А. А. Филиппов, В. В. Крылов, И. Л. Голованова

# ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ ЛОКАЛЬНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ ВО ВРЕМЯ ЭМБРИОГЕНЕЗА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГЛИКОЗИДАЗ СЕГОЛЕТОК ПЛОТВЫ К *IN VITRO* ДЕЙСТВИЮ МЕДИ, ЦИНКА И ГЕРБИЦИДА РАУНДАП<sup>1</sup>

Изучены отдаленные последствия изменений локального постоянного магнитного поля на величину 100, 300 и 500 нТл во время разных промежутков эмбриогенеза (до гаструляции – первые 6 часов после оплодотворения и на стадии органогенеза – с 33-го по 39-й час с момента оплодотворения) на активность гликозидаз в кишечнике 4-месячной молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.) и их чувствительность к *in vitro* действию тяжелых металлов (медь и цинк) и органических токсикантов (гербицид Раундап). Для определения активности мальтазы и амилолитической активности использованы глюкозооксидазный метод и модифицированный метод Нельсона. Установлено, что флуктуации локального магнитного поля не меняют чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию меди и цинка, но усиливают ее в ряде вариантов к действию Раундапа. Наибольшая чувствительность мальтазы к действию меди, цинка и Раундапа отмечена у рыб, подвергшихся действию максимальных изменений локального магнитного поля (500 нТл) в период до гаструляции.

**Ключевые слова**: рыбы, плотва, пищеварительные гликозидазы, амилолитическая активность, мальтаза, магнитная буря, медь, цинк, Раундап.

#### Введение

Вследствие антропогенного загрязнения в водные экосистемы попадают токсичные вещества как органической, так и неорганической природы. Среди неорганических токсикантов особое место занимают соли тяжелых металлов. Медь и цинк относятся к числу основных загрязнителей природных вод, а их концентрации в районах техногенного загрязнения могут достигать нескольких миллиграммов на 1 л [1]. В то же время медь и цинк – незаменимые микроэлементы, входящие в состав ряда ферментов и участвующие во многих биохимических реакциях. Среди токсикантов органической природы важная роль принадлежит ксенобиотикам. Одним из них является высокотехнологичный системный гербицид широкого спектра действия глифосат [N-(phosphono-methyl) glycine]. На основе его изопропиламиновой соли создано много гербицидов, самый известный из которых – Раундап. Попадая в организм вместе с водой и пищей, гербицид включается в метаболизм и вызывает нарушения различных функций гидробионтов [2].

Магнитная буря (МБ) – это возмущение геомагнитного поля, связанное с взаимодействием возмущённых потоков солнечного ветра и магнитосферы Земли. Магнитные бури редко превышают 1 % от напряжённости геомагнитного поля, но и такие слабые воздействия способны вызывать значительные биологические ответы [3]. Исследование отдельных фаз и частотных диапазонов сильной МБ, воспроизведенных в эксперименте, показало, что заметные биологические эффекты (накопление продуктов перекисного окисления липидов, гравитропическая реакция, активность ферментов антиоксидантной системы, активность пищеварительных ферментов) у растительных (горох, лён) и животных (дафния, карп, золотой карась) объектов вызывают главным образом медленные изменения геомагнитного поля в диапазоне 0-0,001 Гц во время главной фазы и на начальных этапах фазы восстановления МБ [3]. Прижизненная экспозиция молоди карповых рыб (карп, золотой карась) в МБ приводила к изменению активности внутриклеточных Ca<sup>2+</sup>-зависимых цистеиновых протеиназ и пищеварительных гидролаз кишечника [3]. При этом МБ продолжительностью 20 часов вызывала значительное снижение активности кишечных гликозидаз, особенно у голодных рыб, и слабо влияла на активность протеиназ [4]. Изучение влияния сильной МБ на эмбрионы во время разных промежутков раннего развития (0-24, 24-48, 48-72 и 72-96 часов после оплодотворения) выявило разнонаправленные изменения активности гликозидаз (мальтаза, сахараза, амилолитическая активность) и кинетических

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-04-31170-мол\_а.

