

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук

*На правах рукописи*

**АМИНОВ АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ**

**ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДА РАУНДАПА НА ГЛИКОЗИДАЗЫ РЫБ  
И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ**

03.02.08 – Экология (биологические науки)

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель  
доктор биологических наук  
Голованова Ирина Леонидовна

Борок – 2017

**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	10
<b>1.1</b> Загрязнение окружающей среды	10
<b>1.2</b> Гербицид Раундап	11
1.2.1 Общие положения	11
1.2.2 Влияние глифосатсодержащих гербицидов на живые организмы	18
<b>1.3</b> Переваривание углеводов у рыб	40
1.3.1 Типы пищеварения	40
1.3.2 Характеристика гликозидаз	45
1.3.3 Влияние природных и антропогенных факторов на активность гликозидаз беспозвоночных и рыб	53
<b>1.4</b> Заключение	64
<b>ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	65
<b>2.1</b> Объекты исследования	65
<b>2.2</b> Методы исследования	75
2.2.1 Постановка экспериментов <i>in vitro</i>	75
2.2.2 Постановка экспериментов <i>in vivo</i>	80
2.2.3 Статистическая обработка данных	83
<b>ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ РАУНДАПА НА ГЛИКОЗИДАЗЫ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ СТАНДАРТНЫХ УСЛОВИЯХ (ТЕМПЕРАТУРА 20°C, PH 7.4)</b>	84
<b>3.1</b> Активность гликозидаз в кишечнике молоди рыб	84
<b>3.2</b> Активность гликозидаз в кишечнике взрослых рыб	89
<b>3.3</b> Активность гликозидаз в организме молоди рыб	92
<b>3.4</b> Активность гликозидаз в организме беспозвоночных	96
<b>3.5</b> Заключение	98
<b>ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ РАУНДАПА НА ГЛИКОЗИДАЗЫ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ И PH</b>	100
<b>4.1</b> Активность гликозидаз в кишечнике молоди рыб	100
<b>4.2</b> Активность гликозидаз в кишечнике взрослых рыб	103

4.3 Активность гликозидаз в организме молоди рыб	109
4.4 Активность гликозидаз в организме беспозвоночных	112
4.5 Заключение	115
<b>ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ РЫБ К <i>IN VITRO</i> ДЕЙСТВИЮ РАУНДАПА</b>	117
5.1 Степень антропогенного загрязнения	117
5.2 Присутствие ПХБ в корме	120
5.3 Хроническая экспозиция к Раундапу	123
5.4 Повышение температуры воды	124
5.5 Магнитная буря	127
5.6 Заключение	129
<b>ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	130
<b>ВЫВОДЫ</b>	133
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b>	135
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	136
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ</b>	171

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Выявление физиолого-биохимических и морфологических адаптаций организма к различным экологическим условиям – одна из задач факториальной экологии (аутэкологии). Нарушение температурного режима водоемов, появление искусственных магнитных полей, выпадение кислотных осадков, избыточное поступление металлов и органических ксенобиотиков изменили привычную среду обитания гидробионтов. Поверхностные воды являются конечным коллектором всех химикатов, производимых человеком. Возросшие масштабы использования пестицидов создают серьезную экологическую проблему, приводя к трансформации водных экосистем и негативно влияя на состояние водных животных (Vera et al., 2012). Рыбы, благодаря исключительному разнообразию видового состава, особенностей питания и структурной организации пищеварительной системы, являются классическим объектом исследования в рамках факториальной экологии. У большинства видов рыб все стадии эмбриогенеза протекают в водной среде, поэтому прямое воздействие экологических факторов возможно на самых ранних этапах индивидуального развития.

В адаптациях рыб к действию абиотических факторов среды активное участие принимают гликозидазы (ферменты, гидролизующие углеводы) (Уголев, Кузьмина, 1993; Высоцкая, Немова, 2008; Кузьмина, 2015). Изменение характеристик пищеварительных гликозидаз продемонстрировано при действии ряда физических и химических агентов в период раннего онтогенеза и на более поздних этапах развития (Голованова и др., 2008, 2013, 2015; Кузьмина и др., 2013; Filippov et al., 2014). При этом влияние важнейших экологических факторов на чувствительность гликозидаз к действию пестицидов практически не исследовано. Между тем применение физиолого-биохимических методов позволит подойти к решению одной из задач факториальной экологии – как увеличение антропогенной нагрузки на экосистему будет отражаться на жизнедеятельности отдельных организмов.

**Степень разработанности темы исследования.** Пестициды относятся к основным загрязнителям природных вод. Высокотехнологичный системный гербицид широкого спектра действия глифосат (N-(phosphonomethyl) glycine) – один из самых распространенных в мире (Benbrook, 2016). В поверхностных водах концентрация глифосата обычно не превышает 10–15 мкг/л, однако в районах непосредственного

применения она достигает 700 мкг/л в воде и 5.0 мг/кг в осадках и почве (Struger et al., 2008; Peruzzo et al., 2008; Aparicio et al., 2013). Его широкое применение обусловлено высокой эффективностью действия, хорошей биоразлагаемостью (период полураспада в воде составляет 7–14 дней, в донных отложениях водоемов – до 120 дней), а также появлением культур, генетически устойчивых к этому гербициду (Giesy et al., 2000; Benbrook, 2016).

Раундап, созданный на основе изопропиламиновой соли глифосата, используют для уничтожения сорной растительности на полях и приусадебных участках, а также в коллекторно-дренажных каналах, оросительных системах и прудах. В ряде работ отмечена низкая токсичность Раундапа и глифосата для водных животных (Neckovic et al., 1996; Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2008; Filizadeh, Rajabi Islami, 2011; Kier, Kircland, 2013). В то же время установлено, что Раундап оказывает неблагоприятное действие на микроводоросли, макрофиты, беспозвоночных и рыб, вызывая нарушения различных функций (Folmar et al., 1979; Tate et al., 1997; Tsui, Chu, 2003; Cox, 2004; Lushchak et al., 2009; Modesto, Martinez, 2010a; Rossi et al., 2011; Fan et al., 2013; Webster, Santos, 2015).

У рыб, являющихся хорошим биоиндикатором загрязнения водной среды, он нарушает процессы развития (Webster et al., 2014), изменяет поведение (Filizadeh, Rajabi Islami, 2011) и физиолого-биохимический статус организма (Jiraungkoorskul et al., 2002; Languano, Martinez, 2008; Cattaneo et al., 2011; Тарлева и др., 2014; Fan et al., 2013; Richard et al., 2014; Жиденко и др., 2015). Раундап изменяет энергетический метаболизм (Menendez-Helman et al., 2015) и углеводный обмен (Жиденко и др., 2009), оказывает мутагенный и генотоксический эффекты (Cavalcante et al., 2008; Guilherme et al., 2012; Filho et al., 2013a; Moreno et al., 2014), генерирует окислительный стресс и обладает нейротоксическим действием (Lushchak et al., 2009; Modesto, Martinez, 2010b; Fan et al., 2013; Webster, Santos, 2015).

Известно, что эффективность питания рыб и продуктивность водоемов в значительной мере зависят от состояния ферментных систем пищеварительного тракта, способности рыб переваривать и усваивать различные компоненты корма. Поступая в организм с водой и пищей, Раундап может оказывать прямое и опосредованное влияние на активность пищеварительных ферментов. Однако действие Раундапа на активность гликозидаз у рыб и объектов их питания до начала нашей работы было изучено крайне слабо (Голованова, Папченкова, 2009; Папченкова и др., 2009). Поскольку углеводы

играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене организма, а гидролазы жертвы могут принимать участие в пищеварении у рыб и обеспечивать аутодеградацию собственных тканей (Кузьмина, 2000), изучение характеристик указанных ферментов при действии Раундапа представляет значительный интерес не только для факториальной экологии, но и для практики рыбного хозяйства.

**Цель работы:** изучить действие гербицида Раундап на активность гликозидаз у рыб и объектов их питания в зависимости от ряда экологических факторов.

**Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:**

1. Исследовать влияние Раундапа в широком диапазоне концентраций на активность гликозидаз в кишечнике рыб и в организме их кормовых объектов при стандартных условиях (температура 20°C, рН 7.4).

2. Изучить влияние Раундапа на активность гликозидаз в кишечнике рыб и в организме их кормовых объектов при разных значениях температуры и рН.

3. Оценить влияние некоторых экологических факторов на чувствительность гликозидаз рыб к действию Раундапа.

**Научная новизна.** Впервые показаны изменения активности гликозидаз в кишечнике рыб разных экологических групп и в организме их кормовых объектов при *in vitro* действии Раундапа в концентрациях, встречающихся в компонентах водной среды. Наряду с торможением Раундап может оказывать и стимулирующий эффект (особенно на активность мальтазы и сахаразы). Чувствительность ферментов, расщепляющих полисахарид крахмал, к действию Раундапа в кишечнике молоди, как правило, выше по сравнению с взрослыми рыбами. Гликозидазы рыб ихтиофагов менее чувствительны к действию Раундапа по сравнению с типичными планкто- и бентофагами.

Установлено, что Раундап оказывает больший эффект на гликозидазы слизистой оболочки кишечника рыб, чем химуса. Впервые показано, что активность гликозидаз в тканях реальной жертвы, извлеченной из желудка хищника, в присутствии Раундапа снижается, в то время, как у потенциальной жертвы увеличивается. Наибольшее снижение активности гликозидаз в кишечнике рыб и в тканях их кормовых объектов отмечено при комплексном действии температуры 0°C, кислых или щелочных рН и Раундапа. Впервые выявлено, что различные экологические факторы (степень антропогенного загрязнения, присутствие в корме ПХБ, магнитная буря и повышение температуры среды) усиливают чувствительность гликозидаз рыб к действию

гербицида. В то же время хроническая экспозиция к Раундапу снижает чувствительность гликозидаз к действию Раундапа *in vitro*.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные данные расширяют представления о действии экологических факторов на функционирование пищеварительной системы рыб разных экологических групп. Результаты работы важны для сравнительной оценки характера влияния Раундапа на активность гликозидаз в кишечнике рыб и в организме кормовых объектов рыб планкто-, бенто- и ихтиофагов. Кроме того, полученные данные необходимо учитывать при разработке рациональных условий питания рыб в условиях аквакультуры в современных экологических условиях. Результаты работы могут быть использованы в курсах лекций по экологии, гидробиологии, а также экологической биохимии и физиологии рыб. Знания о характере влияния пестицидов на физиолого-биохимический статус гидробионтов позволят предвидеть опасные ситуации и их последствия, и разрабатывать превентивные меры.

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационной работы основана на аутэкологическом исследовании активности гликозидаз в кишечнике рыб разных экологических групп и в организме объектов их питания, а также сравнении и анализе, позволяющем с помощью физиолого-биохимических методов оценить влияние загрязнения гербицидами водной среды на отдельные организмы. Используются спектрофотометрические методы определения активности гликозидаз: глюкозооксидазный метод (мальтаза), модифицированный метод Нельсона (Nelson, 1944) (амилолитическая активность и активность сахаразы), ихтиологические методы определения размерно-массовых характеристик рыб, токсикологические методы, метод критического термического максимума (Becker, Genoway, 1979), метод воспроизведения геомагнитных флуктуаций (Krylov et al., 2014), статистические методы.

**Соответствие паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют шифру специальности 03.02.08 – экология, конкретно пункту – факториальная экология.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Раундап в концентрациях, встречающихся в компонентах водной среды, может оказывать как тормозящий, так и стимулирующий эффект на активность гликозидаз у рыб и объектов их питания. У рыб сила и направленность эффекта зависит от вида, возраста и типа питания, локализации фермента и концентрации гербицида. Активность

гликозидаз в тканях беспозвоночных в присутствии Раундапа в большинстве случаев повышается.

2. Наибольший тормозящий эффект Раундапа на активность гликозидаз кишечника рыб отмечен при кислых рН. Снижение температуры при нейтральных рН нивелирует тормозящий эффект, при кислых рН усиливает его. Влияние Раундапа на активность гликозидаз у кормовых объектов рыб в меньшей мере зависит от температуры и рН.

3. Чувствительность гликозидаз рыб к действию Раундапа зависит от ряда экологических факторов. Она повышается при увеличении температуры среды, действии магнитной бури, высоком уровне антропогенного загрязнения, присутствии ПХБ в корме и снижается после хронического действия Раундапа.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность результатов обеспечена достаточным количеством экземпляров рыб и беспозвоночных, необходимым количеством повторностей, адекватным использованием статистических методов обработки данных и выбором компьютерных пакетов программ. Полученные результаты хорошо согласуются с данными российских и зарубежных авторов о действии Раундапа на живые организмы.

**Апробация результатов.** Результаты работы представлены на Международной конференции «Экология водных беспозвоночных», посвященной 100-летию Ф. Д. Мордухай-Болтовского (Борок, 2010); Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы биологии, экологии, химии и экологического образования» (Ярославль, 2010); XIV Международном совещании и VII школе по эволюционной физиологии, посвященные памяти академика Л.А. Орбели (Санкт-Петербург, 2011); IV и V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова, с приглашением специалистов из стран ближнего зарубежья «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы» (Борок, 2011, 2014); XIX и XX Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2012, 2013); Международной научно-практической конференции «Экология, эволюция и систематика животных» (Рязань, 2012); Международной научной конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии» (Мытищи, 2012); Всероссийской конференции с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы

адаптации гидробионтов» (Борок, 2012); XV Школе-конференции молодых учёных «Биология внутренних вод» (Борок, 2013); IV Международном симпозиуме «Чужеродные виды в Голарктике» (Борок, 2013); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов – 2015» (Москва, 2015); Всероссийской молодежной гидробиологической конференции «Перспективы и проблемы современной гидробиологии» (Борок, 2016).

**Личный вклад автора.** Сбор и обработка материала исследования, проведение биохимических экспериментов, статистический анализ полученных данных, интерпретация и обобщение результатов, формулировка выводов выполнены автором лично. Эксперименты по влиянию температуры среды, магнитного поля и ПХБ проведены совместно с коллегами, доля участия в совместных публикациях пропорциональна числу авторов.

**Публикации.** По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 19 статей (из них 9 статей в журналах, входящих в перечень ВАК РФ) и 2 тезисов.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 190 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трех глав результатов исследований, общего заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа содержит 33 рисунка и 24 таблицы, из них 8 рисунков и 11 таблиц в приложении. Список литературы включает 324 источника, в том числе 200 на иностранном языке.

**Благодарность.** Автор выражает глубокую благодарность д.б.н. И.Л. Головановой за предоставленную тему и неоценимую помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы; д.б.н. В.К. Голованову, к.б.н. А.А. Филиппову, к.б.н. В.В. Крылову, Д.С. Капшаю, А.А. Морозову и В.В. Юрченко за помощь в постановке экспериментов *in vivo*, а также Т.И. Крицыной за определение возраста рыб.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Загрязнение окружающей среды

Одной из наиболее важных экологических проблем является загрязнение окружающей среды. В современных экологических условиях практически не осталось водоемов, лишенных антропогенного воздействия. Развитие промышленности и сельского хозяйства являются главными факторами, приводящими к загрязнению водной среды. Даже водоемы, расположенные на территории природоохранных зон вдали от промышленных источников загрязнения, испытывают антропогенную нагрузку. Загрязнение приводит к трансформации водных экосистем, изменению структуры рыбного населения, снижению биоразнообразия, изменению спектра питания, ряду морфологических и биохимических нарушений (Моисеенко, 2003; Немова, Высоцкая, 2004; Танабе, Субраманиан, 2010; Чуйко и др., 2010; Экотоксикологические..., 2016). Поэтому контроль загрязнения водной среды и ее обитателей, оценка здоровья гидробионтов остаются важнейшими задачами мониторинга состояния водных объектов.

Среди антропогенных факторов, оказывающих значительное влияние на жизнедеятельность водных животных, приоритетная роль принадлежит соединениям тяжелых металлов и органическим ксенобиотикам. Глобальное потепление климата, рост количества атомных и тепловых электростанций повышают тепловую нагрузку на водоемы. Кроме того, в последнее столетие постоянно растет воздействие искусственных магнитных полей. Поэтому температура и магнитное поле в настоящее время становятся важными антропогенными факторами, которые изменяют не только физиолого-биохимический статус гидробионтов, но и их реакцию на действие других химических и физических агентов. Органические загрязнители признаны особо опасными экотоксикантами. Они повсеместно распространены в окружающей среде и большинство из них в силу устойчивости к действию физических и химических агентов слабо подвергается естественному разложению (Танабе, Субраманиан, 2010). Возросшие масштабы производства и применения пестицидов могут негативно влиять на состояние водных животных (Vera et al., 2012), а также представлять угрозу здоровью человека (Richard et al., 2005; Gasiner et al., 2009).

## 1.2 Гербицид Раундап

### 1.2.1 Общие положения

Высокотехнологичный системный гербицид широкого спектра действия глифосат (N-(phosphonomethyl) glycine, (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P)) используется в мире с середины 70-х годов прошлого века. Впервые гербицидные свойства этого вещества были обнаружены в 1970 г. Джоном Францем, работавшим в американской компании «Монсанто». В 1987 г. за это открытие он получил Национальную медаль в области технологий и инноваций. В 2000 г. истёк патент «Монсанто» на молекулу глифосата, что привело к появлению на рынке конкурентов, производящих аналоги торговой марки Roundup. В настоящее время до 70% производства глифосата приходится на Китай, в Россию препарат пока что импортируется. На основе глифосата создано много гербицидов, выпускаемых под разными названиями: Accord, Aquamaster, Atanor, Bioforce, Credit, Escoba, Excel Mera 71, Grands Travaux, Herbolex, Panzer, Rodeo, Roundup Max, Spasor, Touchdown, Vision, Yerbimat, Вулкан, Гексарон, Глифос, Граунд, Корфосат, Сангли, Смерш, Торнадо, Ураган, Факел и др. Они производятся более чем в 100 странах мира и различаются по количественному содержанию активного ингредиента и наличию вспомогательных веществ. С химической точки зрения глифосат является слабой органической кислотой, для повышения растворимости его переводят в солевую форму. В качестве активного ингредиента наиболее часто используют изопропиламиновою соль глифосата (ИПА), в качестве поверхностно-активного вещества – полиоксиэтиленамин (РОЕА), увеличивающий проницаемость мембран и облегчающий проникновение гербицида. Кроме того, в состав могут входить различные минорные компоненты – красители, биоциды и неорганические ионы для создания необходимого рН (Tsui, Chu, 2004). В составе некоторых гербицидов активным ингредиентом может быть аммониевая соль глифосата (Roundup Max), а некоторые гербициды, в частности Rodeo и Roundup Quick, не содержат РОЕА (Sihtmae et al., 2013).

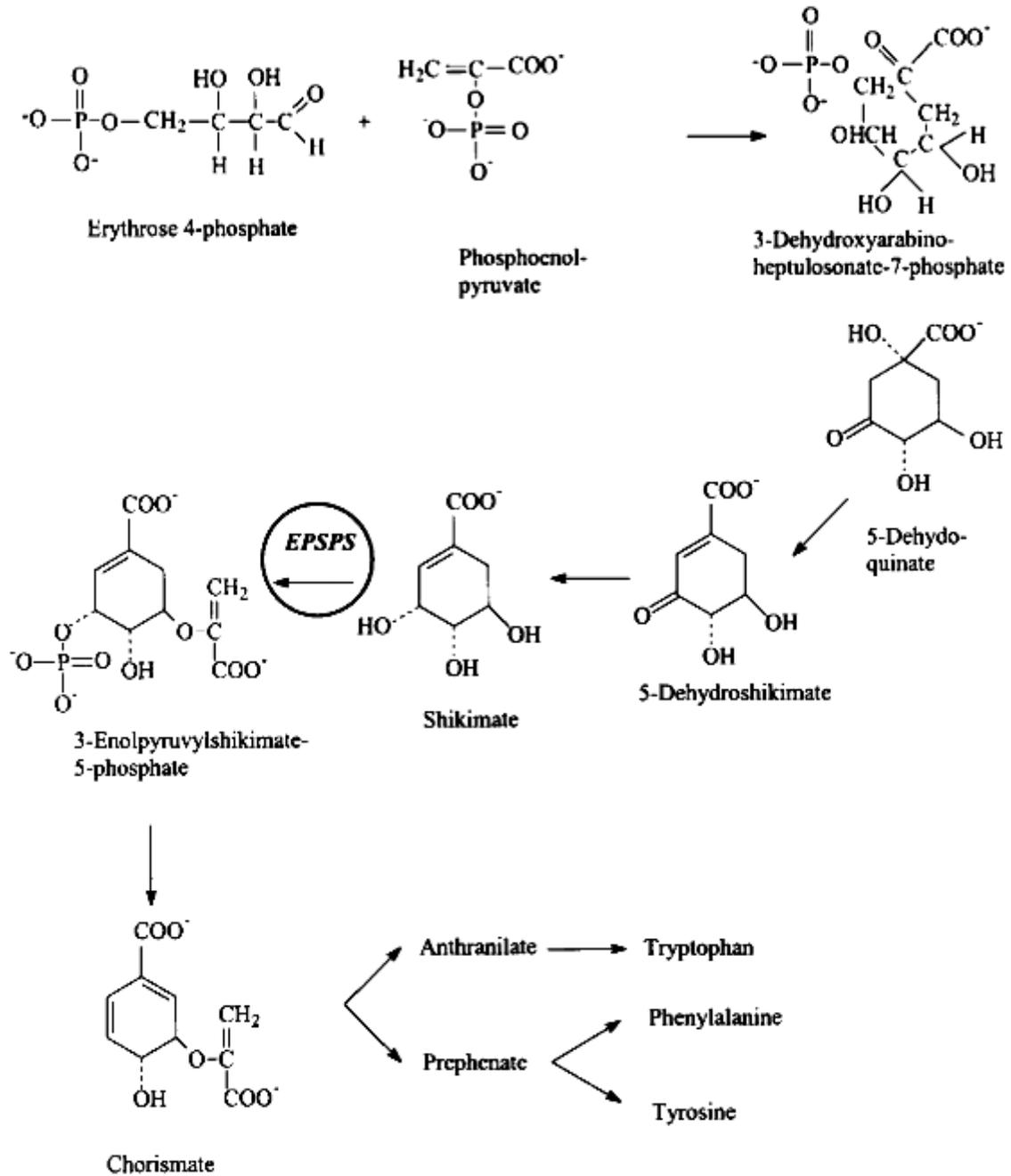
За период с 1974 по 2014 гг. мировое использование глифосата возросло почти в 15 раз и составило 8.6 млрд. кг (Benbrook, 2016). В 2014 году фермеры применяли ~ 0.53 кг глифосата на гектар всех пахотных земель во всем мире (Benbrook, 2016). В США

глифосат занимает седьмое место среди наиболее распространенных пестицидов в сельском хозяйстве, третье место среди пестицидов, применяемых на промышленных и коммерческих землях и второе место – в домашних хозяйствах и садах (Сох, 2004). Большинство гербицидов, используемых для обработки железных дорог, городских тротуаров и обочин дорог, также содержат активное вещество глифосат. Но основное назначение глифосата – это уничтожение сорняков на полях биологически модифицированных глифосат-резистентных культур. Впервые соевые бобы, устойчивые к Roundup, были получены в 1996 году. Позже появились кукуруза, пшеница, соя, хлопок и другие растения. США, Бразилия, Индия, Аргентина и Китай – это пять стран, возделывающих наибольшее количество генномодифицированной сои (Demetrio et al., 2011). В России и странах СНГ также широко рекламируются и применяются гербициды, созданные на основе глифосата.

Раундап является одним из наиболее широко используемых в мире фосфорорганических гербицидов (Jiraungkoorskul et al., 2002). Это неспецифический гербицид широкого спектра действия, предназначенный для борьбы с однолетними и многолетними злаковыми и двудольными сорняками. Его также используют для борьбы с водными растениями (ряска, водный геацинт, рдесты, камыш обыкновенный) при зарастании водохранилищ, прудов, каналов и коллекторно-дренажных систем. На открытых оросительных и сбросных каналах рекомендуют внесение Раундапа в дозе 8 л/га при слабой и 10 л/га при сильной степени засоренности (Брежнев, 2004). Действующее вещество Раундапа (изопропиламинная соль глифосата) проникает через листья и другие зеленые части растения и переносится по всем органам, включая корневую систему, а поверхностно-активное вещество РОЕА увеличивает проницаемость мембран, облегчая проникновение гербицида в клетку. Раундап ингибирует рост растений, блокируя работу ферментов шикиматного пути, что препятствует синтезу 3 аминокислот: фенилаланина, тирозина и триптофана (Carlisle, Trevors, 1988; Williams et al., 2000) (рисунок 1.1).

Животные получают указанные аминокислоты с пищей и этот ферментный путь у них отсутствует. Первые признаки гербицидного эффекта проявляются не ранее, чем через 3–4 дня в виде пожелтения, затем побурения и увядания листьев. Растения гибнут через 5–10 (до 30) дней в зависимости от погодных условий, вида сорняков и возраста

растений. В мировой практике Раундап широко используется перед уборкой рапса, подсолнечника, проса, сои, риса. Опрыскивание особенно результативно при средней и



**Рисунок 1.1.** Механизм действия глифосата в растениях. Глифосат ингибирует синтез незаменимых ароматических аминокислот путем конкурентного ингибирования фермента енолпирувилшикимат фосфат-синтазы (EPSPS) (Williams et al., 2000).

сильной засоренности полей. Зерно обработанных культур используется без ограничений для производства кормов, продуктов питания и в пивоварении. Кроме того, Раундап применяют для борьбы с борщевиком Сосновского, создающего серьезную проблему в современном растениеводстве (Бочкарев, Никольский, 2007). Гербицид не обладает почвенной активностью и может применяться до посева или до появления всходов культуры. Раундап не накапливается в воде и не токсичен для водных организмов. Воду можно использовать для орошения без ограничений. Препарат не действует на растения, полностью погруженные в воду. Так рекламировала свой продукт компания «Монсанто».

Отсутствие негативного действия глифосата на беспозвоночных, птиц и млекопитающих документировано в ряде исследований (Spencer, 1982; Weed ..., 1983; Tsui, Chu, 2004; Santos et al., 2012; Kier, Kircland, 2013; Salvio et al., 2016). Низкая токсичность глифосата подтверждена и в ряде работ на водных животных (Carlisle, Trevors, 1988; WHO, 1994; Henry et al., 1994; Neckovic et al., 1996; Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2008; Filizadeh, Rajabi Islami, 2011; Kier, Kircland, 2013; Le Mer et al., 2013; Menendez-Helman et al., 2012). В обзоре (Giesy et al., 2000) приведены данные о низкой токсичности глифосата для пресноводных рыб (11 видов), начиная от умеренного токсичного эффекта (у синежаберника *Lepomis macrochirus* LC<sub>50</sub> 96-ч составляет 2.8 мг/л) до слабо токсичного (у радужной форели *Oncorhynchus mykiss* LC<sub>50</sub> 96-ч – 25 мг/л). Для водных беспозвоночных (8 видов) токсичность Раундапа является умеренной: у речных раков *Orconectes nais* LC<sub>50</sub> 96-ч составляет 3.5 мг/л, а у личинок комаров *Anopheles quadrimaculatus* LC<sub>50</sub> 24-ч – 323 мг/л. Раундап практически нетоксичен для птиц (3 вида) и млекопитающих (5 видов) (Giesy et al., 2000). Глифосат в концентрации 2.0 мг/л при 12-часовой экспозиции не оказывал влияния на плодовитость и гонадосоматический индекс у радужной форели (Folmar et al., 1979). Экспозиция в течение 10 дней в растворе глифосата (2.78 мг/л) не изменяла скорости роста и адаптации к морской воде у кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Mitchell et al., 1987). Экспозиция радужной форели к глифосату при сублетальных концентрациях 6.25 и 100 мкг/л в течение двух месяцев не оказывала значительного влияния на пищевое поведение, уровень активности и рост рыб (Morgan, Kiceniuk, 1992). Глифосат в концентрациях от 0.5 до 5 мг/л не оказывал воздействия на гаметы и эмбрионы устриц *Ostreidae* sp. (Akcha et al., 2012). Раундап не влиял на температурное поведение

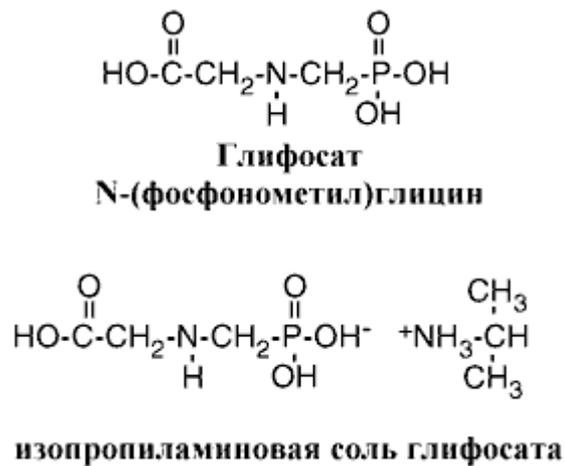
головастиков серой древесной лягушки *Hyla versicolor* – значения максимальной критической температуры не отличались от контроля (Katzenberger et al., 2014). Кормление в течение 6 месяцев атлантического лосося *Salmo salar* кормом, содержащим генно-модифицированную Раундап-резистентную сою, не влияло на процессы пищеварения, и не обнаружено трансгенных фрагментов нити ДНК в кишечнике (Sanden et al., 2011). Активность лактатдегидрогеназы в мозге, печени и мышцах двухлеток карпа *Cyprinus carpio* при экспозиции к Раундапу (4 мкг/л) не отличалась от контроля (Жиденко и др., 2009). Действие глифосата в концентрации от 2.5 до 40 мкг/л не изменяло активность ацетилхолинстеразы в органах самок и самцов крыс (Larsen et al., 2016).

Статистически значимой зависимости появления злокачественных опухолей в организме детей, родители которых применяли в сельском хозяйстве глифосат, не обнаружено (Mink et al., 2012). На примере 43 беременных женщин было показано, что ежедневное поступление глифосата с пищей в количестве 0.001 мг на 1 кг массы тела в сутки (что для США в 20 раз меньше нормы), не наносит никакого ущерба здоровью (McQueen et al., 2012). В экспериментах *in vitro* показано, что глифосат в концентрациях, встречающихся в окружающей среде, не изменяет размера и формы эритроцитов человека, скорость гемолиза эритроцитов, продукцию активных форм кислорода и активность АХЭ (Kwiatkowska et al., 2014).

Вместе с тем накоплено достаточно большое количество сведений о токсичности Раундапа для живых организмов (Folmar et al., 1979; Mitchell et al., 1987; Smith, Oehme, 1992; Tate et al., 1997; Tsui, Chu 2003; Cox, 2004; Raipulis et al., 2009; Ortiz-Ordonez et al., 2011; Ghisi, Cestari, 2013; Goulart et al., 2015; Bonifacio et al., 2016; Ghisi et al., 2016). При этом на долю РОЕА, входящего в состав Раундапа, может приходиться до 86% токсичности гербицида (Folmar et al., 1979; Tate et al., 1997; Tsui, Chu, 2003; Peixoto, 2005).

В 2001 году ряд французских правозащитных организаций подали коллективный иск против компании Monsanto Agriculture France. 26 января 2007 года суд признал требования истцов обоснованными и обязал компанию Monsanto выплатить штраф в размере 15 тысяч евро. После этого Европейский Союз признал глифосат, на основе которого создан Раундап, «опасным для окружающей среды» и «токсичным для водных организмов». Но применение и производство Раундапа не остановлено!

Химическое строение глифосата и его изопропиламиновой соли, входящих в состав гербицида Раундап, представлено на рисунке 1.2.



**Рисунок 1.2.** Химическое строение глифосата и его изопропиламиновой соли.

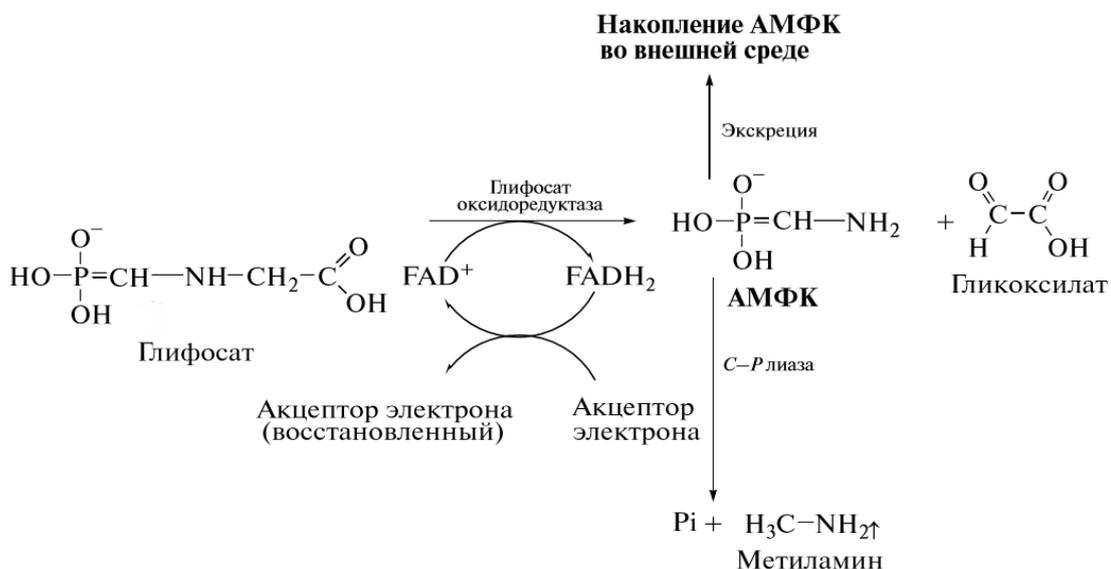
Глифосат хорошо растворим в воде (11.6 г/л при температуре 25°C), информация о периоде полураспада различается в зависимости от источников информации и приблизительно составляет в воде от 12 до 60 дней, в донных отложениях (ил) до 120 дней (Сох, 1998), в почве – 6–9 дней в лабильной фазе, 222–835 дней в нелабильной фазе (Eberbach, 1998). Благодаря высокой способности абсорбироваться на взвешенных частицах (Zaranyika, Nyandoro, 1993; Aparicio et al., 2013), он может разноситься по течению на большие расстояния, оседая в донных отложениях, где долго сохраняет свою активность (Eberbach, 1998). Главным продуктом распада глифосата является аминометилфосфоновая кислота (АМФК), которая в дальнейшем разлагается до глицина, аммония и углекислого газа (Giesy et al., 2000). Но АМФК более устойчива в окружающей среде и её период полураспада достигает 3-х лет (Сох, 1998).

В поверхностных водах концентрация глифосата обычно не превышает 10–15 мкг/л, вблизи районов 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). Содержание глифосата в почве полей, где он постоянно используется, составляет 0.14–2.16 мг/л (Puertolas et al., 2010; Cattaneo et al., 2011). Максимальная концентрация глифосата в воде 11-ти водоемов ряда штатов США составила 328 мкг/л (Battaglin et al., 2009). Концентрации глифосата 0.1 мкг/л и более

отмечена в 35% водоемов Среднего запада США в период до появления всходов на полях, в 40% после появления всходов и в 31% водоемов в период сбора урожая, при этом максимальная из обнаруженных концентраций составила 8.7 мкг/л (Battaglin et al., 2005). Глифосат в концентрации 2–5.2 мкг/л обнаружен в сточных водах с полей малой площади (0.3–3.1 Га) даже спустя 4 месяца после применения (Edwards et al., 1980). Накопление глифосата до 7.3–10.2 мкг/кг отмечено в тканях ряда беспозвоночных (представителей сем. Chironomidae, Oligochaeta, Viviparidae, Hirudinae, а также у водяного ослика *Asellus aquaticus*, гаммаруса *Gammarus pulex* и дрейссены полиморфной *Dreissena polymorpha*) после внесения в пруды гербицида в концентрации 0.09 мг/л (Rzymiski et al., 2013). В тканях мальков карпа содержание гербицида составило  $9.7 \pm 1.0$  мг/кг массы тела на 14 сутки экспозиции в растворе Раундапа концентрацией 0.04 мг/л (Жиденко, 2009).

Значения предельно допустимой концентрации (ПДК) глифосата для воды рыбохозяйственных водоемов в России составляет 1 мкг/л (Перечень..., 1999), на Украине – 2 мкг/л (Жиденко, 2008а). Концентрация глифосата 65 мкг/л установлена как максимальная безопасная для водных экосистем в Канаде (Trotter et al., 1990). По данным агентства по защите окружающей среды максимальный уровень загрязнения в США не должен превышать 700 мкг/л (USEPA, 2003).

Разложение глифосата происходит при действии микроорганизмов (рисунок 1.3) (Karpouzias, Singh, 2006; Свиридов и др., 2015).



**Рисунок 1.3.** Схема глифосат-оксидоредуктазного пути метаболизма глифосата, характерного для большинства изученных микроорганизмов (Свиридов и др., 2015).

Связывание с хелатирующими металлами (Ca, Fe, Al, Cu, Zn, Pb, Mn), органическим углеродом и гуминовыми кислотами в донных отложениях путем взаимодействия с одной из трех групп, входящих в состав глифосата ( $-NH$ ,  $-COOH$ ,  $-H_2PO_4$ ), значительно замедляет этот процесс (Carlisle, Trevors, 1988; Piccolo, Celano, 1994; Tsui, Chu, 2008; Wang et al., 2008). В лабораторных экспериментах установлено, что скорость деградации Раундапа зависит от условий хранения и концентрации (Папченкова, 2006). При хранении на свету в аэробных условиях деградация растворов происходит значительно быстрее, чем в темноте в анаэробных условиях.

### 1.2.2 Влияние глифосатсодержащих гербицидов на живые организмы

Несмотря на то, что по данным Всемирной организации здравоохранения токсичность глифосата рассматривается как низкая (WHO, 1994), присутствие сурфактантов, таких как РОЕА, делает глифосат содержащие гербициды потенциально токсичными для водных организмов. Кроме того, неумеренное использование гербицидов, аварийный разлив, смывы с полей или сброс неочищенных сточных вод в природные водоемы могут увеличивать их содержание и оказывать вредное влияние на гидробионтов, вызывая долгосрочные эффекты.

Токсичность Раундапа и глифосата была выявлена для бактерий, микроводорослей, одноклеточных, беспозвоночных, низших и высших позвоночных, и человека (Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2003; Bradberry et al., 2004; Kier, Kirkland, 2013; Reno et al., 2014; Cuhra, 2015; Reno et al., 2015). У растений глифосат транспортируется в проводящих тканях – ксилеме и флоэме, и локализуется в хлоропластах (Carlisle, Trevors, 1988). Как гербицид широкого спектра действия, глифосат является остро токсичным для большинства видов растений. В результате его применения ухудшается качество семян, снижается способность фиксировать азот, снижается устойчивость к болезням, уменьшается активность микоризных грибов (Cox, 1998). Был установлен генотоксический эффект глифосата на пажитник сенной *Trigonella foenum-graecum* сем. Бобовые, проявляющийся в изменении митотического индекса и хромосомных aberrаций в клетках, обработанных гербицидом растений (Siddiqui et al., 2012).

В исследованиях по токсичности Раундапа для вибриона Фишера *Vibrio fischeri*, микроводорослей *Selenastrum capricornutum* и *Skeletonema costatum*, простейших

*Tetrahymena pyriformis* и *Euplotes vannus* и ракообразных *Ceriodaphnia dubia* и *Acartia tonsa* показано, что концентрации, вызывающие остановку роста ( $IC_{50}$ ) для бактерий и простейших близки и составляют 23.5–29.5 мг/л (Carlisle, Trevors, 1988). В концентрации 1.2 мМ глифосат снижает численность популяции эвглен *Euglena gracilis*, при концентрации 17.7 мкМ отмечено уменьшение роста популяции хлорелл *Chlorella sorokiniana* на 50%. Рост микроскопических грибов *Chaetomium globosum* снижается при концентрации глифосата 50 мг/л, аспергилла черного *Aspergillus niger* – 20 мг/л, стахиботриса *Stachybotrys chartarum* – 1 мг/л (Carlisle, Trevors, 1988). Полумаксимальная эффективная концентрация ( $EC_{50}$ ), вызывающая обездвиживание у 50% организмов, Раундапа составляет 2–189 мг/л для микроводорослей *S. capricornutum* и хлорелл *Chlorella pyrenoidosa* (Giesy et al., 2000) и 3.85 мг/л для *Chlorella vulgaris* (Reno et al., 2016). При этом некоторые штаммы цианобактерий могут использовать глифосат, как источник фосфора без негативных последствий для своей жизнедеятельности, увеличивая величину колоний в 4.5 раза (Perez et al., 2007). В результате увеличения колоний цианобактерий увеличивалось и количество коловраток, при этом рост количества бактериопланктона и планктонных пикоцианобактерий, наряду с увеличением количества хлорофилла *a* в воде способствует ускорению эвтрофирования водоемов (Vera et al., 2012). Два из исследованных штаммов цианобактерий обладали устойчивостью к блокировке синтеза шихимовой кислоты глифосатом (Forlani et al., 2008). На примере гидры тонкой *Hydra attenuata* показано, что токсичность Раундапа зависит от соотношения активного и вспомогательного компонентов, а также от концентрации гербицида, при этом Раундап может быть более токсичен в низких концентрациях, а глифосат – в высоких (Demetrio et al., 2011). На примере кишечной палочки *Escherichia coli* и дафнии *Daphnia magna* показано, что Раундап обладает токсическими и генотоксическими свойствами уже при минимальных концентрациях 0.1–0.3 мкг/л и выше (Raipulis et al., 2009).

Установлено, что ракообразные в 4–5 раз чувствительнее к действию Раундапа, чем бактерии и простейшие (Tsui, Chu, 2003). При этом значения 48-ч полуметальной концентрации ( $LC_{50}$ ) составили 147 мг/л для *C. dubia*, 35.3 мг/л для *A. tonsa* (Tsui, Chu, 2003), для *D. magna* – 98 мг/л (Папченкова и др., 2009) или 780 мг/л (Smith, Oehme, 1992). Значения 96-ч  $LC_{50}$  для желтоносой креветки *Cardina nilotica* составили 60.97 мг/л

(Ashoka Deerananda et al., 2011), значения 120-ч LC<sub>50</sub> для *D. magna* и цериодафний *Ceriodaphnia affinis* – 1.75–6.75 мг/л (Мельничук и др., 2007b).

Гербицид Факел (действующее вещество – изопропиламиновая соль глифосата, 48%) оказывает нервнопаралитическое действие на *C. affinis* (Мельничук и др., 2007а). Значения 120-ч LC<sub>50</sub> гербицида для молоди *C. affinis* составили 1.75–2.13 мг/л. Концентрация 10 мг/л является хронически летальной, при этом продолжительность периода постэмбрионального развития рачков увеличивалась до 7–8 суток, число молоди в помете снижалось до 1–4 экз., суммарная плодовитость рачков снижалась на 75.6% (Мельничук и др., 2007а). Значения 48-ч LC<sub>50</sub> гербицида Rodeo (не содержащего РОЕА) были значительно выше: для *D. magna* они составили 218 мг/л, для личинок хирономид *Chironomus riparius* – 1216 мг/л; LC<sub>50</sub> 96-ч для мексиканского бокоплава *Hyaella azteca* – 720 мг/л, а у пиявки *Nephelopsis obscura* – 1177 мг/л (Henry et al., 1994).

При изучении токсичности Раундапа для 3-х видов водных беспозвоночных: дафний *D. magna*, гаммарусов *Gammarus pseudolimnaeus* и личинок хирономид *Chironomus plumosus* показано, что 48-ч EC<sub>50</sub> составляет 3–16 мг/л для дафний и личинок хирономид, а 96-ч LC<sub>50</sub> для гаммарусов составляет 43 мг/л (Folmar et al., 1979). Концентрации Раундапа от 0.2 мг/л до 50 мг/л в хронических экспериментах снижают показатели продуктивности и линейные размеры рачков *D. magna* (Папченкова, 2007; Папченкова, Гребенюк, 2008; Папченкова и др., 2009). Установлено, что на протяжении 4-х поколений *D. magna* не происходит адаптации к действию Раундапа, более того, в 4-м поколении отмечено существенное снижение резистентности к гербициду по сравнению с материнской линией, что свидетельствует о возможности аккумуляции токсического эффекта (Папченкова и др., 2009). В хроническом 55-суточном опыте показано, что Раундап в сублетальных концентрациях 0.05, 0.15, 0.45, 1.35 и 4.05 мг/л (по глифосату) изменяет показатели роста и плодовитости *D. magna* (Cuhra et al., 2013). Снижение размеров молоди отмечено при минимальной исследованной концентрации, при концентрации 1.35 мг/л установлена 100% смертность зародышей, при концентрации 4.05 мг/л размер тела рачков снижался уже на 6 день экспозиции. У дафний *Daphnia spinulata* снижение роста отмечено при концентрации глифосата 24 мг/л, а концентрация 240 мг/л достоверно увеличивала смертность (Coll et al., 1991).

Снижение численности ряда макробеспозвоночных – хирономид (на 41%), олигохет (на 41%), пиявок (на 75%), водяного ослика *A. aquaticus* (на 77%), гаммаруса

*G. pulex* (на 38%), дрейссены полиморфной (на 42%) – отмечено после внесения в озеро Ледница (Велькопольска, Польша) глифосата в концентрации 0.09 мг/л (Rzymiski et al., 2013). При этом на обработанных глифосатом участках хирономиды были меньшей длины, *A. aquaticus* представлены только крупными взрослыми особями и встречались брюхоногие моллюски (сем. Lymnaeidae), отсутствующие в чистой зоне.

В 15 суточных тестах на *D. magna* было установлено, что раствор Раундапа в сублетальных концентрациях 25 и 50 мг/л (по глифосату) изменяет активность гидролаз, расщепляющих белковые и углеводные компоненты (повышает протеолитическую и снижает амилалитическую активность) в тканях рачков, что отражает увеличение роли белков в метаболизме при действии сублетальных концентраций гербицида. Активность сахаразы снижается в большей степени у рачков III-го поколения, по сравнению с материнской линией, демонстрируя аккумуляцию токсического эффекта (Папченкова и др., 2009).

Изменение физиолого-биохимических показателей (угнетение питания и оксидативный стресс, сопровождающийся повышением активности антиоксидантных ферментов, и увеличение уровня перекисного окисления липидов) отмечены у *D. magna*, экспонированной в речной воде спустя 12 дней после применения гербицида (Puertolas et al., 2010).

У амфипод *Hyalella castroi* 7-суточная экспозиция в Раундапе концентрацией 0.46–2.16 мг/л по глифосату значительно снижала содержание гликогена, белков, липидов, запасных триглицеридов, холистерола,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азную активность, а также уровень перекисного окисления липидов. Кроме того, уровень выживаемости рачков снижался в 2 раза, количество спариваний, беременных самок и оплодотворенных яиц стало равным нулю (Dutra et al., 2011). При действии Раундапа на олигохет *Lumbriculus variegatus* выявлена биоаккумуляция глифосата в организме червей, при этом активность супероксиддисмутазы увеличивалась, указывая на оксидативный стресс (Contardo-Jara et al., 2009). Экспозиция полихет *Laeonereis acuta* в растворе Раундапа в (3.25 и 5.35 мг/л) в течение 24 и 96 ч приводила к ингибированию холинэстеразы, снижению количества активных форм кислорода (ROS) и показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Tarouco et al., 2017). В то же время активность ферментов антиоксидантной защиты (каталаза, супероксиддисмутаза (SOD), глутатион-S-

трансфераза (GST), глутатионпероксидаза (GPx) и глутаматцистеинлигаза) у полихет не изменялась при экспозиции к гербициду.

В острых опытах на креветках *C. nilotica* показано, что значения 48-ч и 96-ч LC<sub>50</sub> зависят от возраста: у креветок в возрасте менее 7 дней они составляют 4.5 мг/л и 2.5 мг/л, для особей старше 40 дней – 37 мг/л и 25 мг/л соответственно. При этом было отмечено нарушение двигательной активности *C. nilotica* с ростом концентрации Раундапа (Mensah et al., 2011).

Глифосат в концентрации 0.1–10 мг/л влияет на размножение и развитие американской ребристой улитки *Pseudosuccinea columella* (Tate et al., 1997). В экспериментах на прудовике обыкновенном *Lymnaea stagnalis*, роговой катушке *Planorbarius corneus*, живородке обыкновенной *Viviparus viviparus*, показано, что в присутствии Раундапа в концентрации 0.05, 0.1 и 0.2 мг/л (составляющие 1/8, 1/4 и 1/2 LC<sub>50</sub> 24-ч) у всех изученных видов увеличивалось содержание каротиноидов в тканях и повышалась интенсивность потребления кислорода и выделения углекислого газа (Пузаткина, 2007). Изменение дыхательного коэффициента позволило предположить, что эти моллюски способны подключать дополнительные механизмы к процессам аэробного дыхания, что определяет устойчивость организмов к неблагоприятным изменениям состояния среды обитания (Пузаткина, 2007). Высокая чувствительность холинэстеразы к действию глифосата показана в мышцах мидий *Perna perna* (Sandrini et al., 2013). В экспериментах на моллюске бороздчатый петушок *Ruditapes decussatus* установлено, что Раундап в концентрации 25 мг/л подавляет развитие болезни, вызванной одноклеточным паразитом *Perkinsus olseni*, свидетельствуя о цитотоксическом влиянии гербицида. Однако при совместном действии Раундапа и зараженности паразитами наблюдалась более высокая смертность моллюсков, чем при действии каждого из этих факторов отдельно (Elandalloussi et al., 2008). Раундап в концентрациях 2 и 10 мкг/л повышает активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в жабрах и пищеварительной железе двустворчатого моллюска корбикулы *Corbicula fluminea*, что свидетельствует о наличии высокотоксичных кислородных радикалов в тканях (Dos Santos, Martinez, 2014). При этом смесь Раундапа и Атрацина в тех же концентрациях нарушает целостность ДНК в гемоцитах, тогда как отдельное действие гербицидов подобных эффектов не вызывало.

**У рыб**, являющихся хорошим биоиндикатором загрязнения водной среды, Раундап вызывает целый спектр поведенческих (Hildebrand et al., 1982; Nwani et al., 2010; Okayi et al., 2010; Filizadeh, Rajabi Islami, 2011), морфологических (Szarek et al., 2000; Жиденко, Коваленко, 2006; Langiano, Martinez, 2008; Rossi et al., 2011; Ayanda, Egbamuno, 2012; Shiogiri et al., 2012; Murussi et al., 2015; Da Cruz et al., 2016; Zhang et al., 2017), иммунологических (El-Gendy et al., 1998; Richard et al., 2014) и физиолого-биохимических изменений (Langiano, Martinez, 2008; Жиденко и др., 2009; Cattaneo et al., 2011; Fan et al., 2013; Nwani et al., 2013; Richard et al., 2014; Loro et al., 2015). Раундап может влиять на синтез гормонов (Webster et al., 2014) и размножение (Soso et al., 2007; Narayashiki et al., 2013), снижать устойчивость к инфекциям (Kelly et al., 2010; Kreutz et al., 2011), изменять энергетический метаболизм (Menendez-Helman et al., 2015), оказывать мутагенный и генотоксический эффекты (Cavalcante et al., 2008; Guilherme et al., 2012; Filho et al., 2013a; Filho et al., 2013b; Ghisi, Cestari, 2013; Kier, Kircland, 2013; Vera-Candioti et al., 2013; Moreno et al., 2014).

Значения 96-ч  $LC_{50}$  Раундапа для большинства видов рыб находятся в диапазоне 2–50 мг/л в зависимости от вида, стадии жизненного цикла и условий эксперимента (Giesy et al., 2000; Jiraungkoorskul et al., 2002; Langiano, Martinez, 2008; Nwani et al., 2010; Filizadeh, Rajabi Islami, 2011). У 4-х видов рыб: радужной форели, черного толстоголова *Pimephales promelas*, канального сомика *Ictalurus punctatus* и синежаберника 96-ч  $LC_{50}$  варьирует от 2.3 мг/л у черного толстоголова до 13 мг/л у канального сомика (Folmar et al., 1979). По данным других авторов для радужной форели они составляют от 86 до 168 мг/л (Smith, Oehme, 1992). Для молоди радужной форели 96-ч  $LC_{50}$  Раундапа варьируют в диапазоне от 4.2 до 52 мг/л (Giesy et al., 2000), при этом в полевых условиях показано, что этот вид может избегать высоких концентраций гербицида (Hildebrand et al., 1982). Значения 96-ч  $LC_{50}$  гербицида Rodeo для рыб паку *Piaractus mesopotamicus*, уругвайского фалощера *Phallocerus caudimaculatus*, серпаса вуалевого *Hypheosobrycon eques* и данио рерио *Brachydanio rerio* были одинаковы и составили 975 мг/л (Da Cruz et al., 2016). Значения 96-ч  $LC_{50}$  Раундапа у *C. carpio* равны 22.19 мг/л (Gholami-Seyedkolaei et al., 2013a), 96-ч  $LC_{50}$  глифосата у гибридов сурубима *Pseudoplastoma* sp. – 15 мг/л (Sinhorin et al., 2014b). По токсичности составляющие гербицида можно расположить в ряд: РОЕА > Раундап > глифосат. Так у радужной форели значения 96-ч  $LC_{50}$  РОЕА составляют 0.65–7.4 мг/л, Раундапа – 8.2–27 мг/л, глифосата – 140–240 мг/л

(Giesy et al., 2000). В то же время полагают, что токсичность глифосата вызвана, главным образом, его высокой кислотностью (Tsui, Chu, 2003)

**Ряд морфологических нарушений** в различных органах карпа выявлен при действии Раундапа в концентрации 0.004 мг/л (Жиденко, Коваленко, 2006; Жиденко и др., 2009; Жиденко и др., 2015). При действии Раундапа на грудных и брюшных плавниках двухлеток карпа образуются сетчатые кровоизлияния, на внешних покровах выявлены язвы, отеки, геморрагии (Жиденко и др, 2015). Возможным механизмом наблюдаемых изменений является разрушение верхней оболочки эпидермиса, содержащей слизевые клетки, вырабатывающие прозрачный секрет. Слизь и кожа – это первая линия защиты, которая под действием глифосата подвергается деструкции. Нарушения морфологических показателей у двухлеток карпа наиболее существенны под действием Раундапа, что связано с химической природой гербицида и хорошей его растворимостью в воде (Жиденко, 2008а).

Через 14 суток нахождения рыб в среде с Раундапом выявлено нарушение структуры мышечных волокон, неупорядоченное их расположение, в некоторых участках обнаружено отсутствие поперечной полосатости: лизис телофрагмы и мезофрагмы (Жиденко и др., 2015). К ответной реакции на действие глифосата относятся также пучеглазие и желтоватая окраска брюшной поверхности тела рыбы, что может быть следствием количественных изменений эритроцитов, гемоглобина и промежуточных продуктов его расщепления – биливердина и билирубина. Действие Раундапа на скелет рыб приводит к просветлению черепа и увеличению мягкости и гибкости костей. Резорбция костей черепа рыб приводит к тем же последствиям, что и у млекопитающих (увеличению содержания катионов кальция в крови) (Жиденко и др, 2015). Под действием Раундапа тургор мышц карпа снижался, что наиболее характерно для двухлеток, а масса тела уменьшилась на 8.6 % (Жиденко, 2008b).

Наибольшие изменения при действии Раундапа (2 мкг/л) отмечены в печени карпа, скелетной мускулатуре, в меньшей степени – в кишечнике, патологические изменения в жабрах и мозге – незначительны (Жиденко, Коваленко, 2006; Жиденко, 2007). При этом показано увеличение размеров печени и бледность ее окраски (в норме ее цвет темно-вишневый). Гистологические изменения в печени карпа, связанные с зернистой и вакуольно-капельной дистрофией, приводят к отмиранию гепатоцитов, некротическим изменениям и, как следствие, к функциональной недостаточности печени, появлению

желчных камней. Гипотрофия мышечных волокон под влиянием Раундапа приводит к деструктивным изменениям скелетной мускулатуры и к увеличению количества водорастворимых и снижению уровня нерастворимых белков в мышцах карпа (Жиденко и др., 2009; Жиденко и др., 2015). Морфофункциональные изменения в тканях кишечника после 7 сут. пребывания в условиях гербицидной нагрузки отсутствуют, через 14 сут. отмечен выраженный отек слизистой оболочки. В кишечнике визуально отмечалось наличие желчных камней зеленоватого цвета и карбонатов кальция – белого. Причиной их образования может быть химическое строение гербицида. Возможно также образование холестериновых желчных камней вследствие снижения концентрации желчных кислот ниже критического уровня и выпадение холестерина в осадок при патологических изменениях печени. В результате нарушения проходимости желчных протоков, желчный пузырь увеличен в размерах, а желчь изменила цвет (Жиденко, Коваленко, 2006; Жиденко, 2007). Аналогичный токсический эффект показан для *Danio rerio* при действии Раундапа в концентрациях 67.7, 135.4, 270.8 мкг/л и эффект усиливался с увеличением концентрации гербицида (Goulart et al., 2015). Ростовые показатели, размер головы и глаз мальков *D. rerio*, подверженных действию глифосата в диапазоне концентраций от 10 мг/л до 600 мг/л, были существенно ниже, чем у рыб, содержащихся в отсутствие гербицида. Кроме того, у рыб опытной группы были нарушены локомоторные функции (Zhang et al., 2017). Гистологические нарушения жабр и печени (в ряде случаев необратимые) выявлены у гигантской гудеи *Goodea atripinnis* при 75 сут экспозиции в глифосатсодержащем гербициде Yerbimat в сублетальной концентрации 1 мг/л, составляющей 1/40 от LC<sub>50</sub> 96-ч (Ortiz-Ordonez et al., 2011).

При остром 96-ч воздействии гербицида Родео в концентрации 925 мг/л на *P. mesopotamicus*, *P. caudimaculatus*, *H. eques* и *D. rerio* выявлены различные гистологические нарушения жабр, печени и почек, однако они были обратимы, за исключением некроза печени у *P. caudimaculatus* (Da Cruz et al., 2016). Экспозиция взрослых самок гуппи *Poecilia reticulata* в течение 24 ч в растворе Roundup Transorb в концентрации 1.8 мг/л (по глифосату) вызывает гистопатологические изменения в печени, связанные с изменениями в цитоскелете и энергетическом обмене, повреждением тканей и гибелью клеток (Dos Santos et al., 2017). Протеомный анализ

показал, что эти нарушения тесно связаны с изменением экспрессии 18-и белков, связанных с клеточной структурой, энергетическим метаболизмом и апоптозом.

Экспозиция карпа в растворе Раундапа концентрацией 205 и 410 мг/л (по глифосату) приводила к появлению миелиноподобных структур в гепатоцитах карпа, разбуханию митохондрий и нарушению их внутренней мембраны (Szarek et al., 2000). Экспозиция савало *Prochilodus lineatus* в сублетальной концентрации Раундапа 10 мг/л вызывала ряд гистологических нарушений в печени: застой желчи, гиперемию и появление вакуолей в цитоплазме и ядрах (Langiano, Martinez, 2008). У нильской тилляпии *Oreochromis niloticus*, экспонированной в растворе Раундапа концентрацией 36.8 мг/л, отмечен ряд гистопатологических изменений в жабрах (пролиферация клеточных филаментов, гиперплазия ламелярных клеток, истончение и слущивание эпителия), печени (увеличение числа вакуолей в гепатоцитах и уменьшение размера ядер) и почках (аккумуляция гиалиновых капель в эпителиальных клетках канальцев) (Jiraungkoorskul et al., 2002). У молоди африканского сомика *Clarias gariepinus* отмечены гистопатологические изменения в жабрах, печени, почках и мозге при экспозиции в растворе глифосата концентрацией 19–455 мг/л (Ayoola, 2008). Раундап в концентрации 3–4.5 мг/л вызывает ряд морфологических нарушений у *P. mesopotamicus* в жабрах и печени, которые могут снижать скорость детоксикации и репарации тканей, и приводить к гибели рыб (Shiogiri et al., 2012). Отмечены существенные количественные изменения в составе микробоценозов кожи, жабр, кишечника карпа при действии Раундапа и установлена их индикаторная значимость (Барбухо, 2014).

Хроническое 30-и сут действие Раундапа в сублетальной концентрации 2 мкг/л приводит к изменению ультраструктуры лейкоцитов иммунокомпетентных органов (почки, селезенка и печень) у молоди головешки-ротана *Perccottus glenii* (Заботкина и др., 2016). Выявлено повреждение структуры митохондрий и накопление гранул гликогена в цитоплазме гранулоцитов. Изменение количества и размеров специфичных гранул в гранулоцитах (нейтрофилах и эозинофилах) происходит одновременно с появлением фагосом в цитоплазме клеток, что свидетельствует об усилении реакций неспецифического иммунитета. Расширение каналов шероховатого эндоплазматического ретикулума в плазматических клетках почек и селезенки свидетельствует об усилении синтетической активности плазматических клеток (Заботкина и др., 2016).

Выявлена зависимость токсичности глифосата от **возраста рыб** (Folmar et al., 1979; Jiraungkoorskul et al., 2002; Жиденко, 2007; Барбухо, 2014). На примере радужной форели и канального сомика показана большая токсичность Раундапа для ранних стадий развития рыб: икра более чувствительна к действию гербицида по сравнению со свободноплавающими личинками и мальками этих видов (Folmar et al., 1979). Значения  $LC_{50}$  Раундапа для молоди нильской тилляпии составили 16.8 мг/л, у взрослых особей – 36.8 мг/л соответственно, указывая, что взрослые рыбы более устойчивы к Раундапу, чем молодь (Jiraungkoorskul et al., 2002).

Значительное снижение жизнеспособности икры и нарушение продолжительности эмбриогенеза выявлено у карпа, содержавшегося в растворах глифосата концентрацией от 0.01 до 80 мг/л (Барбухо, 2014), при этом токсичность зависит от стадии эмбриогенеза (личинки наиболее чувствительны к действию гербицида).

