

ДОЗОЗАЛЕЖНІ ЕФЕКТИ ВПЛИВУ ПОХІДНИХ ФОСФОНАТІВ ТА ІМІДАЗОЛІНОНІВ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ КРОВІ РИБ

Л.В. ХУДА, В.О. ГОВОРУН, В.В. ГАХ, О.І. ХУДИЙ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,

вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012

e-mail: l.khuda@chnu.edu.ua

hovorun.valeriia@chnu.edu.ua

hakh.valeriia@chnu.edu.ua

o.khudyi@chnu.edu.ua

Сучасна агроіндустрія активно застосовує пестициди, серед яких чільне місце посідають гербіциди на основі гліфосату (похідні фосфонатів) та імідазолінонів (імазамокс, імазапір). Ці речовини, потрапляючи у водні екосистеми внаслідок поверхневого змиву та дренажу, становлять глобальну екологічну проблему. Особливо гостро ця проблема постала в умовах військових дій в Україні, де руйнування агропромислових об'єктів призводить до неконтрольованих залпових викидів, здатних багаторазово перевищувати встановлені гранично допустимі концентрації (ГДК), що спричиняє розвиток «нецільової токсичності» у гідробіонтів, найчастіше через індукцію оксидативного стресу. У даному дослідженні проведено порівняльний аналіз дозозалежних змін в активності ключових ферментів антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази та каталази, а також рівня ТБК-активних продуктів перекисного окиснення ліпідів, у крові риб за експозиції у воді з різними концентраціями гербіцидів Ураган Форте (гліфосат) та Євролайтинг (імідазолінони). Як модельний об'єкт було обрано карася сріблястого (*Carassius gibelio*), відомого своєю екологічною пластичністю та здатністю виживати в умовах високого забруднення. Експеримент тривав 7 діб, включаючи чотири тестові концентрації гербіцидів: 1 ГДК, 2 ГДК, 5 ГДК та 10 ГДК.

Отримані результати показали чітке дозозалежне зростання рівня ТБК-активних продуктів, що є прямим доказом розвитку окислювального стресу. Так, встановлено зростання концентрації ТБК-продуктів в сироватці крові за умов використання Євролайтингу вже в дозі 2 ГДК, у групі 10 ГДК зафіксовано максимальне значення, що перевищує контроль більш як удвічі. Визначені активності СОД і каталази у крові *Carassius gibelio* демонструють скоординовану роботу цієї ланки антиоксидантної системи у відповідь на вплив гербіцидів. При низьких і середніх концентраціях Євролайтингу та Гліфосату спостерігалось підвищення активності СОД, що відображає адаптивну реакцію на помірне підвищення оксидативного стресу. У цей же час активність каталази зростала або залишалася на рівні контролю, що узгоджується з реакцією на підвищення кількості H_2O_2 після дисмутації супероксиду. Однак при високих концентраціях відповідь ферментів принципово відрізнялася. Так, за дії 10 ГДК гліфосату відбувалося різке пригнічення активності СОД і каталази. Натомість вплив імідазолінонів викликав виражене зростання активності обох ферментів з досягненням максимальних значень при 10 ГДК. Таким чином, виявлені дозозалежні відмінності у реакції антиоксидантних ферментів вказують на особливості молекулярних механізмів токсичної дії різних класів гербіцидів, підкреслюючи необхідність одночасного використання кількох біомаркерів для комплексного екологічного моніторингу водойм.

Ключові слова: супероксиддисмутаза, каталаза, гербіциди, гліфосат, імідазолінони, риби

Вступ. Пестициди, зокрема гербіциди, залишаються ключовими складовими сучасного інтенсивного сільського господарства (FAO, 2022). Потрапляння агрохімікатів у водні екосистеми внаслідок поверхневого змиву, дренажу та ерозії ґрунтів є глобальною екологічною проблемою, що становить загрозу для гідробіонтів і біорізноманіття водойм (Sharma et al., 2019). Особливо небезпечними є водорозчинні сполуки, здатні швидко мігрувати по трофічним ланцюгам та акумулюватись на їх різних рівнях.

