

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 597.554.3:574.64

И. Л. Голованова, А. И. Аминов, Г. А. Урванцева, М. С. Смирнов

## ВЛИЯНИЕ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РАУНДАПА НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ У МОЛОДИ РЫБ

Цель работы – изучить *in vitro* влияние гербицида Раундап в широком диапазоне концентраций (от сверхнизких до высоких) на уровень активности гликозидаз у молоди рыб. Активность ферментов определяли в целом организме обыкновенного карася *Carassius carassius* (L.) и в кишечнике плотвы *Rutilus rutilus* (L.), отловленных в прибрежной части Рыбинского водохранилища (Ярославская область). Для определения амилолитической активности, отражающей суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -амилаза, глюкоамилаза и мальтаза), применяли модифицированный метод Нельсона. Активность мальтазы определяли глюкозооксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии «Фотоглюкоза». Диапазон исследованных концентраций гербицида Раундап (по глифосату) составил от  $1 \cdot 10^{-13}$  мкг/л до 1 г/л. Показано, что амилолитическая активность в целом организме карася выше контроля при сверхнизких концентрациях Раундапа ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  мкг/л) и, как правило, ниже контроля при более высоких. В кишечнике плотвы амилолитическая активность ниже контроля практически во всем диапазоне исследованных концентраций Раундапа. Активность мальтазы в кишечнике плотвы выше контроля лишь при концентрациях гербицида от 0,01 мкг/л до 1 г/л, при более низких концентрациях достоверный эффект отсутствует. При этом концентрации гербицида, отличающиеся на 2–17 порядков, могут вызывать равный эффект.

**Ключевые слова:** молодь рыб, гликозидазы, амилолитическая активность, мальтаза, Раундап, сверхмалые концентрации.

### Введение

Загрязнение водной среды пестицидами является одной из наиболее важных экологических проблем. Возросшие масштабы использования пестицидов приводят к трансформации водных экосистем, негативно влияют на состояние водных животных и представляет угрозу здоровью человека. Раундап – неспецифический гербицид широкого спектра действия. В его состав входит активный ингредиент глифосат и полиоксиэтиленамин – поверхностно-активное вещество, облегчающее проникновение гербицида. Раундап используется для уничтожения сорной растительности не только на полях и приусадебных участках, но и в водоемах (коллекторно-дренажных каналах, оросительных системах, прудах). Концентрации глифосата при использовании в сельском хозяйстве составляют от 0,36 до 2,16 мг/л [1]. В поверхностных водах концентрация глифосата обычно не превышает 10–15 мкг/л, однако вблизи районов непосредственного применения она варьирует от 10 до 700 мкг/л в воде и от 0,35 до 5,0 мг/кг в седиментах [2]. Значение предельно допустимой концентрации (ПДК) глифосата в рыбохозяйственных водоемах России составляет 1 мкг/л [3]. По данным Всемирной организации здравоохранения, токсичность глифосата рассматривается как низкая [4], однако присутствие сурфактантов делает глифосатсодержащие гербициды потенциально токсичными для водных организмов. Кроме того, неумеренное использование, аварийные разливы, смывы с полей или сброс неочищенных сточных вод в природные водоемы могут увеличивать их содержание и оказывать вредное воздействие на гидробионтов, вызывая долгосрочные эффекты.

В последние годы накоплено много сведений о токсичности Раундапа [5–8], а Европейский союз признал глифосат опасным для окружающей среды и токсичным для водных орга-

низмов. Значения  $96 \text{ ч ЛК}_{50}$  Раундапа варьируют от 2 до 55 мг/л в зависимости от вида рыб, стадии жизненного цикла и условий эксперимента [9]. Показано, что экспозиция к Раундапу (96 ч) в концентрации 3–20 мг/л подавляет активность ацетилхолинстеразы мозга лепорины *Leporinus obtusidens* Val., снижая скорость разложения ацетилхолина и проводимость нервных импульсов, в результате чего нарушаются поведение рыб и их ориентация в пространстве [1]. Кроме того, при таких концентрациях Раундапа отмечено увеличение содержания глюкозы и гликогена в печени и уменьшение этих показателей в мышцах лепорины. В экспериментах *in vitro* установлено, что Раундап в концентрациях 0,1–50 мкг/л может изменять активность гликозидаз в кишечнике молоди рыб и организме объектов их питания [5, 10]. При попадании глифосата в водоемы его концентрация значительно снижается как вследствие прямого разбавления, так и за счет разложения микроорганизмами [11] и связывания хелатирующими металлами (Ca, Fe, Al, Cu, Zn, Pb, Mn), органическим углеродом и гуминовыми кислотами в донных отложениях [12, 13]. Однако действие сверхмалых концентраций гербицида на активность пищеварительных ферментов рыб практически не изучено. Поскольку углеводы играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене организма, а гидролазы жертвы могут обеспечивать аутодеградацию собственных тканей, изучение характеристик указанных ферментов при действии Раундапа представляет значительный интерес для практики рыбного хозяйства.

