

УДК 597.551.2:[504.5:661.162.2]

А. О. Жиденко, К. В. Бібчук, В. В. Паперник

ЧУТЛИВІСТЬ ТА СТІЙКІСТЬ КОРОПОВИХ РИБ ДО ДІЇ ГЕРБІЦИДІВ (ОГЛЯД)

За літературними даними проаналізовано механізми чутливості і резистентності коропових риб за дії гербіцидів залежно від їхньої хімічної природи і властивостей в умовах модельних експериментів, та прогноуються можливості вироблення стійкості риб до дії токсикантів з використанням експресії генів, їх епігеному.

Ключові слова: гербіциди, модельний експеримент, карась, короп, чутливість, стійкість, токсичність, епігеном, експресія генів.

Однією з найбільш важливих екологічних проблем сьогодення є забруднення навколишнього середовища. Збільшення використання гербіцидів у сільському, лісовому і рибному господарствах призводить до трансформації водних екосистем, негативно впливає на стан гідробіонтів [2, 10, 12, 14, 51] і становить загрозу здоров'ю людини [48]. У зв'язку з цим, досі є актуальними дослідження з біоіндикації, біотестування, пошуку біомаркерів токсичного забруднення водойм [9, 13, 29, 33], але підбір окремих морфологічних, фізіологічних, імунологічних, біохімічних показників без розуміння особливостей формування реакції-відповіді риб, їх чутливості і стійкості до дії токсикантів може бути некоректним, хоча біохімічні механізми знешкодження ксенобіотиків у різних організмах часто є схожими [27, 40]. Під поняттям «стійкість» зазвичай розуміють здатність організму якомога довше виживати за тривалої дії малих концентрацій токсичної речовини або за короткострокової дії великих концентрацій за рахунок різних регуляторних механізмів [3]. Зрозуміло, що чим швидше здійснюється регуляція (зміна проникності клітин і тканин, метаболічні перетворення, що знижують токсичність ксенобіотиків, або швидкість виведення чужорідних речовин), тим більшим буде час виживання риб. Очевидно, що регуляторні механізми увімкнуться раніше в більш чутливих до даного токсиканту організмів [3]. Чутливість — це здатність організму сприймати токсикант, яка характеризує первинну реакцію організму на нього і визначається клінічними ознаками латентного періоду, прикладом чого може бути бурхлива рухова активність риб після додавання токсичного реагенту у воду. За фізіологічним змістом поняття «чутливість» близьке до поняття «збудливість» [3]. Мірою збудливості є мінімальна сила подразника, у даному випадку хімічного, яку називають порогом подразнення. На підставі дослідів з фенолом була вста-

© А. О. Жиденко, К. В. Бібчук, В. В. Паперник, 2019

новлена стійкість і чутливість риб і зроблено висновок, що висока чутливість виду не завжди супроводжується низькою стійкістю і навпаки [26]. Відомо, що провідну роль у визначенні стійкості риб до токсикантів відіграють видові особливості, які залежать від геному і епігеному. Разом з тим встановлено, що токсикорезистентність до ксенобіотиків зумовлена низькою чинників: вік риб, екологічні впливи, концентрація, час дії токсиканту тощо [1]. Отримані дані щодо стійкості та чутливості риб на прикладі фенольної інтоксикації можна застосовувати і до дії пестицидів.

В оглядовій статті ми зробили спробу проаналізувати і узагальнити наявну інформацію щодо чутливості корошових риб до дії гербіцидів, їх впливу на прояв термінової фізіологічної адаптації та механізми формування довготривалої адаптації, що зможе забезпечити їх життєдіяльність і стійкість в умовах гербіцидного стресу. Згідно з Державним реєстром пестицидів і агрохімікатів (додаток від 17.04.2014), на території України досить широко застосовуються препарати на основі 2,4 ДБЕ (2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти бутиловий етер) — 14 найменувань і 36 найменувань на основі власне 2,4-Д; метрибузину (4-аміно-6-третбутил-3-метилтіо-1,2,4-триазин-5(4Н)-он) — 9 найменувань; гліфосату, фосулену (N-фосфометилгліцин) — 71 найменування. З перерахованих гербіцидів найбільш активно з 1970-х років застосовувався 2,4-Д, зокрема методом прямого внесення у водойми або авіа методом. Зараз похідні 2,4-Д відносять до четвертого класу стабільності, тому їх використання дуже скоротилось [39]. Гербіциди на основі похідних 2,4-Д і метрибузину після закінчення терміну придатності можуть зберігатися у неналежних умовах, зокрема на не паспортизованих складах. Так, відповідно до «Екологічного паспорту Чернігівської області» на 01.01.2017 р. на 57 складах області зберігалось 284,5 т непридатних до використання пестицидів, у тому числі і гербіцидів [13]. У той же час, згідно з даними Головного управління статистики обсяг закупівлі гербіцидів сільськогосподарськими підприємствами Чернігівської області постійно зростає. Все вищевказане підвищує ймовірність потрапляння гербіцидів у водні джерела. Додатково небезпеку для гідробіонтів створює застосування гербіцидів на основі гліфосату у дренажних каналах і зрошувальних мережах [39].

На чутливість і стійкість риб до токсичної дії гербіцидів впливають такі екологічні чинники: температура води, рН води, магнітне поле, швидкість течії, сезон, стадія розвитку організму, вміст розчиненого у воді кисню, вуглекислоти, мінеральних речовин, жорсткість води, органічних речовин тощо, тому відповідь корошових риб (*Cyprinus carpio* і *Carassius gibelio*) на дію кожного гербіциду розглядалась окремо з метою виключення впливу додаткових подразників.

Про отруєння риб зазвичай роблять висновок за поведінковими реакціями, положенням тіла в воді, рухливістю і координацією, наявністю спазмів мускулатури і судом, частотою і ритмом дихання риб, затримкою у рості і розвитку, морфологічними і гістологічними змінами в окремих органах і системах, гематологічними та біохімічними показниками, тому ми будемо притримуватися такої послідовності в описі реакції-відповіді організму на дію токсикантів: 1) поведінкові реакції, 2) зміни зовнішніх покривів і

внутрішніх органів риб на тканинному і клітинних рівнях, 3) відхилення гематологічних показників, 4) зміни біохімічних параметрів клітин.

