

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГЛИКОЗИДАЗ  
К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ У СЕГОЛЕТКОВ ПЛОТВЫ  
*Rutilus rutilus* (L.) – ПОСЛЕДСТВИЯ ГИПОМАГНИТНЫХ  
УСЛОВИЙ В ПЕРИОД РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА**

© 2019 г. И. Л. Голованова<sup>1</sup>, \*, А. А. Филиппов<sup>1</sup>, В. В. Крылов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Россия

\*e-mail: golovanova5353@mail.ru

Поступила в редакцию 22.01.2017 г.

После доработки 10.03.2017 г.

Принята к публикации 12.05.2017 г.

Исследовано влияние гипомагнитных условий (ГМУ) на разных стадиях раннего онтогенеза (стадия эмбриона и предличинки) на активность пищеварительных гликозидаз (мальтазы, амилолитической активности) и на их чувствительность к раздельному и совместному действию ионов тяжелых металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ ) *in vitro* у сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* (L.). Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию исследованных металлов в концентрации 25 мг/л, и мальтазы к действию  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  усиливается после воздействия ГМУ на эмбрионы и предличинки. Чувствительность мальтазы к ионам  $\text{Cd}^{2+}$  и комбинации ионов  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  повышается лишь после воздействия ГМУ на эмбрионы. После их действия в эмбриональный период эффекты совместного действия ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  (1 : 1), а также  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  (1 : 1) не превышают суммы эффектов отдельных металлов.

**Ключевые слова:** плотва, пищеварительные гликозидазы, гипомагнитные условия, тяжелые металлы, Cu, Zn, Pb, Cd

**DOI:** 10.1134/S0320965219010108

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большинство водоемов подвержено антропогенному загрязнению. Тяжелые металлы (ТМ) и их соединения относятся к числу наиболее опасных загрязнителей пресных вод. Они аккумулируются в тканях гидробионтов и не подвергаются химической биодеградации как органические соединения. ТМ могут присутствовать в водной среде в коллоидной (органической или неорганической), взвешенной и растворимой (или ионной) форме. Наибольшей биологической активностью, как правило, обладают ионные формы металлов либо их липофильные комплексы [3]. Содержание ТМ в гидробионтах часто в десятки и сотни раз превышает таковое в воде [8]. Значительное количество ТМ накапливается в грунтах [12], которые могут быть вторичным источником загрязнения. Cd, Pb, Cu и Zn — одни из самых опасных в экотоксикологическом отношении элементов. При этом Cu и Zn — необходимые микроэлементы, в то время как Pb и Cd таковыми не являются. Попадая в организм рыб вместе с водой и пищей [14], они могут оказывать прямое и опосредованное влияние на морфоло-

гические и функциональные характеристики пищеварительного тракта [17].

Углеводы, несмотря на относительно низкое содержание в естественной пище большинства видов рыб, играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене организма. Об эффективности начальных этапов переваривания углеводов можно судить по активности гликозидаз — ферментов, осуществляющих гидролиз ди- и полисахаридов в пищеварительном тракте. Влияние ТМ на активность пищеварительных гликозидаз рыб показано как в экспериментах *in vivo* [4, 17, 19, 20, 24, 25], так и *in vitro* [1, 5, 17]. Установлено, что чувствительность гликозидаз к действию Cu, Zn и Cd может меняться при действии разных факторов [17], в том числе и магнитного поля [16].

Исходя из того, что геомагнитное поле (ГМП) служит важным экологическим фактором, можно предположить, что при длительном пребывании в условиях ослабления ГМП возможно неблагоприятное воздействие на организм. Работы по влиянию ГМУ на животных свидетельствуют о биологической эффективности этого фактора. В частности, выявлено действие ГМУ на клеточные

структуры разных органов и тканей [6, 22], на процессы развития и регенерации [9, 23]. В ряде работ описана высокая чувствительность эмбрионов некоторых видов животных к данному фактору [2, 7, 15, 21].