При исследовании трех возрастных групп карпа (мальков, сеголетков и двухлетков) установлено, что наибольшее негативное влияние гербицид оказывает на двухлетков, повреждая внешние покровы тела и уменьшая содержание сухого вещества мышц (Жиденко, 2007). При этом наблюдалось снижение почти в 11 раз концентрации нерастворимых белков в мышцах, что проявлялось в заметной рыхлости тканей мускулатуры. У сеголетков и мальков, в связи с более интенсивным характером обмена, детоксикация ксенобиотика происходит быстрее и негативные последствия менее выражены (Жиденко, 2007).

Целый ряд работ касается острого и хронического действия Раундапа на **метаболические и гематологические параметры рыб**. В качестве биомаркера пестицидного загрязнения часто используют фермент АХЭ, участвующий в нейротрансдукции в холинергических синапсах в центральных и периферических отделах нервной системы. В ряде работ показано отсутствие эффектов Раундапа на активность АХЭ. Так, Раундап в концентрации 0.003, 0.006 мг/л не меняет активность АХЭ в мышцах и печени тропической пресноводной рыбы астинакс *Astyanax sp.* (Rossi et al., 2011). У пятнистой рамдии *Rhamdia quelen* при остром 96-ч действии Раундапа в концентрациях 0.2 и 0.4 мг/л изменения активности АХЭ в мышечной ткани отсутствуют, активность каталазы в печени также не меняется (Gluszczak et al., 2007). Однако, более высокая концентрация глифосата 6.5 мг/л, которой были подвержены икра и личинки рамдии, снижала деятельность антиоксидантной системы, а также

ингибировала действие АХЭ (Sobjak et al., 2017). У самцов *D. rerio* экспозиция к 5 или 10 мг/л глифосату в течение 24 и 96 ч не изменяла активность АХЭ в мышцах и мозге (Lopes et al., 2016). Тем не менее, экспрессия гена этого фермента в головном мозге была снижена через 24 ч и усиливались в мозге и мышцах после 96 ч экспозиции.

В то же время в 96-ч остром опыте установлено, что Раундап в концентрациях 3, 6, 10 и 20 мг/л достоверно снижает активность АХЭ в мозге рыбы бога *Leporinus obtusidens* на 17–42%, но не изменяет её в мышцах (Gluszczak et al., 2006). В печени рыб отмечено снижение уровня белков и лактата, а также увеличение уровня гликогена, глюкозы и продукта разложения белков – аммиака, что говорит о включении компенсаторных механизмов выработки энергии, необходимой для детоксикации организма. В мышечной ткани рыбы бога, наоборот, уровень глюкозы и гликогена понижается, а лактата и белков не меняется (Gluszczak et al., 2006). У данио *D. rerio* и дженинсии *Jenynsia multidentata* в исследованиях *in vitro* показано снижение уровня АХЭ в мышцах и мозге в присутствии глифосата в концентрации 0.075–15 ммоль (Sandrini et al., 2013). При остром 96-ч действии Раундапа в концентрациях 0.2 и 0.4 мг/л отмечено снижение активности АХЭ в мозге пятнистой рамдии (Gluszczak et al., 2007).

На примере карпа, экспонированного в сублетальном растворе Раундапа (2 мг/л) в течение 16 сут. были выявлены оптимальные условия восстановления организма по уровню активности АХЭ, минимальному уровню повреждений ДНК, активности аланин- и аспартат- аминотрансфераз в сыворотке плазмы: длительность периода – 20 сут., температура 20°C, процент смены воды 25, соленость воды 6 ‰ (Gholami-Seyedkolaei et al., 2013b). Значительное разрушение ДНК при действии Раундапа в концентрации 6.67 мкг/л в течение 3, 6 и 9 дней показано в клетках крови и печени крапчатого сомика *Corydoras paleatus* (Ghisi, Cestari, 2013).

У двух видов рыб (анабаса *Anabas testudineus* и мешкожаберного сома *Heteropneustes fossilis*) 30-сут экспозиция в растворе гербицида Excel Mera 71 (17.2 мг/л) приводила к повышению активности АХЭ (мозг и мышцы), каталазы и уровня ПОЛ (мозг, мышцы, печень, жабры), при этом содержание белка во всех тканях снизилось (Samanta et al., 2014). Кратковременная 96-ч экспозиция в глифосат содержащем гербициде Yerbimat (4 и 8 мг/л) выявила снижение активности каталазы в жабрах (но не в печени), истощение запасов гликогена в печени, а также увеличение показателей ПОЛ

в жабрах и печени, свидетельствуя о развитии оксидативного стресса у *G. atripinnis* (Ortiz-Ordonez et al., 2011).

Значительное снижение активности АХЭ в мозге и в мышцах отмечено у савало при 96-ч экспозиции в растворе Раундапа (1, 5 и 10 мг/л); при 24-ч и 96-ч экспозиции установлено увеличение количества лейкоцитов в крови рыб; в 6-ч и 24-ч опыте показано проявление признаков оксидативного стресса (Modesto, Martinez, 2010 a,b). Нарушения ДНК в клетках жабр и эритроцитах крови у савало, выявленные при 96-ч действии гербицида в концентрациях 1 и 5 мг/л, свидетельствуют о генотоксическом эффекте (Moreno et al., 2014). Нарушения в клетках жабр и эритроцитов савало отмечены также и при 96-ч воздействии Раундапа в концентрации 10 мг/л (Cavalcante et al., 2008).

Снижение активности АХЭ в мозге и мышцах карпа отмечено при 96-ч действии Раундапа в концентрациях 0.5, 2.5, 5.0 и 10 мг/л, однако после 96-ч содержания рыб в чистой воде активность фермента восстанавливается. Однако, уровень тиобарбитурата, являющегося показателем оксидативного стресса, увеличивался в период острого действия Раундапа и оставался повышенным в период восстановления в чистой воде (Cattaneo et al., 2011).

96-ч действие Раундапа в концентрации 1–35 мг/л вызывало снижение активности АХЭ на 23–36% у пятнистого кнестеродона *Cnesterodon decemmaculatus* уже при минимальной из исследованных концентраций (Menendez-Helman et al., 2012). При 16-дневной экспозиции в Раундапе (3.5, 7 и 14 мг/л) снижение активности АХЭ в мышцах, мозге и печени у карпа отмечено уже на 5 день (Gholami-Seyedkolaei et al., 2013a). При этом обнаружен концентрационно- и время-зависимый эффект увеличения количества и объема эритроцитов. Однако, уровень гемоглобина, гематокрит и количество красных и белых кровяных клеток падало. Активность аспартат-аминотрансферазы, аланин-аминотрансферазы и лактат-дегидрогеназы была существенно выше у рыб, подверженных действию гербицида (Gholami-Seyedkolaei et al., 2013a).

Действие Раундапа в течение 96-ч приводит к снижению всех гематологических показателей: уровня гематокрита, эритроцитов, гемоглобина, белков плазмы крови, исключая уровень лейкоцитов (Gluszczak et al., 2006). Аналогичные изменения гематологических показателей и активности АХЭ в мозге и мышцах были показаны для рыбы бога при действии Раундапа в концентрации 5 мг/л в течение 90 дней (Salbego et

al., 2010). При этом выявлено негативное влияние Раундапа на ростовые и весовые показатели сеголетков рыбы бога. У пятнистой рамдии при остром 96-ч действии Раундапа в концентрациях 0.2 и 0.4 мг/л отмечено снижение уровня гликогена в печени и увеличение его в мышцах, снижение количества глюкозы в мышцах и печени (Gluszczak et al., 2007).

30-сут экспозиция в растворе Раундапа (2 мкг/л) и повышение температуры воды со скоростью 8°C/ч изменяют показатели красной и белой крови у молоди ротана (Заботкина и др., 2016). Соотношение зрелых и незрелых эритроцитов в периферической крови не меняется при действии изученных факторов. Повышение температуры после хронической экспозиции к Раундапу приводило к уменьшению размеров клеток красной крови и росту доли клеток с патологическими изменениями. Экспозиция в растворе гербицида и нагрев воды оказали противоположное действие на количество амитозов в эритроцитах и соотношение лейкоцитарных клеток, при совместном действии факторов выявлен антагонистический эффект. Анализ лейкоцитарной формулы показал, что при нагреве возрастает доля лимфоцитов и незрелых форм нейтрофилов, относительное количество бластных клеток и зрелых нейтрофилов уменьшается. При действии Раундапа отмечена лимфопения и нейтрофилия (в основном за счет резкого увеличения количества метамиелоцитов), а также возрастание доли бластных клеток. Совместное действие Раундапа и нагрева приводит к увеличению доли лимфоцитов и уменьшению суммарной доли гранулоцитов в крови, но общая тенденция изменения соотношения клеток остается характерной для действия токсиканта. Изменения в белой крови соответствуют неспецифической реакции на стрессовое воздействие, изменения в красной крови свидетельствуют о снижении компенсаторных реакций на тканевую гипоксию (Заботкина и др., 2015).

Раундап в концентрации 0.73 мг/л при 96-ч воздействии изменяет параметры крови (снижение количества эритроцитов, тромбоцитов и лимфоцитов) у пятнистой рамдии и снижает активность естественных иммунных механизмов, что может приводить к заражению рыб (Kreutz et al., 2011). Снижение количества гемоглобина и лейкоцитов крови, а также изменения концентрации серогликоидов, креатинина и хлоридов в сыворотке крови и печени двухлеток карпа отмечено при повышении концентрации глифосата в воде (Барбухо, 2014). Изменение гематологических показатели у молоди карпа выявлено в условиях хронического 21 сут. действия Раундапа в концентрации 4

мкг/л (Жиденко, 2008а). В течение первых 7 суток в крови карпа отмечено снижение количества эритроцитов на 61% и гемоглобина на 21%, а затем с 7 по 21 сутки происходила стабилизация состояния рыб, о чем свидетельствуют незначительные изменения величины основных показателей крови – в пределах 10% по сравнению с контролем (Жиденко, 2008а).

Хроническая экспозиция к Раундапу (4 мкг/л) приводит к изменению некоторых показателей углеводного обмена у двухлеток карпа (Жиденко и др., 2009). В жабрах экспонированных к Раундапу рыб активность лактатдегидрогеназы повышалась в 8.2 раза, в то время как в мышцах, печени и мозге не отличалась от контроля. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в жабрах, печени и белых мышцах достоверно превышала контроль в 6.4, 1.3 и 2.9 раза соответственно. При этом отмечено снижение концентрации глюкозы в мозге и печени карпов, а также снижение активности цитоплазматической глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-Фаза) в печени. Увеличение активности лактатдегидрогеназы (гликолиз) и митохондриальной изоцитратдегидрогеназы (цикл Кребса) способствует поддержанию необходимого уровня АТФ в организме рыб (Жиденко и др., 2009). Действие Раундапа (4 мкг/л) вызывает снижение количества общего белка и увеличение водорастворимых белков в печени и мышцах двухлеток карпа, а также достоверное уменьшение концентрации нерастворимых белков в печени (Жиденко, 2007).

Глифосат в концентрации 15 мг/л в 96-ч опытах вызывал повышение содержания тиобарбитуратов и белковых карбониллов в печени и мышцах гибридов сурубима и снижал уровень антиоксидантной активности (Sinhorin et al., 2014b), в концентрациях 2.25–7.5 мг/л снижал содержание глюкозы в плазме крови и повышал его в печени, уменьшал количество холестерина (Sinhorin et al., 2014a). Изменение количества тиобарбитуратов в печени и мозге рыбы бога отмечено при 96-ч экспозиции в глифосатсодержащем гербициде в концентрации 3–20 мг/л (Gluszczak et al., 2011).

Увеличение концентрации глюкозы в плазме крови у савало при сублетальной концентрации Раундапа 10 мг/л указывает на типичную стресс реакцию, увеличение активности каталазы предполагает активацию антиоксидантной системы (Langiano, Martinez, 2008).

При совместном действии гербицидов Гексарон и Раундап, которые часто используются одновременно, отмечено большое количество изменений в ядрах клеток

крови, а также нарушения мембран жаберных клеток у пресноводного астианакса (Rossi et al., 2011). Экспозиция европейского угря *Anguilla anguilla* в растворе Раундапа (58 и 116 мкг/л) в течение 1 и 3 дней вызывала нарушение клеточной структуры эритроцитов, оксидативный стресс, разрыв нитей ДНК. Кроме того, 1 и 3 сут. экспозиция в растворе глифосата вызывает нарушения ДНК в клетках жабр, печени и крови рыб (Guilherme et al., 2010, 2012).

При действии Раундапа (2.5–20 мг/л) на серебряного карася *Carassius auratus* в течение 96-ч выявлены изменения показателей антиоксидантной системы: снижение активности SOD, GST, глутатионредуктазы и Г-6-ФДГ в тканях; однако уровень ПОЛ в почках повышался в 3.2 раза, в мозге и печени не изменялся, а активность каталазы повышалась в тканях печени и почек (Lushchak et al., 2009). У савало при 6-ч и 24-ч экспозиции в растворе Раундапа (1 и 5 мг/л) показано проявление признаков оксидативного стресса (Modesto, Martinez, 2010a). Спустя 6 часов экспозиции в гербициде отмечено снижение активности SOD, каталазы и GST в печени. Вероятно, снижение активности этих ферментов связано с процессами ПОЛ, которые возвращаются к контрольному уровню спустя 24 и 96 ч после экспозиции в гербициде, о чем свидетельствует повышение активности GPx и содержания глутатиона (GSH) (Modesto, Martinez, 2010a).

Изменение активности антиоксидантных ферментов и нарушение ДНК в клетках крови и жабр пятнистого змееголова *Channa punctatus*, свидетельствующие об индукции оксидативного стресса, выявлены при действии сублетальных концентраций Раундапа 3.25, 4.07, 6.51 мг/л (Nwani et al., 2013). При кратковременной (8 сут.) экспозиции в растворе Раундапа (0.45 и 0.95 мг/л) выявлены изменения антиоксидантных ферментов в печени, мышцах и мозге пятнистой рамдии (De Menezes et al., 2011). Последующее пребывание в чистой воде в течение 8 сут. приводит к снижению активности каталазы и супероксиддисмутазы, свидетельствуя о токсическом эффекте гербицида, а увеличение активности глутатион-S-трансферазы указывало на компенсаторные изменения (De Menezes et al., 2011).

При 7 сут. экспозиции серебряного карася в растворах РОЕА, ИПА и Раундапа в концентрациях 0.16, 0.032 и 0.0064 мг/л увеличивалось количество гидроксильных радикалов в клетках печени в присутствии Раундапа на 43–111%, ИПА на 90–124%, РОЕА на 142–157%, подтверждая большую токсичность РОЕА по сравнению с ИПА и

Раундапом. Количество малонового диальдегида, который является маркером перекисного окисления и оксидативного стресса увеличивалось при всех концентрациях Раундапа, при концентрации 0.16 мг/л ИПА и 0.032 мг/л РОЕА, что приводило к ингибированию АХЭ в печени на протяжении всего эксперимента (Fan et al., 2013).

В работе посвященной *in vitro* влиянию Раундапа в концентрации 0.01–100 мкг/л на активность пищеварительных пептидаз слизистой оболочки карпа, густеры *Blicca bjoerkna*, плотвы *Rutilus rutilus*, судака *Sander lucioperca* и щуки *Esox lucius* установлено, что тормозящий эффект Раундапа, в большинстве случаев, зависит от концентрации гербицида и увеличивается с её ростом. Наиболее устойчивы к действию Раундапа – пептидазы карпа и щуки (Тарлева и др., 2014).

На примере нильской тиляпии *Tilapia nilotica* установлены генотоксические эффекты глифосата – повреждение хромосом в эритроцитах рыб (Grisolia, 2002) и показано снижение иммунитета (El-Gendy et al., 1998). При хроническом действии Раундапа в концентрации 130 и 700 мкг/л в течение 96-ч установлено снижение качества сперматозоидов, нарушение клеточной мембраны сперматозоидов, целостности ДНК, снижение функций митохондрий, а также подвижности клеток у самцов пецилии *Poecilia vivipara* (Harayashiki et al., 2013). Сходные эффекты выявлены у самцов *D. rerio* при 24-ч и 96-ч экспозиции к Раундапу в концентрации 5 и 10 мг/л (Lopes et al., 2014). Раундап в концентрации 10 мг/л снижал в 1.5 раза количество икринок у данио-рерио, стимулировал преждевременный выклев мальков и повышал смертность эмбрионов на 10% по сравнению с контролем (Webster et al., 2014). Нарушения ДНК в клетках жабр и эритроцитах крови у савало, выявленные при 96-ч действии гербицида в концентрациях 1 и 5 мг/л, свидетельствуют о генотоксическом эффекте (Moreno et al., 2014).

Изучение молекулярных механизмов токсичности Раундапа выявило изменения профиля транскриптов в клетках печени кумжи *Salmo trutta*, связанные с активацией системы клеточного стресс-ответа, увеличением клеточной пролиферации, скорости обновления клеток и ускорением метаболизма (Webster, Santos, 2015). Особенно важно, что изменения экспрессии транскриптов обнаружены у рыб, экспонированных в низких, близких к природным, концентрациях (0.01 мг/л) гербицида.

Чувствительность земноводных к глифосатсодержащим пестицидам также варьирует, при этом значения 48-ч LC<sub>50</sub> составляют от 2.9 до 16.1 мг/л (для некоторых видов > 360 мг/л) (Mann, Bidwell, 1999; Giesy et al., 2000). Для головастиков 4-х видов

австралийских лягушек: зимней кринии *Crinia insignifera*, стонущей норницы *Heleioporus eyrei*, лягушки-быка *Limnodynastes dorsalis*, синеногой литории *Litoria moorei* значения 48-ч LC<sub>50</sub> Раундапа (по глифосату) находятся в диапазоне от 2.6 до 13 мг/л, для взрослых особей *C. insignifera* составляют 49 мг/л (Mann, Bidwell, 1999). В тоже время токсичность Roundup Biactive для этих видов была крайне низка: 48-ч LC<sub>50</sub> была выше 360 мг/л (Mann, Bidwell, 1999).

Снижение выживаемости личинок бородавчатого лопатонога *Spea multiplicata* и равнинного лопатонога *Spea bombifrons* отмечено при хроническом 30 сут. действии Roundup Weather MAX. Все личинки равнинного лопатонога погибали на 2-й день при концентрации 2.8 мг/л, а при концентрации 2 мг/л выживали до 11-го дня. Личинки бородавчатого лопатонога погибали на 5-ый день при концентрации 2.8 мг/л, а при концентрации 2 мг/л на 30 сут. выжило лишь 20% личинок (Dinehart et al., 2010).

У головастиков амфибий *Physalaemus cuvieri* при хроническом действии Roundup Original в концентрации 2 мг/л отмечено увеличение размеров глаз и ноздрей по сравнению с контрольными особями (Costa, Nomura, 2016). У гладкой шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* действие Раундапа (0.5–7 ммоль) приводит к нарушению проницаемости мембран клеток и обмена ионов кальция, разрушению микротрубочек и микрофиламентов в клетках меланоцитов. Межклеточный транспорт нарушался, главным образом, из-за высокой кислотности гербицида (Hedberg, Wallin, 2010).

Генотоксический эффект глифосата был продемонстрирован с использованием микроядерного теста в эритроцитах периферической крови двух видов амфибий *Odontophrynus cordobae* и *Rhinella arenarum* (Bosch et al., 2011). Глифосат вызывает пороки развития у лягушачьих и куриных эмбрионов в концентрациях, значительно ниже, используемых для сельскохозяйственной обработки, и значительно ниже норм максимальных уровней остаточного содержания в продуктах, утвержденных в настоящее время в ЕС (Paganelli et al., 2010). Показано, что 0.8% раствор Раундапа индуцирует задержку образования бластулы у зародышей фиолетового морского ежа *Sphaerechinus granularis*, которая зависит от концентрации Раундапа; при использовании чистого глифосата этот эффект менее выражен (Marc et al., 2002).

У самцов кряквы *Anas platyrhynchos* добавление Раундапа (5 мг/кг и 100 мг/кг) в питьевую воду на протяжении 15 дней вызывает множественные поражения репродуктивных органов (уменьшение толщины эпителия семенных канальцев и

интерстициальной ткани на 4–12%, увеличение размера придатков яичка), снижение концентрации тестостерона в крови на 90% (Oliveira et al., 2007).

Поступление с водой 1000 мг/кг глифосата с 6 по 15 дни беременности вызывало смертность у 50% взрослых самок крыс (Wistar) и нарушения в формировании скелета плода (Dallegrave et al., 2003). У самцов крыс, получавших дважды в день Раундап с кормом в концентрации 269.9 мг/кг или глифосат в концентрации 134.95 мг/кг на протяжении 2 недель, отмечены признаки оксидативного стресса, нарушения деятельности антиоксидантной системы, а также необратимые повреждения гепатоцитов печени уже с первой недели приема, а действие Раундапа было сильнее по сравнению с глифосатом (El-Shenawy, 2009). Кормление крыс генномодифицированной Раундап-устойчивой кукурузой, обработанной Раундапом, в течение двух лет в 2 раза повышало смертность, при этом в печени крыс опытной группы в 2.5–5.5 раз чаще наблюдались некротические изменения, тяжелая нефропатия, опухоль молочной железы у самок (Seralini et al., 2012). Эксперименты 2-х летнего кормления крыс генетически устойчивой кукурузой (11% рациона), выращенной с применением Раундапа, выявили хроническую недостаточность почек у самцов и самок, некроз и гиперимию печени у самцов и увеличение смертности у самок. Добавление Раундапа в питьевую воду (0.1 мкг/л) в течение 2-х лет приводило к нарушению гормонального баланса и образованию злокачественных опухолей у крыс, как отдельно, так и при скармливании генномодифицированной кукурузы (Seralini et al., 2014). Глифосат в концентрации от 1 до 10000 мкг/л в течение 1–48 ч воздействия вызывал повреждения и дальнейший некроз клеток Лейдига и клеток Сертоли в семенных канальцах крыс (Clair et al., 2012). Скармливание мышам генетически модифицированных бобов, обработанных Раундапом, приводило к изменению функций митохондрий гепатоцитов и системы транскрипции и сплайсинга (Malatesta et al., 2008). Предположение о том, что обнаруженные нарушения могут быть связаны с попаданием остатков гербицида, подтвердилось с применением методов проточной цитометрии, флуориметрии и электронной микроскопии клеток гепатомы, у мышей, в пище которых присутствовал Раундап в концентрациях 1–10 мМ (Malatesta et al., 2008). Действие Раундапа в концентрации 36 мг/л в течение 30 минут вызывало окислительный стресс и гибель сустентоцитов, выстилающих извитые семенные канальцы, у самцов крыс препубертантного периода развития (Cavalli et al., 2013). Инфузия 75 мг/кг

изопропиламиновой соли глифосата влияет на гемодинамику и вызывает гибель поросят (Lee et al., 2009).

Раундап оказывает общетоксический эффект на человека, вызывая раздражение глаз, зуд кожи, сыпь, кашель, головную боль, тошноту и повышение кровяного давления (Сох, 2004). Глифосат был обнаружен в пробах мочи у 60% фермеров, применяющих этот гербицид на своих полях (Acquarella et al., 2004). На примере 2245 сельскохозяйственных работников, профессионально контактирующих с гербицидом, показана связь глифосата с риском развития ринита (Slager et al., 2009). У жителей Швеции в возрасте 18–74 лет выявлено, что контакт с глифосатом усиливает риск развития неходжкинской лимфомы – опухолевого заболевания лимфатической системы, представленного злокачественными В- и Т-клеточными лимфомами (Eriksson et al., 2008). Кроме того, показано действие Раундапа на клетки пуповинной крови новорожденных: через несколько часов эксперимента выявлена запрограммированная смерть клеток, разрушение мембраны и ДНК, нарушение клеточного дыхания при минимальной дозе (разведение 1 к 100 тысячам) гербицида (Benachour, Seralini, 2009). Экспозиция эритроцитов человека в растворе Раундапа увеличивает уровень метгемоглобина, перекисного окисления липидов (500 мг/л) и гемолиз (1500 мг/л) (Pieniazek et al., 2004).

Глифосатсодержащие гербициды Roundup, Bioforce, Grands Travaux в количествах, присутствующих в геномодифицированных продуктах, употребляемых человеком в пищу, могут вызывать нарушения в клетках эндокринной системы, цитотоксические и генотоксические эффекты (Richard et al., 2005; Gasnier et al., 2009). Добавление геномодифицированных продуктов в искусственные комбикорма может влиять на физиолого-биохимические показатели и репродуктивную функцию рыб (Ганжа и др., 2011).

Хорошо известно, что токсичность пестицидов зависит от ряда **биотических и абиотических факторов** (Fisher et al., 1991; Holmstrup et al., 2010; Rosenkrantz et al., 2013). Выше была продемонстрирована зависимость эффектов Раундапа от стадии жизненного цикла рыб (Folmar et al., 1979; Барбухо, 2014), возраста (Folmar et al., 1979; Giesy et al., 2000; Jiraungkoorskul et al., 2002; Жиденко, 2008b), видовой принадлежности (Giesy et al., 2000). Физиологическое состояние также может менять токсичность Раундапа. Так, Раундап в концентрации 0.36 мг/л не влиял на выживаемость молоди

галаксии *Galaxias anomalus*, в то время как у рыб, зараженных трематодой *Telogaster opisthorhis*, снижал выживаемость и вызывал деформации позвоночника. При этом наибольший выход церкариев трематод отмечен при экспозиции промежуточного хозяина – новозеландской улитки *Potamopyrgus antipodarum* – в растворе Раундапа концентрацией 3.6 мг/л (Kelly et al., 2010).

Влияние факторов окружающей среды (температура, pH, мутность, наличие пищи) на токсичность Раундапа было продемонстрировано на примере *C. dubia*. Увеличение pH (6–9) и мутности воды (0–200 мг/л) значительно повышает токсичность Раундапа, но изменение температуры (20–30°C) и наличие пищи не вызывают значительных эффектов (Tsui, Chu, 2003).

В то же время в экспериментах по влиянию тяжелых металлов на дафний *Daphnia carinata*, показано, что присутствие Раундапа снижает токсичность Cd, Hg и Ag, но не оказывает влияния на токсичность Se (Zalizniak, Nugegoda, 2006). В экспериментах с *C. dubia* также показано, что в присутствии Раундапа токсичность Ag, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn снижается, а Hg и Se не меняется (Tsui et al., 2005). При этом проницаемость для некоторых металлов, например, Ag в присутствии Раундапа снижается, а для Hg увеличивается.

Кроме того, наличие в растворе ионов Ca, Fe, Al, Zn и Mn снижает токсичность Раундапа, но не меняет её в присутствии ионов Na и K (Carlisle, Trevors, 1988). Установлено, что токсичность Раундапа для радужной форели и синежаберного солнечника возрастает при повышении температуры на 10°C (от 7 до 17°C и от 17 до 27°C соответственно) и значений pH от 6.5 до 7.5, но не от 8.5 до 9.5 (Folmar et al., 1979).

Жесткость воды, а также связывание с металлами (Ca, Fe, Al, Cu, Zn, Pb, Mn) и органическим углеродом в донных отложениях снижают токсичность Раундапа и его компонентов для гидробионтов (Wan et al., 1989; Tsui, Chu, 2004). Кроме того, глифосат может регулировать токсичность и биодоступность тяжелых металлов в почве, как это было показано на примере навозного червя *Eisenia fetida* (Zhou et al., 2012).

Стресс, возникающий в присутствии хищника, может усиливать токсический эффект Раундапа. На примере головастиков североамериканской лесной лягушки *Rana sylvatica* было показано двукратное увеличение смертности при 16 дневном действии Раундапа (0.1–20 мг/л по глифосату) в присутствии хищника – взрослых красных пятнистых тритонов *Notophthalmus viridescens* (Relyea, 2005).

**Основной механизм токсичности** Раундапа и глифосата связывают с генерацией окислительного стресса в организме (Langiano, Martinez, 2008; Luschak et al., 2009; Modesto, Martinez, 2010a; Cattaneo, 2011; Webster, Santos, 2015; Tarouco et al., 2017). При этом происходит нарушение обменных процессов и накопление в организме реактивных форм кислорода, таких как пероксиды и свободные радикалы, которые запускают механизм повреждения клеток. Развитие окислительного стресса включает окисление свободными радикалами жирных кислот, ДНК и белков. В результате этого в клетке образуются высокотоксичные продукты (альдегиды, спирты, кетоны), для нейтрализации действия которых подключается антиоксидантная система, представленная низкомолекулярными антиоксидантами (токоферол, аскорбиновая кислота, глутатион, некоторые аминокислоты и пептиды) и антиоксидантными ферментами (каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза и глутатионзависимые ферменты). Образующиеся перекиси липидов изменяют структуру и проницаемость мембран, изменяя активность мембранно-связанных ферментов, в том числе и лизосомальных.

Другой механизм токсичности Раундапа заключается в ингибировании АХЭ, играющей важную роль в синаптической передаче нервного импульса (Gluszczak et al., 2006; Sandrini et al., 2013; Tarouco et al., 2017). Кроме того, предполагают влияние глифосата на митохондриальную активность клеток животных, проявляющуюся в разобщении процессов окислительного фосфорилирования (WHO, 1994), а также на стероидогенез и гормоны роста (Walsh et al., 2000; El-Shebly, El-Kady, 2008).

Поступающие в организм ксенобиотики подвергаются биотрансформации при помощи связывания с компонентами, делающими их менее токсичными и облегчающими их выведение. У рыб первая фаза детоксикации ксенобиотиков связана с действием фермента цитохром P450 1A. Фаза 2 включает реакции конъюгации ксенобиотиков или их метаболитов для снижения уровня глутатиона под действием GST. Третья фаза, известная как, универсальный механизм устойчивости, связан с наличием транспортных белков (П-гликопротеинов), находящихся на цитоплазматической мембране и ускоряющих выведение вредных веществ из клеток. Эти белки найдены у некоторых моллюсков, в том числе и у корбикулы (Dos Santos, Martinez, 2014).

Несмотря на значительное количество сведений о негативном влиянии Раундапа на морфометрические и физиолого-биохимические показатели гидробионтов, крайне мало работ, в которых исследованы эффекты гербицида на пищеварительные ферменты (Голованова, Папченкова, 2009; Папченкова и др., 2009; Тарлева и др., 2014). Известно, что активность пищеварительных ферментов (трипсин, липаза, амилаза) и связанная с ними экспрессия генов могут изменяться при 60 сут. экспозиции карпа в сублетальных концентрациях трибутилтина (0.075, 0.75, 7.5 мкг/л). Снижение активности всех ферментов отмечено при концентрациях гербицида 0.75 и 7.5 мкг/л, а снижение уровня экспрессии генов кишечных ферментов отмечено уже при концентрации 0.075 мкг/л, которая часто определяется в природных водах (Li et al., 2014).

Поскольку гербициды, попадая в организм с водой и пищей, могут оказывать прямое и опосредованное влияние на процессы пищеварения, необходимы исследования по влиянию Раундапа на активность гликозидаз в пищеварительном тракте рыб и организме их кормовых объектов (беспозвоночных и молоди рыб) при разных значениях температуры и рН.

### 1.3 Переваривание углеводов у рыб

Ассимиляция пищи у большинства организмов становится возможной лишь после ее деструктирования и деполимеризации. Эти процессы у хордовых, в том числе и рыб, осуществляются в пищеварительных органах при действии различных ферментов, реализующий поэтапный гидролиз биополимеров до уровня мономеров, которые поступают во внутреннюю среду организма и участвуют в метаболизме. В переваривании углеводов принимают участие ферменты, называемые гликозидазами (Уголев, Кузьмина, 1993). Гликозидазы встречаются в клетках почти всех живых организмов, где выполняют множество разнообразных функций, одна из которых – разрушение гликозидных связей.

#### 1.3.1 Типы пищеварения

Система процессов, обеспечивающих ассимиляцию пищевых объектов, включает три фундаментальных этапа: питание, пищеварение и всасывание. По механизму действия ферментов на субстраты, а также их поступлению к месту функционирования, по отношению процессов пищеварения к клеточным мембранам и транспортным системам в настоящее время различают три основных типа пищеварения – внеклеточное дистантное (полостное), внутриклеточное и мембранное. Кроме того, выделяют еще два дополнительных типа пищеварения: симбионтное пищеварение и индуцированный аутолиз, реализуемые ферментами микробиоты и объектов питания (Уголев, Кузьмина, 1993).

**Внеклеточное дистантное пищеварение** характеризуется тем, что гидролитический эффект синтезированных секреторными клетками ферментов реализуется во внеклеточной среде. У позвоночных животных внеклеточное пищеварение происходит в специальных полостях далеко от секреторных клеток и обозначается как дистантное или полостное (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005). За счет этого механизма осуществляются начальные этапы деструкции биополимеров при помощи эндогидролаз. Основными особенностями дистантного пищеварения являются функционирование ферментов в водной фазе, произвольная ориентация их

активных центров по отношению к субстратам, вероятностный характер распределения различных ферментов.

**Внутриклеточное пищеварение.** В настоящее время выделяют два его типа. Первый реализуется за счет транспорта небольших молекул через клеточные мембраны и последующего их гидролиза ферментами цитозоля (Уголев, 1985). Второй тип связан со специализированными вакуолями, существующими постоянно или образующимися при фагоцитозе и пиноцитозе. Гидролизу пищевых субстратов предшествует соединение фаго- и пиноцитозных вакуолей с лизосомами. Механизмы взаимодействия ферментов и субстратов в образованных таким образом фагосомах близки описанным для дистантного пищеварения, поэтому этот тип может быть охарактеризован как микрополостной. Так как внутренняя поверхность мембран фагосом содержит гидролазы, микрополостной гидролиз может дополняться мембранным (Уголев, Кузьмина, 1993). После завершения пищеварения остатки фагосом путем эндоцитоза выбрасываются за пределы клетки. Поскольку внутриклеточное пищеварение лимитировано проницаемостью мембраны и процессами эндоцитоза (пино- и фагоцитоза), оно не играет существенной роли в процессах пищеварения у высших животных. Однако эндоцитоз является одним из механизмов ассимиляции пищи в период раннего постнатального развития, а также средством поступления в клетку некоторых уникальных веществ, в частности иммуноглобулинов.

**Пристеночное или мембранное пищеварение** осуществляется ферментами, локализованными на внешней поверхности клеточной мембраны. Этот тип пищеварения был открыт А. М. Уголевым в 1958 году. Ферменты макромолекул и пищевые субстраты с низкой молекулярной массой (различные олигомеры), продвигаясь к стенке кишечника с потоком воды и солей, попадают в зону щеточной каймы энтероцитов, где протекают процессы мембранного пищеварения. Апикальная поверхность энтероцитов образует многочисленные выросты – микроворсинки, совокупность которых создает щеточную кайму, являющуюся структурной основой мембранного пищеварения. Мембрана микроворсинок имеет типичное для плазматических мембран строение. Основным компонентом являются липиды, образующие вязкий двумерный растворитель, в который погружены белки как периферические, так и интегральные. Последние имеют гликопротеиновую природу. Углеводные компоненты гликопротеинов, входящих в состав некоторых мембран, достигают большого развития

и образуют особый слой – гликокаликс. В реализации процессов мембранного пищеварения участвуют две группы ферментов: 1) адсорбированные из полости кишечника и локализованные на структурах гликокаликса полостные гидролазы ( $\alpha$ -амилаза, липаза, трипсин, химотрипсин и др.), 2) собственно кишечные гидролазы (эстеразы, сахараза, мальтазы, пептидазы, щелочная фосфатаза и др.). Первые осуществляют промежуточные, вторые – заключительные этапы гидролиза пищевых субстратов (Уголев, 1972).

Особенно важным для процессов мембранного пищеварения оказывается то обстоятельство, что и собственно кишечные, и адсорбированные панкреатические ферменты локализованы на структурах щеточной каймы энтероцитов и их активные центры определенным образом ориентированы по отношению к субстратам, взаимодействие с которыми происходит при относительно стабильных условиях микросреды (Уголев, 1972). Особенности строения щеточной каймы и гликокаликса не только препятствуют поступлению в зону мембранного пищеварения крупных молекул и надмолекулярных агрегаций, но и создают особые физико-химические условия, в значительной мере меняющие характеристики ферментов. При этом пищевые субстраты вначале взаимодействуют с адсорбированными ферментами, затем по мере продвижения по гликокаликсному пространству к мембране претерпевают деполимеризацию и на поверхности последней подвергаются действию три- и димергидролаз, которые, гидролизуя субстраты до уровня мономеров (или других активно транспортируемых молекул), передают их на транспортные системы микроворсинок (Уголев, 1972).

**Симбионтное пищеварение** описывается как деполимеризация компонентов пищи ферментами микробиоты. Важная роль микробиоты заключается не только в разрушении легко гидролизуемых пищевых субстратов, так называемых первичных нутриентов, но и в деградации компонентов пищи (лигнин, пектин, целлюлоза, хитин и др.), не гидролизуемых ферментными системами рыб, в результате чего создается вторичный поток нутриентов. Вторичный поток нутриентов не только расширяет структурное разнообразие пищевых субстратов, но и поставляет многие жизненно важные компоненты – витамины, незаменимые аминокислоты и др. (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005).

**Индукцированный аутолиз** – это процесс расщепления структур пищевого объекта его собственными ферментами, которые активируются организмом-ассимилятором. При этом ионы водорода проникают внутрь пищевого объекта со скоростью примерно в 1000 раз выше, чем пищеварительные ферменты (Уголев, 1985). Под действием кислого желудочного сока происходит, во-первых, повышение проницаемости мембран, во-вторых, изменение активности гидролитических ферментов и, в-третьих, изменение состояния белков клеток и тканей, в частности повышение их чувствительности к действию ферментов. В отличие от поверхностного действия пищеварительных соков на пищевой объект, в случае индуцированного аутолиза имеет место «взрыв» тканей изнутри, поскольку аутолиз индуцируется по всей толще пищевого объекта.

При жизни животного, когда значения рН интрацеллюлярной среды близки к нейтральным, большинство лизосомальных ферментов, участвуя в процессах ограниченного протеолиза, обеспечивают деградацию различных компонентов клеток и выполняют регуляторные функции. В условиях закисления в клетках создаются оптимальные условия для лизосомальных ферментов (оптимум рН большинства из них находится в пределах 3.0–6.0), активность которых резко возрастает, обеспечивая тотальное расщепление тканей жертвы. Кроме того, в кислых секретах организма-ассимилятора содержатся главным образом протеиназы, тогда как ферментный спектр лизосом практически универсален (Высоцкая, Немова, 2008). Необходимо отметить, что после гибели организма происходит повышение проницаемости мембран лизосом, а рН тканей сравнительно быстро сдвигается в кислую сторону из-за ослабления аэробных окислительных процессов и усиления гликолиза (Кузьмина, Цветкова, 2001). Данное обстоятельство особенно важно для анализа процессов аутолиза у безжелудочных рыб, пищеварение у которых происходит в условиях аноксии, но в отсутствие кислой среды, создаваемой желудочным соком. Благодаря индуцированному аутолизу значительно снижаются энергетические затраты рыб-консументов на синтез собственных пищеварительных ферментов (Кузьмина, Цветкова, 2001). Аутолитическое пищеварение является, по-видимому, древним и важным в истории развития животного мира (Уголев, 1972). Описаны две основные группы гидролаз, обеспечивающих процессы аутолиза – цитозольные и лизосомальные. Наиболее важную роль играют последние. В настоящее время обнаружено около 80 лизосомальных гидролаз, способных при кислых значениях рН разрушать практически все биополимеры, входящие в состав бионтов (Покровский,

Тутельян, 1976). Лизосомы и лизосомальные структуры, а также гидролазы, способные обеспечивать процессы аутолиза, выявлены у представителей разных таксономических групп растений и животных, в частности, у простейших, губок, кишечнорастворимых, плоских червей, моллюсков, ракообразных, низших и высших позвоночных животных (Покровский, Тутельян, 1976; Высоцкая, 1999).

**Роль углеводов в питании рыб.** Несмотря на то, что естественная пища большинства видов рыб содержит большое количество белка, а содержание углеводов в ней относительно невелико (Остроумова, 2012), они играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене гетеротрофных организмов, в том числе и рыб. Углеводный обмен у рыб складывается из следующих 5 этапов: 1 – гидролиз поступивших с кормом полисахаридов до моносахаридов и всасывание последних в кровь; 2 – образование и отложение в печени гликогена; 3 – расщепление гликогена в печени до глюкозы, образование в печени глюкозы из метаболитов жирового (глицерина) и белкового (аминокислот) обмена и поступление их в кровь; 4 – расщепление в клетках глюкозы до молочной (анаэробный этап) и пировиноградной (аэробный этап) кислот; 5 – выделение продуктов распада.

Углеводный обмен у рыб идет менее эффективно, чем у теплокровных животных. За счет низкого продуцирования инсулина у многих видов рыб, особенно у хищников, он носит характер диабетического, и если рыба получает избыток углеводов, это приводит к увеличению смертности. Тем не менее, хищники демонстрируют лучшие показатели обмена и роста при низком содержании углеводов в корме по сравнению с их полным отсутствием (Nemre et al., 2002). Основная масса углеводов содержится в растительных компонентах, в сухом веществе которых они достигают 80–90 % (Остроумова, 2012). В животном организме углеводы резервируются в небольших (несколько процентов сухого вещества) количествах в виде гликогена, преимущественно в печени и мышцах.

Углеводные компоненты пищи являются главными источниками энергии для позвоночных животных. В пище большинства видов рыб содержится мало углеводов, поэтому их энергетические потребности покрываются за счет липидов и протеинов, содержание последних в корме рыб достигает 50–70 % от сухой массы. Недостаток углеводов компенсируется за счет гликогенолиза – образования глюкозы из неуглеводных компонентов (особенно из аминокислот). Этот процесс отмечен у всех

животных, но у беспозвоночных и рыб он играет особенно большую роль. Способность использовать углеводные компоненты пищи неодинакова у рыб разных видов, у теплолюбивых она выше, чем у холодолюбивых. Для лососевых рыб количество углеводов в кормах должно быть не выше 20–30 %, для карповых рыб допускается несколько большее количество (Остроумова, 2012).

Строение углеводов определяет степень их усвоения гидробионтами. Моносахариды (глюкоза, галактоза и др.) почти полностью всасываются у гольца *Barbatula barbatula*, карпа, радужной форели, русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* и других рыб (Остроумова, 2001). Дисахариды всасываются менее интенсивно, поскольку сначала подвергаются расщеплению. Исключение составляет мальтоза. У форели и осетра она переваривается почти полностью (свыше 99 %). Сахароза и фруктоза перевариваются лишь на 52–73 %, лактоза у форели – на 60 %, у осетра – на 36 %. Полисахариды расщепляются и всасываются еще слабее. Например, у форели утилизация картофельного крахмала составляет около 5 %, а пшеничного – 60 % (Остроумова, 2001). В среднем форель переваривает 38–54 % крахмала. Значительно лучше крахмал усваивается у карпа: 85 % картофельного  $\alpha$ -крахмала и 45–65 %  $\beta$ -крахмала. Углеводы клетчатки, такие как целлюлоза, могут перевариваться только при участии симбиотических микроорганизмов.

После всасывания углеводы могут непосредственно принимать участие в энергетическом обмене или идти на синтез липидов. Это определяется воздействием различных факторов, таких как видовая принадлежность рыб, их масса, возраст, состав корма, и др. Анализ литературных данных позволяет сделать заключение о том, что характер утилизации углеводов зависит от типа питания рыб (хищники, хищники-факультативные бентофаги, бентофаги), а также температуры среды обитания (Уголев, Кузьмина, 1993). Включаясь в энергетический обмен, углеводы осуществляют белоксберегающую функцию (Остроумова, 2012).

### 1.3.2 Характеристика гликозидаз

В процессе расщепления углеводов участвуют самые разнообразные ферменты, которые объединяют в группу гликозидаз (КФ 3. 2. 1). Это большая группа ферментов,

катализирующих гидролитическое расщепление о-гликозидной связи в различных гликозидах, олиго- и полисахаридах, а также в углеводсодержащих соединениях.

По механизму действия на субстраты гликозидазы условно подразделяют на две группы – эндо- и экзогидролазы. Эндогидролазы ( $\alpha$ -амилаза, лизоцим, гиалуронидаза) разрушают полисахариды, в частности гликоген и крахмал, воздействуя на центральные участки полимеров. Экзогидролазы (мальтаза, изомальтаза, глюкоамилаза, сахараза, олиго-, тетра- и трисахаридаза,) отщепляют концевой моносахаридный остаток от ди-, олиго- и полисахаридов. Полисахариды может гидролизовать и глюкоамилаза (КФ 3.2.1.1), которая является экзогидролазой и последовательно отщепляет остатки глюкозы от их концов. Наибольшее значение в гидролизе полисахаридов имеет  $\alpha$ -амилаза (КФ 3.2.1.1), синтезируемая ацинарными клетками поджелудочной железы, действующая на 1,4- $\alpha$ -гликозидные связи. В дальнейшем олигосахариды подвергаются действию кишечных дисахаридаз, синтезируемые энтероцитами – мальтазы (КФ 3.2.1.20), изомальтазы (КФ 3.2.1.10), сахаразы (КФ 3.2.1.48), которые гидролизуют их до моносахаридов. Помимо  $\alpha$ -глюкозидаз в кишечнике рыб функционируют  $\beta$ -глюкозидазы – лактаза (КФ 3.2.1.23) и трегалаза (КФ 3.2.1.28). Если эндогидролазы функционируют преимущественно в растворе, обеспечивая процессы полостного пищеварения, то экзогидролазы, будучи локализованными на структурах щеточной каймы энтероцитов («наружные» периферические, трансмембранные и «внутренние» периферические), участвуют в реализации заключительных этапов мембранного пищеварения. Активность экзогидролаз связана преимущественно со слизистой кишечника – мальтазы и щелочной фосфатазы на 80–90%, сахаразы – на 97–100%. Указанные ферменты синтезируются в клетках, а затем встраиваются в апикальную мембрану энтероцитов (Уголев, Кузьмина, 1993).

Активность большинства гликозидаз, функционирующих в кишечнике рыб, проявляется в диапазоне pH 6–9 (Уголев, Кузьмина, 1993). Кислые гликозидазы ( $\alpha$ -глюкозидаза и  $\beta$ -глюкозидаза,  $\beta$ -галактозидаза,  $\beta$ -ксилозидаза, гиалуронидаза), оптимум действия которых находится при pH 3–5, локализованы в лизосомах. Для  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -ксилозидазы получены прямые доказательства локализации в мембранах лизосом,  $\beta$ -галактозидаза менее прочно связана с мембранами, ее считают маркером матрикса лизосом (Покровский, Тутельян, 1976). Для многих гликозидаз показано существование множественных молекулярных форм, а также отмечена способность образовывать

макромолекулярные комплексы, например, мальтаза-сахараза или мальтаза-изомальтаза. Гликозидазы широко распространены в природе:  $\alpha$ -гликозидазы найдены у бактерий, низших грибов, растений, животных и человека,  $\beta$ -гликозидазы – у микроорганизмов, растений, моллюсков, рыб, млекопитающих и человека.

**Характер питания** оказывает значительное влияние на уровень активности гликозидаз (Уголев, Кузьмина, 1993). У рыб различных экологических групп наблюдается четкая зависимость активности гликозидаз ( $\alpha$ -амилаза, глюкоамилаза, мальтаза, сахараза) от типа и спектра питания рыб. Минимальные значения ферментативной активности выявлены у типичных ихтиофагов (судак, щука), несколько больше у ихтиофагов-факультативных бентофагов (налим *Lota lota*, окунь *Perca fluviatilis*), значительно больше у бенто- и планктофагов с широким спектром питания (лещ *Abramis brama*, густера, карась, плотва), максимальные – у рыб в значительном количестве потребляющих моллюсков (озерная форма плотвы) и макрофиты (карась, белый амур *Stenopharyngodon idella*, белый *Hypophthalmichthys molitrix* и пестрый *Hypophthalmichthys nobilis* толстолобики) (Волкова, 1999; Уголев, Кузьмина, 1993).

Наиболее подробно исследованы нутритивные адаптации, связанные с изменением активности ферментов в ответ на изменение концентрации соответствующих пищевых субстратов (Уголев, Кузьмина, 1993). Большинство сведений касается генетически закрепленных адаптаций ферментных систем пищеварительного тракта (большей активности протеиназ у зоофагов, особенно у типичных ихтиофагов, гликозидаз – у фитофагов), а также значительной изменчивости ферментных систем у видов с широким спектром питания, которая проявляется на всех этапах онтогенеза (Govoni et al., 1986; Ильина, Турецкий, 1987; Кузьмина, Гельман, 1998).

Установлено, что активность ферментов, гидролизующих углеводы, тесно связана **со спектром питания и биохимическим составом** кормовых организмов (Кузьмина, 1983, 2005). Так, в группе бентофагов минимальный уровень  $\alpha$ -амилазы и амилолитической активности отмечен у леща, значительную часть пищевого комка которого составляет детрит, более высокий – у моллюскоеда плотвы и макрофитофага карася, максимальный – у карпа, питающегося богатым углеводами комбикормом. Наибольшие межвидовые различия отмечены при исследовании активности  $\alpha$ -амилазы (в 40–1000 раз), амилолитическая активность и активность сахаразы могут различаться в

20–60 раз, мальтазы – в 2 раза (Кузьмина, 1986; Пономарев, 1993; Волкова, 1999; Уголев, Кузьмина, 1993). При этом активность  $\alpha$ -амилазы в полости кишечника у хищных рыб, как правило, близка таковой в слизистой оболочке кишечника, у бенто- и планктофагов – значительно превышает её (Кузьмина, 1986).

Зависимость активности пищеварительных гидролаз от биохимического состава пищи ярко продемонстрирована на примере алтайского османа *Oreoleuciscus potanini* (сем. Карповые), взрослые особи которого значительно различаются по типу питания (Голованова и др., 2007). Максимальные значения амилазной и сахарозной активности установлены у представителей растительноядной и острорылой форм, в пище которых преобладают растительность и беспозвоночные. У особой рыбоядной формы, питающихся рыбой и растительностью, отмечен наиболее низкий уровень активности гликозидаз (Голованова и др., 2007).

Данные, полученные при исследовании молоди рыб, также свидетельствуют о существенном влиянии условий питания на процесс становления гидролитических функций (Коновалов, 1986; Ильина, Турецкий, 1987; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, 1996; Kuz'mina, Gelman, 1997). При исследовании обыкновенного лаврака *Dicentrarchus labrax* установлено, что добавление водорослей в воду, в которой выращиваются личинки, приводит к увеличению активности трипсина, но не влияет на активность амилазы и химотрипсина (Sahu et al., 1998). Большая активность трипсина и меньшая активность амилазы наблюдалась у личинок лаврака, получавших с искусственными кормами большее количество белка (Person-LeRuyet et al., 1988). При исследовании белого амура, переходящего с двухлетнего возраста на питание растительностью, отмечено значительное уменьшение активности трипсина по мере роста рыб (Строганов, Бузинова, 1970).

Рост активности гликозидаз в ответ на увеличение содержания углеводов в рационе часто отмечают для растительноядных и всеядных видов рыб. В тоже время, у хищных радужной форели и атлантического лосося не отмечено увеличения активности дисахаридаз с увеличением углеводов в рационе (Kroghahl et al., 2005).

На примере окуня было показано, что доступность пищи является фактором, определяющим не только спектр питания, но и статус ферментных систем кишечника у ихтиофагов-факультативных бентофагов, а соотношение активности карбогидраз (гликозидаз) и протеиназ (коэффициент К/П) является показателем доминирующего

типа питания (Кузьмина, Голованова, 2003). Аналогичные результаты были получены при сопоставлении активности гликозидаз и протеиназ у окуня (бентофаги и ихтиофаги) из озер Вологодской области с кислым и нейтральным рН воды (Кузьмина и др., 1998).

**Влияние возраста.** Активность ферментов, способных гидролизовать различные субстраты, выявляется на самых ранних этапах эмбрионального развития рыб. Питание большинства эмбрионов и предличинок рыб осуществляется за счет питательных веществ, запасенных в икре, главным образом, за счет гликогена и липидов (Ильина, Турецкий, 1987). Наиболее значительные изменения в характере питания рыб происходят при переходе от эмбрионального к предличиночному и личиночному периоду, когда эндогенное питание заменяется экзогенным. На ранних этапах личинки нуждаются в небольших по размеру кормовых организмах (бактерии, мелкие формы фито- и зоопланктона), содержащих большое количество легкоусвояемых низкомолекулярных соединений. Затем личинки начинают потреблять более крупные формы зоопланктона, зообентос, а хищные виды и личинок других рыб. Причем отсутствие в пище личинок рыб более крупных кормовых объектов приводит к приостановке их роста (Govoni et al., 1986). Смена объектов питания обусловлена не только размерами, но и различиями биохимического состава жертвы. Входящие в состав рачкового планктона растворимые белковые компоненты состоят в основном из низкомолекулярных (до 1 кД) пептидов и аминокислот; у бентических форм, составляющих кормовую базу мальков и взрослых рыб бентофагов, доминируют полипептиды и низкомолекулярные белки (до 180 кД); у рыб, которыми питаются взрослые хищники, – крупномолекулярные (до 300–450 кД) белки (Ильина, 1986; Кузьмина и др., 1990).

Становление пищеварительной функции тесно связано с развитием структур пищеварительного тракта и особенностями питания рыб (Кузьмина, Гельман, 1998; Kolkovski, 2001). Амилолитическая активность в экстрактах эмбрионов и личинок осетровых в течение первых 3–4 сут после вылупления присутствует лишь в следовых количествах и заметно повышается лишь после перехода личинок на внешнее питание (Тимейко, Бондаренко, 1986; Пономарев, Пономарева, 2003). У большинства костистых рыб амилолитическая активность и активность мальтазы в период эмбриогенеза также низка и значительно увеличивается лишь после резорбции желточного мешка и перехода на экзогенное питание, что совпадает с началом функционирования панкреаса

(Остроумова, Деменьтьева, 1981). В то же время, у нильской тилляпии мальтаза присутствует в щеточной кайме энтероцитов уже в день вылупления (Tengjaroenkul et al., 2002). Активность панкреатической амилазы у окуня достаточно высока уже на стадии вылупления предличинки, в то время как активность мальтазы и щелочной фосфатазы проявляется и значительно увеличивается, начиная с 21-го дня после вылупления, что отражает развитие щеточно-каемной мембраны энтероцитов (Cuvier-Peres, Kestemont, 2001). Наиболее значительное увеличение амилолитической активности и активности мальтазы наблюдается у растительноядных рыб (белый амур, белый толстолобик, пестрый толстолобик) на 21 сутки после вылупления, когда личинки активно потребляют крупные формы фито- и зоопланктона (Волкова, Неваленный, 1996). Особого внимания заслуживает то, что скорость гидролиза мальтозы у личинок всех видов рыб приблизительно на порядок выше скорости гидролиза крахмала, что свидетельствует о значительной адаптированности ферментов к биохимическому составу объектов питания.

Спектр питания в течение онтогенеза рыб значительно меняется. Молодь всех видов, включая типичных хищников, питается планктоном, к концу первого нагульного периода наблюдается расширение кормовой базы и становление типа питания рыб, которое сопровождается перестройками спектра пищеварительных ферментов (Уголев, Кузьмина, 1993; Остроумова, 2001). Наиболее значительные перестройки ферментных систем пищеварительного тракта наблюдаются в мальковый период, особенно у типичных хищников. Так, у хищника щуки в течение первых месяцев жизни наблюдается увеличение протеолитической активности в слизистой оболочке кишечника на фоне относительно постоянной активности сахаразы и резкого снижения амилолитической активности и активности  $\alpha$ -амилазы (Кузьмина, Голованова, 1984; Kuz'mina, 1996). Интересно отметить, что у щуки, искусственно задержанной на планктонной диете, уровень активности гликозидаз заметно снижается даже при наличии пищи в кишечнике (Кузьмина, Голованова, 1984). Этот факт подтверждает предположение о том, что скорость кишечного гидролиза качественно и количественно закреплена в генетической памяти в соответствии с естественными диетами рыб (Kolkovski, 2001).

У хищников-факультативных бентофагов возрастная динамика активности гликозидаз менее выражена по сравнению с хищными рыбами, при этом уровень

активности сахаразы снижается. У типичных бенто- и планктофагов активность кишечных гликозидаз при переходе от личиночных к мальковым этапам развития увеличивается (Кузьмина, Стрельникова, 1985а,б; Kuz'mina, 1996). У старших возрастных групп плотвы, леща и окуня амилолитическая активность и активность  $\alpha$ -амилазы несколько уменьшаются на фоне увеличения активности сахаразы (Кузьмина, Голованова, 1984; Kuz'mina, 1996). Уровень амилолитической активности у растительноядных рыб (Строганов, Бузинова, 1970), а также активность глюкоамилазы у всеядного карпа, питающегося комбикормом, с возрастом увеличивается (Гредин, 1977). У растительноядных белого амура, белого и пестрого толстолобика максимальные значения амилолитической активности, активности сахаразы и мальтазы отмечены в возрасте 4–6 лет (Волкова, 1999).

Суммарная активность исследованных гликозидаз во всей массе слизистой оболочки кишечника в большинстве случаев с возрастом рыб повышается, что связано с увеличением размера кишечника и массы слизистой оболочки (Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, 1996). Вместе с тем, относительная суммарная активность ферментов кишечника в расчете на единицу массы тела, рассматриваемая как показатель обеспеченности пищеварительными гидролазами, как правило, максимальна на ранних мальковых этапах и в преднерестовый период (Kuz'mina, 1996).

Таким образом, в процессе онтогенеза рыб активность пищеварительных ферментов претерпевает значительные изменения. Активность многих пищеварительных гидролаз выявляется в рамках “первичного внутриклеточного пищеварения” еще до оформления структур пищеварительного тракта. После появления энтероцитов и формирования щеточной каймы происходит дифференциация в локализации гидролаз, начинают функционировать ферменты, осуществляющие мембранное пищеварение. С началом функционирования экзокринной части поджелудочной железы, увеличивается роль полостного пищеварения. Темпы становления гидролитических функций зависят от класса гидролаз и вида рыб. Соотношение активности ферментов, расщепляющих основные компоненты пищи у рыб и беспозвоночных животных, на разных этапах онтогенеза может существенно изменяться. Важную роль при этом имеет биохимический состав пищи и спектр питания. Видовые различия в уровне активности ферментов, расщепляющих белковые и углеводные компоненты корма, у взрослых рыб подтверждают классические

представления о том, что у хищных рыб преобладает активность протеиназ, у "мирных" рыб – гликозидаз.

**Влияние сезона.** Сезонные колебания метаболизма у пойкилотермных животных в первую очередь связаны с изменением температуры среды и интенсивности питания. В течение года температура водоемов значительно изменяется. Так в Рыбинском водохранилище среднемесячная температура воды летом составляет около 20°C, весной и осенью – около 10°C, зимой – около 0°C. Причем зимний период – от полного ледостава до полного очищения от снега (обычно с конца ноября по конец апреля) длится в среднем 5 мес (Литвинов, Рощупко, 2001). Колебания температуры сказываются и на состоянии кормовой базы рыб, и на их пищевой активности, и на активности пищеварительных ферментов гидробионтов.

Как правило, уровень активности одноименных гидролаз у одновозрастных групп рыб разных видов при сопоставимой интенсивности питания в один и тот же сезон года колеблется незначительно. Вместе с тем в ряде случаев отмечены годовые флуктуации активности ферментов. У большинства видов рыб максимум активности  $\alpha$ -амилазы наблюдается летом (Пономарев, 1993; Уголев, Кузьмина, 1993). Максимальный уровень амилолитической активности, измеренный при температуре окружающей среды, у ряда видов рыб (судак, щука, лещ, плотва, окунь) отмечен в летний период, минимальный – в зимний (Пономарев, 1993; Kuz'mina et al., 1996). При исследовании активности сахаразы выявлена зависимость сезонной динамики от типа питания рыб. Если у леща и плотвы отчетливый максимум активности наблюдается летом, то у щуки сезонные различия в уровне ферментативной активности отсутствуют. У налима, наиболее интенсивно питающегося в осенне-зимний период, минимум активности сахаразы наблюдается в летний, максимум – в осенний период. При этом сезонные различия у бентофагов выражены отчетливее, чем у ихтиофагов (Уголев, Кузьмина, 1993).

У рыб, обитающих в условиях Европейского Севера, сезонные изменения ферментативной активности менее выражены, чем у рыб средних широт, что обеспечивает эффективное функционирование гидролитических систем пищеварительного тракта рыб в холодноводных водоемах (Пономарев, 1993).

Таким образом, на протяжении годового цикла у рыб различных экологических групп выявлены значительные колебания ферментативной активности, а также ряда температурных и кинетических характеристик пищеварительных ферментов. При этом

наибольшей адаптационной пластичностью обладают гидролазы, находящиеся в начале ферментативной цепи. Значительное влияние на характер сезонной динамики оказывают особенности экологии рыб, при этом у хищных рыб уровень ферментативной активности зависит не столько от сезона, сколько от интенсивности питания, а отчетливые сезонные различия проявляются лишь при температуре, близкой к природной (Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina et al., 1996).

### **1.3.3 Влияние природных и антропогенных факторов на активность гликозидаз беспозвоночных и рыб**

**Температура** является одним из основных абиотических факторов среды, определяющих основные параметры жизнедеятельности эктотермных животных. Некоторые виды гидробионтов выдерживают колебания в несколько десятков градусов (эвритермные виды), другие приспособлены жить в более узком температурном диапазоне (стенотермные). Для рыб и беспозвоночных животных, обитающих в умеренных широтах России этот диапазон составляет приблизительно от 0° до 38°C (Проссер, 1977; Шмидт-Ниельсен, 1982; Голованов и др., 1997). Изменение температуры среды приводит к значительным изменениям скорости основных метаболических процессов, темпа роста, интенсивности питания, скорости переваривания пищи, а также кинетических характеристик различных ферментов рыб (Алабастер, Ллойд, 1984; Уголев, Кузьмина, 1993). Как правило, при повышении температуры скорость биохимических реакций увеличивается, при понижении – замедляется. Однако интенсивность этих изменений различна, акклимация к тем или иным температурам связана с дифференциальными эффектами в различных ферментативных системах (Хочачка, Сомеро, 1988). Выработанные в процессе эволюции метаболические приспособления у пойкилотермных организмов направлены на сглаживание экстремального воздействия температурного фактора (Озернюк, 2003). Компенсация неблагоприятного влияния температуры на биохимическом уровне может осуществляться благодаря: 1) изменению типа макромолекул в той или иной системе организма, 2) изменению концентрации ферментов в клетке, 3) адаптивной регуляции функций макромолекул (Хочачка, Сомеро, 1988).