Целью нашей работы было изучить *in vitro* влияние гербицида Раундап в широком диапазоне концентраций (от сверхнизких до высоких) на уровень активности гликозидаз у молоди рыб.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена в летний период 2015 г. на молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.) (масса  $5,3 \pm 0,1$  г, длина тела  $6,6 \pm 0,1$  см) и обыкновенного карася *Carassius carassius* (L.) ( $2,1 \pm 0,5$  г,  $3,9 \pm 0,3$  см), отловленных в прибрежной зоне Рыбинского водохранилища (Ярославская область). Рыб в течение двух часов после поимки доставляли в лабораторию, затем обездвигивали и помещали на стекло ледяной бани. У плотвы вскрывали брюшную полость, извлекали кишечника и освобождали их от химуса. Активность гликозидаз (мальтаза, амилолитическая активность) определяли в суммарных гомогенатах (включающих медиальный отдел кишечника от 20 экз. плотвы или целые тушки от 5 экз. карася), приготовленных на растворе Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl, 1,9 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl<sub>2</sub>), pH 7,4. Растворы субстратов (картофельный крахмал в концентрации 18 г/л и 50 ммоль раствор мальтозы) готовили на таком же растворе Рингера. Предварительно гомогенаты инкубировали с равным количеством Раундапа определенной концентрации в течение 1 часа. Затем добавляли раствор субстрата и продолжали инкубацию в течение 30 минут при температуре 20 °С, pH 7,4 и непрерывном перемешивании.

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность гликозидаз, 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 [14]. Для определения активности мальтазы применяли набор для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия). Ферментативную активность выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 минуту инкубации ферментативно-активного препарата и субстрата в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г · мин)). Для приготовления раствора токсиканта использовали коммерческий препарат гербицида, 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. Концентрации Раундапа, рассчитанные по содержанию глифосата, находились в широком диапазоне – от сверхнизких ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  мкг/л) до высоких (1 г/л) значений, в контроле вместо Раундапа использовался раствор Рингера. Результаты представлены в виде средних и их ошибок ( $M \pm m$ ). Достоверность различий оценивали с помощью однофакторного анализа (ANOVA, LSD-тест) при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

В целом организме молоди карася амилолитическая активность составила  $14,5 \pm 0,31$  мкмоль/(г·мин). Наиболее низкие концентрации Раундапа ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  мкг/л) повышают её, более высокие – снижают (рис. 1). 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 3–6 порядков, могут вызывать одинаковый эффект. Так, снижение амилолитической активности на 8–11 % отмечено при концентрациях Раундапа  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$ , 10 и 50 мкг/л, а также на 14–16 % от контроля при концентрациях 25 мкг/л, 25 и 100 мг/л.