характеристик гидролиза углеводов, а также снижение линейно-весовых показателей у 4-месячных сеголетков плотвы [5]. Наибольшие изменения размерно-весовых показателей у сеголетков отмечены после воздействия флуктуаций магнитного поля на эмбрионы в интервале 48–72 часов, физиолого-биохимических показателей – в течение первых 48 часов после оплодотворения. Кроме того, при действии МБ в интервале 48–72 часа после оплодотворения отмечен более низкий уровень амилолитической активности и активности мальтазы в кишечнике сеголетков плотвы, при этом температурные характеристики (температурный оптимум, энергия активации) гликозидаз у рыб опытной и контрольной групп практически не различались [6].

Известно, что влияние одних факторов может изменять чувствительность организма к действию других. Ранее при изучении отдаленных последствий действия ионов меди и низкочастотного магнитного поля, а также электромагнитного поля частотой 500 Гц и низких концентраций хлорофоса в период раннего эмбриогенеза были установлены разнонаправленные изменения активности пищеварительных гликозидаз у молоди плотвы при раздельном и совместном действии указанных агентов [7, 8]. Сведения об отдаленных последствиях действия флуктуаций локального магнитного поля, имитирующих естественные процессы в разные периоды эмбриогенеза, на чувствительность пищеварительных ферментов рыб к действию токсикантов органической и неорганической природы отсутствуют.

Целью нашего исследования было изучить отдаленные последствия изменений локального магнитного поля на величину до 100, 300 и 500 нТл во время разных промежутков эмбриогенеза (до и после гаструляции) на чувствительность пищеварительных гликозидаз рыб к действию тяжелых металлов (медь и цинк) и органических токсикантов (гербицид Раундап).

# Материалы и методы исследования

Для опытов использовали половые продукты, полученные от 4-х самок и 8-ми самцов плотвы Rutilus rutilus (L.) из Рыбинского водохранилища в мае 2013 г. Осеменение проводили сухим способом, после чего оплодотворенную икру помещали в кристаллизаторы с речной водой. Сразу после оплодотворения три кристаллизатора с икрой помещали в рабочий объем трёх модулей генерации-компенсации магнитных полей экспериментальной установки [5]. Здесь они в течение первых 6-ти часов развития находились под воздействием имитации главной фазы МБ (ИМБ). Были использованы три различные по интенсивности ИМБ: максимальное отклонение сигнала по каждой компоненте для первой ИМБ составило до 100 нТл, для второй – до 300 нТл, для третьей – до 500 нТл (вариант І – до гаструляции). Такой размах колебаний имеют флуктуации геомагнитного поля во время умеренных и сильных естественных МБ. Другие три кристаллизатора с развивающимися эмбрионами плотвы поместили в условия тех же трёх ИМБ с 33-го по 39-й час с момента оплодотворения (вариант II – во время органогенеза и сегментации тела). Генерация магнитных возмущений осуществлялась при помощи описанной ранее экспериментальной установки [9]. Продолжительность воздействия составляла 6 часов, из которых в течение первых 3 часов компоненты геомагнитного поля линейно отклонялись от невозмущенного состояния на максимальные значения, а в течение последующих 3 часов также линейно возвращались к невозмущенному состоянию (6 часов – это обычная продолжительность главной фазы и начальных этапов фазы восстановления МБ). Ранее было показано, что именно этот временной отрезок бури в диапазоне 0-0,001 Гц обладает наибольшей биологической эффективностью [3]. Разные отрезки эмбриогенеза и варианты ИМБ были выбраны для того, чтобы исследовать возможное влияние набора разных условий во время раннего развития на исследуемые показатели. Кристаллизаторы с контрольным вариантом находились в условиях естественного геомагнитного поля. Эксперименты проводили во время спокойной геомагнитной обстановки.

