

## Влияние фосфорсодержащих пестицидов на ферментативную активность и множественные формы кислой фосфатазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.)

© 2024. Е. А. Тишина, зав. лабораторией, Т. С. Дроганова, ст. преподаватель, Л. В. Поликарпова, н. с., Н. В. Васильев, д. х. н., профессор, зав. кафедрой, Государственный университет просвещения, 141014, Россия, г. Мытищи, ул. Веры Волошиной, д. 24, e-mail: ecolab@guppros.ru

Фосфорорганические пестициды применяются в сельском хозяйстве и для обработки ландшафтно-парковых зон вследствие высокой эффективности и экономической доступности. Выявлено изменение активности и состава множественных форм кислой фосфатазы (КФ) гепатопанкреаса (пищеварительной железы) пресноводного моллюска живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) при действии фосфорорганических пестицидов. Глифосат и малатион вызывают увеличение активности фермента в остром токсикологическом эксперименте. Глифосат (нейротропная активность неизвестна) вызывает прирост активности фермента, в 1,5–3,0 раза превышающее его нормальную активность, в то время как малатион (холиномиметик) вызывает увеличение активности КФ в 5–8 раз. Показано, что повышение активности фермента у моллюсков опытных групп связано с появлением новых множественных форм КФ, которые сохраняются на протяжении всего эксперимента. Состав множественных форм фермента у моллюсков контрольной группы на протяжении экспозиции не изменяется. Приведённые данные свидетельствуют о формировании неспецифической адаптации в ответ на действие фосфорорганических пестицидов и подтверждают, что активность КФ гепатопанкреаса живородки речной может являться адекватным индикатором токсического воздействия в эколого-биохимическом мониторинге загрязнений пресных вод.

**Ключевые слова:** эколого-биохимический мониторинг, гидробионты, живородка речная, токсическое воздействие, глифосат, малатион, ферменты, кислая фосфатаза, множественные формы фермента.

## Effect of phosphorus-containing pesticides on the enzymatic activity and multiple forms of acid phosphatase of river snail (*Viviparus viviparus* L.)

© 2024. Е. А. Tishina ORCID: 0000-0001-8329-7855, Т. S. Droганova ORCID: 0000-0002-8917-7392, L. V. Polikarpova ORCID: 0000-0002-5459-3054, N. V. Vasiliev ORCID: 0000-0002-8215-6687, State University of Education, 24, Very Voloshinoy St., Mytischy, Russia, 141014, e-mail: ecolab@guppros.ru

Organophosphate pesticides are used in agriculture and for treating landscape and park areas due to their high efficiency and economic availability, and therefore they are potential toxicants in water bodies. Broad-spectrum systemic herbicide (Glyphosate) and an organophosphorus insecticide (Malathion) have been studied against the freshwater mollusks (*Viviparus viviparus* L.), widespread in permanent water bodies of the European part of Russia and Siberia. Changes in the activity and composition of multiple forms of acid phosphatase (AcP) were revealed in the hepatopancreas of mollusks under the influence of high doses of glyphosate and malathion in an acute toxicological experiment (96 hours). In both cases, an increase in enzyme activity is observed, but the cholinomimetic malathion is significantly more active than glyphosate, the neurotropic activity of which is unknown. It was shown that the increase in activity in the experimental groups of mollusks is associated with the appearance of new multiple forms of acid phosphatase, which persist throughout the experiment. Multiple form of AcP with low relative electrophoretic mobility revealed as an effect of glyphosate and malathion. In addition, in mollusks exposed to malathion, a multiple form of the enzyme with an average electrophoretic mobility was detected. The composition of multiple forms of acid phosphatase in mollusks of the control group did not change during the exposure. The results indicate the formation of nonspecific adaptations in response to organophosphate pesticides and confirm that acid phosphatase can be an indicator of toxic effects in environmental and biochemical monitoring of freshwater pollution.

**Keywords:** ecological and biochemical monitoring, hydrobionts, river snail, toxic effect, glyphosate, malathion, enzymes, acid phosphatase, multiple forms of the enzyme.

Более 1000 пестицидов, используемых в настоящее время в большинстве стран, непреднамеренно попадают в водные экосистемы через поверхностный сток. Вода является одним из основных средств транспортировки пестицидов с места применения в сельском и лесном хозяйстве в окружающую среду, и водорастворимые экотоксиканты в значительной степени аккумулируются в водных объектах [1].

Фосфорорганические пестициды широко используются в сельском хозяйстве и для обработки ландшафтно-парковых зон, поскольку обладают высокой эффективностью и экономически доступны. В группе распространённых фосфорорганических пестицидов находятся эффективные инсектициды, например, малатион, а также гербицид глифосат, который применяют для борьбы с нежелательной растительностью [2, 3].