Вивчення поведінкових реакцій є найбільш простим і широко застосовується в роботі науково-дослідних та рибогосподарських організацій як найбільш швидкий спосіб визначення стану риб для отримання оперативної інформації, яка дозволить скорегувати подальший напрямок роботи. Так, для оцінки суттєвості впливу гербіцидів на поведінкові реакції і у подальшому на стійкість короїв були використані метрибузин, гліфосат і похідні 2,4-Д у концентрації 2, 4 і 20 ГДК (гранично допустима концентрація) [30, 31]. Через 2—5 хв після поміщення риб у воду з додаванням похідних 2,4-Д спостерігали сильний хаотичний рух з вистрибуванням з глибини [28], що пов'язано з тим, що цей гербіцид відноситься до речовин нервово-паралітичної дії. Через 3—4 год корої заспокоювалися, але рухалися повільно порівняно з контрольною групою. Вважається [25], що зміни поведінки риб у токсичних умовах відбуваються внаслідок ураження їх органів чуттів, рецепторні елементи яких безпосередньо взаємодіють з токсичним оточенням. Препарат на основі метрибузину викликав підвищення активності та агресивності риб протягом усіх експериментів (для дворічок — 14 діб, для цьоголіток і мальків — 21 доба), відзначались окремі ушкодження риля і хвостових плавців, більшою мірою у дворічок [18]. Токсичний вплив раундапу проявлявся в загальній слабкості риб, уповільненій реакції на зовнішні подразники (світло, заміна води). На 14-у добу корої були малорухливими, але знаходилися у нормальному, а не бічному положенні. Таким чином, згідно поведінкових реакцій риб досліджені гербіциди за зростанням інтенсивності можна розташувати в наступному порядку: похідні 2,4-Д, гліфосат, метрибузин [18], що загалом збігається з даними інших літературних джерел [10].

Зміни зовнішніх покривів, зокрема слизу та шкіри, свідчать про ефективність роботи першої лінії захисту організму риб. Показано, що збільшення кількості слизу і зміна його біохімічного складу у молоді риб за дії різких змін температури можна вважати проявом еустресу [8]. За дії похідних 2,4-Д для риб характерна поява білуватого слизу, яка пояснюється деструктивними і десквамативними процесами, руйнуванням келихоподібних клітин, в'язкі та клейкі грудочки секрету яких при потраплянні в воду утворюють набряклу масу молочно-білого забарвлення [18]. Руйнування келихоподібних клітин, що розташовуються глибше верхньої оболонки епідермісу, з виділенням великої кількості слизу можна розглядати як терміновий етап адаптації, завдяки якому відбувається регенерація зруйнованої захисної оболонки тіла риб [18, 37]. Це запобігає утворенню на її поверхні виразок, точкових крововиливів, набряків тощо.

Натомість зенкор (метрибузин) і раундап (гліфосат) діють лише на верхній шар епідермісу, стимулюючи слизові клітини, секрет яких безбарвний і не змінює колір і в'язкість води. За дії гербіциду Roundup® на основі гліфосату у концентраціях 0,2 або 0,4 мг/л протягом 96 год на риб *Rhamdia quelen* і *Leporinus obtusidens* склад слизу також змінювався [46]. Це пов'язано з різною хімічною природою і властивостями гербіцидів. Мала розчинність гербіциду 2,4-ДБЕ у воді визначає його проникнення через

біліпідний шар мембрани до келиховидних клітин і їх руйнування. Метрибузин і, особливо, гліфосат більш розчинні у воді порівняно з похідними 2,4-Д, що відображається у значеннях коефіцієнтів ліпофільності: для гліфосату цей показник ($\text{Log } P$) становить $-2,36 \pm 0,64$, для метрибузину — $1,3 \pm 0,21$, для 2,4-Д — $2,60 \pm 0,35$, для розчину 2,4-ДБЕ $4,26 \pm 0,34$ [28]. Вплив гліфосату і метрибузину на тонкий шар епідермісу викликає утворення сітчастих крововиливів на грудних і черевних плавцях дворічок коропа.

Однією з ознак токсичного пошкодження шкірних покривів риб гербіцидами є депігментація зовнішніх покривів у результаті руйнування хроматофорів. За дії метрибузину кількість пігментних клітин у шкірі зростає, а їх форма змінюється (з зірчастих з розгалуженими відростками вони стають округлими). Гліфосат, у зв'язку з легшим проникненням (від'ємний коефіцієнт ліпофільності) більш токсичний, його вплив супроводжується появою геморагій, виразок на зовнішніх покриттях тіла, точкових крововиливів, набряком тканин, розвитком жовтуватого забарвлення поверхні тіла в області анального отвору [18].

Вивчення представників не одного, а кількох видів риб за дії одного токсиканта дозволяє поглибити знання про механізми його дії. Зокрема, карась *C. gibelio* вважається досить стійким до токсикантів порівняно з коропом [4]. В умовах дії гліфосату у концентрації $0,04 \text{ мг/дм}^3$ (2 ГДК) у нього не зафіксовано характерних для коропа патологічних уражень зовнішніх або внутрішніх органів. Збільшення концентрації гліфосату до $0,4 \text{ мг/дм}^3$ (20 ГДК) призвело до таких змін: риби мали роздуте тіло з темним облямуванням плавців, виражені очі, почервоніння на шкірі та плавцях, крововиливи на черевній частині та в області анального отвору, підвищену кількість слизу, а також жовтушність зовнішніх покривів [6].