Поскольку закладка пищеварительной системы у рыб происходит в эмбриональном периоде, а ее формирование завершается к концу личиночного периода, представляет интерес оценка действия ГМУ на стадии свободного эмбриона (предличинки). Сведения об отдаленных последствиях влияния ГМУ в период раннего онтогенеза на активность пищеварительных гликозидаз и их чувствительность к действию ТМ отсутствуют.

Цель работы – изучить активность гликозидаз и их чувствительность к действию ионов ТМ ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ ) у сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* (L.), подвергавшихся действию ГМУ на разных стадиях эмбрионеза.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспозиции в ГМУ подвергали развивающиеся эмбрионы плотвы. Половые продукты были получены от трех самок и трех самцов, выловленных неводом на нерестилище Рыбинского водохранилища в мае 2014 г. Осемененную сухим способом икру (~3 тыс. шт. в каждом варианте опыта) помещали в кристаллизаторы с речной водой, которую меняли дважды в сутки. Эмбрионы развивались при температуре 16–19°C. Опыты проводили во время спокойной геомагнитной обстановки.

Схема эксперимента включала два варианта воздействия ГМУ: 1) от оплодотворения до вылупления предличинок (0–163 ч после оплодотворения (п.о.)), 2) от вылупления предличинок до появления у них плавательного пузыря (163–211 ч п.о.). Эмбрионы и предличинки из контрольного варианта находились в условиях естественного ГМП (интенсивность 51.7 мкТл, наклонение 72°05'). Для создания ГМУ использовали три пары взаимно ортогональных колец Гельмгольца (диаметр 0.5 м) и три источника постоянного тока (АКИП-1103, Manson Engineering Industrial Ltd., Китай). Перед каждым экспериментом с помощью трехкомпонентного магнитометра НВ0302А (НПО ЭНТ, Санкт-Петербург) определяли напряженность и направление вектора ГМП в месте проведения экспериментов. После этого систему колец Гельмгольца размещали таким образом, чтобы оси системы совпали с направлением трех компонент ГМП. Для создания ГМУ на обмотку каждой пары колец Гельмгольца подавали ток такой силы, чтобы генерируемое магнитное поле было равным по силе и противоположно направленным вектору ГМП по каждой компоненте.

При этом генерируемое в центре системы колец Гельмгольца постоянное магнитное поле в значительной степени компенсировало ГМП за счет суперпозиции. Непосредственно перед экспериментом и после него ГМУ в центре системы колец Гельмгольца контролировали с помощью магнитометра НВ0302А (НПО ЭНТ). По результатам измерений неоднородность ГМУ в рабочем объеме колец Гельмгольца, занимаемом кристаллизатором с развивающимися эмбрионами, была  $0 \pm \pm 200$  нТл.

Отдаленные последствия влияния ГМУ на активность гликозидаз и их чувствительность к действию ТМ оценивали у четырехмесячной молодежи плотвы. Для биохимического анализа использовали по 30 экз. сеголетков из контрольной и экспериментальных групп. У рыб, обездвиженных ударом по голове, вскрывали брюшную полость, извлекали кишечники, помещали их на стекло ледяной бани и освобождали от химуса. Затем при помощи стеклянного гомогенизатора готовили суммарные гомогенаты медиального отдела кишечника от 6 экз. рыб каждой экспериментальной группы (которые считали за одну повторность) с добавлением охлажденного до 2–4°C раствора Рингера для холоднокровных животных ( $\text{NaCl} - 110$  мМ,  $\text{KCl} - 1.9$  мМ,  $\text{CaCl}_2 - 1.3$  мМ, рН 7.4) в соотношении 1 : 9. Его же использовали для растворов субстратов (растворимый картофельный крахмал в концентрации 18 г/л, а также мальтоза в концентрации 50 ммоль/л). Инкубацию гомогената и субстрата проводили в течение 20–30 мин при температуре 20°C, рН 7.4 и непрерывном перемешивании. При изучении влияния ТМ гомогенаты предварительно инкубировали в присутствии солей меди  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , цинка  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , свинца  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  или кадмия  $\text{CdSO}_4$  в течение 1 ч, или их смесей в соотношении 1 : 1. Концентрация ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$ , рассчитанная по общему содержанию металла в соли, была равна 25.0 мг/л. Такая концентрация металлов может встречаться в тканях рыб и объектов их питания [8].

