

главный научный сотрудник  
Институт биологии внутренних вод  
им. И. Д. Папанина РАН  
Борок, Ярославская обл.,  
Некоузский р-н, Россия, 152742  
эл. почта: golovanova5353@mail.ru  
тел.: (485) 4724484

### **Аминов Александр Иванович**

аспирант  
Институт биологии внутренних вод  
им. И. Д. Папанина РАН  
Борок, Ярославская обл.,  
Некоузский р-н, Россия, 152742  
эл. почта: alexsis89@rambler.ru  
тел.: 89806587723

## **CONTRIBUTORS:**

### **Golovanova, Irina**

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,  
Russian Academy of Sciences  
Borok, Yaroslavl Region, Russia, 152742  
e-mail: golovanova5353@mail.ru  
tel.: (485) 4724484

### **Aminov, Aleksandr**

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,  
Russian Academy of Sciences  
Borok, Yaroslavl Region, Russia, 152742  
e-mail: alexsis89@rambler.ru  
tel.: +79806587723