

ВЛИЯНИЕ РАУНДАПА НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ В КИШЕЧНИКЕ ТИПИЧНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНЫХ ИХТИОФАГОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ И pH

© 2020 г. А. И. Аминов^а, И. Л. Голованова^{б, *}

^аЯрославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

^бИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: golovanova5353@mail.ru

Поступила в редакцию 18.10.2018 г.

После доработки 06.02.2019 г.

Принята к публикации 09.04.2019 г.

Изучение *in vitro* действия гербицида Раундап (25 мкг/л) на активность гликозидаз, гидролизующих крахмал, в слизистой оболочке и химусе кишечника типичных (щука *Esox lucius* L., судак *Sander lucioperca* (L.), сом *Silurus glanis* L.) и факультативных (налим *Lota lota* (L.), окунь *Perca fluviatilis* L.) ихтиофагов выявило зависимость силы и направленности эффекта от вида рыб, локализации ферментов, а также от температуры и pH. Наибольший тормозящий эффект Раундап оказывает на амилолитическую активность, как слизистой оболочки кишечника, так и химуса при кислых значениях pH. Снижение температуры при нейтральных значениях pH, как правило, нивелирует тормозящий эффект Раундапа на гликозидазы слизистой оболочки, при кислых – усиливает его.

Ключевые слова: рыбы, ихтиофаги, пищеварение, гликозидазы, слизистая оболочка кишечника, химус, гербицид Раундап, температура, pH

DOI: 10.31857/S0320965220020023

ВВЕДЕНИЕ

Растущее применение глифосатсодержащих гербицидов для контроля роста сорняков в сельском, лесном и водном хозяйстве увеличивает риск их воздействия на нецелевые организмы, в том числе и гидробионтов. Глифосат (N-(phosphonomethyl) glycine) описан производителем как пестицид с низкой токсичностью, что продемонстрировано в ряде работ на водных животных (Kier, Kirkland, 2013; Le Mer et al., 2013; Sanden et al., 2011; Tsui, Chu, 2008). Период полураспада глифосата в воде составляет 7–14 сут, в донных отложениях водоемов – до 120 сут (Giesy et al., 2000), в его разложении активное участие принимает микробиота (Sviridov et al., 2015). Несмотря на то, что глифосат в водной среде весьма нестабилен, попадая в организм гидробионтов, он включается в метаболизм и приводит к развитию ранних биологических эффектов (Голованова, Аминов, 2017; Annett et al., 2014; Gill et al., 2018). Максимальная допустимая концентрации его для воды рыбохозяйственных водоемов в России составляет 1 мкг/л (Перечень..., 1999), в США – не выше 700 мкг/л (USEPA, 2003). Раундап, созданный на основе

изопропиламиновой соли глифосата, – наиболее известный и широко применяемый в мировой практике гербицид (Benbrook, 2016). Полулетальная концентрация Раундапа (ЛК₅₀) за 96 ч для большинства видов рыб находится в диапазоне 2–55 мг/л, в зависимости от вида и стадии жизненного цикла (Giesy et al., 2000). Полиоксиэтиленамин (поверхностно-активное вещество, входящее в состав Раундапа) может быть более токсичен, чем активный ингредиент глифосат или Раундап (Tsui, Chu, 2003).

Многочисленные исследования показали, что у рыб, занимающих вершину водной трофической цепи, Раундап нарушает процессы развития (Webster et al., 2014), изменяет поведение (Sinhorin et al., 2014), морфологические (Rossi et al., 2011) и физиолого-биохимические показатели организма (Голованова и др., 2013; Annett et al., 2014; Gholami-Seyedkolaei et al., 2013; Gill et al., 2018; Kuz'mina et al., 2017), оказывает мутагенный и генотоксический эффект (Filho et al., 2013; Gholami-Seyedkolaei et al., 2013), приводит к развитию окислительного стресса и изменению активности антиоксидантных (De Moura et al., 2017; Nwani et al., 2013) и холинэргических ферментов (Gholami-Seyedkolaei et al., 2013; Sánchez et al., 2017). Изменения некоторых показателей угле-

Сокращения: АА – амилолитическая активность; ЛК₅₀ – полулетальная концентрация Раундапа.