Одним з найбільш поширених гербіцидів в Україні та світі є гліфосат (N-(фосфометил)-гліцин) - системний гербіцид неселективної дії, що належить до хімічного класу фосфонатів. Механізм його дії полягає в конкурентному інгібуванні ензиму 5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтази, що забезпечує синтез ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину та триптофану) у бактерій та рослин. Хоча даний фермент відсутній у тваринних організмів, численні дослідження демонструють токсичний вплив гербіциду на гідробіонтів через альтернативні механізми, зокрема індукцію

окиснювального стресу та нейротоксичні ефекти (Ma et al., 2019; Weeks Santos et al., 2019; Costas-Ferreira et al., 2022).

Гербіцидні препарати на основі імідазолінонів (діючі речовини – імазамокс та імазапір), що широко застосовуються для захисту посівів соняшнику, також демонструють токсичний вплив на водну фауну, проте механізми їх дії на біохімічному рівні у риб вивчені порівняно з гліфосатом менш детально (Golombieski et al., 2022). Їх дія ґрунтується на пригніченні ферменту ацетолактатсинтази, що порушує синтез амінокислот з розгалуженим ланцюгом (валіну, лейцину та ізолейцину) і зрештою спричиняє загибель рослин. Препарати на основі імазамоксу засвоюються як через кореневу систему, так і через листову поверхню, завдяки чому мають комплексний характер дії. Ймовірна токсичність імазамоксу та імазапіру для риб, як і у випадку з гліфосатом, є наслідком так званої «нецільової токсичності», яку слід розглядати крізь призму вторинних механізмів: гепатотоксичності та окиснювального стресу, викликаного метаболізмом ксенобіотиків у печінці (Jin et al., 2018). Пестициди можуть проявляти свою токсичність шляхом підвищення рівня активних форм кисню під час процесів біотрансформації або інгібування антиоксидантних ферментів (Lushchak et al., 2018).

В умовах повномасштабних військових дій на території України проблема хімічного забруднення водних ресурсів набула критичної актуальності. Руйнування агропромислових складів, пошкодження ґрунтового покриву внаслідок вибухів, неконтрольовані розливи та пожежі створюють передумови для потрапляння у водойми надвисоких концентрацій ксенобіотиків (Solokha et al., 2024; Shumilova et al., 2023). Якщо стандартні екотоксикологічні дослідження зазвичай оперують концентраціями в межах 1 ГДК (гранично допустима концентрація), то реалії воєнного часу вимагають оцінки ризиків при залпових забрудненнях, що можуть перевищувати норми в 10 і більше разів. Вивчення біохімічних маркерів стресу у риб за таких умов дозволяє прогнозувати виживаність популяцій.

Відповідно, метою даної роботи є аналіз дозозалежного впливу гербіцидів гліфосату та імазамоксу в діапазоні концентрацій від 1 до 10 ГДК на активність антиоксидантних ферментів крові риб.

Матеріали та методи. Як модельний тест-об'єкт у дослідженні використано карася сріблястого (*Carassius gibelio*, Bloch, 1782).

Вибір даного виду зумовлений його широким розповсюдженням у водоймах України внаслідок високої екологічної пластичності, що робить його оптимальним біоіндикатором для оцінки токсичності ксенобіотиків в умовах антропогенного пресингу. Риб середньою масою 180 ± 10 г утримували в лабораторних умовах у скляних акваріумах об'ємом 30 літрів за контрольованих величин температури (21 ± 1 °C), фотоперіоду (16-годинний світловий день), при постійній аерації та рН. Протягом усього періоду експерименту здійснювався щоденний моніторинг фізико-хімічних показників води та поведінкових реакцій риб (активність, реакція на подразники, зовнішні ознаки інтоксикації). У дослідженні використовували препарати гербіцидів Ураган Форте 500 SL (діюча речовина – гліфосат), та Євролайтинг (діючі речовини - Імазамокс, Імазапір) від компанії Syngenta. Для отримання екологічно значимих рівнів експозиції використовувалась ідея кратних ГДК (1 ГДК, 2 ГДК, 5 ГДК, 10 ГДК), де за основу взято нормативні гранично допустимі концентрації пестицидів у воді відповідно до чинних державних санітарних правил України (ДСанПіН8.8.1.2.3.4-000-2001). Застосовували наступні концентрації гліфосату: 1 ГДК (0.02×10^{-3} г/л), 2 ГДК (0.04×10^{-3} г/л), 5 ГДК (0.1×10^{-3} г/л) та 10 ГДК (0.2×10^{-3} г/л). Концентрацію препарату Євролайтинг обраховували за значенням ГДК у воді для імазамоксу ($0,06 \times 10^{-3}$ г/л). Щоденно в акваріумах проводили часткову заміну води, при цьому додавали таку ж кількість свіжої, у яку попередньо вносили гербіциди до досягнення потрібної концентрації. Це дозволяло підтримувати стабільний рівень гербіциду протягом експерименту. У воду контрольних акваріумів токсиканти не вносили. Експозиція тривала 7 діб, після чого риб піддавали евтаназії із застосуванням препарату Propiscin – 0,2% (IRS-ZPiR, Żabieniec, Польща), який є спеціалізованим засобом для безпечного знерухомилення та гуманного умертвіння риб. Кров відбирали з серця. Біохімічні дослідження проводили в сироватці крові. Рівень ТБК-активних продуктів пероксидного окиснення ліпідів оцінювали за методом Ohkawa et al., 1979. Активність супероксиддисмутази (ЕС 1.15.1.1) визначали за методом, що ґрунтується на здатності цього ензиму інгібувати процес аутоокиснення адреналіну та виражали в ум. од./мг білка (Sun et al., 1978). Активність каталази (ЕС 1.11.1.6) оцінювали за методом, який базується на здатності пероксиду водню утворювати стабільний кольоровий комплекс з молібдатом амонію та виражали в ммоль/хв. мг