При понижении температуры окружающей среды у рыб отмечены морфологические изменения кишечника, в частности, увеличение массы слизистой оболочки, увеличение диаметра кишки, а также высоты и ширины складок кишечника (Lee, Cossins, 1988; Коростелев, 1992). Медленное повышение температуры воды (около  $1^{\circ}\text{C}/\text{сут}$ ) последовательно увеличивает активность кишечных гликозидаз рыб во все сезоны, в то время как резкое повышение (со скоростью  $4\text{--}50^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ ), не позволяющее организму адаптироваться, снижает активность ферментов в  $2\text{--}7.5$  раз, особенно в осенне-зимний период (Golovanova et al., 2013; Голованова, Голованов, 2015). Изменение активности пищеварительных гидролаз с ростом температуры окружающей среды в экспериментах *in vivo* может свидетельствовать об изменении как интенсивности синтеза соответствующих ферментов, так и условий их функционирования.

Как правило, характеристики ферментных систем рыб достаточно хорошо адаптированы к температурным условиям среды обитания. Причем ферменты пойкилотермных животных способны функционировать при температуре, близкой к  $0^{\circ}\text{C}$ , когда ферменты теплокровных утрачивают активность (Уголев, Кузьмина, 1993). С увеличением температуры активность большинства ферментов возрастает, при этом происходят изменения ряда температурных и кинетических характеристик (температурный оптимум  $t_{\text{opt}}$ , температурный коэффициент  $Q_{10}$ , энергия активации  $E_{\text{act}}$ , максимальная скорость реакции  $V_{\text{max}}$  и константа Михаэлиса  $K_m$ ) пищеварительных гидролаз рыб, а также ферментов потенциальных объектов их питания, участвующих в процессах аутодеградации. Наибольшей адаптационной пластичностью обладают гидролазы, находящиеся в начале ферментативной цепи. Существует зависимость относительной активности ферментов в зоне низких температур от биологии вида. Так активность  $\alpha$ -амилазы у рыб, не питающихся в зимний период при  $0^{\circ}\text{C}$  составляет  $10\text{--}15\%$ , у питающихся –  $50\text{--}70\%$  от максимальной активности. Гликозидазы массовых видов беспозвоночных (зоопланктон, олигохеты, моллюски, личинки комаров и стрекоз) бореальной зоны слабо адаптированы к функционированию при низких температурах (Кузьмина, 2005, 2015). При нейтральных и слабощелочных pH в зоне температур  $0\text{--}10^{\circ}\text{C}$  их активность относительно низка (исключая дрейссену *Dreissena polymorpha* и личинок хирономид) (Кузьмина, 2005; Голованова, 2011).

Инкубация ферментов в течение короткого промежутка времени при различных значениях температуры позволяет выявить  $t_{\text{opt}}$  ферментов. Так, при 30–60 минутной инкубации в интервале температуры от 0 до 70°C температурный оптимум амилолитической активности у рыб, различающихся по типу питания, равен 50°C. В некоторых случаях величина температурного оптимума может отражать условия существования вида в далеком прошлом. У пресноводного налима, обитающего в пресных водах, но имеющего арктическое происхождение, температурный оптимум  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы соответствует 50°C, у остальных видов 60°C (Кузьмина, 1986). Температурный оптимум большинства пищеварительных ферментов у осетровых рыб лежит в интервале температур 50–60°C (Левченко, 2003). Значения температурного оптимума гликозидаз у пресноводных костистых рыб лежат в пределах 30–65°C. Так, оптимум  $\alpha$ -амилазы у “мирных” рыб (каarp, карась, лещ, синец *Ballerus ballerus*, плотва, белый толстолобик, иссыкульский чебачок *Leuciscus schmidti*) соответствуют 40–50°C, у типичных и факультативных хищников (щука, судак, налим, окунь, ерш *Gymnocephalus cernuus*) в большинстве случаев – 30°C (Кузьмина, 1985, 1986; Коростелев, Неваленный, 2005). Величина температурного оптимума сахаразы у арктических видов (семга, сиг *Coregonus lavaretus*) соответствует 30°C, у окуня и гольяна *Phoxinus phoxinus* – 40–50°C (Пономарев, 1993). Температурный оптимум щелочной фосфатазы отмечен в пределах 35–40°C (Уголев, Кузьмина, 1993).

Активность гликозидаз у беспозвоночных также зависит от температуры среды. Температурный оптимум гидролиза крахмала у олигохет *Tubifex tubifex* равен 50°C, личинок хаоборуса *Chaoborus* sp. и *C. plumosus* – 60°C, у моллюсков (дрейссена полиморфная, прудовики *Rabix ovata* и *L. stagnalis*, перловица *Unio pectorum*) – 40°C. Температурный оптимум сахаразы у личинок хирономид и хаоборуса равен 40°C (Кузьмина, 2005).

Изменение температуры среды при акклимации или смене сезона вызывает качественные и количественные изменения лизомальных гидролаз (Немова, Высоцкая, 2004). На примере молоди карпа показано, что амплитуда и направленность изменений активности лизосомальных ферментов в разных тканях рыб зависит как от температуры акклимации, так и от вида ткани (Высоцкая, Немова, 2008).

**Значения рН** воды, в которой живут рыбы и беспозвоночные, варьирует в пределах от 3.5 до 10 (Hirose et al., 2003). Большинство видов рыб живет в воде с рН от 6 до 8, отдельные виды рыб живут в экстремально низких значениях рН. В малых кислотных озерах с рН воды меньше 5 обитает только окунь (Комов, 1999; Моисеенко, 2003).

Значения рН в пищеварительном тракте рыб колеблются в широких пределах – от 1.6 до 10.5 (Сорвачев, 1982; Deguara et al., 2003; Соловьев и др., 2015). В желудке отмечен наиболее низкий уровень рН вследствие секреции соляной кислоты, в кишечнике значения рН более высоки (нейтральные и слабощелочные), что связано с секрецией ионов бикарбоната слизистыми клетками кишечника и слабощелочным секретом поджелудочной железы и желчи (Сорвачев, 1982). Оптимальные значения рН для функционирования гликозидаз в кишечнике у большинства видов рыб отмечены в диапазоне 6–8 (Уголев, Кузьмина, 1993). Так, оптимум рН амилитической активности, отражающей суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы) выявлен у судака при рН 6–8, щуки – при рН 7–8, окуня – при рН 8, у плотвы, леща и синца – при рН 7–8 (Кузьмина, Голованова, 1980). Оптимум рН мальтазы и  $\alpha$ -амилазы у рыб разных видов находится в зоне 7.0–8.0; сахаразы у бентофагов – 7.0–8.0, у щуки – 6.0 (Кузьмина, 1986; Кузьмина, Неваленый, 1983; Munilla-Moran, Saborido-Rey, 1996).

Установлена значительная вариабельность рН вдоль пищеварительного тракта рыб (Соловьев и др., 2015; 2016). Физиологические значения рН в желудке окуня и судака находятся в пределах 3.5–4.5, в разных отделах кишечника серебряного карася *Carassius auratus gibelio*, язя *Leuciscus idus*, сазана *Cyprinus carpio*, окуня и судака – 6.5–7.2. Функциональное состояние пищеварительной системы может влиять на величину рН. При исследовании пищеварения у дорады *Sparus aurata* отмечены изменения рН в различных отделах пищеварительного тракта после потребления пищи (Deguara et al., 2003). Так, в течение первых 5–8 ч после поступления пищи рН в желудке резко снижается от 5.5 до 2.5, в переднем отделе кишечника рН достоверно не изменяется, а в средней и задней части кишки возрастает от 7.0 до 7.9.

На примере окуня из озёр Чаны и Байкал показано, что значения рН зависят от таких факторов, как отдел пищеварительного тракта, наличие или отсутствие в нём пищи, сезон года и местообитание (Соловьев и др., 2016). Основной фактор –

температура среды обитания, что подтверждается снижением рН в кишечнике при повышении температуры воды в течение весны, меньшими значениями летом по сравнению с другими сезонами, а также более низким рН у рыб из оз. Чаны с более высокой температурой воды. Изменение рН в пищеварительном тракте девяти видов рыб (судак, щука, окунь, плотва *Rutilus rutilus*, серебряный карась, золотой карась *Carassius carassius*, сазан, язь, елец *Leuciscus leuciscus*) из оз. Чаны в разные сезоны года позволило предположить, что зависящие от температуры изменения рН в кишечнике могут служить регуляторным механизмом поддержания активности гидролитических ферментов на уровне, необходимом для успешного протекания пищеварения за счет адаптивных изменений среды их функционирования (Соловьев, Извекова, 2016).

Изменение температуры может также влиять на рН-функцию ферментов. Так, в зоне оптимальных значений рН – 7.4 для "мирных" и рН 8.0 для хищных рыб, максимальный уровень активности кишечных гликозидаз отмечен при температуре 20°C (Кузьмина, Неваленный, 1983). При понижении температуры относительная активность ферментов в зоне кислых значений рН может возрастать.

Активность гликозидаз у беспозвоночных также выявлена в широком диапазоне рН. Амилолитическая активность в целом организме личинок хирономид *C. plumosus* и моллюсков (прудовика, катушки, битинии *Bithynia tentaculata*, дрейссены) при рН 5.0 (температура 20°C) составляет 22–70% от таковой при нейтральных рН (Голованова, 2011). При щелочных рН (8.3) активность снижается в меньшей степени и лишь у битинии и прудовика.

Относительная амилолитическая активность в тканях молоди рыб (каarp, карась, плотва, окунь, тюлька *Clupeonella cultriventris*, ротан) при низких рН составляет 25–50% (Голованова, Голованов, 2011) от таковой при нейтральных рН. Близкие результаты получены при исследовании гликозидаз в целом организме тарани *Rutilus rutilus heckelii*, красноперки *Scardinius erythrophthalmus*, ерша, личинок хиронимид и олигохет из Кучурганского водохранилища (Золотарева, 2015).

Таким образом, рыбы и беспозвоночные животные обладают обширным набором пищеварительных гидролаз, функционирующих в широком диапазоне значений температуры и рН, позволяющим им успешно переваривать основные компоненты пищи. Механизмы температурных адаптаций пищеварительной системы рыб являются общими для всех эктотермных животных. Адаптивные перестройки эндогидролаз

осуществляется за счёт изменения свойств ферментов, экзогидролаз – помимо этого, включают изменение состава и характеристик липидного матрикса мембран. Наибольшей способностью к адаптации обладают гидролазы, находящиеся в начале ферментативной цепи, наименьшей – экзогидролазы, обеспечивающие заключительные этапы гидролиза биополимеров. Исключение составляет щелочная фосфатаза, характеристики которой хорошо коррелируют с температурными условиями среды обитания рыб. Наиболее эффективные характеристики, позволяющие фермент-мембранным комплексам функционировать при низких температурах, обнаружены у зоофагов, питающихся в диапазоне температур 0–10°C.

**Магнитная буря (МБ)** – это изменения геомагнитного поля, связанные с воздействием возмущённых потоков солнечного ветра на магнитосферу Земли. Амплитуда флуктуаций геомагнитного поля во время магнитной бури редко превышает 1% от напряжённости магнитного поля Земли, но даже такие слабые воздействия могут вызывать значительные биологические эффекты (Krylov et al., 2014; Кузьмина и др., 2014). Установлено, что действие МБ на карпа и карася изменяет активность пищеварительных гидролаз кишечника (Krylov et al., 2014). При этом МБ продолжительностью 20 ч значительно снижает активность кишечных гликозидаз, особенно у голодных рыб, и слабо влияет на активность протеиназ (Кузьмина и др., 2014). 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 (Filiprov et al., 2014). При этом температурный оптимум гликозидаз у рыб опытной и контрольной групп практически не различался, а значения  $E_{\text{акт}}$  при температуре питания были в 1.4–1.7 раза ниже (эффективность процесса выше), чем при более низкой температуре. При действии флуктуаций магнитного поля, с размахом амплитуды колебаний около 100, 300 и 500 нТл, имитирующих умеренную, сильную и экстремальную геомагнитные бури, в периоды эмбриогенеза до и после гастрюляции отмечено снижение активности мальтазы и рост активности сахаразы в кишечнике сеголеток плотвы (Golovanova et al., 2017). Максимальные различия между показателями у рыб опытной и контрольной групп отмечены при флуктуациях, соответствующих умеренной геомагнитной буре. Увеличение фермент-субстратного сродства, расширение зоны температурного оптимума и уменьшение  $E_{\text{акт}}$  мальтазы в

диапазоне физиологических температур свидетельствуют об адаптивных изменениях характеристик гликозидаз при действии МБ в период раннего онтогенеза. Величина и направленность эффектов зависят от стадии эмбриогенеза и интенсивности флуктуаций МБ (Golovanova et al., 2017).

**Различные антропогенные факторы** как органической, так и неорганической природы могут оказывать значительное влияние на активность гликозидаз.

Кратковременное действие низких концентраций ( $3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-2}$  мг/л) N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (MNNG) – генотоксиканта с прямым влиянием на химическую структуру ДНК, в период эмбриогенеза приводит к снижению амилолитической активности и активности сахаразы слизистой оболочки кишечника плотвы (Голованова и др., 2008). При этом крайние из испытанного диапазона концентрации MNNG вызывали сходные эффекты. Значения  $K_m$  гидролиза крахмала снижались в 1.6–2.5 раза по сравнению с сеголетками контрольной группы, максимальное снижение на 58–60% от контроля отмечено в крайних точках тестируемого диапазона концентраций MNNG.

При эмбриотоксическом действии малых концентраций хлорофоса ( $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  мг/л) в период раннего эмбриогенеза плотвы выявлены разнонаправленные изменения активности гликозидаз и кинетических характеристик гидролиза углеводов в слизистой оболочке кишечника сеголетков (Голованова, Таликина, 2006). Амилолитическая активность снижалась (исключая самую высокую концентрацию), максимальное торможение отмечено в средней точке дозозависимого профиля. Активность сахаразы, напротив, возрастала, наибольший эффект был отмечен в крайних точках испытанного диапазона концентраций. Максимальные изменения кинетических характеристик гидролиза углеводов выявлены при использовании сверхнизких доз хлорофоса. Снижение значений  $K_m$  гидролиза крахмала, отмеченное у сеголеток плотвы во всех вариантах токсического воздействия, свидетельствует об увеличении фермент-субстратного сродства, что может отражать адаптивный характер изменения этого показателя.

О,О-диметил-О-(2,2-дихлорвинил)фосфат (ДДВФ) – спонтанно образующийся из хлорофоса при  $pH > 5.5$ , в концентрации 0.46 мг/л оказывает разнонаправленное действие на амилолитическую активность в кишечнике мозамбикской тилипии *Oreochromis mossambicus*, в то же время при действии *in vitro* изменения

ферментативной активности отсутствуют (Golovanova et al., 1994). ДДВФ в концентрации 0.2–100 мг/л в условиях *in vitro* не влияет на активность пищеварительных гликозидаз у 11 видов пресноводных костистых рыб (Golovanova et al., 1999). Вероятно, ДДВФ при хроническом воздействии может вызывать изменения активности пищеварительных гликозидаз не за счет прямого действия на молекулы ферментов, а, скорее всего, за счет снижения потребления пищи в результате изменения пищевого поведения рыб.

Нафталин (полиароматический углеводород) в 30-суточных экспериментах *in vivo* в концентрации 1.5 мг/л не вызывает изменений амилолитической активности у леща и тиляпии (Golovanova et al., 1994).

Полихлорированные бифенилы (ПХБ), относящиеся к классу хлорорганических полициклических ароматических соединений, присутствуя в пище (50.8 нг на 1 г сырой массы) и грунте (426 нг на 1 г сухой массы), снижают амилолитическую активность в кишечнике сеголетков плотвы на 11–33% на 96-е сутки опыта. При этом значения  $K_m$  гидролиза крахмала увеличиваются на 23% на 218-е сутки, отражая уменьшение сродства ферментов к субстрату (Голованова и др., 2011). У леща из наиболее загрязненного участка Рыбинского водохранилища с бóльшим содержанием ПХБ в печени активность мальтазы в кишечнике и сродство ферментов к субстрату ниже, чем у особей из более чистого плеса (Голованова и др., 2014).

Оловоорганические соединения – триамилоловохлорид (ТАОХ) и триэтилоловохлорид (ТЭОХ) в экспериментах *in vivo* могут изменять активность гликозидаз в кишечнике карпа (Бузинова, 1975, 1983). ТАОХ в концентрациях 0.5 и 1 мг/л в течение 1–3 недель не влиял на активность  $\alpha$ -амилазы, в то время как ТЭОХ в этих же концентрациях уже на 1–2-е сутки опыта подавлял активность  $\alpha$ -амилазы по сравнению с контролем. ТАОХ в более низких концентрациях (0.01 и 0.001 мг/л) через 30 сут необратимо снижал амилолитическую активность вдвое, в то время как ТЭОХ в концентрациях 0.01 и 0.003 мг/л в течение 2 месяцев опыта вызывал разнонаправленные изменения активности исследованных ферментов (Бузинова, 1975, 1983).

Приоритетными загрязнителями неорганической природы являются тяжелые металлы, такие как ртуть, кадмий, медь и цинк. Так, у рыб, различающихся по типу питания: типичные ихтиофаги – щука, судак; ихтиофаги-факультативные бентофаги – налим, окунь; бентофаги – лещ, плотва, язь, бычок *Neogobius fluviatilis*, серебряный

карась, карп, ротан и планктофаги – тюлька и уклейка *Alburnus alburnus*, показана прямая корреляция между концентрацией меди и цинка в инкубационной среде и величиной тормозящего эффекта *in vitro* (Голованова, 2006). У большинства исследованных видов снижение амилалитической активности отмечено в диапазоне концентраций меди 1–25 мг/л, цинка – 0.1–25 мг/л. Максимальный тормозящий эффект в присутствии меди в концентрации 25 мг/л составляет 37–52 % у рыб планкто- и бентофагов, 17–35 % – у типичных и факультативных ихтиофагов, в присутствии цинка (25 мг/л) – 18–38 % и 11–45 % соответственно. У молоди токсический эффект металлов более выражен, чем у половозрелых рыб (Голованова, 2010). Активность сахаразы в присутствии меди и цинка у рыб различных экологических групп изменяется разнонаправлено: повышается у планкто- и бентофагов, не меняется у типичных хищников и снижается у факультативных хищников (Голованова, 2006). В экспериментах *in vitro* ионы меди в зависимости от концентрации изменяют активность  $\alpha$ -амилазы и мальтазы в кишечнике тарани и серебряного карася (Неваленный, Бедняков, 2000; Неваленный, и др., 2003) При исследовании русского осетра установлено, что ионы меди и цинка в концентрации соответственно 0.1 и 10 мг/л увеличивают активность мальтазы в кишечнике (Неваленный, и др., 2003).

Ионы кадмия в концентрации 0.75 и 10 мг/л *in vitro* достоверно снижают активность  $\alpha$ -амилазы в кишечнике карпа на 10 и 37 % соответственно (Неваленный, и др., 2003). При исследовании влияния сульфата кадмия *in vitro* на активность гликозидаз кишечника судака, щуки, налима, окуня, ерша, леща, плотвы, синца, язя, карпа, карася, мозамбикской тилляпии и радужной форели подтверждена зависимость эффекта от концентрации токсиканта и видовых особенностей рыб (Golovanova, et al., 1999). Ионы кадмия в концентрации 50 мг/л снижают амилалитическую активность у налима, карпа и карася не более чем на 25 %, активность сахаразы – лишь у планктофага синца на 33 % контроля. В условиях хронического эксперимента ионы кадмия в концентрации 0.25 мг/л вызывают обратимое снижение активности щелочной мальтазы и  $\alpha$ -амилазы слизистой оболочки кишечника карпа (Неваленный, Бедняков, 2004). Однако при действии ионов кадмия в более высокой концентрации (5 мг/л) в течение 60 сут амилалитическая активность в кишечнике мозамбикской тилляпии необратимо снижается (Golovanova et al., 1994). Сравнение величины тормозящего эффекта ионов кадмия (5 мг/л) на амилалитическую активность в экспериментах *in vivo* (65 %) и *in vitro*

(17 %) свидетельствует о том, что снижение скорости гидролиза углеводов в кишечнике тилпии в условиях хронического действия неспецифично и частично обусловлено прямым действием металла на ферменты (Голованова, 2006).

Исследование влияния различных концентраций (0.01–50 мг/л) ионов меди, цинка и кадмия *in vitro* на амилолитическую активность в тканях водных беспозвоночных (рачковый зоопланктон, личинки насекомых, моллюски) позволило выявить видовые различия в чувствительности гликозидаз к действию исследованных металлов (Голованова, Фролова, 2005). Максимальный тормозящий эффект меди и цинка отмечен у моллюсков прудовика и катушки, минимальный – у личинок хаборуса. Кадмий в наибольшей степени снижал ферментативную активность у личинок хаборуса, в наименьшей – у дрейссены. Медь оказывала больший токсический эффект по сравнению с цинком на гликозидазы зоопланктона, прудовика, личинок хаборуса и стрекоз. Минимальные концентрации меди и цинка, при которых отмечено статистически достоверное снижение активности гликозидаз у исследованных беспозвоночных, близки их фоновым концентрациям в природных водах, в то время как концентрации кадмия значительно превышают их фоновые значения (Голованова, Фролова, 2005).

В условиях хронического действия хлорид ртути (0.3 мг/л) ингибирует активность амилазы и мальтазы в кишечнике мешкожаберного сома, но не изменяет активность мальтазы в желудке, пилорических придатках и кишечнике пятнистого змееголова (Sastry, Gupta, 1980; Gupta, Sastry, 1981). У карпа длительное (3 и 6 мес) действие повышенных концентраций ртути в корме (0.5 мг/кг) снижает активность гликозидаз и увеличивает  $K_m$  гидролиза крахмала, при этом активность панкреатической  $\alpha$ -амилазы снижается в большей степени, чем активность сахаразы (Голованова и др., 2002). В хронических 4–5-месячных экспериментах на сеголетках плотвы и окуня в условиях, приближенных к природным, показано снижение амилолитической активности и активности сахаразы, а также увеличение значений  $K_m$  гидролиза ди- и полисахаридов при увеличении содержания ртути в организме (Голованова и др., 2008). Результаты натуральных наблюдений свидетельствуют о негативном влиянии повышенного содержания ртути в организме на гидролиз углеводов у окуня из водоемов с нейтральным значением рН воды (Голованова, Комов, 2005).

При 6-месячном поступлении ртути с пищей в концентрации 0.023 мг/кг корма, активность гликозидаз и значения  $K_m$  гидролиза крахмала в слизистой оболочке карпа, как правило, снижаются (Кузьмина и др., 2013). Наиболее значительно ртуть действует на активность пищеварительных гидролаз в зоне оптимума pH. В указанной выше и более ранней работе (Голованова и др., 2002) на примере дафнии *D. magna*, личинок хирономид *C. riparius* и головастиков травяной лягушки *Rana redibunda* показано, что в условиях хронического воздействия возможно как негативное, так и стимулирующее влияние ртути на активность гликозидаз у гидробионтов, относящихся к разным таксономическим и экологическим группам.

Различные биотические и абиотические факторы могут изменять эффекты влияния химических загрязнителей на рыб и беспозвоночных. При оценке действия ряда природных факторов (температура, недостаток кислорода, болезнетворные микроорганизмы и иммуномодулирующие факторы) в сочетании с различными загрязнителями окружающей среды (тяжелые металлы, пестициды, полициклические ароматические углеводороды) синергетические эффекты были зарегистрированы более чем в 50% случаев этих взаимодействий (Holmstrup et al., 2010). Антагонистические взаимодействия также были обнаружены, но в меньшем количестве случаев.

Чувствительность гликозидаз *in vitro* к действию меди, цинка и кадмия снижается с возрастом рыб, у голодных особей она ниже, чем у сытых. В летний сезон на фоне высокой функциональной активности пищеварительной системы чувствительность гликозидаз рыб к действию тяжелых металлов возрастает (Голованова, 2006). Кратковременное действие малых концентраций хлорофоса и MNNG, а также МБ в диапазоне частот 0–5 Гц в период эмбриогенеза могут изменять чувствительность гликозидаз сеголеток плотвы к действию меди и цинка (Filippov, Golovanova, 2012). Ацидификация водоема, повышенный уровень тепловой нагрузки, хроническое действие кадмия и ртути снижают скорость гидролиза углеводов и повышают чувствительность пищеварительных гликозидаз рыб к действию ионов меди, цинка и кадмия *in vitro*. Несмотря на рост активности гликозидаз с увеличением скорости нагрева воды в летний период снижение термостабильности ферментов и их устойчивости к действию тяжелых металлов может негативно влиять на интенсивность пищеварения в условиях теплового загрязнения (Голованова, Голованов, 2015). Ферменты панкреатической природы более чувствительны к действию антропогенных

факторов по сравнению с мембранными ферментами (Уголев, Кузьмина, 1993; Голованова, 2006; Голованова, Голованов, 2015).

Ферменты лизосом принимают активное участие в адаптивных реакциях рыб к изменяющимся абиотическим факторам среды на всех этапах развития (Высоцкая, Немова, 2008). При этом выявлена тканевая и видовая специфичность компенсаторных изменений метаболизма. Кроме количественных изменений происходят сдвиги и в качественном составе отдельных гидролаз, включающие перераспределение активности между множественными молекулярными формами ферментов (Высоцкая, 1999; Высоцкая, Немова, 2008).

#### 1.4 Заключение

Таким образом, сведения о влиянии загрязняющих веществ на активность пищеварительных ферментов рыб довольно многочисленны, но в значительной мере фрагментарны. Имеющиеся данные свидетельствуют о зависимости токсического эффекта от химической природы, дозы, времени действия токсиканта, условий эксперимента и ряда абиотических факторов среды, а также, по всей вероятности, от локализации исследуемых ферментов и степени развития защитного барьера пищеварительного тракта рыб.

В то же время влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз в кишечнике массовых видов пресноводных костистых рыб, обитающих в водоемах бореальной зоны, и целом организме беспозвоночных и рыб, входящих в состав их кормовой базы практически не изучено. Применение физиолого-биохимических методов с использованием определения активности пищеварительных ферментов в присутствии гербицида Раундап при действии ряда факторов среды позволит подойти к решению одной из задач факториальной экологии – как увеличение антропогенной нагрузки на экосистему будет отражаться на жизнедеятельности гидробионтов. Такие исследования позволяют предвидеть опасные ситуации и их последствия, которые могут возникнуть в результате хозяйственной деятельности человека, и разрабатывать превентивные меры.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследования

Работа проведена в 2008–2014 г в лаборатории экологии рыб ФГБУН Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской Академии Наук.

Исследовано 13 видов пресноводных костистых рыб (тип Vertebrata, кл. Osteichthyes), относящихся к 7 семействам:

сем. Clupeidae – Сельдевые, тюлька *Clupeonella cultriventris* (Nord.);

сем. Esocidae – Щуковые, щука *Esox lucius* L.;

сем. Cyprinidae – Карповые, густера *Blicca bjoerkna* (L.), лещ *Abramis brama* (L.), плотва *Rutilus rutilus* (L.), язь *Leuciscus idus* (L.), карась серебряный *Carassius auratus* (L.), карп *Cyprinus carpio* (L.);

сем. Lotidae – Налимовые, налим *Lota lota* (L.);

сем. Percidae – Окуневые, речной окунь *Perca fluviatilis* L., обыкновенный судак *Sander lucioperca* (L.);

сем. Siluridae – Сомовые, обыкновенный сом *Silurus glanis* L.;

сем. Odontobutidae – Головешковые, головешка-ротан *Perccottus glenii* (Dyb).

Данные виды рыб являются наиболее распространенными в водоемах Ярославской области, различаются образом жизни и характером питания: щука, судак, сом – типичные ихтиофаги; налим и окунь – ихтиофаги-факультативные бентофаги; лещ, плотва, язь – типичные бентофаги; тюлька – планктофаг-факультативный ихтиофаг; карп и ротан – эврифаги; карась – макрофитофаг.

В качестве консументов исследованы половозрелые рыбы: тюлька (возраст 1+, масса тела  $3.30 \pm 0.15$  г, длина  $6.39 \pm 0.07$  см), плотва (7–8+,  $295 \pm 35$  г,  $25.6 \pm 1.10$  см), лещ (10–11+,  $1318 \pm 55$  г,  $41.7 \pm 1.68$  см), язь (5+,  $443 \pm 123$  г,  $26.0 \pm 3.2$  см), густера (5–6+,  $224 \pm 45$  г,  $20.6 \pm 1.6$  см), окунь (5+,  $250 \pm 17$  г,  $18.4 \pm 0.98$  см), налим (6+,  $848 \pm 131$  г,  $48.3 \pm 3.7$  см), судак (8+,  $1300 \pm 78$  г,  $49.5 \pm 4.20$  см), щука (4+,  $910 \pm 25$  г,  $48.5 \pm 1.96$  см), сом (9–10+),  $16275 \pm 1907$  г,  $118 \pm 4.64$  см) мужского и женского пола примерно в равной пропорции, а также молодь рыб: сеголетки тюльки ( $0.55 \pm 0.03$  г,  $3.51 \pm 0.05$  см), плотвы ( $0.25 \pm 0.01$  г,  $2.62 \pm 0.04$  см), окуня ( $0.63 \pm 0.05$  г,  $3.41 \pm 0.08$  см) и двухлетки карпа ( $17.00 \pm 2.16$  г,

8.44±0.07 см), плотвы (5.3±0.1 г, 6.63±0.05 см) и щуки (9.60±0.92 г, 18.1±2.20 см). Молодь всех видов, включая типичных ихтиофагов, питается планктоном, к концу первого нагульного периода наблюдается расширение кормовой базы и становление взрослого типа питания рыб (Уголев, Кузьмина, 1993; Остроумова, 2001).

В качестве объектов питания рыб-ихтиофагов исследованы: сеголетки тюльки (масса тела 0.55±0.03 г, 3.51±0.05 см), плотвы (0.25±0.01 г, 2.62±0.04 см), карпа (1.33±0.15 г, 4.03±0.14 см), карася (2.11±0.50 г, 3.93±0.27 см), окуня (0.63±0.05 г, 3.41±0.08 см), судака (0.23±0.01 г, 2.64±0.06 см) и ротана (0.82±0.11 г, 3.25±0.18 см).

Потенциальные объекты питания рыб бенто- и планктофагов – ряд видов беспозвоночных, относящихся к 2 типам, 4 классам и 5 семействам:

тип Artropoda, кл. Crustacea: сем. Daphniidae, дафния *Daphnia magna* (Straus), а также планктонные организмы, входящие в состав суммарных проб рачкового зоопланктона и включающие представителей отр. Daphniiformes, Copepoda и Ostracoda, в которых доминировали дафнии *Daphnia longispina* Muller; кл. Insecta: сем. Chironomidae, личинки хирономид *Chironomus plumosus* (L.);

тип Mollusca, кл. Bivalvia: сем. Dreissenidae, дрейссена полиморфная *Dreissena polymorpha* (Pall); кл. Gastropoda: сем. Lymnaeidae, прудовик большой *Lymnea stagnalis* (L.); сем. Bulinidae, катушка роговая *Planorbis corneus* (L.).

Ниже приведена краткая характеристика особенностей биологии исследованных видов рыб (Поддубный, 1971; Атлас..., 2002; Рыбы..., 2010) и беспозвоночных (Догель, 1975; Определитель..., 1977; Монаков, 1998; Чертопруд, Чертопруд, 2003).

**Тюлька** встречается в бассейне Черного, Азовского и Каспийского морей. Длина тела до 15 см. Питается мелкими пелагическими ракообразными и личинками двухстворчатых моллюсков, а также молодью сельди и бычков. В реках значительную роль в пище играют личинки хирономид и воздушные насекомые. Продолжительность жизни до 6 лет. Половая зрелость наступает на первом-втором году жизни при достижении длины 5 см. Тюлька – основная пища многих промысловых рыб.

**Щука** обитает в пресных водах Северной Америки, Европы и Азии. Имеет удлиненное, стреловидное тело, голова большая, плоская с сильно вытянутым и уплощенным рылом. В ротовой полости расположены многочисленные острые зубы. Спинной плавник отнесен далеко назад и расположен над анальным. Озерно-речная

рыба. Достигает длины 150 см и массы 35 кг. Половая зрелость наступает в 3–5 лет, у самцов на год–два раньше. Нерест ежегодный, начинается ранней весной, при температуре воды 3–6°C. Выметывает крупную икру (2.5–3.0 мм) в один прием на прошлогоднюю растительность на глубине 0.5–7 м. Плодовитость колеблется от 3 до 233 тыс., у самых крупных до 1 млн. икринок. Хищник. Кроме карповых и окуневых рыб щука потребляет головастиков, лягушек, мелких водоплавающих птиц, мелких млекопитающих (землероек, водяных крыс, белок). Промысловая рыба. Щука является объектом разведения и выращивания в прудовых и озерных хозяйствах для борьбы с малоценной рыбой (окунем, верховкой, плотвой, ершом).

**Густера** широко распространена в Европе к востоку от Пиринеев и к Северу от Альп и Балкан. Обитает в реках и озерах бассейнов Северного, Балтийского, Черного, Азовского и Каспийского морей. Имеет высокое, с заметным горбом, тело, сильно уплощенное с боков. Хвостовой плавник сильно-выемчатый, лопасти его приблизительно равной длины. Голова маленькая, глаз относительно большой. Живет не более 15 лет, достигая длины 35 см и массы 1.2 кг, но обычно – до 25–30 см и 0.5 кг. Созревает в 5–6 лет. Вид теплолюбивый. Предпочитает слабопроточные или непроточные водоемы с хорошо развитой растительностью и заиленным дном. Питается личинками хирономид, ручейников, моллюсков, а также водорослями и детритом, изредка воздушными насекомыми и высшей водной растительностью.

**Лещ** распространен в Европе к востоку от Пиринеев и к северу от Альп – в реках, озерах и определенных участках Северного, Балтийского, Белого (до Печоры), Эгейского, Черного, Азовского, Каспийского и Аральского морей. Акклиматизирован на Урале, в бассейне Оби и Иртыша, в Байкало-Ангарском бассейне. Это сравнительно крупная рыба, с высоким телом, сжатым с боков. Голова и глаза сравнительно небольшие. Живет до 20 лет, обычно 12–14 лет. Может достигать длины 75–80 см и массы 6–9 кг. Обычные размеры 25–45 см и масса 0.5–1.5 кг. Половая зрелость наступает в 6–9 лет. Предпочитает медленнотекущие водоемы. Типичный бентофаг. В основном питается донными беспозвоночными (личинки насекомых, моллюски, черви, ракообразные). Является одним из главных объектов пресноводного промысла.

**Плотва** населяет пресные и солоноватые воды Европы к востоку от Пиренеев и к северу от Альп, а также водоемы Сибири и бассейн Аральского моря. Живет плотва обычно в озерах и медленно текущих реках среди зарослей растительности. Туводная

форма достигает длины 35 см и массы 1.3 кг. Полупроходные формы крупнее: длина 51 см, масса до 2 кг. Половой зрелости достигает в 4–5 лет. После резорбции желточного мешка молодь плотвы питается зоопланктоном, а, начиная со второго года жизни, и во взрослом состоянии – водной растительностью, личинками насекомых и мелкими моллюсками. Наиболее интенсивно плотва питается в летнее время, зимой обычно прекращает питание.

**Язь** – широко распространенный вид. Его ареал простирается от бассейна Рейна на восток до Западной Якутии, включая реки Северного Ледовитого океана, от бассейна Белого моря. Имеет умеренно удлинненное тело. Голова небольшая, лоб выпуклый. Окраска тела серебристо-желтая. Живет до 15–20 лет. Может достигать длины до 1 м и массы 6–8 кг, но обычные размеры 30–50 см и масса около 1 кг. Половозрелым становится в 4 года. Обитает в реках и озерах, предпочитают глубокие заводи с замедленным течением, ямы и омуты, места с глинистыми и заиленными грунтами. Преимущественный бентофаг. Поедает падающих в воду насекомых, линяющих речных раков, дождевых червей, личинок насекомых, мелких моллюсков и некрупных рыб.

**Карась** серебряный – вид с огромным современным ареалом, охватывающим Евразию и Америку. Тело короткое, высокое, покрытое серебристой чешуей. Окраска спины темно-зеленая, бока и брюхо серебристые. Живет до 14–15 лет, обычно 7–10 лет. Достигает максимальной длины 45 см и массы более 1 кг, обычно не выше 20 см и 350 г. Половозрелость наступает на 4–5 году жизни. Обитает в озерах и больших реках. Типичный фитофил. Питается планктоном, водорослями, детритом, личинками насекомых, червями и другими беспозвоночными.

**Карп.** Коренным местом его обитания являются реки, водохранилища и озера бассейнов Азовского, Черного, Каспийского и Аральского морей. В естественных водоемах предпочитает спокойные воды тихих проток и пойменных стариц с зарослями водной растительности. Малотребователен к качеству воды и хорошо переносит кратковременный значительный дефицит кислорода. Молодь потребляет сначала зоопланктон, потом переходит на бентос. Взрослые рыбы питаются моллюсками, растительностью, личинками насекомых и др. Предельный возраст – 30 лет. Может достигать длины 1 м, а массы 16–32 кг. Средняя длина в уловах 35–55 см, масса – 1–3

кг. Половой зрелости достигает в возрасте 3–5 лет при длине более 30 см. Ярославская область близка к северной границе ареала.

**Налим** – единственный пресноводный вид отряда *Gadiformes*. Широко распространен в пресных водах северных районов Европы, Азии и Северной Америки. Тело удлинненное, невысокое, округлое в передней части и сильно сжатое с боков – в задней. Голова уплощена, ее длина превышает максимальную высоту тела. Достигает длины 120 см и массы 24 кг, предельный возраст – 24 года. Обычно в промысловых уловах до 60–80 см и 3–6 кг. Самцы созревают на 2 году жизни, самки – на 3–4 году при длине 35–40 см. Налим – холодолюбивая рыба, нерестится и нагуливается в холодное время года. Он предпочитает холодные и чистые водоемы с каменистым иловатым дном и ключевой водой. Питается преимущественно ночью, в молодом возрасте – беспозвоночными, с годовалого возраста при длине 12–15 см наряду с бентосом начинает активно потреблять рыбу и только с 3–4 лет начинает питаться исключительно рыбой. Состав пищи зависит от кормовой базы конкретного водоема.

**Окунь** широко населяет равнинные водоемы Евразии – реки, озера, прибрежные участки моря. Встречается в солоноватых водах. Максимальный возраст 17 лет, длина – 51 см и масса – 4.8 кг. Обычно в промысловых уловах преобладают особи длиной до 30 см, в среднем 15–20 см и массой 200–300 г в возрасте 4–6 лет. Половозрелым становится в возрасте 2–3 лет. На первом спинном плавнике имеется черное пятно. В крупных озерах представлен двумя формами: прибрежной, медленно растущей и питающейся мелкими беспозвоночными, детритом, и крупной, быстрорастущей, питающейся рыбой и занимающей глубокие участки водоема. Половой зрелости достигает на 3–4 году жизни. Нерестует в мае–июне при температуре воды 7–8°C. Икра длинными слизистыми лентами развешивается на прошлогодней растительности, корягах, кустарниках, корнях деревьев. Плодовитость достигает 300 тыс. икринок и более. Промысловая рыба.

**Судак.** Естественный ареал охватывает все крупные речные и озерные водоемы бассейнов Балтийского, Черного, Каспийского и Аральского морей, от верховий Дуная и Эльбы на западе до Уральских гор на востоке. Населяет как пресные, так и солоноватые воды. Тело удлинненное, сжатое с боков. Спина и верх головы зеленовато-серые, брюхо белое. Достигает 130 см длины и массы до 18 кг и предельного возраста 14 лет, но в

уловах чаще встречаются особи длиной 40–60 см и массой 1–3 кг. Половое созревание наступает в 5–7 лет, в южных популяциях – на 2–3 года раньше. Пелагический хищник, обитающий в открытой зоне озер и водохранилищ. Молодь в первые месяцы жизни питается зоопланктоном, который вскоре заменяется нектобентическими ракообразными и молодь других рыб. Пищу взрослого судака составляют мелкие массовые виды рыб: на севере – молодь окуневых, корюшка, ряпушка, молодь сигов, на юге – тюлька, хамса, бычки.

**Сом** широко распространен в водоемах Балтийского, Черного, Азовского, Каспийского и Аральского морей. В европейской части ареал сома простирается от Рейна и Дуная на западе до Урала на востоке. Тело длинное, округлое в передней части и сжатое с боков – в задней. Голова сильно сжата в дорсовентральном направлении. Глаза маленькие, расположены ближе к затылочной части. На подбородке имеются 2 пары коротких усиков. Окраска тела почти черная на спине, темно-зеленая с пятнами по бокам и грязно-белая на брюхе. Известны максимальные размеры сома до 5 м длиной и массой 300 кг. В настоящее время встречаются особи длиной не более 2.5 м и массой 150 кг в возрасте до 30 лет, средние размеры в большинстве водоемов 70–150 см и 5–50 кг в возрасте до 15 лет. Половой зрелости достигает в 3–5 лет. Сом – крупный хищник, питается преимущественно в сумерках. Рацион составляют виды рыб, наиболее многочисленные в данном районе – карповые, окуневые, бычковые, молодь осетровых; в морских водах и в волжских водохранилищах – сельдевые (килька, тюлька).

**Ротан** населяет пресные водоемы Европейской части России, куда был завезен аквариумистами из мест его аборигенного пребывания – северо-востока п-ова Корея, Северного Китая и Приморья. Предпочитает стоячие водоемы, пруды и болота. Имеет бычководную форму тела. Брюшные плавники не соединены в диск. Спина обычно черновато-зеленая, бока желтовато-зеленые, на боках темно-бурые пятна неправильной формы. Ротан неприхотлив к условиям среды, особенно к дефициту кислорода в воде. Выдерживает почти полное высыхание и промерзание водоемов, зарываясь в ил. Питается животной пищей доступного размера любого вида, в том числе поедает молодь рыб и икру. Несмотря на малые размеры очень прожорлив и почти всеяден. Половозрелым становится в возрасте 2–3 лет при длине около 6 см.

**Ветвистоусые раки** Cladocera – мелкие планктонные организмы. У большинства ветвистоусых тело заключено в двустворчатую раковину, уплощенную с боков, голова выдается вперед, нередко образуя, например, у дафний, направленный на брюшную сторону клювообразный вырост. На голове находится непарный крошечный науплиальный глаз, а также большой фасеточный глаз, образовавшийся слиянием пары сложных глаз. Антеннулы небольшие, но антенны сильно развиты, двуветвистые и служат для плавания. Грудь сильно укорочена и состоит из 4–6 сегментов. Некоторые ветвистоусые населяют открытую часть водоемов, другие приспособились к жизни в прибрежной зоне и на дне. У поколений водяных блох, живущих в разное время года, наблюдаются сезонные изменения, выражающиеся в изменении формы головы, длины "клюва", шипов и т.д. Ветвистоусые имеют большое практическое значение. Это очень важный источник пищи не только для более крупных беспозвоночных, но и для молоди рыб, а также для некоторых ценных пород планктоноядных рыб, например, сигов. Кроме того, дафнии широко используются в экспериментах по биотестированию.

**Веслоногие рачки** Соперода живут как в пресных водах, так и в морях, нередко составляя существенную часть планктона. Известно около 1800 видов. Это мелкие, большей частью планктонные рачки с телом, состоящим из сложной головы, в состав которой сзади вошел передний грудной сегмент, пятичлениковой груди и четырехчленикового брюшка. Антеннулы часто длинные, иногда длиннее тела, и обычно активно участвуют в плавании. Многие представители отряда – паразиты, поселяются на различных животных, чаще на рыбах. Служат пищей для многих водных животных, например планктоноядных рыб. Циклопы часто встречаются в  $\alpha$ -мезосапробной зоне, изредка в  $\beta$ -мезосапробной, но не выносят сильного загрязнения.

К **ракушковым ракам** Ostracoda относятся мелкие, часто различимые только под микроскопом ракообразные с нечленистым телом, в основном сжатым с боков, одетым двустворчатой раковиной, с семью парами придатков. Они ведут планктонный, ползающий и роющий образ жизни. Главным органом передвижения служат антенны, но у некоторых пресноводных видов для плавания употребляются одновременно обе пары усиков. Грудные ножки играют существенную роль при ползании. Сердца и жаберных придатков у большинства остракод нет. Известно около 2000 видов ракушковых. В большинстве – это обитатели морей, но имеется и множество пресноводных видов, а южноафриканский *Mesocypris terrestris* живет даже в лесной

подстилке влажного тропического леса. Ракушковые питаются разнообразной пищей – растительной и животной, среди них есть даже прожорливые хищники.

**Хирономиды** вида *C. plumosus* широко распространенная эврибионтная форма, живущая в водоемах всех типов, стоячих и текучих. Эта форма личинок комара-звонца часто доминирует в эвтрофных прудах, как чистых, так и загрязненных. Рот личинок сверху прикрыт верхней губой с многочисленными щетинками, часто помогающими удержанию пищевых объектов. Верхняя пара челюстей представлена сильно склеротизированными мандибулами с зубчатыми внутренними краями их дистальной части. Вторая пара челюстей – максиллы – менее склеротизированы, округлой формы, на выпуклой части несут максиллярный щупик. Личинка имеет рубиновый цвет. Она выбирает своим местообитанием ил, грязь, из которого делает себе трубку, в которой живет. На поверхность воды она всплывает лишь изредка. Используют в пищу микрофлору, детрит, различные водоросли, ткани макрофитов, всевозможных беспозвоночных и даже кладки некоторых позвоночных. Они легко переходят от одного корма к другому и отдают предпочтение более доступному виду пищи. По мере роста набор пищевых объектов может изменяться, а их разнообразие сокращаться.

**Дрейссена** *D. polymorpha* – широко распространенный вид двустворчатых моллюсков. Обитает во многих водоемах Европы. Питается дрейссена детритом, бактериями, диатомовыми. Механизм питания сводится к следующему. Работой ресничек мерцательного эпителия, выстилающего жабры и околотротова лопасти, вода через бронхиальный сифон засасывается внутрь мантийной полости. Вода проходит через решетку щупалец бронхиального сифона. Крупные частицы, попадающие на щупальца, выталкиваются наружу с помощью одновременного прекращения действия анального сифона и смыкания створок, в результате чего создается сильная струя воды из мантийной полости через бронхиальный сифон. Взвесь, прошедшая через него оседает на жабрах и удерживается. Иногда дрейссены образуют значительные колонии, которые могут повредить различные гидротехнические сооружения, проникают в водопроводные трубы, погибая там, могут являться причиной порчи воды.

**Прудовик** *L. stagnalis* – широко распространенный вид. Встречается в северной Африке, Европе, Северной и Центральной Азии (до Камшира), Северной Америке. Завезен в Тасманию и Новую Зеландию. Населяет прибрежную полосу стоячих и медленно текучих водоемов, встречается и в пересыхающих водоемах. Раковина

крупная, с вытянутым острым завитком. Оборотов 6–8; первые обороты очень слабо выпуклые и возрастают медленно, последние обороты сильно расширенные и вздутые. Цвет раковины – от темно-коричневого до белого и розового. Поверхность раковины умеренно блестящая, покрытая тонкими, идущими в разных направлениях линиями; часто наблюдается сетчатая структура. Самых крупных размеров раковины (высота до 70 мм) достигают в хорошо прогреваемых, богатых пищей водоемах, самые мелкие (19.5 мм) – у моллюсков обитающих в неблагоприятных условиях.

**Катушка** *P. corneus* встречается по всей Европе, в Западной Сибири, Казахстане. Ширина раковины катушки достигает 28 мм, высота – 10 мм. Цвет раковины – оливково-коричневый. Оборотов 4–5, последний оборот почти вдвое шире предпоследнего. Устье вырезано предпоследним оборотом и имеет почковидную форму. На молодой раковине видна решетчатая скульптура. Обитает в мелких заросших постоянных водоемах, на растениях, иле и детрите. Пища состоит из эпифитных водорослей, микрофлоры и тканей высших растений.

Рыб отлавливали по всей акватории Рыбинского водохранилища (58°30'с.ш., 38°30'в.д.) и в его притоках (ротан в прудах) мальковой волокушей, неводом, тралом или ставными сетями преимущественно в летнее-осенний период (налим – зимой). Карп выращен на стационаре полевых и экспериментальных работ ИБВВ РАН. Беспозвоночных отлавливали планктонными сачками в прибрежной зоне Рыбинского водохранилища и в прудах возле пос. Борок в летний период, культура дафнии *D. magna* выведена в лабораторных условиях.

Животных в течение 1–2 ч после поимки доставляли в лабораторию. В некоторых случаях рыб или их кишечники замораживали и хранили при температуре –18°C не более двух недель. В серии предварительных опытов было установлено, что активность гликозидаз у рыб и беспозвоночных изменяется незначительно ( $p < 0.05$ ) при хранении в герметичной упаковке при –18°C в течение 2-х месяцев и однократном размораживании. Всего в различных экспериментах было исследовано около 900 экз. рыб и несколько тысяч экз. беспозвоночных. Количество рыб, использованных для решения различных задач, представлено в таблице 2.1.

**Таблица 2.1** Количество рыб (экз.), использованных для решения различных задач

	Задача исследования	Вид рыб	экз.
1	Влияние Раундапа (0.1–50 мкг/л) на гликозидазы кишечника молоди рыб при стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4)	Тюлька, карп, плотва, окунь, щука	220
2	Влияние Раундапа (0.1–50 мкг/л) на гликозидазы кишечника взрослых рыб при стандартных условиях	Тюлька, лещ, язь, плотва, налим, окунь, щука, судак, сом, густера	115
3	Влияние Раундапа (0.1–50 мкг/л) на гликозидазы в организме молоди рыб при стандартных условиях	Тюлька, плотва, карп, карась, окунь, щука, судак, ротан	70
4	Влияние Раундапа (25 мкг/л) на гликозидазы кишечника молоди рыб при разных значениях температуры и pH	Тюлька, карп, окунь	120
5	Влияние Раундапа (25 мкг/л) на гликозидазы кишечника взрослых рыб при разных значениях температуры и pH	Окунь, налим, щука, судак, сом	30
6	Влияние Раундапа (25 мкг/л) на гликозидазы в организме молоди рыб при разных значениях температуры и pH	Тюлька, плотва, окунь	120
7	Влияние степени антропогенного загрязнения	Лещ, плотва	36
8	Влияние присутствия ПХБ в корме	Лещ	25
9	Влияние хронической экспозиции к Раундапу	Ротан	24
10	Влияние скорости повышения температуры воды	Карп, ротан	96
11	Влияние магнитной бури	Плотва	40

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Постановка экспериментов *in vitro*

Поскольку переваривание углеводов у рыб происходит главным образом в кишечнике (Chakrabarty et al., 1995), активность гликозидаз изучали именно в этом отделе пищеварительного тракта.

**Приготовление ферментативно-активных препаратов.** Для приготовления гомогенатов слизистой оболочки кишечника, рыб обездвигивали ударом по голове, вскрывали брюшную полость, извлекали кишечник и помещали его на стекло ледяной бани. Затем кишечник, предварительно очищенный от жира и прилегающих тканей, разрезали вдоль и собирали содержимое (химус) средней части кишки. У взрослых рыб специальным пластмассовым скребком снимали слизистую оболочку (у молоди использовали кишечную стенку) медиальной части кишечника и взвешивали. Для получения достаточного количества гомогенатов у молоди рыб, а также взрослых рыб малого размера (тюлька) использовали суммарные пробы от 2–10 экз. одного вида и считали их за одну биологическую повторность (n). Для приготовления гомогенатов жертвы использовали целые организмы гидробионтов. Тушки молоди рыб и очищенных от раковин моллюсков предварительно измельчали ножницами и ткани перемешивали. Затем готовили суммарные пробы, в состав которых входило несколько сотен рачков, несколько десятков личинок хирономид либо 5–10 экз. моллюсков или 2–10 экз. рыб одного вида и считали их за одну биологическую повторность. Процедуру приготовления гомогенатов проводили на холоде. Навески тканей гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе, добавляя охлажденный до 2–4°C раствор Рингера для холоднокровных животных (110 ммоль NaCl, 1.9 ммоль KCl, 1.3 ммоль CaCl<sub>2</sub>, pH 7,4) в соотношении 1:9. Затем исходный гомогенат дополнительно разбавляли раствором Рингера в 2–20 раз.

Гомогенаты использовали сразу после приготовления либо после хранения в герметичных сосудах при температуре –18°C не более недели. Установлено, что при хранении гомогенатов в этих условиях активность панкреатических и цитозольных

ферментов сохраняется в течение 4-х месяцев, мембранных ферментов до 2-х лет (Solovyev et al., 2016).

**Определение ферментативной активности** проводили как при стандартных условиях (температура 20°C и pH 7.4), так и в более широком диапазоне температуры (0°, 10° и 20°C) и pH (5, 7.4 и 8.3). Выбор диапазона показателей был обусловлен тем, что средние сезонные значения температуры для водоемов умеренных широт России составляют 0–3°C зимой, 10°C весной и осенью, 20°C летом (Голованов, 2013), а значения pH в пищеварительном тракте рыб в зависимости от стадии пищеварения варьируют от кислых до слабо щелочных значений (Сорвачев, 1982; Deguaga et al., 2003; Соловьев и др., 2015).

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), а также активность сахаразы КФ 3.2.1.48 оценивали по приросту гексоз методом Нельсона (Nelson, 1944) в модификации Уголева, Иезуитовой (Уголев, Иезуитова, 1969). Активность мальтазы определяли глюкозо-оксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия). Растворы субстратов: растворимый крахмал (18 г/л), сахароза (50 ммоль/л) и мальтоза (50 ммоль/л) готовили на таком же растворе Рингера. Гомогенаты и растворы субстратов инкубировали при непрерывном перемешивании в течение 20–60 мин. При оценке влияния Раундапа гомогенаты предварительно выдерживали в присутствии раствора гербицида определенной концентрации в течение 1 ч при соответствующих значениях температуры и pH. Ферментативную активность в каждой точке определяли в трех-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). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin&Elmer, США) или фотоэлектроколориметре КФК-2 при длине волны 670 нм (амилолитическая активность, сахараза) и 505 нм (мальтаза).

**Определение амилолитической активности и активности сахаразы. Метод Нельсона.** Принцип метода основан на окислении редуцирующих сахаров медным реактивом с последующим восстановлением мышьяково-молибденового реактива в присутствии образовавшегося оксида меди (I).

## Реактивы:

- 1) Изотонический реактив:  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  – 9.6 г,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 2.1 г, доводят дистиллированной водой до 350 мл.
- 2) Медный реактив для окисления глюкозы, состоящий из двух растворов А и Б. Раствор А: 13 г химически чистого кристаллического медного купороса доводят дистиллированной водой до 1 л. Раствор Б: 50 г  $\text{NaHCO}_3$  растворяют при перемешивании в 700 мл дистиллированной воды. После растворения всего бикарбоната прибавляют 40 г  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  при перемешивании. Затем добавляют 36.8 г щавелевокислого калия, предварительно растворенного в 100 мл воды и 24 г сегнетовой соли, растворенной также в 100 мл воды. Смесь сливают в мерную колбу и доводят дистиллированной водой до 1 л. Рабочий раствор готовится перед употреблением смешиванием равных частей растворов А и Б.
- 3) Мышьяково-молибденовый раствор. 25 г молибденовокислого аммония растворяют в 450 мл дистиллированной воды. Затем добавляют 21 мл концентрированной серной кислоты и 3 г 2-замещенного мышьяковокислого натрия ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), предварительно растворенного в 25 мл дистиллированной воды (при отсутствии 2-замещенного мышьяковокислого натрия может быть использован 3-замещенный). Раствор оставляют при  $37^\circ\text{C}$  на 48 часов. Перед употреблением его разводят двумя объемами воды.
- 4) 10%-й раствор вольфрамата натрия ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) для осаждения белков.
- 5) 2 ммоль/л стандартный раствор глюкозы.

## Ход определения.

В пробирки приливают по 0.25 мл гомогената и 0.25 мл раствора Рингера (контроль) или по 0.25 мл гомогената и 0.25 мл раствора Раундапа определенной концентрации (опыт) и инкубируют в течение 60 мин. После этого в каждую пробирку добавляют по 0.5 мл субстрата и эту смесь инкубируют в течение 30 или 60 мин при непрерывном перемешивании. Затем к 0.5 мл инкубационной смеси добавляют 3.7 мл изотонического раствора и 0.2 мл 10%-го раствора вольфрамата натрия. Основная часть несугарных редуцирующих веществ осаждается в течение 10 мин. Пробы встряхивают и фильтруют через бумажные фильтры. Затем 1 мл безбелкового фильтрата прибавляют к 1 мл медно-щелочного реактива (смесь реактивов А и Б) для окисления редуцирующих веществ. После 10-минутного пребывания в кипящей водяной бане и охлаждения, в

пробирки приливают по 3 мл мышьяково-молибденового реактива, предварительно разведенного дистиллированной водой в отношении 1:2, который окисляет глюкозу и дает сине-зеленое окрашивание. Измерение производится через 10–15 мин после развития окраски на спектрофотометре или на фотоэлектроколориметре (длина волны 670 нм) в специально подобранных кюветах против перечисленных выше реактивов, к которым вместо исследуемой инкубационной смеси добавляют такое же количество раствора Рингера.

Расчет активности ферментов производился на основе экстинкции стандартного раствора глюкозы по формуле:

$$V = \frac{E_{оп} \cdot U \cdot K}{E_{гл} \cdot T \cdot 1}, \text{ где:}$$

V – количество гексоз, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г сырой массы ткани, мкмоль/г·мин;

$E_{оп}$  – экстинкция пробы;

$E_{гл}$  – экстинкция 1 ммоль/л стандартного раствора глюкозы;

K – конечное разведение гомогената;

1 – стандартный вес сырой массы ткани, г.;

U – объем ферментативно-активного препарата, л;

T – время инкубации, мин.

**Определение активности мальтазы.** Сущность метода заключается в том, что дисахарид мальтоза, содержащаяся в растворе субстрата, под действием мальтазы гидролизует на составляющие его мономеры. Увеличивающаяся в связи с этим в растворе субстрата концентрация глюкозы и определяется глюкозооксидазным методом, который основывается на реакции окисления углевода кислородом воздуха, катализируемой глюкозооксидазой. В результате этого взаимодействия образуется глюколактон и перекись водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет 4-аминоантипирин в присутствии фенольных соединений в окрашенное соединение, интенсивность окраски которого, пропорциональная концентрации глюкозы в анализируемом образце, измеряется фотометрически при длине волны 500 (490–540) нм. В данной работе применены наборы для клинической биохимии «Фотоглюкоза».

**Реактивы:**

- 1) 0.45%  $ZnSO_4$  – 800 мг  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  на 100 мл воды;
- 2) 0.1 N раствор NaOH – 400 мг сухого NaOH на 100 мл воды;
- 3) 5 ммоль раствор глюкозы – 90 мг глюкозы на 100 мл воды.

**Ход определения.**

В пробирки приливают по 0.5 мл 50 ммоль раствора мальтазы и такое же количество ферментативно-активного препарата. Полученную смесь инкубируют в течении 20 минут при температуре 20 °С.

Затем к 1 мл инкубационной смеси добавляют 1 мл 0.45% раствора  $ZnSO_4$  и 0.5 мл 0.1 N раствора NaOH, пробы тщательно перемешивают. Спустя 10 минут их фильтруют. Из отфильтрованных растворов отбирают по 0.4 мл и к этому количеству фильтрата приливают 2 мл рабочего реактива глюкозооксидазы. Пробы инкубируют в течении 15–20 минут при температуре 20 °С. Вслед за этим проводят колориметрию напротив холостой пробы.

Контроль: 0.5 мл раствора глюкозы приливают к 0.5 мл раствора Рингера.

Расчет активности фермента проводят по формуле:

$$V = \frac{2.5 \cdot E_{on} \cdot K}{E_{гл} \cdot T}, \text{ где:}$$

$V$  – количество гексоз, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г сырой массы ткани, мкмоль/г·мин;

2.5 – концентрация контрольного раствора глюкозы, мкмоль;

$E_{on}$  – экстинкция опытной пробы;

$K$  – конечное разведение гомогената;

$E_{гл}$  – экстинкция контрольной пробы;

$T$  – время инкубации, мин

**Приготовление растворов Раундапа.** Для приготовления растворов гербицида использовали коммерческий препарат, имеющий торговое название «Раундап» (произведен и расфасован ЗАО фирма «Август» (Россия) по лицензии фирмы «Монсанто Европа С. А.» (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-ный водный раствор глифосата. Возможные инертные ингредиенты, усиливающие действие активного элемента или облегчающие использование гербицида в аннотации не указаны. Для

эксперимента ежедневно готовили маточный раствор Раундапа концентрацией 100 мкг/л по глифосату. Более низкие концентрации гербицида (0.1, 1, 10, 25, 50 мкг/л) получали путем последовательного разведения маточного раствора с определенным количеством дистиллированной воды. При этом необходимо учитывать, что концентрация рабочего раствора Раундапа должна в 2 раза превышать тестируемую концентрацию, поскольку при инкубации с гомогенатом происходит 2-кратное разведение токсиканта.

Выбор концентраций Раундапа был обусловлен установленными значениями ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов (1 мкг/л) (Перечень..., 1999), а также значениями  $LC_{50}$  Раундапа для рыб и беспозвоночных (Smith, Oehme, 1992; Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2003; Папченкова и др., 2009). Концентрации 0.1, 1 и 10 мкг/л соответствуют содержанию глифосата в природных водах, 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).