водного обмена у рыб выявлены при действии Раундапа как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Так, пребывание в растворе Раундапа концентрацией 4 мкг/л в течение 14 сут приводило к повышению активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в жабрах, печени и белых мышцах, а также к снижению концентрации глюкозы в мозге и печени двухлетков карпа *Cyprinus carpio* (L.) (Жиденко и др., 2009). Снижение АА в кишечнике молоди ротана *Percocottus glenii* Dybowski отмечено при 30-суточной экспозиции в растворе Раундапа концентрацией 2 мкг/л. Активность мальтазы при этом не менялась, однако, увеличение константы Михаэлиса гидролиза мальтозы свидетельствует о снижении фермент-субстратного сродства при хроническом действии гербицида (Голованова и др., 2013). Повышение активности амилазы в кишечнике молоди лепорины *Leporinus obtusidens* (Valenciennes) выявлено через 90 сут воздействия Раундапа в концентрации 1 и 5 мг/л. Потребление пищи при этом не менялось, однако рост рыб снижался (Salbeo et al., 2014). В экспериментах *in vitro* показано, что АА, а также активность мальтазы и сахаразы в кишечнике ряда видов пресноводных рыб в присутствии Раундапа в концентрациях 0.1–50 мкг/л изменяется разнонаправленно (Голованова, Аминов, 2011, 2017). При этом гликозидазы кишечника рыб бентофагов, особенно плотвы *Rutilus rutilus* (L.) и язя *Leuciscus idus* (L.), более чувствительны к действию гербицида, по сравнению с планктофагом тюлькой *Clupeonella cultriventris* (Nordmann) и типичными ихтиофагами — щукой *Esox lucius* L., судаком *Sander lucioperca* (L.) и сомом *Silurus glanis* L. Показано, что у молоди рыб чувствительность гликозидаз к Раундапу зависит от температуры и рН инкубационной среды (Голованова, Аминов, 2011), однако, для взрослых рыб такие данные отсутствуют.

Цель работы — изучить *in vitro* активность гликозидаз в слизистой оболочке и химусе кишечника половозрелых рыб-ихтиофагов в присутствии Раундапа в диапазоне физиологических значений температуры и рН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили типичные ихтиофаги (щука массой 910 ± 25 г, судак массой 1400 ± 78 г, сом массой 16275 ± 1907 г) и ихтиофаги-факультативные бентофаги (речной окунь *Perca fluviatilis* L. массой 250 ± 17 г и налима *Lota lota* (L.) массой 847 ± 131 г). Рыб отлавливали ставными сетями или тралом в летне-осенний период (налима зимой) в Рыбинском водохранилище ($58^{\circ}30'$ с.ш., $38^{\circ}30'$ в.д.) и в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию. Затем рыб обездвигивали, извлекали кишечник, помещали его на стекло ледяной бани и очищали от жира и прилегающих тканей. Кишечник разрезали вдоль, отбирали со-

держимое (химус) (у окуня он отсутствовал) и специальным скребком снимали слизистую оболочку. В работе использовали индивидуальные гомогенаты слизистой оболочки или химуса среднего отдела кишечника у восьми экземпляров окуня и налима, семи экземпляров щуки и судака, четырех экземпляров сома. Пробы гомогенировали с добавлением охлажденного до $2-4^{\circ}\text{C}$ раствора Рингера для холоднокровных животных (110 ммоль NaCl, 1.9 ммоль KCl, 1.3 ммоль CaCl_2 , рН 7.4) в соотношении 1 : 9 (масса/объем). Раствор субстрата (растворимый крахмал концентрацией 18 г/л) готовили на таком же растворе Рингера. Гомогенаты использовали сразу после приготовления либо после хранения в герметичных контейнерах при температуре -18°C . При хранении гомогенатов в этих условиях активность панкреатических ферментов сохраняется в течение четырех месяцев, мембранных ферментов — до двух лет (Solovyev, Gisbert, 2016).

В работе использовали коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название “Раундап” (произведен и расфасован ЗАО “Август” (Россия) по лицензии фирмы “Монсанто Европа С.А.” (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-ный водный раствор глифосата, дополнительные ингредиенты в аннотации не указаны. Для оценки влияния гербицида на АА 0.25 мл гомогената предварительно инкубировали с 0.25 мл Раундапа (50 мкг/л по глифосату) в течение одного часа, создавая действующую концентрацию токсиканта 25 мкг/л. Затем добавляли 0.5 мл субстрата и продолжали инкубацию в течение 20–60 мин при непрерывном перемешивании. Инкубацию проводили как при стандартных условиях (температура 20°C и рН 7.4), так и в более широких диапазонах температуры (0, 10, 20°C) и рН (5, 7.4, 8.3), отражающих естественные колебания этих показателей в природных водоемах и пищеварительном тракте рыб. Концентрация Раундапа 25 мкг/л соответствует содержанию глифосата в воде и донных отложениях в районах применения гербицида (Aparicio et al., 2013; Struger et al., 2008).