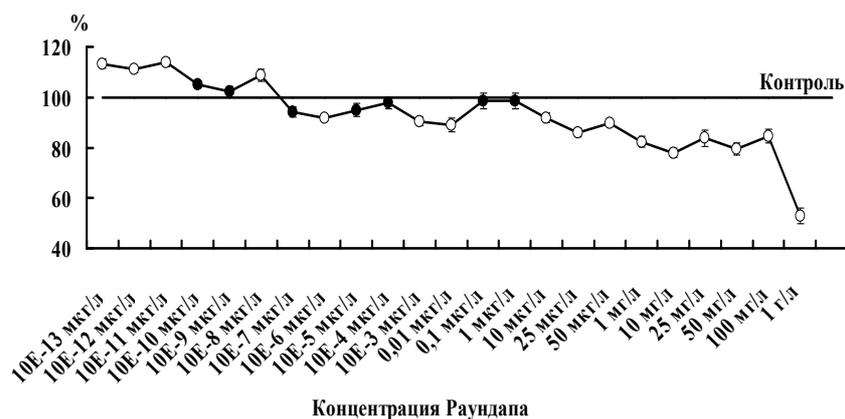


Рис. 1. Амилолитическая активность в целом организме молоди карася при разных концентрациях Раундапа *in vitro*, % от контроля. Здесь и на рис. 2, 3:  
○ – различия показателей статистически достоверны по сравнению с контролем,  $p \leq 0,05$ ;  
● – различия показателей недостоверны по сравнению с контролем,  $p > 0,05$

Амилолитическая активность в кишечнике молоди плотвы (0 мг/л Раундапа) составила  $18,22 \pm 0,98$  мкмоль/(г·мин). Снижение ферментативной активности в присутствии Раундапа отмечено во всем диапазоне исследованных концентраций, исключая ряд значений ниже 0,01 мкг/л (рис. 2). В диапазоне концентраций Раундапа 0,01–50 мкг/л амилолитическая активность 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 величине эффекты. Так, снижение амилолитической активности 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.

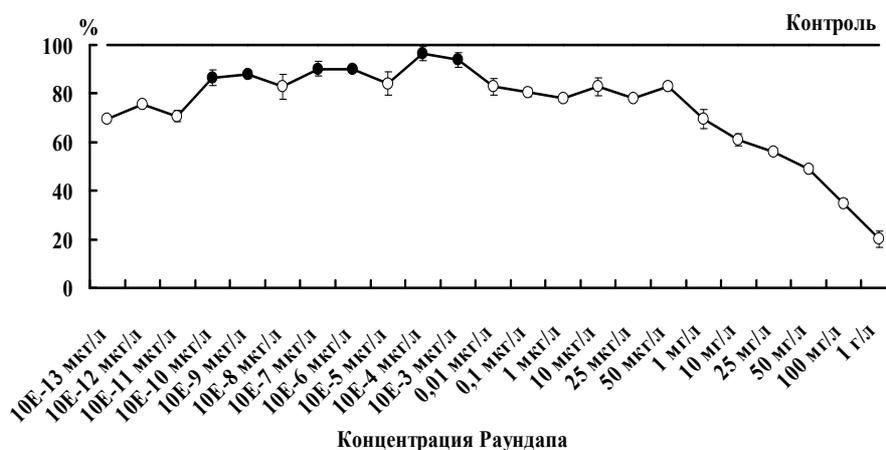


Рис. 2. Амилолитическая активность в кишечнике молоди плотвы при разных концентрациях Раундапа *in vitro*, % от контроля

Активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы (0 мг/л Раундапа) составила  $7,01 \pm 0,26$  мкмоль/(г·мин). В присутствии Раундапа статистически достоверные эффекты отмечены лишь при концентрациях выше 0,01 мкг/л (рис. 3). При этом концентрации гербицида, различающиеся на 2–4 порядка, вызывают равный эффект. Так, повышение активности мальтазы на 58–66 % выявлено в диапазоне концентраций Раундапа 0,01–1 мкг/л, на 73–76 % – в диапазоне 10–100 мг/л (исключая 1 мг/л), на 80 и 92 % от контроля – при концентрациях 1 мг/л и 1 г/л.

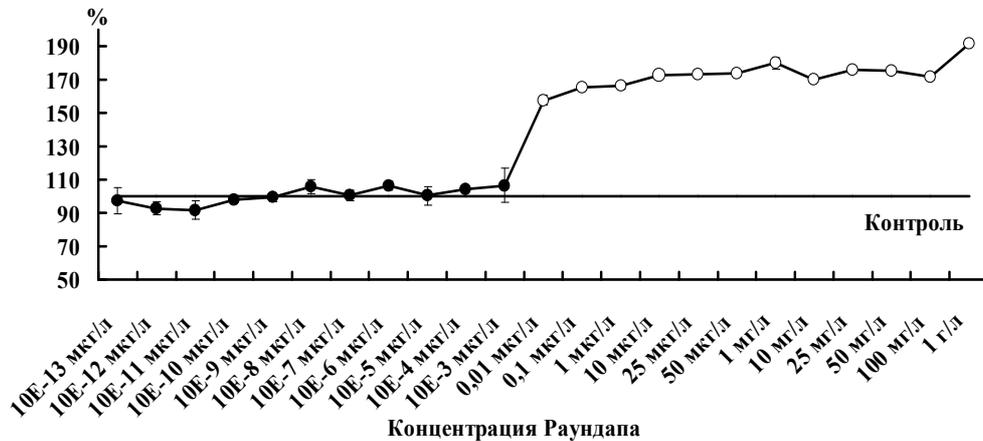


Рис. 3. Активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы при разных концентрациях Раундапа *in vitro*