### 2.2.2 Постановка экспериментов *in vivo*

**Влияние степени антропогенного загрязнения** на чувствительность гликозидаз к *in vitro* действию Раундапа изучали на половозрелых особях леща и плотвы, отловленных на двух участках Рыбинского водохранилища, отличающихся по степени антропогенной нагрузки: в Шекснинском плесе (ст. Любец и ст. Ваганиха), в который поступают бытовые и сточные воды г. Череповец, и в Волжском плесе (ст. Коприно), наиболее удаленном от локального источника загрязнения. Рыбы выловлены донным тралом с экспедиционного судна в марте 2008 г. по 8–10 экз. (обоих полов в равной пропорции) на каждой станции. Масса леща (возраст 11–12+) из Волжского плеса составляла  $1178 \pm 130$  г, длина тела  $40.0 \pm 1.3$  см, из Шекснинского плеса –  $1230 \pm 64$  г и  $41.6 \pm 0.6$  см соответственно. Масса плотвы (возраст 7–8+) из Волжского плеса составляла  $302 \pm 50$  г, длина тела  $25.5 \pm 1.5$  см, из Шекснинского плеса –  $317.6 \pm 150$  г и  $25.6 \pm 3.5$  см соответственно.

**Присутствие ПХБ в корме** на чувствительность гликозидаз к *in vitro* действию Раундапа изучали на неполовозрелых особях леща (3+). Ювенильные особи (масса  $113 \pm 8$  г, длина тела  $20.2 \pm 0.71$  см) отловлены в сентябре 2010 года в устьевой зоне реки Сутка, впадающей в Волжский плес Рыбинского водохранилища. После отлова

рыб содержали под открытым небом в ванне с аэрируемой проточной водой в течение 3 недель для акклимации. В этот период лещу давали корм для карповых рыб TetraMin один раз в день. Навеска корма составляла 1.25 % от общей массы рыб. Для проведения эксперимента рыб рассадили в две ванны объемом 2 м<sup>3</sup>. Кормление осуществляли аналогичным способом. Пищу для рыб опытной группы опрыскивали этанолом, содержащим растворенную навеску коммерческого препарата Agoclog 1254 из расчета 2 мг/г корма. Корм для рыб контрольной группы обрабатывали только веществом-переносчиком (этанол). Отбор рыб (по 5 экз. из каждой группы) производили в начале эксперимента, через 7 и 14 суток.

**Хроническое действие Раундапа.** Молодь ротана (возраст 1+, масса  $3.12 \pm 0.17$  г, длина тела  $5.44 \pm 0.10$  см) была отловлена 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  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ . Затем рыб разделили на 2 группы: по 25 экз. поместили в 2 аквариума с чистой водой, по 25 экз. – в 2 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, который составляет 7–14 сут (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.

**Влияние повышения температуры воды на чувствительность кишечных гликозидаз к Раундапу** оценивали на примере молоди карпа (возраст 0+, масса  $1.65 \pm 0.48$  г, длина тела  $3.98 \pm 0.43$  см), выращенного на стационаре полевых и экспериментальных работ «Сунога» ИБВВ им. И. Д. Папанина РАН, на чувствительность гликозидаз в целом организме – на молоди ротана (0+, масса  $1.00 \pm 0.27$  г, длина тела  $3.83 \pm 0.31$  см), выловленного в пруду вблизи пос. Борок, Ярославская обл. Рыбы отловлены в осенний период.

В лабораторных условиях рыб акклимировали в течение 10 дней к температуре  $13^\circ\text{C}$  (ротан) и  $32^\circ\text{C}$  (каarp) при естественном фотопериоде. Значения температуры  $13^\circ\text{C}$  характерны для водоемов средней полосы России в осенне-весенний сезон, температура

32°C отмечена в аномально-теплое лето 2010 г (Голованов, 2013). В период акклимации рыб кормили 1 раз в сутки личинками хирономид в количестве 4–10% от общей массы тела. Затем группу рыб (по 6 экз. в каждой, две повторности) помещали в экспериментальный аквариум объемом 60 л, оборудованный системой нагрева и аэрации. Температуру воды в аквариуме повышали со скоростью 8°C/ч (каarp) или с разной скоростью: 0.02, 4, 8.5, 27 и 42 °C/ч (ротан) до нарушения локомоторной функции рыб – переворота на бок или кверху брюшком, сублетальное значение температуры фиксировали как критический термический максимум (КТМ) (Becker, Genoway, 1979; Голованов, 2013). Значения КТМ при всех скоростях нагрева не превышали 40°C. При прекращении нагрева и переносе рыб в воду с температурой на 3–4°C ниже они сохраняли жизнеспособность. Продолжительность эксперимента составляла от 12.5 сут до 0.5 часа в зависимости от скорости нагрева воды и температуры предварительной акклимации. Затем рыб извлекали из аквариума и использовали для биохимического анализа.

**Действие магнитной бури (МБ)** на чувствительность гликозидаз к *in vitro* действию Раундапа изучали на 4-х месячных сеголетках плотвы (масса  $7.99 \pm 0.20$  г, длина –  $7.52 \pm 0.05$  см), подвергнутых действию МБ в период раннего эмбриогенеза. Объектом экспозиции в МБ была оплодотворенная икра плотвы. Половые продукты получены от 8-ми самок и 6-и 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°C), 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 (Krylov et al., 2014), где в течение 24 ч воспроизводили МБ в диапазоне частот 0–5 Гц. Установка включает в себя трёхкомпонентный феррозондовый магнитометр, регистрирующий локальное магнитное поле и его вариации в широтном, меридиональном и вертикальном направлениях (НВ 0302А, НПО ЭНТ, Санкт-Петербург), систему из трёх пар взаимно ортогональных колец Гельмгольца, в которой происходит компенсация флуктуаций геомагнитного поля в направлении трёх регистрируемых компонент магнитного поля и генерация МБ, а также оборудование для

аналого-цифрового и цифро-аналогового преобразования сигналов (LTR-EU-8, ЗАО “Л-кард”, Москва). Управление установкой осуществляли с помощью компьютера со специальным программным обеспечением. 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 поместили в пруды с естественной кормовой базой. Спустя 4 месяца из каждого пруда выловили по 20 экз. сеголеток, которых использовали для биохимического анализа.

### **2.2.3 Статистическая обработка данных**

Статистическую обработку данных проводили при помощи стандартного пакета прикладных программ Statistica 10, Statgraphics Plus 2.1 и MS Excel 2003. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ( $M \pm m$ ). Все исследуемые показатели протестированы на нормальность распределения с помощью теста Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения при парном и множественном сравнении результатов использовали однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA, LSD-тест или Dunnett-тест) с оценкой достоверности различий при помощи критерия Фишера (F). В случае, когда распределение отличалось от нормального (взрослые ихтиофаги), использовали критерий Краскела-Уоллиса. Различия показателей считали статистически значимыми при уровне значимости  $p \leq 0.05$ ,  $p \leq 0.01$  или  $p \leq 0.001$ . Силу влияния фактора рассчитывали по отношению суммы квадратов фактора к общей сумме квадратов (Коросов, Горбач, 2010).

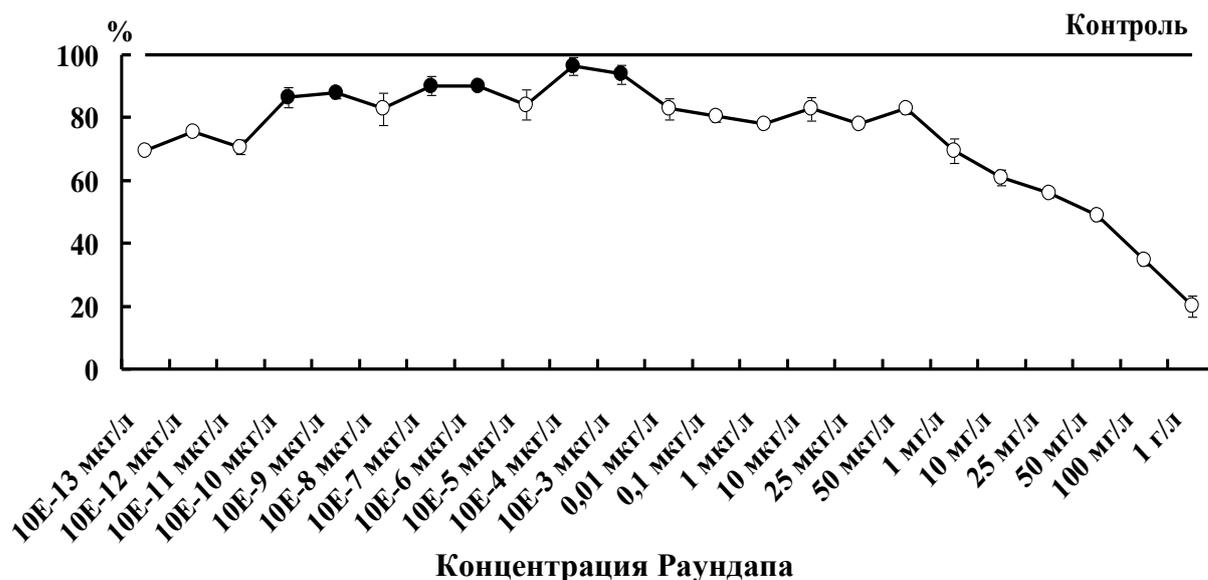
### ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ РАУНДАПА НА ГЛИКОЗИДАЗЫ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ СТАНДАРТНЫХ УСЛОВИЯХ (ТЕМПЕРАТУРА 20°C, PH 7.4)

В многочисленных исследованиях установлено влияние глифосатсодержащих гербицидов, в том числе и Раундапа, на целый ряд физиолого-биохимических параметров у рыб и беспозвоночных. Выявлены изменения показателей энергетического и метаболического обмена (Gluszczak et al., 2011; Samanta et al., 2014), перекисного окисления липидов (Lushchak et al., 2009; Samanta et al., 2014; Velasques et al., 2016), активности антиоксидантных и холинергических ферментов (Sandrini et al., 2013; Sinhorin et al., 2014a; Samanta et al., 2014; Velasques et al., 2016; Tarouco et al., 2017). Однако к моменту начала нашей работы данные по влиянию гербицида Раундап на активность гликозидаз в кишечнике рыб и в тканях объектов их питания практически отсутствовали (Папченкова и др., 2009; Голованова, Папченкова, 2009).

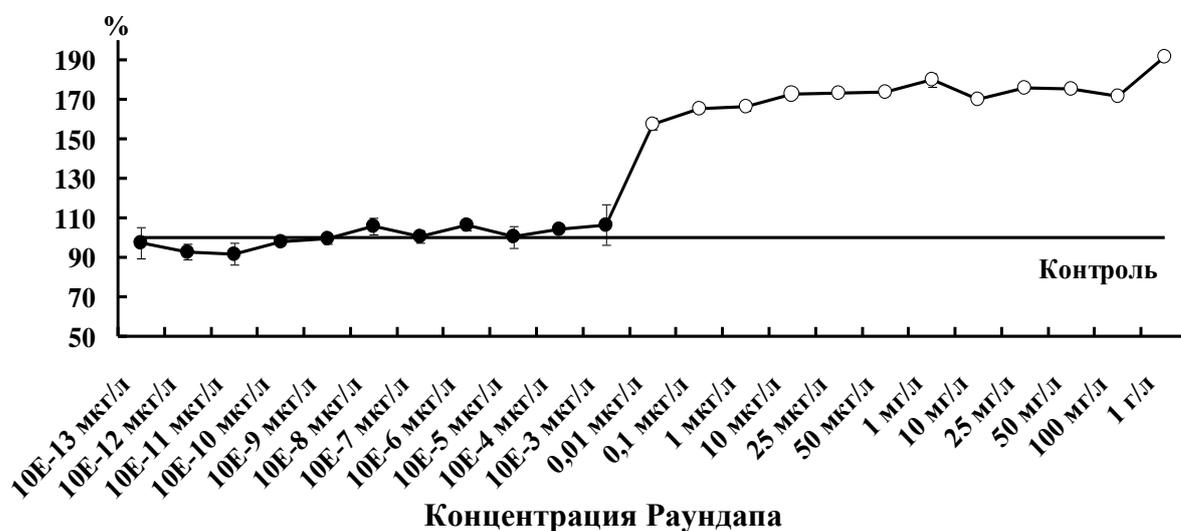
#### 3.1 Активность гликозидаз в кишечнике молоди рыб

В серии предварительных экспериментов проведена оценка действия Раундапа в широком диапазоне концентраций (от сверхнизких  $1 \cdot 10^{-13}$  мкг/л до высоких 1 г/л) на АА и активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы. Значения АА в контроле (0 мг/л Раундапа) составили  $18.22 \pm 0.98$  мкмоль/(г·мин). Статистически значимое снижение АА в присутствии Раундапа отмечено во всем диапазоне исследованных концентраций, исключая ряд значений ниже 0.01 мкг/л (рисунок 3.1). В диапазоне концентраций Раундапа 0.01–50 мкг/л АА была ниже контроля на 17–22%, в диапазоне от 1 мг/л до 1 г/л – на 30%–80%. При этом концентрации, различающиеся на 2–17 порядков вызывали равные по силе эффекты. Снижение АА на 29–30% выявлено при концентрациях гербицида  $1 \cdot 10^{-13}$ ,  $1 \cdot 10^{-11}$  мкг/л и 1 мг/л, на 16–17% от контроля при концентрациях  $1 \cdot 10^{-8}$ ,  $1 \cdot 10^{-5}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ , 10 и 50 мкг/л.

Активность мальтазы в контроле (0 мг/л Раундапа) составила  $4.67 \pm 0.18$  мкмоль/(г·мин). В присутствии Раундапа статистически значимые эффекты установлены лишь при концентрациях выше 0.01 мкг/л (рисунок 3.2). При этом концентрации гербицида, различающиеся на 2–4 порядка, вызывают равный эффект.



**Рисунок 3.1.** Амилолитическая активность (% от контроля) в кишечнике 2-х летков плотвы (20 экз.) в широком диапазоне концентраций Раундапа *in vitro*; ○ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем, (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ , ● – различия показателей не отличаются от контроля;  $n = 5$ .



**Рисунок 3.2.** Активность мальтазы (% от контроля) в кишечнике 2-х летков плотвы (20 экз.) в широком диапазоне концентраций Раундапа *in vitro*, ○ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем; ● – различия показателей не отличаются от контроля, (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ,  $n = 5$ .

Повышение активности мальтазы на 58–66% отмечено в диапазоне концентраций Раундапа 0.01–1 мкг/л, на 73–76% в диапазоне 10 мкг/л – 100 мг/л (исключая 1 мг/л), на 80 и 92% от контроля при концентрациях 1 мг/л и 1 г/л.

В данном случае использованы концентрации Раундапа (по глифосату) от  $10^{-20}$  до  $10^{-2}$  М, при этом концентрации ниже  $6 \cdot 10^{-13}$  М ( $1 \cdot 10^{-5}$  мкг/л) могут рассматриваться как сверхмалые (Бурлакова и др., 1990). Полученные данные подтверждают представления о действии сверхмалых доз биологически активных веществ и согласуются с результатами по влиянию малых и сверхмалых концентраций хлорофоса и нитрозогуанидина на активность гликозидаз в кишечнике молоди плотвы (Голованова и др., 2006, 2008).

В дальнейшей работе использованы концентрации Раундапа (по глифосату) 0.1, 1, 10, 25 и 50 мкг/л, которые часто встречаются в компонентах природных экосистем. При этом самая низкая из исследованных концентраций в 10 раз меньше, а самая высокая – в 50 раз больше значений ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов.

При стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4) наибольший уровень АА, как в слизистой оболочке кишечника, так и в химусе отмечен у карпа (1+), более низкий у плотвы (0+) и окуня (0+), наименьший – у тюльки (0+) и щуки (1+) (таблица 3.1, приложение рисунки 1, 2). Раундап в диапазоне исследованных концентраций снижает АА в слизистой оболочке кишечника у исследованных видов рыб на 11–28% от контроля. Торможение АА у карпа составило 15–27%, у плотвы (1+) 17–22%, у тюльки 12–22%, у щуки 11–17% во всем диапазоне концентраций Раундапа. Снижение АА на 17 и 26% отмечено у плотвы (0+) лишь при наибольших концентрациях, у окуня на 28% при концентрации 50 мкг/л. Зависимость эффекта от концентрации наиболее ярко выражена у карпа на фоне высокой ферментативной активности. Активность сахаразы в слизистой оболочке кишечника плотвы (0+) повышается на 55–62% при наиболее высоких концентрациях Раундапа, у окуня – на 39–93% в более широком диапазоне концентраций (таблица 3.1). У тюльки и карпа изменений нет. Активность мальтазы у плотвы (1+) на 65–73% выше контроля во всем диапазоне концентраций, у карпа (на 13–18%) и окуня (на 24 и 60%) при наиболее высоких концентрациях Раундапа, у тюльки изменения отсутствуют (таблица 3.2, приложение рисунки 1, 2). При этом четкая зависимость силы эффекта от концентрации гербицида отсутствует.

**Таблица 3.1** Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника молоди рыб в присутствии Раундапа *in vitro* (n = 5)

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность						
Тюлька (50)	<u>11.7±0.3<sup>a</sup></u> -12	<u>10.3±0.3<sup>o</sup></u> -12	<u>10.3±0.5<sup>o</sup></u> -12	<u>9.51±0.6<sup>o</sup></u> -19	<u>9.20±0.5<sup>o</sup></u> -21	<u>9.10±0.3<sup>o</sup></u> -22
Карп* (12)	<u>228.8±2.0<sup>a</sup></u> -15	<u>193.6±3.9<sup>o</sup></u> -22	<u>179.2±4.8<sup>oB</sup></u> -23	<u>176.8±8.6<sup>oB</sup></u> -24	<u>173.6±7.9<sup>B</sup></u> -27	<u>166.4±4.7<sup>B</sup></u> -27
Плотва (50)	<u>57.2±1.6<sup>a</sup></u> -17	<u>56.4±3.5<sup>a</sup></u> -26	<u>52.4±3.2<sup>ao</sup></u> -26	<u>52.9±1.1<sup>ao</sup></u> -17	<u>47.2±1.5<sup>oB</sup></u> -17	<u>42.1±1.9<sup>B</sup></u> -26
Плотва* (12)	<u>18.2±1.5<sup>a</sup></u> -20	<u>14.7±0.38<sup>o</sup></u> -22	<u>14.2±0.22<sup>o</sup></u> -17	<u>15.1±0.89<sup>o</sup></u> -22	<u>14.2±0.22<sup>o</sup></u> -17	<u>15.1±0.44<sup>o</sup></u> -17
Окунь (50)	<u>34.4±1.2<sup>ao</sup></u> -28	<u>37.6±2.1<sup>a</sup></u> -28	<u>32.5±2.6<sup>ao</sup></u> -28	<u>31.2±3.0<sup>aoB</sup></u> -28	<u>28.4±3.1<sup>oB</sup></u> -28	<u>24.8±2.1<sup>B</sup></u> -28
Щука* (12)	<u>0.89±0.02<sup>a</sup></u> -17	<u>0.79±0.02<sup>o</sup></u> -17	<u>0.78±0.02<sup>o</sup></u> -17	<u>0.77±0.03<sup>o</sup></u> -17	<u>0.74±0.03<sup>o</sup></u> -17	<u>0.74±0.01<sup>o</sup></u> -17
Активность сахаразы						
Тюлька (50)	<u>0.64±0.01<sup>a</sup></u>	<u>0.68±0.07<sup>a</sup></u>	<u>0.63±0.01<sup>a</sup></u>	<u>0.67±0.01<sup>a</sup></u>	<u>0.66±0.01<sup>a</sup></u>	<u>0.67±0.01<sup>a</sup></u>
Карп* (12)	<u>1.24±0.09<sup>a</sup></u>	<u>1.25±0.11<sup>a</sup></u>	<u>1.27±0.04<sup>a</sup></u>	<u>1.29±0.05<sup>a</sup></u>	<u>1.36±0.13<sup>a</sup></u>	<u>1.36±0.10<sup>a</sup></u>
Плотва (50)	<u>1.16±0.11<sup>a</sup></u>	<u>1.09±0.1<sup>a</sup></u>	<u>1.24±0.10<sup>a</sup></u>	<u>1.66±0.17<sup>ao</sup></u> +55	<u>1.80±0.10<sup>o</sup></u> +62	<u>1.88±0.06<sup>o</sup></u> +62
Окунь (50)	<u>0.59±0.04<sup>a</sup></u>	<u>0.51±0.03<sup>a</sup></u>	<u>0.82±0.03<sup>o</sup></u> +39	<u>0.93±0.02<sup>o</sup></u> +58	<u>1.06±0.04<sup>B</sup></u> +80	<u>1.14±0.00<sup>B</sup></u> +93
Активность мальтазы						
Тюлька (50)	<u>4.48±0.08<sup>ao</sup></u>	–	–	–	<u>4.18±0.19<sup>a</sup></u>	<u>4.85±0.08<sup>ao</sup></u>
Карп* (12)	<u>5.13±0.15<sup>a</sup></u>	<u>5.48±0.29<sup>ao</sup></u>	<u>5.35±0.14<sup>ao</sup></u>	<u>5.53±0.09<sup>ao</sup></u>	<u>5.82±0.20<sup>oB</sup></u> +13	<u>6.04±0.21<sup>B</sup></u> +18
Окунь (50)	<u>1.44±0.05<sup>a</sup></u>	–	<u>1.37±0.14<sup>a</sup></u>	<u>1.79±0.08<sup>o</sup></u> +24	<u>1.28±0.05<sup>a</sup></u>	<u>2.30±0.07<sup>B</sup></u> +60
Плотва* (12)	<u>4.67±0.28<sup>a</sup></u>	<u>7.72±0.16<sup>o</sup></u> +65	<u>7.77±0.26<sup>o</sup></u> +66	<u>8.07±0.08<sup>o</sup></u> +73	<u>8.09±0.04<sup>o</sup></u> +73	<u>8.11±0.15<sup>o</sup></u> +74

Примечание: над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке (ANOVA, LSD-тест),  $p < 0.05$ ; в скобках указано количество рыб (экз.), использованных для приготовления гомогенатов;  $n = 5$ ; «–» данные отсутствуют; \* – возраст рыб 1+, у остальных видов 0+.

Активность гликозидаз в химусе в присутствии Раундапа изменяется лишь у карпа (таблица 3.2, приложение рисунок 3). АА снижается на 14–26% (сила тормозящего эффекта растёт по мере увеличения концентрации гербицида). Активность сахаразы на

**Таблица 3.2** Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в химусе кишечника молоди рыб в присутствии Раундапа *in vitro*

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность						
Тюлька (50)	$1.41 \pm 0.27^a$	$1.33 \pm 0.22^a$	$1.68 \pm 0.07^a$	$1.52 \pm 0.14^a$	$1.37 \pm 0.23^a$	$1.68 \pm 0.16^a$
Плотва (50)	$85.6 \pm 3.9^{ab}$	$74.4 \pm 4.3^a$	$85.5 \pm 9.4^{ab}$	$97.6 \pm 8.5^b$	$85.6 \pm 8.2^{ab}$	$95.2 \pm 5.6^b$
Карп* (12)	$183.2 \pm 2.7^a$	$158.4 \pm 3.3^b$ -14	$153.6 \pm 3.7^b$ -16	$140.0 \pm 3.4^b$ -24	$139.2 \pm 1.5^b$ -24	$136.0 \pm 5.5^b$ -26
Окунь (50)	$57.6 \pm 4.7^a$	$65.6 \pm 3.0^a$	$57.6 \pm 4.5^a$	$58.0 \pm 9.9^a$	$56.8 \pm 3.9^a$	$59.2 \pm 6.6^a$
Щука* (12)	$0.99 \pm 0.02^a$	$1.07 \pm 0.04^a$	$1.06 \pm 0.02^a$	$1.01 \pm 0.02^a$	$1.01 \pm 0.02^a$	$1.05 \pm 0.05^a$
Активность сахаразы						
Тюлька (50)	$0.12 \pm 0.01^a$	$0.11 \pm 0.01^a$	$0.11 \pm 0.01^a$	$0.11 \pm 0.02^a$	$0.14 \pm 0.01^a$	$0.13 \pm 0.01^a$
Плотва (50)	$1.80 \pm 0.10^a$	$1.87 \pm 0.04^a$	$1.85 \pm 0.10^a$	$1.72 \pm 0.10^a$	$1.64 \pm 0.06^a$	$1.48 \pm 0.05^a$
Карп* (12)	$1.11 \pm 0.03^a$	$1.16 \pm 0.05^{ab}$	$1.15 \pm 0.04^a$	$1.24 \pm 0.02^{ab}$	$1.28 \pm 0.02^{ab}$	$1.29 \pm 0.03^b$ +16
Окунь (50)	$0.32 \pm 0.04^{ab}$	$0.30 \pm 0.02^{ab}$	$0.32 \pm 0.04^{ab}$	$0.22 \pm 0.02^b$	$0.37 \pm 0.01^a$	$0.28 \pm 0.03^b$
Активность мальтазы						
Тюлька (50)	$6.08 \pm 0.13^{ab}$	$6.13 \pm 0.31^{ab}$	$5.69 \pm 0.09^a$	$6.11 \pm 0.15^{ab}$	$5.79 \pm 0.11^a$	$6.41 \pm 0.28^b$
Карп* (12)	$6.03 \pm 0.08^a$	–	–	$6.63 \pm 0.08^b$ +10	$5.86 \pm 0.15^a$	$6.17 \pm 0.12^a$

Примечание: над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке, (ANOVA, LSD-тест),  $p < 0.05$ ; в скобках указано количество рыб (экз.), использованных для приготовления гомогенатов;  $n = 5$ ; «–» данные отсутствуют; \* – возраст рыб 1+, у остальных видов 0+.

16%, а активность мальтазы на 10% выше контроля при концентрациях 50 и 10 мкг/л соответственно. У других исследованных видов рыб статистически значимые эффекты отсутствуют, что хорошо согласуется с данными об устойчивости ферментов в тканях рачкового зоопланктона, которым питается молодь большинства видов рыб, к токсическому действию Раундапа (Голованова, Папченкова, 2009).

### **3.2 Активность гликозидаз в кишечнике взрослых рыб**

Наибольший уровень АА в слизистой оболочке кишечника взрослых рыб отмечен у бентофагов плотвы (7–8+), язя (5+) и леща (10–11+), более низкий – у планктофага тюльки (1+), минимальный – у типичных и факультативных ихтиофагов – щуки (4+), судака (8+), сома (9+), налима (6+) и окуня (5+) (таблица 3.3; приложение рисунок 4). Раундап оказывает разнонаправленное влияние на АА у разных видов рыб: понижает её у тюльки и язя на 8–12 %, в большей степени у плотвы – на 30–56% от контроля, но повышает у леща и налима при некоторых концентрациях. У окуня, щуки, судака и сома эффекты отсутствуют. Активность сахаразы у тюльки не меняется, у плотвы снижается на 17–36% от контроля во всем диапазоне концентраций Раундапа, у щуки статистически значимое снижение на 42–47% выявлено на фоне низкого уровня ферментативной активности. Активность мальтазы снижается у плотвы на 11–24%, густеры на 17–30%, у язя на 34–49%, у сома на 34% от контроля, но увеличивается у леща примерно на 35% при наибольших концентрациях Раундапа.

Максимальный уровень АА в химусе отмечен у язя и леща, минимальный у ихтиофагов, особенно у судака (таблица 3.4). В присутствии Раундапа выявлено снижение АА на 38–48% у плотвы и на 10–27% у язя практически во всем диапазоне концентраций, у налима на 11% и 14%, а у судака на 41% от контроля при отдельных концентрациях гербицида (таблица 3.4, приложение рисунок 5).

В то же время Раундап повышает АА на 20–25% у окуня и на 7–14% у леща, но не меняет её у тюльки, щуки и судака. Активность сахаразы снижается на 58% у щуки, но повышается на 21 и 49% у плотвы и на 14% от контроля у тюльки лишь при некоторых концентрациях Раундапа.

**Таблица 3.3** Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника взрослых рыб в присутствии Раундапа *in vitro*

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
Тюлька (50)	$5.97 \pm 0.06^a$	$5.77 \pm 0.12^{ab}$	$5.73 \pm 0.04^{ab}$	$5.47 \pm 0.11^b$	$5.50 \pm 0.15^b$	$5.47 \pm 0.21^b$
				-8	-8	-8
Лещ (8)	$8.96 \pm 0.29^a$	$9.71 \pm 0.16^{ab}$	$9.60 \pm 0.12^{ab}$	$9.44 \pm 0.18^{ab}$	$10.51 \pm 0.11^b$	$10.29 \pm 0.16^b$
					+17	+15
Язь (8)	$11.10 \pm 0.18^a$	$10.18 \pm 0.17^b$	$9.77 \pm 0.13^b$	$10.18 \pm 0.17^b$	$9.97 \pm 0.12^b$	$11.10 \pm 0.18^a$
		-8	-12	-8	-10	
Плотва (8)	$14.9 \pm 1.25^a$	$12.3 \pm 0.56^{ab}$	$9.37 \pm 1.27^b$	$10.5 \pm 0.84^{bB}$	$6.51 \pm 0.98^r$	$9.14 \pm 0.60^{Br}$
			-37	-30	-56	-39
Налим (8)	$0.81 \pm 0.01^a$	$1.09 \pm 0.02^b$	$0.89 \pm 0.01^a$	$1.27 \pm 0.02^b$	$0.89 \pm 0.01^a$	$0.86 \pm 0.02^{ab}$
		+35		+57		
Окунь (8)	$0.92 \pm 0.10^a$	$0.86 \pm 0.02^a$	$0.94 \pm 0.04^a$	$1.02 \pm 0.02^a$	$0.90 \pm 0.02^a$	$0.78 \pm 0.04^a$
Щука (7)	$0.43 \pm 0.01^a$	$0.44 \pm 0.01^a$	$0.46 \pm 0.01^a$	$0.45 \pm 0.01^a$	$0.44 \pm 0.01^a$	$0.44 \pm 0.01^a$
Судак (7)	$0.28 \pm 0.04^a$	$0.36 \pm 0.06^a$	$0.32 \pm 0.04^a$	$0.32 \pm 0.02^a$	$0.34 \pm 0.02^a$	$0.24 \pm 0.02^a$
Сом (4)	$0.59 \pm 0.03^a$	$0.60 \pm 0.01^a$	$0.58 \pm 0.02^a$	$0.57 \pm 0.02^a$	$0.56 \pm 0.02^a$	$0.58 \pm 0.01^a$
<b>Активность сахаразы</b>						
Тюлька (50)	$1.43 \pm 0.03^a$	$1.59 \pm 0.05^a$	$1.44 \pm 0.05^a$	$1.51 \pm 0.05^a$	$1.45 \pm 0.05^a$	$1.52 \pm 0.03^a$
Плотва (8)	$4.08 \pm 0.10^a$	$3.40 \pm 0.06^b$	$2.60 \pm 0.03^r$	$2.80 \pm 0.08^b$	$2.61 \pm 0.05^{Br}$	$2.64 \pm 0.05^{Br}$
		-17	-36	-31	-36	-35
Щука (7)	$0.55 \pm 0.02^a$	$0.39 \pm 0.03^a$	$0.43 \pm 0.04^a$	$0.36 \pm 0.04^a$	$0.32 \pm 0.02^b$	$0.29 \pm 0.02^b$
					-42	-47
<b>Активность мальтазы</b>						
Плотва (8)	$11.2 \pm 0.30^a$	$10.21 \pm 0.34^{ab}$	$10.32 \pm 0.12^{ab}$	$8.50 \pm 0.53^b$	$9.87 \pm 0.16^b$	$10.00 \pm 0.27^b$
				-24	-12	-11
Язь (8)	$7.02 \pm 0.30^a$	$4.26 \pm 0.14^b$	$6.20 \pm 0.15^{ab}$	$3.59 \pm 0.19^b$	$4.02 \pm 0.18^b$	$4.64 \pm 0.11^b$
		-39		-49	-43	-34
Лещ (8)	$1.68 \pm 0.20^{ab}$	$2.04 \pm 0.28^{bB}$	$1.47 \pm 0.17^a$	$1.92 \pm 0.10^{abB}$	$2.28 \pm 0.13^b$	$2.25 \pm 0.13^b$
					+36	+34
Густера (7)	$1.61 \pm 0.04^a$	$1.34 \pm 0.09^b$	$1.70 \pm 0.07^a$	$1.12 \pm 0.03^b$	$1.58 \pm 0.04^a$	$1.55 \pm 0.08^a$
		-17		-30		
Сом (4)	$2.16 \pm 0.02^a$	$2.12 \pm 0.01^a$	$2.18 \pm 0.03^a$	$1.41 \pm 0.15^b$	$2.19 \pm 0.05^a$	$2.26 \pm 0.01^a$
				-34		

Примечание (здесь и в таблице 3.4): над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке,  $p < 0.05$ ; в скобках

указано количество исследованных рыб,  $n = 4-8$ , (ANOVA, LSD-тест, для ихтиофагов Kruskal – Wallis).

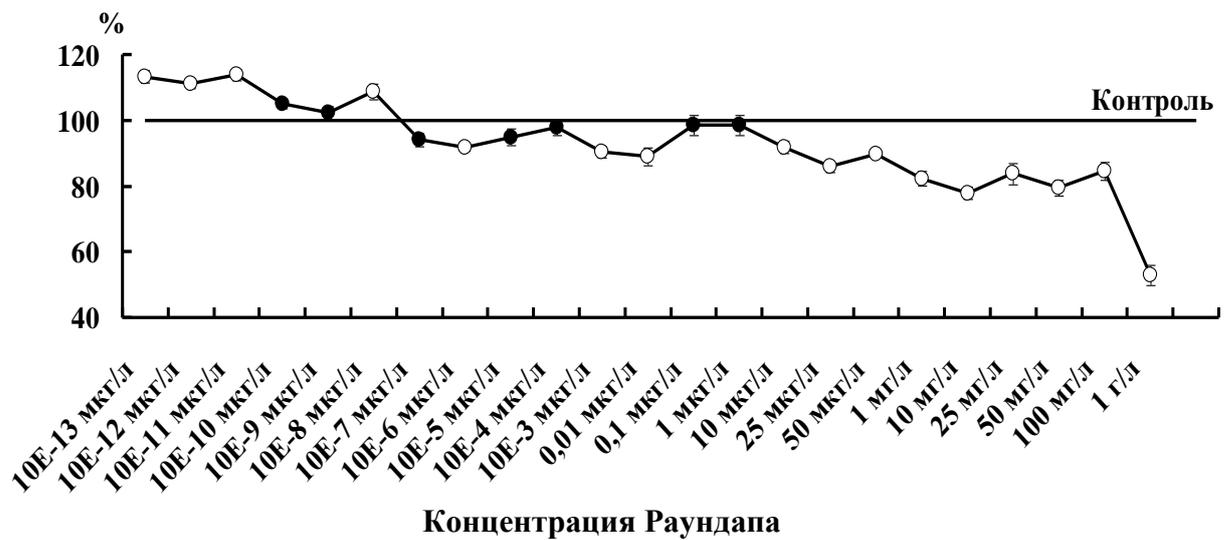
**Таблица 3.4** Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в химусе кишечника взрослых рыб в присутствии Раундапа *in vitro*

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
Тюлька (50)	$9.04 \pm 0.10^a$	$9.20 \pm 0.28^a$	$8.96 \pm 0.10^a$	$8.96 \pm 0.10^a$	$9.04 \pm 0.10^a$	$9.28 \pm 0.08^a$
Лещ (8)	$21.8 \pm 0.26^a$	$23.3 \pm 0.40^b$ +7	$23.9 \pm 0.26^b$ +10	$22.8 \pm 0.26^{ab}$	$23.9 \pm 0.26^b$ +10	$24.8 \pm 0.40^b$ +14
Язь (8)	$24.7 \pm 0.44^a$	$22.3 \pm 0.57^b$ -10	$20.4 \pm 0.59^b$ -17	$21.6 \pm 0.39^{bB}$ -13	$25.3 \pm 0.42^a$	$18.0 \pm 0.69^c$ -27
Плотва (8)	$5.49 \pm 0.56^a$	$3.43 \pm 0.36^b$ -38	$4.11 \pm 0.58^{ab}$	$2.86 \pm 0.31^b$ -48	$3.09 \pm 0.43^b$ -44	$3.31 \pm 0.52^b$ -40
Налим (8)	$1.25 \pm 0.01^a$	$1.11 \pm 0.02^b$ -11	$1.08 \pm 0.01^b$ -14	$1.15 \pm 0.04^a$	$1.14 \pm 0.03^a$	$1.08 \pm 0.05^b$ -14
Окунь (8)	$1.03 \pm 0.03^a$	$1.09 \pm 0.03^a$	$1.29 \pm 0.03^b$ +25	$1.24 \pm 0.03^b$ +20	$1.17 \pm 0.02^a$	$1.11 \pm 0.01^a$
Щука (7)	$1.15 \pm 0.01^a$	$1.19 \pm 0.02^a$	$1.19 \pm 0.02^a$	$1.23 \pm 0.02^a$	$1.16 \pm 0.03^a$	$1.23 \pm 0.02^a$
Судак (7)	$0.29 \pm 0.02^a$	$0.27 \pm 0.01^{ab}$	$0.27 \pm 0.01^{ab}$	$0.25 \pm 0.01^a$	$0.21 \pm 0.01^{ab}$	$0.17 \pm 0.01^b$ -41
Сом (4)	$1.69 \pm 0.04^a$	$1.59 \pm 0.01^a$	$1.68 \pm 0.04^a$	$1.68 \pm 0.02^a$	$1.71 \pm 0.03^a$	$1.61 \pm 0.03^a$
<b>Активность сахаразы</b>						
Тюлька (50)	$2.36 \pm 0.05^a$	$2.45 \pm 0.06^a$	$2.44 \pm 0.04^a$	$2.41 \pm 0.04^a$	$2.51 \pm 0.08^a$	$2.69 \pm 0.08^b$ +14
Плотва (8)	$0.91 \pm 0.05^a$	$1.36 \pm 0.04^b$ +49	$1.08 \pm 0.06^a$	$1.10 \pm 0.02^b$ +21	$0.98 \pm 0.05^{ab}$	$1.03 \pm 0.04^{ab}$
Щука (7)	$0.64 \pm 0.07^a$	$0.27 \pm 0.02^b$ -58	$0.33 \pm 0.02^a$	$0.49 \pm 0.04^a$	$0.32 \pm 0.03^a$	$0.38 \pm 0.02^a$
<b>Активность мальтазы</b>						
Тюлька (50)	$6.08 \pm 0.13^{ab}$	$6.13 \pm 0.31^{ab}$	$5.69 \pm 0.09^a$	$6.11 \pm 0.15^{ab}$	$5.79 \pm 0.11^a$	$6.41 \pm 0.28^b$
Плотва (8)	$4.82 \pm 0.11^a$	$5.39 \pm 0.21^a$	$5.04 \pm 0.15^{ab}$	$5.60 \pm 0.22^b$ +16	$5.19 \pm 0.25^{ab}$	$5.47 \pm 0.03^b$ +14
Язь (8)	$2.79 \pm 0.03^a$	$3.62 \pm 0.12^b$ +30	$2.38 \pm 0.08^b$ -15	$3.31 \pm 0.04^b$ +19	$2.65 \pm 0.13^{ab}$	$3.12 \pm 0.04^b$ +12
Лещ (8)	$4.31 \pm 0.19^a$	$4.47 \pm 0.13^a$	$4.85 \pm 0.16^{ab}$	$4.59 \pm 0.09^a$	$4.44 \pm 0.09^a$	$5.23 \pm 0.13^b$ +21
Сом (4)	$0.94 \pm 0.03^a$	$0.96 \pm 0.02^a$	$0.90 \pm 0.05^a$	$1.08 \pm 0.02^a$	$1.13 \pm 0.04^b$ +20	$1.11 \pm 0.04^a$

Активность мальтазы увеличивается у язя, плотвы, леща и сома при некоторых концентрациях Раундапа не более чем на 14–30% от контроля, у тюльки и густеры не изменяется.

### 3.3 Активность гликозидаз в организме молоди рыб

Влияние Раундапа в широком диапазоне концентраций, включающем сверхвысокие и сверхмалые значения, на АА в организме двухлетков карася (1+) представлено на рисунке 3.3.

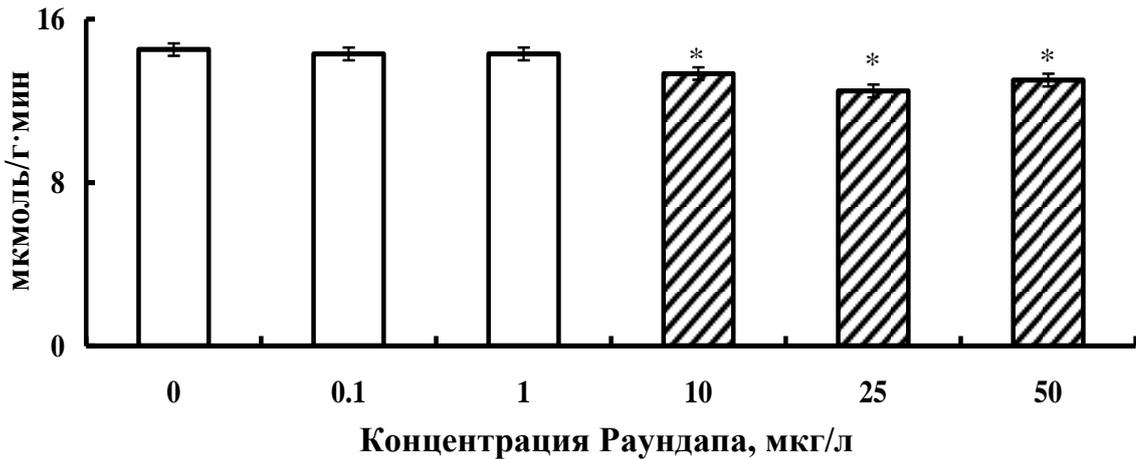


**Рисунок 3.3.** Амилолитическая активность (% от контроля) в организме 2-х летков карася (5 экз.) в широком диапазоне концентрациях Раундапа *in vitro*; ○ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем,  $p < 0.05$ , ● – различия показателей статистически недостоверны по сравнению с контролем;  $n = 5$ , (ANOVA, Dunnett-test).

Установлено, что наиболее низкие концентрации Раундапа ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  мкг/л) стимулируют активность гликозидаз, более высокие концентрации – снижают её. Наибольшее снижение (на 47% от контроля) отмечено при максимальной концентрации Раундапа 1 г/л. При этом прослеживается волнообразная смена эффектов в пределах нескольких порядков концентраций, а концентрации, различающиеся на 4–5 порядков, могут вызывать одинаковый эффект. Эти результаты хорошо согласуются с положением о «фазности» зависимости показателей жизнедеятельности организма от концентрации

токсических веществ (Филенко, 2001) и стимулирующем действии сверхнизких концентраций токсикантов, широко применяемом в гомеопатии.

В диапазоне концентраций Раундапа 0.1–50 мкг/л снижение АА в тканях двухлетков карася (1+) на 8–14% отмечено лишь при наибольших концентрациях гербицида (рисунок 3.4).



**Рисунок 3.4.** Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в целом организме 2-х летков серебряного карася (5 экз.) при концентрации Раундапа 0.1–50 мкг/л *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем,  $p < 0.05$ ;  $n = 5$  (ANOVA, Dunnett-test).

Изучение активности гликозидаз в целом организме у сеголетков (0+) ряда видов рыб при стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4) выявило максимальный уровень АА у карася, более низкий у плотвы и ротана, минимальный – у судака и тюльки (таблица 3.5), что хорошо согласуется с ранее полученными данными (Голованова, 2006).

В присутствии Раундапа отмечены разнонаправленные эффекты. У ряда видов (ротан, карась, судак) тормозящие эффекты выявлены лишь при одной из концентраций. У карпа снижение АА на 39 и 17% отмечено при концентрациях гербицида 0.1 и 1 мкг/л. У щуки и плотвы АА повышается на 19–46% от контроля при концентрациях Раундапа 10–50 мкг/л. У других исследованных видов изменения отсутствуют.

**Таблица 3.5** Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в целом организме молоди рыб в присутствии гербицида Раундап *in vitro*

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность						
Тюлька (100)	$0.51 \pm 0.03^a$	$0.52 \pm 0.03^a$	$0.47 \pm 0.03^a$	$0.47 \pm 0.02^a$	$0.49 \pm 0.03^a$	$0.46 \pm 0.02^a$
Карп (25)	$4.30 \pm 0.18^{a\delta}$	$2.63 \pm 0.26^B$ -39	$3.58 \pm 0.14^r$ -17	$4.00 \pm 0.16^{\delta r}$	$4.95 \pm 0.19^a$	$4.34 \pm 0.35^{a\delta}$
Плотва (50)	$9.07 \pm 0.32^a$	$10.4 \pm 0.27^{a\delta}$	$10.2 \pm 0.54^{a\delta}$	$10.8 \pm 0.53^{\delta}$ +19	$11.4 \pm 0.78^{\delta}$ +26	$11.1 \pm 0.37^{\delta}$ +22
Плотва* (4)	$8.27 \pm 0.12^a$	$6.67 \pm 0.34^{\delta}$ -19	$6.40 \pm 0.40^{\delta}$ -23	$6.47 \pm 0.39^{\delta}$ -22	$6.13 \pm 0.63^{\delta}$ -26	$5.60 \pm 0.39^{\delta}$ -32
Ротан (30)	$8.12 \pm 0.12^a$	$7.24 \pm 0.12^B$ -11	$7.52 \pm 0.31^{aB}$	$7.96 \pm 0.16^{a\delta}$	$8.58 \pm 0.15^a$	$8.04 \pm 0.16^{a\delta}$
Карась (27)	$22.3 \pm 0.73^{a\delta}$	$17.9 \pm 1.38^B$ -20	$19.5 \pm 0.80^{B\delta}$	$23.5 \pm 0.90^a$	$21.9 \pm 0.33^{a\delta}$	$23.7 \pm 0.27^a$
Окунь (40)	$4.11 \pm 0.07^{a\delta}$	$3.79 \pm 0.32^{a\delta}$	$4.27 \pm 0.17^{a\delta}$	$3.49 \pm 0.45^a$	$4.27 \pm 0.44^{a\delta}$	$4.53 \pm 0.40^{\delta}$
Щука (15)	$3.93 \pm 0.24^a$	$4.07 \pm 0.12^a$	$4.13 \pm 0.17^a$	$5.40 \pm 0.19^{\delta}$ +37	$5.53 \pm 0.27^{\delta}$ +41	$5.73 \pm 0.29^{\delta}$ +46
Судак (18)	$0.66 \pm 0.04^a$	$0.54 \pm 0.09^a$	$0.52 \pm 0.05^a$	$0.41 \pm 0.05^{\delta}$ -38	$0.77 \pm 0.07^a$	$0.60 \pm 0.09^{a\delta}$

Примечание (здесь и в таблице 3.6): над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке, (ANOVA, LSD-тест),  $p < 0.05$ ; в скобках указано количество рыб (экз.), использованных для приготовления гомогенатов;  $n = 4-5$ ; \* – плотва (I-ая стадия пищеварения, плавники и покровы тела частично разрушены), извлеченная из желудка щуки.

У плотвы (реальная жертва), извлеченной из желудка щуки, выявлен четкий концентрационно-зависимый тормозящий эффект: АА снижается на 19–32% от контроля с ростом концентрации Раундапа от 0.1 до 50 мкг/л (приложение рисунок 6). Активность мальтазы в присутствии Раундапа не меняется у тюльки и карася, увеличивается на 18–152% у плотвы, окуня, щуки и карпа, но снижается на 12–41% от контроля у ротана, судака и плотвы, извлеченной из желудка щуки (таблица 3.6; приложение рисунок 6). Зависимости эффекта от концентрации Раундапа не выявлено.

**Таблица 3.6** Активность мальтазы и сахаразы (мкмоль/г·мин) в целом организме молоди рыб в присутствии гербицида Раундап *in vitro*

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Активность мальтазы</b>						
Тюлька (100)	<u>0.76±0.08<sup>аb</sup></u>	<u>0.82±0.06<sup>б</sup></u>	<u>0.52±0.14<sup>а</sup></u>	<u>0.97±0.15<sup>б</sup></u>	<u>0.92±0.05<sup>б</sup></u>	<u>0.76±0.10<sup>аb</sup></u>
Карп (25)	<u>2.14±0.04<sup>а</sup></u>	<u>3.26±0.04<sup>об</sup></u> +52	<u>3.48±0.10<sup>б</sup></u> +63	<u>3.15±0.11<sup>б</sup></u> +47	<u>3.44±0.10<sup>б</sup></u> +60	<u>3.32±0.15<sup>об</sup></u> +55
Плотва (50)	<u>0.90±0.18<sup>а</sup></u>	<u>1.51±0.14<sup>б</sup></u> +68	<u>2.07±0.25<sup>br</sup></u> +130	<u>2.01±0.07<sup>br</sup></u> +123	<u>2.26±0.11<sup>г</sup></u> +151	<u>1.70±0.14<sup>об</sup></u> +89
Плотва* (4)	<u>0.88±0.12<sup>а</sup></u>	<u>0.70±0.04<sup>абоб</sup></u>	<u>0.80±0.04<sup>аб</sup></u>	<u>0.81±0.11<sup>аб</sup></u>	<u>0.59±0.10<sup>об</sup></u> -33	<u>0.52±0.11<sup>б</sup></u> -41
Ротан (30)	<u>8.02±0.16<sup>аб</sup></u>	<u>7.60±0.09<sup>б</sup></u>	<u>7.03±0.07<sup>б</sup></u> -12	<u>7.53±0.10<sup>б</sup></u>	<u>6.69±0.10<sup>б</sup></u> -17	<u>8.25±0.31<sup>а</sup></u>
Карась (27)	<u>9.51±0.41<sup>аб</sup></u>	<u>9.20±0.35<sup>аб</sup></u>	<u>8.67±0.56<sup>аб</sup></u>	<u>8.27±0.44<sup>а</sup></u>	<u>9.19±0.35<sup>аб</sup></u>	<u>9.77±0.47<sup>б</sup></u>
Окунь (40)	<u>1.33±0.10<sup>а</sup></u>	<u>1.49±0.03<sup>аб</sup></u>	<u>1.71±0.06<sup>br</sup></u> +29	<u>1.82±0.03<sup>г</sup></u> +37	<u>1.69±0.04<sup>br</sup></u> +27	<u>1.57±0.08<sup>об</sup></u> +18
Щука (15)	<u>0.23±0.06<sup>а</sup></u>	<u>0.29±0.06<sup>а</sup></u>	<u>0.38±0.08<sup>аб</sup></u>	<u>0.48±0.05<sup>аб</sup></u>	<u>0.48±0.04<sup>аб</sup></u>	<u>0.50±0.06<sup>б</sup></u> +117
Судак (18)	<u>1.23±0.12<sup>а</sup></u>	<u>1.15±0.08<sup>а</sup></u>	<u>1.21±0.18<sup>а</sup></u>	<u>0.94±0.09<sup>аб</sup></u>	<u>0.75±0.08<sup>б</sup></u> -39	<u>1.27±0.10<sup>а</sup></u>
<b>Активность сахаразы</b>						
Тюлька (100)	<u>0.14±0.01<sup>аб</sup></u>	<u>0.16±0.01<sup>а</sup></u>	<u>0.15±0.01<sup>аб</sup></u>	<u>0.15±0.01<sup>аб</sup></u>	<u>0.13±0.01<sup>б</sup></u>	<u>0.15±0.01<sup>аб</sup></u>
Карп (25)	<u>0.20±0.01<sup>аб</sup></u>	<u>0.20±0.01<sup>аб</sup></u>	<u>0.26±0.02<sup>а</sup></u>	<u>0.19±0.02<sup>б</sup></u>	<u>0.19±0.02<sup>б</sup></u>	<u>0.24±0.02<sup>аб</sup></u>
Плотва (50)	<u>0.72±0.04<sup>а</sup></u>	<u>0.82±0.35<sup>а</sup></u>	<u>0.81±0.20<sup>а</sup></u>	<u>0.82±0.14<sup>а</sup></u>	<u>1.01±0.11<sup>а</sup></u>	<u>1.05±0.09<sup>а</sup></u>
Плотва* (4)	<u>0.77±0.05<sup>а</sup></u>	<u>1.27±0.07<sup>б</sup></u> +65	<u>0.29±0.05<sup>б</sup></u> -62	<u>0.28±0.07<sup>б</sup></u> -64	<u>0.33±0.06<sup>б</sup></u> -57	<u>0.18±0.08<sup>б</sup></u> -77
Ротан (30)	<u>2.53±0.08<sup>а</sup></u>	<u>2.19±0.09<sup>об</sup></u> -13	<u>2.48±0.09<sup>а</sup></u>	<u>2.40±0.09<sup>аб</sup></u>	<u>2.16±0.07<sup>б</sup></u> -15	<u>2.60±0.02<sup>а</sup></u>
Карась (27)	<u>4.45±0.11<sup>аб</sup></u>	<u>4.37±0.11<sup>аб</sup></u>	<u>4.24±0.09<sup>а</sup></u>	<u>4.64±0.11<sup>об</sup></u>	<u>4.83±0.15<sup>аб</sup></u>	<u>4.67±0.14<sup>об</sup></u>
Окунь (40)	<u>0.88±0.09<sup>а</sup></u>	<u>0.91±0.08<sup>а</sup></u>	<u>0.88±0.18<sup>а</sup></u>	<u>0.78±0.06<sup>а</sup></u>	<u>1.02±0.02<sup>а</sup></u>	<u>0.99±0.07<sup>а</sup></u>
Щука (15)	<u>0.28±0.06<sup>об</sup></u>	<u>0.39 ± 0.12<sup>б</sup></u>	<u>0.18±0.05<sup>аб</sup></u>	<u>0.29±0.05<sup>б</sup></u>	<u>0.45±0.03<sup>б</sup></u>	<u>0.12±0.01<sup>аб</sup></u>

Активность сахаразы в присутствии Раундапа у большинства исследованных видов не изменяется. Лишь у плотвы, извлеченной из желудка щуки, активность сахаразы снижается на 57–77% в диапазоне концентраций Раундапа 1–50 мкг/л, у ротана – на 13 и 15% при концентрациях 0.1 и 25 мкг/л (таблица 3.6; приложение рисунок 6).

### 3.4 Активность гликозидаз в организме беспозвоночных

Наибольший уровень АА отмечен в прудовика, катушки и личинок хирономид, наименьший – у рачкового зоопланктона (таблица 3.7). Активность мальтазы наиболее высока у хирономид, минимальный уровень отмечен в суммарных пробах рачкового зоопланктона. Максимальная активность сахаразы отмечена также у личинок хирономид и у катушки, минимальная – у прудовика и дафнии.

В присутствии Раундапа выявлены как тормозящие, так и стимулирующие эффекты (таблица 3.7). При более высоких концентрациях гербицида АА снижается на 30–34% в суммарных пробах рачкового зоопланктона. Самые низкие концентрации гербицида вызывают тормозящий эффект у дрейссены, в то время как самые высокие – стимулирующий (на 14–30% от контроля) у дрейссены, прудовика и дафнии. Активность мальтазы у рачкового зоопланктона и хирономид повышается практически

**Таблица 3.7** Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в организме беспозвоночных в присутствии гербицида Раундап *in vitro*

Объект (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность						
Рачковый зоопланктон	$1.31 \pm 0.05^{ab}$	$1.10 \pm 0.16^{ab}$	$1.33 \pm 0.16^{ab}$	$1.60 \pm 0.13^b$	$0.92 \pm 0.04^B$ –30	$0.86 \pm 0.08^B$ –34
Дафния магна	$4.64 \pm 0.21^a$	–	–	–	$5.73 \pm 0.16^b$ +23	$6.03 \pm 0.23^b$ +30
Хирономиды	$5.97 \pm 0.07^a$	$5.87 \pm 0.08^a$	$5.76 \pm 0.11^{ab}$	$5.55 \pm 0.05^{bB}$ –7	$5.55 \pm 0.10^{bB}$ –7	$5.44 \pm 0.07^B$ –9
Дрейссена (40)	$2.93 \pm 0.06^a$	$2.59 \pm 0.06^b$ –12	$2.52 \pm 0.05^b$ –14	$3.11 \pm 0.07^{aГ}$	$3.52 \pm 0.12^B$ +20	$3.33 \pm 0.07^{BГ}$ +14
Прудовик (20)	$7.92 \pm 0.30^a$	$7.44 \pm 0.21^a$	$7.60 \pm 0.13^{ab}$	$8.32 \pm 0.20^b$	$9.12 \pm 0.23^B$ +15	$9.60 \pm 0.28^B$ +21
Катушка (20)	$6.55 \pm 0.07^a$	$6.60 \pm 0.16^a$	$6.30 \pm 0.10^a$	$6.48 \pm 0.08^a$	$6.42 \pm 0.10^a$	$6.52 \pm 0.20^a$

Продолжение таблицы 3.7						
Объект (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Активность мальтазы						
Рачковый зоопланктон	$1.24 \pm 0.01^a$	$1.43 \pm 0.02^b$ +15	$1.21 \pm 0.07^a$	$1.46 \pm 0.07^b$ +17	$1.46 \pm 0.06^b$ +17	$1.58 \pm 0.11^b$ +27
Хириноиды	$4.94 \pm 0.04^a$	$5.26 \pm 0.07^b$ +6	$5.31 \pm 0.10^{bB}$ +7	$5.42 \pm 0.07^{bB}$ +10	$5.31 \pm 0.04^{bB}$ +7	$5.55 \pm 0.17^B$ +12
Дрейссена (40)	$2.25 \pm 0.13^a$	$2.64 \pm 0.13^{aB}$	$2.31 \pm 0.23^{aB}$	$2.62 \pm 0.14^{aB}$	$2.66 \pm 0.07^b$ +18	$2.51 \pm 0.03^{aB}$
Прудовик (20)	$3.15 \pm 0.02^a$	$3.24 \pm 0.03^a$	$3.21 \pm 0.05^a$	$3.49 \pm 0.02^b$ +11	$3.31 \pm 0.07^{aB}$	$3.53 \pm 0.14^B$ +12
Катушка (20)	$2.08 \pm 0.16^a$	$2.25 \pm 0.14^a$	$2.37 \pm 0.17^a$	$2.05 \pm 0.19^a$	$2.44 \pm 0.07^a$	$2.36 \pm 0.04^a$
Активность сахаразы						
Рачковый зоопланктон	$0.64 \pm 0.03^{aB}$	$0.80 \pm 0.05^{bB}$	$0.75 \pm 0.13^{aB}$	$0.97 \pm 0.03^B$ +52	$0.58 \pm 0.06^a$	$0.63 \pm 0.05^{aB}$
Дафния	$0.20 \pm 0.01^a$	–	–	–	$0.26 \pm 0.01^b$ +30	$0.37 \pm 0.03^B$ +85
Хириноиды	$1.93 \pm 0.03^a$	$2.00 \pm 0.04^{aB}$	$2.00 \pm 0.04^{aB}$	$2.13 \pm 0.09^b$ +10	$2.05 \pm 0.02^{aB}$	$1.97 \pm 0.07^{aB}$
Дрейссена (40)	$0.46 \pm 0.02^a$	–	–	–	$0.60 \pm 0.03^b$ +30	$0.59 \pm 0.02^b$ +28
Прудовик (20)	$0.29 \pm 0.02^a$	–	–	–	$0.24 \pm 0.01^a$	$0.27 \pm 0.02^a$
Катушка (20)	$1.22 \pm 0.10^a$	–	–	–	$1.32 \pm 0.02^a$	$1.30 \pm 0.02^a$

Примечание: над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке, (ANOVA, LSD-тест),  $p < 0.05$ ; в скобках указано количество моллюсков (экз.), использованных для приготовления гомогенатов; суммарные пробы включали несколько сотен рачков и несколько десятков личинок хириноид;  $n = 4-5$ ; «–» данные отсутствуют.

во всем диапазоне исследованных концентраций (приложение рисунок 7), у дрейссены и прудовика – при наиболее высоких концентрациях гербицида. У катушки активность мальтазы в присутствии Раундапа не меняется. Активность сахаразы в тканях исследованных беспозвоночных (исключая прудовика и катушку) повышается лишь при более высоких концентрациях Раундапа. Чёткой зависимости эффектов от концентрации гербицида во всех вариантах опыта не выявлено.

### 3.5 Заключение

Уровень активности гликозидаз в кишечнике молоди и взрослых рыб в период активного питания, выявленный в нашей работе, согласуется с результатами более ранних исследований (Уголев, Кузьмина, 1993; Голованова, 2006). У молоди рыб наибольший эффект Раундапа отмечен в слизистой оболочке кишечника: АА, как правило, снижается у всех исследованных видов рыб, активность дисахаридаз – мальтазы и сахаразы, в большинстве случаев, повышается. В химусе аналогичные эффекты отмечены лишь у карпа.

Активность гликозидаз в кишечнике взрослых рыб, как правило, ниже, чем у молоди. Гликозидазы, расщепляющие полисахарид крахмал, в кишечнике щуки, сома, судака и тюльки наименее, а плотвы и язя – наиболее чувствительны к действию Раундапа в широком диапазоне исследованных концентраций. Это может быть обусловлено разной видовой чувствительностью рыб к данному гербициду. Кроме того, содержание углеводов в естественной пище рыб-бентофагов и активность гликозидаз в кишечнике выше, чем у рыб планкто- и ихтиофагов. Вполне вероятно, что на фоне высокой ферментативной активности ярче проявляются эффекты Раундапа. Направленность эффектов в присутствии Раундапа в слизистой оболочке кишечника и химусе может быть одинаковой (торможение АА у плотвы и язя), либо может различаться (АА в слизистой оболочке у налима возрастает, а в химусе снижается). Зависимость силы эффекта от концентрации Раундапа как у молоди, так и у взрослых рыб носит нелинейный характер. Это свидетельствует об отсутствии прямого влияния Раундапа на активный центр изученных ферментов. При этом сила и направленность эффекта зависит от вида и возраста рыб, а также типа гидролизуемых связей. Разнонаправленные эффекты Раундапа на активность ферментов, гидролизующих полисахарид крахмал и дисахариды сахарозу и мальтозу у рыб, по всей вероятности, обусловлены большим тормозящим влиянием гербицида на активность панкреатической  $\alpha$ -амилазы по сравнению с мембранными ферментами (глюкоамилаза, мальтаза и сахараза). Эти данные подтверждают полученные ранее результаты о большем влиянии природных и антропогенных факторов на активность панкреатических ферментов по сравнению с собственно мембранными (Уголев, Кузьмина, 1993; Голованова, 2006). В

то же время повышение активности дисахаридаз у молоди рыб может отражать адаптивную реакцию на действие Раундапа.