білка (Hadwan et al., 2016). Вміст білка в сироватці крові оцінювали за методом Лоурі. Статистичну обробку даних проводили за методом дисперсійного аналізу (ANOVA) із застосуванням критичного рівня значущості $p \leq 0.05$. За наявності статистичних відмінностей додатково застосовували критерій Tukey's HSD для виявлення парних відмінностей між групами.

Результати та їх обговорення. Карась сріблястий є одним із найпоширеніших видів іхтіофауни внутрішніх водойм України, зокрема тих, що зазнають інтенсивного впливу сільського господарства (ставки, меліоративні канали, водосховища), які є первинними реципієнтами поверхневих стоків, насичених агрохімікатами. З іншого боку, даний вид характеризується високою резистентністю до несприятливих чинників середовища, зокрема до гіпоксії та хімічного забруднення. Ця особливість є критично важливою для завдань даного дослідження, оскільки дозволяє вивчати хронічні та підгострі ефекти гербіцидів у широкому діапазоні концентрацій (1–10 ГДК), моделюючи ситуації залпового забруднення, за яких більш

чутливі види риб гинуть, унеможливаючи аналіз динаміки біохімічних маркерів.

Серед доведених механізмів дії багатьох пестицидів, що надходять у водойми, є їхня здатність провокувати надмірне утворення активних форм кисню. Це, у свою чергу, запускає окисні ушкодження біомолекул. Одним із наслідків є посилення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), особливо в мембранах еритроцитів та інших клітин, що супроводжується накопиченням ТБК-активних продуктів. Концентрація цих сполук слугує інформативним показником інтенсивності ПОЛ і відображає рівень окислювального стресу, якого зазнають риби під впливом токсиканту.

Результати проведених досліджень показали чітке дозозалежне зростання рівня ТБК-активних продуктів, що є прямим доказом розвитку окислювального стресу. Так, встановлено зростання концентрації ТБК-продуктів в сироватці крові вже за умов використання препарату в дозі 2 ГДК (на 15%), у групі 10 ГДК зафіксовано максимальне значення, що перевищує контроль більш як удвічі (рис. 1).