По 400 личинок из контрольной и опытных групп после рассасывания желточного мешка поместили в пруды с естественной кормовой базой. Смертность плотвы в прудах была минимальной и не зависела от примененного воздействия. Спустя 4 месяца по 30 экз. сеголеток из контрольной и экспериментальных групп использовали для биохимического анализа. Для этого рыб обездвиживали, вскрывали брюшную полость, извлекали кишечники и освобождали их от химуса. Активность гликозидаз (мальтаза, амилолитическая активность) определяли в суммарных гомогенатах (включающих медиальный отдел кишечника от 30 экз. рыб каждой группы), приготовленных на растворе Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl, 1,9 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl<sub>2</sub>). При изучении влияния токсикантов *in vitro* гомогенаты предварительно ин-

кубировали в присутствии сернокислых солей меди (CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O), цинка (ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O) или их смеси 1:1, а также раствора Раундапа в течение 1 часа. Концентрация ионов Cu<sup>2+</sup> и Zn<sup>2+</sup>, рассчитанная по общему содержанию металла в соли, составляла 25 мг/л, концентрация Раундапа, рассчитанная по содержанию глифосата, -50 мкг/л. Указанные концентрации встречаются в донных отложениях и тканях гидробионтов в районах сильного антропогенного загрязнения [1, 10].

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -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 [11]. Для определения активности мальтазы глюкозооксидазным методом применяли набор для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия). Инкубацию гомогенатов и субстратов (растворов 1,8 %-го крахмала или 50 ммоль/л мальтозы) проводили при температуре 20 °C, pH 7,4 в течение 20–30 минут. Ферментативную активность в каждой точке определяли в пяти повторностях с учетом фона (изначального количества гексоз в гомогенате) и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 минуту инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г · мин)). Результаты представлены в виде средних и их ошибок ( $M \pm m$ ). Достоверность различий между показателями ферментативной активности у рыб из различных вариантов опыта, а также в исходных гомогенатах и после инкубации в растворах, содержащих тяжелые металлы и Раундап, оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при  $p \le 0,05$ .

## Результаты исследования и их обсуждение

Масса сеголеток, эмбриональное развитие которых прошло в геомагнитном поле, составила  $7.99 \pm 0.20$  г, длина  $-7.52 \pm 0.05$  см. У рыб из тех вариантов, которые были экспонированы в ИМБ до гаструляции, массы тела выше на 8-10 %, длина тела достоверно не изменилась. У рыб, экспонированных в ИМБ на стадии органогенеза, масса тела ниже на 22-49 %, длина – на 5-18 % по сравнению с рыбами, эмбрионы которых развивались в геомагнитном поле. Отмечена обратная зависимость изменений размерно-весовых показателей от интенсивности ИМБ.

В отсутствие токсикантов уровень амилолитической активности у рыб, экспонированных в ИМБ 100 нТл на стадии органогенеза, был ниже на 9 % (p < 0,05) по сравнению с рыбами, развивавшимися в геомагнитном поле (табл. 1). Во всех остальных вариантах ферментативная активность превышала таковую у рыб, развивавшихся в геомагнитном поле: максимальное увеличение отмечено у сеголеток, экспонированных в ИМБ 500 нТл — на 23 % (p < 0,001) при действии ИМБ до гаструляции и на 60 % (p < 0,001) — на стадии органогенеза.

Таблица 1
Влияние меди, цинка и Раундапа на амилолитическую активность в кишечнике молоди плотвы, эмбриогенез которой проходил

Вариант опыта	Контроль	Си	Zn	Cu + Zn	Раундап
	0 мг/л	25 мг/л	25 мг/л	25 мг/л	25 мкг/л
Геомагнитное поле	$16,47 \pm 0,39$	3,02 ± 0,12 ***	10,34 ± 0,29 ***	2,59 ± 0,24 ***	$15,32 \pm 0,55$
I 100 нТл	$17,93 \pm 0,50$	4,04 ± 0,06 ***	12,69 ± 0,20 ***	3,15 ± 0,19 ***	$17,00 \pm 0,30$
I 300 нТл	$18,07 \pm 0,16$	3,48 ± 0,22 ***	12,59 ± 0,20 ***	2,66 ± 0,21 ***	$17,30 \pm 0,38$
I	$20,33 \pm 0,37$	2,51 ± 0,23	12,17 ± 0,20	2,36 ± 0,24	16,89 ± 0,37
500 нТл		***	***	***	***
II	$15,00 \pm 0,21$	2,51 ± 0,12	10,54 ± 0,08	2,76 ± 0,00	12,49 ± 0,51
100 нТл		***	***	***	**
II	$18,47 \pm 0,13$	3,15 ± 0,19	12,39 ± 0,14	2,64 ± 0,18	15,46 ± 0,50
300 нТл		***	***	***	***
II 500 нТл	$26,33 \pm 0,41$	4,39 ± 0,09 ***	20,48 ± 0,58 ***	3,16 ± 0,73 ***	$24,02 \pm 1,15$