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20), оценивали по приросту гексоз модифицированным методом Нельсона [10]. Для определения активности мальтазы глюкозооксидазным методом применяли набор для клинической биохимии “Фотоглюкоза” (“Импакт”, Россия). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin&Elmer, США) при длине волны 670 нм (амилолитическая активность) и 505 нм (активность мальтазы). Активность ферментов определяли в пяти повторностях с учетом фона (количества конечных продуктов реакции в исходном го-

**Таблица 1.** Уровень амилолитической активности (мкмоль/(г · мин)) в кишечнике молоди плотвы контрольной (ГМП) и экспериментальных (ГМУ) групп в присутствии ионов тяжелых металлов *in vitro*

Ионы металлов, 25 мг/л	ГМП (контроль)	Экспозиция в ГМУ	
		0–163 ч п.о.	163–211 ч п.о.
Отсутствуют	16.80 ± 0.53 <sup>a</sup>	16.40 ± 0.27 <sup>a</sup>	13.73 ± 0.16 <sup>б</sup>
Cu <sup>2+</sup>	2.61 ± 0.15 <sup>д</sup>	1.15 ± 0.17 <sup>г</sup>	0.66 ± 0.11 <sup>г</sup>
Zn <sup>2+</sup>	11.26 ± 0.42 <sup>г</sup>	12.27 ± 0.46 <sup>б</sup>	6.01 ± 0.11 <sup>б</sup>
Cu <sup>2+</sup> + Zn <sup>2+</sup>	1.55 ± 0.23 <sup>е</sup>	0.77 ± 0.10 <sup>г</sup>	0.64 ± 0.16 <sup>г</sup>
Pb <sup>2+</sup>	13.01 ± 0.27 <sup>б</sup>	13.97 ± 0.21 <sup>б</sup>	9.98 ± 0.35 <sup>б</sup>
Cd <sup>2+</sup>	14.72 ± 0.27 <sup>б</sup>	12.36 ± 0.23 <sup>б</sup>	10.54 ± 0.26 <sup>б</sup>
Pb <sup>2+</sup> + Cd <sup>2+</sup>	12.80 ± 0.50 <sup>б</sup>	11.93 ± 0.19 <sup>б</sup>	10.28 ± 0.28 <sup>б</sup>

Примечание. Здесь и в табл. 2 указаны средние значения ± ошибка; ГМП – геомагнитное поле; ГМУ – гипомагнитные условия; надстрочные индексы указывают на статистически достоверные различия между показателями в столбце (ANOVA, LSD-test),  $p \leq 0.05$ .

**Таблица 2.** Активность мальтазы (мкмоль/(г · мин)) в кишечнике молоди плотвы контрольной (ГМП) и экспериментальных (ГМУ) групп в присутствии ионов тяжелых металлов *in vitro*

Ионы металлов, 25 мг/л	ГМП (контроль)	Экспозиция в ГМУ	
		0–163 ч п.о.	163–211 ч п.о.
Отсутствуют	10.39 ± 0.12 <sup>a</sup>	10.08 ± 0.44 <sup>a</sup>	9.04 ± 0.39 <sup>a</sup>
Cu <sup>2+</sup>	9.85 ± 0.35 <sup>a</sup>	9.49 ± 0.47 <sup>a</sup>	9.95 ± 0.54 <sup>a</sup>
Zn <sup>2+</sup>	11.39 ± 0.89 <sup>a</sup>	8.40 ± 0.45 <sup>б</sup>	7.38 ± 0.16 <sup>б</sup>
Cu <sup>2+</sup> + Zn <sup>2+</sup>	7.11 ± 0.32 <sup>б</sup>	8.77 ± 0.39 <sup>б</sup>	8.71 ± 0.08 <sup>a</sup>
Pb <sup>2+</sup>	11.83 ± 0.19 <sup>б</sup>	8.02 ± 0.10 <sup>б,в</sup>	7.55 ± 0.34 <sup>б</sup>
Cd <sup>2+</sup>	10.12 ± 0.33 <sup>a</sup>	7.08 ± 0.09 <sup>б</sup>	9.06 ± 0.74 <sup>a</sup>
Pb <sup>2+</sup> + Cd <sup>2+</sup>	12.26 ± 0.20 <sup>б</sup>	8.51 ± 0.34 <sup>б</sup>	9.93 ± 0.48 <sup>a</sup>

могенате) и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г · мин)).