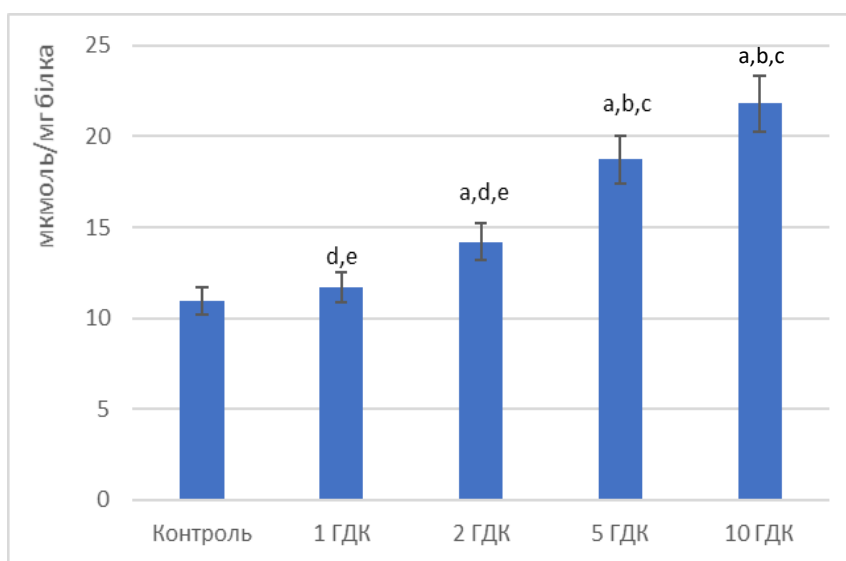


Рис.1 Рівень ТБК-активних продуктів в сироватці крові *Carassius gibelio* при 7-денній експозиції у воді з різними концентраціями Євролайтінгу

Примітка (тут і надалі): а - достовірна різниця з контролем; b - достовірна різниця з групою 1 ГДК; c - достовірна різниця з групою 2 ГДК; d - достовірна різниця з групою 3 ГДК; e - достовірна різниця з групою 4 ГДК. ($p \leq 0.05$)

У відповідь на підвищений рівень окисдаивних процесів у живих організмах активується система внутрішніх антиоксидантних захисних механізмів, до складу якої входять ферменти, що нейтралізують АФК та перешкоджають подальшому окисненню

Fig. 1 Level of TBK-active products in the blood serum of *Carassius gibelio* after 7 days of exposure to water with different concentrations of Eurolighting

Note (hereinafter): a - significant difference from the control; b - significant difference from group 1 MPC; c - significant difference from group 2 MPC; d - significant difference from group 3 MPC; e - significant difference from group 4 MPC. ($p \leq 0.05$)

біополімерів. Серед таких ферментів ключове місце займають супероксиддисмутаза і каталаза - металоферменти, що каталізують перетворення супероксид-аніону (O_2^-) і пероксиду водню (H_2O_2) відповідно, тим самим обмежуючи потенціал утворення більш реактивних радикалів

та захищаючи клітини від оксидативного стресу. Зміни активності цих ферментів розглядають як чутливі біохімічні маркери оксидативного стресу та токсичної дії ксенобіотиків у водних організмах, включно з рибами залежно від дози та тривалості впливу (Santana et al., 2022).

Результати досліджень вказують на індукцію активності СОД при досліджуваних впливах (рис.2). Так, спостерігали істотне зростання рівня супероксиддисмутази активності крові *Carassius gibelio*, яке проявлялось вже при найменшій з використаних концентрацій препарату на основі імазамоксу-імазапіру. Прослідковується чітка вираженість ефекту, що зростає разом із концентрацією – максимальна

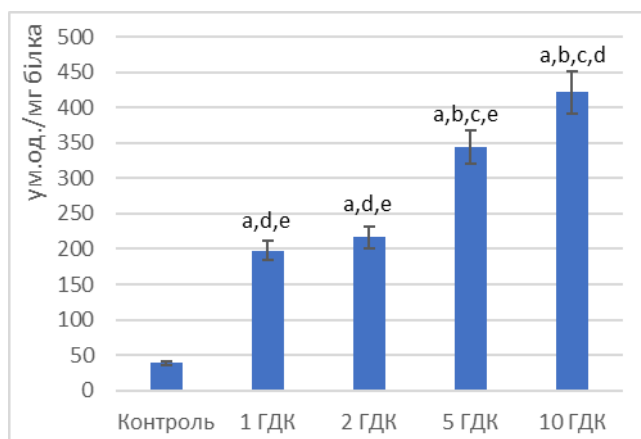


Рис.2 Активність СОД в сироватці крові *Carassius gibelio* при 7-денній експозиції у воді з різними концентраціями Євролайтінгу (А) та Гліфосату (Б)