Активность ферментов в тканях целого организма отражает активность не только ферментов пищеварительного тракта, но и многочисленных лизосомальных гидролаз всех органов и тканей. Ранее в экспериментах *in vitro* было установлено, что Раундап в сублетальных концентрациях 0,1–50 мкг/л изменяет активность гликозидаз в целом организме молоди ряда видов рыб [5]. Активность мальтазы и сахаразы в присутствии Раундапа в большинстве случаев повышается, амилолитическая активность изменяется разнонаправленно в зависимости от вида рыб и концентрации гербицида. При этом большее негативное влияние Раундап оказывает на активность гликозидаз в тканях реальной жертвы (плотва, извлеченная из желудка щуки) по сравнению с потенциальной жертвой (плотва из водоема), что может быть связано с активизацией лизосомальных гидролаз в условиях кислого желудочного пищеварения [5]. Кроме того, был отмечен ингибирующий эффект Раундапа (25 мг/л) на амилолитическую активность в слизистой оболочке кишечника молоди рыб, при этом действие гербицида может усиливаться при кислых рН и низкой температуре [10]. Наибольшее снижение амилолитической активности выявлено при комплексном действии температуры 0 °С, рН 5,0 и Раундапа (25 мкг/л): у окуня *Perca fluviatilis* L. на 72 %, у карпа *Cyprinus carpio* (L.) – на 95 %, у тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nord.) – на 98 % от контроля. Если у окуня эффект обусловлен в основном совместным действием температуры и рН, то у тюльки и карпа статистически достоверное усиление эффекта отмечено при действии всех трех факторов ( $p < 0,0001$ ).

Согласно Е. Б. Бурлаковой с соавт. (1990), под сверхмалыми дозами понимаются концентрации биологически активных веществ ниже  $10^{-12}$  М [15]. По мнению К. Г. Гуревича (2001), под сверхмалыми правильней понимать дозы, обеспечивающие концентрацию биологически активного вещества в месте действия на несколько порядков ниже константы его диссоциации с эффектором (обычно она составляет для рецепторов  $10^{-9}$ – $10^{-12}$  М, для ферментов –  $10^{-5}$ – $10^{-7}$  М [16]. В нашей работе использовались концентрации Раундапа от  $10^{-20}$  до  $10^{-2}$  М, поэтому концентрации ниже  $1 \cdot 10^{-12}$  М ( $1 \cdot 10^{-5}$  мкг/л) можно рассматривать как сверхмалые. Активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы при сверхмалых концентрациях Раундапа не меняется и растет при более высоких. Амилолитическая активность, отражающая суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал (панкреатической  $\alpha$ -амилазы, мембранных глюкоамилазы и мальтазы) снижается практически во всем диапазоне исследованных концентраций. Это может быть обусловлено большей чувствительностью панкреатической  $\alpha$ -амилазы к действию Ра-

ундапа по сравнению с собственно мембранным ферментом мальтазой. Интересно отметить, что концентрации, отличающиеся на 2–17 порядков, могут вызывать равный эффект. Эти результаты согласуются с данными по влиянию малых и сверхмалых концентраций хлорофоса и нитрозогуанидина на активность гликозидаз в кишечнике молоди плотвы [17, 18], а также с положением о «фазности» зависимости показателей жизнедеятельности организма от концентрации токсических веществ [19]. Полученные результаты подтверждают представления о действии сверхмалых доз биологически активных веществ и вызывают обеспокоенность по поводу применения гербицида Раундап в водных экосистемах.