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ( $M \pm m$ ). Нормальность распределения исследуемых показателей проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка. При сравнении результатов проводили однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующей оценкой достоверности различий при помощи LSD-теста,  $p \leq 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Длина ( $8.10 \pm 0.06$  см) и масса ( $9.41 \pm 0.17$  г) сеголетков, подвергавшихся действию ГМУ на стадии эмбрионов, выше соответственно на 17 и 50%, чем у рыб, развивавшихся в условиях ГМП ( $6.90 \pm 0.11$  см и  $6.29 \pm 0.27$  г). У рыб, подвергавшихся действию ГМУ на стадии предличинки, длина ( $5.39 \pm 0.06$  см) и масса ( $2.69 \pm 0.08$  г) тела, напротив, на 22 и 57% ниже, чем у особей, развитие которых проходило в ГМП.

Активность гликозидаз в отсутствие ионов металлов у рыб, развивавшихся в ГМП и подвергнутых действию ГМУ на стадии эмбриона, не различалась, однако, после воздействия ГМУ на стадии предличинки амилолитическая активность была ниже контроля на 18%, активность мальтазы – на 13% (табл. 1 и 2).

Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  у сеголетков плотвы, как правило, увеличивалась при действии ГМУ как на стадии эмбриона, так и предличинки (табл. 1). Исключение составляли варианты опыта с ионами  $Zn^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  после действия ГМУ на эмбрионы. Так, амилолитическая активность в присутствии ионов  $Cu^{2+}$  была ниже таковой в отсутствие металла соответственно на 93 и 95% после действия ГМУ на стадии эмбриона и предличинки (у рыб, развивавшихся в условиях ГМП, ниже на 84%). Ионы  $Zn^{2+}$  вызывали меньшее снижение амилолитической активности (до 56%), чем ионы  $Cu^{2+}$ , а их совместное действие не оказывало кумулятивного эффекта. Торможение

амилолитической активности в присутствии ионов  $Pb^{2+}$  составило 15 и 27% от таковой в отсутствие металла, ионов  $Cd^{2+}$  – 23 и 25% соответственно у рыб, развивавшихся в ГМУ на стадии эмбриона и предличинки. Совместное действие  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  не превышало суммы эффекта отдельных ионов.

Чувствительность мальтазы к действию ионов  $Zn^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  усиливалось при действии ГМУ на стадии эмбриона и предличинки, ионов  $Cd^{2+}$  и  $Pb^{2+} + Cd^{2+}$  – лишь на стадии эмбриона (табл. 2). При действии ГМУ на эмбрионы активность мальтазы снижалась в присутствии ионов  $Zn^{2+}$  на 17%, ионов  $Cu^{2+} + Zn^{2+}$  на 13%, ионов  $Pb^{2+}$  на 20%, ионов  $Cd^{2+}$  на 30%, ионов  $Pb^{2+} + Cd^{2+}$  на 16% от таковой в отсутствие металла. В присутствии ионов  $Cu^{2+}$  активность мальтазы не изменялась ни в одном из вариантов опыта.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее установлено, что пребывание в ГМУ приводит к нарушению ряда морфологических и физиолого-биохимических показателей организма [2, 6, 13, 15, 21, 22]. Выявлено, что ГМУ негативно влияют на эмбриональные клетки и на процессы раннего эмбриогенеза у млекопитающих [2, 7, 15] и земноводных [13, 21] в целом.