У тварин, в тому числі і риб, супероксиддисмутаза представлена кількома ізоформами, які відрізняються за локалізацією, іонами металів як кофакторами та роллю в антиоксидантному захисті. Так, класична цитозольна форма Cu/Zn-СОД (СОД1) містить іони міді та цинку і відповідає за інактивацію супероксид-аніону в цитозолі, тоді як Mn-СОД (СОД2), що містить марганець, локалізована в мітохондріях і нейтралізує радикали, які утворюються під час роботи дихального ланцюга. Крім того, у деяких риб описують позаклітинну Cu/Zn-СОД (СОД3), активність якої зосереджена в плазмі крові (Hussain et al., 2024). Активність цих ізоформ СОД, які є металопротеїнами, залежить від наявності відповідних іонів металів (Cu, Zn, Mn). У риб у відповідь на окиснювальний стрес або вплив токсикантів спостерігається регуляція активності та експресії Cu/Zn-СОД і Mn-СОД, що вказує на їхню ключову роль у підтримці редокс-балансу й адаптації до умов підвищеного утворення реактивних форм кисню (Kumar et al., 2023).

активність СОД встановлена за дії 10 ГДК (рис. 2А). Отримані результати демонструють типову адаптивну реакцію активації ензиму для дисмутації надлишкових кількостей супероксид-аніону до кисню і пероксиду водню.

Інша картина прослідковується для груп, які утримувались у воді з розчиненим гліфосатом. Насамперед, у порівнянні з впливом Євролайтінгу, рівні зростання активності СОД в діапазоні 1-5 ГДК значно поступаються. Максимальна активність зареєстрована за впливу 5 ГДК гліфосату та перевищує контрольні значення у 2,4 рази, натомість збільшення концентрації гліфосату до 10ГДК призводить до зниження активності ферменту (рис. 2Б).

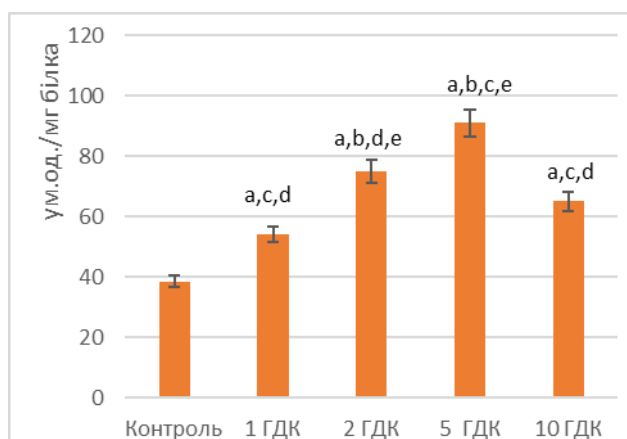
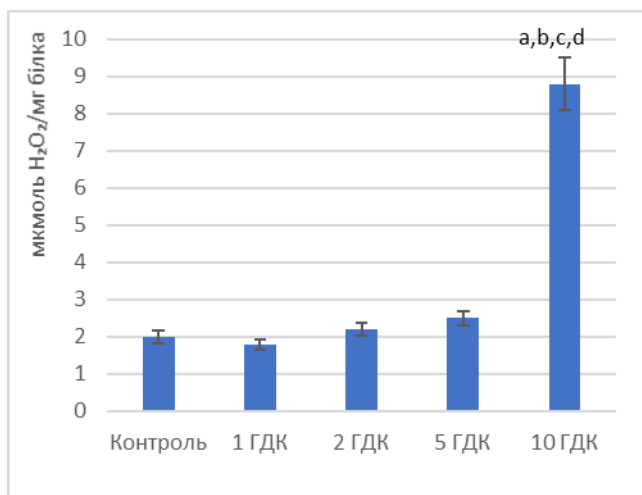
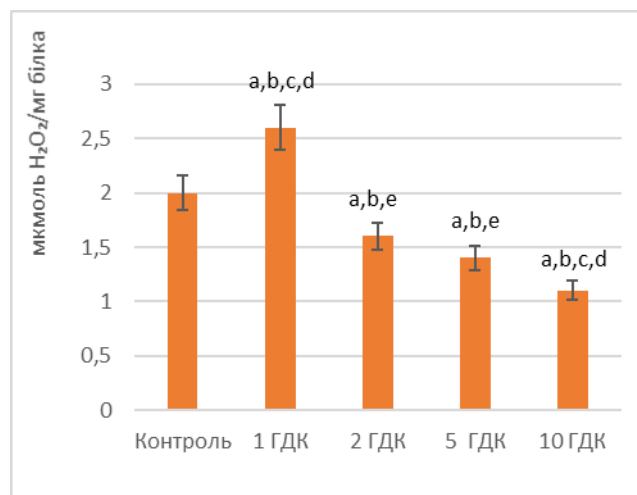