Аналізуючи показники екстер'єру коропів різного віку, які найбільш часто вивчаються у подібних дослідженнях, зокрема загальну довжину тіла, промислову довжину (до кінця лускового покриву), максимальну висоту, максимальний обхват тіла, індекси розтягнутості, збитості, масивності, вгодованості можна стверджувати, що довготривала адаптація до дії гербіцидів найлегше відбувається у віці одного — двох місяців (можливо, через переважання анаболічних реакцій і високу швидкість їх протікання), експресія потрібних для виживання риб генів найлегше відбувається у цій віковій групі. У зв'язку з цим у мальків не змінювалась частка сухої речовини, а у дворічок частка води у м'язах значно збільшувалась [15]. Аналогічне явище було зафіксовано у дослідженнях, коли після 3-місячного голодування при температурі $12\text{—}15^\circ\text{C}$ у м'язах коропа вміст води досягав 88% [38]. У цього горічок коропа під час зимового голодування при переході на ендогенне живлення кількість вологи у м'язовій тканині збільшувалась з 80,5% (жовтень) до 91,3% (лютий) [41]. Як відомо, під час голодування відбувається значна деградація клітин м'язової тканини, що підкоряється закону «все або нічого» [36], зниження вмісту нерозчинних білків у м'язах і збільшення в них кількості води. До складу нерозчинних білків м'язів риб входить велика кількість гліцину, який у вільному стані інтенсивніше за інші амінокислоти використовується у період зимового голодування [41]. Збільшення вмісту води у м'язах під впливом гліфосату пов'язано з гіпотрофією м'язових воло-

кон, деструктивними змінами скелетної мускулатури, лізисом ендомізію, фібрил сарколеми, як наслідок уже на 7-у добу виникає набряк [21]. Через 14 діб відмічене подальше порушення структури м'язових волокон, невпорядковане їх розташування, у деяких ділянках виявлено відсутність поперечної смугастості: лізис телофрагми та мезофрагми. Можливо, деструктивні зміни виникли в результаті не лише порушення загального обміну речовин і біохімічних процесів в організмі, а й місцевого впливу токсикантів на білкову структуру м'язових волокон. Ці дані узгоджуються з результатами вивчення патології осетрових, яка характеризується особливим розшаруванням м'язової тканини. Так, у стерляді відмічено підвищення активності лізосомальних ферментів і гіалуронідази у білих м'язах при захворюваннях риб [33]. Зменшення вмісту білків у м'язах і збільшення частки вологи у риб [15], свідчить про можливість перебігу тих самих процесів, що і при розшаруванні м'язів осетрових — зсув обміну речовин у напрямку катаболізму. У зв'язку з тим, що гліфосат є водорозчинною сполукою, швидкість його проникнення і накопичення в організмі гідробіонтів вища, ніж розкладання, що узгоджується з даними [7].

Сучасні уявлення про *функції та структуру зябрового епітелію* і його відділів об'єднані морфологічною концепцією. Вона розглядає зябровий епітелій як єдину систему, спільна діяльність елементів якої спрямована на виконання життєво важливих функцій в організмі риб, насамперед на реалізацію іонного обміну і дихання. В умовах антропогенного забруднення водного середовища зябра можуть забезпечувати адаптивні процеси на тканинному рівні. У нормі вони мають рівномірний темно-вишневий колір [28]. Під впливом токсикантів можлива зміна кольору зябер та виділення ними слизу. Подібні ознаки отруєння відмічені у всіх особин короїв під впливом 2,4-ДА [23]. Дія метрибузину і гліфосату не викликала виникнення слизу на зябрах, у той же час спричиняла світло-червоне забарвлення в області вторинних респіраторних ламел, нерівномірну довжина пелюсток, крововиливи на зябрових кришках у всіх особин дзеркального коропа та у більшості особин лускатого коропа. Зябра карасів мали крововиливи та порушення структури лише за дії 20 ГДК гліфосату [6]. Очевидні зміни внутрішніх органів риб на тканинному та клітинному рівнях відбуваються лише тоді, коли токсична концентрація діючої речовини або тривалість її впливу на риб є значною. Однак вважається, що вік та вид риб також важливий у ступені вираженості цих змін [26]. Так, найменш виражені порівняно з іншими віковими групами зміни внутрішніх органів у мальків коропа під впливом гербіцидів у гострих дослідах, крім зміни кольору жовчного міхура до яскраво зеленого під впливом гліфосату у порівнянні з контролем. Лише окремих особин цього віку коропа дія метрибузину призвела до ушкоджень внутрішніх органів. Стінки жовчного міхура ставали тоншими, їх колір набував блакитнуватого відтінку, кишечник був заповнений жовчю. Забарвлення селезінки ставало світлішим, печінка набувала пухкої консистенції, ймовірно за рахунок збільшення вмісту жиру (початок жирового переродження печінки) [32]. Для всіх без винятку досліджуваних дворічок коропа перераховані вище патологічні ознаки були виражені найбільшою мірою, особливо сильно це проявилось за дії гліфосату. Отже, серед трьох розглянутих нами гербіцидів за тяжкістю морфологічних змін в організмі коропа найбільшу загрозу для життєдіяльності риб від гліфосату в концентрації