При действии ГМУ на эмбрионы в период от оплодотворения до вылупления предличинки (0–163 ч п.о.) не зарегистрированы изменения активности пищеварительных гликозидаз. Однако, пребывание в ГМУ на стадии предличинки (163–211 ч п.о.) приводит к снижению амилолитической активности и активности мальтазы в кишечнике сеголетков. Возможно, это связано с влиянием ГМУ на развитие гепатопанкреаса и щеточной каймы клеток кишечного эпителия во время формирования необходимого набора ферментов для переваривания углеводов к концу стадии предличинки.

Экспозиция эмбрионов плотвы в ГМУ, как правило, повышает чувствительность гликозидаз в кишечнике молоди к действию ионов  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$ . Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов указанных металлов, и мальтазы к действию  $Zn^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  усиливается после действия ГМУ как на эмбрионы, так и на предличинки. Чувствительность мальтазы к ионам  $Cd^{2+}$  и комбинации ионов  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  была выше лишь после воздействия ГМУ на эмбрионы.

Установлено, что чувствительность кишечных гликозидаз к действию ТМ может меняться при действии ряда биотических и абиотических факторов [16, 17]. Устойчивость гликозидаз к действию ионов  $Cd^{2+}$  повышается с возрастом рыб и при переходе от сытого состояния к голодному.

Резкое повышение температуры воды, ацидификация водоема и хроническое действие метилртути повышают чувствительность гликозидаз к действию ионов  $Cd^{2+}$  [16]. Изменение локального магнитного поля на величину 500 нТл в период до гастрюляции (в течение первых шести часов п.о.) повышает чувствительность мальтазы и ферментов, гидролизующих крахмал, у сеголетков плотвы к действию ионов  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+} + Zn^{2+}$  (25 мг/л) [11]. Действие имитации магнитной бури, воспроизведенной в диапазоне частот 0–5 Гц в период 48–72 ч п.о., не меняло амилолитическую активность и активность мальтазы в кишечнике сеголетков плотвы, но повышало чувствительность гликозидаз к действию ионов  $Cu^{2+}$  (исключая мальтазу) и  $Zn^{2+}$  в концентрации 0.1–25 мг/л [17]. Большая чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  по сравнению с мальтазой, выявленная авторами и в работе [16], согласуется с данными о большей чувствительности к действию антропогенных факторов панкреатических ферментов по сравнению с собственно мембранными [16]. Это может быть связано с разным влиянием факторов среды на процессы синтеза панкреатических ( $\alpha$ -амилаза) и собственно кишечных ферментов. Поскольку существует несколько изоформ  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы, нельзя исключить и молекулярную разнокачественность гликозидаз, функционирующих в кишечнике сеголетков плотвы контрольной и опытных групп.

Эффект совместного действия ионов  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ , а также  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  на активность гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы после действия ГМУ в период эмбриогенеза не превышал суммы эффектов отдельных металлов или даже эффекта одного из металлов, что согласуется с ранее полученными данными [17]. Усиление совместного действия ионов  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  в концентрации 25 мг/л на амилолитическую активность и активность мальтазы показано лишь у сеголетков, развивавшихся в условиях ГМП. Токсичность смеси металлов зависит от синергизма и антагонизма входящих в ее состав ионов. Синергический тормозящий эффект  $Cd^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  (в концентрации 0.06 + 0.06 мг/л) *in vivo* был выявлен при изучении амилазной активности у индийского карпа *Cirrhinus mrigala* Bloch [24]. На примере мозамбикской тилпии *Oreochromis mosambicus* Peters показано, что сочетание  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ , а также  $Cd^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  более токсично вследствие синергического эффекта этих металлов [18]. Полагают, что взаимовлияние ионов ТМ на токсичность связано со способностью конкурентно занимать определенные сайты в биологически значимых макромолекулах, приводя к изменению их функционирования. При этом токсичность определяется ионами, обладающими наибольшим сродством. Механизм ток-

сического действия Cu, Zn, Pb и Cd на пищеварительные ферменты до сих пор не изучен, и, по-видимому, неспецифичен. Общее токсическое действие ТМ заключается в блокировании различных биохимических реакций посредством связывания функциональных —SH-групп белков или вытеснения микроэлементов из активных центров ферментов [16]. Торможение активности кишечных гликозидаз в присутствии ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  может приводить к снижению утилизации пищи, уменьшая скорость метаболизма и, как следствие, скорость роста рыб.