Уровень активности гликозидаз в целом организме беспозвоночных также согласуется с ранее полученными данными (Кузьмина и др., 1999; Голованова, 2006, 2011). В присутствии Раундапа в большинстве случаев активность гликозидаз повышается, наибольший стимулирующий эффект отмечен для мальтазы и сахаразы. Вместе с тем торможение АА в тканях рачкового зоопланктона и дрейссены может достигать 12–34%. В целом организме молоди рыб в присутствии Раундапа выявлены разнонаправленные эффекты, как тормозящий до 77%, так и стимулирующий до 151%. В присутствии Раундапа наибольшее повышение активности показано для мальтазы, особенно у карпа и плотвы. Интересно отметить, что у плотвы (потенциальная жертва) Раундап повышает АА, в то время как у плотвы, извлеченной из желудка щуки (реальная жертва), снижает её во всем диапазоне концентраций.

Активность ферментов в тканях целого организма отражает не только активность ферментов пищеварительного тракта, но и многочисленных лизосомальных гидролаз всех органов и тканей. Раундап в концентрации 0.1–50 мкг/л в меньшей степени влияет на АА в тканях беспозвоночных, чем молоди рыб. Активность мальтазы и сахаразы в присутствии Раундапа у беспозвоночных и молоди рыб в большинстве случаев повышается.

Поскольку, попадая в пищеварительный тракт консументов, ферменты жертвы могут принимать участие в процессах самопереваривания, модифицирующие эффекты Раундапа, по всей вероятности, изменяют не только активность ферментов в тканях самой жертвы, но и величину вклада экзоферментов в процессы пищеварения консументов. Повышение активности гликозидаз в тканях кормовых объектов рыб в присутствии Раундапа может компенсировать снижение активности ферментов в пищеварительном тракте питающихся ими рыб. При этом изменения активности гликозидаз возможны и при очень низких (менее  $1 \cdot 10^{-5}$  мкг/л) концентрациях Раундапа.

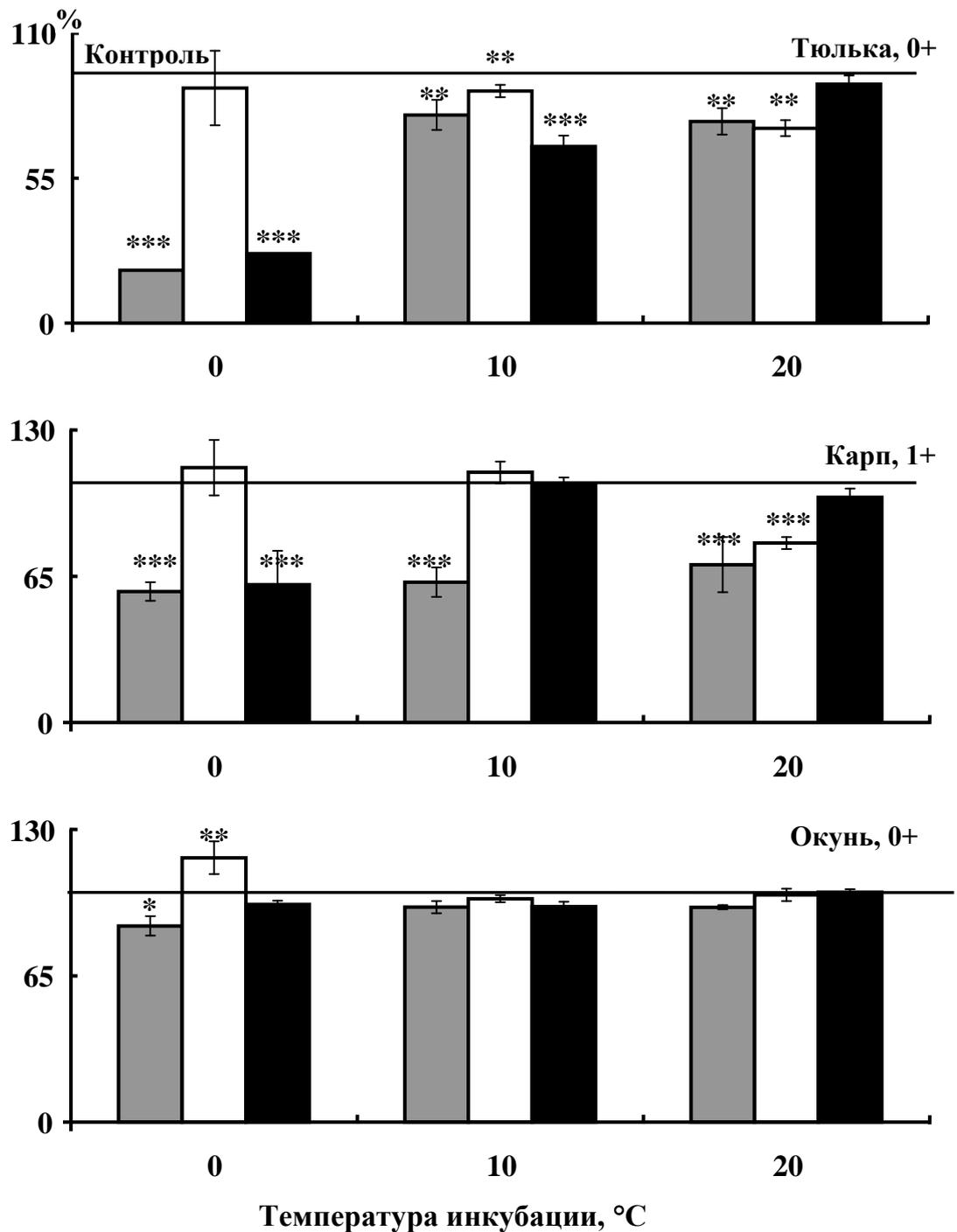
## ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ РАУНДАПА НА ГЛИКОЗИДАЗЫ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ И pH

Средние сезонные значения температуры для водоемов умеренных широт России составляют 0, 10 и 20°C, а значения pH в пищеварительном тракте рыб варьируют от кислых до слабо щелочных. Поскольку концентрация Раундапа 25 мкг/л в большинстве случаев оказывает статистически значимый эффект на активность гликозидаз, она была выбрана для анализа влияния гербицида в указанном диапазоне температуры и pH.

### 4.1 Активность гликозидаз в кишечнике молоди рыб

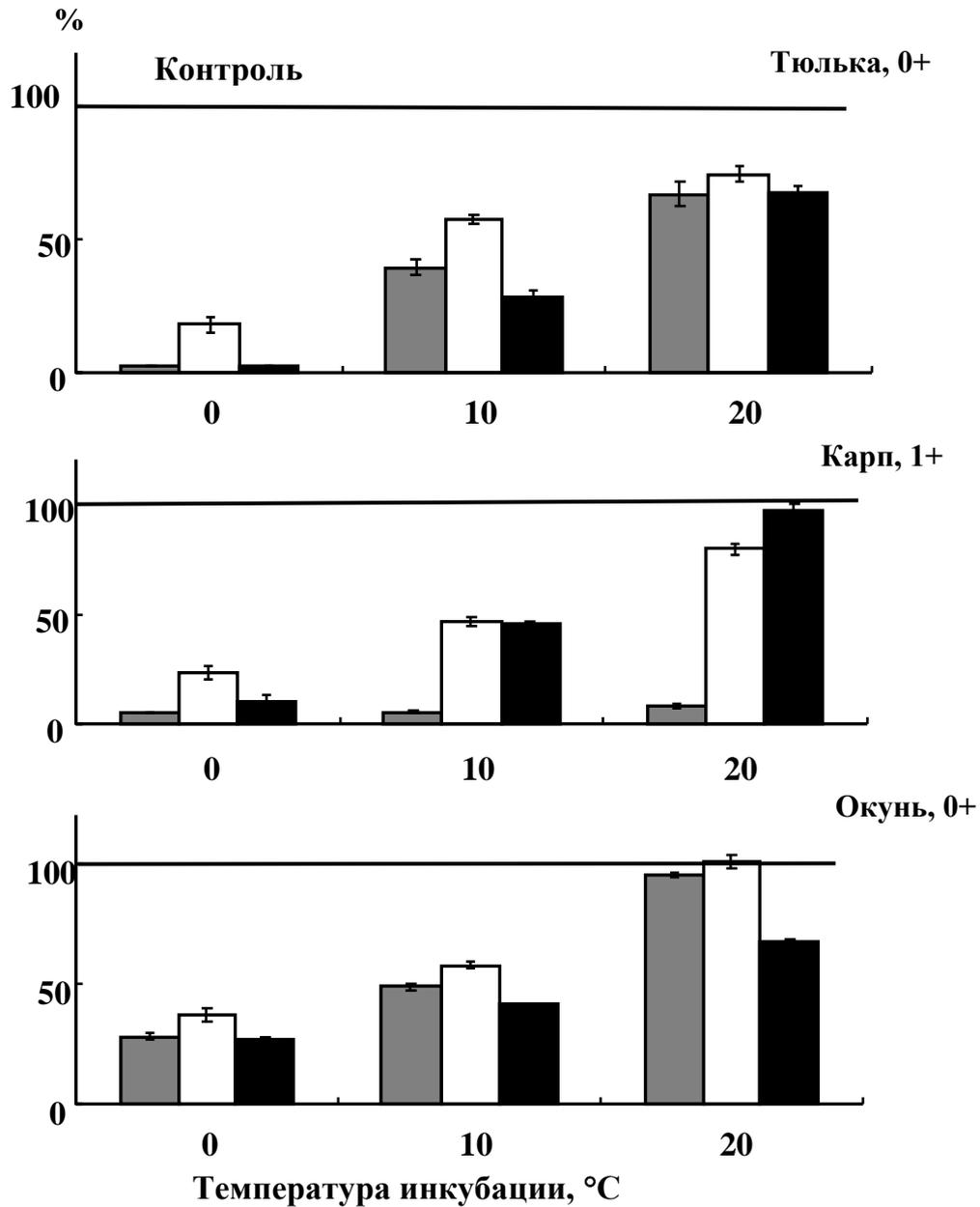
Максимальный уровень АА в слизистой оболочке у тюльки (0+), карпа (1+) и окуня (0+) выявлен при температуре 20°C и pH 7.4 в отсутствие Раундапа (приложение таблица 1). Снижение температуры уменьшает ферментативную активность у всех исследованных видов, смещение pH в кислую сторону снижает АА в большей степени у карпа, в меньшей у тюльки, у окуня изменений нет.

Чувствительность гликозидаз к действию Раундапа меняется при разных значениях температуры и pH. У тюльки в присутствии Раундапа уровень АА при pH 7.4 и температуре 20°C снижается на 26%, при температуре 10°C – на 12% по сравнению с активностью в отсутствие Раундапа (контроль), при 0°C тормозящий эффект отсутствует (рисунок 4.1). При щелочных pH тормозящий эффект Раундапа выявлен при температуре 10 и 0°C и составляет 33 и 74% от контроля, соответственно. В то же время при кислых pH тормозящий эффект в присутствии Раундапа составил 80, 21 и 24% при 0, 10 и 20°C, соответственно. У карпа отмечены близкие эффекты: торможение АА при pH 5.0 составило соответственно 42, 38 и 30% при 0, 10 и 20°C, при pH 7.4 – 20% (20°C), при pH 8.3 – 39% (0°C). У окуня тормозящий эффект Раундапа на 14% от контроля выявлен лишь в зоне кислых pH при 0°C.



**Рисунок 4.1.** Влияние Раундапа (25 мкг/л) на амилолитическую активность в слизистой оболочке кишечника молоди рыб (12–50 экз.) в % от контроля (в отсутствие Раундапа при соответствующих значениях температуры 0, 10, 20°C и pH: ■ 5.0, □ 7.4 ■ 8.3); различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Dunnett-test);  $n = 5$ .

Полифакторный анализ показал наибольшее снижение АА при комплексном действии температуры 0°C, рН 5.0 и Раундапа: у тюльки на 98%, у карпа на 95%, у окуня на 72% от таковой при температуре 20°C, рН 7.4 в отсутствии Раундапа (рисунок 4.2, приложение таблица 1).



**Рисунок 4.2.** Амилолитическая активность в слизистой оболочке кишечника молоди рыб (12–50 экз.) в % от контроля (температура 20°C, рН 7.4, отсутствие Раундапа) при комплексном действии температуры (0, 10, 20°C), рН ■5.0, □7.4, ■8.3 и Раундапа (25 мкг/л); n = 5.

При этом статистически значимое усиление эффекта отмечено при действии всех трех факторов,  $p < 0.0001$  (таблица 4.1). Контролируемые факторы совместно объясняют большую часть общей изменчивости данных (78–87%). Сила влияния Раундапа не превышает 3%.

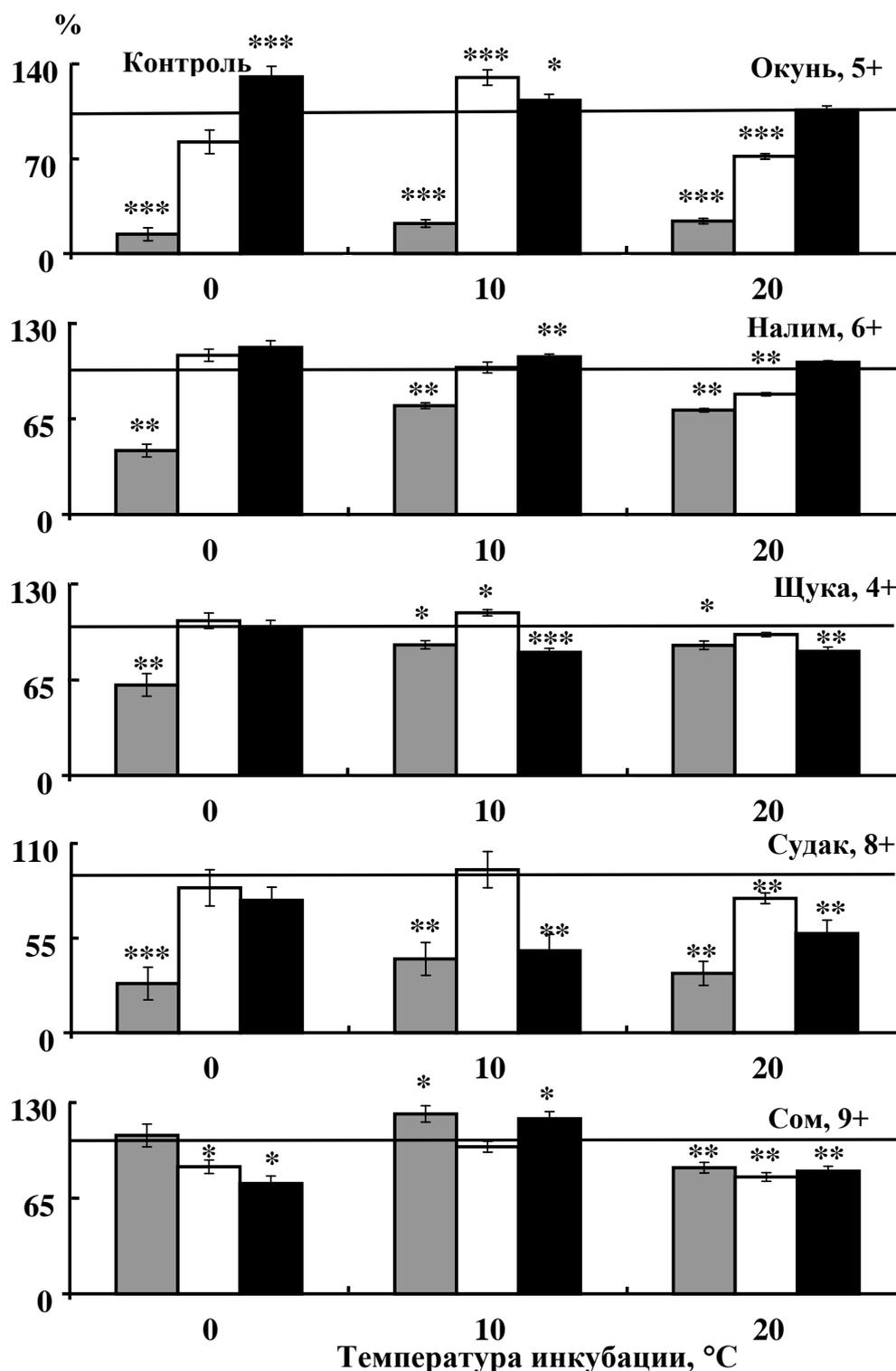
**Таблица 4.1** Статистическая значимость при оценке отдельного и комплексного влияния температуры (Т), рН и Раундапа (Р) на амилолитическую активность в слизистой оболочке кишечника молоди рыб; в скобках – сила влияния каждого фактора (%) по отдельности.

Фактор	Объекты		
	Окунь	Карп	Тюлька
Т	<b>0.0000 (48.0)</b>	<b>0.0000 (40.2)</b>	<b>0.0000 (57.5)</b>
рН	<b>0.0000 (27.1)</b>	<b>0.0000 (37.9)</b>	<b>0.0000 (29.5)</b>
Р	<b>0.0000 (3.2)</b>	<b>0.0059 (0.2)</b>	<b>0.0140 (0.2)</b>
Т+рН	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>
Т+Р	<b>0.0000</b>	<b>0.0048</b>	<b>0.0285</b>
рН+Р	<b>0.0000</b>	0.541	0.0622
рН+Р+Т	<b>0.0000</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0333</b>

Примечание. **Жирным шрифтом** – влияние фактора статистически значимо,  $p < 0.05$ .

#### 4.2 Активность гликозидаз в кишечнике взрослых рыб

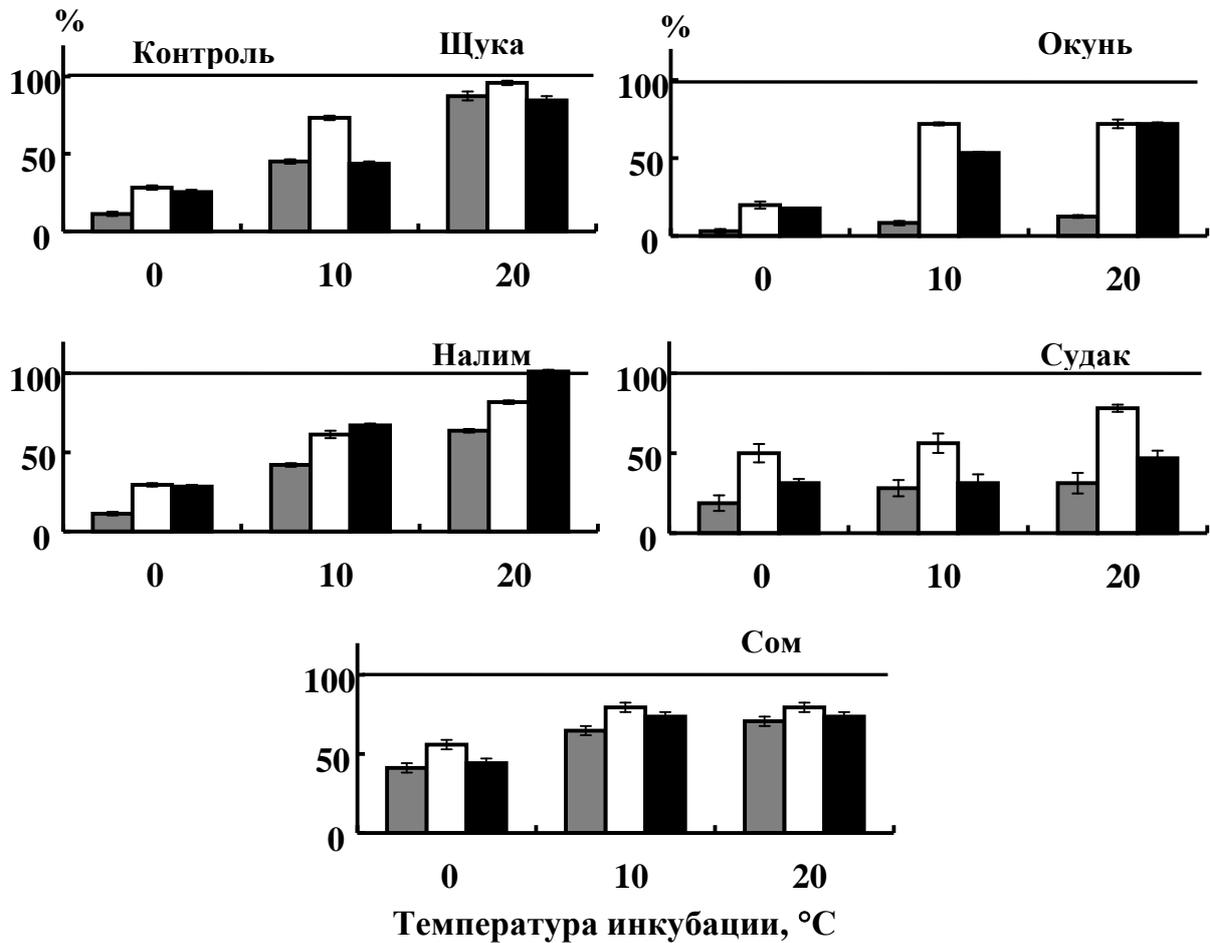
Влияние температуры и рН на чувствительность гликозидаз к действию Раундапа у половозрелых рыб оценивали на примере факультативных и типичных ихтиофагов – окунь (5+), налим (6+), щука (4+), судак (8+), сом (9–10+) (приложение таблица 2). Максимальный уровень АА в слизистой оболочке у всех исследованных видов рыб выявлен при температуре 20°C, рН 7.4 и в отсутствие Раундапа. Снижение температуры уменьшает ферментативную активность в 1.5–4 раза у всех исследованных видов, смещение рН в кислую сторону меняет уровень АА в меньшей степени (снижение в 2 раза отмечено лишь у окуня).



**Рисунок 4.3.** Влияние Раундапа (25 мкг/л) на амилолитическую активность в слизистой оболочке кишечника взрослых рыб (4–8 экз.) в присутствии Раундапа (25 мкг/л) в % от контроля (отсутствие Раундапа при соответствующих температуре 0, 10, 20°C и pH ■ 5.0, □ 7.4 и ■ 8.3); различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Kruskal – Wallis);  $n = 4-8$ .

В присутствии Раундапа при 20°C снижение АА у сома составляет 21% при рН 7.4 и 14–17% при кислых и щелочных рН (рисунок 4.3). У других исследованных видов наибольший тормозящий эффект выявлен в зоне кислых рН: на 11–38% от контроля у щуки, 26–57% у налима, 57–71% у судака и 76–87% у окуня. У сома, судака и щуки тормозящий эффект Раундапа отмечен и в зоне щелочных рН.

Применение полифакторного анализа выявило наибольшее снижение АА при комплексном действии температуры 0°C, рН 5.0 и Раундапа (рисунок 4.4).



**Рисунок 4.4.** Амилолитическая активность в слизистой оболочке кишечника взрослых рыб (4–8 экз.) в % от контроля (температура 20°C, рН 7.4, отсутствие Раундапа) при комплексном действии температуры (0, 10, 20°C), рН ■ 5.0, □ 7.4, ■ 8.3 и Раундапа (25 мкг/л); n = 4–8.

Оно составило 59% у сома, 81% у судака, 89% у щуки и налима, и 97% у окуня по сравнению с АА при температуре 20°C, рН 7.4 в отсутствие Раундапа. Если у судака полифакторный эффект обусловлен в основном действием температуры и рН, то у остальных видов статистически значимое усиление эффекта отмечено при действии всех трех факторов,  $p < 0.0001$  (таблица 4.2). Контролируемые факторы совместно объясняют большую часть общей изменчивости данных (69–96%). Сила влияния Раундапа варьирует от 0.7% у щуки до 34.5% у судака.

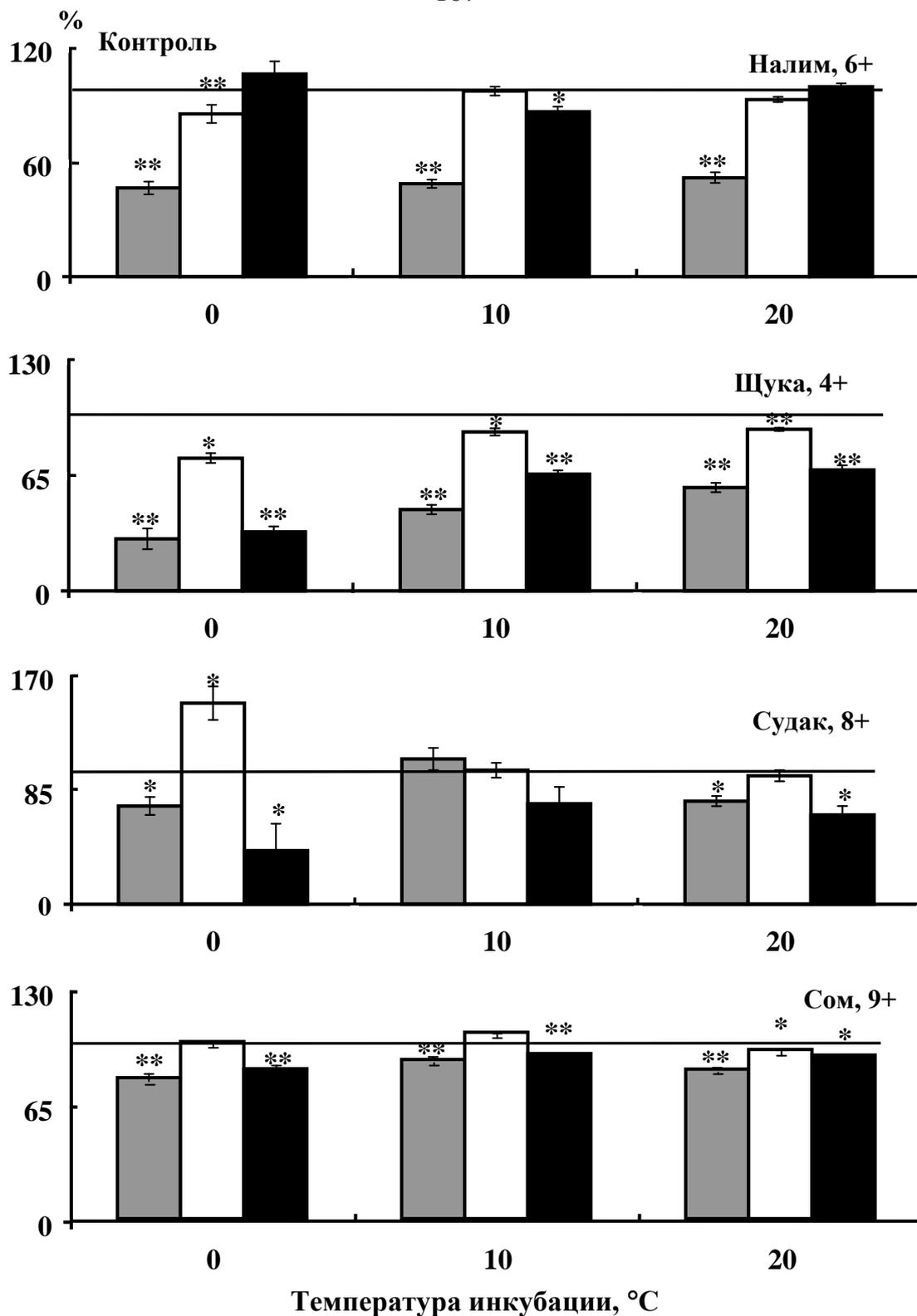
**Таблица 4.2** Статистическая значимость при оценке отдельного и комплексного влияния температуры (Т), рН и Раундапа (Р) на амилолитическую активность в слизистой оболочке кишечника половозрелых рыб; в скобках – сила влияния каждого фактора (%) по отдельности.

Фактор	Объекты				
	Окунь	Налим	Щука	Судак	Сом
Т	<b>0.0000 (48.0)</b>	<b>0.0000 (87.3)</b>	<b>0.0000 (91.7)</b>	<b>0.0000 (23.6)</b>	<b>0.0000 (56.6)</b>
рН	<b>0.0000 (27.1)</b>	<b>0.0000 (5.1)</b>	<b>0.0000 (3.6)</b>	<b>0.0000 (10.9)</b>	<b>0.0000 (20.0)</b>
Р	<b>0.0000 (3.2)</b>	<b>0.0000 (1.5)</b>	<b>0.0000 (0.7)</b>	<b>0.0000 (34.5)</b>	<b>0.0000 (2.6)</b>
Т+рН	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0315</b>	0.0673
Т+Р	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0037</b>	<b>0.0000</b>
рН+Р	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0010</b>
рН+Р+Т	<b>0.0000</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0464</b>	0.1305	<b>0.0159</b>

Примечание. **Жирным шрифтом** – влияние фактора статистически значимо,  $p < 0.05$ .

В химусе максимальный уровень АА отмечен при температуре 20°C и рН 7.4 в отсутствие Раундапа у всех исследованных видов рыб (приложение таблица 3). Снижение температуры уменьшает ферментативную активность в 2–3.5 раза, смещение рН в кислую сторону практически не меняет уровень АА.

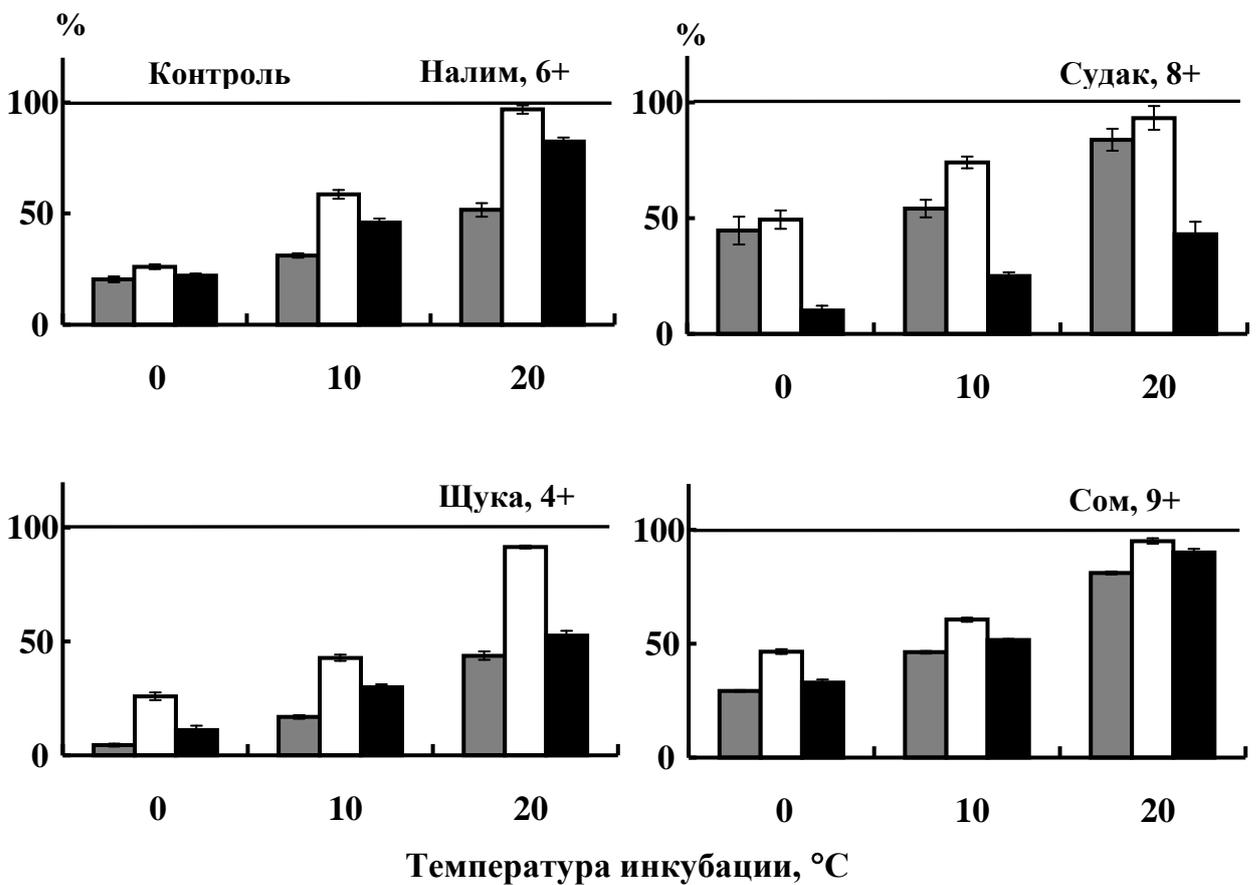
При нейтральных рН Раундап снижает АА на 9–25% лишь у щуки (рисунок 4.5). При щелочных рН Раундап снижает АА у всех исследованных видов рыб (в большей степени у щуки на 32–67%).



**Рисунок 4.5.** Влияние Раундапа (25 мкг/л) на амилолитическую активность в химусе кишечника взрослых рыб (4–8 экз.) в % от контроля (в отсутствие Раундапа при соответствующих значениях температуры 0, 10, 20°C и pH ■5.0, □ 7.4 и ■8.3); различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Kruskal – Wallis);  $n = 4-8$ .

В зоне кислых рН торможение АА в присутствии Раундапа отмечено у всех исследованных видов: у сома на 10–20%, у судака на 23–27%, у налима на 48–53%, у щуки на 42–71%. У щуки сила тормозящего эффекта увеличивается с понижением рН.

Полифакторный анализ выявил наибольшее снижение АА при комплексном действии температуры 0°C, рН 5.0 и Раундапа (рисунок 4.6). Торможение составило 71% у сома, 81% у налима и 95% у щуки от таковой при стандартных условиях (температура 20°C, рН 7.4 в отсутствие Раундапа) и 54% у судака при рН 8.3.



**Рисунок 4.6.** Амилолитическая активность в химусе кишечника взрослых рыб (4–8 экз.) в % от контроля (температура 20°C, рН 7.4, отсутствие Раундапа) при комплексном действии температуры (0, 10, 20°C), рН ■ 5.0, □ 7.4, ■ 8.3 и Раундапа (25 мкг/л); n = 4–8.

Если у сома и судака эффект обусловлен в основном действием температуры и рН, то у щуки и налима статистически значимое усиление эффекта отмечено при действии всех трех факторов,  $p < 0.0001$  (таблица 4.3). Контролируемые факторы совместно объясняют большую часть общей изменчивости данных (81–98%). Сила влияния Раундапа варьирует от 1.2% у сома до 9.4% у щуки.

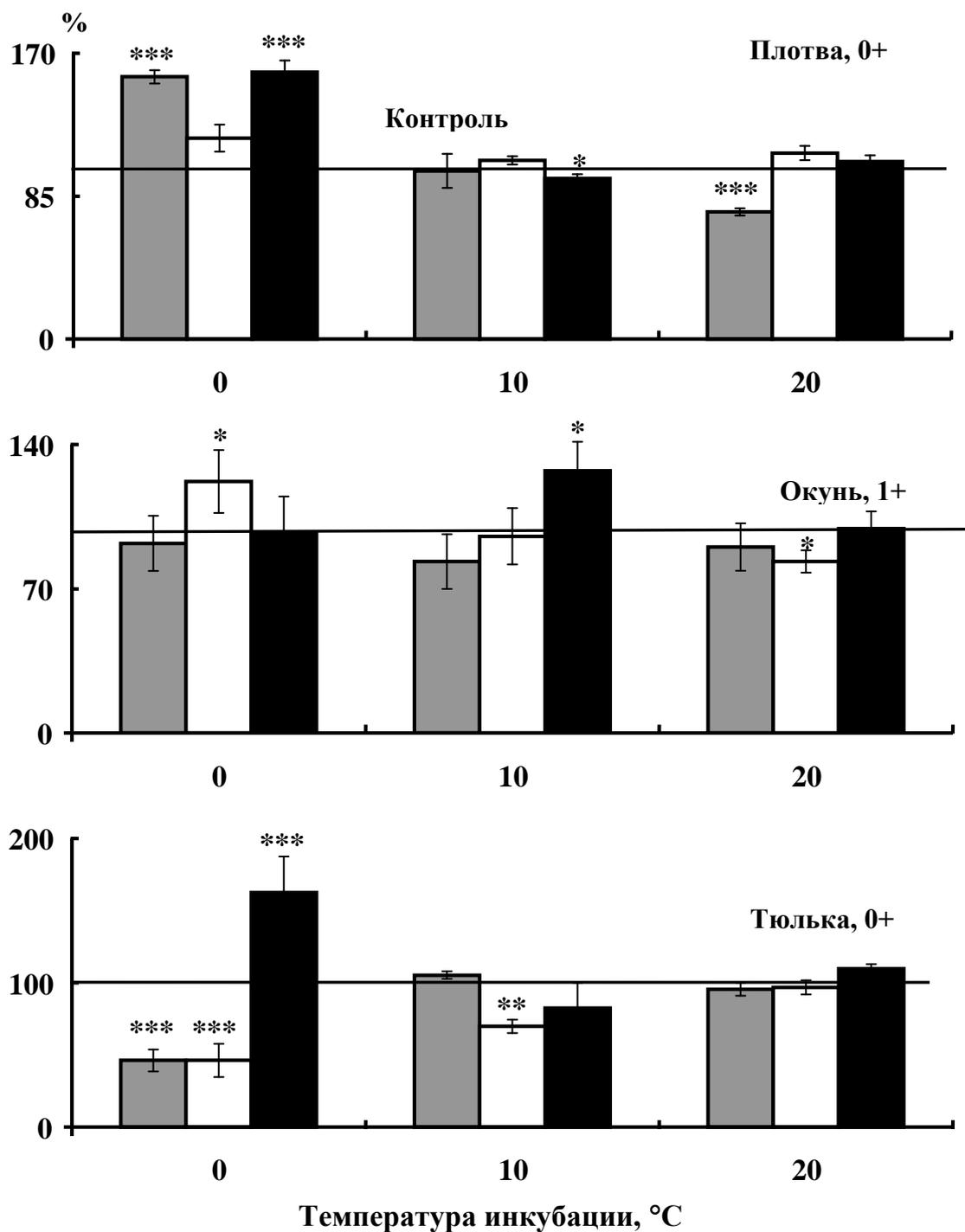
**Таблица 4.3** Статистическая значимость при оценке отдельного и комплексного влияния температуры (Т), рН и Раундапа (Р) на амилолитическую активность в химусе кишечника взрослых рыб; в скобках – сила влияния каждого фактора (%) по отдельности.

Фактор	Объекты			
	Налим	Щука	Судак	Сом
Т	<b>0.0000 (77.1)</b>	<b>0.0000 (69.0)</b>	<b>0.0000 (41.5)</b>	<b>0.0000 (93.5)</b>
рН	<b>0.0000 (3.2)</b>	<b>0.0000 (15.4)</b>	<b>0.0000 (36.6)</b>	<b>0.0000 (3.5)</b>
Р	<b>0.0000 (6.1)</b>	<b>0.0000 (9.4)</b>	<b>0.0002 (2.4)</b>	<b>0.0000 (1.2)</b>
Т+рН	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>
Т+Р	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0169</b>	<b>0.0000</b>
рН+Р	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0056</b>	<b>0.0000</b>
рН+Р+Т	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	0.0620	0.1108

Примечание. **Жирным шрифтом** – влияние фактора статистически значимо,  $p < 0.05$ .

#### 4.3. Активность гликозидаз в организме молоди рыб

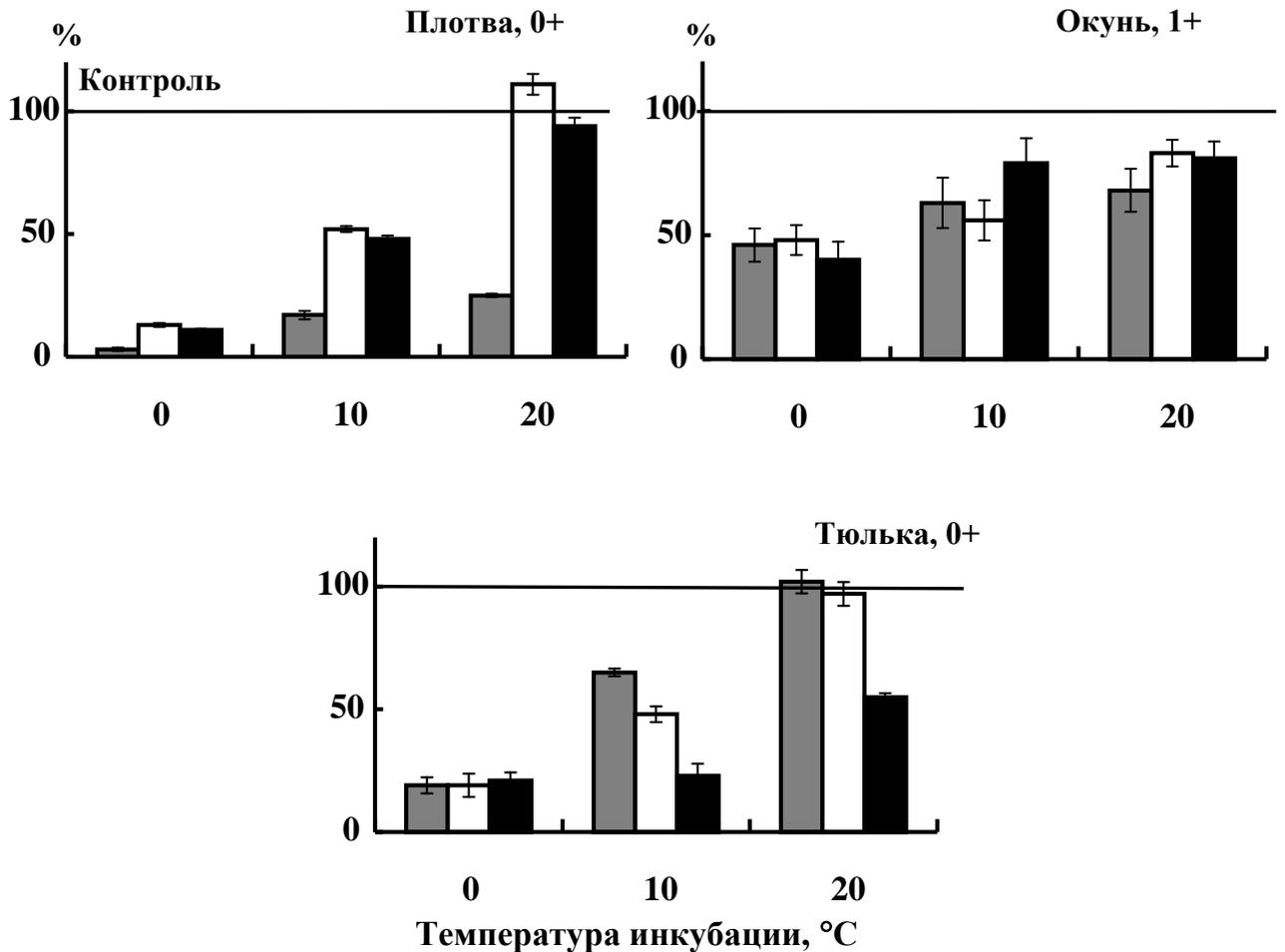
Максимальный уровень АА в целом организме молоди рыб (плотва 0+, окунь 0+, тюлька 0+) выявлен при температуре 20°C и рН 7.4 в отсутствии Раундапа (приложение таблица 4). Снижение температуры в большей степени, чем изменение рН уменьшает АА (исключая плотву). В присутствии Раундапа при нейтральных рН снижение АА у тюльки составило 30 и 54% при температуре 10 и 0°C, у окуня – 27% при 20°C (рисунок 4.7). В зоне щелочных рН повышение АА на 59–62% выявлено у плотвы и тюльки (0°C), на 27% у окуня (10°C). При кислых рН снижение ферментативной активности на 54% показано у тюльки (0°C) и на 24% у плотвы (20°C).



**Рисунок 4.7.** Влияние Раундапа (25 мкг/л) на амилолитическую активность в целом организме молоди рыб (20–50 экз.) в присутствии в % от контроля (в отсутствие Раундапа при соответствующих значениях температуры 0, 10, 20°C и pH

■ 5.0, □ 7.4 и ■ 8.3; различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Dunnett-test);  $n = 5$ .

Наибольшее снижение АА отмечено при комплексном действии трёх факторов (рисунок 4.8, приложение таблица 5). В присутствии Раундапа оно составило 54, 81 и 97% (рН 5.0; температура 0°C) и 60, 79 и 88% (рН 8.3; температура 0°C) у окуня, тюльки и плотвы, соответственно.



**Рисунок 4.8.** Амилолитическая активность в организме молоди рыб (20–50 экз.) в % от контроля (температура 20°C, рН 7.4, отсутствие Раундапа) при комплексном действии температуры (0, 10, 20°C), рН ■ 5.0, □ 7.4, ■ 8.3 и Раундапа (25 мкг/л); n = 5.

Несмотря на то, что у окуня рН и Раундап при раздельном действии, а также комплексное действие температуры и рН, не вызывали значимых эффектов, совместное действие всех трех факторов статистически значимо снижало АА (таблица 4.4). Контролируемые факторы совместно объясняют большую часть общей изменчивости данных у плотвы (86%) и тюльки (83%).

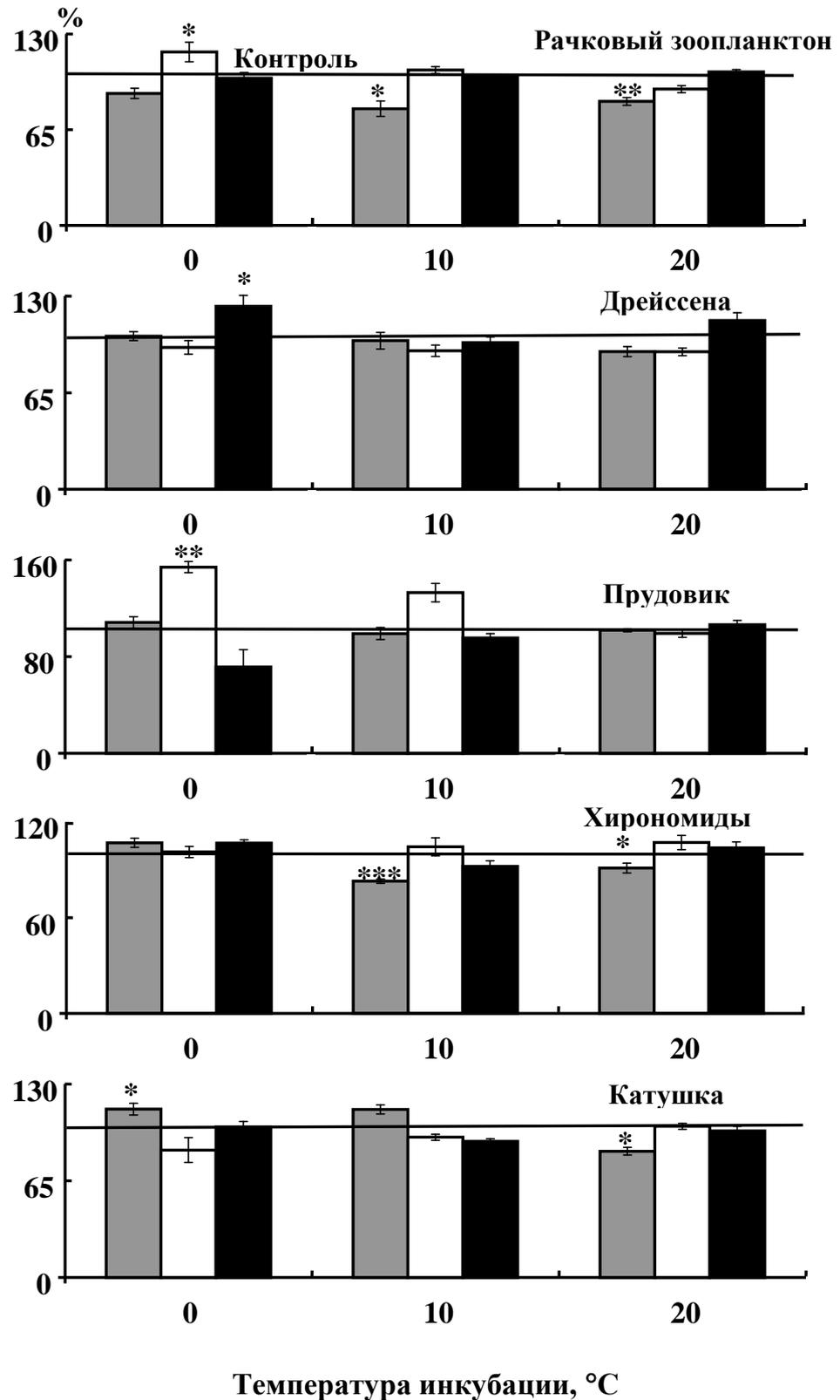
**Таблица 4.4** Статистическая значимость при оценке раздельного и комплексного влияния температуры (Т), рН и Раундапа (Р) на амилолитическую активность в целом организме молоди рыб; в скобках – сила влияния каждого фактора (%) по отдельности.

Фактор	Объекты		
	Плотва	Окунь	Тюлька
Т	<b>0.0000 (61.2)</b>	<b>0.0000 (17.6)</b>	<b>0.0000 (57.5)</b>
рН	<b>0.0000 (25.1)</b>	0.0834	<b>0.0000 (24.4)</b>
Р	0.057	0.0956	<b>0.0020 (1.4)</b>
Т+рН	<b>0.0000</b>	0.0670	<b>0.0000</b>
Т+Р	0.5121	<b>0.0000</b>	0.1152
рН+Р	<b>0.0054</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0095</b>
рН+Р+Т	<b>0.0095</b>	<b>0.0000</b>	0.0510

Примечание. **Жирным шрифтом** – влияние фактора статистически значимо,  $p < 0.05$ .

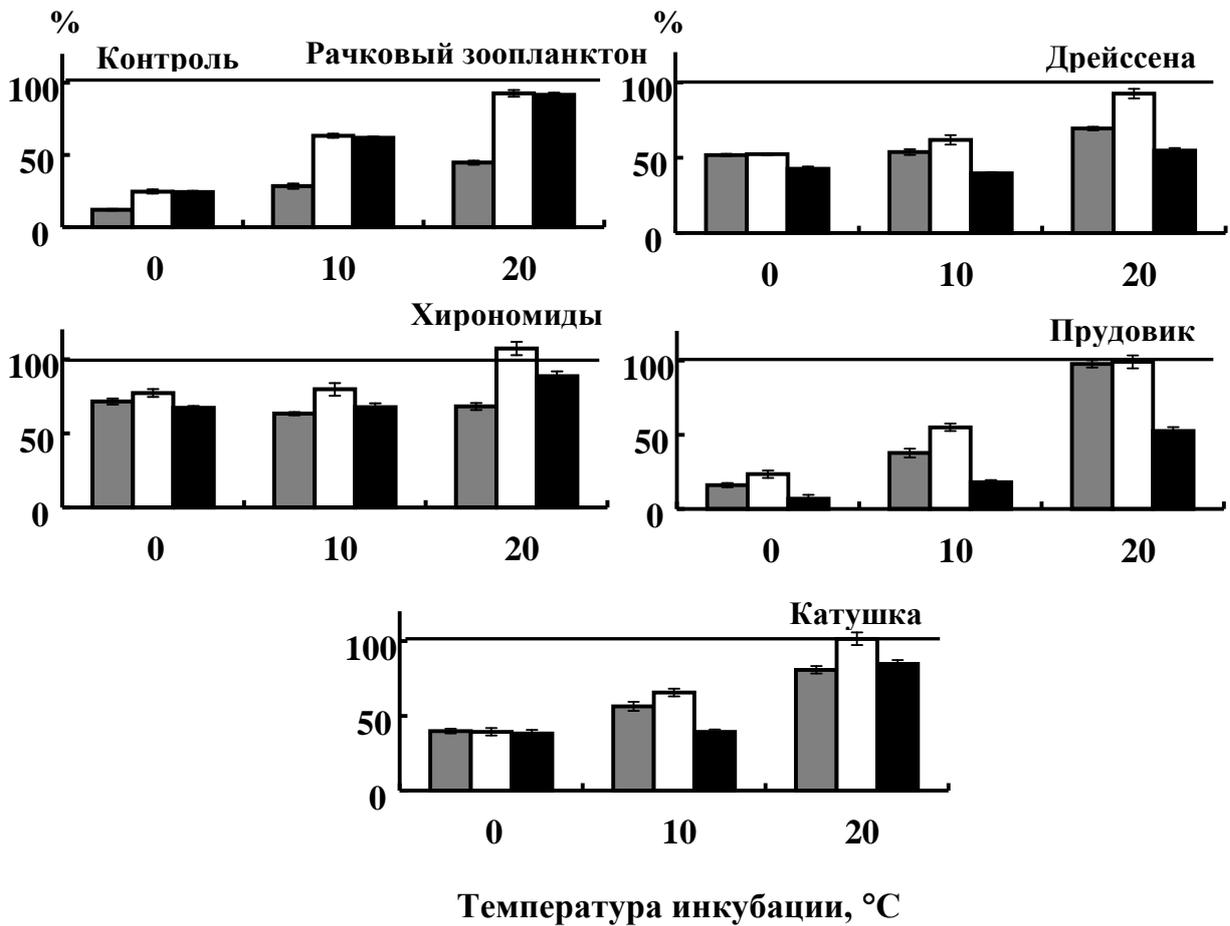
#### 4.4 Активность гликозидаз в организме беспозвоночных

Максимальный уровень АА в организме беспозвоночных отмечен при температуре 20°C и рН 7.4 в отсутствие Раундапа (приложение таблица 5). Снижение температуры в большей мере, чем изменение рН уменьшает АА (исключая хирономид). Раундап при кислых рН снижает АА на 15–21% в тканях хирономид, катушки и рачкового зоопланктона (рисунок 4.9). При рН 7.4 повышение АА у рачкового зоопланктона составило 18%, у прудовика 54% (0°C), в других вариантах опыта статистически значимых изменений АА в присутствии гербицида не обнаружено. В зоне щелочных рН у всех исследованных видов (исключая дрейссену) эффекты Раундапа отсутствуют.



**Рисунок 4.9.** Влияние Раундапа (25 мкг/л) на амилалитическую активность в организме беспозвоночных в % от контроля (в отсутствие Раундапа при соответствующих значениях температуры 0, 10, 20°C и pH  $\blacksquare$  5.0,  $\square$  7.4 и  $\blacksquare$  8.3; различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Dunnett-test);  $n = 5$ .

Полифакторный анализ показал, что наибольшее снижение АА отмечено при комплексном действии трёх факторов (рисунок 4.10). Оно составило 29 и 33% у хирономид, 48 и 57% у дрейссены, 60 и 62% у катушки, 84 и 93% у прудовика, 88 и 76% у зоопланктона при температуре 0°C и рН 5.0 и 8.3, соответственно.



**Рисунок 4.10.** Амилолитическая активность в организме беспозвоночных в % от контроля (температура 20°C, рН 7.4, отсутствие Раундапа) при комплексном действии температуры (0, 10, 20°C), рН ■ 5.0, □ 7.4, ■ 8.3 и Раундапа (25 мкг/л); n = 5.

Однако эти эффекты, в значительной мере, обусловлены лишь совместным действием низкой температуры и рН ( $p < 0.0001$ ), вклад Раундапа в комплексный эффект (исключая хирономид и катушку) незначителен (таблица 4.5).

**Таблица 4.5** Статистическая значимость при оценке отдельного и комплексного влияния температуры (Т), рН и Раундапа (Р) на амилолитическую активность в целом организме беспозвоночных; в скобках – сила влияния каждого фактора (%) по отдельности.

Фактор	Объекты				
	Зоопланктон	Хирономиды	Дрейссена	Прудовик	Катушка
Т	<b>0.0000 (69.9)</b>	<b>0.0000 (35.3)</b>	<b>0.0000 (39.3)</b>	<b>0.0000 (53.3)</b>	<b>0.0000 (48.3)</b>
рН	<b>0.0000 (21.4)</b>	<b>0.0000 (28.5)</b>	<b>0.0000 (41.7)</b>	<b>0.0000 (29.6)</b>	<b>0.0000 (41.9)</b>
Р	0.1854	0.8565	0.6111	<b>0.0440 (0.1)</b>	0.1547
Т+рН	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>	<b>0.0000</b>
Т+Р	0.1923	<b>0.0119</b>	0.2378	0.9305	0.1852
рН+Р	<b>0.0263</b>	<b>0.0120</b>	<b>0.0052</b>	0.0977	0.3498
рН+Р+Т	0.1109	<b>0.0468</b>	0.4118	0.1329	<b>0.0001</b>

Примечание. **Жирным шрифтом** – влияние фактора статистически значимо,  $p < 0.05$ .

#### 4.5 Заключение

Сила действия Раундапа на гликозидазы рыб зависит от температуры и рН. Снижение рН до 5.0, как правило, увеличивает тормозящий эффект Раундапа на АА слизистой оболочки кишечника молоди рыб: в большей степени у тюльки, в меньшей у окуня. Снижение температуры с 20°C до 0°C при кислых и щелочных рН также усиливает тормозящий эффект Раундапа, при нейтральных рН – уменьшает его.

У взрослых рыб выявлены сходные эффекты: снижение рН до 5.0 увеличивает тормозящий эффект Раундапа на активность гликозидаз (исключая сома), снижение температуры с 20°C до 0°C при кислых рН также усиливает тормозящий эффект Раундапа, при нейтральных и щелочных рН – уменьшает его. Наиболее яркий тормозящий эффект Раундапа на АА выявлен в химусе взрослых щук при всех значениях температуры и рН.

Максимальный тормозящий эффект Раундапа на АА (на 72–98% у молоди и 54–97% у взрослых рыб) отмечен при совместном действии трех факторов (температура 0°C, рН 5.0, Раундап 25 мкг/л) по сравнению с контролем (температура 20°C, рН 7.4, в

отсутствие Раундапа). В большинстве случаев отмечено статистически значимое усиление эффекта при действии всех трех факторов.

Влияние Раундапа на АА в организме кормовых объектов рыб в меньшей мере зависит от температуры и рН. Максимальное снижение активности гликозидаз у беспозвоночных (на 29–93%) и в целом организме молоди рыб (на 54–97%) выявлено при температуре 0°C и рН 5.0 или 8.3 в присутствии Раундапа. Статистически значимое усиление эффекта при действии всех трех факторов отмечено лишь в ряде случаев (молодь плотвы, хирономиды, катушка), в остальных случаях эффекты обусловлены лишь совместным действием низкой температуры и рН.

## ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ РЫБ К *IN VITRO* ДЕЙСТВИЮ РАУНДАПА

В природных условиях рыбы испытывают влияние целого комплекса физических и химических факторов, и лишь лабораторные эксперименты позволяют выделить действие того либо другого фактора в отдельности. В ряде работ установлено, что влияние Раундапа на физиолого-биохимический статус животных в значительной мере зависит от природных и антропогенных факторов (Folmar et al., 1979; Carlisle, Trevors, 1988; Tsui, Chu, 2003; Kelly et al., 2010; Zhou et al., 2012). При этом действие Раундапа на пищеварительные гликозидазы рыб в зависимости от различных экологических условий ранее не исследовалась.

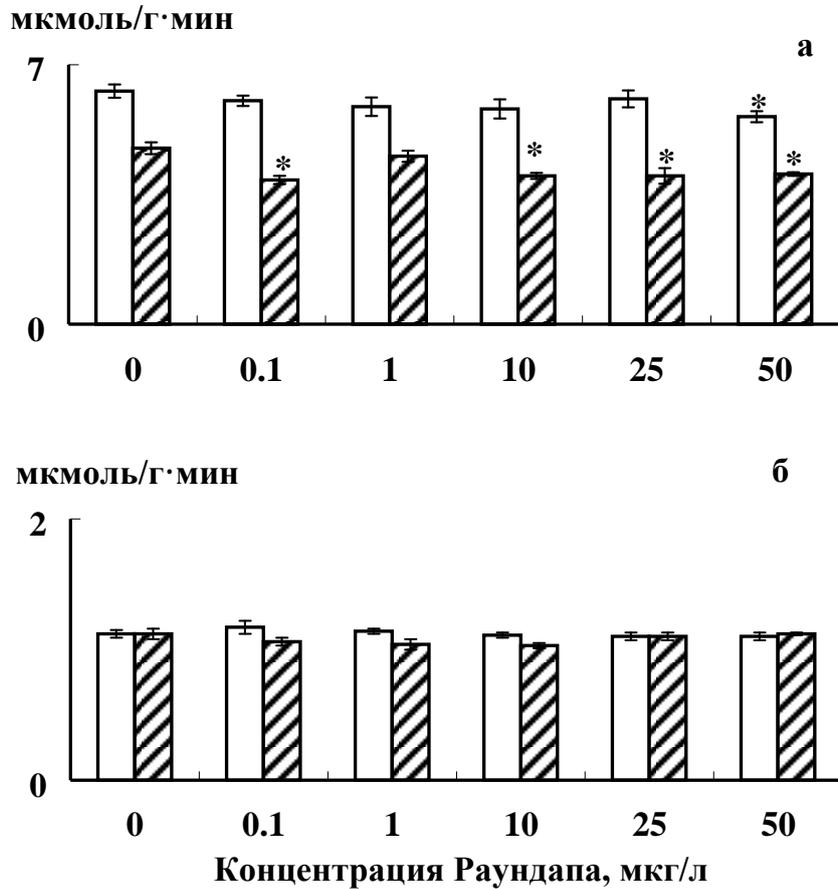
### 5.1 Степень антропогенного загрязнения

Рыбинское водохранилище (58°30' с.ш., 38°20' в.д.) – одно из крупнейших пресноводных искусственных водоемов России. Наиболее загрязненный район водохранилища – Шекснинский плес, принимающий сточные воды промышленного комплекса г. Череповца, более чистый район – Волжский плес (приложение рисунок 8). В различных компонентах экосистемы Шекснинского плеса (вода, донные отложения, бентос, рыбы) обнаружены загрязняющие вещества различной химической природы: полихлорированные бифенилы (ПХБ) и хлорорганические пестициды, тяжелые металлы – кадмий, цинк, медь, свинец (Козловская, Герман, 1997; Флеров и др., 2000; Герман, Законнов, 2003; Чуйко и др., 2010). При этом их содержание на один-два порядка выше по сравнению с наиболее чистыми Моложским и Волжским плесами.