2 ГДК. Схожий результат у карасів досягався за десятикратної концентрації токсиканту [6]. В таких умовах черепна коробка карасів була більш розм'якшена, однак візуальних змін в головному мозку не відмічено. Кишківник, печінка і жовчний міхур мали ознаки ураження: структура печінки повністю порушена, жовчний міхур нехарактерного червоного забарвлення, а вміст кишечника — зеленуватого кольору. Варто відмітити, що ця концентрація виявилася летальною для 50% карасів, переважно самців, протягом 14-и добового експерименту. Для коропа ця концентрація виявилася летальною протягом декількох годин [6]. Дослідження морфологічних і гематологічних показників риб засвідчили найвищу стійкість до несприятливих чинників карасів порівняно з іншими видами риб [4]. Пояснення слід шукати у відмінностях хімічного порогу подразнення, який є вищим у карася, і у швидкості реагування організму на дію стрес-чинника. Зокрема, поріг чутливості рецепторів бічної лінії до електричного поля у сріблястого карася складав 16 мкА/см², у коропа — 60 мкА/см² [41]. Швидкість проведення імпульсу в Маугнеровському волокні (ретiculo-спинальний шлях) карася становить 82 м/с, в коропа — 55—63 м/с [2]. Термінову адаптацію до дії метрибузину можна реєструвати за змінами зябер — органу, через який відбувається надходження гербіцидів в організм риб. Вона проявлялась вираженим колоподібним набряканням респіраторних ламел і гіпертрофією дистальних ділянок зяберних філаментів, що врешті призводило до зменшення надходження токсичної речовини [22]. Відомо, що інтенсивність газообміну напряму залежить від площі поверхні зябер і кількості клітинних шарів, що формують їх епітеліальну тканину (у коропових — до восьми шарів). Нарощення товщини епітелію збільшує дистанцію «кров — середовище» і знижує інтенсивність газообміну, що перешкоджає надходженню токсичних речовин, у той же час обмежуючи і поглинання кисню. Однодобова дія зенкору сприяла терміновій адаптації, що виражалось у максимальній мобілізації фізіологічних ресурсів організму, збільшенні кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну і білків плазми. Зміни у структурному та респіраторному епітелії зябер, що супроводжувались коливаннями гематологічних параметрів, спостерігалися і у дослідженні токсичних ефектів високої концентрації Roundup Original® на рибу *Colosoma macropomum* [50]. Формування довгострокової адаптації під впливом зенкору не відбувалось, про що свідчать зміни параметрів крові у дворічок [15], і цьогорічок [17]: на 14-у добу експерименту розбіжності у показниках крові цьогорічок коропа за дії зенкору порівняно з контролем досягали 50% [15, 17]. Поясненням цього може бути руйнування структури зябер у дворічок коропа (міжклітинний набряк епітелію з вираженою деструкцією респіраторних ламел) і гістологічні зміни печінки, пов'язані з процесами зернистої та вакуолярно-крапельної дистрофії, а також з дистрофічними змінами гепатоцитів, що виникають у результаті порушення обміну речовин і перебігу ферментних реакцій. За дії гліфосату відбуваються аналогічні патологічні зміни у печінці, лише розвиток вакуолярно-крапельної дистрофії гепатоцитів — більшою мірою [21], прогресування уражень метаболізму: порушення обміну цитоплазматичного жиру, розпад ліпідно-білкових комплексів цитоплазми гепатоцитів, що призводить до відмирання паренхіми печінки і її некрозу [32]. Саме печінка, як основний орган детоксикації, і нирки, як орган виділення, найбільшою мірою страждають від впливу Roundup, Primoleo і Facet [47]; каталаза є основним ферментом, залученим до детоксикації цих гербіцидів. У

гістопатологічних дослідженнях встановлені дегенеративні зміни у печінці та нирках цьогорічок коропа, що зазнали впливу різних сублетальних концентрацій гліфосату (4, 6, 8 мг/л) протягом 14 діб. Зміни у печінці характеризувалися також набряком клітин та вакуольною дегенерацією [50].

Застосування токсикантів з різним ступенем накопичення в організмі риб дозволяє з'ясувати можливості формування у них довготривалої адаптації (еустрес або дистрес). Так, руйнівна дія 2,4-Д, зареєстрована за деструктивними змінами у зябрах, мозку, скелетних м'язах і дистрофічними в печінці, пояснюється більшою здатністю до накопичення його у тканинах, де переважають ліпоїдні речовини, особливо у мозку. Кумуляція гербіцидів у тілі риб досліджена у віковій групі мальків, для яких характерні анаболічні процеси: для гліфосату це значення становило $9,73 \pm 1,03$ мг/кг маси тіла, метрибузину — $3,98 \pm 0,79$ мг/кг, 2,4-ДБЕ — $12,26 \pm 0,22$ мг/кг [18], що пояснюється хімічними властивостями даного гербіциду, низькою розчинністю у воді і високою — у ліпоїдах, завдяки чому здійснюється його проникнення через мієлінову оболонку нервових волокон і біліпідний шар мембран клітин, де він і накопичується. Виходячи з цього, дистрофічні і некробіотичні процеси у тканинах головного мозку коропа, який перебував під впливом 2,4-ДА, можливо, слід розглядати як альтерацію — зміну функції і будови клітин, тканин і органів під впливом пошкоджуючих агентів, у даному випадку хімічного. Наявність осередків інфільтрації при цьому вказує на перебіг процесів запалення, що виникають у відповідь на пошкодження тканин ксенобіотиками.

Під час патолого-анатомічного розтину лише за дії гліфосату на 14-у добу у кишківнику риби спостерігали виражений набряк слизової оболонки, в просвіті кишківника виявлено наявність жовчних конкрементів, зокрема там візуально відзначалася наявність жовчних каменів зеленого кольору і карбонатів кальцію — білого, що підтверджувалось і гістологічними препаратами [21]. Причиною їх утворення може бути хімічна будова гліфосату. Відомо, що жовчні кислоти знаходяться в печінці не у вільній формі, а у вигляді кон'югатів з гліцином і таурином, причому кон'югатів з гліцином утворюється втриє більше. Кон'юговані жовчні кислоти краще розчинні, ніж некон'юговані, вони мають більшу здатність до дисоціації і утворення жовчних солей з катіонами, особливо Ca^{2+} , який під впливом раундапу вимивається з кісток. Доказом останнього є м'якість і деяка прозорість кісток черепа риб, збільшення концентрації Ca^{2+} у сироватці крові за дії гліфосату [18]. Крім того, використана у дослідженнях вода є твердою (12 мг-екв/л або 240 мг% солей кальцію і магнію), тому вміст катіонів кальцію у крові коропа, що перебував у воді з раундапом, вдвічі більший, ніж за дії зенкору. На 7-у добу експерименту концентрація Ca^{2+} у сироватці крові дворічок коропа за дії метрибузину зменшилася порівняно з контролем, тому що надходження іонів кальцію з води в організм риб знизилося за рахунок змін форми респіраторних ламел зябер, а за дії гліфосату — збільшилося, бо під впливом раундапу структурні зміни в зябрах виявлялися лише на 14-у добу експерименту. Зміни у крові є показником чутливості і вказують на можливі шляхи корекції обміну речовин у дворічок коропа, що знаходилися в умовах гербіцидного навантаження, зокрема за рахунок термінового внесення сполук кальцію у воду, відтак — збільшення концентрації його йонів у крові і

органах. Вони можуть суттєво змінювати проникність клітинних мембран, підвищувати токсикорезистентність організму водних тварин за рахунок впливу на внутрішньоклітинні біоенергетичні процеси [34, 35].