### Заключение

Раундап в диапазоне концентраций от  $1 \cdot 10^{-13}$  мкг/л до 1 г/л *in vitro* оказывает разнонаправленное действие на активность ферментов, гидролизующих ди- и полисахариды, в кишечнике и целом организме молоди рыб. Амилолитическая активность в целом организме карася выше контроля при сверхнизких концентрациях Раундапа ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  мкг/л) и, как правило, ниже контроля при более высоких. В кишечнике молоди амилолитическая активность удалит слово плотвы ниже контроля практически во всем диапазоне исследованных концентраций (от  $1 \cdot 10^{-13}$  мкг/л до 1 г/л). Активность мальтазы в кишечнике молоди плотвы выше контроля лишь при концентрациях гербицида от 0,01 мкг/л до 1 г/л *in vitro*, при более низких концентрациях достоверный эффект отсутствует. При этом концентрации, отличающиеся на 2–17 порядков, могут вызывать одинаковый эффект.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gluszczak L.* Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) / L. Gluszczak, D. S. Miron, M. Crestani, M. B. da Fonseca, F. A. Pedron, M. F. Duarte, V. L. P. Vieira // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2006. Vol. 65. P. 237–241.
2. *Struger J.* Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario / J. Struger, D. Thompson, B. Staznik, P. Martin, T. McDaniel, C. Marvin // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2008. Vol. 80. P. 378–384.
3. *Перечень* рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение: Приказ Федерального агентства по рыболовству от 20 января 2010 № 25. URL: <http://base.garant.ru/2172023/>.
4. *WHO* (World Health Organization), Environmental health criteria 159 // Glyphosate. International Programme on Chemical Safety. 1994. URL: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159>.
5. *Аминов А. И.* Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз в организме беспозвоночных животных и молоди рыб / А. И. Аминов, И. Л. Голованова, А. А. Филиппов // *Биол. внутр. вод.* 2013. № 4. С. 82–88.
6. *Жиденко А. А.* Изменения биохимических показателей в печени карпа в условиях действия Раундапа / А. А. Жиденко, Е. В. Бибчук // *Соврем. проблемы теорет. и практ. ихтиологии. II Междунар. науч.-практ. конф. (Севастополь, 16–19 сентября 2009 г.): тез. докл. Севастополь, 2009. С. 50–52.*
7. *Cox C.* Glyphosate / C. Cox // *J. Pestic. Reform*. 2004. Vol. 24, no. 4. P. 10–15.
8. *Langiano V. C.* Toxicity and effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* / V. C. Langiano, C. B. R. Martinez // *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* 2008. Vol. 147, no. 2. P. 222–231.
9. *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 // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1979. Vol. 8. P. 269–278.
10. *Голованова И. Л.* Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз молоди рыб и их кормовых объектов при различных значениях температуры и pH / И. Л. Голованова, А. И. Аминов // *Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство.* 2013. № 1. С. 129–134.
11. *Karpouzas D. G.* Microbial Degradation of Organophosphorus Xenobiotics: Metabolic Pathways and Molecular Basis / D. G. Karpouzas, B. K. Singh // *Adv. Microb. Physiol.* 2006. Vol. 51. P. 119–185.
12. *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. Vol. 71. P. 439–446.
13. *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 // *J. Hazard. Mater.* 2008. Vol. 151. P. 179–184.
14. *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.
15. *Бурлакова Е. Б.* Воздействие химических агентов в сверхмалых дозах на биологические объекты / Е. Б. Бурлакова, А. А. Кондратов, И. В. Худяков // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1990. № 2. С. 184–192.

16. Гуревич К. Г. Закономерности и возможные механизмы действия сверхмалых доз биологически активных веществ / К. Г. Гуревич // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2001. Т. 42, № 2. С. 131–134.

17. 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.

18. 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 // Вопр. ихтиологии. 2008. Т. 48, № 2. С. 276–283.

19. Филенко О. Ф. Динамика эффекта загрязняющих веществ в экотоксикологии / О. Ф. Филенко // Токсикол. вестн. 2001. № 2. С. 2–6.

Статья поступила в редакцию 17.03.2016

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**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.

**Аминов Александр Иванович** – Россия, 152742, Ярославская обл., пос. Борок; Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук; лаборатория экологии рыб; аспирант; alexsis89@rambler.ru.

**Урванцева Галина Александровна** – Россия, 150003, Ярославль; Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова; канд. хим. наук, доцент; доцент кафедры «Органическая и биологическая химия»; urvga@mail.ru.