У лещей, отловленных в районе Шекснинского плеса, отмечен высокий уровень напряженности врожденного иммунитета (Лапирова, Заботкина, 2010), повышенное содержание продуктов перекисного окисления липидов (Morozov et al., 2012), изменения активности антиоксидантных и холинэргических ферментов печени (Chuiko et al., 2007; Morozov et al., 2012), а также активности пищеварительных протеиназ (Кузьмина и др., 2010) и гликозидаз кишечника (Кузьмина, 1983; Голованова, Филиппов, 2012).

Данные по влиянию Раундапа на АА в слизистой оболочке кишечника половозрелых плотвы (7–8+) и леща (10–11+) из загрязненного Шекснинского плеса (ст.

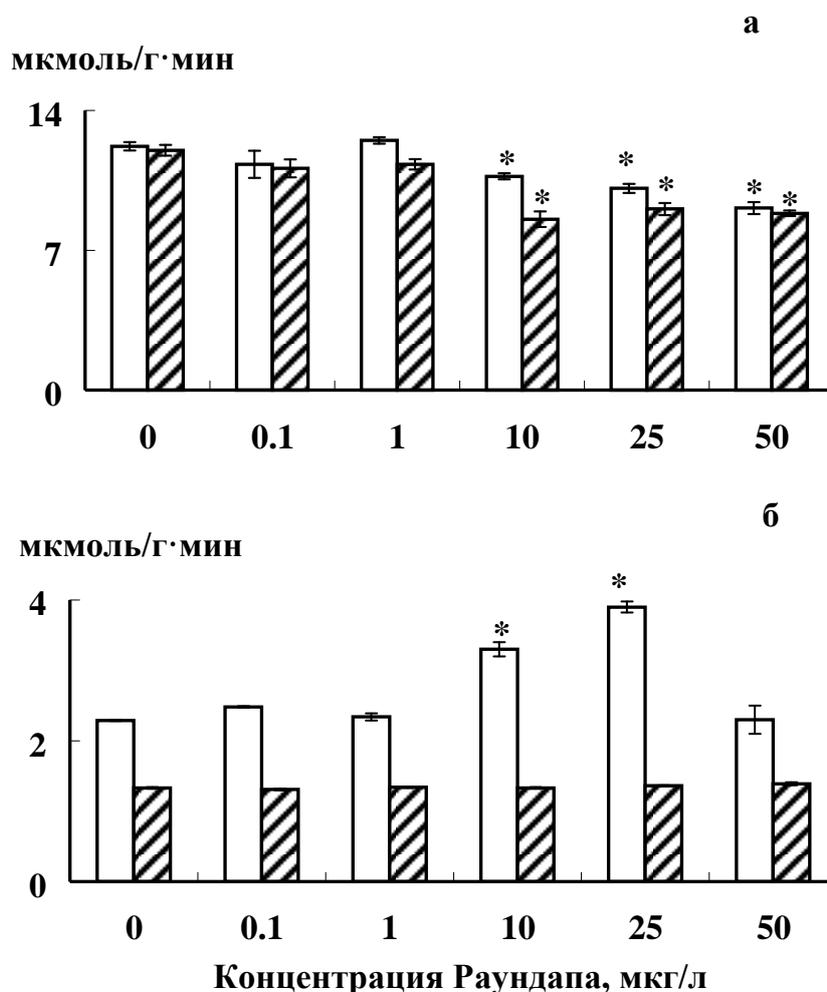
Ваганиха) и более чистого Волжского плеса (ст. Коприно), выловленных в весенний период, представлены на рисунке 5.1 и в приложении таблица 6.



**Рисунок 5.1.** Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике плотвы (а) и леща (б) из более чистого (Волжского □) и загрязненного (Шекснинского ▨) плесов в присутствии Раундапа в широком диапазоне концентраций, \* – статистически значимые различия показателей по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ;  $n = 8-10$ .

В присутствии Раундапа АА у плотвы из Волжского плеса снижается на 11% лишь при максимальной концентрации гербицида, в то время как у плотвы из Шекснинского плеса – на 15–18% от контроля практически во всем диапазоне концентраций Раундапа. Уровень АА в кишечнике леща из указанных районов в присутствии Раундапа не меняется.

Снижение активности мальтазы, отмеченное в диапазоне концентраций Раундапа 10–50 мкг/л, составило 12–25% у плотвы из более чистого плеса и 25–29% от контроля у рыб из более загрязненного плеса (рисунок 5.2; приложение таблица 6). Активность мальтазы у леща из более чистого района увеличивается на 44 и 70% от контроля при концентрациях Раундапа 10 и 25 мкг/л, из более загрязненного – не изменяется.



**Рисунок 5.2.** Активность мальтазы в кишечнике плотвы (а) и леща (б) из более чистого (Волжского □) и загрязненного (Шекснинского ▨) плесов в присутствии Раундапа в широком диапазоне концентраций, \* – статистически значимые различия показателей по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ;  $n = 8–10$ .

Гликозидазы леща более устойчивы к действию Раундапа по сравнению с плотвой, что может быть обусловлено как видовыми особенностями, так и разным спектром питания или разным изоферментным составом гликозидаз, функционирующих

у этих видов. Вместе с тем у леща из Шекснинского плеса отмечено повышение чувствительности гликозидаз, гидролизующих крахмал, к *in vitro* действию ионов меди и цинка (Голованова и др., 2014). Поскольку гидролиз крахмала в слизистой оболочке кишечника происходит с участием сорбированных из полости ( $\alpha$ -амилаза) и собственно мембранных (глюкоамилаза и мальтаза) ферментов, соотношение которых у рыб разных видов, а также рыб одного вида из более чистого и загрязненного районов может меняться, судить о механизме этого явления не представляется возможным.

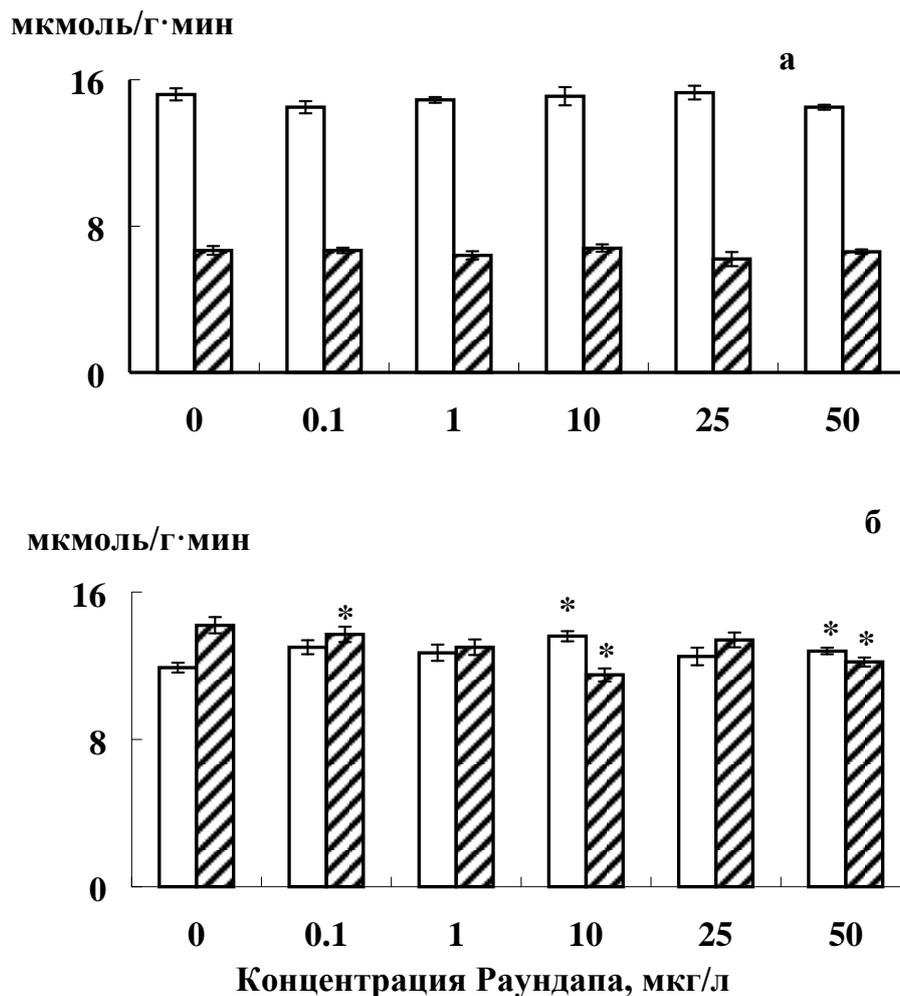
## 5.2 Присутствие ПХБ в корме

Полихлорированные бифенилы – одна из самых распространенных групп стойких органических загрязнителей, относящихся к классу хлорорганических соединений. В настоящее время выпуск ПХБ во многих развитых странах запрещен, но они продолжают использоваться и циркулировать в окружающей среде. Профиль конгенерного состава ПХБ в тканях леща и стабильный уровень содержания в донных отложениях свидетельствуют о том, что ПХБ до сих пор поступают в экосистему Рыбинского водохранилища (Чуйко и др., 2008).

Обладая высокой липофильностью и стойкостью к действию физических и химических факторов, ПХБ способны к биоаккумуляции и накоплению по трофическим цепям (Герман, Законнов, 2003). Поступая в организм рыб преимущественно с пищей (Paterson et al., 2006), ПХБ интенсивно всасываются в переднем отделе кишечника. Максимальное содержание ПХБ часто отмечается в печени (Козловская и др., 2001) или в кишечнике рыб (Karjalainen et al., 2006). Даже в крайне малых дозах ПХБ оказывают токсическое, мутагенное и канцерогенное действие, изменяя морфологические и физиолого-биохимические показатели рыб (Niimi, 1996; Козловская и др., 2001; Nakayama et al., 2005; Голованова и др., 2011).

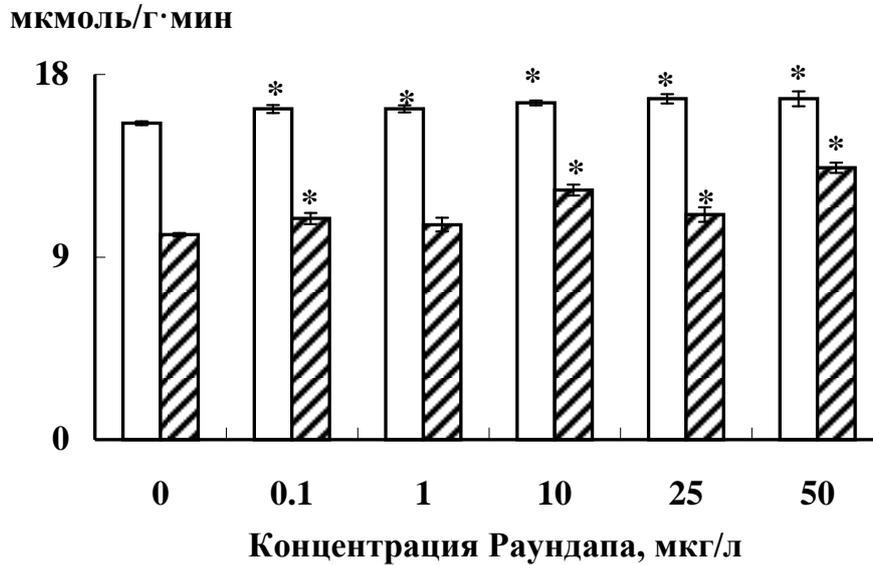
В эксперименте на молоди леща (3+), получавшего корм с повышенным содержанием ПХБ (коммерческий препарат Agoclog 1254 из расчета 2 мг/г корма) показано снижение АА и активности мальтазы в слизистой оболочке кишечника лишь на первых этапах (7 сут.) хронического действия (рисунок 5.3; приложение таблица 7). На 14 сутки отмечено повышение АА, что может быть связано с активацией компенсаторных механизмов.

Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к *in vitro* действию Раундапа зависит от длительности поступления ПХБ с кормом. Статистически значимых изменений АА у рыб контрольной и опытной групп на 7 сут эксперимента не выявлено. Однако на 14 сутки хронического действия ПХБ уровень АА у рыб опытной группы снижается на 14–19%, в то время как у рыб контрольной группы – напротив, повышается на 8–15% при некоторых концентрациях Раундапа (рисунок 5.3; приложение таблица 7).



**Рисунок 5.3.** Амилолитическая активность в слизистой оболочке кишечника леща (3+) в на 7-е (а) и 14-е (б) сутки эксперимента; □ – контрольная группа; ▨ – группа с повышенным содержанием ПХБ (2 мг/г корма); \* – статистически значимые различия показателей в присутствии Раундапа *in vitro* по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ;  $n = 5$ .

Активность мальтазы в присутствии Раундапа увеличивается на 8–33% у рыб опытной группы и лишь на 4–8% у рыб контрольной группы уже на 7 сутки хронического эксперимента (рисунок 5.4; приложение таблица 7).



**Рисунок 5.4.** Активность мальтазы в слизистой оболочке кишечника леща (3+) на 7-е сутки эксперимента; □ – контрольная группа; ▨ – группа с повышенным содержанием ПХБ (2 мг/г корма); \* – статистически значимые различия показателей в присутствии Раундапа *in vitro* по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ;  $n = 5$ .

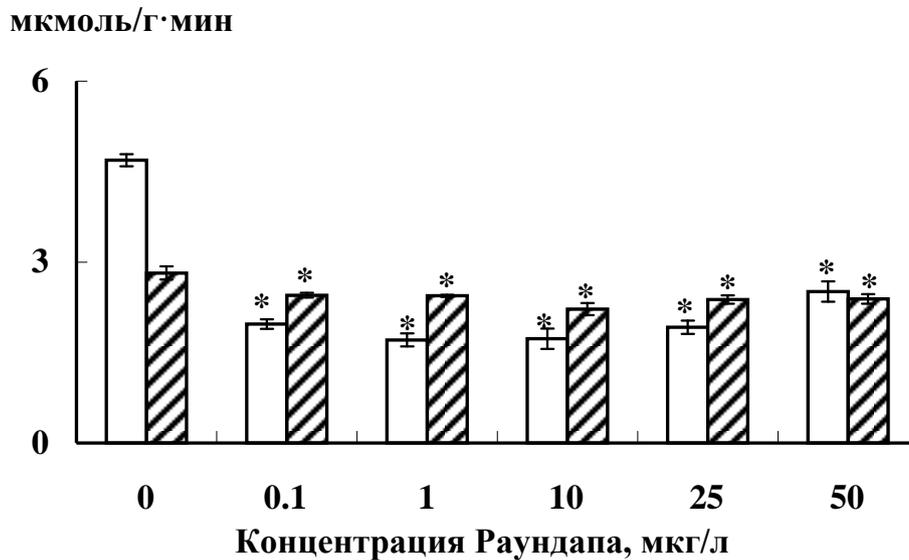
Ранее при исследовании двух популяций леща Рыбинского водохранилища выявлено более высокое содержание ПХБ у рыб из Шекснинского плеса по сравнению Моложским плесом (Chuiko et al., 2007). У одноразмерных особей из этих плесов активность гликозидаз ( $\alpha$ -амилаза, сахараза, амилаолитическая активность) была близка. В то же время у рыб Шекснинского плеса выявлено снижение  $K_m$  мальтазы и сахаразы, отражающее адаптивное повышение фермент-субстратного средства (Голованова, Филиппов, 2012). Более высокие значения  $E_{акт}$  гликозидаз у леща Шекснинского плеса в диапазоне температуры жизнедеятельности свидетельствуют о снижении эффективности гидролиза углеводных компонентов корма у рыб с большим накоплением ПХБ в организме (Голованова, Филиппов, 2012).

Экспериментальные данные по влиянию ПХБ на активность пищеварительных гликозидаз в кишечнике пресноводных рыб единичны (Голованова и др., 2011;

Филиппов и др., 2013). При этом установлено, что хроническая экспозиция к ПХБ (50.8 нг/г сырой массы корма и 426 нг/г сухой массы грунта) увеличивает чувствительность пищеварительных гликозидаз у молоди плотвы к действию меди и цинка (Filiprov, Golovanova, 2012). Последнее хорошо согласуется с результатами нашей работы об увеличении чувствительности гликозидаз молоди леща к *in vitro* действию Раундапа при повышенном содержании ПХБ в корме.

### 5.3 Хроническая экспозиция к Раундапу

Чувствительность гликозидаз, гидролизующих крахмал, в кишечнике ротана (1+) к действию Раундапа *in vitro* снижалась после 30 сут. экспозиции к этому гербициду в концентрации 2 мкг/л (рисунок 5.5; приложение таблица 8). Торможение АА в кишечнике у рыб контрольной группы в присутствии Раундапа в концентрации 0.1–50 мкг/л составило 46–64%, а у рыб опытной группы лишь 13–21% от контроля. Зависимость силы эффекта от концентрации гербицида не выявлена.



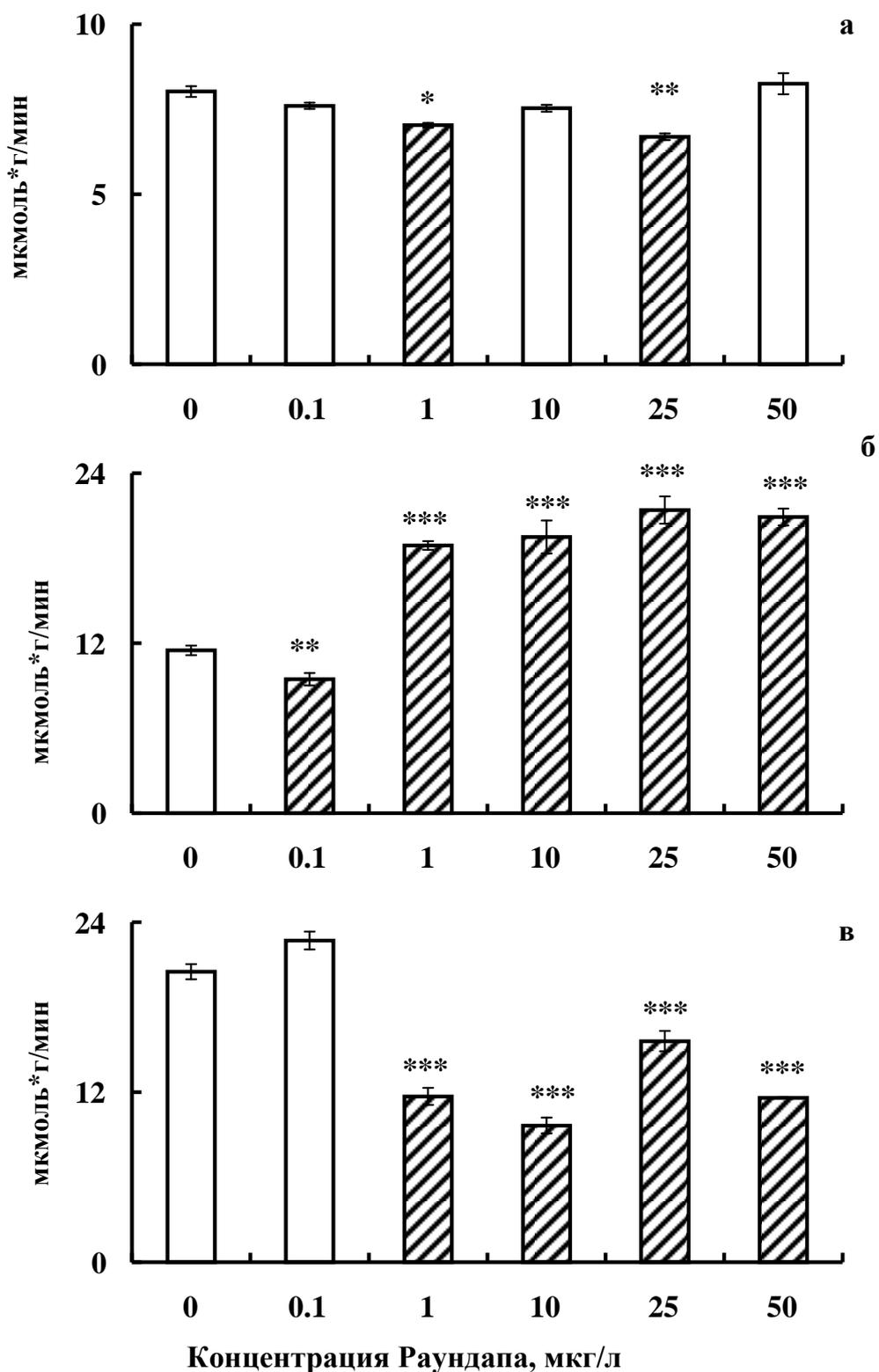
**Рисунок 5.5.** Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике ротана (1+) в присутствии Раундапа *in vitro* у рыб контрольной □ (30-сут экспозиция без Раундапа) и опытной ▨ (30-сут экспозиция в растворе Раундапа в концентрации 2 мкг/л) групп; \* – статистически значимые различия показателей по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ; количество исследованных рыб в каждой группе 12 экз.,  $n = 6$ .

При хроническом 30-и сут. действии Раундапа в концентрации 2 мкг/л АА в кишечнике ротана снижалась на 40%, в то время как при *in vitro* действии Раундапа в концентрации 0.01 мкг/л – на 57%. Активность мальтазы у рыб контрольной ( $6.21 \pm 0.15$ ) и опытной ( $5.95 \pm 0.08$  мкмоль/г·мин) групп значимо не различалась (Голованова и др., 2013). При этом значения  $K_m$  гидролиза мальтозы возрастали на 37%, отражая снижение фермент-субстратного сродства при хроническом действии низких концентраций Раундапа. Снижение АА на 24 и 33% было выявлено ранее при хроническом 15-суточном действии Раундапа в концентрациях 25.0 и 50.0 мг/л (в пересчете на глифосат) в целом организме *D. magna* Straus (Папченкова и др., 2009). Более низкая чувствительность гликозидаз в кишечнике молоди ротана к *in vitro* действию Раундапа после хронической экспозиции к этому гербициду согласуется с данными о повышении устойчивости рыб, находившихся в условиях хронического загрязнения медью, к действию этого металла (Gale et al., 2003).

#### 5.4 Повышение температуры воды

Сброс подогретых вод промышленных предприятий, атомных и тепловых станций нарушает температурный режим водоемов. Увеличение температуры среды изменяет активность и температурные характеристики кишечных гликозидаз рыб (Golovanova et al., 2013), а также чувствительность этих ферментов к действию тяжелых металлов (Голованова, Голованов, 2015). Наибольшие изменения АА в кишечнике молоди рыб отмечены при резком повышении температуры воды в осенний период (Golovanova et al., 2013).

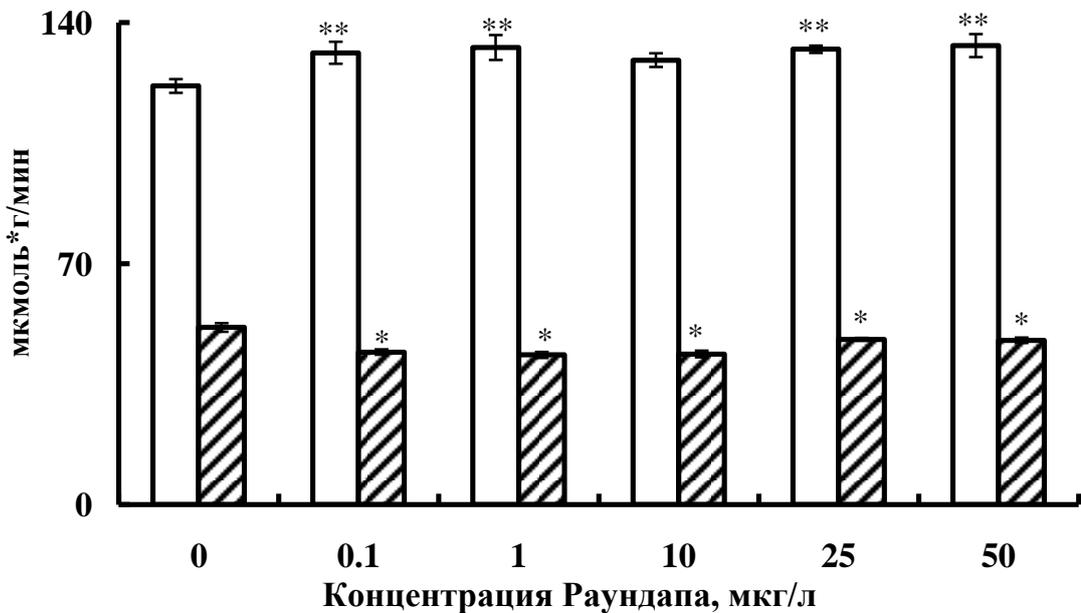
Чувствительность гликозидаз, гидролизующих крахмал и мальтозу в целом организме молоди ротана (0+), к *in vitro* действию Раундапа меняется при разных скоростях нагрева воды в осенний период (приложение таблица 9). В отсутствие нагрева АА снижается на 11% лишь при минимальной концентрации Раундапа. Медленная скорость нагрева  $0.02^\circ\text{C}/\text{ч}$  вызывает понижение АА на 13–19% при концентрациях Раундапа 0.1, 25 и 50 мкг/л. При более высоких скоростях нагрева АА повышается лишь при некоторых концентрациях Раундапа: на 11–13% при скорости  $4.2^\circ\text{C}/\text{ч}$ , на 9–18% при скоростях 8.5, 27 и  $42^\circ\text{C}/\text{ч}$ .



**Рисунок 5.6.** Активность мальтазы (мкмоль/г·мин) в целом организме ротана (1+, 12 экз.) при скорости нагрева воды 0°C/ч (а), 0.02°C/ч (б) и 27°C/ч (в) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  (ANOVA, Dunnett-test);  $n = 6$ .

Активность мальтазы в отсутствие нагрева снижается на 12–16% при концентрации гербицида 1 и 25 мкг/л, при скоростях нагрева 4.2, 8.5, 42°C/ч – на 12–19% при более высоких концентрациях Раундапа (рисунок 5.6; приложение таблица 9). Медленная скорость нагрева приводит к повышению активности мальтазы на 64–86% во всем диапазоне концентраций Раундапа (исключая 0.1 мкг/л). Наибольший тормозящий эффект гербицида на 24–53% от контроля выявлен при скорости нагрева 27 °C/ч (рисунок 5.6).

На примере карпа (0+), акклимированного к температуре 32°C в осенний период, изучена чувствительность гликозидаз слизистой оболочки кишечника к *in vitro* действию Раундапа после нагрева воды со скоростью 8°C/ч (рисунок 5.7; приложение таблица 10).



**Рисунок 5.7.** Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника карпа в присутствии Раундапа *in vitro* при скорости нагрева воды 0°C/ч □ и 8°C/ч ▨ ; различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  (ANOVA, Dunnett-test); количество исследованных рыб в каждой экспериментальной группе = 12 экз.;  $n = 6$ .

Уровень АА в кишечнике карпа (без нагрева воды) в присутствии Раундапа повышается на 6–8% практически во всем диапазоне исследованных концентраций. У рыб, подвергнутых нагреву со скоростью 8°C/ч, Раундап вызывает снижение АА на

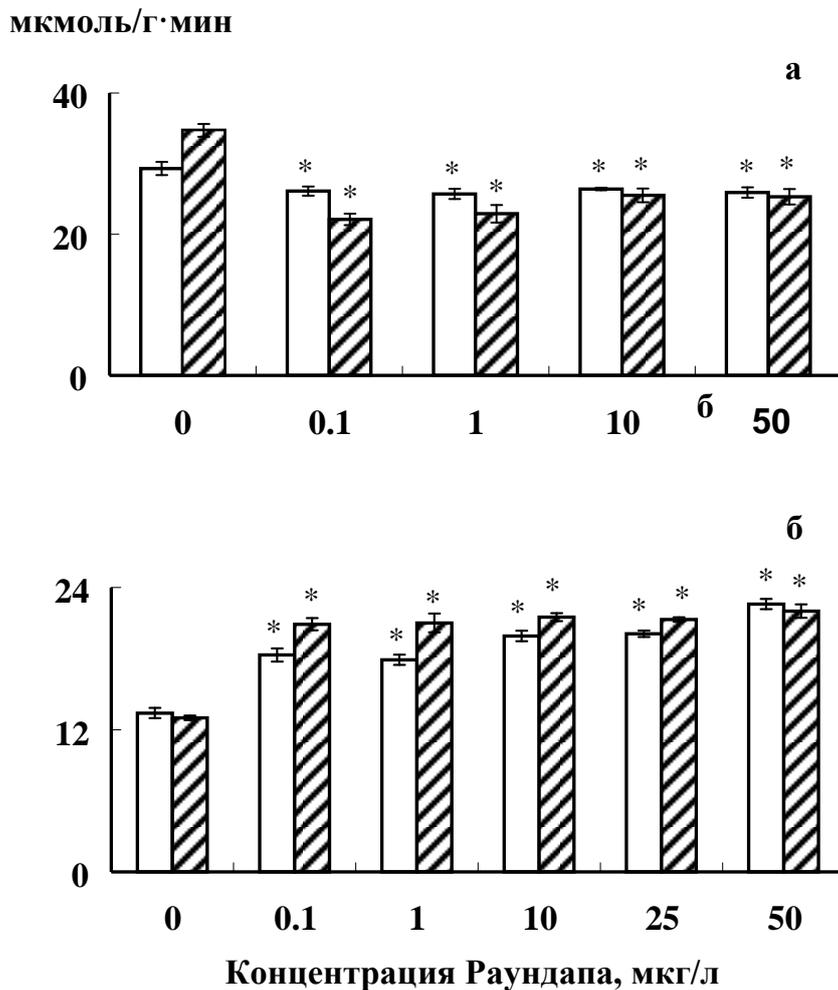
7–16% от контроля. Зависимости силы эффекта от концентрации Раундапа не выявлено. Активность мальтазы у карпов, не подвергавшихся и подверженных нагреву, в присутствии Раундапа значительно не меняется.

Скорость повышения температуры воды  $0.02^{\circ}\text{C}/\text{ч}$  (примерно  $0.5^{\circ}\text{C}/\text{сут}$ ) наблюдается при естественных климатических изменениях, скорости  $4$  и  $8.5^{\circ}\text{C}/\text{ч}$  – при сбросах подогретых вод промышленных предприятий, скорости  $27$  и  $42^{\circ}\text{C}/\text{ч}$  часто используются как модельные при определении термоустойчивости рыб (Голованов, 2013). Повышение температуры окружающей среды в осенний период, противоречащее сезонному ходу событий, может менять чувствительность ферментов, гидролизующих углеводы, к действию Раундапа.

### 5.5 Магнитная буря

Активность гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы, подвергнутых в период эмбриогенеза (спустя 48–72 ч после оплодотворения) действию имитации МБ (в диапазоне частот 0–5 Гц), в присутствии Раундапа *in vitro* представлена на рисунке 5.8 и в приложении таблица 11). Действие МБ приводит к усилению чувствительности гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы к действию Раундапа. Уровень АА у рыб контрольной группы (находившихся в условиях естественного геомагнитного поля) снижался на 10–12%, у рыб опытной группы на 27–36% во всем диапазоне концентраций. Активность мальтазы, напротив, повышалась на 34–69% у рыб контрольной группы и на 61–69% у рыб опытной группы. При этом зависимость эффекта от концентрации гербицида отсутствует.

Ранее было показано, что действие МБ в период раннего эмбриогенеза изменяет активность гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы (Filipov et al., 2014) и их чувствительность к действию ионов меди и цинка (Filipov, Golovanova, 2012). Кроме того, усиление чувствительности кишечных гликозидаз (мальтаза, АА) к действию Раундапа *in vitro* было выявлено у сеголетков плотвы, подвергавшихся действию изменений локального магнитного поля ( $500$  нТл) в период до гастрюляции (1–6 ч после оплодотворения). При этом чувствительность гликозидаз к Раундапу зависит от интенсивности магнитного поля и стадии эмбриогенеза, когда проходило воздействие (Филиппов и др., 2015).



**Рисунок 5.8.** Влияние Раундапа на амилолитическую активность (а) и активность мальтазы (б) в слизистой оболочке кишечника плотвы без действия □ и после воздействия ▨ магнитной бури (в диапазоне частот 0–5 Гц) в период эмбриогенеза 48–72 ч после оплодотворения, \* – статистически значимые различия показателей по сравнению с контролем (0 мкг/л), (ANOVA, Dunnett-test),  $p < 0.05$ ; количество рыб в каждой экспериментальной группе = 20 экз.;  $n = 5$ .

Нами показано, что действие МБ в отрезок 48–72 ч после оплодотворения усиливает тормозящий эффект Раундапа на АА в кишечнике сеголетков плотвы и стимулирующий эффект на активность мальтазы. Такой разнонаправленный эффект связан, главным образом, с типом фермента, на который оказывает влияние Раундап.

## 5.6 Заключение

Установлено, что некоторые экологические факторы влияют на чувствительность гликозидаз рыб к действию гербицида Раундап. Так, гликозидазы (АА и активность мальтазы) плотвы, выловленной из загрязненного Шекснинского плеса Рыбинского водохранилища, более чувствительны к *in vitro* действию Раундапа по сравнению с рыбами из более чистого Волжского плеса. В то же время у леща эти различия менее выражены. Экспериментально установлено, что хроническое поступление ПХБ с пищей изменяет чувствительность гликозидаз в слизистой оболочке кишечника леща к *in vitro* действию Раундапа. При этом усиление тормозящего влияния Раундапа на АА отмечено через 14 суток, а снижение стимулирующего действия на активность мембранного фермента мальтазы – уже через 7 суток присутствия ПХБ в пище.

Хроническая 30-суточная экспозиция к Раундапу в концентрации 2 мкг/л (2 ПДК) приводит к снижению чувствительности гликозидаз, гидролизующих крахмал, в кишечнике ротана к *in vitro* действию Раундапа в широком диапазоне концентраций, что может быть связано с усилением резистентности к действию гербицида.

Увеличение температуры окружающей среды в осенний период, как с медленной, так и с более высокой скоростью может менять чувствительность ферментов, гидролизующих углеводы, к действию Раундапа *in vitro*. При этом сила и направленность эффектов зависят от скорости нагрева воды, локализации ферментов, а также структуры фермента и субстрата (типа гидролизующих 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*. Усиление чувствительности гликозидаз может быть связано с влиянием МБ в период раннего эмбриогенеза на процессы синтеза панкреатических и мембранных ферментов.

Таким образом, экологические факторы химической и физической природы могут изменять не только активность гликозидаз в кишечнике и целом организме рыб, но и их чувствительность к действию гербицида Раундап.

## ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе впервые показано, что гербицид Раундап, в концентрациях, встречающихся в компонентах водной среды, может изменять активность гликозидаз в кишечнике пресноводных костистых рыб и в тканях их кормовых объектов (беспозвоночные и молодь рыб). Реакция гликозидаз на действие Раундапа зависит от вида, возраста и типа питания рыб, а также локализации фермента (слизистая оболочка, химус или ткани всего организма). При стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4) Раундап снижает АА в слизистой оболочке кишечника молоди, а также взрослых рыб планкто- и бентофагов (исключая леща и налима), у взрослых ихтиофагов эффекты отсутствуют. Активность мальтазы и сахаразы в присутствии Раундапа, как правило, повышается у молоди и снижается у взрослых рыб. Зависимость силы эффекта от концентрации Раундапа носит нелинейный характер, что свидетельствует об отсутствии прямого действия гербицида на активный центр ферментов. Вероятно, Раундап может действовать на субстрат ферментативной реакции или процессы взаимодействия субстрата и фермента.

Активность ферментов в тканях целого организма отражает не только активность ферментов пищеварительного тракта, но и многочисленных лизосомальных гидролаз всех органов и тканей. Очевидно, этим обусловлены различия в действии Раундапа на одноименные ферменты слизистой оболочки кишечника рыб и организма объектов их питания. Активность гликозидаз (особенно мальтазы и сахаразы) у беспозвоночных, являющихся объектами питания молоди всех видов рыб и взрослых рыб планкто- и бентофагов, в присутствии Раундапа, как правило, повышается. В организме молоди рыб (объектов питания ихтиофагов) в присутствии Раундапа выявлены как тормозящий, так и стимулирующий эффекты. Повышение активности гликозидаз в тканях кормовых объектов в присутствии Раундапа может компенсировать снижение активности ферментов в пищеварительном тракте питающихся ими рыб.

Сила и направленность действия Раундапа зависят от температуры и pH. Кислые pH, как правило, увеличивают тормозящий эффект Раундапа на активность гликозидаз кишечника рыб. Снижение температуры при кислых pH увеличивает тормозящий эффект Раундапа, при нейтральных pH нивелирует его. Зависимость эффектов Раундапа от температуры и pH в тканях беспозвоночных и молоди рыб менее выражена, чем в

слизистой оболочке кишечника рыб, что может быть обусловлено разным набором и соотношением изоформ гликозидаз, функционирующих в их тканях. Максимальное снижение АА в слизистой оболочке кишечника, химусе и тканях кормовых объектов рыб отмечено при совместном действии температуры 0°C, рН 5.0 и Раундапа, в большинстве случаев взаимодействие трех факторов статистически значимо. Снижение активности гликозидаз в тканях жертвы при низкой температуре, кислых рН и в присутствии Раундапа может уменьшать потенциальный вклад ферментов кормовых объектов в процессы пищеварения консументов и снижать эффективность питания рыб. Сравнительный анализ влияния Раундапа на активность гликозидаз в организме беспозвоночных и химусе молоди рыб, а также в химусе взрослых рыб и в организме молоди выявил сходные эффекты. Наибольшее снижение АА в присутствии Раундапа выявлено в химусе взрослых щук и в тканях реальной жертвы. Вероятно, это обусловлено активизацией лизосомальных гликозидаз жертвы в условиях кислой среды желудка консумента и большей их чувствительностью к действию Раундапа.

В нашей работе впервые показано, что экологические факторы физической и химической природы могут изменять чувствительность гликозидаз рыб к действию Раундапа. Повышение температуры воды в осенний сезон может усиливать чувствительность гликозидаз рыб к действию гербицида. Наибольшие изменения чувствительности гликозидаз к Раундапу выявлены при скоростях нагрева воды 0.2°C/ч (АА) и 27°C/ч (мальтаза). Эти различия могут быть связаны с разной термостабильностью  $\alpha$ -амилазы, входящей в состав ферментов, гидролизующих крахмал, и мальтазы. Усиление чувствительности гликозидаз к действию Раундапа при действии МБ в период раннего эмбриогенеза, вероятно, обусловлено влиянием на процессы синтеза панкреатических и мембранных ферментов, что приводит к появлению гликозидаз с разными свойствами. Гликозидазы плотвы из загрязненного района Рыбинского водохранилища более чувствительны к действию Раундапа по сравнению с рыбами из более чистого района, что может быть связано с молекулярной разнокачественностью ферментов, функционирующих в кишечнике рыб из разных мест обитания. Усиление негативного действия Раундапа на активность гликозидаз в слизистой оболочке кишечника выявлено и при большем содержании ПХБ в пище леща, демонстрируя синергический эффект действия загрязнителей. Впервые показано, что хроническая 30-сут. экспозиция к Раундапу (2 мкг/л) снижает чувствительность

гликозидаз в кишечнике ротана к *in vitro* действию этого гербицида. Вероятно, во время хронической экспозиции у рыб активируются механизмы резистентности к действию гербицида, вследствие чего торможение АА в присутствии Раундапа *in vitro* снижается. Хроническое действие потенциально токсичных веществ на водные организмы характеризуется чередованием периодов стимуляции и угнетения показателей жизнедеятельности (Филенко, 2001). Подобный характер зависимости прослеживается и в связи эффекта с концентрацией, где выявляются диапазоны стимулирующих и угнетающих концентраций, что значительно влияет на характер динамики токсического эффекта.

В настоящее время установлено, что глифосатсодержащие пестициды даже в низких дозах могут влиять на структуру и функции нецелевых организмов в течение длительных промежутков времени (Cuhra et al., 2013; Liess et al., 2013). Несмотря на то, что Раундап в водной среде весьма нестабилен и его попадание в водоемы носит импульсный характер, токсическое действие на водные организмы может проявиться еще до его полного распада (Richard et al., 2014; Loro et al., 2015). В нашей работе впервые показано, что сверхмалые концентрации Раундапа ( $1 \cdot 10^{-13}$  мкг/л), как и более высокие (на 2–17 порядков), могут вызывать равный эффект. Несмотря на отсутствие влияния гербицида на активность гликозидаз у ряда видов рыб при стандартных условиях *in vitro*, проявление тормозящего эффекта Раундапа при действии некоторых экологических факторов может снижать скорость ассимиляции углеводных компонентов пищи, и, как следствие, эффективность питания и темп роста рыб.

Широкое применение и прогнозируемое увеличение использования (Benbrook, 2016) делают необходимым изучение потенциальных экологических последствий применения глифосатсодержащих гербицидов. Аварийные разливы, смывы с полей или сброс неочищенных сточных вод в природные водоемы могут увеличивать их содержание. В настоящее время глифосат обнаружен в продуктах питания, кормах и питьевой воде (Cuhra et al., 2016), что требует пересмотра норм его содержания в окружающей среде (Primost et al., 2017). Результаты нашей работы подтверждают полученные в настоящее время многочисленные данные о влиянии Раундапа на жизнедеятельность нецелевых организмов и необходимость использования физиолого-биохимических методов для ранней диагностики состояния гидробионтов в современных экологических условиях.

## ВЫВОДЫ

1. При стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4) Раундап в широком диапазоне концентраций (0.1–50 мкг/л) снижает амилолитическую активность (АА) в слизистой оболочке кишечника молоди и взрослых рыб бенто- и планктофагов на 8–56 % (у взрослых леща и налима повышает ее на 15–57%), у взрослых ихтиофагов эффекты отсутствуют. Активность мальтазы и сахаразы в присутствии Раундапа, как правило, повышается у молоди и снижается у взрослых рыб (исключая леща). Чувствительность гликозидаз к Раундапу выше у молоди, чем у взрослых рыб, у рыб планкто- и бентофагов (особенно плотвы), чем у типичных ихтиофагов. Гликозидазы в химусе взрослых плотвы и язя, а также молоди карпа наиболее чувствительны к действию гербицида.

2. Активность гликозидаз в организме беспозвоночных в присутствии Раундапа при стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4), как правило, повышается (на 6–85% от контроля). Гликозидазы в тканях катушки роговой наименее чувствительны к действию гербицида. В целом организме молоди рыб отмечены как тормозящий (на 11–41%), так и стимулирующий (на 18–151%) эффекты, активность сахаразы не меняется. Гликозидазы тюльки и карася менее чувствительны к действию Раундапа. Наиболее четкий тормозящий эффект Раундап оказывает на гликозидазы реальной жертвы (плотва, извлеченная из желудка щуки).

3. Сила и направленность действия Раундапа на активность кишечных гликозидаз рыб зависят от температуры и pH. Снижение pH до 5.0, как правило, усиливает тормозящий эффект Раундапа на АА у молоди (до 14–80%) и у взрослых рыб (до 38–87%), снижение температуры до 0°C также усиливает его преимущественно при кислых pH (у молоди и при щелочных pH). В химусе взрослых рыб отмечены сходные эффекты. Действие Раундапа на активность гликозидаз целого организма потенциальной жертвы (беспозвоночные и молодь рыб) в меньшей мере зависит от температуры и pH: при pH 5.0 снижение АА в тканях хирономид, катушки и рачкового зоопланктона составило 15–21%, у тюльки и плотвы 24 и 54% соответственно.

4. Наибольшее снижение активности гликозидаз в кишечнике рыб, а также в целом организме кормовых объектов выявлено при комплексном действии Раундапа (25

мкг/л), температуры 0°C, рН 5.0 или 8.3. Степень снижения варьирует в зависимости от вида гидробионтов и локализации ферментов. Максимальный тормозящий эффект Раундапа на АА в слизистой оболочке кишечника молоди рыб составил 73–98%, взрослых рыб – 59–97% (в химусе 74–95%), в организме молоди рыб – 60–97%, беспозвоночных – 33–93% от контроля. В кишечнике рыб в большинстве случаев отмечено статистически значимое усиление эффекта при действии всех трех факторов, в целом организме объектов питания – лишь в ряде случаев (молодь плотвы, хирономиды, катушка). У консументов наибольшее снижение АА отмечено преимущественно в зоне кислых рН, у объектов их питания – в зоне щелочных рН.

5. Экологические факторы физической и химической природы изменяют чувствительность гликозидаз к действию Раундапа *in vitro*. Увеличение чувствительности гликозидаз (АА и мальтаза) отмечено у молоди плотвы при действии магнитной бури в период эмбриогенеза; в кишечнике молоди карпа при повышении температуры воды в осенний период, а также в организме молоди ротана (особенно при скоростях нагрева воды 0.02 и 27°C/ч); в кишечнике плотвы из районов с повышенной антропогенной нагрузкой; в кишечнике леща при повышенном содержании ПХБ (2 мкг/г) в корме. Вместе с тем 30-сут. экспозиция к гербициду в концентрации 2 мкг/л снижает чувствительность кишечных гликозидаз к действию Раундапа *in vitro*: АА снижается в 3–5 меньше, чем у рыб в контроле. Изменения чувствительности гликозидаз происходят преимущественно за счет усиления силы эффекта при одних и тех же концентрациях гербицида, при этом отмечено усиление как тормозящего (АА и активность мальтазы), так и стимулирующего (преимущественно мальтаза) эффекта.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АА	– амилолитическая активность
АМФК	– аминометилфосфоновая кислота
АХЭ	– ацетилхолинэстераза
Г-6-ФДГ	– глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ДДВФ	– О,О-диметил-О-(2,2-дихлорвинил)фосфат
ИПА	– изопропиламин
МБ	– магнитная буря
ПДК	– предельно допустимая концентрация
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ПХБ	– полихлорированные бифенилы
ТАОХ	– триамилоловохлорид
ТЭОХ	– триэтилоловохлорид
$E_{act}$	– энергия активации
$EC_{50}$	– концентрация вещества, вызывающая эффект, равный половине максимального возможного для данного вещества после истечения некоторого промежутка времени
EPSPS	– 5-енолпирувил-шикимат-3-фосфат-синтетаза
GST	– глутатион-S-трансфераза
GSH	– глутатион
GPx	– глутатионпероксидаза
$IC_{50}$	– концентрация действующего вещества, при которой за определенное время наблюдается ингибирование процесса у 50% исследуемых объектов
$K_m$	– константа Михаэлиса
$LC_{50}$	– доза (концентрация) токсического соединения, вызывающая гибель 50% подопытных организмов
MNNG	N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина
POEA	– полиоксиэтиленамин
ROS	– количество активных форм кислорода
SOD	– супероксиддисмутаза
$t_{opt}$	– температурный оптимум
$V_{max}$	– максимальная скорость реакции

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алабастер, Д. Критерии качества воды для пресноводных рыб / Д. Алабастер, Р. Ллойд – М. : Легкая и пищ. пром-сть, 1984. –344 с.
2. Атлас пресноводных рыб России: в 2 т. / Под ред. Ю.С. Решетникова. – Москва : Наука, 2002. – Т. 1. –379 с. – Т. 2. –253 с.
3. Барбухо, О.В. Екотоксикологічна оцінка впливу гліфосату (препарат "Раундап") на риб та їхні мікробоценози: автореф. дис. ... канд. біол. наук / Олена Владимировна Барбухо – Київ : Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, 2014. – 24 с.
4. Бочкарев, Д.В. Эффективность различных гербицидов в борьбе с борщевиком Сосновского / Д.В. Бочкарев, А.Н. Никольский // Матер. Республ. научно-практ. конф. "Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения сельскохозяйственной продукции", посвящ. памяти д. с. х. н., проф. С. А. Лапшина. – Саранск, 2007. – С. 274–276.
5. Брежнев, В.И. Механизированный способ борьбы с сорной растительностью на открытых мелиоративных каналах гербицидом Раундап: автореф. дис. канд. тех. наук / Виктор Иванович Брежнев – Новочеркасск: 2004. – 24 с.
6. Бузинова, Н.С. Действие триэтилловохлорида на пищеварительную систему карпов / Н.С. Бузинова // Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. – М.: Изд-во Москов. гос. ун-та, 1975. – С. 209–215.
7. Бузинова, Н.С. Паталогические изменения активности пищеварительных ферментов рыб / Н.С. Бузинова // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. – М.: Наука, 1983. – С. 131–137.
8. Бурлакова, Е.Б. Воздействие химических агентов в сверхмалых дозах на биологические объекты / Е.Б. Бурлакова, А.А. Кондратов, И.В. Худяков // Известия АН СССР. Серия биологическая. – 1990. – № 2. – С. 184–192.
9. Волкова, И.В. Активность некоторых пищеварительных ферментов у растительноядных рыб на ранних этапах постэмбрионального развития / И.В. Волкова, А.М. Неваленный // Онтогенез. – 1996. – Т. 27. – № 6. – С. 474–477.
10. Волкова, И.В. Активность пищеварительных ферментов растительноядных рыб на разных этапах онтогенеза : автореф. дис. ... канд.биол.наук / Ирина Владимировна Волкова. – Астрахань, 1999. – 24 с.

11. Высоцкая, Р.У. Лизосомальные ферменты у рыб и влияние на них природных, антропогенных и патогенных факторов : автореф. дисс. ... докт. биол. наук. / Римма Ульяновна Высоцкая. – Петрозаводск, 1999. – 42 с.
12. Высоцкая, Р.У. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб / Р.У. Высоцкая, Н.Н. Немова. – М: Наука, 2008. – 284 с.
13. Ганжа, Е.В. Аквакультура и трансгенные технологии: области применения и проблемы безопасности (обзор) / Е.В. Ганжа, М.А. Банникова, Л.М. Федорова, Е.В. Микодина // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 4. – С. 16–29.
14. Герман, А.В. Аккумуляция полихлорированных бифенилов в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища / А.В. Герман, В.В. Законнов // Водные ресурсы. – 2003. – Т. 30. – № 5. – С. 571–575.
15. Голованов, В.К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб / В.К. Голованов. – Москва: Полиграф-Плюс, 2013. – 300 с.
16. Голованова, И.Л. Влияние абиотических факторов (температура, рН, тяжелые металлы) на активность гликозидаз у беспозвоночных животных / И.Л. Голованова // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. – 2011. – Т. 47. – № 1. – С. 15–19.
17. Голованова, И.Л. Влияние абиотических факторов (температура, рН, тяжелые металлы) на активность карбогидраз объектов питания ихтиофагов / И.Л. Голованова, В.К. Голованов // Вопросы ихтиологии. – 2011. – № 5. – С. 657–664.
18. Голованова, И.Л. Влияние биогенных металлов (Cu, Zn) на активность карбогидраз молоди рыб / И.Л. Голованова // Биология внутренних вод. – 2010. – № 1. – С. 98–103.
19. Голованова, И.Л. Влияние гербицида Раундап на активность карбогидраз рачкового зоопланктона и молоди плотвы / И.Л. Голованова, Г.А. Папченкова // Токсикологический Вестник. – 2009. – № 4. – С. 32–35.
20. Голованова, И.Л. Влияние меди, цинка и кадмия на активность карбогидраз водных беспозвоночных / И.Л. Голованова, Т.В. Фролова // Биология внутренних вод. – 2005. – № 4. – С. 77–83.
21. Голованова, И.Л. Влияние низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития на пищеварительные карбогидразы сеголетков

плотвы *Rutilus rutilus* / И.Л. Голованова, М.Г. Таликина // Вопросы ихтиологии. – 2006. – Т. 46. – № 3. – С. 412–416.

22. Голованова, И.Л. Влияние повышения температуры в осенне-зимний период на активность карбогидраз молоди карповых рыб (сем. Cyprinidae) / И.Л. Голованова, А.Н. Смирнов, В.К. Голованов // Биология внутренних вод. – 2005. – № 2. – С. 87–90.

23. Голованова, И.Л. Влияние повышенного содержания ртути в корме на активность карбогидраз и протеиназ у различных гидробионтов / И.Л. Голованова, В.Т. Комов, В.В. Кузьмина // Биология внутренних вод. – 2002. – № 1. – С. 85–89.

24. Голованова, И.Л. Влияние полихлорированных бифенилов на активность протеиназ и карбогидраз в кишечнике молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.) / И.Л. Голованова, В.В. Кузьмина, Г.М. Чуйко, Н.В. Ушакова, А.А. Филиппов // Биология внутр. вод. – 2011. – № 2. – С. 97–103.

25. Голованова, И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у пресноводных костистых рыб и объектов их питания : автореф. дис. ... докт. биол. наук. / Голованова Ирина Леонидовна. – СПб., 2006. – 46 с.

26. Голованова, И.Л. Влияние ртути на гидролиз углеводов в кишечнике речного окуня *Perca fluviatilis* / И.Л. Голованова, В.Т. Комов // Вопросы ихтиологии. – 2005. – Т. 45. – № 5. – С. 695–701.

27. Голованова, И.Л. Влияние сверхмалых концентраций N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на ранний онтогенез плотвы *Rutilus rutilus*: Активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике сеголетков / И.Л. Голованова, М.Г. Таликина, А.А. Филиппов, Ю.Г. Изюмов, Ю.В. Чеботарева // Вопросы ихтиологии. – 2008. – Т. 48. – № 2. – С. 276–283.

28. Голованова, И.Л. Влияние тяжелых металлов (Cu, Zn) на пищеварительные гликозидазы рыб-бентофагов из районов Рыбинского водохранилища с разной антропогенной нагрузкой / И.Л. Голованова, А.А. Филиппов, Г.М. Чуйко // Биология внутренних вод. – 2014. – № 3. – С. 92–100.

29. Голованова, И.Л. Влияние флуктуаций магнитного поля, имитирующих магнитную бурю, на активность пищеварительных гликозидаз у сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* / И.Л. Голованова, А.А. Филиппов, Ю.В. Чеботарева, Ю.Г. Изюмов, В.В. Крылов // Вопросы ихтиологии. – 2015. – Т. 55. – № 4. – С. 476–481.

30. Голованова, И.Л. Действие магнитного поля и меди на активность гидролитических ферментов у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* / И.Л. Голованова, А.А. Филиппов, В.В. Крылов, Ю.В. Чеботарева, Ю.Г. Изюмов // Вопросы ихтиологии. – 2013. – Т. 53. – №. 2. – С. 227–232.
31. Голованова, И.Л. Пищеварительные гликозидазы рыб в условиях повышения температуры среды (обзор) / И.Л. Голованова, В.К. Голованов // Физиология и биохимия водных животных [отв. ред. Г.М. Чуйко]. – Ярославль: Канцлер, 2015. – С. 50–59.
32. Голованова, И.Л. Раздельное и сочетанное влияние температуры, рН и тяжелых металлов (Cu, Zn) на активность карбогидраз кишечника рыб / И.Л. Голованова // Токсикологический Вестник. – 2011. – № 1. – С. 32–35.
33. Голованова, И.Л. Характеристика гликозидаз кишечника лещей *Abramis brama* (L.) из участков Рыбинского водохранилища с различной антропогенной нагрузкой / И.Л. Голованова, А. А. Филиппов // Труды Кар НЦ РАН, серия Экспериментальная биология. – 2012. – № 2. – С. 63–69.
34. Голованова, И.Л. Чувствительность карбогидраз плотвы различных экологических групп к действию меди и цинка *in vitro* / И.Л. Голованова, А.А. Филиппов, И.А. Столбунов // Токсикологический вестник. – 2009. – № 6. – С. 17–20.
35. Гредин В.Г. Сравнительная характеристика каталитических и регуляторных свойств различных ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у млекопитающих (крыс) и рыб (карпы) при экспериментальной патологии : автореф. дисс. ... канд. биол. наук / Владимир Гаврилович Гредин. – Ленинград, 1977. – 27 с.
36. Догель, В.А. Зоология беспозвоночных / В.А. Догель. – Москва : Высшая школа, 1975. – 560 с.
37. Жиденко, А.А. Влияние гербицидов на структурный метаболизм карпа (*Cyprinus carpio* L.) разного возраста / А.А. Жиденко // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2007. – Вып. 6. – № 788. – С. 86–92.
38. Жиденко, А.А. Влияние гербицидов различной химической структуры на углеводный обмен в организме карпа / А.А. Жиденко, Е.В. Бибчук, О.Б. Мехед, В.В. Кривопиша // Гидробиологический журнал. – 2009. – Т. 45. – № 5. – С. 70–80.

39. Жиденко, А.А. Влияние Раундапа на динамику гистологических показателей в органах карпа / А.А. Жиденко, Е.М. Коваленко // Гидробиологический журнал. – 2006. – Т. 42. – № 6. – С. 104–111.
40. Жиденко, А.А. Динамика гематологических показателей молоди карпа под действием гербицидов / А.А. Жиденко // Гидробиологический журнал. – 2008а. – Т. 44. – № 3. – С. 80–88.
41. Жиденко, А.А. Морфофизиологические адаптации разновозрастных групп *Suypnus carpio* L. при неблагоприятных воздействиях экологических факторов : автореф. дис. ... докт. биол. наук. / Жиденко Алла Александровна. – Одесса., 2009. – 41 с.
42. Жиденко, А.А. Особенности пластического обмена карпа разного возраста под действием гербицидов / А.А. Жиденко // Вестник Днепропетровского Университета – 2008b. – Вып. 16. – Т. 1. – С. 84–92.
43. Жиденко, А.А. Реакция карповых рыб на действие глифосата / А.А. Жиденко, Т.В. Мищенко, В.В. Кривопиша // Научные записка Тернопольского национального педагогического университета. Сер. Биол. – 2015. Т. 64. № 3–4. С. 227–230.
44. Заботкина, Е.А. Влияние кратковременного нагрева и пестицида Раундап на гематологические показатели головешки-ротана / Е.А. Заботкина, В.К. Голованов, И.Л. Голованова // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: Материалы IV Международной конференции Борок, 24–27 сентября 2015 г., – Ярославль: Филигрань, 2015. – С. 304–311.
45. Заботкина, Е.А. Изменение ультраструктуры иммунокомпетентных клеток в почках, селезенке и печени головешки-ротана *Perccottus glenii* под влиянием пестицида Раундап / Е.А. Заботкина, В.К. Голованов, И.Л. Голованова // Труды ВНИРО: Промысловые виды и их биология. – 2016. – Т. 162. – С. 73–81.
46. Золотарева, Г.В. Влияние среды обитания на активность и рН-зависимость пищеварительных гидролаз у рыб, их потенциальных объектов питания и микробиоты: автореф. дис. ... канд.биол.наук / Галина Викторовна Золотарева. – Астрахань, 2015. – 24 с.
47. Ильина, И.Д. Развитие пищеварительной функции у рыб / И.Д. Ильина, В.И. Турецкий // Вопросы ихтиологии. – 1987. – Т. 27. – № 5. – С. 835–843.

48. Ильина, И.Д. Физиолого-биохимические аспекты белкового питания личинок карпа : автореф. дисс. ... канд. биол. наук. / Ирина Дмитриевна Ильина. – М., 1986. – 23 с.
49. Козловская В.И. Полихлорированные бифенилы / В.И. Козловская, А.В. Герман, О.И. Козловская // Экологические проблемы Верхней Волги. – Ярославль: ЯГТУ, 2001. – С. 243–248.
50. Козловская, В.И. Полихлорированные бифенилы и полициклические ароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища / В.И. Козловская, А.В. Герман // Водные ресурсы. – 1997. – Т. 24. – № 5. – С. 563–569.
51. Комов, В.Т. Природное и антропогенное закисление малых озер северо-запада России: причины, последствия, прогноз : автореф. дисс. ... док. биол. наук / Виктор Трофимович Комов. – С-Пб.: Институт озераведения РАН, 1999. – 45 с.
52. Коновалов, Ю.Д. Свойства, локализация, роль и возможные пути регуляции активности протеиназ и аминотрансфераз в раннем онтогенезе рыб / Ю.Д. Коновалов // Успехи современной биологии – 1986. – Т. 101. – Вып. 3. – С. 359–373.
53. Коросов, А.В. Компьютерная обработка биологических данных : метод. пособие. / А.В. Коросов, В.В. Горбач. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2010. – 84 с.
54. Коростелев, С.Г. Влияние температуры на морфо-функциональные характеристики кишечника карповых рыб : автореф. дисс.... канд. биол. наук. / Сергей Георгиевич Коростелев. – Москва, 1992. – 24 с.
55. Коростелев, С.Г. Влияние температуры на пищеварительно-транспортную функцию кишечника карповых рыб / С.Г. Коростелев, А.Н. Неваленный // Вопросы ихтиологии. – 2005. – Т. 45. – № 2. – С. 225–235.
56. Кузьмина, В.В. Активность  $\alpha$ -амилазы в пищеварительном тракте и крови леща / В.В. Кузьмина // Биология внутренних вод: Информационный бюллетень – Л.: Наука, 1983. – № 59. – С. 58–60.
57. Кузьмина, В.В. Активность пищеварительных гликозидаз карпа *Cyprinus carpio* при разном содержании ртути в корме / В.В. Кузьмина, В.Т. Комов, В.А. Гремячих, П.В. Русанова // Вопросы ихтиологии – 2013. – Т. 53. – № 3. – С. 358–366.
58. Кузьмина, В.В. Активность пищеварительных ферментов синца в раннем онтогенезе / В.В. Кузьмина, А.П. Стрельникова // Биология внутренних вод. Информационный бюллетень. – Л. 1985а. – № 67. – С. 47–50.