Уровень АА, отражающий суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал (α -амилаза КФ 3.2.1.1, глюкоамилаза КФ 3.2.1.3 и мальтаза КФ 3.2.1.20) оценивали по приросту гексоз модифицированным методом Нельсона (Уголев и др. 1969). Активность ферментов определяли в трех–пяти биохимических повторностях и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г · мин)) с учетом фона (количество глюкозы в исходном гомогенате). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin&Elmer, США) при длине волны 670 нм.

Таблица 1. Амилотическая активность в слизистой оболочке и химусе кишечника рыб-ихтиофагов в отсутствие/присутствии Раундапа при разных значениях температуры и рН

Вид	рН	АА в слизистой оболочке кишечника при $T, ^\circ\text{C}$			АА в химусе кишечника при $T, ^\circ\text{C}$		
		0	10	20	0	10	20
Окунь	5.0	$0.21 \pm 0.01^{***}$	$0.36 \pm 0.01^{***}$	$0.50 \pm 0.02^{***}$	—	—	—
		0.03 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.01	—	—	—
	7.4	0.23 ± 0.02	$0.53 \pm 0.02^{***}$	$0.96 \pm 0.01^{***}$	—	—	—
		0.19 ± 0.02	0.69 ± 0.03	0.69 ± 0.02	—	—	—
	8.3	$0.13 \pm 0.02^{***}$	$0.45 \pm 0.02^*$	0.65 ± 0.01	—	—	—
		0.17 ± 0.01	0.51 ± 0.02	0.69 ± 0.02	—	—	—
Налим	5.0	$0.23 \pm 0.01^{**}$	$0.50 \pm 0.00^{**}$	$0.79 \pm 0.02^{**}$	$0.30 \pm 0.02^{**}$	$0.45 \pm 0.01^{**}$	$0.71 \pm 0.02^*$
		0.10 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.56 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.37 ± 0.02
	7.4	0.24 ± 0.02	0.54 ± 0.02	$0.88 \pm 0.02^{**}$	$0.21 \pm 0.00^{**}$	0.43 ± 0.00	0.74 ± 0.02
		0.26 ± 0.01	0.54 ± 0.02	0.72 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.69 ± 0.01
	8.3	0.22 ± 0.01	$0.55 \pm 0.01^{**}$	0.86 ± 0.01	0.15 ± 0.01	$0.38 \pm 0.01^*$	0.58 ± 0.01
		0.25 ± 0.01	0.59 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.58 ± 0.01
Щука	5.0	$0.13 \pm 0.01^{**}$	$0.36 \pm 0.00^*$	$0.70 \pm 0.01^*$	$0.17 \pm 0.00^{**}$	$0.37 \pm 0.02^{**}$	$0.77 \pm 0.01^{**}$
		0.08 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.62 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.45 ± 0.02
	7.4	0.19 ± 0.01	$0.47 \pm 0.01^*$	0.71 ± 0.02	$0.36 \pm 0.01^*$	$0.49 \pm 0.01^*$	$1.03 \pm 0.01^{**}$
		0.20 ± 0.01	0.52 ± 0.01	0.68 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.94 ± 0.01
	8.3	0.18 ± 0.01	$0.37 \pm 0.00^{***}$	$0.71 \pm 0.00^{**}$	$0.33 \pm 0.01^{**}$	$0.47 \pm 0.00^{**}$	$0.79 \pm 0.01^{**}$
		0.18 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.60 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.54 ± 0.02
Судак	5.0	$0.21 \pm 0.02^{***}$	$0.21 \pm 0.03^{**}$	$0.29 \pm 0.00^{**}$	$0.15 \pm 0.01^*$	0.12 ± 0.01	$0.26 \pm 0.01^*$
		0.06 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.20 ± 0.01
	7.4	0.19 ± 0.02	0.19 ± 0.01	$0.32 \pm 0.00^{**}$	$0.08 \pm 0.01^*$	0.18 ± 0.02	0.24 ± 0.01
		0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.25 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.23 ± 0.01
	8.3	0.13 ± 0.01	$0.21 \pm 0.00^{**}$	$0.26 \pm 0.01^{**}$	$0.05 \pm 0.01^*$	0.08 ± 0.01	$0.15 \pm 0.01^*$
		0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.02 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.10 ± 0.01
Сом	5.0	0.13 ± 0.01	$0.18 \pm 0.00^*$	$0.28 \pm 0.00^{**}$	$0.49 \pm 0.00^*$	$0.69 \pm 0.01^*$	$1.28 \pm 0.02^{**}$
		0.14 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.39 ± 0.00	0.62 ± 0.01	1.08 ± 0.01
	7.4	$0.22 \pm 0.01^*$	0.27 ± 0.01	$0.34 \pm 0.01^{**}$	0.62 ± 0.01	0.77 ± 0.01	1.33 ± 0.00
		0.19 ± 0.00	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.62 ± 0.01	0.81 ± 0.01	1.27 ± 0.02
	8.3	$0.20 \pm 0.01^*$	$0.21 \pm 0.01^*$	$0.30 \pm 0.01^{**}$	$0.52 \pm 0.01^*$	$0.74 \pm 0.01^*$	$1.30 \pm 0.02^*$
		0.15 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.69 ± 0.0	1.20 ± 0.02