Біохімічні показники риб, зокрема вміст енергетичних субстратів, метаболітів і активності ферментів, дозволяють швидше, ніж морфологічні і гематологічні, визначати чутливість риб та пояснювати механізми поведінкових реакцій, морфологічних та гістологічних змін під впливом гербіцидів. Життєзабезпечення організму, можливість детоксикації гербіцидів і формування довготривалої адаптації пов'язані з енергетичним обміном [11, 19]. Так, за вмістом макроергічних сполук в органах і неорганічного фосфору у сироватці крові цьогорічок і дворічок коропа в умовах гербіцидного навантаження [19, 24] було з'ясовано, що у цьогорічок є лише тенденція до збільшення рівня фосфору в сироватці крові за дії досліджуваних гербіцидів, у дворічок ці відмінності достовірні. Під впливом метрибузину зростання більш суттєве, ніж за дії гліфосату. Це пов'язано з активними поведінковими реакціями риб, особливо дворічок коропа, що призводять до відповідних змін кількості макроергічних сполук в органах (активне плавання — збільшення енерговитрат — зростання кількості неорганічного фосфату в сироватці крові). Збільшення кількості АМФ на 26% і АДФ на 13% у мозку дворічок за дії зенкору порівняно з контролем не призводить до підвищення швидкості переносу електронів і посилення ресинтезу АТФ з АДФ, тобто адаптивні можливості на рівні енергетичного метаболізму у мозку коропа задіяні не повністю. Навпаки, вміст АТФ на 37%, аденілатний енергетичний заряд (АЕЗ) — на 23%, співвідношення діючих мас аденілаткіназної реакції — на 38% [24]. Збалансованість шляхів використання АТФ в органах і клітинах і підтримка його вмісту на певному рівні досягається функціонуванням складних механізмів регуляції за принципом зворотного зв'язку [48]. Якщо цей процес відсутній, то це є сигналом порушення гомеостазу в організмі, що, можливо, пов'язано зі зменшенням активності ферментів катаболізму, за винятком вірогідного зростання активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (пентозофосфатний шлях) з метою збільшення пулу пентоз і відновлених форм коферментів. Останні, як наслідок, забезпечують підтримання структури тканин білих м'язів і мозку за дії метрибузину. Отже, адаптація до дії зенкору здійснюється на структурному рівні завдяки активації пентозофосфатного шляху, через неможливість компенсації за рахунок енергетичного метаболізму, особливо у мозку.

Похідні 2,4-ДА, викликаючи в мозку запалення, на біохімічному рівні діяли навпаки: підвищували активність Г-6-Фази для підтримання гомеостатичного рівня глюкози. Відповідна реакція на їх дію була спрямована на активацію ферментів енергетичного обміну і подальшу стабілізацію енергетичних ресурсів мозку коропа, яка проявилась у підтриманні достатнього вмісту макроергічних сполук у мозку. Підвищення активності ферментів гліколізу і циклу Кребса за дії похідних 2,4-Д є адаптивним механізмом, завдяки якому зростає рівень АТФ, співвідношення АТФ /АДФ і АЕЗ у мозку коропа [24]. Отже, узагальнюючи результати досліджень, можна зробити висновок, що на біохімічному рівні риби є більш стійкими до дії похідних 2,4-Д, ніж на тканинному, натомість під впливом метрибузину адаптація краще проходила на структурному рівні, ніж на біохімічному.

Тривалість експерименту, тканині і вік риб також є важливими чинниками інтенсивності впливу гербіцидів. Так, на 14-у добу за дії метрибузину у білих м'язах цьогорічок коропа різко знижувався вміст глюкози, глікогену, а також глюкози у крові. У дворічок вміст глюкози у крові залишався на контрольному рівні, а у білих м'язах і печінці змінювався незначно, при одночасному зниженні вмісту глікогену, що призвело до поступового використання всіх енергетичних резервів їх організму і супроводжувалося підвищенням цитоплазматичної амілолітичної активності гепатопанкреасу, ростом активності цитоплазматичної Г-6-Ф і мітохондріальної ізоцитратдегідрогенази (ІЦДГ) [5]. За 14-добової дії гліфосату у тканинах мальків коропа вміст переважної більшості досліджених вуглеводних субстратів (крім глікогену печінки) різко знижувався [20], що можна пояснити вищою швидкістю його проникнення в організм порівняно з раніше дослідженими гербіцидами. Цитоплазматична амілолітична активність гепатопанкреасу цьогорічок коропа в цих умовах знижувалась лише на 21-у добу, а її зростання на 14-у добу відповідає зменшенню вмісту глікогену у білих м'язах. Крім того, у печінці цьогорічок за 14-добової дії гліфосату підвищувалася активність цитоплазматичної ЛДГ і мітохондріальної ІЦДГ на тлі достовірного зниження вмісту глюкози, що вказує на можливе використання вуглеводів цьогорічками для детоксикації гліфосату та узгоджену роботу процесів гліколізу та циклу Кребса. У той же час у печінці дворічок на 14-у добу дії гліфосату зростала активність Г-6-ФДГ, як показника активізації пентозофосфатного шунту і ІЦДГ, як показника активного протікання циклу Кребса. Однак активність цитоплазматичної ЛДГ залишилася незмінною, що є доказом участі протеїнів у енергетичному обміні [5]. Зростання на 14-у добу дії гліфосату активності аспаргат амінотрансферази (АсАТ) у печінці дворічок також є доказом участі протеїнів у ресинтезі АТФ. Пошкодження клітин печінки гібридної риби *jundiara* (гібрид *Leiarius marmoratus* з *Pseudoplaty stomareticulatum*) під впливом RoundupOriginal® пояснюють приростом активності трансаміназ органу [47]. Таким чином, під впливом гліфосату енергетичний обмін у цьогорічок коропа забезпечується за рахунок вуглеводів, у дворічок — за рахунок протеїнів.