59. Кузьмина, В.В. Активность пищеварительных ферментов у плотвы в раннем онтогенезе / В.В. Кузьмина, А.П. Стрельникова // Биология внутренних вод. Информационный бюллетень. – Л., 1985б. – № 65. – С. 34–38.
60. Кузьмина, В.В. Вклад индуцированного аутолиза в процессы пищеварения вторичных консументов на примере гидробионтов / В.В. Кузьмина // Доклады РАН. – 2000. – Т. 339. – № 1. – С. 172–174.
61. Кузьмина, В.В. Влияние рН на амилолитическую активность слизистой кишечника у некоторых видов пресноводных костистых рыб / Кузьмина В.В., Голованова И.Л. // Вопросы ихтиологии. – 1980. – Т. 20. – В. 3 (122). – С. 566-571.
62. Кузьмина, В.В. Влияние концентрации водородных ионов на активность карбогидраз пищеварительного тракта рыб / В.В. Кузьмина, А.Н. Неваленный // Вопросы ихтиологии. – 1983. – Т. 23. – Вып. 1. – С. 481–490.
63. Кузьмина, В.В. Влияние магнитной бури на активность протеиназ и гликозидаз слизистой оболочки кишечника рыб / В.В. Кузьмина, Н.В. Ушакова, В.В. Крылов, Д.В. Петров // Известия РАН. Серия биологическая. – 2014. – № 2. – С. 161–167.
64. Кузьмина, В.В. Влияние цинка и меди на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника леща, подвергнутого разной антропогенной нагрузке / В.В. Кузьмина, Н.Н. Ушакова, О.П. Лупилов, В.А. Шептицкий // Токсикологический вестник. – 2010. – № 4. – С. 55–57.
65. Кузьмина, В.В. Возрастная изменчивость активности карбогидраз кишечника рыб / В.В. Кузьмина, И.Л. Голованова // Биология внутренних вод: Информационный бюллетень. – Л.: Наука, 1984. – № 64. – С. 50–54.
66. Кузьмина, В.В. Доступность пищи как фактор, определяющий тип питания и статус ферментных систем кишечника рыб / В.В. Кузьмина, И.Л. Голованова // Трофические связи в водных сообществах и экосистемах. Тезисы Международной конференции. – Борок, 2003. – С. 69–70.
67. Кузьмина, В.В. Индуцированный аутолиз: роль в процессах пищеварения рыб / В.В. Кузьмина, В.А. Цветкова // Биология внутренних вод. – 2001. – № 3. – С. 3-10.
68. Кузьмина, В.В. Молекулярно-массовые характеристики белковых компонентов некоторых кормовых объектов рыб / В.В. Кузьмина, В.К. Латов, Е.А.

Посконова // Биология внутренних вод. Информационный бюллетень. – Л.: Наука, 1990. – № 88. – С. 73–77.

69. Кузьмина, В.В. Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивные перестройки : автореф. дисс. докт. биол. наук / Виктория Вадимовна Кузьмина. – Ленинград, 1986. – 39 с.

70. Кузьмина, В.В. Особенности процессов пищеварения у окуня *Perca fluviatilis* из кислых озер Дарвинского заповедника (Вологодская обл.) / В.В. Кузьмина, И.Л. Голованова, В.Т. Комов // Вопросы ихтиологии. – 1998. – Т. 38. – № 3. – С. 365–370.

71. Кузьмина, В.В. Особенности становления пищеварительной функции рыб / В.В. Кузьмина, А.Г. Гельман // Вопросы ихтиологии. – 1998. – Т. 38. – № 1. – С. 113–122.

72. Кузьмина, В.В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации / В.В. Кузьмина. – Москва: Полиграф-Плюс. – 2015. – 260 с.

73. Кузьмина, В.В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб / В.В. Кузьмина. – М: Наука, 2005. – 300 с.

74. Лапирова, Т.Б. Сравнительный анализ показателей иммунофизиологического состояния леща *Abramis brama* (L.) из различных по степени загрязнения участков Рыбинского водохранилища / Т.Б. Лапирова, Е.А. Заботкина // Биология внутренних вод. – 2010. – № 2. – С. 148–155.

75. Левченко, О.Е. Влияние температуры инкубации на уровень активности пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника русского осетра / О.Е. Левченко // Эколого-биологические проблемы бассейна Каспийского моря: Материалы 6 Международной научной конференции. Астрахань, 15–16 октября 2003. – Астрахань, 2003. – С. 112–113.

76. Литвинов, А.С. Особенности термического режима / А.С. Литвинов, В.Ф. Рощупко // Экологические проблемы Верхней Волги. Гл. 1. Гидрологический и гидрохимический режим водохранилищ Верхней Волги. – Ярославль: ЯГТУ, 2001. – С. 18–21.

77. Мельничук, С.Д. Воздействие гербицида Факел на жизнедеятельность *Ceriodaphnia affinis* в острых и хронических опытах / С.Д. Мельничук, Э.П. Щербань, В.И. Лоханская // Водная токсикология. – 2007а. – Т. 43. – № 4. – С. 88–98.

78. Мельничук, С.Д. Оценка токсичности гербицидов на основе глифосата методом биотестирования на ветвистоусых рачках / С.Д. Мельничук, Э.П. Щербань, В.И. Лоханская // Гидробиологический журнал. – 2007б. – Т. 43. – № 1. – С 84–96.
79. Моисеенко, Т.И. Закисление вод. Факторы, механизмы, экологические последствия / Т.И. Моисеенко. – М.: Наука, 2003. – 276 с.
80. Монаков, А.В. Питание пресноводных беспозвоночных / А.В. Монаков. – М., 1998. – 320 с.
81. Неваленный, А.Н. Влияние ионов кадмия в среде на уровень активности ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у карпа / А.Н. Неваленный, Д. А. Бедняков // Экология. – 2004. – № 2. – С. 152–155.
82. Неваленный, А.Н. Воздействие некоторых микроэлементов на уровень активности щелочной фосфатазы и  $\alpha$ -амилазы слизистой кишечника тарани / А.Н. Неваленный, Д.А. Бедняков // Вопросы рыбоводства. – 2000. – Т. 1. – № 2–3. – С. 67–68.
83. Неваленый, А.Н. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб / А.Н. Неваленый, А.В. Туктаров, Д.А. Бедняков. – Астрахань: АГТУ, 2003. – 152 с.
84. Немова, Н.Н. Биохимическая индикация состояния рыб / Н.Н. Немова, Р.У. Высоцкая. – М.: Наука, 2004. – 215 с.
85. Озернюк, Н.Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов / Н.Д. Озернюк. – М.: МГУ, 2003. – 215 с.
86. Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР / Под. ред. Л.А. Кутикова, Я.И. Старобогатова. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 510 с.
87. Остроумова, И.Н. Биологические основы кормления рыб / И.Н. Остроумова. – СПб.: Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного хозяйства, 2001. – 372 с.
88. Остроумова, И.Н. Биологические основы кормления рыб / И.Н. Остроумова. Изд-е 2. – СПб.: ГосНИОРХ, 2012. – 564 с
89. Остроумова, И.Н. О начале функционирования поджелудочной железы в пищеварительном процессе личинок карпа *Cyprinus carpio* L / И.Н. Остроумова, М.А. Дементьева // Вопросы ихтиологии. – 1981. – Т. 17. – № 3. – С. 302–305.
90. Папченкова, Г.А. Влияние сублетальных концентраций гербицида Раундап на размеры, плодовитость и морфологические параметры *Daphnia magna* (Cladocera) /

Г.А. Папченкова, Л.П. Гребенюк // Токсикологический вестник. – 2008. – № 4. – С. 27–30.

91. Папченкова, Г.А. Исследование деградации гербицида "Раундап" в острых опытах с *Daphnia magna* / Г.А. Папченкова // Токсикологический вестник. – 2006. – № 4. – С. 20–23.

92. Папченкова, Г.А. Исследование хронической токсичности гербицида «Раундап» в ряду поколений *Daphnia magna* / Г.А. Папченкова // Токсикологический вестник. – 2007. – № 5. – С. 14–17.

93. Папченкова, Г.А. Репродуктивные показатели, размеры и активность гидролаз у *Daphnia magna* в ряду поколений при действии гербицида «Раундап» / Г.А. Папченкова, И.Л. Голованова, Н.В. Ушакова // Биология внутренних вод. – 2009. – № 3. – С. 105–110.

94. 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. – М.: ВНИРО, 1999. – 304 с.

95. Поддубный, А.Г. Экологическая топография популяций рыб в водохранилищах / А.Г. Поддубный. – Л.: Наука, 1971. – 312 с.

96. Покровский, А.А. Лизосомы / А.А. Покровский, В.А. Тутельян. – М.: Наука, 1976. – 382 с.

97. Пономарев, В.И. Характеристика процессов пищеварения у рыб европейского Севера : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Василий Иванович Пономарев – Сыктывкар, 1993. – 19 с.

98. Пономарев, С.В. Биологические основы разведения осетровых и лососевых рыб на интенсивной основе / С.В. Пономарев, Е.Н. Пономарева. – Астрахань: АГТУ, 2003. – 256 с.

99. Проссер, Л. Температура / Л. Проссер // Сравнительная физиология животных. – М.: Мир, 1977. – Т. 2. – Гл. 9. – С. 84–209.

100. Пузаткина, Е.А. К вопросу о влиянии токсических веществ на состояние газообмена и содержание каротиноидов в тканях пресноводных моллюсков / Е.А. Пузаткина // Эколого-биологические проблемы вод и биоресурсов: пути решения:

Сборник научных трудов Всероссийской конференции, посвящ. 50-летию образования Куйбышевского водохранилища. 12–14 нояб. 2007. – Ульяновск, 2007. – С. 157–160.

101. Рыбы в заповедниках России. В двух томах. Том 1. Пресноводные рыбы. (под ред. Ю.С. Решетникова). – Т. 1. – М.: Товарищество научных изданий КМК. 2010. – 627 с.

102. Свиридов, А.В. Микробная деградация гербицида глифосата (обзор) / А.В. Свиридов, Т.В. Шушкова, И.Т. Ермакова, Е.В. Иванова, Д.О. Эпиктетов, А.А. Леонтьевский // Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т. 51. – № 2. – С. 1–8.

103. Соловьев, М.М. Значения рН и активность пищеварительных ферментов в желудочно-кишечном тракте рыб озера Чаны (Западная Сибирь) / М.М. Соловьев, Е.Н. Кашинская, Г.И. Извекова, В.В. Глупов // Вопросы ихтиологии. – 2015. – Т. 55. – № 2. – С. 207–214.

104. Соловьев, М.М. Сезонные изменения значений рН в пищеварительном тракте рыб озера Чаны (Западная Сибирь) / М.М. Соловьев, Г.И. Извекова // Биология внутренних вод. – 2016. – № 3. – С. 64–68.

105. Соловьев, М.М. Физиологические значения рН в пищеварительном тракте обыкновенного окуня *Perca fluviatilis* из разных мест обитания / М.М. Соловьев, Е.Н. Кашинская, О.Т. Русинек, Г.И. Извекова // Вопросы ихтиологии. – 2016. – Т. 56. – № 2. – С. 231–237.

106. Сорвачев К.Ф. Основы биохимии питания рыб (эколого-биохимические аспекты) / К.Ф. Сорвачев. – М.: Легкая и пищевая промышленность. – 1982. – 247 с.

107. Строганов, Н.С. Сезонные и возрастные изменения обеспеченности амура и толстолобика пищеварительными ферментами / Н.С. Строганов, Н.С. Бузинова // Вестник МГУ. Серия Биология. – 1970. – № 5. – С. 11–15.

108. Танабе, Ш. Биоиндикаторы стойких органических загрязнителей / Ш. Танабе, А. Субраманиан. – Новосибирск: Гео. – 2010. – 172 с.

109. Тарлева, А.Ф. Влияние гербицида Раундап на активность пептидаз химуса и слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов / А.Ф. Тарлева, В.А. Шептицкий, В.В. Кузьмина // Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного

Причерноморья. Материалы V Международной научно-практической конференции 14 ноября 2014 года. – Тирасполь, 2014. – С. 254–255.

110. Тимейко, В.Н. Исследование пищеварительных ферментов у бестера *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* в постэмбриональный период / В.Н. Тимейко, Л.Г. Бондаренко // Вопросы ихтиологии. – 1986. – Т. 28. – № 1. – С. 117–123.

111. Уголев, А.М. Мембранное пищеварение: Полисубстратные процессы, организация и регуляция / А.М. Уголев. – Л.: Наука, 1972. – 358 с.

112. Уголев, А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций: Элементы современного функционализма / А.М. Уголев. – Л.: Наука, 1985. – 544 с.

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

114. Уголев, А.М. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб / А.М. Уголев, В.В. Кузьмина. – Спб.: Гидрометеиздат, 1993. – 238 с.

115. Филенко, О.Ф. Динамика эффекта загрязняющих веществ в экотоксикологии / О.Ф. Филенко // Токсикологический вестник. – 2001. – № 2. – С. 2–6.

116. Филиппов, А.А. Влияние ПХБ, поступающих с пищей, на активность гликозидаз у молоди леща *Abramis brama* (L.) / А.А. Филиппов, А.А. Морозов, В.В. Юрченко // Материалы XV Школы-конференции молодых учёных «Биология внутренних вод» (Борок, 2013). – С. 404–406.

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

118. Флеров, Б.А. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища / Б.А. Флеров, И.И. Томилина, Л. Кливленд, А.И. Баканов, М.В. Гапеева // Биология внутренних вод. – 2000. – № 2. – С. 148–155.

119. Хочачка, П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1988. – 567 с.

120. Чертопруд, М.В. Краткий определитель пресноводных беспозвоночных центра Европейской России / М.В. Чертопруд, Е.С. Чертопруд // – 2003. – М.: МАКС Пресс. – 196 с.
121. Чуйко, Г.М. Пространственное распределение и качественный состав полихлорированных бифенилов (ПХБ) и хлорорганических пестицидов (ХОП) в донных отложениях и леще (*Abramis brama* L.) из Рыбинского водохранилища / Г.М. Чуйко, В.В. Законнов, А.А. Морозов, Е.С. Бродский, А.А. Шелепчиков, Д.Б. Фешин // Биология внутренних вод. – 2010. – № 2. – С. 98–108.
122. Чуйко, Г.М. Распределение полихлорированных бифенилов в экосистеме Рыбинского водохранилища при их локальном поступлении / Г.М. Чуйко, В.В. Законнов, А.В. Герман и др. // Современное состояние водных биоресурсов. Материалы научной конференции. – Владивосток: ТИНРО-центр, 2008. – С. 680–685.
123. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда / К. Шмидт-Ниельсен. – М.: Мир, 1982. – Т. 1. – 416 с.
124. Экотоксикологические исследования прибрежной черноморской ихтиофауны в районе Севастополя / Ред. И.И. Руднева. – М.: ГЕОС, 2016. – 360 с.
125. Acquavella, J.F. Biomonitoring for farmers and their families: results from the farm family exposure study / J.F. Acquavella, B.H. Alexanders, J.S. Mandel, C. Gustin, B. Baker, P. Chapman, M. Bleeke // Environmental Health Perspectives. – 2004. – V. 112. – № 3. – P. 321–326.
126. Akcha, F. Genotoxicity of diuron and glyphosate in oyster spermatozoa and embryos / F. Akcha, C. Spagnol, J. Rouxel // Aquatic Toxicology. – 2012. – V. 106–107. – P. 104–113.
127. Aparicio, V.C. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins / V.C. Aparicio, E. De Geronimo, D. Marino, J. Primost, P. Carriquiriborde, J.L. Costa // Chemosphere. – 2013. – V. 93. – P. 1866–1873.
128. Ashoka Deepananda, K.H.M. Acute toxicity of glyphosate herbicide Roundup to two freshwater crustaceans / K.H.M. Ashoka Deepananda, D. Gajamange, W.A.J.P. De Silva, H.C.E. Wegiriya // Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka. – 2011. – V. 39. – № 2. – P. 169–173.

129. Ayanda, O.I. Histopathological examination of the liver and gills of *Clarias gariepinus* treated with glyphosate / O.I. Ayanda, E.A. Egbamuno // Environmental Research Journal. – 2012. – V. 6. – № 3. – P. 228–234.
130. Ayoola, S.O. Histopathological effects of glyphosate on juvenile african catfish (*Clarias gariepinus*) / S.O. Ayoola // American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science. – 2008. – V. 4. – № 3. – P. 362–367.
131. Battaglin, W.A. Glyphosate, other herbicides, and transformation products in Midwestern streams / W.A. Battaglin, D.W. Kolpin, E.A. Scribner, K.M. Kuivila, M.W. Sandstrom // Journal of the American Water Resources Association. – 2005. – V. 41. – № 2. – P. 323–332.
132. Battaglin, W.A. The occurrence of glyphosate, atrazine, and other pesticides in vernal pools and adjacent streams in Washington, DC, Maryland, Iowa, and Wyoming, 2005-2006 / W.A. Battaglin, K.C. Rice, M.J. Focazio, S. Salmons, R.X. Barry // Environment Monitoring Assessment. – 2009. – V. 155. – P. 281–307.
133. Becker, C.D. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish / C.D. Becker, R.G. Genoway // Environmental Biology of Fishes. – 1979. – Vol. 4. – № 3. – P. 245–256.
134. Benachour, N. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells university of caen / N. Benachour, G.E. Seralini // Chemical Research in Toxicology. – 2009. – V. 22. – № 1. – P. 97–105.
135. Benbrook, C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally / C.M. Benbrook // Environmental Sciences Europe. – 2016. – V. 28. – №3. – P. 1–15.
136. Bonifacio, A.F. Alterations in general condition, biochemical parameters and locomotor activity in *Cnesterodon decemmaculatus* exposed to commercial formulations of chlorpyrifos, glyphosate and their mixtures / A.F. Bonifacio, J. Cazenave, C. Bacchetta, M.L. Ballesteros, M.A. Bistoni, M.V. Ame, L. Bertrand, A.C. Hued // Ecological indicators. – 2016. – V. 67. – P. 88–97
137. Bosch, B. Micronucleus test in post metamorphic *Odontophrynus cordobae* and *Rhinella arenarum* (Amphibia: Anura) for environmental monitoring / B. Bosch, F. Manas, N. Gorla, D. Aiassa // Journal of Toxicology and Environmental Health Science. – 2011. – V. 3. – № 6. – P. 155–163.

138. Bradberry, S.M. Glyphosate poisoning / S.M. Bradberry, A.T. Proudfoot, J. Allister Vale // *Toxicological Review*. – 2004 – V. 23. – № 3. – P. 159–167.
139. Cahu, C.L. Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: Effect on digestive enzymes / C.L. Cahu, J.L.Z. Zambonino Infante, A. Peres, P. Quazuguel, M.M. Le Gall // *Aquaculture*. – 1998. – V. 161. – № 1-4. – P. 479–489.
140. Carlisle, S.M. Glyphosate in the environment / S.M. Carlisle, J.T. Trevors // *Water, Air and Soil Pollution*. – 1988. – V. 39. – № 3–4. – P. 409–420.
141. Cattaneo, R. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate / R. Cattaneo, B. Clasen, V.L. Loro, C.C. de Menezes, A. Preto, B. Baldisserotto, A. Santi, L.A. de Avila // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2011. – V. 87. – № 6. – P. 597–602.
142. Cavalcante, D.G.S.M. Genotoxic effects of Roundup on the fish *Prochilodus lineatus* / D.G.S.M. Cavalcante, C.B.R. Martinez, S.H. Sofia // *Mutation research*. – 2008. – V. 655. – P. 41–46.
143. Cavalli, V.L.L.O. Roundup disrupts male reproductive function by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells / V.L.L.O. Cavalli, D. Cattani, C.E.H. Rieg, P. Pierozan, L. Zanatta, E.B. Parisotto, D.W. Filho, F.R.M.B. Silva, R. Pessoa-Pureur, A. Zamoner // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2013. – V. 65. – P. 335–346.
144. Chakrabarty, I. Digestive enzymes in 11 freshwater fish species in relation to food habit and niche segregation / I. Chakrabarty, M.A. Ganu, K.K. Chaki, R. Sur, K.K. Misra // *Comparative Biochemistry and Physiology. Pt. A*. – 1995. – V. 112. – № 2. – P. 167–177.
145. Chuiko, G.M. Chemical contamination of the Rybinsk Reservoir, Northwest Russia: relationship between liver polychlorinated biphenyls (PCB) content and health indicators in bream (*Abramis brama*) / G.M. Chuiko, D.E. Tillitt, J.L. Zajicek et al. // *Chemosphere*. – 2007. – V. 67. – № 3. – P. 527–536.
146. Clair, E. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro and testosterone decrease at lower levels / E. Clair, R. Mesnage, C. Travert, G.E. Seralini // *Toxicology in vitro*. – 2012. – V. 26. – P. 269–279.
147. Coll, M.L. Efectos del herbicida glifosato sobre la sobrevivencia y el crecimiento de *Daphnia spinulata*: *Cient. 2 Reun. Agent. Limnol.*, 1991. / M.L. Coll, J.L. Alberdi, M.C. Tortorelli // *Biología Acuática*. – 1991. – № 15. – Part 2. – P. 148–149.

148. Contardo-Jara, V. Bioaccumulation of glyphosate and its formulation Roundup Ultra in *Lumbriculus variegatus* and its effects on biotransformation and antioxidant enzymes / V. Contardo-Jara, E. Klingelmann, C. Wiegand // *Environmental Pollution*. – 2009. – V. 157. – P. 57–63.
149. Costa, R.N. Measuring the impacts of Roundup Original on fluctuating asymmetry and mortality in a Neotropical tadpole / R.N. Costa, F. Nomura // *Hydrobiologia*. – 2016. – V. 765. – I. 1. – P. 85-96.
150. Cox, C. Glyphosate / C. Cox // *Journal of pesticide reform*. Autumn. – 1998. – V. 18. – № 3. – P. 3–16.
151. Cox, C. Glyphosate / C. Cox // *Journal of pesticide reform*. Winter. – 2004. – V. 24. – № 4. – P. 10–15.
152. Cuhra, M. Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna* / M. Cuhra, T. Traavik, T. Bohn // *Ecotoxicology*. – 2013. – V. 22. – № 2. – P. 251–262.
153. Cuhra, M. Glyphosate nontoxicity: the genesis of a scientific fact / M. Cuhra // *The Journal of Biological Physics and Chemistry*. – 2015. – V. 15. – № 3. – P. 89–96.
154. Cuhra, M. Glyphosate: Too Much of a Good Thing? / M. Cuhra, T. Bohn, P. Cuhra // *Frontiers in Environmental Science*. – 2016. – V. 4. – № 28. – P. 1–14.
155. Cuvier-Peres, A. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* / A. Cuvier-Peres, P. Kestemont // *Fish Physiology and Biochemistry*. – 2001. – V. 24. – № 4. – P. 279–285.
156. Da Cruz, C. Sensitivity, ecotoxicity and histopathological effects on neotropical fish exposed to glyphosate alone and associated to surfactant / C. Da Cruz, S.P. Carraschi, N.S. Shiogiri, A.F. Da Silva, R.A. Pitelli, M.R.F. Machado // *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. – 2016. – V. 8. – № 3. – P. 25–33.
157. Dallegrave, E. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate Roundup in Wistar rats / E. Dallegrave, F.M. DiGiorgio, R.S. Coelho, J.D. Pereira, P.R. Dalsenter, A. Langeloh // *Toxicology Letters*. – 2003. – V. 142. – P. 45–52.
158. De Menezes, C.C. Roundup effects on oxidative stress parameters and recovery pattern of *Rhamdia quelen* / C.C. de Menezes, M.B. da Fonseca, V.L. Loro, A. Santi, R.

Cattaneo, B. Clasen, A. Pretto, V.M. Morsch // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 2011. – V. 60. – P. 665–671.

159. Deguara, S. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream / S. Deguara, K. Jaucey, C. Agius // Journal of Fish Biology. – 2003. – V. 62. – № 5. – P. 1033–1043.

160. Dimetrio, P.M. Effects of pesticide formulations and active ingredients on the Coelenterate *Hydra attenuata* (Pallas, 1766) / P.M. Dimetrio, G.D. Bulus Rossini, C.A. Bonetto, A.E. Ronco // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2011. – V. 88. – № 1. – P. 597–602.

161. Dinehart, S.K. Acute and chronic toxicity of Roundup weathermax and Ignite 280 SL to larval *Spea multiplicata* and *S.bombifons* from the Southern High plains, USA / S.K. Dinehart, L.M. Smith, S.T. McMurry, P.N. Smith, T.A. Anderson, D.A. Haukoc // Environmental Pollution. – 2010. – V. 158. – P. 2610–2617.

162. Dos Santos, A.P.R. A glyphosate-based herbicide induces histomorphological and protein expression changes in the liver of the female guppi *Poecilia reticulata* / A.P.R. Dos Santos, T.L. Rocha, C.L. Borges, A.M. Bailao, C.M.A. Soares, S.M.T. Saboia-Morais // Chemosphere. – 2017. – V. 168. – P. 933–943.

163. Dos Santos, K.C. Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup alone and its combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea* / K.C. Dos Santos, C.B.R. Martinez // Ecotoxicology and Environment Safety. – 2014. – V. 100. – P. 7–14.

164. Dutra, B.K. Effect of roundup (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive traits of *Hyaella castroi* (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae) / B.K. Dutra, F.A. Fernandes, D.M. Failace, G.T. Oliveira // Ecotoxicology. – 2011. – V. 20. – P. 255–263.

165. Eberbach, P. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(Phosphonomethyl)glycine) in four soils / P. Eberbach // Pesticide Science. – 1998. – V. 52. – P. 229–240.

166. Edwards, W.M. A watershed study of glyphosate transport runoff / W.M. Edwards, G.B. Triplett Jr., R.M. Kramer // Journal of Environment Quality. – 1980. – V. 9. – № 4. – P. 661–665.

167. Elandalloussi, L.M. Effect of the herbicide Roundup on *Perkinsus olseni* *in vitro* proliferation and *in vivo* survival when infecting a permissive host, the clam *Ruditapes*

*decussates* / L.M. Elandalloussi, R.B. Leite, P.M. Rodrigues, R. Afonso, M.L. Cancela // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2008. – V. 80. – P. 512–515.

168. El-Gendy, K.S. Effects of edifenphos and glyphosate on the immune response and protein biosynthesis of Bolti fish (*Tilapia nilotica*) / El-Gendy K.S., Aly N.M., A.H. El-Sebae // Journal of Environmental Science and Health. – 1998. – B33. – P. 135–149.

169. El-Shebly A.A. Effects of glyphosate herbicide on serum growth hormone (GH) levels and muscle protein content in Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus* L.) / A.A. El-Shebly, M.A.H. El-Kady // Research Journal of Fisheries and Hydrobiology. – 2008. – V. 3. – № 2. – P. 84–88.

170. El-Shenawy, N.S. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate / N.S. El-Shenawy // Environment Toxicology and Pharmacology. – 2009. – V. 28. – I. 3. – P. 379–385.

171. Eriksson, M. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis / M. Eriksson, L. Hardell, M. Carlberg, M. Ekerman // International Journal of Cancer. – 2008. – V. 123. – № 7. – P. 1657–1663.

172. Fan, J.Y. Herbicide Roundup and its constituents cause oxidative stress and inhibit acetylcholinesterase in liver of *Carassius auratus* / J.Y. Fan, J.J. Geng, H.Q. Ren, X.R. Wang, C. Han // Journal of Environmental Science and Health. – 2013. – Part. B. – V. 48. – P. 844–850.

173. Filho, J.D.S. Mutagenicity and genotoxicity in gill erythrocyte cells of *Poecilia reticulata* exposed to a glyphosate formulation / J.D.S. Filho, C.C.N. Sousa, C.C. Da Silva, S.M.T. De Saboia-Morais, C.K. Grisolia // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2013a. – V. 91. – P. 583–587.

174. Filho, J.D.S. Toxicological effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata* / J.D.S. Filho, F.S. Pires, C.K. Grisolia, S.M.T. De Saboia-Morais // Current topics of Toxicology. – 2013b. – V. 9. – P. 81–91.

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

176. Filippov, A. A. The effect of organic toxicants on sensitivity of intestinal glycosidases to Cu and Zn in juvenile roach / A. A. Filippov, I. L. Golovanova // Inland Water Biology. – 2012. V. 5. – № 1. – P. 140–146.

177. Filizadeh, Y. Toxicity determination of three sturgeon species exposed to glyphosate / Y. Filizadeh, H. Rajabi Islami // *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. – 2011. – V. 10. – № 3. – P. 383–392.
178. Fisher, S.W. Changes in the toxicity of three pesticides as a function of environment pH and temperature / S.W. Fisher // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1991. – V. 46. – P. 197–202.
179. Folmar, L.C. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates / L.C. Folmar, H.O. Sanders, A.M. Julin // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1979. – V. 8. – P. 269–278.
180. Forlani, G. Biochemical bases for a widespread tolerance of cyanobacteria to the phosphonate herbicide glyphosate / G. Forlani, M. Pavan, M. Gramek, P. Kafarski, J. Lipok // *Plant and cell physiology*. – 2008. – V. 49. – № 3. – P. 443–456.
181. Gale, S. A. Insights into the mechanisms of copper tolerance of a population of black-banded rainbowfish (*Melanotaenia nigrans*) (Richardson) exposed to mine leachate, using  $^{64/67}\text{Cu}$  / S. A. Gale, S. V. Smith, R. P. Lim, R. A. Jeffec, P. Petocz // *Aquatic Toxicology*. – 2003. – V. 62. – № 2. – P. 135–153.
182. Gasiner, C. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines / C. Gasiner, C. Dumont, N. Benachour, E. Clair, M.-C. Chagnon, G.-E. Seralini // *Toxicology*. – 2009. – V. 262. – P. 184–191.
183. Ghisi, N.C. Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency? A systematic and meta-analytic review / N.C. Ghisi, E.C. de Oliveira, A.J. Prioli // *Chemosphere*. – 2016. – V. 145. – P. 42–54.
184. Ghisi, N.C. Genotoxic effects of the herbicide Roundup in the fish *Corydoras paleatus* (Jenyns 1842) after short-term, environmentally low concentration exposure / N.C. Ghisi, M.M. Cestari // *Environmental Monitoring and Assessment*. – 2013. – V. 185. – P. 3201–3207.
185. Gholami-Seyedkolaei, S.J. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters / S.J. Gholami-Seyedkolaei, A. Mirvaghefi, H. Farahmand, A. Asghar Kosari // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013a. – V. 98. – P. 135–141.
186. Gholami-Seyedkolaei, S.J. Optimization of recovery patterns in common carp exposed to roundup using response surface methodology: Evaluation of neurotoxicity and

genotoxicity effects and biochemical parameters / S.J. Gholami-Seyedkolaei, A. Mirvaghefi, H. Farahmand, A. Asghar Kosari // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013b. – V. 98. – P. 152–161.

187. Giesy, J.P. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide / J.P. Giesy, S. Dobson, K.R. Solomon // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2000. – V. 167. – P. 35–120.

188. Glusczak, L. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) / L. Glusczak, D.S. Miron, B.S. Moraes, R.R. Simoes, M.R.C. Schetinger, V.M. Morsch, V.L. Loro // *Comparative biochemistry and physiology*. Pt. C. – 2007. – V. 146. – P. 519–524.

189. Glusczak, L. Acute exposure to glyphosate herbicide affects oxidative parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) / L. Glusczak, V.L. Loro, A. Pretto, B.S. Moraes, A. Raabe, M.F. Duarte, M.B. da Fonseca, C.C. de Menezes, D.M.S. Valladao // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2011. – V. 61. – P. 624–630.

190. Glusczak, L. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) / L. Glusczak, D.S. Miron, M. Crestani, M.B. da Fonseca, F.A. Pedron, M.F. Duarte, V.L.P. Vieira // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2006. – V. 65. – P. 237–241.

191. Golovanova, I.L. Delayed effect of geomagnetic storm simulation on size, mass and activity of digestive glycosidases in roach (*Rutilus rutilus* Linnaeus) underyearlings / I.L. Golovanova, A.A. Filippov, Yu.V. Chebotareva, Yu.G. Izyumov, V.V. Krylov // *Journal of Applied Ichthyology*. – 2017. – V. 33. – №. 2. – P. 291–299.

192. Golovanova, I.L. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish / I.L. Golovanova, V.K. Golovanov, A.K. Smirnov, D.D. Pavlov // *Fish Physiology and Biochemistry*. – 2013. – V. 39. – №. 6. – P. 1497–1504.

193. Golovanova, I.L. Effects of cadmium, naphthalene, and DDVP on gut carbohydrases activity in bream (*Abramis brama* L) and Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) / I.L. Golovanova, G.M. Chuiko, D.F. Pavlov // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1994. – V. 52. – P. 338–345.

194. Golovanova, I.L. In vitro effects of cadmium and DDVP (Dichlorvos) on intestinal carbohydrase and protease activities in freshwater teleost / I.L. Golovanova, V.V.

Kuz'mina, T.E. Gobzhel'ian, D.F. Pavlov, G.M. Chuiko // Comparative Biochemistry and Physiology. Pt. C. – 1999. – V. 122. – № 1. – P. 21–25.

195. Goulart, T.L.S. Cytotoxicity of the association of pesticides Roundup Transorb and Furadan 350 SCT on the zebrafish cell line, ZF-L / T.L.S. Goulart, R.T. Boyle, M.M. Souza // Toxicology in Vitro. – 2015. – V. 29. – P. 1377–1384.

196. Govoni, J.J. The physiology of digestion in fish larvae / J.J. Govoni, G.W. Boehlert, Y. Watanabe // Environmental Biology of Fishes. – 1986. – V. 16. – № 1–3. – P. 59–77.

197. Grisolia, C.K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides / C.K. Grisolia // Mutation Research. – 2002. – V. 518. – P. 145–150.

198. Guilherme, S. Differential genotoxicity of Roundup formulation and its constituents in blood cells of fish (*Anguilla anguilla*): considerations on chemical interactions and DNA damaging mechanisms / S. Guilherme, M.A. Santos, C. Barroso, I. Gaivao, M. Pacheco // Ecotoxicology. – 2012. – V. 21. – № 5. – P. 1381–1390.

199. Guilherme, S. European eel (*Anguilla anguilla*) genotoxic and pro-oxidant responses following short-term exposure to Roundup – a glyphosate-based herbicide / S. Guilherme, I. Gaivao, M.A. Santos, M. Pacheco // Mutagenesis. – 2010. – V. 25. – № 5. – P. 523–530.

200. Gupta, P.K. Effects of mercuric chloride on enzyme activities in the digestive system and chemical composition of liver and muscle of the catfish *Heteroneustes fossilis* / P.K. Gupta, K.V. Sastry // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 1981. – V. 5. – P. 389–400.

201. Harayashiki, C.A.Y. Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water / C.A.Y. Harayashiki, J.A.S. Varela, A.A.S. Machado, L.C. Cabrera, E.G. Primel, A. Bianchini, C.D. Corcini // Aquatic Toxicology. – 2013. – V. 142–143. – P. 176–184.

202. Hedberg, D. Effects of Roundup and glyphosate formulations on intracellular transport, microtubules and actin filaments in *Xenopus laevis* melanophores / D. Hedberg, M. Wallin // Toxicology in vitro. – 2010. – V. 24. – P. 795–802.

203. Hemre, G-I. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes / G-I. Hemre, T.P. Mommsen, A. Krogdahl // *Aquaculture Nutrition*. – 2002. – V. 7. P. 1–20.
204. Henry, C.J. Acute toxicity and hazard assessment of Rodeo, X-77 Spreader, and Chem-Trol to aquatic invertebrates / C.J. Henry, K.F. Higgins, K.J. Buhl // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1994. – V. 27. – P. 392–399.
205. Hildebrand, L.D. Experimental studies of rainbow trout population exposed to field application of Roundup herbicide / L.D. Hildebrand, D.S. Sullivan, T.P. Sullivan // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1982. – V. 11. – P. 93–98.
206. Hirose, S. Molecular biology of major components of chloride cells / S. Hirose, T. Kaneko, N. Naito, Y. Takei // *Comparative Biochemistry and Physiology. Pt. B*. – 2003. – V. 136. – № 1. – P. 593–620.
207. Holmstrup, M. Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review / M. Holmstrup, A.-M. Bindesbol, G.J. Oostingh, A. Duschl, V. Scheil, H.-R. Kohler, S. Loureiro, A.M.V.M. Soares, A.L.G. Ferreira, C. Kienle, A. Gerhardt, R. Laskowski, P.E. Kramarz, M. Bayley, C. Svendsen, D.J. Spurgeon // *Science of the Total Environment*. – 2010. – V. 408. – P. 3746–3762.
208. Jiraungkoorskul, W. Histopathological effects of Roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / W. Jiraungkoorskul, E. Suchart Upatham, M. Kruatrachue, S. Sahaphong, S. Vichrasi-Grams, P. Pokethitiyook // *ScienceAsia*. – 2002. – V. 28. – P. 121–127.
209. Karjalainen, A. Tissue-specific and whole-fish accumulation of polychlorinated biphenyls by juvenile Baltic salmon (*Salmo salar* L.) after oral gavage exposure / A. Karjalainen, J.-P.J. Pääkkönen, J. Karjalainen // *Boreal Environment Research*. – 2006. – V. 11. – № 6. – P. 421–430.
210. Karpouzas, D.G. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis / D.G. Karpouzas, B.K. Singh // *Advances in microbial physiology*. Elsevier Ltd. – 2006. – V. 51. – P. 119–185.
211. Katzenberger, M. Swimming with predators and pesticides: how environmental stressors affect the thermal physiology of tadpoles / M. Katzenberger, J. Hammond, H. Duarte, M. Tejado, C. Calabuig, R.A. Relyea // *PLOS ONE*. – 2014. – V. 9. – I. 5. – P. 1–11.

212. Kelly, D.W. Synergistic effects of glyphosate formulation and parasite infection on fish malformations and survival / D.W. Kelly, R. Poulin, D.M. Tompkins, C.R. Townsend // *Journal of Applied Ecology*. – 2010. – V. 47. – P. 498–504.
213. Kier, L.D. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations / L.D. Kier, D.J. Kirkland // *Critical Reviews in Toxicology*. – 2013. – V. 43. – № 4. – P. 283–315.
214. Kolkovski, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets / S. Kolkovski // *Aquaculture*. – 2001. – V. 200. – № 1-2. – P. 181–201.
215. Kreutz, L.C. Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) following short term exposure to sublethal concentration of glyphosate / L.C. Kreutz, L.J.G. Barcellos, S.F. Valle, T.O. Silva, D. Anziliero, E.D. dos Santos, M. Pivatko, R. Zanatta // *Fish and shellfish immunology*. – 2011. – V. 30. – P. 51–57.
216. Krogdahl, A. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages / A. Krogdahl, G-I. Hemre, T.P. Mommsen // *Aquaculture Nutrition*. – 2005. – V. 11. – P. 103–122.
217. Krylov, V.V. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plants and animals / V.V. Krylov, O.D. Zotov, B.I. Klain, N.V. Ushakova, N.P. Kantserova, A.V. Znobisheva, Y.G. Izyumov, V.V. Kuz'mina, A.A. Morozov, L.A. Lysenko // *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics*. – 2014. – V. 110–111. – P. 28–36.
218. Kuz'mina, V.V. Contribution of prey proteinases and carbohydrases in fish digestion / V.V. Kuz'mina, I. L. Golovanova // *Aquaculture*. – 2004. – V. 234. – № 1–4. – P. 347–360.
219. Kuz'mina, V.V. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts / V.V. Kuz'mina // *Aquaculture*. – 1996. – V. 148. – № 1. – P.25–37.
220. Kuz'mina, V.V. Influence of temperature and season on some characteristics of intestinal mucosa carbohydrates in six freshwater fishes / V.V. Kuz'mina, I.L. Golovanova, G.I. Izvekova // *Comparative Biochemistry and Physiology*. Pt. B. – 1996. – V. 113. – № 2. – P. 255–260.
221. Kuz'mina, V.V. Membrane-linked digestion / V.V. Kuz'mina, A.G. Gelman // *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. – 1997. – V. 5. – № 2. – P. 99–129.

222. Kwiatkowska, M. The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (*in vitro*) / M. Kwiatkowska, B. Huras, B. Bukowska // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2014. – V. 109. – P. 34–43.
223. Langiano, V.C. Toxicity and effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* / V.C. Langiano, C.B.R. Martinez // *Comparative Biochemistry and Physiology. Pt. C: Toxicology and Pharmacology*. – 2008. – V. 147. – I. 2. – P. 222–231.
224. Larsen, K.E. The herbicide glyphosate is a weak inhibitor of acetylcholinesterase in rats / K.E. Larsen, A.L. Lifschitz, C.E. Lanusse, G.L. Virkel // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2016. – V. 45. – P. 41–44.
225. Le Mer, C. Effects of chronic exposures to the herbicides atrazine and glyphosate to larvae of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) / C. Le Mer, R.L. Roy, J. Pellerin, C.M. Couillard, D. Maltais // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013. – V. 89. – P. 174–181.
226. Lee, H.L. Comparative effects of the formulation of glyphosate-surfactant herbicides on hemodynamics in swine / H.L. Lee, C.D. Kan, C.L. Tsai, H.R. Guo // *Clinical Toxicology*. – 2009. – V. 47. – № 7. – P. 651–658.
227. Lee, J.A.C. Adaptation of intestinal morphology in the temperature-acclimated carp *Cyprinus carpio* / J.A.C. Lee, A.R. Cossins // *Cell and Tissue*. – 1988. – V. 251. – № 2. – P. 451–456.
228. Li, Z.H. Molecular responses in digestive tract of juvenile common carp after chronic exposure to sublethal tributyltin / Z.H. Li, P. Li, Z.C. Shi // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2014. – V. 109. – P. 10–14.
229. Liess, M. Culmination of low-dose pesticide effects / M. Liess, K. Foit, A. Becker, E. Hassold, I. Dolciotti, M. Kattwinkel, S. Duquesne // *Environmental Science & Technology*. – 2013. – V. 47. – P. 8862–8868.
230. Lopes, F.M. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio* / F.M. Lopes, A.S.V. Junior, C.D. Corcini, A.C. da Silva, V.G. Guazzelli, G. Tavares, C.E. da Rosa // *Aquatic Toxicology*. – 2014. – V. 155. – P. 322–326.
231. Lopes, F.M. Glyphosate Adversely Affects *Danio rerio* Males: Acetylcholinesterase Modulation and Oxidative Stress / F.M. Lopes, S.S. Caldas, E.G. Primel, C.E. da Rosa // *Zebrafish*. – 2017. – V. 14. – № 2. – P. 97–105.

232. Loro, V.L. Glyphosate-based herbicide affects biochemical parameters in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) and *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837) / V.L. Loro, L. Gluszcak, B.S. Moraes, C.A.M. Leal, C. Menezes, C.R. Murussi, J. Leitemperger, M.R.C. Schetinger, V.M. Morsch // *Neotropical Ichthyology*. – 2015. – V. 13. – № 1. – P. 229–236.
233. Lushchak, O.V. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues / O.V. Lushchak, O.I. Kubrak, J.M. Storey, K.B. Storey, V.I. Lushchak // *Chemosphere*. – 2009. – V. 52. – № 7. – P. 932–937.
234. Malatesta, M. Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function / M. Malatesta, F. Perdoni, G. Santin, S. Battistelli, S. Muller, M. Biggiorgera // *Toxicology in Vitro*. – 2008. – V. 22. – № 8. – P. 1853–1860.
235. Mann, R.M. The Toxicity of glyphosate and several glyphosate formulation to four species of Southwestern Australian frogs / R.M. Mann, J.R. Bidwell // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1999. – V. 36. – P. 193–199.
236. Marc, J. Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/Cyclin B Activation / J. Marc, O. Mulner-Lorillon, S. Boulben, D. Hureau, G. Durand, R. Belle // *Chemical Research in Toxicology*. – 2002. – V.15. – № 3. – P. 326–331.
237. McQueen, H. Estimating maternal and prenatal exposure to glyphosate in the community setting / H. McQueen, A.C. Callan, A.L. Hinwood // *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. – 2012. – V. 215. – I. 6. – P. 570–576.
238. Menendez-Helman, R.J. Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *Cnesterodon decemmaculatus* / R.J. Menendez-Helman, G.V. Ferreyroa, A.S. Afonso, A. Salibian // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2012. – V. 88. – № 1. – P. 6–9.
239. Menendez-Helman, R.J. Subcellular energy balance of *Odontesthes bonariensis* exposed to a glyphosate-based herbicide / R.J. Menendez-Helman, L.A. Miranda, M.S. Afonso, A. Salibian // *Ecotoxicology and Environment Safety*. – 2015. – V. 114. – P. 157–163.
240. Mensah, P.K. Acute toxicity of Roundup herbicide to three life stages of the freshwater shrimp *Caridina nilotica* (Decapoda: Atyidae) / P.K. Mensah, W.J. Muller, C.G. Palmer // *Physics and Chemistry of the Earth*. – 2011. – V. 36. – P. 905–909.

241. Mink, P.J. Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: A review / P.J. Mink, J.S. Mandel, B.K. Scurman, J.I. Lundin // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. – 2012. – V. 63. P. 440–452.
242. Mitchell, D.G. Seawater challenge testing of *Coho salmon* smolts following exposure to roundup herbicide / D.G. Mitchell, P.M. Chapman, T.J. Long // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 1987. – V. 6. – P. 875–878.
243. Modesto, K.A. Effects of Roundup Transorb on fish: hematology, antioxidant defences and acetylcholinesterase activity / K.A. Modesto, C.B.R. Martinez // *Chemosphere*. – 2010a. – V. 81. – P. 781–787.
244. Modesto, K.A. Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus* / K.A. Modesto, C.B.R. Martinez // *Chemosphere*. – 2010b. – V. 78. – P. 294–299.
245. Moreno, N.C. Genotoxic effects of the herbicide Roundup Transorb and its active ingredient glyphosate on the fish *Prochilodus lineatus* / N.C. Moreno, S.H. Sofia, C.B.R. Martinez // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2014. – V. 37. – P. 448–454.
246. Morgan, M.J. Response of rainbow trout to a two month exposure to Vision, a glyphosate herbicide / M.J. Morgan, J.W. Kiceniuk // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1992. – V. 48. – P. 772–780.
247. Morozov, A.A. Functional state of the liver antioxidant system of the Bream *Abramis brama* (L.) from Rybinsk reservoir regions with different anthropogenic loads / A.A. Morozov, G.M. Chuiko, E.S. Brodskii // *Inland Water Biology*. – 2012. – V. 5. – № 1. – P. 147–152.
248. Munilla-Moran, R. Digestive enzymes in marine species. Proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), sea bream (*Sparus auratus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) / R. Munilla-Moran, F. Saharido-Rey // *Comparative Biochemistry and Physiology*. Pt. B. – 1996. – V. 113. – № 2. – P. 395–402.
249. Murussi, C.R. Exposure to different glyphosate formulations on the oxidative and histological status of *Rhamdia quelen* / C.R. Murussi, M.D. Costa, J.W. Leitemperger, L. Guerra, C.C.R. Rodrigues, C.C. Menezes, E.S. Severo, F. Flores-Lopes, J. Salbego, V.L. Loro // *Fish Physiology and Biochemistry*. – 2015. – V. 42. – № 2. – P. 445–455.

250. Nakayama, K. Early-life-stage toxicity in offspring form exposed parent medaka, *Oryzias latipes*, to mixtures of tributyltin and polychlorinated biphenyls / K. Nakayama, Y. Oshima, K. Nagafuchi, T. Hano, Y. Shimasaki, T. Hongo // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2005. – V. 24. – № 3. – P. 591–596.
251. Nelson, N.J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose / N.J. Nelson // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1944. – V. 153. – P. 375–381.
252. Neskovic, N.K. Biochemical and histopatological effects of glyphosate on Carp, *Cyprinus carpio* L. / N.K. Neskovic, V. Poleksic, I. Elezovic, V. Karan, M. Budimir // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1996. – V. 56. – P. 295–302.
253. Niimi, A.J. PCBs in aquatic organisms / A.J. Niimi // *Environmental contaminants in wildlife. Interpreting tissue concentrations*. Boca Raton-NY-London-Tokyo : CRC Press. – 1996. – Ch.5. – P.117–151.
254. Nwani, C.D. DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, *Channa punctatus* / C.D. Nwani, N.S. Nagpure, R. Kumar, B. Kushwaha, P. Kumar, W.S. Lakra // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2013. – V. 36. – P. 539–547.
255. Nwani, C.D. Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch) / C.D. Nwani, N.S. Nagpure, R. Kumar, B. Kushwaha, P. Kumar, W.S. Lakra // *International Aquatic Research*. – 2010. – V. 2. – P. 105–111.
256. Okayi, R.G. Acute toxicity of glyphosate on *Clarias gariepinus* fingerlings / R.G. Okayi, P.A. Annune, M.U. Tachia, O.J. Oshoke // *Journal of research in forestry, wildlife and development*. – 2010. – V. 2. – № 2. – P. 150–155.
257. Ortiz-Ordóñez, E. Effect of Yerbimat herbicide on lipid peroxidation, catalase activity, and histological damage in gills and liver of the freshwater fish *Goodea atripinnis* / E. Ortiz-Ordóñez, E. Uria-Galicia, Ruiz- R.A. Picos, A.G.S. Duran, Y.H. Trejo // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2011. – V. 1 – № 3. – P. 443–452.
258. Paganelli, A. Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling / A. Paganelli, V. Gnazzo, H. Acosta, S.L. López, A.E. Carrasco // *Chemical Research in Toxicology*. – 2010. – V. 23. – № 10. – P. 1586–1595.

259. Paterson, G. An evaluation of stable nitrogen isotopes and polychlorinated biphenyls as bioenergetic tracers in aquatic systems / G. Paterson, K.G. Drouillard, G. D. Haffner // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. – 2006. – V. 63. – № 3. – P. 628–641.
260. Peixoto, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation / F. Peixoto // *Chemosphere*. – 2005. – V. 61. – № 8. – P. 1115–1122.
261. Perez, G.L. Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study / G.L. Perez, A. Torremorell, H. Mugni, P. Rodriguez, M. Solange Vera, M. do Nascimento, L. Allende, J. Bustingorry, R. Escaray, M. Ferraro, I. Izaguirre, H. Pizarro, C. Bonetto, P. Morris Donald, H. Zagarese // *Ecological Applications*. – 2007. – V. 17. – № 8. – P. 2310–2322.
262. Person-LeRuyet, J. Evaluation de l'activite de la trypsine et de l'amylase au cours de development chez la larvae de bar (*Dicentrarchus labrax*), effect de l'age au severage / J. Person-LeRuyet, J.F. Somain, J.Y. Daniel // *Oclanis*. – 1988. – V. 15. – № 4. – P. 465-481.
263. Peruzzo, P.J. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soil associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina / P.J. Peruzzo, A.A. Porta, A.E. Ronco // *Environmental Pollution*. – 2008. – V. 156. – № 1. – P. 61–66.
264. Piccolo, A. Hydrogen-bonding interaction between the herbicide glyphosate and water-soluble humic substances / A. Piccolo, G. Celano // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 1994. – V. 13. – № 11. – P. 1737–1741.
265. Pieniasek, D. Comparison of the effect of Roundup Ultra 360 SL pesticide and its active compound glyphosate on human erythrocytes / D. Pieniasek, B. Bukowska, W. Duda // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2004. – V. 79. – P. 58–63.
266. Primost, J.E. Glyphosate and AMPA, "pseudo-persistent" pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina / J.E. Primost, D.J.G. Marino, V.C. Aparicio, J.L. Costa, P. Carriquiriborde // *Environmental Pollution*. – 2017. P. 1–9.
267. Puertolas, L. Evaluation of side-effects of glyphosate mediated control of giant reed (*Arundo donax*) on the structure and function of a nearby Mediterranean river ecosystem /

L. Puertolas, J. Damasio, C. Barata, A.M.V.M. Soares, N. Prat // Environmental Research. – 2010. – V. 110. – P. 556–564.

268. Raipulis, J. Toxicity and genotoxicity testing of Roundup / J. Raipulis, M.M. Toma, M. Balode // Proceedings of the Latvian academy of sciences. Section B. – 2009. – V. 63. – № 1/2. – P. 29–32.

269. Releya, R.A. The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles / R.A. Releya // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 2005. – V. 48. – P. 351–357.

270. Reno, U. Microcrustaceans: biological models to evaluate a remediation process of glyphosate-based formulations / U. Reno, M.F. Gutierrez, M. Longo, E. Vidal, L. Regaldo, A. Negro, M. Mariani, C. Zalazar, A.M. Gagneten // Water, Air and Soil Pollution. – 2015. – V. 226. – I. 10. P. 349–357.

271. Reno, U. The Impact of Eskoba, a glyphosate formulation on the freshwater plankton community / U. Reno, M.F. Gutierrez, L. Regaldo, A.M. Gagneten // Water Environment Research. – 2014. – V. 86. – № 12. – P. 2294–2300

272. Reno, U. Water polluted with glyphosate formulations: effectiveness of a decontamination process using *Chlorella vulgaris* growing as bioindicator / U. Reno, L. Regaldo, E. Vidal, M. Mariani, C. Zalazar, A.M. Gagneten // Journal of Applied Phycology. – 2016. – V. 27. – № 6. – P. 1–8.

273. Richard, S. Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase / S. Richard, S. Moslemi, H. Sipahutar, N. Benachour, G. Seralini // Research Article. – 2005. – V. 113. – № 5. – P. 716–720.

274. Richard, S. Effect of a glyphosate-based herbicide on gene expressions of the Cytokines Interleukin-1 $\beta$  and Interleukin-10 and Heme Oxygenase-1 in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. / S. Richard, N. Prevot-D'Alvise, R. Bunet, R. Simide, S. Couvray, S. Coupe, J.P. Grillasca // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2014. – V. 92. – P. 294–299.

275. Rosenkrantz, R.T. Influence of pH, light cycle, and temperature on ecotoxicity of four sulfonylurea herbicides towards *Lemna gibba* / R.T. Rosenkrantz, N. Cedergreen, A. Baun, K.O. Kusk // Ecotoxicology. – 2013. – V. 22. – № 1. – P. 33–41.

276. Rossi, C.R. Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish / C.R. Rossi, M.D. da Silva, L.D.S. Piancini, C.A.O. Ribeiro, M.M. Cestari, H.C.S. de Assis // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2011. – V. 87. – P. 603–607.
277. Rzymiski, P. The effect of glyphosate-based herbicide on aquatic organisms - case study / P. Rzymiski, P. Klimaszuk, T. Kubacki, B. Poniedzialek // *Limnological Review*. – 2010. – V. 13. – I. 4. – P. 215–220.
278. Salbego, J. Herbicide formulation with glyphosate affects growth acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) / J. Salbego, A. Preto, C.R. Gioda, C.C. de Menezes, R. Lazzari, J.R. Neto, B. Baldisserotto, V.L. Loro // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2010. – V. 58. – P. 740–745.
279. Salvio, C. Survival, reproduction, avoidance behavior and oxidative stress biomarkers in the earthworm *Octolasion cyaneum* exposed to glyphosate / C. Salvio, M.L. Menone, S. Rafael, F.G. Iturburu, P.L. Manetti // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2016. – V. 96. – P. 314–319.
280. Samanta, P. Biochemical effects of glyphosate based herbicide Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes / P. Samanta, S. Pal, A.K. Mukherjee, A.R. Ghosh // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2014. – V. 107. – P. 120–125.
281. Sanden, M. Uptake and clearance of dietary DNA in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed conventional or genetically modified soybeans / M. Sanden, L.E. Johannessen, K. G. Berdal, G. -I. Hemre // *Aquaculture Nutrition*. – 2011. – V. 17. – № 3. – P. 750–759.
282. Sandrini, J.Z. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: *In vitro* studies / J.Z. Sandrini, R.C. Rola, F.M. Lopes, H.F. Buffon, M.M. Freitas, C.M.G. Martins, C.E. da Rosa // *Aquatic Toxicology*. – 2013. – V. 130–131. – P. 171–173.
283. Santos, M.J.G. Pesticide application to agricultural fields: effects on the reproduction and avoidance behaviour of *Folsomia candida* and *Eisenia andrei* / M.J.G. Santos, M.F.L. Ferreira, A. Cachada, A.C. Duarte, J.P. Sousa // *Ecotoxicology*. – 2012. – V. 21. – P. 2113–2122.

284. Sastry, K.V. Changes in the activities of some digestive enzymes of *Channa punctatus*, exposed chronically to mercuric chloride / K.V. Sastry, P.K. Gupta // Journal of Environmental Science and Health. – 1980. – V. 15B. – № 1. – P. 109–120.
285. Seralini, G.-E. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize / G.-E. Seralini, E. Clair, R. Mesnage, S. Gress, N. Defarge, M. Malatesta, D. Hennequin, J.S. de Vendomois // Food and Chemical Toxicology. – 2012. – V. 50. – P. 4221–4231.
286. Seralini, G.-E. Republished study: Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize / G.-E. Seralini, E. Clair, R. Mesnage, S. Gress, N. Defarge, M. Malatesta, D. Hennequin, J.S. de Vendomois // Environmental Sciences Europe. – 2014. – V.26. – № 14. – P. 1–17.
287. Shiogiri, N.S. Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus* / N.S. Shiogiri, M.G. Paulino, S.P. Carraschi, F.G. Baraldi, C. da Cruz, M.N. Fernandes // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2012. – V. 34. – P. 388–396.
288. Siddiqui, S. Glyphosate, Alachor and Maleic Hydrazide have genotoxic effect on *Trigonella foenum-graecum* L. / S. Siddiqui, M.K. Meghvansi, S.S. Khan // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2012. – V. 88. – № 5. – P. 659–665.
289. Sihtmae, M. Ecotoxicological effects of different glyphosate formulation / M. Sihtmae, I. Blinova, K. Kunnis-Beres, L. Kanarbik, M. Heinlaan, A. Kahru // Applied Soil Ecology. – 2013. – V. 72. – P. 215–224.
290. Sinhorin, V.D.G. Effects of acute exposition to glyphosate-base herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma sp.*) / V.D.G. Sinhorin, A.P. Sinhorin, J.M.S. Teixeira, K.M. Mileski, P.C. Hansen, P.R. Moeller, P.S. Moreira, N.H. Kawashita, A.M. Baviera, V.L. Loro // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2014a. – V. 106. – P. 181–187.
291. Sinhorin, V.D.G. Metabolic and behavior changes in surubim acutely exposed to a glyphosate-based herbicide / V.D.G. Sinhorin, A.P. Sinhorin, J.M.S. Teixeira, K.M. Mileski, P.C. Hansen, P.R. Moeller, P.S. Moreira, A.M. Baviera, V.L. Loro // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 2014b. – V. 67. – P. 659–667.
292. Slager, R.E. Rhinitis associated with pesticide exposure among commercial pesticide applicators in the Agricultural Health Study / R.E. Slager, J.A. Poole, T.D. LeVan,

D.P. Sandler, M.C.R. Alavanja, J.A. Hoppin // *Occupational and Environmental Medicine*. – 2009. – V. 66. – № 11. – P. 715–724.

293. Smith, E.A. The biological activity of glyphosate to plants and animals: Aliterature review / E.A. Smith, F.W. Oehme // *Veterinary and Human Toxicology*. – 1992. – V. 34. – № 6. – P. 531–543.

294. Sobjak, T.M. Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish / T.M. Sobjak, S. Romao, C.Z. do Nascimento, A.F.P. dos Santos, L. Vogel, A.T.B. Guimaraes // *Chemosphere*. – 2017. – V. 182. – P. 267–275.

295. Sobrero, M.C. Effects of the glyphosate active ingredient and a formulation on *Lemna gibba* L. at different exposure levels and assessment end-points / M.C. Sobrero, F. Rimoldi, A.E. Ronco // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2007. – V. 79. – P. 537–543.

296. Solovyev, M. Influence of time, storage temperature and freeze/thaw cycles on the activity of digestive enzymes from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) / M. Solovyev, E. Gisbert // *Fish Physiology and Biochemistry*. – 2016. – V.42. – № 5. – P. 1383–1394.

297. Soso, A.B. Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundia (*Rhamdia quelen*) / A.B. Soso, L.J.G. Barcellos, M.J.R.-Paiva, L.C. Kreutz, R.M. Quevedo, D. Anziliero, M. Lima, L.B. da Silva, F. Ritter, A.C. Bedin, J.A. Finco. // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2007. – V. 23. – P. 308–313.

298. Spencer, E.Y. Guide to the chemicals used in crop protection, 7th edition / E.Y. Spencer // *Agriculture Canada*. – 1982. – 165 p.

299. Struger, J. Occurrence of glyphosate in surface waters of Southern Ontario / J. Struger, D. Thompson, B. Staznik, P. Martin, T. McDaniel, C. Marvin // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2008. – V. 80. – P. 378–384.

300. Szarek, J. Effects of the herbicide Roundup on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*) / J. Szarek, A. Siwicki, A. Andrzejewska, E. Terech-Majewska, T. Banaszkiwicz // *Marine Environmental Research*. – 2000. – V. 50. – P. 263–266.

301. Tarouco, F.M. Effects of the herbicide Roundup on the polychaeta *Laeonereis acuta*: Cholinesterases and oxidative stress / F.M. Tarouco, F.G.A. Godoi, R.R. Velasques,

A.S. Guerreiro, M.A. Geihs, C.E. Rosa // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2017. – V. 135. – P. 259–266.

302. Tate, T.M. Effect of Glyphosate on the development of *Pseudosuccinea columella* Snails / T.M. Tate, J.O. Spurlock, F.A. Christian // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 1997. – V. 33. – № 3. – P. 286–289.

303. Tengjaroenkul, B. Ontogenic development on the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. / B. Tengjaroenkul, B.J. Smith, S.A. Smith, U. Chatreewongsin // *Aquaculture*. – 2002. – V. 211. – № 1–4. – P. 141–251.

304. Trotter, D.M. Canadian water quality guidelines for glyphosate. Scientific Series N. 170. Inland Waters Directorate, Water Quality Branch, Environment Canada. / D.M. Trotter, M.P. Wong, R.A. Kent / – Ottawa, Ontario, 1990. – 27 p.

305. Tsui, M.T.K. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors / M.T.K. Tsui, L.M. Chu // *Chemosphere*. – 2003. – V. 52. – № 7. – P. 1189–1197.

306. Tsui, M.T.K. Comparative toxicity of glyphosate-based herbicides: Aqueous and sediment porewater exposures / M.T.K. Tsui, L.M. Chu // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2004. – V. 46. – P. 316–323.

307. Tsui, M.T.K. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland / M.T.K. Tsui, L.M. Chu // *Chemosphere*. – 2008. – V. 71. – P. 439–446.