**Смирнов Максим Сергеевич** – Россия, 150003, Ярославль; Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова; студент, специальность «Биология»; twilight-guard@mail.ru.



*I. L. Golovanova, A. I. Aminov, G. A. Urvantseva, M. S. Smirnov*

### EFFECT OF ULTRALOW CONCENTRATIONS OF ROUNDUP ON THE ACTIVITY OF GLYCOSIDASE IN JUVENILE FISH

**Abstract.** The aim of this study is to examine *in vitro* the effect of herbicide Roundup in a wide range of concentrations (from ultralow to high) on the level of glycosidase activity in juvenile fish. Enzyme activity was determined in the whole body of common carp *Carassius carassius* (L.) and in the intestine of roach *Rutilus rutilus* (L.), caught in the coastal part of the Rybinsk reservoir (Yaroslavl region). The amylolytic activity, reflecting the total activity of enzymes that hydrolyze starch ( $\alpha$ -amylase, glucoamylase and maltase) was determined by the modified Nelson's method. Maltase activity was determined by glucoseoxidase method with the help of the set for Clinical Biochemistry "Fotoglyukoza". The concentration range of Roundup (as glyphosate) was  $1 \cdot 10^{-13}$   $\mu\text{g/l}$  to 1 g/l. It was found that the amylolytic activity in the whole body of carp was higher compared to the control at ultralow concentrations of Roundup ( $1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-8}$   $\mu\text{g/l}$ ), and generally lower than in the control at higher concentrations. The amylolytic activity in the roach intestine was lower than that in the control in the range of all studied Roundup concentrations. The maltase activity in the intestine of roach was higher compared to the control only at herbicide concentrations of 0.01 mg/l to 1 g/l, no significant effect was observed at the lower concentrations. At the same time the concentrations of the herbicide, which differ by 2–17 orders of magnitude, can cause equal effect.