Для фосфорорганических инсектицидов хорошо изучен механизм действия, заключающийся в ингибировании холинэстеразы за счёт фосфорилирования серинового остатка эстеразного участка фермента [4]. Результатом такого ингибирования является генерализованное перевозбуждение холинорецепторов под воздействием эндогенного ацетилхолина, что может закончиться гибелью животного. Нервнопаралитический механизм действия имеет общий характер для всех животных, поэтому фосфорорганические инсектициды при их применении против насекомых наносят вред и другим животным. Хотя малатион и не является нормируемым токсикантом, в 2020 г. он был обнаружен в плодовоовощной продукции Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей [5, 6]. Необходимо отметить, что в организме насекомых гидролиз малатиона осуществляется медленно, поэтому преобладают процессы окисления малатиона до малаоксона, который более токсичен, чем малатион [7]. Механизмы преобразования малатиона в организме водных гидробионтов изучены недостаточно.

Глифосат, по-видимому, обладает меньшей опасностью для животных и не является холиномиметиком, его относят к ингибиторам ферментных систем растений [8]. Он ингибирует EPSP-синтазу (5-енолпирувил-шिकимат-3-фосфат-синтазу), локализованную в хлоропластах, и блокирует шикиматный путь синтеза бензоидных ароматических соединений [9–11]. Последние годы в связи с активным применением этого гербицида обсуждается вопрос об его возможном канце-

рогенном действии на человека и животных [11–13], однако его действие на гидробионтов мало изучено.

Таким образом, и малатион, и глифосат являются потенциальными токсикантами в водных объектах. Известно, что биотестирование экотоксикантов в водных объектах является одним из наиболее надёжных методов, основанных на оценке воздействия вредного вещества на гидробионтов [14].

В настоящей работе в качестве тест-объекта выбран моллюск живородка речная (*Viviparus viviparus* L.). Этот вид широко распространён в постоянных водоёмах Европейской части России и Сибири [15], его выбор в качестве объекта изучения обусловлен крупными размерами, малой подвижностью, достаточной продолжительностью жизни, высокой плодовитостью и чувствительностью к токсическому воздействию [16, 17]. Для анализа использовался гепатопанкреас (пищеварительная железа), ткани которого чувствительны к токсическому воздействию и являются объектом изучения на других гидробионтах [18, 19]. В качестве индикаторного показателя исследовалась активность кислой фосфатазы (КФ) гепатопанкреаса живородки речной (*V. viviparus* L.) при действии высоких доз фосфорорганических пестицидов глифосата и малатиона.

Фосфатаза является ферментом, сигнализирующим об интенсивности метаболических процессов адаптации. Её чувствительность к токсическому воздействию продемонстрирована для моллюсков *Lymnaea stagnalis* [20], *Crassostrea gigas* и *Modiolus modiolus* [21].

Цель исследования – анализ изменений активности и множественных форм кислой фосфатазы живородки речной (*V. viviparus* L.) при действии высоких доз пестицидов глифосата и малатиона.

### Объекты и методы исследования

Сбор животных осуществлялся в Пестовском водохранилище (село Тишково Пушкинского района Московской области, 56°05'11.1" N, 37°44'21.9" E). Акклимацию проводили в течение двух недель в лабораторном аквариуме объёмом 150 л с водными растениями с места сбора моллюсков, в условиях, близких к естественным, с постоянной аэрацией. На протяжении периода акклимации моллюски питались детритом и растениями из аквариума.

В ходе эксперимента моллюсков делили на контрольную и опытные группы. Опытных

животных подвергали воздействию пестицидов в концентрациях, десятикратно превышающих предельно допустимые концентрации для водных объектов рыбохозяйственного значения (ПДК<sub>р-х.</sub>) в соответствии с данными, приведёнными в приказе Минсельхоза России от 13.12.2016 № 552 (с изменениями на 10 марта 2020 г.): глифосат – 0,01 мг/дм<sup>3</sup> (для глифосата ПДК<sub>р-х.</sub> = 0,001 мг/дм<sup>3</sup>); малатион – 0,0001 мг/дм<sup>3</sup> (для малатиона ПДК<sub>р-х.</sub> = 0,00001 мг/дм<sup>3</sup>).

Экспозиция опыта составляла 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 и 96 ч. Контролем служили животные, отобранные непосредственно перед началом эксперимента (точка экспозиции 0 ч), а также моллюски, содержащиеся в воде без внесения токсиканта. По истечении установленного времени экспозиции отбирали по 6 животных из каждой группы, извлекали пищеварительную железу (гепатопанкреас), из которой получали экстракт водорастворимых белков растиранием при охлаждении с битым кварцевым стеклом. В качестве экстрагента использовали 0,5%-ный раствор Triton X-100 (10-кратный объём по отношению к навеске ткани). Белковые экстракты очищали центрифугированием в рефрижераторной центрифуге «Eppendorf 5417 R» при 6700 g и 4 °C в течение 30 мин, затем отделяли супернатант [16, 22]. Концентрацию белка в полученных экстрактах определяли по методу Лоури [23].