308. Tsui, M.T.K. Influence of glyphosate and its formulation (Roundup) on the toxicity and bioavailability of metals to *Ceriodaphnia dubia* / M.T.K. Tsui, W.X. Wang, L.M. Chu // *Environmental pollution*. – 2005. – V. 138. – № 1. – P. 59–68.

309. USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) edition of the drinking water Standards and Health Advisories. – 2003. – 12 p.

310. Velasques, R.R. Roundup in Zebrafish: Effects on oxidative status and gene expression / R.R. Velasques, J.Z. Sandrini, C.E. da Rosa // *Special Issue On Toxicology*. – 2016. – V. 0. – № 0. DOI: 10.1089/zeb.2016.1259

311. Vera, M.S. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities / M.S. Vera, E. Di Fiori, L. Lagomarsino, R. Sinistro, R. Escaray, M.M. Iummato, A. Juarez, M.C.R. de Molina, G. Tell, H. Pizarro // *Ecotoxicology*. – 2012. – V. 21. – № 7. – P. 1805–1816.

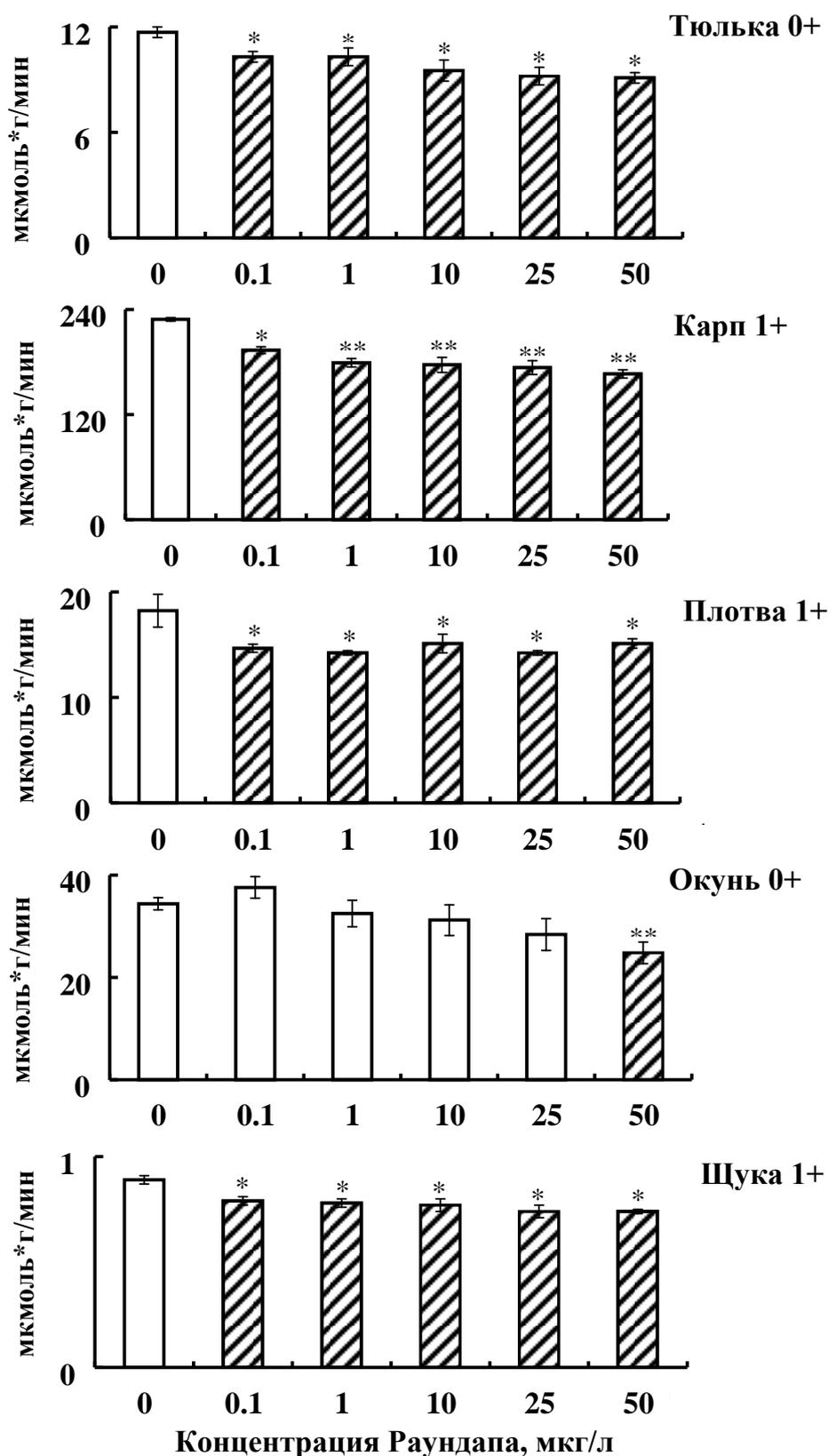
312. Vera-Candioti, J. Evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of glyphosate-based herbicides in the ten spotted live-bearer fish *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842) / J. Vera-Candioti, S. Soloneski, L. Larramendy // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013. – V. 89. – P. 166–173.
313. Walsh, L.P. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression / L.P. Walsh, C. McCormick, C. Martin, D.M. Stocco // *Environmental Health Perspectives*. – 2000. – V. 108. – № 8. – P. 769–776.
314. Wan, M.T. Effects of different dilution water types on the acute toxicity to juvenile pacific salmonids and rainbow trout of glyphosate and its formulated products / M.T. Wan, R.G. Watts, D.J. Moul // *Bull Environ Contam Toxicol*. – 1989. – V. 43. – P. 378–385.
315. Wang, Y.J. Zinc adsorption on goethite as affected by glyphosate / Y.J. Wang, D.M. Zhou, R.J. Sun, D.A. Jia, H.W. Zhu, S.Q. Wang // *Journal of Hazardous Materials*. – 2008. – V. 151. – P. 179–184.
316. Webster, T.M.U. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup, on reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*) / T.M.U. Webster, L.V. Laing, H. Florance, E.M. Santos // *Environmental Science & Technology*. – 2014. – V. 48. – P. 1271–1279.
317. Webster, T.M.U. Global transcriptomic profiling demonstrates induction of oxidative stress and of compensatory cellular stress responses in brown trout exposed to glyphosate and Roundup / T.M.U. Webster, E.M. Santos // *BMC Genomic*. – 2015. – V. 16. – № 32. – P. 1–14.
318. Weed Science Society of America Herbicide Handbook // Weed Science Society of America. – 1983. – Champaign III. – 515 p.
319. Williams, G.M. Safety evaluation and risk assessment of herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans / G. M. Williams, R. Kroes, I. C. Munro // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. – 2000. – V. 31. – P. 117–165.
320. World Health Organization (WHO), Environmental health criteria 159 – Glyphosate. International Programme on Chemical Safety. – 1994.
321. Zalizniak, L. Roundup biactive modifies cadmium toxicity to *Daphnia carinata* / L. Zalizniak, D. Nugegoda // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2006. – V. 77. – № 5. – P. 748–754.
322. Zaranyika M.F. Degradation of glyphosate in the aquatic environment: An enzymatic kinetic model that takes into account microbial degradation of both free and

colloidal (or Sediment) particle adsorbed glyphosate / M.F. Zaranyika, M.G. Nyandoro // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1993. – V. 41. – P. 838–842.

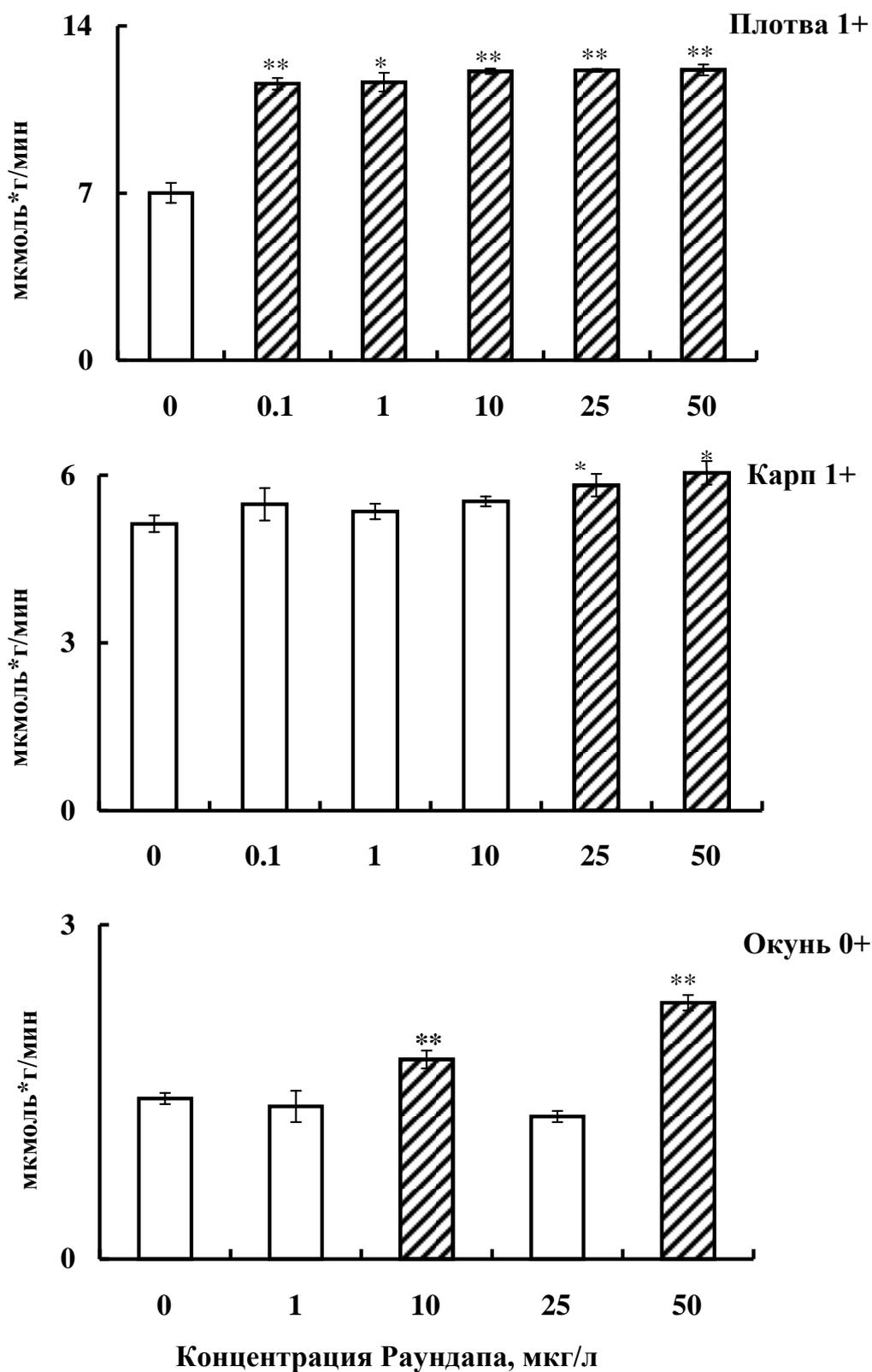
323. Zhang, S. Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (*Danio rerio*) / S. Zhang, J. Xu, X. Kuang, S. Li, X. Li, D. Chen, X. Zhao, X. Feng // Chemosphere. – 2017. – V. 181. – P. 270–280.

324. Zhou, C.F. Does glyphosate impact on Cu uptake be, and toxicity to, the earthworm *Eisenia fetida*? / C.F. Zhou, Y.J. Wang, Y.C. Yu, R.J. Sun, X.D. Zhu, H.L. Zhang, D.M. Zhou // Ecotoxicology. – 2012. – V. 21. – № 8. – P. 2297–2305.

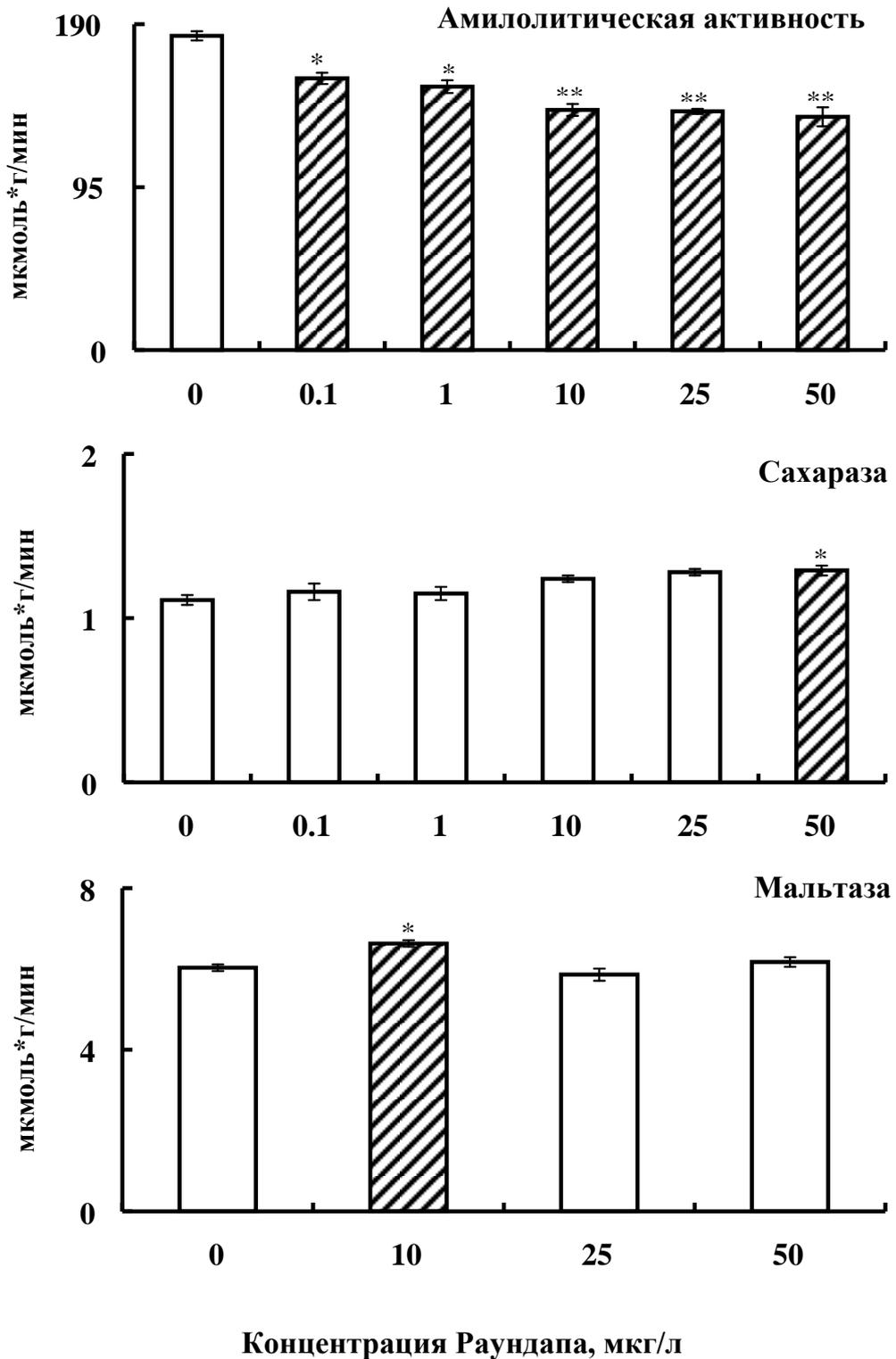
# **Приложение**



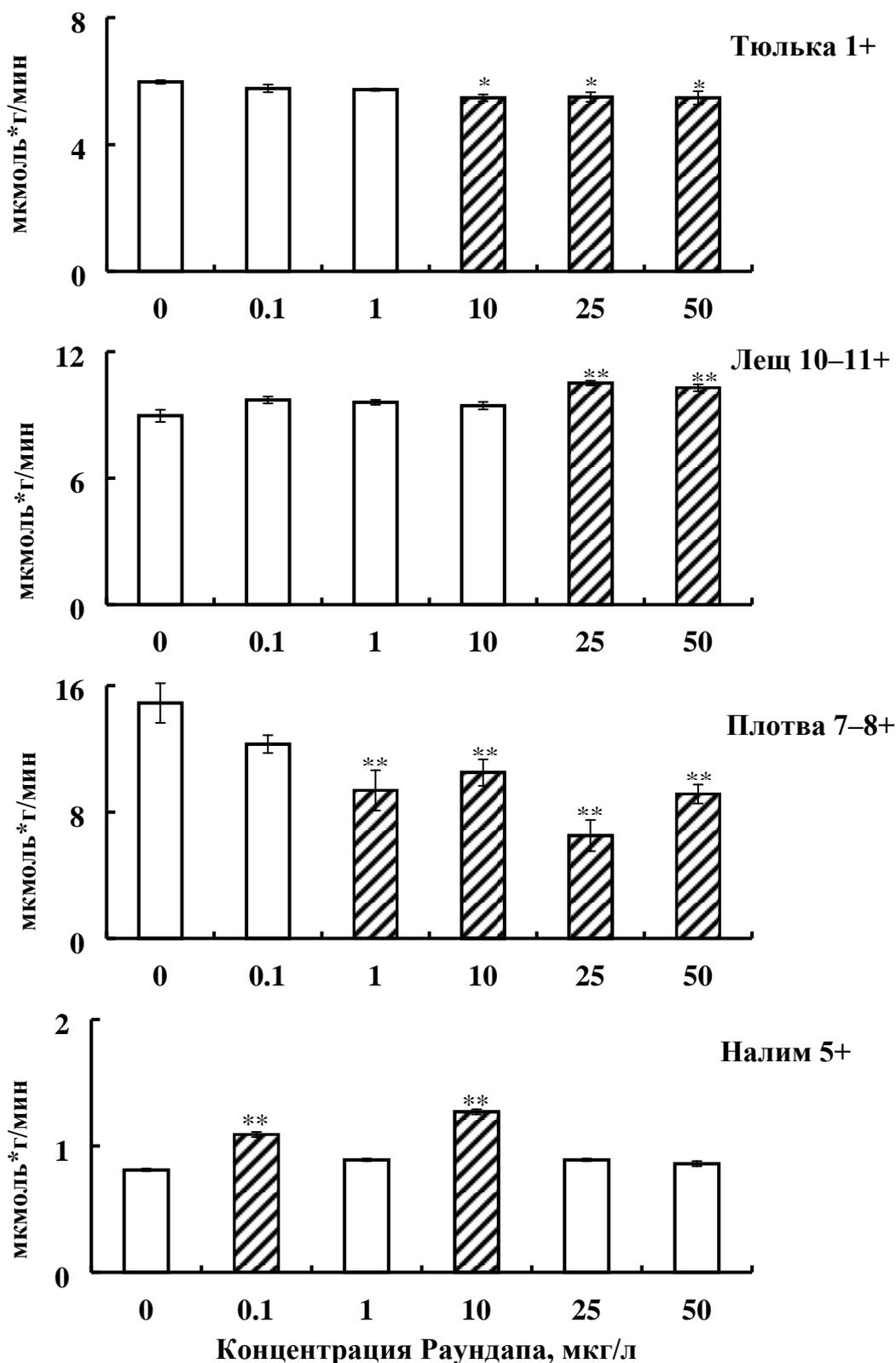
Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике молоди рыб (12–50 экз.) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ ;  $n = 5$ .



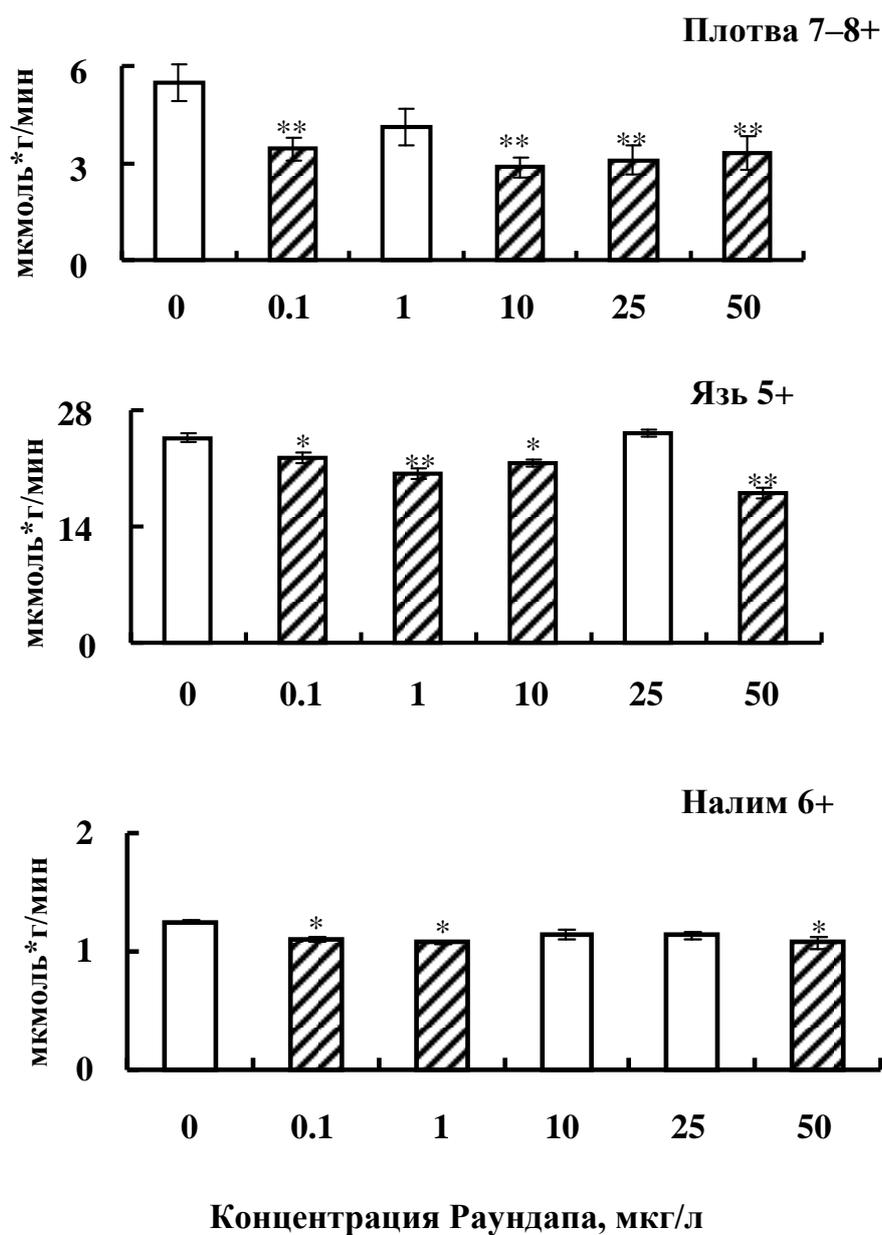
Активность мальтазы (мкмоль/г·мин) в кишечнике молоди рыб (12–50 экз.) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ;  $n = 5$ .



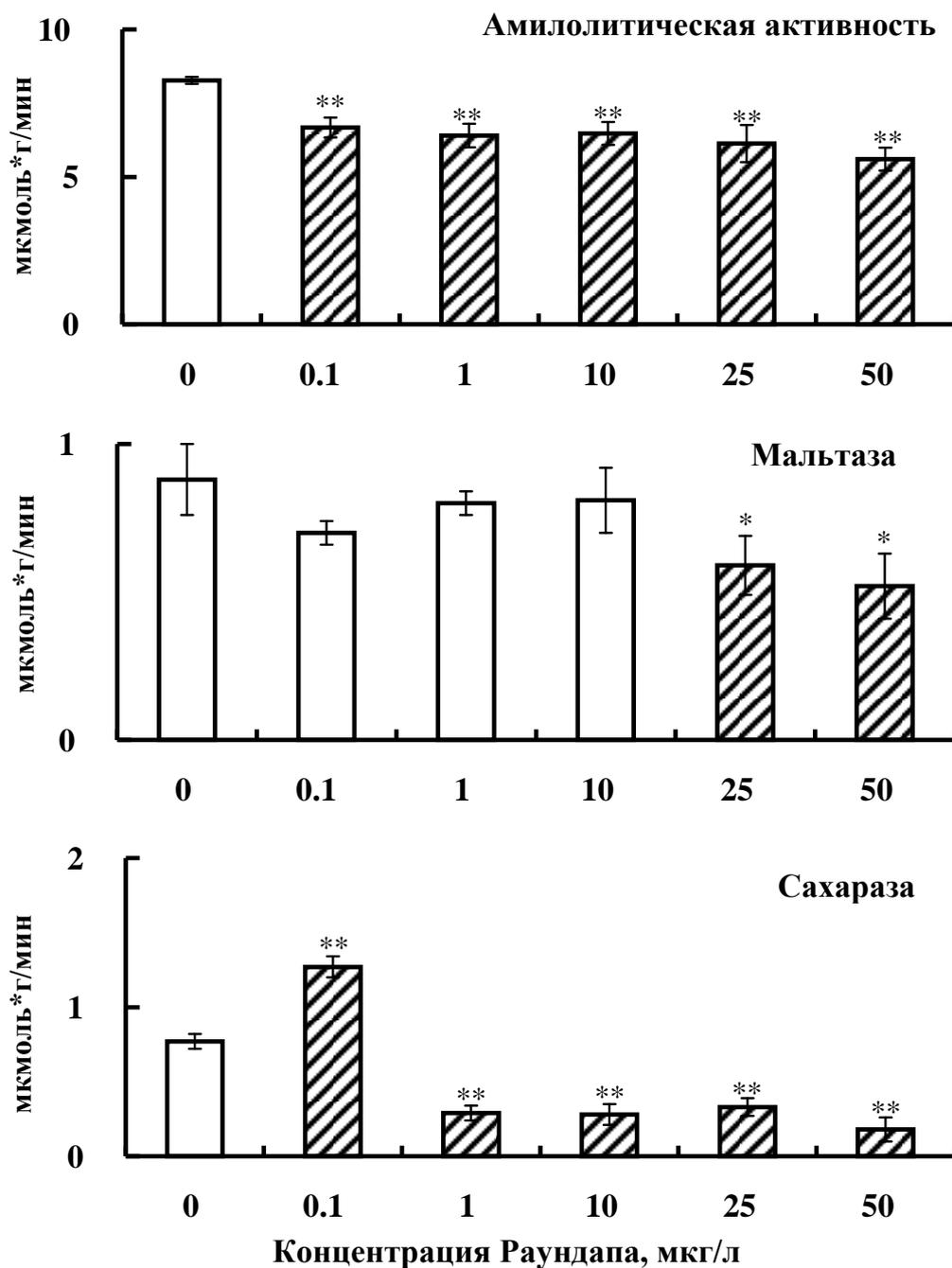
Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в химусе кишечника молоди карпа (12 экз.) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ;  $n = 5$ .



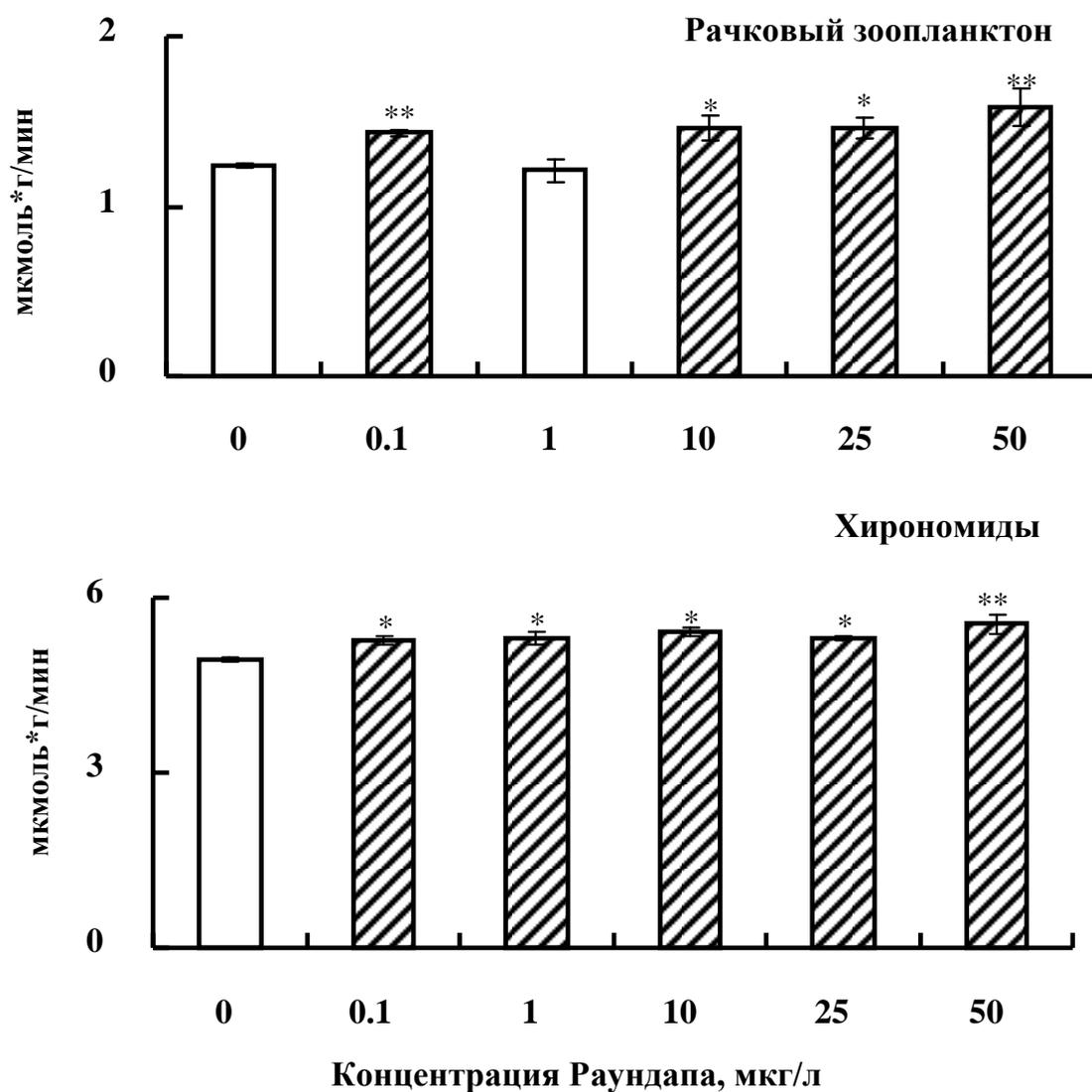
Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника половозрелых рыб (8 экз., тюлька 50 экз.) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p \leq 0.001$ ;  $n = 5-8$ .



Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в химусе кишечника половозрелых рыб (8 экз.) в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ;  $n = 5-8$ .



Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в организме реальной жертвы – плотвы (4 экз.), извлеченной из желудка щуки, в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ;  $n = 5$ .



Активность мальтазы (мкмоль/г·мин) в организме беспозвоночных в присутствии Раундапа *in vitro*; ▨ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем (0 мкг/л) при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ;  $n = 5$ .

Амилолитическая активность в слизистой оболочке кишечника молоди (0+ –1+) рыб в присутствии Раундапа (25 мкг/л) при разных значениях температуры и pH

Температура, °С	Концентрация Раундапа, мкг/л	Амилолитическая активность, мкмоль/г·мин		
		pH		
		5.0	7.4	8.3
<b>Тюлька, 50 экз.</b>				
0	0	0.50±0.00	0.92±0.05	0.38±0.08
	25	0.10±0.00 (98)	0.82±0.13	0.10±0.00 (98)
10	0	2.28±0.04	3.00±0.05	1.94±0.07
	25	1.80±0.13 (61)	2.64±0.07	1.30±0.08 (72)
20	0	4.00±0.06	<b>4.60±0.19</b>	3.42±0.13
	25	3.06±0.20	3.40±0.14	3.10±0.11
<b>Карп, 12 экз.</b>				
0	0	11.0±2.22	24.2±2.94	20.1±2.74
	25	6.40±0.46(95)	27.4±2.98	12.3±3.03(89)
10	0	11.0±1.83	49.4±2.21	50.7±5.18
	25	6.86±0.72(94)	54.9±2.40	53.5±1.71(54)
20	0	13.7±3.31	<b>117.0±2.33</b>	113.0±1.71
	25	9.60±1.68	93.3±3.10	113.0±4.43
<b>Окунь, 50 экз.</b>				
0	0	0.70±0.01	0.69±0.02	0.61±0.01
	25	0.61±0.03(72)	0.81±0.05	0.59±0.01(73)
10	0	1.11±0.02	1.27±0.03	0.94±0.03
	25	1.06±0.03(51)	1.26±0.02	0.90±0.02(59)
20	0	2.17±0.05	<b>2.18±0.12</b>	1.44±0.03
	25	2.07±0.02	2.20±0.06	1.47±0.02

Примечание: активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), в скобках – сила тормозящего эффекта в % от контроля (активность при температуре 20°C, pH 7.4 без Раундапа); n = 5.

Амилолитическая активность в слизистой оболочке кишечника половозрелых рыб в присутствии Раундапа (25 мкг/л) при разных значениях температуры и рН

Темпе- ратура, °С	Концентрация Раундапа, мкг/л	Амилолитическая активность, мкмоль/г·мин		
		рН		
		5.0	7.4	8.3
<b>Окунь, 8 экз.</b>				
0	0	0.21±0.01	0.23±0.02	0.13±0.02
	25	0.03±0.00 (97)	0.19±0.02	0.17±0.01 (82)
10	0	0.36±0.01	0.53±0.02	0.45±0.02
	25	0.08±0.01 (92)	0.69±0.03	0.51±0.02 (47)
20	0	0.50±0.02	<b>0.96±0.01</b>	0.65±0.01
	25	0.12±0.01	0.69±0.02	0.69±0.02
<b>Налим, 8 экз.</b>				
0	0	0.23±0.01	0.24±0.02	0.22±0.01
	25	0.10±0.01 (89)	0.26±0.01	0.25±0.01 (72)
10	0	0.50±0.00	0.54±0.02	0.55±0.01
	25	0.37±0.01 (58)	0.54±0.02	0.59±0.01 (33)
20	0	0.79±0.02	<b>0.88±0.02</b>	0.86±0.01
	25	0.56±0.01	0.72±0.01	0.89±0.01
<b>Щука, 7 экз.</b>				
0	0	0.13±0.01	0.19±0.01	0.18±0.01
	25	0.08±0.01 (89)	0.20±0.01	0.18±0.01 (75)
10	0	0.36±0.00	0.47±0.01	0.37±0.00
	25	0.32±0.01 (55)	0.52±0.01	0.31±0.01 (56)
20	0	0.70±0.01	<b>0.71±0.02</b>	0.71±0.00
	25	0.62±0.02	0.68±0.01	0.60±0.02
<b>Судак, 7 экз.</b>				
0	0	0.21±0.02	0.19±0.02	0.13±0.01
	25	0.06±0.02 (81)	0.16±0.02	0.10±0.01 (69)
10	0	0.21±0.03	0.19±0.01	0.21±0.00
	25	0.09±0.02 (72)	0.18±0.02	0.10±0.02 (69)
20	0	0.29±0.00	<b>0.32±0.00</b>	0.26±0.01
	25	0.10±0.02	0.25±0.01	0.15±0.02
<b>Сом, 4 экз.</b>				
0	0	0.13±0.01	0.22±0.01	0.20±0.01
	25	0.14±0.01 (59)	0.19±0.00	0.15±0.01 (56)
10	0	0.18±0.00	0.27±0.01	0.21±0.01
	25	0.22±0.01 (35)	0.27±0.01	0.25±0.01 (26)
20	0	0.28±0.00	<b>0.34±0.01</b>	0.30±0.01
	25	0.24±0.01	0.27±0.01	0.25±0.01

Примечание: активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), в скобках – сила тормозящего эффекта в % от контроля (активность при температуре 20°C, рН 7.4 без Раундапа); n = 4–8.

Амилолитическая активность в химусе кишечника половозрелых рыб в присутствии Раундапа (25 мкг/л) при разных значениях температуры и pH

Температура, °С	Концентрация Раундапа, мкг/л	Амилолитическая активность, мкмоль/г·мин		
		pH		
		5.0	7.4	8.3
<b>Налим, 8 экз.</b>				
0	0	0.30±0.02	0.21±0.00	0.15±0.01
	25	0.14±0.01 (81)	0.18±0.01	0.16±0.01 (78)
10	0	0.45±0.01	0.43±0.00	0.38±0.01
	25	0.22±0.01 (70)	0.42±0.01	0.33±0.01 (55)
20	0	0.71±0.02	<b>0.74±0.02</b>	0.58±0.01
	25	0.37±0.02	0.69±0.01	0.58±0.01
<b>Щука, 7 экз.</b>				
0	0	0.17±0.00	0.36±0.01	0.33±0.01
	25	0.05±0.01 (95)	0.27±0.01	0.11±0.01 (89)
10	0	0.37±0.02	0.49±0.01	0.47±0.00
	25	0.17±0.01 (83)	0.44±0.01	0.31±0.01 (70)
20	0	0.77±0.01	<b>1.03±0.01</b>	0.79±0.01
	25	0.45±0.02	0.94±0.01	0.54±0.02
<b>Судак, 7 экз.</b>				
0	0	0.15±0.01	0.08±0.01	0.05±0.01
	25	0.11±0.01 (54)	0.12±0.01	0.02±0.00 (92)
10	0	0.12±0.01	0.18±0.02	0.08±0.01
	25	0.13±0.01 (46)	0.18±0.01	0.06±0.00 (75)
20	0	0.26±0.01	<b>0.24±0.01</b>	0.15±0.01
	25	0.20±0.01	0.23±0.01	0.10±0.01
<b>Сом, 4 экз.</b>				
0	0	0.49±0.00	0.62±0.01	0.52±0.01
	25	0.39±0.00 (71)	0.62±0.01	0.44±0.02 (67)
10	0	0.69±0.01	0.77±0.01	0.74±0.01
	25	0.62±0.01 (53)	0.81±0.01	0.69±0.01 (48)
20	0	1.28±0.02	<b>1.33±0.00</b>	1.30±0.02
	25	1.08±0.01	1.27±0.02	1.20±0.02

Примечание: активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), в скобках – сила тормозящего эффекта в % от контроля (активность при температуре 20°C, pH 7.4 без Раундапа); n = 4–8.

Таблица 4

Амилолитическая активность в целом организме молоди (0+ – 1+) рыб в присутствии Раундапа (25 мкг/л) при разных значениях температуры и pH

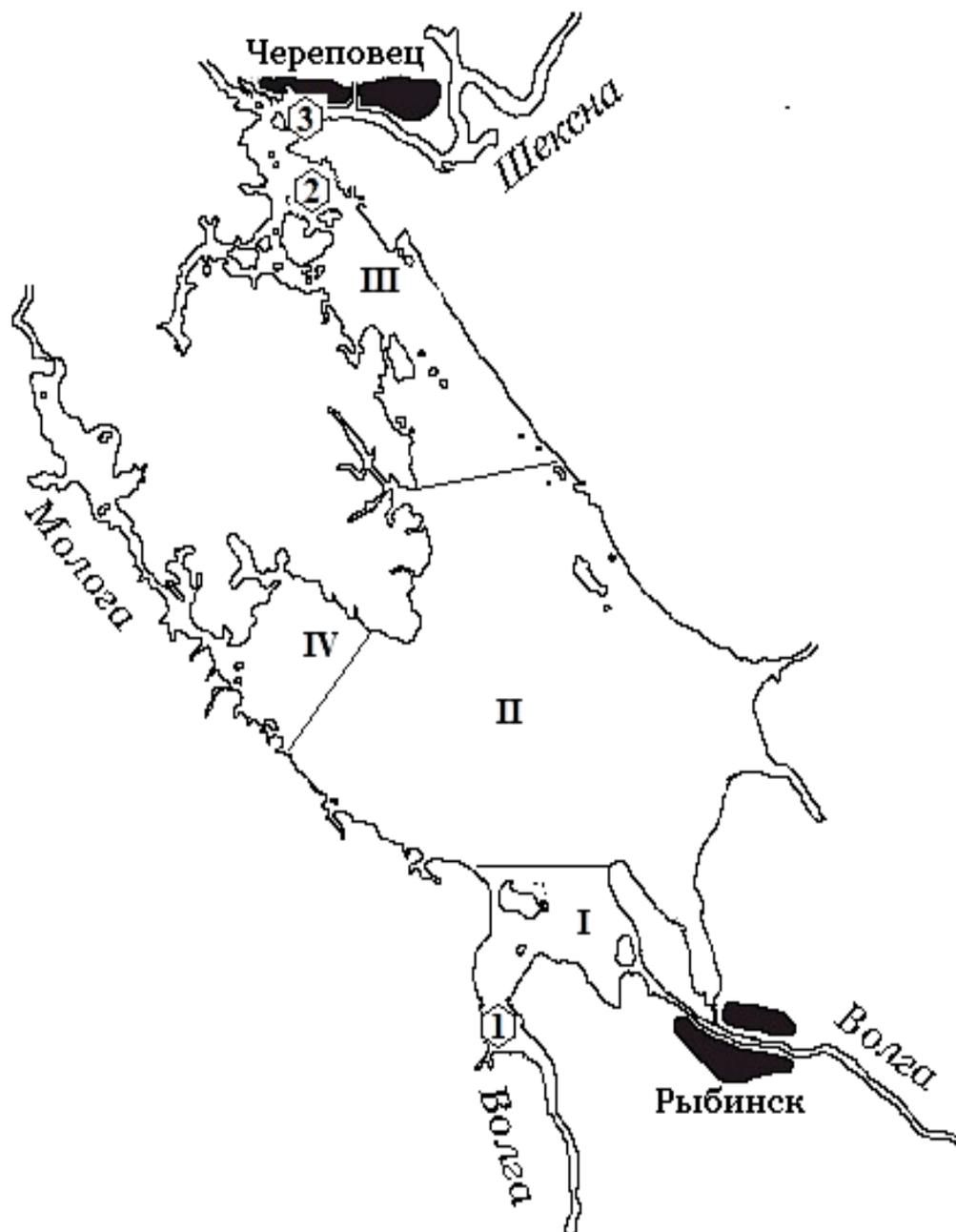
Температура, °С	Концентрация Раундапа, мкг/л	Амилолитическая активность		
		pH		
		5.0	7.4	8.3
<b>Плотва, 50 экз.</b>				
<b>0</b>	<b>0</b>	0.25±0.01	1.49±0.10	1.02±0.11
	<b>25</b>	0.39±0.01 (97)	1.78±0.12	1.62±0.07 (89)
<b>10</b>	<b>0</b>	2.36±0.29	6.96±0.30	7.04±0.10
	<b>25</b>	2.36±0.24 (83)	7.40±0.17	6.72±0.19 (52)
<b>20</b>	<b>0</b>	4.60±0.28	<b>14.1±0.48</b>	12.5±0.43
	<b>25</b>	3.48±0.10	15.6±0.60	13.2±0.47
<b>Окунь, 20 экз.</b>				
<b>0</b>	<b>0</b>	0.75±0.13	0.59±0.14	0.61±0.07
	<b>25</b>	0.69±0.10 (54)	0.72±0.09	0.59±0.11 (60)
<b>10</b>	<b>0</b>	1.13±0.13	0.88±0.11	0.92±0.10
	<b>25</b>	0.94±0.15 (37)	0.84±0.12	1.17±0.15 (21)
<b>20</b>	<b>0</b>	1.13±0.11	<b>1.49±0.05</b>	1.21±0.16
	<b>25</b>	1.02±0.13	1.24±0.08	1.20±0.10
<b>Тюлька, 50 экз.</b>				
<b>0</b>	<b>0</b>	0.26±0.02	0.26±0.01	0.08±0.02
	<b>25</b>	0.12±0.02 (81)	0.12±0.03	0.13±0.02 (79)
<b>10</b>	<b>0</b>	0.38±0.03	0.43±0.04	0.17±0.03
	<b>25</b>	0.40±0.01 (35)	0.30±0.02	0.14±0.03 (77)
<b>20</b>	<b>0</b>	0.66±0.04	<b>0.62±0.03</b>	0.31±0.06
	<b>25</b>	0.63±0.03	0.60±0.03	0.34±0.01

Примечание: активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), в скобках – сила тормозящего эффекта в % от контроля (активность при температуре 20°C, pH 7.4 без Раундапа); n = 5.

Амилолитическая активность в организме беспозвоночных в присутствии Раундапа (25 мкг/л) при разных значениях температуры и pH

Температура, °С	Концентрация Раундапа, мкг/л	Амилолитическая активность		
		pH		
		5.0	7.4	8.3
<b>Зоопланктон (несколько сотен экз.)</b>				
0	0	0.29±0.04	0.45±0.02	0.52±0.03
	25	0.26±0.01(88)	0.53±0.03	0.52±0.02(76)
10	0	0.77±0.04	1.29±0.02	1.32±0.01
	25	0.61±0.04(72)	1.36±0.03	1.33±0.02(38)
20	0	1.14±0.02	<b>2.15±0.17</b>	1.89±0.05
	25	0.96±0.03	1.99±0.05	1.97±0.03
<b>Хирономиды (несколько десятков экз.)</b>				
0	0	3.74±0.14	4.27±0.13	3.52±0.13
	25	4.00±0.11(29)	4.32±0.15	3.76±0.07(33)
10	0	4.27±0.11	4.27±0.06	4.11±0.11
	25	3.54±0.06(37)	4.46±0.24	3.79±0.14(32)
20	0	4.18±0.09	<b>5.60±0.17</b>	4.78±0.07
	25	3.81±0.13	6.00±0.25	4.96±0.18
<b>Дрейссена, 40 экз.</b>				
0	0	1.00±0.06	1.09±0.06	0.69±0.05
	25	1.03±0.03(48)	1.04±0.05	0.85±0.05(57)
10	0	1.07±0.04	1.32±0.02	0.80±0.04
	25	1.07±0.06(46)	1.23±0.05	0.79±0.03(60)
20	0	1.49±0.08	<b>1.99±0.08</b>	0.96±0.03
	25	1.38±0.05	1.84±0.05	1.09±0.05
<b>Прудовик, 20 экз.</b>				
0	0	0.85±0.03	0.87±0.08	0.56±0.06
	25	0.92±0.04(84)	1.34±0.04	0.40±0.08(93)
10	0	2.18±0.06	2.37±0.27	1.08±0.10
	25	2.16±0.11(62)	3.15±0.18	1.03±0.04(82)
20	0	5.50±0.08	<b>5.73±0.19</b>	2.83±0.08
	25	5.60±0.07	5.68±0.18	3.01±0.10
<b>Катушка, 20 экз.</b>				
0	0	2.29±0.07	2.99±0.12	2.45±0.23
	25	2.59±0.09 (60)	2.56±0.25	2.48±0.09 (62)
10	0	3.25±0.17	4.53±0.08	2.80±0.14
	25	3.67±0.10 (44)	4.27±0.09	2.56±0.05 (61)
20	0	6.20±0.08	<b>6.51±0.14</b>	5.60±0.12
	25	5.26±0.16	6.61±0.13	5.52±0.17

Примечание: активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), в скобках – сила тормозящего эффекта в % от контроля (активность при температуре 20°C, pH 7.4 без Раундапа); n = 5.



Карта-схема Рыбинского водохранилища с указанием мест отбора проб и границ плесов. Сплошные прямые линии – границы плесов: I – Волжский (1 – ст. Коприно), II – Центральный, III – Шекснинский (2 – ст. Любец, 3 – ст. Ваганиха), IV – Моложский плес.

Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в кишечнике половозрелых рыб из более загрязненного (Шекснинский плес, ст. Ваганиха) и менее загрязненного (Волжский плес, ст. Коприно) участков Рыбинского водохранилища в присутствии Раундапа *in vitro*

Плес (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Плотва (Амилолитическая активность)</b>						
Волжский (8)	$6.29 \pm 0.18^a$	$6.03 \pm 0.14^{ab}$	$5.87 \pm 0.25^{ab}$	$5.81 \pm 0.26^{ab}$	$6.08 \pm 0.23^b$	$5.60 \pm 0.15^b$ -11
Шекснин- ский (10)	$4.75 \pm 0.16^a$	$3.89 \pm 0.11^b$ -18	$4.53 \pm 0.15^a$	$4.00 \pm 0.08^b$ -16	$4.00 \pm 0.21^b$ -16	$4.05 \pm 0.05^b$ -15
<b>Лещ (Амилолитическая активность)</b>						
Волжский (10)	$1.12 \pm 0.03^a$	$1.17 \pm 0.05^a$	$1.14 \pm 0.02^a$	$1.11 \pm 0.02^a$	$1.10 \pm 0.03^a$	$1.10 \pm 0.03^a$
Шекснин- ский (10)	$1.12 \pm 0.04^a$	$1.06 \pm 0.03^{ab}$	$1.04 \pm 0.04^b$	$1.03 \pm 0.02^a$	$1.10 \pm 0.03^{ab}$	$1.12 \pm 0.01^a$
<b>Плотва (Активность мальтазы)</b>						
Волжский (8)	$12.2 \pm 0.21^{ab}$	$11.3 \pm 0.68^{b\Gamma}$	$12.5 \pm 0.16^a$	$10.7 \pm 0.15^{b\Gamma}$ -12	$10.1 \pm 0.23^{\Gamma}$ -17	$9.11 \pm 0.30^{\Delta}$ -25
Шекснин- ский (10)	$12.0 \pm 0.27^a$	$11.1 \pm 0.45^a$	$11.3 \pm 0.26^a$	$8.55 \pm 0.39^b$ -29	$9.06 \pm 0.30^b$ -25	$8.85 \pm 0.14^b$ -26
<b>Лещ (Активность мальтазы)</b>						
Волжский (10)	$2.29 \pm 0.01^a$	$2.48 \pm 0.01^a$	$2.34 \pm 0.05^a$	$3.30 \pm 0.10^b$ +44	$3.90 \pm 0.08^b$ +70	$2.30 \pm 0.20^a$
Шекснин- ский (10)	$1.33 \pm 0.01^{ab}$	$1.31 \pm 0.01^a$	$1.34 \pm 0.01^{ab}$	$1.33 \pm 0.01^{ab}$	$1.36 \pm 0.01^{b\Gamma}$	$1.39 \pm 0.02^b$

Примечание. Над чертой – активность мальтазы ( $M \pm m$ ), под чертой – величина достоверного эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке, (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; в скобках – количество исследованных рыб (экз.),  $n = 8-10$ .

Таблица 7

Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника леща (3+) с повышенным содержанием ПХБ (2 мг/г корма) в корме в присутствии Раундапа *in vitro*

Группа (длительность опыта, сут)	Концентрация Раундапа					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
Контроль- ная (7)	<u>15.2±0.33<sup>a</sup></u>	<u>14.5±0.33<sup>a</sup></u>	<u>14.9±0.16<sup>a</sup></u>	<u>15.1±0.50<sup>a</sup></u>	<u>15.3±0.37<sup>a</sup></u>	<u>14.5±0.13<sup>a</sup></u>
Опытная (7)	<u>6.67±0.24<sup>a</sup></u>	<u>6.67±0.15<sup>a</sup></u>	<u>6.40±0.22<sup>a</sup></u>	<u>6.80±0.20<sup>a</sup></u>	<u>6.20±0.39<sup>a</sup></u>	<u>6.60±0.12<sup>a</sup></u>
Контроль- ная (14)	<u>11.9±0.27<sup>a</sup></u>	<u>13.0±0.38<sup>o</sup></u> +10	<u>12.7±0.44<sup>ab</sup></u>	<u>13.6±0.27<sup>o</sup></u> +15	<u>12.5±0.47<sup>ab</sup></u>	<u>12.8±0.17<sup>o</sup></u> +8
Опытная (14)	<u>14.2±0.44<sup>a</sup></u>	<u>13.7±0.42<sup>a</sup></u>	<u>13.0±0.42<sup>a</sup></u>	<u>11.5±0.36<sup>o</sup></u> -19	<u>13.4±0.40<sup>a</sup></u>	<u>12.2±0.25<sup>o</sup></u> -14
<b>Мальтаза</b>						
Контроль- ная (7)	<u>15.6±0.10<sup>a</sup></u>	<u>16.3±0.20<sup>o</sup></u> +4	<u>16.3±0.17<sup>o</sup></u> +4	<u>16.6±0.12<sup>o</sup></u> +7	<u>16.8±0.23<sup>o</sup></u> +8	<u>16.8±0.37<sup>o</sup></u> +7
Опытная (7)	<u>10.1±0.08<sup>a</sup></u>	<u>10.9±0.27<sup>o</sup></u> +8	<u>10.6±0.34<sup>ab</sup></u>	<u>12.3±0.27<sup>o</sup></u> +22	<u>11.1±0.36<sup>o</sup></u> +11	<u>13.4±0.25<sup>o</sup></u> +33

Примечание: Над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила эффекта в % от контроля (0 мкг/л Раундапа); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в каждой строке, (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; количество исследованных рыб в каждой экспериментальной группе = 5 экз.;  $n = 5$ .

Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике ротана (1+) в присутствии Раундапа *in vitro* у рыб контрольной (30-сут экспозиция без Раундапа) и опытной (30-сут экспозиция в растворе Раундапа в концентрации 2 мкг/л) групп

Группа (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Контроль- ная (12)	<u>4.69±0.10<sup>a</sup></u>	<u>1.97±0.08<sup>b</sup></u>	<u>1.71±0.11<sup>b</sup></u>	<u>1.73±0.17<sup>b</sup></u>	<u>1.92±0.11<sup>b</sup></u>	<u>2.51±0.17<sup>o</sup></u>
		-58	-64	-63	-59	-46
Опытная (12)	<u>2.82±0.11<sup>a</sup></u>	<u>2.45±0.04<sup>o</sup></u>	<u>2.44±0.02<sup>ob</sup></u>	<u>2.22±0.10<sup>b</sup></u>	<u>2.38±0.07<sup>b</sup></u>	<u>2.39±0.08<sup>b</sup></u>
		-13	-13	-21	-16	-15

Примечание: над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила с статистически значимого эффекта в % от контроля (0 мкг/л Раундапа); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в каждой строке (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; количество исследованных рыб в каждой экспериментальной группе = 12 экз.;  $n = 6$ .

Влияние скорости нагрева воды на активность гликозидаз (мкмоль/г · мин) в целом организме ротана (1+) в присутствии Раундапа *in vitro* в осенний период

Скорость нагрева, °С/ч	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
0	<u>8.12±0.12<sup>a</sup></u>	<u>7.24±0.12<sup>B</sup></u> -11	<u>7.52±0.31<sup>об</sup></u>	<u>7.96±0.16<sup>аб</sup></u>	<u>8.58±0.15<sup>a</sup></u>	<u>8.04±0.16<sup>аб</sup></u>
0.02	<u>7.04±0.16<sup>a</sup></u>	<u>6.24±0.28<sup>об</sup></u> -11	<u>6.48±0.20<sup>аб</sup></u>	<u>6.80±0.36<sup>аб</sup></u>	<u>5.68±0.24<sup>B</sup></u> -19	<u>6.16±0.20<sup>об</sup></u> -13
4.2	<u>6.44±0.12<sup>a</sup></u>	<u>7.00±0.19<sup>аб</sup></u>	<u>7.12±0.19<sup>B</sup></u> +11	<u>7.28±0.14<sup>B</sup></u> +13	<u>6.68±0.05<sup>аб</sup></u>	<u>6.92±0.16<sup>абB</sup></u>
8.5	<u>4.76±0.17<sup>a</sup></u>	<u>5.12±0.23<sup>аб</sup></u>	<u>5.12±0.16<sup>аб</sup></u>	<u>5.08±0.14<sup>аб</sup></u>	<u>4.88±0.14<sup>аб</sup></u>	<u>5.32±0.08<sup>б</sup></u> +11
27	<u>7.56±0.17<sup>аб</sup></u>	<u>7.80±0.09<sup>б</sup></u>	<u>7.72±0.05<sup>аб</sup></u>	<u>7.60±0.09<sup>аб</sup></u>	<u>7.36±0.18<sup>a</sup></u>	<u>8.24±0.16<sup>B</sup></u> +9
42	<u>6.40±0.06<sup>a</sup></u>	<u>6.36±0.13<sup>a</sup></u>	<u>6.32±0.15<sup>a</sup></u>	<u>6.48±0.10<sup>a</sup></u>	<u>6.52±0.10<sup>a</sup></u>	<u>7.56±0.20<sup>б</sup></u> +18
<b>Активность мальтазы</b>						
0	<u>8.02±0.16<sup>аб</sup></u>	<u>7.60±0.09<sup>об</sup></u>	<u>7.03±0.07<sup>Г</sup></u> -12	<u>7.53±0.10<sup>б</sup></u>	<u>6.69±0.10<sup>Г</sup></u> -16	<u>8.25±0.31<sup>a</sup></u>
0.02	<u>11.5±0.34<sup>a</sup></u>	<u>9.46±0.44<sup>б</sup></u> -18	<u>18.9±0.31<sup>B</sup></u> +64	<u>19.5±1.17<sup>BГ</sup></u> +70	<u>21.4±0.96<sup>Г</sup></u> +86	<u>20.9±0.60<sup>BГ</sup></u> +81
4.2	<u>21.2±0.33<sup>аб</sup></u>	<u>20.4±0.62<sup>об</sup></u>	<u>22.6±0.20<sup>a</sup></u>	<u>22.1±0.77<sup>аб</sup></u>	<u>18.6±0.87<sup>BГ</sup></u> -12	<u>17.3±1.04<sup>Г</sup></u> -18
8.5	<u>27.3±0.63<sup>a</sup></u>	<u>26.8±1.48<sup>a</sup></u>	<u>26.9±0.83<sup>a</sup></u>	<u>27.4±0.76<sup>a</sup></u>	<u>22.3±1.04<sup>б</sup></u> -19	<u>23.2±0.82<sup>б</sup></u> -15
27	<u>20.5±0.53<sup>a</sup></u>	<u>22.7±0.63<sup>a</sup></u>	<u>11.7±0.61<sup>б</sup></u> -43	<u>9.64±0.56<sup>B</sup></u> -53	<u>15.6±0.72<sup>Г</sup></u> -24	<u>11.6±0.04<sup>б</sup></u> -44
42	<u>11.4±0.13<sup>a</sup></u>	<u>11.0±0.30<sup>a</sup></u>	<u>11.8±0.19<sup>a</sup></u>	<u>9.25±0.76<sup>б</sup></u> -19	<u>12.0±0.05<sup>a</sup></u>	<u>11.1±0.50<sup>a</sup></u>

Примечание: над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила статистически значимого эффекта в % от контроля (0 мкг/л Раундапа); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в каждой строке (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; количество исследованных рыб в каждой экспериментальной группе = 12 экз.;  $n = 6$ .

Таблица 10

Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника карпа (0+) в присутствии Раундапа *in vitro* в зависимости от скорости нагрева воды в осенний период

Скорость нагрева воды, °С/ч	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
0	<u>123.7±3.11<sup>a</sup></u>	<u>131.2±3.20<sup>b</sup></u> +6	<u>132.8±3.62<sup>b</sup></u> +7	<u>129.1±2.0<sup>ab</sup></u>	<u>132.3±1.07<sup>b</sup></u> +7	<u>133.3±3.37<sup>b</sup></u> +8
8	<u>51.5±1.24<sup>a</sup></u>	<u>44.3±0.78<sup>B</sup></u> -14	<u>43.5±0.90<sup>B</sup></u> -16	<u>43.7±0.98<sup>B</sup></u> -15	<u>48.0±0.42<sup>b</sup></u> -7	<u>47.7±0.78<sup>b</sup></u> -7
<b>Мальтаза</b>						
0	<u>42.9±1.15<sup>a</sup></u>	<u>41.8±1.05<sup>a</sup></u>	<u>41.6±0.57<sup>a</sup></u>	<u>41.4±0.89<sup>a</sup></u>	<u>42.6±0.88<sup>a</sup></u>	<u>43.3±0.44<sup>a</sup></u>
8	<u>31.7±1.42<sup>ab</sup></u>	<u>33.9±0.81<sup>бв</sup></u>	<u>31.0±0.89<sup>ab</sup></u>	<u>29.0±0.29<sup>a</sup></u>	<u>35.3±1.19<sup>B</sup></u> +11	<u>33.7±1.40<sup>бв</sup></u>

Примечание: Над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила статистически значимого эффекта в % от контроля (0 мкг/л Раундапа); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в каждой строке, (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; количество исследованных рыб в каждой экспериментальной группе = 12 экз.;  $n = 6$ .

Влияние магнитной бури (в диапазоне частот 0–5 Гц) в отрезок эмбриогенеза 48–72 ч после оплодотворения на активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизи оболочке кишечника сеголетков плотвы в присутствии Раундапа *in vitro*

Условия опыта	Концентрация Раундапа					
	0	0.1	1	10	25	50
<b>Амилолитическая активность</b>						
Контрольная группа	$29.3 \pm 0.94^a$	$26.1 \pm 0.65^o$ –11	$25.7 \pm 0.72^o$ –12	$26.4 \pm 0.17^o$ –10	–	$25.9 \pm 0.74^o$ –12
Магнитная буря	$34.7 \pm 0.89^a$	$22.1 \pm 0.80^b$ –36	$22.9 \pm 1.25^{ob}$ –34	$25.5 \pm 0.98^o$ –27	–	$25.3 \pm 1.09^o$ –27
<b>Мальтаза</b>						
Контрольная группа	$13.4 \pm 0.43^a$	$18.3 \pm 0.56^o$ +37	$17.9 \pm 0.43^o$ +34	$19.9 \pm 0.44^b$ +49	$20.1 \pm 0.27^b$ +50	$22.6 \pm 0.43^r$ +69
Магнитная буря	$13.0 \pm 0.19^a$	$20.9 \pm 0.52^o$ +61	$21.0 \pm 0.79^o$ +62	$21.5 \pm 0.33^o$ +66	$21.3 \pm 0.19^o$ +64	$22.0 \pm 0.57^o$ +69

Примечание. Над чертой – активность гликозидаз ( $M \pm m$ ), под чертой – сила статистически значимого эффекта в % от контроля (0 мкг/л Раундапа); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке, (ANOVA, LSD-test),  $p < 0.05$ ; «–» данные отсутствуют; количество рыб в каждой экспериментальной группе = 20 экз.;  $n = 5$ .