в различных магнитных условиях, мкмоль/(г · мин)

Примечание. Здесь и в табл. 2 даны средние значения и их ошибки; развивающиеся эмбрионы плотвы подвергались действию ИМБ в течение первых 6-ти часов (I) или с 33-го по 39-й час (II) с момента оплодотворения; различия показателей в строке статистически достоверны по сравнению с контролем (0 мг/л) при:  $^*p < 0.05$ ,  $^{**}p < 0.01$ ,  $^{***}p < 0.001$ .

Таблииа 2

В присутствии ионов Си снижение амилолитической активности у рыб, развивавшихся в геомагнитном поле, составило 82 % от контроля (0 мг/л). Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов Си во всех вариантах действия ИМБ практически не изменялась: амилолитическая активность в присутствии ионов Си снижалась в диапазоне от 77 до 88 %. В присутствии ионов Zn амилолитическая активность у рыб, развивавшихся в геомагнитном поле, снижалась на 37 %, а у рыб, эмбрионы которых экспонировались в ИМБ, – на 22–40 % от контроля. При совместном действии ионов Сu + Zn снижение ферментативной активности составило 84 % у рыб, эмбрионы которых развивались в геомагнитном поле, и 82–88 % – в опытных вариантах. В присутствии Раундапа амилолитическая активность была ниже на 16–17 % по сравнению с контролем лишь при действии ИМБ 500 нТл в период до гаструляции, а также 100 и 300 нТл на стадии органогенеза. Действие ИМБ 500 нТл в период до гаструляции оказывало наибольший тормозящий эффект на амилолитическую активность (88, 40, 88 и 17 % от контроля) соответственно в присутствии Cu, Zn, Cu + Zn и Раундапа.

Активность мальтазы в отсутствие токсикантов была на 19 % выше (p < 0.01) у рыб после действия ИМБ 100 нТл на стадии органогенеза по сравнению с рыбами, эмбрионы которых развивались в геомагнитном поле (табл. 2). В остальных вариантах воздействия ИМБ этот показатель был достоверно ниже на 9–43 % (p < 0.05), чем у сеголетков, развивавшихся в естественных магнитных условиях. Максимальное снижение активности мальтазы отмечено при действии ИМБ 500 нТл в период до гаструляции (на 35 %, p < 0.001) и при действии ИМБ 300 нТл на стадии органогенеза (на 43 %, p < 0.001) по сравнению с рыбами, эмбрионы которых развивались в геомагнитном поле. При этом зависимость эффекта от силы воздействия отсутствует.

Влияние меди, цинка и Раундапа на активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы, эмбриогенез которой проходил в различных магнитных условиях, мкмоль/(г · мин)

Вариант опыта	Контроль 0 мг/л	Си 25 мг/л	Zn 25 мг/л	Cu + Zn 25 мг/л	Раундап 25 мкг/л
Геомагнитное	$12.00 \pm 0.57$	$11.26 \pm 0.21$	$12.09 \pm 0.08$	$10,79 \pm 0,33$	$12.93 \pm 0.24$
поле	12,00 ± 0,57	*	12,00 = 0,00	*	*
I	$9,47 \pm 0,29$	9,41 ± 0,03	$9,37 \pm 0,04$	9,11 ± 0,19	$9,75 \pm 0,05$
100 нТл					
I	$10,94 \pm 0,35$	$10,09 \pm 0,18$	$11,02 \pm 0,17$	$10,94 \pm 0,10$	$11,29 \pm 0,16$
300 нТл		**			
I	$7,74 \pm 0,34$	$6,05 \pm 0,08$	$7,06 \pm 0,11$	$7,28 \pm 0,08$	$7,40 \pm 0,08$
500 нТл		***	**	*	*
II	$14,25 \pm 0,25$	$14,19 \pm 0,17$	$13,04 \pm 0,34$	$13,59 \pm 0,25$	$13,53 \pm 0,23$
100 нТл			*		
II	$6,80 \pm 0,18$	$7,09 \pm 0,04$	$7,16 \pm 0,18$	$6,84 \pm 0,24$	$7,36 \pm 0,04$
300 нТл		*			**
II	$10,59 \pm 0,06$	$9,65 \pm 0,13$	$10,15 \pm 0,09$	$9,94 \pm 0,15$	$10,58 \pm 0,15$
500 нТл		***	**	**	