**Key words:** juvenile fish, glycosidase, amylolytic activity, maltase, Roundup, ultralow concentrations.

## REFERENCES

1. Gluszcak L. D., Miron S., Crestani M., da Fonseca M. B., Pedron F. A., Duarte M. F., Vieira V. L. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2006. Vol. 65. P. 237–241.
2. Struger J., Thompson D., Staznik B., Martin P., McDaniel T., Marvin S. Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2008, vol. 80, pp. 378–384.
3. *Perechen' rybokhoziaistvennykh normativov: predel'no dopustimye kontsentratsii (PDK) i orientirovochno bezopasnye urovni vozdeistviia (OBUV) vrednykh veshchestv dlia vody vodnykh ob'ektov, imeiushchikh rybokhoziaistvennoe znachenie* [List of fishing standards: specific allowable concentrations and approximately safe levels of exposure of harmful substances for water in water bodies, having significant value for fishery]. Prikaz Federal'nogo agentstva po rybolovstvu ot 20 ianvaria 2010 № 25. Available at: <http://base.garant.ru/2172023/>.
4. WHO (World Health Organization), *Environmental health criteria 159. Glyphosate. International Programme on Chemical Safety. 1994*. Available at: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159>.
5. Aminov A. I., Golovanova I. L., Filippov A. A. Vliianie gerbitsida Raundap na aktivnost' glikozidaz v organizme bespozvonochnykh zhivotnykh i molodi ryb [Influence of herbicide Roundup on the activity of glycosidase in the organisms of invertebrates and juvenile fish]. *Biologiya vnutrennikh vod*, 2013, no. 4, pp. 82–88.
6. Zhidenko A. A., Bibchuk E. V. Izmeneniia biokhicheskikh pokazatelei v pecheni karpa v usloviakh deistviia Raundapa [Changes in biochemical parameters in carp liver under the effect of Roundup]. *Sovremennye problemy teoreticheskoi i prakticheskoi ikhtiologii. II Mezhdunarodnaia nauchno-prakticheskaiia konferentsiia (Sevastopol', 16–19 sentiabria 2009 g.). Tezisy dokladov*. Sevastopol, 2009. P. 50–52.
7. Cox S. Glyphosate. *J. Pestic. Reform.*, 2004, vol. 24, no. 4, pp. 10–15.
8. Langiano V. C., Martinez C. B. R. Toxicity and effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.*, 2008, vol. 147, no. 2, pp. 222–231.
9. Folmar L. C., Sanders H. O., Julin A. M. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1979, vol. 8, pp. 269–278.
10. Golovanova I. L., Aminov A. I. Vliianie gerbitsida Raundap na aktivnost' glikozidaz molodi ryb i ikh kormovykh ob'ektov pri razlichnykh znacheniiakh temperatury i pH [Influence of herbicide Roundup on the activity of glycosidase of juvenile fish and their feeding objects at different temperature and pH]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khoziaistvo*, 2013, no. 1, pp. 129–134.
11. Karpouzias D. G., Singh B. K. Microbial Degradation of Organophosphorus Xenobiotics: Metabolic Pathways and Molecular Basis. *Adv. Microb. Physiol.*, 2006, vol. 51, pp. 119–185.
12. Tsui M. T. K., Chu L. M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland. *Chemosphere*, 2008, vol. 71, pp. 439–446.
13. Wang Y. J., Zhou D. M., Sun R. J., Jia D. A., Zhu H. W., Wang S. Q. Zinc adsorption on goethite as affected by glyphosate. *J. Hazard. Mater.*, 2008, vol. 151, pp. 179–184.
14. Ugolev A. M., Iezuitova N. N. Opredelenie aktivnosti invertazy i drugikh disakharidaz [Determination of the activity of invertase and other disaccharidase]. *Issledovanie pishchevaritel'nogo apparata u cheloveka*. Leningrad, Nauka Publ., 1969. P. 192–196.
15. Burlakova E. B., Kondratov A. A., Khudiakov I. V. Vozdeistvie khimicheskikh agentov v sverkhmalykh dozakh na biologicheskie ob'ekty [Impact of chemical agents in super low doses on the biological objects]. *Izvestiia AN SSSR. Seriya biologicheskaiia*, 1990, no. 2, pp. 184–192.
16. Gurevich K. G. Zakonomernosti i vozmozhnye mekhanizmy deistviia sverkhmalykh doz biologicheskii aktivnykh veshchestv [Peculiarities and possible mechanisms of the activity of super low doses of biologically active substances]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2. Khimiia*, 2001, vol. 42, no. 2, pp. 131–134.
17. Golovanova I. L., Iziunov 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 [Remote consequences of separate and joint influence of chlorophos and variable electro-magnetic field during the period of embryogenesis on the effectiveness of carbon hydrolysis in roach yearlings]. *Toksikologicheskii vestnik*, 2006, no. 5, pp. 34–38.
18. Golovanova I. L., Talikina M. G., Filippov A. A., Iziunov Iu. G., Chebotareva Iu. V. Vliianie sverkhmalykh kontsentratsii N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidina na rannii ontogenez plotvy Rutilus rutilus: Aktivnost' karbogidraz i kineticheskie kharakteristiki gidroliza uglevodov v kishechnike segoletkov [Influence of super low concentrations of N-methyl-N'-nitro-N-nitrozoguanidine on the early ontogenesis of roach: Carbohydrase activity and kinetic characteristics of hydrolysis of carbons in yearling intestine]. *Voprosy ikhtiologii*, 2008, vol. 48, no. 2, pp. 276–283.
19. Filenko O. F. Dinamika effekta zagriazniat'ishchikh veshchestv v ekotoksikologii [Dynamics of effect of pollution substances in exotoxicology]. *Toksikologicheskii vestnik*, 2001, no. 2, pp. 2–6.

The article submitted to the editors 17.03.2016

**INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

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

**Aminov Alexander Ivanovich** – Russia, 152742, Yaroslavl region, Borok; Institute of Biology of Inland Waters named after I. D. Papanin, Russian Academy of Sciences; Postgraduate Student of the Laboratory of Fish Ecology; alexsis89@rambler.ru.

**Urvantseva Galina Aleksandrovna** – Russia, 150003, Yaroslavl; Yaroslavl State University named after P. G. Demidov; Candidate of Chemistry, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department "Organic and Biology Chemistry"; urvga@mail.ru.

**Smirnov Maxim Sergeevich** – Russia, 150003, Yaroslavl; Yaroslavl State University named after P. G. Demidov; Student, Specialty "Biology"; twilightguard@mail.ru.