Активность КФ определяли спектрофотометрически по скорости гидролиза модельного субстрата – *n*-нитрофенилфосфата в 0,05 М ацетатном буфере с pH 4,1 (оптимальный для КФ пищеварительной железы живородки речной). Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре «Thermo genesis 6» при  $\lambda = 415$  нм [24].

За единицу активности (Е) принимали количество фермента, дающее прирост содержания продукта ферментативной реакции (*n*-нитрофенола) на 1 мкмоль за 1 мин. Удельную активность КФ выражали в единицах активности на 1 мг белка (Е/мг белка).

Обнаружение множественных форм КФ живородки речной проводили методом диск-электрофореза в колонках полиакриламидного геля (ПААГ) по Орнштейну и Девису [16, 25, 26].

Электрофорез белков проводили при температуре 4–6 °C (принудительное охлаждение) для предотвращения денатурации белков и сохранения ферментативной активности.

Обнаружение зон нахождения КФ проводили по методике Берстона [27], усовершен-

ствованной в работе [28], модифицированной для гелей. Колонку геля, промытую в дистиллированной воде, помещали в заранее подготовленную инкубационную смесь, составленную из 8 мл 0,2 М ацетатного буфера (pH 4,1) и 1 мл 0,3%-ного раствора  $\alpha$ -нафтилфосфата («Sigma», США). После тщательного перемешивания смесь инкубировали в течение 10 мин в термостате при температуре 37 °C. Далее приливали 1 мл раствора прочного синего Б (Fast Blue B, «Chemapol», Чехия), перемешивали и снова инкубировали в термостате (от 5 до 20 мин) до появления малиново-красных полос в местах локализации кислой фосфатазы на гелевой колонке.

Относительную электрофоретическую подвижность (Rf) рассчитывали для каждой выявленной зоны активности КФ как отношение пробега белка к пробегу лидирующего красителя бромфенолового синего.

Все исследования проводили в трёх аналитических повторностях. Результаты представлены в виде «среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение».

## Результаты и обсуждение

Проведённые исследования показали, что активность фермента КФ не остаётся постоянной на протяжении эксперимента, как у контрольной, так и у опытной групп исследованных животных вследствие естественных метаболических процессов в организме моллюсков и имеет фазовый характер, что является отражением процессов индукции и репрессии ферментов.

Воздействие гербицида глифосата (рис. 1) привело к повышению активности КФ относительно контроля практически во всём периоде наблюдения. На протяжении эксперимента выявлено чередование фаз снижения и повышения активности фермента. В первые 12 ч экспозиции отмечено резкое увеличение активности КФ (в 3 раза) относительно контроля. Далее активность фермента несколько снижается, но остаётся выше контрольных значений, а начиная от 48 ч экспозиции и до окончания эксперимента (96 ч), отмечено снижение до значений, близких к контрольным.

Действие инсектицида малатиона (рис. 1) приводит к аналогичному глифосату повышению активности КФ. Однако под действием малатиона проявляется ярко выраженный прирост активности фермента, достигающий максимального значения при 4 ч экспозиции, когда активность кислой фосфатазы возросла