У рыб, эмбрионы которых развивались в геомагнитном поле, активность мальтазы ниже на 6 и 10 % в присутствии Cu и Cu + Zn соответственно; в присутствии Раундапа, напротив, выше на 8 % по сравнению с контролем (0 мг/л). Экспонирование эмбрионов в ИМБ 100 и 300 нТл либо не меняет, либо снижает чувствительность мальтазы к действию Раундапа и тяжелых металлов. Повышение чувствительности мальтазы к действию тяжелых металлов и Раундапа отмечено при действии ИМБ 500 нТл на более ранней стадии онтогенеза: торможение ферментативной активности составило 22; 9 и 6 % в присутствии Cu, Zn и Cu + Zn соответственно и 4 % от контроля в присутствии Раундапа.

Ранее было показано, что чувствительность гликозидаз кишечника рыб к действию тяжелых металлов может меняться в зависимости от ряда биотических факторов (возраст, физиологическое состояние), а также действия химических и физических агентов [1, 10]. Так, эмбриотоксическое действие хлорофоса в большинстве случаев усиливает тормозящий эффект Си и снижает таковой Zn. Нитрозогуанидин, как правило, снижает чувствительность гликозидаз к действию Сu и Zn. Величина и направленность эффектов зависят от природы и концентрации токсических агентов [12]. Большая чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал,

к действию Cu, Zn и Раундапа по сравнению с мальтазой согласуется с данными о большей чувствительности к действию антропогенных факторов панкреатических ферментов по сравнению с собственно мембранными [13].

### Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о большей чувствительности ферментов гидролизующих крахмал (α-амилаза, глюкоамилаза и мальтаза) к *in vitro* действию меди, цинка и гербицида Раундап по сравнению с мембранным ферментом мальтазой. Изменения локального постоянного магнитного поля на величину 100, 300 и 500 нТл во время разных промежутков эмбриогенеза (до и после гаструляции) слабо меняют чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию меди и цинка. В присутствии Раундапа пониженная амилолитической активность отмечена после действия ИМБ 500 нТл в период до гаструляции и 100 и 300 нТл – на стадии органогенеза. Наибольшее снижение амилолитической активности в присутствии Сu, Zn, Cu + Zn и Раундапа выявлено при действии ИМБ 500 нТл в период до гаструляции. Повышение чувствительности мальтазы к негативному действию тяжелых металлов и Раундапа отмечено лишь у рыб, подвергавшихся действию ИМБ 500 нТл в период до гаструляции.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Перевозников М. А.* Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах / М. А. Перевозников, А. К. Смирнов, Е. А. Богданова. СПб.: ГосНИОРХ, 1999. 228 с.
- 2. *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. 2010. Vol. 78, no. 3. P. 294–299.
- 3. *Krylov V. V.* An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plant and animals / V. V. Krylov, O. D. Zotov, B. I. Klain, N. P. Kantserova, A. V. Znobisheva, Yu. G. Izyumov, V. V. Kuz□mina, A. A. Morozov, L. A. Lysenko, N. N. Nemova, E. A. Osipova // J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics. 2014. Vol. 110–111. P. 28–36.
- 4. *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 // Изв. РАН. Сер. биол. 2014. № 2. С. 161–167.
- 5. *Голованова И. Л.* Влияние флуктуаций магнитного поля, имитирующих магнитную бурю, на активность пищеварительных гликозидаз у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* / И. Л. Голованова, А. А. Филиппов, Ю. В. Чеботарева, Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов // Вопр. ихтиологии. 2015. Т. 55, № 4. С. 476–481.
- 6. *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 // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. 2014. № 2. С. 101–105.
- 7. *Голованова И. Л.* Отдаленные последствия раздельного и сочетанного влияния хлорофоса и переменного электромагнитного поля в период эмбриогенеза на эффективность гидролиза углеводов у сеголетков плотвы / И. Л. Голованова, Ю. Г. Изюмов, Ю. В. Чеботарева, М. Г. Таликина // Токсикол. вестн. 2006. № 5. С. 34–38.
- 8. *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 // Вопр. ихтиологии. 2013. Т. 53, № 2. С. 227–232.
- 9. Пат. на изобретение № 108640 Российская Федерация, МПК $^7$  G 01 R 27/26. Устройство для генерации магнитных полей и компенсации локального низкочастотного магнитного поля / Клайн Б. И., Зотов О. Д., Крылов В. В. № 00108640 U1, действует с 13.05.2011.
- 10. *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. Vol. 93. P. 1866–1873.
- 11. 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.
- 12. *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. Vol. 5, no. 1. P. 140–146.
- 13. *Голованова И. Л.* Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у рыб и объектов их питания / И. Л. Голованова / автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб.: ИЭФБ им. И. М. Сеченова РАН, 2006. 43 с.