Примечание. Даны средние значения и ошибка. АА — амилотическая активность, мкмоль/(г · мин). Над чертой — отсутствие Раундапа (контроль), под чертой — присутствие Раундапа (25 мкг/л). “—” — нет данных. Отличия от контроля достоверны при p : * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$). При их сравнении проводили однофакторный (ANOVA, Даннет-тест) и многофакторный (MANOVA) дисперсионные анализы, используя критерий Фишера (F). Различия показателей считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$. Силу влияния фактора рассчитывали по отношению суммы квадратов фактора к общей сумме квадратов и выражали в %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее высокий уровень АА в слизистой оболочке кишечника у исследованных видов рыб выявлен при температуре 20°C, рН 7.4 в отсутствие Раундапа (табл. 1). Снижение температуры умень-

шает ферментативную активность в 1.5–4 раза у всех исследованных видов, смещение рН в кислую сторону — в 2 раза лишь у окуня.

Степень и направленность действия Раундапа зависят от температуры и рН: снижение температуры нивелирует тормозящий эффект гербицида, снижение рН, напротив, усиливает его (табл. 1). Так, при температуре 20°C и нейтральных значениях рН торможение АА в присутствии Раундапа у окуня достигает 28%, у налима — 18%, у судака — 22%, по сравнению с контролем (активность без Раундапа при тех же значениях температуры и рН), при температуре 0°C статистически значимый эффект отсутствует. У сома ферментативная активность в присутствии Раундапа ниже контроля на 21% при температуре 20°C и лишь на 14%

Таблица 2. Статистическая значимость при оценке отдельного и комплексного влияния различных факторов на амилолитическую активность в слизистой оболочке и химусе кишечника рыб-ихтиофагов

Вид	Статистическая значимость (<i>p</i>) влияния факторов						
	<i>T</i>	pH	<i>R</i>	<i>T</i> + pH	<i>T</i> + <i>R</i>	pH + <i>R</i>	pH + <i>R</i> + <i>T</i>
Слизистая оболочка							
Окунь	+(48.0)	+(27.1)	+(3.2)	+	+	+	+
Налим	+(87.3)	+(5.1)	+(1.5)	+	+	+	0.0002
Щука	+(91.7)	+(3.6)	+(0.7)	+	+	+	0.0464
Судак	+(23.6)	+(10.9)	+(34.5)	0.0315	0.0037	+	0.1305
Сом	+(56.6)	+(20.0)	+(2.6)	0.0673	+	+	0.0159
Химус							
Налим	+(77.1)	+(3.2)	+(6.1)	+	+	+	+
Щука	+(69.0)	+(15.4)	+(9.4)	+	+	+	+
Судак	+(41.5)	+(36.6)	0.0002 (2.4)	+	0.0169	0.0056	0.0620
Сом	+(93.5)	+(3.5)	+(1.2)	+	+	+	0.1108

Примечание. Жирный шрифт ($p < 0.05$) и “+” ($p < 0.0001$) – достоверное влияние факторов; в скобках – сила влияния температуры (*T*), pH и Раундапа (*R*), %.