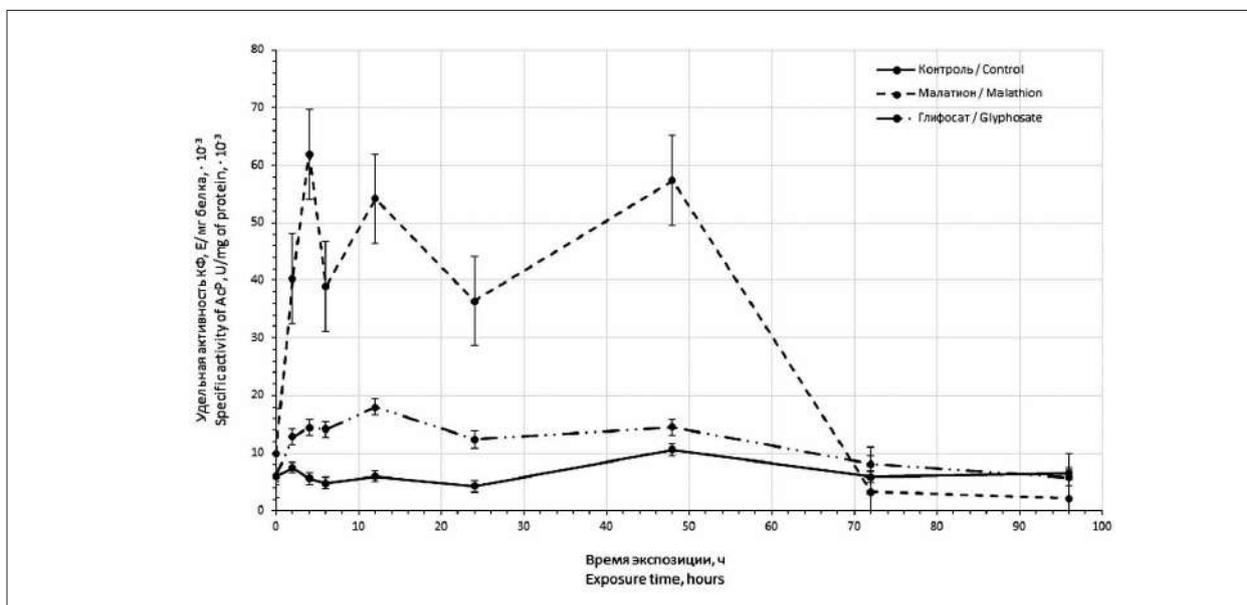


Рис. 1. Изменение удельной активности кислой фосфатазы под действием глифосата и малатиона  
 Fig. 1. Changes in specific activity of acid phosphatase (AcP) under the glyphosate and malathion exposure

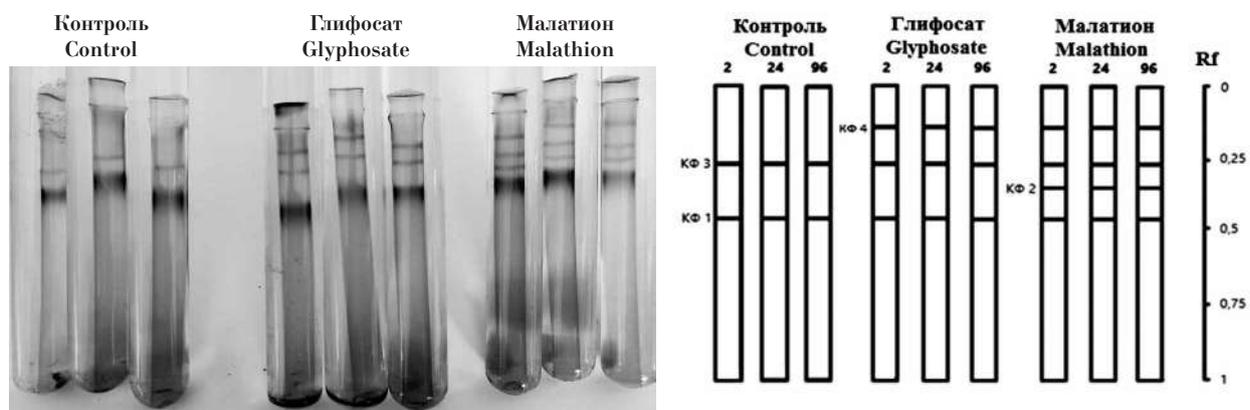


Рис. 2. Фотографии и схемы электрофореграмм множественных форм кислой фосфатазы пищеварительной железы моллюска *Viviparus viviparus* L. в норме и при воздействии токсикантов  
 Fig. 2. Photos and diagrams of electrophoregrams of multiple forms of digestive acid phosphatase of the *Viviparus viviparus* L. in control and under toxicants exposure

в 11 раз относительно контроля. Далее до 48 ч экспозиции отмечен фазовый характер изменения активности КФ, но в целом активность фермента в 4–5 раз превышает контрольные значения. Начиная от 48 ч экспозиции активность фермента резко снижается. От 72 до 96 ч экспозиции наблюдается снижение активности фермента до контрольных значений.

Анализ полученных энзимограмм показал, что при общем повышении активности фермента число множественных форм КФ увеличивается (рис. 2). Действие глифосата и малатиона привело к появлению множественной формы КФ с низкой относительной электрофоретической подвижностью ( $Rf_{KФ4} = 0,13$ ), которая сохранялась на протяжении

всего эксперимента. Под воздействием малатиона появляется также дополнительная форма КФ со средним значением электрофоретической подвижности ( $Rf_{KФ2} = 0,35$ ), это может служить объяснением сильного повышения активности фермента КФ. При этом в контрольной группе на протяжении экспозиции состав множественных форм КФ не изменяется. Под воздействием глифосата при экспозиции 2–4 ч, 6–36 ч, 48–96 ч и под воздействием малатиона при экспозиции 2–72 ч и 72–96 ч получены одинаковые спектры фермента.