Статья поступила в редакцию 18.04.2015

# ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Филиппов Андреё Андреевич** – Россия, 152742, Ярославская обл., пос. Борок; Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук, канд. биол. наук; старший научный сотрудник лаборатории экологии рыб; andron@ibiw.yaroslavl.ru.

**Крылов Вячеслав Владимирович** – Россия, 152742, Ярославская обл., пос. Борок; Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук; канд. биол. наук; ведущий научный сотрудник лаборатории популяционной биологии и генетики; kryloff@ibiw.yaroslavl.ru.

**Голованова Ирина Леонидовна** — Россия, 152742, Ярославская обл., пос. Борок; Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук; д-р биол. наук, старший научный сотрудник; главный научный сотрудник лаборатории экологии рыб; golovanova5353@mail.ru.



A. A. Filippov, V. V. Krylov, I. L. Golovanova

# INFLUENCE OF CHANGES OF THE LOCAL MAGNETIC FIELD DURING EMBRYOGENESIS ON THE SENSITIVITY OF ROACH'S DIGESTIVE GLYCOSIDASES TO HEAVY METALS (COPPER, ZINC) AND ROUNDUP HERBICIDE

**Abstract.** The distant consequences of the changes in local static magnetic field by 100, 300 and 500 nT during different intervals of embryogenesis (before the gastrulation – the first 6 hours after the fertilization and during organogenesis – from the 33th to 39th hour after the fertilization) influence the activity of roach's digestive glycosidases and its sensitivity to *in vitro* the action of heavy metals (copper, zinc) and organic toxicants (Roundup herbicide) were studied. The glucose oxidase test and the modified Nelson's method were used for the evaluation of maltase and amylolytic activity. It was shown that the changes in the local magnetic field do not affect the sensitivity of starch hydrolyzed enzymes to copper and zinc, however they increase such sensitivity under Roundup exposure. The maximal sensitivity of maltase to copper, zinc and Roundup was observed in fishes that were exposed to maximal changes of the local magnetic field (500 nT) before the gastrulation.

**Key words**: fish, roach, digestive glycosidases, amylolytic activity, maltase, geomagnetic storm, copper, zinc, Roundup.

#### REFERENCES

- 1. Perevoznikov M. A., Bogdanova E. A. *Tiazhelye metally v presnovodnykh ekosistemakh* [Heavy metals in freshwater ecosystems]. Saint-Petersburg, GosNIORKh, 1999. 228 p.
- 2. Modesto K. A., Martinez C. B. R. Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish Prochilodus lineatus. *Chemosphere*, 2010, vol. 78, no. 3, pp. 294–299.
- 3. Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I., Kantserova N. P., Znobisheva A. V., Izyumov Yu. G., Kuz mina V. V., Morozov A. A., Lysenko L. A., Nemova N. N., Osipova E. A. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plant and animals. *J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics*, 2014, vol. 110−111, pp. 28−36.
- 4. Kuz'mina V. V., Ushakova N. V., Krylov V. V., Petrov D. V. Vliianie magnitnoi buri na aktivnost' proteinaz i glikozidaz slizistoi obolochki kishechnika ryb [Influence of magnetic storm on the activity of proteinase and glycosidase of the fish intestine mucous membrane]. *Izvestiia RAN. Seriia biologicheskaia*, 2014, no. 2, pp. 161–167.
- 5. Golovanova I. L., Filippov A. A., Chebotareva Iu. V., Iziumov Iu. G., Krylov V. V. Vliianie fluktuatsii magnitnogo polia, imitiruiushchikh magnitnuiu buriu, na aktivnost' pishchevaritel'nykh glikozidaz u segoletok plotvy *Rutilus rutilus* [Influence of the changes in the magnetic field imitating the marnetic storm, on the activity of digestive glycosidase of roach fingerlings Rutilus rutilus]. *Voprosy ikhtiologii*, 2015, vol. 55, no. 3, pp. 476–481.
- 6. Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Effect of magnetic storms on the temperature characteristics of digestive glycosidase in roach fingerlings. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriia: Rybnoe khoziaistvo*, 2014, no. 2, pp. 101–105.
- 7. Golovanova I. L., Iziumov Iu. G., Chebotareva Iu. V., Talikina M. G. Otdalennye posledstviia razdel'nogo i sochetannogo vliianiia khlorofosa i peremennogo elektromagnitnogo polia v period embriogeneza na