Застосування підвищених концентрацій токсикантів також може дати додаткові пояснення змінам, що відбуваються на біохімічному рівні. Так, за впливу 4 ГДК гліфосату у сироватці крові даної вікової групи активність цитоплазматичної АсАТ зросла в 1,6 разу. Активність цитоплазматичної АлАТ у сироватці крові дворічок коропа мала тенденцію до зростання, що вказує на активізацію процесу переамінування [5]. Крім того, активність АсАТ та АлАТ за впливу Roundup®, була значно вищою, ніж у контрольній групі [45]. Отже, згідно активності ензимів АлАТ і АсАТ у печінці і сироватці крові дворічок коропа [5] істотний вплив із залученням у патологічний процес не лише печінки, як центру детоксикації, де йде прогресування негативних змін, а й решти органів, здійснив гліфосат у концентрації 4 ГДК. Вплив концентрації 2 і 4 ГДК гербіцидів на показники дворічок коропа був найбільш суттєвий за дії метрибузину, який в обох концентраціях спричинював зниження вмісту глюкози у печінці [5]. У дослідженнях дії гербіциду на основі гліфосату у концентраціях 0,2 або 0,4 мг/л протягом 96 год на риб *Rhamdia quelen* і *Leporinus obtusidens* [45] також була виявлена гіпоглікемія в плазмі крові. У дослідженні [47], в якому вивчався вплив 1,357 мг/л Roundup Original

nal® на гібридну рибу *jundiara* було з'ясовано, що вміст глюкози знижувався у печінці, м'язах та плазмі крові, а глікогену — у печінці та м'язах.

Отже, чутливість риб залежить від швидкості їх реагування на дію токсичного реагенту і формування термінової адаптації. Підтвердженням цього є колоподібний набряк і гіпертрофія дистальних ділянок філаментів, що спостерігалось за дії метрибузину і призводило до зменшення надходження токсичної речовини в організм риб та забезпечувало максимальне збільшення кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну і білків плазми, що у свою чергу, забезпечило кращу резистентність тканин організму риб: кишківника, мозку, м'язів, тобто адаптація до дії метрибузину здійснювалася на структурному рівні завдяки активації пентозофосфатного шляху, за винятком тканин печінки, у якій відбулись структурні зміни. Це, у свою чергу, призвело до найбільш негативного впливу метрибузину на вуглеводний обмін цьогорічок і дворічок коропа. За рахунок виснаження вуглеводних запасів та енергетичних резервів формування довготривалої адаптації було утруднене, у подальшому це призведе до зниження стійкості риб на біохімічному рівні, але не виключає їх стабільності на структурному.

Чутливість коропа до дії похідних 2,4-Д теж фіксувалася на високому рівні, коропа відразу реагували на їх дію. Руйнування келихоподібних клітин з виділенням великої кількості слизу можна розглядати як терміновий етап адаптації, завдяки якому відбувається регенерація зруйнованої оболонки тіла риб, завдяки чому на її поверхні не утворюються виразки, точкові крововиливи, набряки тощо, у той же час показники крові на 1-у і 7-у добу перебування риб під впливом похідних 2,4-Д майже не змінювалися. Однак, все це не гарантує стійкості внутрішніх органів до шкодочинної дії цього гербіциду. Так, найбільші тканинні руйнування спричинили саме похідні 2,4-Д [20], але завдяки збільшенню активності катаболічних (ЩДГ, ЛДГ) і, особливо, анаболічних (Г-6-Ф) ферментів показники аденілатної системи залишилися на рівні контрольної групи, що забезпечує підтримку життєдіяльності риб.

Чутливість риб до дії гліфосату, порівняно з метрибузином і 2,4-Д, є мінімальною. Вивчені гематологічні та біохімічні показники риб за впливу гліфосату у перші дні проведення експерименту були близькі до контрольних, це може пояснювати той факт, що даний гербіцид довгий час вважали безпечним для тварин і людини, хоча для риб його напівлетальна доза (LD_{50}) значно нижча і становить від 2 до 55 мг/л (96 год) в залежності від умов експерименту, стадії розвитку і виду [8, 49]. У наших дослідженнях на 14-у добу його дії у коропа були виявлені серйозні тканинні ушкодження, натомість карась виявився досить стійким, у нього не відмічено характерних поведінкових та патологічних змін зовнішніх і внутрішніх органів. Поясненням цьому можуть бути зміни на біохімічному рівні. Якщо енергозабезпечення цьогорічок коропа відбувалося за рахунок вуглеводних субстратів, а дворічок — за рахунок протеїнів при незмінній активності ЛДГ, то у карасів активність ЛДГ зростає більш ніж у десять разів, що вказує на переважання більш стійкого до токсичних впливів процесу гліколізу.

Заключення

Таким чином, на основі вищевикладеного можна зазначити, що формування термінової фізіологічної адаптації залежить від порогу чутливості рецепторів і швидкості реагування організму риб на дію стрес-чинника та хімічного порогу подразнення. Формування довготривалої адаптації, резистентності коропових риб можливе лише на основі взаємодії всіх рівнів організації живої матерії: біохімічного, клітинного, тканинного, органів, організму, тому що організм відповідає на дію стрес-чинника як єдине ціле. Для кращого забезпечення життєдіяльності риб необхідною є взаємозамінність, наприклад, неможливість адаптації на одному рівні — органному (руйнування м'язових волокон під впливом гліфосату, ушкодження гепатоцитів за дії 2,4-Д і гліфосату, клітин мозку (за дії 2,4-Д), призводить до формування адаптації на іншому — біохімічному рівні: відповідні зміни активності ферментів (гліфосат) та стала кількість макроергів (похідні 2,4-Д).