при 0°C. В то же время при температуре 10°C АА у окуня выше контроля на 30%, у щуки на 11%. У всех исследованных видов (исключая сома) наибольшее торможение АА в присутствии Раундапа отмечено в зоне кислых значений pH: на 11–38% от контроля у щуки, 26–57% у налима, 57–71% у судака и 76–87% у окуня при температуре 0–20°C. У сома, судака и щуки тормозящий эффект Раундапа зарегистрирован и в зоне щелочных значений pH (табл. 1).

Применение многофакторного анализа выявило наибольшее снижение АА при комплексном действии температуры 0°C, pH 5.0 и Раундапа по сравнению с таковой при температуре 20°C, pH 7.4 в его отсутствие (табл. 1). Максимальное снижение АА достигало 59% у сома, 81% у судака, 89% у щуки и налима, 97% у окуня. Если у судака многофакторный эффект обусловлен в основном действием температуры и pH, то у остальных видов выявлено статистически значимое взаимодействие трех факторов (табл. 2).

В химусе исследованных видов рыб наибольшая активность гликозидаз также отмечена при температуре 20°C и pH 7.4 в отсутствие Раундапа (табл. 1). Снижение температуры уменьшало АА в 2–3.5 раза, смещение pH в кислую сторону – в 1.3 раза лишь у щуки. При температуре 20°C и нейтральных значениях pH в присутствии Раундапа АА была ниже контроля на 9% лишь у щуки, при температуре 0°C – ниже на 25% у щуки и на 14% у налима, а у судака, напротив, – выше контроля на 50%. При кислых значениях pH в присутствии Раундапа АА снижалась на 10–20% у сома, на 23–27% у судака, на 48–53% у налима и 42–71% у щуки при температуре 0–20°C, причем сила тормозящего эффекта у щуки росла с понижен-

ем температуры. У всех исследованных видов тормозящий эффект Раундапа зарегистрирован и в зоне щелочных значений pH, при этом у судака он превышал таковой при pH 5.0 (табл. 1).

Многофакторный анализ выявил наибольшее снижение АА в кишечном химусе ихтиофагов при комплексном действии температуры 0°C, pH 5.0 и Раундапа: на 71% у сома, 81% у налима и 95% у щуки (у судака на 54% при pH 8.3). Статистически значимое взаимодействие трех факторов отмечено лишь у щуки и налима (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Уровень АА в слизистой оболочке кишечника ихтиофагов-факультативных бентофагов (окуня, налима) при стандартных условиях (температура 20°C, pH 7.4 в отсутствие Раундапа) может в 1.4–3 раза превышать таковой у типичных ихтиофагов (судака, сома, щуки), что связано с большим содержанием углеводов в естественной пище рыб-бентофагов (Уголев, Кузьмина, 1993). В химусе различия менее выражены. Это может быть связано с тем, что в его составе помимо панкреатических ферментов консумента функционируют многочисленные ферменты всех тканей жертвы и ферменты микробиоты, а в составе слизистой оболочки кишечника – лишь собственные ферменты консумента (Уголев, Кузьмина, 1993).

Установлено, что Раундап в концентрациях 0.1–50 мкг/л, встречающихся в компонентах водной среды, может изменять активность гликозидаз в кишечнике пресноводных костистых рыб и в тканях их кормовых объектов (Голованова, Аминов, 2011, 2017). При этом чувствительность гликозидаз к Раундапу выше у рыб планкто-

бентофагов по сравнению с типичными ихтиофагами (Голованова, Аминов, 2017). Это может быть обусловлено как более высоким уровнем активности гликозидаз у рыб планкто- и бентофагов, так и разным набором и соотношением изоформ гликозидаз, функционирующих в кишечнике рыб, различающихся по типу питания. При стандартных условиях (температуре 20°C и pH 7.4) Раундап, как правило, оказывает больший эффект на гликозидазы слизистой оболочки кишечника, чем химуса взрослых рыб (Голованова, Аминов, 2017), что согласуется с результатами, полученными в нашей работе. В то же время, при температуре 0°C и pH 7.4, напротив, Раундап в большей степени снижает АА в химусе у налима и щуки, чем в слизистой оболочке кишечника. Следует отметить, что из трех изученных факторов температура оказывает наибольшее, а Раундап, как правило, наименьшее влияние на АА в слизистой оболочке и химусе исследованных рыб ихтиофагов.