Проводимые ранее исследования по изменению качественного состава белков при интоксикации фосфорорганическими пести-

цидами выявили образование стресс-белков (металлотионеинов), связанных с увеличением активности КФ [29].

Полученные зависимости активности и характер изменения состава множественных форм КФ соотносятся с фазами развития стресс-реакции (повышение активности ферментов – стадия тревоги, продолжительное сохранение активности фермента выше контрольных значений с последующим снижением до нормы – стадия адаптации) [30], что свидетельствует о выраженной перестройке метаболизма моллюсков и формировании неспецифической адаптации в ответ на токсическое воздействие используемых пестицидов [31, 32]. При анализе литературных источников нами найдено множество примеров, которые подтверждают полученные результаты [33–36] и указывают на изменение активности ферментов, не связанных непосредственно с детоксикацией у гидробионтов.

### Заключение

Выявленные зависимости отражают процесс стресс-индуцированной адаптации, состоящей в повышении активности фермента КФ моллюсков, начиная с первых часов токсического воздействия, при сохранении колебательной динамики. Существенные отличия активности от контрольных значений находятся за пределами нормы. Колебания активности в контроле (норме) не превышают двух раз. Влияние глифосата заключается в некотором повышении активности без существенного изменения фазового характера. В то же время влияние малатиона приводит к более выраженному изменению и активности, и амплитуды колебаний. Таким образом, уровень активности и множественные формы КФ являются информативными индикаторами физиологического состояния гидробионтов и могут рассматриваться в качестве биохимического критерия для характеристики токсических свойств водной среды при появлении фосфорорганических пестицидов различных типов.

### Литература

1. Волгина Т.Н., Новиков В.Т., Регузова Д.В. Пути распространения пестицидов в объектах окружающей среды // Региональные проблемы. 2010. Т. 13. № 1. С. 76–81.
2. Ганиев М.М., Недорезков В.Д. Химические средства защиты растений. М.: КолосС, 2006. 248 с.
3. Helfrich L.A., Weigmann D.L., Hipkins P., Stinson E.R. Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts

on aquatic systems. Virginia Polytechnic Institute and State University, 2015. 24 p.

4. Антохин А.М., Гайнуллина Э.Т., Рыжиков С.Б., Таранченко В.Ф., Яваева Д.К. Холинэстеразы: структура активного центра и механизм влияния блокаторов холинорецепторов на скорость взаимодействия с лигандами // Успехи химии. 2010. Т. 79. № 8. С. 780–795.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. 256 с.
6. Киш Л.К., Третьяков А.В., Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Гергель М.А., Мищенко Н.В. Продукты трансформации пестицидов и антибактериальных препаратов в пищевой продукции и продовольственном сырье (аналитический обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 2. С. 15–25. doi: 10.25750/1995-4301-2022-2-015-025
7. Медведь Л.И. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология) / Под ред. академика АМН СССР, профессора Л.И. Медведя. К.: Урожай, 1974. 448 с.
8. Bradberry S.M., Proudfoot A.T., Vale J.A. Glyphosate poisoning // Toxicological Reviews. 2004. V. 23. No. 3. P. 159–167. doi: 10.2165/00139709-200423030-00003
9. Кузнецова Е.М., Чмил В.Д. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков // Современные проблемы токсикологии. 2010. № 1. С. 87–95.
10. Плотникова О.М., Кудрин Б.И., Евдокимов А.Н., Максимовских С.Ю. Оценка токсичности глифосата по гематологическим и биохимическим показателям крови лабораторных мышей // Вестник Курганской ГСХА. 2015. № 3. С. 41–44.
11. Benbrook C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // Environ. Sci. Eur. 2016. V. 28. No. 1. Article No. 3. doi: 10.1186/s12302-016-0070-0
12. Cressey D. Widely used herbicide linked to cancer // Nature. 2015 [Электронный ресурс] <https://www.nature.com/articles/nature.2015.17181#citeas> (Дата обращения: 10.01.2024). doi: 10.1038/nature.2015.17181
13. Dos Santos A.P.R., Rocha T.L., Borges C.L., Bailao A.M., Soares C.M.A., Saboia-Morais S.M.T. A glyphosate-based herbicide induces histomorphological and protein expression changes in the liver of the female guppy *Poecilia reticulata* // Chemosphere. 2017. V. 168. P. 933–943. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.116
14. Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю., Кочурова Т.И., Кантор Г.Я. Биоиндикация и биотестирование природных сред как основа экологического контроля на территории зоны защитных мероприятий объекта по уничтожению химического оружия // Российский химический журнал. 2007. Т. 51. № 2. С. 59–62.
15. Березкина Г.В., Зотин А.А. Различия в морфологии раковины самцов и самок речных живородок *Viviparus viviparus* (Gastropoda, Viviparidae) // Зоологический