Висока чутливість організму риб до дії токсикантів може привести до їх стійкості, якщо формування термінової адаптації відбудеться швидко, яка покладе початок ланцюжку біохімічних змін, котрі спершу непомітно, але неухильно сприятимуть формуванню системного структурного сліду — спочатку у вигляді модифікації гістонів, а саме ацетилювання, метилювання, фосфорилування, що у свою чергу запустить експресію потрібних для виживання риб генів. Ацетилювання гістонів здійснюється по аміногрупі амінокислот, наприклад лізину. Ступінь ацетилювання регулюється гістон-ацетилтрансферазами і гістон-деацетилазами. Метилювання гістонів є більш складною модифікацією, ніж ацетилювання. Залежно від ступеня метилювання експресія генів індукується або репресується. Модифікації здійснюються у суворо визначених положеннях і змінюють спорідненість гістонів до ДНК, тим самим регулюючи доступ до ДНК регуляторних білків і запуск РНК-синтезуючого комплексу для подолання дії стресових подразників, якими є гербіциди. Як було встановлено аналізуючи показники екстер'єру коропів різного віку, довготривала адаптація до дії гербіцидів найлегше відбувається у віці одного — двох місяців, можливо тому, що епігенетичний вплив легше відбувається в цьому віці. Епігенетичні перемикачі визначають, які саме гени клітина у принципі може використовувати, а які — ні. Тому вбачається доцільним проводити вивчення епігенетичного маркування, яке можливо змінювати під впливом певних стрес-чинників середовища, завдяки чому клітини зможуть адаптуватися до нестійких умов і формування довгострокової адаптації (системного структурного сліду) пройде швидше. Ці зміни у вигляді як геному, так і епігеному можуть передаватися нащадкам. Доказом цього припущення є робота [52], в якій зроблена спроба охарактеризувати та порівняти глобальні механізми токсичності гліфосату та Roundup у печінці форелі (*Salmo trutta*), використовуючи РНК-секвенування на платформі IlluminaHiSeq 2500 Illumina. Для цього використовували молодь жіночої статі і експонували за дії 0, 0,01, 0,5 та 10 мг/л гліфосату та Roundup протягом 14 діб, у подальшому секвенували шість реплікативних зразків печінки у кожному варіанті. Виявлено, що індуковані транскрипти кодують компоненти антиоксидантної системи, ряд білків стрес-реакції і молекули проапоптичної сигналізації. Функціональний аналіз також виявив надмірне представлення ділянок, що відповідають шляхам регулювання проліферації клітин, а також енергетичного обміну і інших метаболічних процесів. Виявлені транскрипційні зміни узгоджуються з процесом проходження окиснювального стресу та індукцією шляхів його компенсації. Ідентифіковані механізми токсичності були подібними як за дії гліфосату, так і Roundup, у тому числі екологічно важливих концентрацій. Значні зміни

в експресії транскрипту, що спостерігалися при найменших випробуваних концентраціях [50], викликають занепокоєння щодо потенційної токсичності гліфосату для популяцій риб, які населяють забруднені річки.

**

В статье рассматриваются механизмы чувствительности и резистентности карповых рыб к гербицидам в зависимости от их химической природы и свойств в условиях модельных экспериментов. Показана зависимость устойчивости карповых рыб от скорости реагирования организма на действие стресс-фактора в виде срочной адаптации на функциональном уровне. Также рассматривается возможность формирования долговременной адаптации на биохимическом, тканевом, органном уровнях у карпа и карася под постоянным влиянием гербицидов. Спрогнозированы возможности выработки резистентности рыб к действию токсикантов путем экспрессии генов с вовлечения их эпигенома.

**

The article deals with the mechanisms of sensitivity and resistance of carp fish to the herbicides, impact depending on their chemical structure and properties in the experiments. The dependence of the stability of carp fish response to the stress factor in form of the short-term adaptation at the functional level, was shown. The possibility of long-term forming adaptation at the biochemical, tissue, organ levels in carp and crucian carp under the constant influence of herbicides is also considered. The possibilities of developing fish resistance to the action of toxicants by involving gene expression of their epigenome are predicted.

**

1. Ананьева Т. В. Ихтиотоксикология // Режим доступа: [www.dnu.dp.ua/metodi/fbio/Biologia/5Kurs/Ananieva_T_V ... /Ihtiotoxik.doc](http://www.dnu.dp.ua/metodi/fbio/Biologia/5Kurs/Ananieva_T_V.../Ihtiotoxik.doc).
2. Анисимова И. М., Лавровский В. В. Ихтиология. — М.: Агропромиздат, 1991. — 288 с.
3. Арбузова Л. Л. Ихтиотоксикология. — Владивосток: Дальрыбвтуз, 2015. — 457 с.
4. Бєдункова О. О. Показники гомеостазу організмів і популяцій у комплексній оцінці стану гідроекосистем. Автореф. дис. ... докт. біол. наук. — Чернівці, 2018. — 44 с.
5. Бибчук Е. В., Жигенко А. А. Состояние организма карпа в условиях действия гербицидов, нормализация пробиотическим препаратом БПС-44 // ScienceRise. — 2015. — N 10/6. — P. 6—11.
6. Бибчук К. В., Жигенко А. О. Стан корошових риб в умовах інтенсивного застосування гербіцидів // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. Спец. вип. Гідроекологія. — 2015. — № 3—4. — С. 74—78.
7. Брагинский Л. П. Пестициды и жизнь водоемов. — Киев: Наук. думка, 1972. — 228 с.
8. Голованова И. Л., Аминов А. И. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз молоди рыб и их кормовых объектов при различных значениях температуры и рН // Вестн. Астрахан. гос. тех. ун-та. Сер. Рыб. хоз-во. — 2013. — № 1. — С. 129—134.

9. Головина Н. А. Гематологические показатели форели (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) как индикатор физиологического состояния // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы Междунар. конф., Петрозаводск, 6—9 сент. 2004 г. — Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2004. — С. 37.
10. Горбатюк Л. О. Фізіолого-біохімічна реакція риб на дію пестицидів (огляд) // Гидробиол. журн. — 2010. — Т. 46, № 2. — С. 83—94.
11. Горбатюк Л. О. Енергозабезпечення організму риб за дії пестицидів (огляд) // Там же. — 2012. — Т. 48. — № 5. — С. 82—96.
12. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Чернігівській області за 2013 рік. — Чернігів, 2014. — 228 с.
13. Екологічний паспорт Чернігівської області — Чернігів, 2017. — 104 с.
14. Євтушенко М. Ю., Дудник С. В. Водна токсикологія. — Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, 2016. — 564 с.
15. Жигенко А. А. Гематологические показатели двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки. // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Сер. Біологія. Екологія. — 2007. — Т. 1, Вип. 15. — С. 38—44.
16. Жигенко А. А. Влияние гербицидов на структурный метаболизм карпа (*Cyprinus carpio* L.) разного возраста // Вісн. Харків. нац. ун-ту. Сер.: Біологія. — 2008. — Вип. 6. — С.90—96.
17. Жигенко А. А. Динамика гематологических показателей молоди карпа под действием гербицидов // Гидробиол. журн. — 2008. — Т. 44. — № 3. — С. 80—88.
18. Жигенко А. О. Морфофізіологічні адаптації різновікових груп *Cyprinus carpio* L. за несприятливої дії екологічних факторів. Автореф. дис. ... докт. біол. наук. — Одеса, 2009. — 40 с.
19. Жигенко А. А., Бибчук Е. В., Барбухо Е. В. Влияние глифосата на энергетический обмен в органах карпа // Укр. біохім. журн. — 2013. — Т. 85, № 3. — С. 22—30.
20. Жигенко А. А., Бибчук Е. В., Мехег О. Б., Кривошиша В. В. Влияние гербицидов различной химической структуры на углеводный обмен в организме карпа // Гидробиол. журн. — 2009. — Т. 45. — № 5. — С. 70—81.
21. Жигенко А. А., Коваленко Е. М. Вплив зенкору на динаміку гістологічних змін в органах коропа // Там же. — 2006. — № 3—4. — С. 60—65.
22. Жигенко А. А., Коваленко Е. М. Влияние раундапа на динамику гистологических показателей в органах карпа // Там же. — 2006. — Т. 42. — № 6. — С. 104—111.
23. Жигенко А. О., Коваленко О. М. Динаміка гістологічних змін в органах коропа під впливом гербицидів // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2006. — № 2. — С. 44—49.
24. Жигенко А. О., Мехег О. Б., Бибчук Е. В. Влияние пестицидов на качественное и количественное содержание аденилатов в тканях карпа // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: Материалы Междунар. науч. конф. — Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. — С. 68—69.