**Выводы.** Активность гликозидаз в кишечнике сеголетков плотвы и чувствительность этих ферментов к действию ионов ТМ зависит от магнитных условий, в которых проходило эмбриональное развитие рыб. Снижение активности пищеварительных гликозидаз отмечено после воздействия ГМУ на стадии предличинки, но не на стадии эмбриона. Усиление чувствительности ферментов, гидролизующих крахмал, к действию исследованных металлов выявлено после экспозиции эмбрионов в ГМУ как на стадии эмбриона, так и предличинки. Торможение активности гликозидаз при действии ГМУ в период раннего эмбриогенеза, сопровождающееся усилением негативного действия ТМ, снижает скорость начальных этапов ассимиляции углеводов в кишечнике рыб, приводя к уменьшению эффективности усвоения пищи.

Работа выполнена и в рамках государственного задания № АААА-А18-118012690102-9.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бедняков Д.А. Структурно-функциональные особенности мембранного пищеварения у осетрообразных видов рыб и их гибридов: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. Астрахань, 2014. 44 с.
2. Королев В.А., Захарова М.В., Ярмолюк Н.С. Особенности репродуктивного процесса у крыс в условиях электромагнитного экранирования // Уч. зап. Крымск. фед. ун-та им. В.И. Вернадского. Биология. Химия. 2009. Т. 22. № 3. С. 68–74.
3. Линник Л.П., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. Л.: Гидрометеоздат, 1986. 270 с.
4. Малышева Т.Д., Василевский В.С. Влияние избытка кишечного цинка на активность пищеварительных ферментов карпа // Гидробиол. журн. 1992. Т. 28. № 4. С. 45–52.
5. Неваленный А.Н., Туктаров А.В., Бедняков Д.А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб. Астрахань: Астрахан. гос. техн. ун-т, 2003. 152 с.
6. Новиков С.М., Максимов Г.В., Волков В.В., Шалыгин А.Н. Исследование действия ослабленного постоянного магнитного поля на возбудимость нервной клетки // Биофизика. 2008. Т. 53. № 3. С. 519–523.
7. Осипенко М.А., Межевикина Л.М., Крафтс И.В. и др. Влияние “нулевого” магнитного поля на рост эмбриональных клеток и ранних зародышей мыши в культуре *in vitro* // Биофизика. 2008. Т. 53. № 4. С. 705–714.
8. Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. СПб.: Гос. НИИ озер. и реч. рыб. хоз-ва, 1999. 228 с.
9. Темурияц Н.А., Демциун Н.А., Костюк А.С., Ярмолюк Н.С. Особенности регенерации планарии *Dugesia tigrina* и ноцицепции моллюсков *Helix albescens* в условиях слабого электромагнитного экранирования // Геофизические процессы и биосфера. 2011. Т. 10. № 4. С. 66–80.
10. Уголев А.М. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.
11. Филиппов А.А., Крылов В.В., Голованова И.Л. Влияние флуктуаций локального магнитного поля во время эмбриогенеза на чувствительность пищеварительных гликозидаз сеголетков плотвы к *in vitro* действию меди, цинка и гербицида Раундап // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Серия: Рыбное хозяйство. 2015. № 3. С. 119–125.
12. Флеров Б.А., Томилина И.И., Кливленд Л. и др. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища // Биология внутр. вод. 2000. № 2. С. 148–155.
13. Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C.J. Magnetic Shielding Induces Early Developmental Abnormalities in the Newt, *Cynops pyrrhogaster* // Bioelectromagnetics. 1991. V. 12. P. 215–224.
14. Bury N.R., Walker P.A., Glover C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish // J. Exp. Biol. 2003. V. 206. № 1. P. 11–23.
15. Fesenko E.E., Mezhevnikina L.M., Osipenko M.A. et al. Effect of the “zero” Magnetic Field on Early Embryogenesis in Mice // Electromagn. Biol. Med. 2010. V. 29. P. 1–8.
16. Golovanova I.L. Effect of heavy metals on the physiological and biochemical status of fishes and aquatic invertebrates // Inland Water Biol., 2008, V. 1, № 1, pp. 93–101. doi 10.1007/s12212-008-1014-1
17. Filippov A.A., Aminov A.I., Golovanova I.L. et al. Effect of magnetic storm on the sensitivity of juvenile roach intestinal glycosidase to heavy metals (Cu, Zn) and the herbicide Roundup // Inland Water Biol. 2015. V. 8. № 4. pp. 417–420. doi 10.1134/S1995082915040070
18. James R., Sampath K., Sivakumar V., Manthiramoorthy S. Individual and combined effects of heavy metals on survival and biochemistry of *Oreochromis mossambicus* Peters // Indian J. Fish. 1991. V. 38. № 1. P. 49–54.
19. Jiang H., Kong X., Wang S., Guo H. Effect of Copper on Growth, Digestive and Antioxidant Enzyme Activities of Juvenile Qihe Crucian Carp, *Carassius carassius*, During Exposure and Recovery // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2016. V. 96. № 3. P. 333–340.
20. Li J.-S., Li J.-L., Wu T.-T. The effects of copper, iron and zinc on digestive enzyme activity in the hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) × *Oreochromis aureus* (Steindachner) // J. Fish Biol. 2007. V. 71. № 6. P. 1788–1798.