журнал. 2013. Т. 92. № 8. С. 875–881. doi: 10.7868/S0044513413080047

16. Дроганова Т.С., Коничев А.С., Петренко Д.Б., Поликарпова Л.В., Цветков И.Л. Влияние фторида натрия и фторуксусной кислоты на активность кислой ДНКазы, кислой фосфатазы и спектр растворимых белков гепатопанкреаса живородки речной // Вестник Московского Государственного Областного Университета. Сер.: Естественные науки. 2017. № 4. С. 36–45. doi: 10.18384/2310-7189-2017-4-36

17. Уваева Е.И., Шимкович Е.Д. Биоиндикационное значение популяционных характеристик живородок (Mollusca, Gastropoda, Viviparidae) в водоёмах Центрального Полесья // Ученые записки Казанского университета. Сер.: Естественные науки. 2017. Т. 159. № 3. С. 524–530.

18. Минеев А.К., Минеева О.В. Гистопатологии печени у рыб Саратовского водохранилища // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 3. С. 114–119. doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-114-119

19. Yancheva V., Velcheva L., Stoyanova S., Georgieva E. Fish in Ecotoxicological Studies // Ecologia Balkanica. 2015. V. 7. No. 1. P. 149–169.

20. Борис О.А., Ильюкова И.И., Шевцова С.Н., Мартынов В.В., Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петрова С.Ю., Гомолко Т.Н. Токсические эффекты воздействия отходов гальванических шламов на моллюска *Lymnaea stagnalis* L. // Здоровье и окружающая среда. 2016. № 26. С. 204–206.

21. Сейткалиева А.В., Мензорова Н.И., Рассказов В.А. Фосфатазы двустворчатых моллюсков и иглокожих Японского и Охотского морей // Биология моря. 2015. Т. 41. № 1. С. 46–54.

22. Fafandel M., Bihari N., Perić L., Cenov A. Effect of marine pollutants on the acid DNase activity in the hemocytes and digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis* // Aquatic Toxicology. 2008. V. 86. No. 4. P. 508–513. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.12.011

23. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. No. 1. P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6

24. Andersch M.A., Szczypinski A.J. Use of P-Nitrophenylphosphate as the substrate in determination of serum acid phosphatase // American Journal of Clinical Pathology. 1947. V. 17. No. 7. P. 571–574. doi: 10.1093/ajcp/17.7\_ts.571

25. Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. V. 121. P. 404–427. doi: 10.1111/j.1749-6632.1964.tb14213.x

26. Ornstein L. Disc electrophoresis. I. Background and theory // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. V. 121. P. 321–349. doi: 10.1111/j.1749-6632.1964.tb14207.x

27. Берстон М. Гистохимия ферментов. М.: Мир, 1965. 464 с.

28. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов: лабораторные методы / Под ред. Н.Т. Райхлина. М.: Мир, 1982. 272 с.

29. Тишина Е.А., Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В. Влияние фосфорорганических соединений на изменение качественного состава белков пресноводных моллюсков // Трансформация экосистем под воздействием природных и антропогенных факторов: Материалы международной научной конференции. Киров: ВятГУ, 2019. С. 162–165.

30. Цветков И.Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации: автореф. ... дис. докт. биол. наук. Москва: 2009. 46 с.

31. Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В., Тишина Е.А. Изменение активности и множественных форм кислой фосфатазы живородки речной под влиянием гербицидов на основе глифосата // Современное состояние водных биоресурсов. Новосибирск: НГАУ, 2019. С. 64–67.

32. Тишина Е.А., Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В., Коничев А.С. Влияние инсектицидов на основе малатиона на активность кислой фосфатазы живородки речной // Актуальные проблемы биологической и химической экологии. Мытищи: МГОУ, 2019. С. 231–234.

33. Вдовиченко Е.А., Высоцкая Р.У. Сравнительная характеристика активности лизосомальных гликозидаз у щук, обитающих в водоёмах с разным уровнем антропогенной нагрузки // Фундаментальные исследования. 2013. Т. 4. № 5. С. 1134–1138.

34. Высоцкая Р.У., Амелина В.С., Бахмет И.Н. Влияние нефтепродуктов на активность лизосомальных ферментов мидий в аквариальных экспериментах // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоёмов Европейского Севера. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. С. 123–126.

35. Крупнова М.Ю., Ильмаст Н.В., Немова Н.Н. Активность лизосомальных протеиназ в органах щук (*Esox lucius* L.), отловленных из озёр с различной антропогенной нагрузкой // Труды КарНЦ РАН. Сер.: Экспериментальная биология. 2011. № 3. С. 69–72.