25. Касумян А. О. Воздействие химических загрязнителей на пищевое поведение и чувствительность рыб к пищевым стимулам // Вопр. ихтиологии. — 2001. — Т. 41. — № 1. — С. 82—95.
26. Лукьяненко В. И. Токсикология рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1967. — 216 с.
27. Марченко М. М., Кеца О. В., Великий М. М. Біохімічна трансформація ксенобіотиків у організмі. — Чернівці, 2011.— 279 с.
28. Матей В. Е., Комов В. Т. Действие алюминия и низких значений рН воды на ультраструктуру жабер и содержания электролитов в плазме крови молоди семги *Salmo salar* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1992. — Т. 28, № 5. — С. 596—604.
29. Мельничук С. Д., Щербань Э. П., Лоханская В. И. Оценка токсичности гербицидов на основе глифосата методом биотестирования на ветвистых рачках // Гидробиол. журн. — 2007. — Т. 43, № 1. — С. 84—95.
30. Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. — К., 2003. — № 34. — 160 с.
31. Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. — Київ: Націон. аграрн. ун-т України, 2004. — № 39. — 252 с.
32. Міщенко Т. В. Окремі показники ліпідного обміну коропа як індикатори гербицидної інтоксикації // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — № 3. — С. 114—117.
33. Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. — М.: Наука, 2004. — 215 с.
34. Романенко В. Д., Арсан О. М., Соломатина В. Д. Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. — Киев: Наук. думка, 1982. — 152 с.
35. Русанов В. В. Возрастные изменения содержания Ca^{2+} в костях и чешуе карпа // Изв. НИИОРХ. — 1974. — Т. 92. — С. 145—147.
36. Сидоров В. С. Аминокислоты рыб // Биохимия молоди пресноводных рыб. — Петрозаводск: Карел. филиал АН СССР, 1985. — С. 103—137.
37. Скорюков В. И. Практикум по ихтиологии. — М.: Агропромиздательство, 1986. — 268 с.
38. Сорвачев К. Ф. Основы биохимии питания рыб. — М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1982. — 247 с.
39. Справочник по пестицидам: гигиена, применение, токсикология. — Киев: Урожай, 1986. — 432 с.
40. Юрин В. М. Основы ксенобиологии. — Минск: Новое знание, 2002. — 267 с.
41. Явоненко А. Ф., Яковенко Б. В., Грубинко В. В., Жигенко А. А. Зависимость выживаемости молоди карпа в условиях зимовки от содержания свободных аминокислот и белков в мышечной ткани рыб // Рыб. хоз-во. — 1989. — Т. 43. — С. 24—29.
42. Яржомбек А.А., Лиманский В.В., Щербина Г.В. и др. Справочник по физиологии рыб / Под ред. А. А. Яржомбека. — М.: Агропромиздат, 1986.— 192 с.

43. Braz-Mota S., Sadauskas-Henrique H., Duarte R.M. et al. Roundup® exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum* // *Chemosphere*. — 2015. — N 135. — P. 53—60.
44. Gasiner C., Dumont C., Benachour N. et al. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines // *Toxicology*. — Vol. 262. — P. 184—191.
45. Gholami-Seyedkolaei S. J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Kosari A.A. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2013. — N 98. — P. 135—141.
46. Loro V. L., Gluszczak L., Moraes B. S. et al. Glyphosate-based herbicide affects biochemical parameters in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) and *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837) // *Neotrop. Ichthyol.* — 2015. — Vol. 13, N 1. — P. 229—236.
47. de Moura F. R., da Silva Lima R. R., da Cunha A. P. S. et al. Effects of glyphosate-based herbicide on pintado da Amazonia: Hematology, histological aspects, metabolic parameters and genotoxic potential // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* — 2017. — N 56. — P. 241—248.
48. Newsholme E. A., Start C. Regulation in metabolism. — London, 1973. — 241 p.
49. Persch T. S. P., da Silva P. R., dos Santos S. H. D. et al. Changes in intermediate metabolism and oxidative balance parameters in sexually matured three-barbeled catfishes exposed to herbicides from rice crops (Roundup (R), Primoleo (R) and Facet (R)) // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* — 2018. — N 58. — P. 170—179.
50. Sopinska A., Grochola A., Niezgodna J. Influence of water polluted with herbicide Roundup on the organism of fish // *Medycyna weterynaryjna* — 2000. — N 56 (9). — P. 593—597.
51. Vera M. S., Fiori E. D., Lagomarsino L. et al. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities // *Ecotoxicology*. — 2012. — Vol. 21. — N 7. — P. 1805—1816.
52. Webster U. T. M., Santos E. M. Global transcriptomic profiling demonstrates induction of oxidative stress and of compensatory cellular stress responses in brown trout exposed to glyphosate and Roundup // *BMC Genomics*. — 2015. — N 16. — P. 32—46.