У взрослых ихтиофагов снижение температуры при нейтральных или щелочных значениях pH уменьшает тормозящий эффект Раундапа на АА, при кислых значениях pH, как и у молоди окуня (Голованова, Аминов, 2011), усиливает его. В то же время у молоди карпа и тюльки снижение температуры инкубационной среды при щелочных значениях pH, напротив, усиливает тормозящий эффект Раундапа (25 мкг/л) на АА в слизистой оболочке кишечника (Голованова, Аминов, 2011). Максимальное снижение АА у молоди рыб (на 72% у окуня, 95% у карпа и на 98% у тюльки), как и у взрослых ихтиофагов, выявлено при комплексном действии температуры 0°C, pH 5.0 и Раундапа. Если у окуня этот эффект обусловлен в основном совместным действием температуры и pH, то у тюльки и карпа — всех трех факторов, $p < 0.0001$ (Голованова, Аминов, 2011). Ранее высказано предположение, что токсичность глифосата вызвана, главным образом, его высокой кислотностью (Tsui, Chu, 2003). Результаты настоящей работы показали, что наибольший тормозящий эффект Раундапа на активность гликозидаз слизистой оболочки и химуса кишечника рыб-ихтиофагов отмечен при кислых значениях pH, однако, он может проявляться и в зоне щелочных pH. Поэтому для корректной оценки действия Раундапа на пищеварительные ферменты рыб необходимо учитывать физиологический диапазон значений pH.

Выводы. Чувствительность гликозидаз кишечника рыб-ихтиофагов к действию Раундапа *in vitro* зависит от температуры и pH среды. Наибольший тормозящий эффект Раундапа на активность гликозидаз отмечен, как правило, при кислых значениях pH. Снижение температуры при нейтральных значениях pH нивелирует тормозящий эффект Раундапа на гликозидазы слизистой оболочки (на гликозидазы химуса лишь у щуки и на-

лима), при кислых — усиливает его. Максимальное снижение АА слизистой оболочки кишечника и химуса отмечено при совместном действии температуры 0°C, pH 5.0 и Раундапа (25 мкг/л). Эти данные позволяют предположить, что Раундап в концентрациях, встречающихся в компонентах водной среды, может снижать скорость начальных этапов ассимиляции углеводов у взрослых рыб ихтиофагов, особенно при кислых значениях pH.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Голованова И.Л., Аминов А.И. 2011. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз рыб и их кормовых объектов // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: Материалы IV Всероссийской конференции по водной экотоксикологии. Борок. Ч. 1. С. 95.
- Голованова И.Л., Аминов А.И. 2017. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз в кишечнике рыб разных экологических групп // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Ярославль: Филигрань. С. 9.
- Голованова И.Л., Аминов А.И., Капшаев Д.С., Голованов В.К. 2013. Физиолого-биохимические и температурные характеристики сеголетков ротана при хроническом действии Раундапа // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. № 3. С. 98.
- Жиденко А.А., Бибчук Е.В., Мехед О.Б., Кривошица В.В. 2009. Влияние гербицидов различной химической структуры на углеводный обмен в организме карпа // Гидробиол. журн. Т. 45. № 5. С. 70.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов, предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. 1999. Москва: Изд-во ВНИРО.
- Уголев А.М., Кузьмина В.В. 1993. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. Санкт-Петербург: Гидрометеоиздат.
- Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич Ц.Г. и др. 1969. Исследование пищеварительного аппарата у человека. Обзор современных методов. Ленинград: Наука.
- Annett R., Habibi H.R., Hontela A. 2014. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicide on freshwater environment // J. Appl. Toxicol. V. 34. № 5. P. 458.
- Aparicio V.C., De Geronimo E., Marino D. et al. 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins // Chemosphere. V. 93. № 9. P. 1866.
- Benbrook C.M. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // Environ. Sci. Eur. V. 28. № 3. P. 1.
- De Moura F.R., Brentegani K.R., Gemelli A. et al. 2017. Oxidative stress in the hybrid fish jundiara (*Leiarius mar-*