36. Кяйвяряйнен Е.И., Борвинская Е.В., Немова Н.Н., Комов В.Т. Влияние аккумуляции ртути на активность Ca<sup>2+</sup>-активируемых протеиназ в тканях окуней (*Perca fluviatilis* L.) из озёр вблизи биостанции Картеш (Белое море) // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоёмов Европейского Севера. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. С. 324–329.

## References

1. Volgina T.N., Novikov V.T., Reguzova D.V. Pathways of pesticide distribution in environmental objects // Regional problems. 2010. V. 13. No. 1. P. 76–81 (in Russian).
2. Ganiev M.M., Nedorezkov V.D. Chemical means of plant protection. Moskva: KolosS, 2006. 248 p. (in Russian).
3. Helfrich L.A., Weigmann D.L., Hipkins P., Stinson E.R. Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts

- on aquatic systems. Virginia Polytechnic Institute and State University, 2015. 24 p.
4. Antokhin A.M., Gainullina E.T., Ryzhikov S.B., Taranchenko V.F., Yavaeva D.K. Cholinesterase: structure of active centre and mechanism of influence of choline receptor blockers on rate of interaction with ligands // *Uspekhi himii*. 2010. V. 79. No. 8. P. 780–795 (in Russian).
  5. On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in 2020: State Report. Moskva: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2021. 256 p. (in Russian).
  6. Kish L.K., Tretiakov A.V., Lavrukhina O.I., Ameilin V.G., Gergel M.A., Mishchenko N.V. Transformation products of pesticides and veterinary drugs in food and raw materials (analytical review) // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 2. P. 15–25 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-2-015-025
  7. Medved L.I. Handbook on pesticides (hygiene of application and toxicology) / Ed. L.I. Medved. Kiev: Urozhay, 1974. 448 p. (in Russian).
  8. Bradberry S.M., Proudfoot A.T., Vale J.A. Glyphosate poisoning // *Toxicological Reviews*. 2004. V. 23. No. 3. P. 159–167. doi: 10.2165/00139709-200423030-00003
  9. Kuznetsova E.M., Chmil V.D., Glyphosate: environmental fate and levels of residues // *Modern Problems of Toxicology*. 2010. No. 1. P. 87–95 (in Russian)
  10. Plotnikova O.M., Kudrin B.I., Evdokimov A.N., Maksimovskikh S.Yu. The estimation of toxicity glyphosate according to hematological and biochemical parameters of blood of laboratory mice // *Bulletin of the Kurgan State Agricultural Academy*. 2015. No. 3. P. 41–44 (in Russian).
  11. Benbrook C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // *Environ. Sci. Eur*. 2016. V. 28. No. 1. Article No. 3. doi: 10.1186/s12302-016-0070-0
  12. Cressey D. Widely used herbicide linked to cancer // *Nature*. 2015 [Internet resource] <https://www.nature.com/articles/nature.2015.17181#citeas> (Accessed: 10.01.2024). doi: 10.1038/nature.2015.17181
  13. Dos Santos A.P.R., Rocha T.L., Borges C.L., Bailao A.M., Soares C.M.A., Saboia-Morais S.M.T. A glyphosate-based herbicide induces histomorphological and protein expression changes in the liver of the female guppi *Poecilia reticulata* // *Chemosphere*. 2017. V. 168. P. 933–943. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.116
  14. Ashikhmina T.Y., Domracheva L.I., Kondakova L.V., Ogorodnikova S.Yu., Kochurova T.I., Kantor G.Ya. Bioindication and biotesting of natural environments as the basis of ecological control on the territory of the zone of protective measures of the object on destruction of chemical weapon // *Russian Chemical Journal*. 2007. V. 51. No. 2. P. 59–62 (in Russian)
  15. Berezkina G.V., Zotin A. Differences in the morphology of shells in males and females of the river snail (*Viviparus viviparus*, Gastropoda, Viviparidae) // *Zoologicheskii zhurnal*. 2013. V. 92. P. 875–881 (in Russian). doi: 10.7868/S0044513413080047
  16. Drogonova T.S., Konichev A.S., Petrenko D.B., Polikarpova L.V., Tsvetkov I.L. Influence of sodium fluoride and fluoroacetic acid on the activity of acidic DNase, acid phosphatase and spectrum of soluble proteins of the freshwater snail *Viviparus viviparus* L. // *Bulletin of Moscow Region State University. Series: Natural sciences*. 2017. No. 4. P. 36–45 (in Russian). doi: 10.18384/2310-7189-2017-4-36-45
  17. Uvaeva E.I., Shimkovich E.D. Bioindication significance of the population characteristics of viviparids (*Mollusca*, *Gastropoda*, *Viviparidae*) in water bodies of Central Polesia, Ukraine // *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*. 2017. V. 159. No. 3. P. 521–530 (in Russian).
  18. Mineev A.K., Mineeva O.V. Histopathology of fishes' liver in the Saratov reservoir // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 3. P. 114–119 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-114-119
  19. Yancheva V., Velcheva I., Stoyanova S., Georgieva E. Fish in ecotoxicological studies // *Ecologia Balkanica*. 2015. V. 7. P. 149–169.
  20. Boris O.A., Ilyukova I.I., Shevtsova S.N., Martynov V.V., Polikarpova L.V., Drogonova T.S., Petrova S.Yu., Gomolko T.N. Toxic effects of slimes waste exposure to shellfish *Lymnaea stagnalis* L. // *Health and Environment*. 2016. No. 26. P. 204–206 (in Russian).
  21. Seitkalieva A.V., Menzorova N.I., Rasskazov V.A. Phosphatases of echinoderm and bivalve mollusks of the Japan and Okhotsk seas // *Marine Biology*. 2015. V. 41. No. 1. P. 46–54 (in Russian).
  22. Fafandel M., Bihari N., Perić L., Cenov A. Effect of marine pollutants on the acid DNase activity in the hemocytes and digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis* // *Aquatic Toxicology*. 2008. V. 86. No. 4. P. 508–513. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.12.011
  23. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem*. 1951. V. 193. No. 1. P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
  24. Andersch M.A., Szczypinski A.J. Use of *P*-nitrophenylphosphate as the substrate in determination of serum acid phosphatase // *American Journal of Clinical Pathology*. 1947. V. 17. No. 7. P. 571–574. doi: 10.1093/ajcp/17.7\_ts.571
  25. Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1964. V. 121. P. 404–427. doi: 10.1111/j.1749-6632.1964.tb14213.x
  26. Ornstein L. Disc electrophoresis. I. Background and theory // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1964. V. 121. P. 321–349. doi: 10.1111/j.1749-6632.1964.tb14207.x
  27. Burston M. Enzyme histochemistry. Moskva: Mir, 1965. 464 p. (in Russian).
  28. Loida Z., Gossrau R., Schibler T. Enzyme histochemistry: laboratory methods. Moskva: Mir, 1982. 272 p. (in Russian).