21. Mo W.-Ch., Liu Y., Cooper H.M., He R.-Q. Altered Development of *Xenopus* Embryos in a Hypogeomagnetic Field // *Bioelectromagnetics*. 2012. V. 33. № 3. P. 238–246.
22. Nepomnyashchikh L.M., Lushnikova E.L., Klinnikova M.G. et al. Effect of hypogeomagnetic field on tissue and intracellular reorganization of mouse myocardium // *Bull. Exp. Biol. Med.* 1997. V. 124. № 4. P. 1021–1024.
23. Novikov V.V., Sheiman I.M., Fesenko E.E. Multimodal Effects of Nearly Complete Geomagnetic Field Deprivation on Fission of the Planarian *Dugesia tigrina* // *Biophysics*. 2007. V. 52. № 5. P. 498.
24. Rani S., Gupta R.K., Kanikatehri. Zinc and Cadmium Induced Changes in the Proteolytic and Amylolytic Enzyme Activity in Indian Major Carps // *The Bioscan*. 2015. V. 10. P. 613–616.
25. Tang Q.Q., Feng L., Jiang W.D. et al. Effects of Dietary Copper on Growth, Digestive, and Brush Border Enzyme Activities and Antioxidant Defense of Hepatopancreas and Intestine for Young Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) // *Biol. Trace. Elem. Res.* 2013. V. 155. № 3. P. 370–380.

## Sensitivity of Digestive Glycosidases to Heavy Metals in Roach *Rutilus rutilus* (L.) Yearlings: The Consequences of Hypogeomagnetic Conditions During the Early Ontogenesis

I. L. Golovanova<sup>a,\*</sup>, A. A. Filippov<sup>a</sup>, and V. V. Krylov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, 152742 Russia*

\*e-mail: golovanova5353@mail.ru

The effect of roach *Rutilus rutilus* (L.) embryos and prelarvae exposure to hypogeomagnetic conditions on the activity of digestive glycosidase (maltase, amylolytic activity) in juveniles and the *in vitro* sensitivity of the digestive glycosidase to the ions of heavy metals ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ ) have been studied. The sensitivity of starch-hydrolyzing enzymes, to all studied metals (in concentration 25 mg/L) and the sensitivity of maltase to  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  were increased in fish exposed to hypogeomagnetic conditions as embryos or prelarvae. The sensitivity of maltase to  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  was increased in fish exposed to hypogeomagnetic conditions only as embryos. The joint effects of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  (1:1) or  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  (1:1) on the activity of intestinal glycosidases in fish exposed to hypogeomagnetic conditions were less than the sum of effects observed in separate tests with these ions.

**Keywords:** roach, digestive glycosidase, hypomagnetic conditions, heavy metals, Cu, Zn, Pb, Cd