- moratus* × *Pseudoplatystoma reticulatum*) exposed to Roundup Original® // *Chemosphere*. V. 185. P. 445.
- Filho J.D.S., Sousa C.C.N., Da Silva C.C. et al. 2013. Mutagenicity and genotoxicity in gill erythrocyte cells of *Poecilia reticulata* exposed to a glyphosate formulation // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 91. № 5. P. 583.
- Gholami-Seyedkolaei S.J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Asghar Kosari A. 2013. Optimization of recovery patterns in common carp exposed to roundup using response surface methodology: Evaluation of neurotoxicity and genotoxicity effects and biochemical parameters // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 98. P. 152.
- Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* V. 167. P. 35.
- Gill J.P.K., Sethi N., Mohan A. et al. 2018. Glyphosate toxicity for animals // *Environ. Chem. Lett.* V. 16. № 2. P. 401.
- Kier L.D., Kircland D.J. 2013. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations // *Crit. Rev. Toxicol.* V. 43. № 4. P. 283.
- Kuz'mina V.V., Tarleva A.F., Sheptitskii V.A. 2017. Influence of Roundup Herbicide on the Activities of Peptidases in the Intestines of Various Fish Species // *J. Ichthyology*. V. 57. № 5. P. 761.
- Le Mer C., Roy R.L., Pellerin J. et al. 2013. Effects of chronic exposures to the herbicides atrazine and glyphosate to larvae of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 89. P. 174.
- Nwani C.D., Nagpure N.S., Kumar R. et al. 2013. DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, *Channa punctatus* // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* V. 36. № 2. P. 539.
- Rossi C.R., da Silva M.D., Piancini L.D.S. et al. 2011. Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 87. № 6. P. 603.
- Salbego J., Pretto A., da Silva V.M.M. et al. 2014. Glifosato sobre a atividade de enzimas digestivas em piavas (*Leporinus obtusidens*) // *Ciência Rural, Santa Maria*. V. 44. № 9. P. 1603.
- Sánchez J.A.A., Varela Junior A.S., Corcini C.D. 2017. Effects of Roundup formulations on biochemical biomarkers and male sperm quality of the livebearing *Jenynsia multidentata* // *Chemosphere*. V. 177. P. 200.
- Sanden M., Johannessen L.E., Berdal K.G. et al. 2011. Uptake and clearance of dietary DNA in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed conventional or genetically modified soybeans // *Aquatic Nutrition*. V. 17. № 3. P. 750.
- Sinhorin V.D.G., Sinhorin A.P., Teixeira J.M.S. et al. 2014. Metabolic and behavior changes in surubim acutely exposed to a glyphosate-based herbicide // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* V. 67. № 4. P. 659.
- Solovyev M., Gisbert E. 2016. Influence of time, storage temperature and freeze/thaw cycles on the activity of digestive enzymes from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // *Fish Physiol. Biochem.* V. 42. № 5. P. 1383.
- Struger J., Thompson D., Staznik B. et al. 2008. Occurrence of glyphosate in surface waters of Southern Ontario // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 80. № 4. P. 378.
- Sviridov A.V., Shushkova T.V., Ermakova I.T. et al. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review) // *Appl. Biochem. Microbiol.* V. 51. № 2. P. 188.
- Tsui M.T.K., Chu L.M. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors // *Chemosphere*. V. 52. № 7. P. 1189.
- Tsui M.T.K., Chu L.M. 2008. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland // *Chemosphere*. V. 71. № 3. P. 439.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) edition of the drinking water Standards and Health Advisories. 2003. 12 p.
- Webster T.M.U., Laing L.V., Florance H. et al. 2014. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup, on reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*) // *Environ. Sci. Technol.* V. 48. P. 1271.

Effect of Roundup on the Activities of Glycosidase in the Intestines of Typical and Facultative Ichthyophages as a Function of Temperature and pH

A. I. Aminov¹ and I. L. Golovanova^{2, *}

¹Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

²Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: golovanova5353@mail.ru

In vitro study of the effects of the Roundup herbicide (25 µg/L) on the activity of glycosidase, hydrolyzing starch, in the intestinal mucosa and chyme of typical ichthyophages (pike *Esox lucius* L., zander *Sander lucioperca* (L.), catfish *Silurus glanis* L.) and facultative ichthyophages perca *Perca fluviatilis* L. and burbot *Lota lota* (L.) revealed the dependence of the strength and direction of the effect from the fish species, the localization of enzymes, as well as temperature and pH. Roundup has a greater effect on the amylolytic activity of the intestinal mucosa than chyme. The greatest inhibitory effect of Roundup on the glycosidase activity was demonstrated at acidic pH. The decrease in temperature at neutral pH, as a rule, eliminated the inhibitory effect, but increased it at acidic pH.

Keywords: fish, ichthyophages, digestion, glycosidase, intestinal mucosa, chyme, Roundup herbicide, temperature, pH