effektivnost' gidroliza uglevodov u segoletkov plotvy [The distant consequences of the separate and combined effect of chlorophos and alternating electromagnetic field during the period of embryogenesis on the activity of carbohydrate hydrolysis of roach fingerlings]. *Toksikologicheskii vestnik*, 2006, no. 5, pp. 34–38.

- 8. Golovanova I. L., Filippov A. A., Krylov V. V., Chebotareva Iu. V., Iziumov Iu. G. Deistvie magnitnogo polia i medi na aktivnost' gidroliticheskikh fermentov u segoletok plotvy Rutilus rutilus [Effect of the magnetic field and copper on the activity of hydrolytic enzymes of roach fingerlings Rutilus rutilus]. *Voprosy ikhtiologii*, 2013, vol. 53, no. 2, pp. 227–232.
- 9. Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. *Ustroistvo dlia generatsii magnitnykh polei i kompensatsii lo-kal'nogo nizkochastotnogo magnitnogo polia* [Device for generation of the magnetic fields and compensation of the local low frequency magnetic field]. Patent na poleznuiu model'. RUS 108 640 ot 13.05.2011.
- 10. Aparicio V. C., De Geronimo E., Marino D., Primost J., Carriquiriborde P., Costa J. L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, 2013, vol. 93, pp. 1866–1873.
- 11. Ugolev A. M., Iezuitova N. N. Opredelenie aktivnosti invertazy i drugikh disakharidaz [Determination of the activity of invertase and other dysaccharidase]. *Issledovanie pishchevaritel'nogo apparata u cheloveka*. Leningrad, Nauka Publ., 1969. P. 192–196.
- 12. Filippov A. A., Golovanova I. L. The effect of organic toxicants on sensitivity of intestinal glycosidases to Cu and Zn in juvenile roach. *Inland Water Biology*, 2012, vol. 5, no. 1, pp. 140–146.
- 13. Golovanova I. L. *Vliianie prirodnykh i antropogennykh faktorov na gidroliz uglevodov u ryb i ob"ektov ikh pitaniia. Avtoreferat dis. d-ra biol. nauk* [Influence of natural and anthropogenic factors on the carbohydrate hydrolysis of fish and objects of their diet. Abstract of dis. doc. biol. sci]. Saint-Petersburg, IEFB im. I. M. Sechenova RAN, 2006. 43 p.

The article submitted to the editors 18.04.2015

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

*Filippov Andrey Andreevich* – Russia, 152742, Yaroslavl region, Borok; I. D. Papanin Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences; Candidate of Biology; Senior Research Scientist of the Laboratory of Fish Ecology; andron @ibiw.yaroslavl.ru.

*Krylov Vyacheslav Vladimirovich* – Russia, 152742, Yaroslavl region, Borok; I. D. Papanin Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Candidate of Biology; Leading Research Scientist of the Laboratory of Population Biology and Genetics; kryloff@ibiw.yaroslavl.ru.

**Golovanova Irina Leonidovna** – Russia, 152742, Yaroslavl region, Borok; I. D. Papanin Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Doctor of Biology, Senior Research Scientist; Major Research Scientist of the Laboratory of Fish Ecology; golovanova5353@mail.ru.