29. Tishina E.A., Droганova T.S., Polikarpova L.V. Effect of organophosphorus compounds on changes in the qualitative composition of freshwater mollusk proteins // Transformation of ecosystems under the influence of natural and anthropogenic factors: Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. Kirov: VyatGU, 2019. P. 162–165 (in Russian).

30. Tsvetkov I.L. Biochemical parameters of stress-reducing reaction of hydrobionts at intoxication: Dr. biol. sci. diss. Abstr. Moskva, 2009. 46 p. (in Russian).

31. Droганova T.S., Polikarpova L.V., Tishina E.A. Changes in activity and multiple forms of acid phosphatase of river snail under the influence of glyphosate-based herbicides // Current state of aquatic bioresources: Materialy mezhdunarodnoy konferentsii. Novosibirsk: NSAU, 2019. P. 64–67 (in Russian).

32. Tishina E.A., Droганova T.S., Polikarpova L.V., Konichev A.S. The influence of malathion-based insecticides on the activity of acid phosphatase of the river snail // Current problems of biological and chemical ecology: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoj konferentsii. Mytishi: MSRU, 2019. P. 231–234 (in Russian).

33. Vdovichenko E.A., Vysotskaya R.U. Comparative characteristics of the activity of lysosomal glycosidases

in pikes living in water bodies with different levels of anthropogenic load // Fundamental research. 2013. No. 4–5. P. 1134–1138 (in Russian).

34. Vysotskaya R.U., Amelina V.S., Bakhmet I.N. The influence of petroleum products on the activity of lysosomal enzymes of mussels in aquarium experiments // Biological resources of the White sea and inland waters of European North: Materialy mezhdunarodnoy konferentsii. Petrozavodsk: KarNTs RAN, 2009. P. 123–126 (in Russian).

35. Krupnova M.Yu., Ilmast N.V., Nemova N.N. Activity of lysosomal proteinases in organs of pike (*Esox lucius* L.) from lakes with different anthropogenic pressure // Transactions of KarRC RAS. Experimental Biology series. 2011. No. 3. P. 69–72 (in Russian).

36. Kyayvyaryaynen E.I., Borvinskaya E.V., Nemova N.N., Komov V.T. Effect of accumulation of mercury on activity Ca<sup>2+</sup>-activated proteinases in tissues of perch (*Perca fluviatilis* L.) From lakes near biological research station Kartesh (White sea) // Biological resources of the White sea and inland waters of European North: Materialy mezhdunarodnoy konferentsii. Petrozavodsk: KarNTs RAN, 2009. P. 324–329 (in Russian).