Fig. 2 SOD activity in *Carassius gibelio* blood serum after 7 days of exposure to water with different concentrations of Eurolighting (A) and Glyphosate (B)

Молекула гліфосату має три функціональні групи — амінну, карбоксильну і фосфонатну — що дає можливість координувати й утворювати комплекси з іонами металів (особливо дво- і тривалентними: Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} тощо). Це робить гліфосат ефективним хелатором у ґрунтах і водах (Mertens et al., 2018). Опосередковано це може впливати на металоферменти для нормальної функції яких критичною є наявність відповідних іонів-кофакторів; зниження вільної (біодоступної) фракції цих іонів у середовищі або в тканинах може призвести до порушень ензиматичної активності. Натомість, імідазолінони не проявляють значимої здатності формувати стабільні комплекси з металами, тому їх екоотоксикологічні ефекти не пов'язують із хелатуючими властивостями. Результати досліджень активності каталази, гемвмісного металоензиму, також підтверджують це припущення.



A



B

Рис.3 Каталазна активність сироватки крові *Carassius gibelio* при 7-денній експозиції у воді з різними концентраціями Євролайтингу (А) та Гліфосату (Б)

Fig. 3 Catalase activity of *Carassius gibelio* blood serum after 7 days of exposure to water with different concentrations of Eurolighting (A) and Glyphosate (B)

Встановлено, що достовірні зміни активності каталази при експозиції у воді з препаратом Євролайтинг відмічено лише при 10-кратному перевищенню допустимої концентрації за імазамоксом. При цьому рівень активності збільшився більше як у 4 рази. За дії гліфосату спостерігали підвищення активності ферменту на 30% при найнижчій концентрації (1 ГДК), проте при подальшому зростанні концентрації гліфосату активність каталази у порівнянні з контролем різко зменшувалася: на 20% - при 2 ГДК, на 30% - при 5 ГДК і на 45% - при 10 ГДК. Ймовірно, таке зниження активності зумовлено хелатуючим впливом гліфосату на іон феруму, що виступає кофактором ферменту.

Висновки. Встановлені значення активностей СОД і каталази у крові *Carassius gibelio* демонструють скоординовану роботу цієї ланки антиоксидантної системи у відповідь на вплив гербіцидів. При низьких і середніх концентраціях Євролайтингу та гліфосату спостерігалася підвищення активності СОД, що відображає адаптивну реакцію на помірне підвищення оксидативного стресу. У цей же час активність каталази зростала або залишалася на

рівні контролю, що узгоджується з реакцією на підвищення кількості H₂O₂ після дисмутації супероксиду. Однак при високих концентраціях відповідь ферментів принципово відрізнялася. Так, за дії 10 ГДК гліфосату відбувалося різке пригнічення активності СОД і каталази. Натомість у групі, експонованій до 10 ГДК Євролайтингу, обидва ферменти демонстрували максимальну індукцію. Таким чином, співставлення двох ферментів дозволяє не лише оцінити ступінь оксидативного стресу, а й виявити особливості дозозалежної реакції організму на різні гербіциди, підкреслюючи важливість одночасного визначення СОД і каталази як маркерів антиоксидантного захисту.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.

Фінансування: Дослідження проведено за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0125U001564).

Список використаної літератури/References:

- Costas-Ferreira, C., Durán, R., & Faro, L. R. F. (2022). Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4605. <https://doi.org/10.3390/ijms23094605>
- FAO (2022). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook* 2022. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc2211en>
- Golombieski, J.I., Suttili, F.J., Salbego, J. et al. (2016). Imazapyr + imazapic herbicide determines acute toxicity in silver catfish *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.010>
- Hadwan, M., Najm, H. (2016). Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. *Data in Brief*, 6, 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.012>
- Hussain R., Alam S., Farooq J., Afzal G., Iqbal R., Naz S., Mustafa G. and Mahmood Y. (2024). Potential

- of antioxidants-unleashing Natural Defense against oxidative stress in fish. In: Alvi MA, Rashid M, Zafar MA, Mughal MAS and Toor SI (eds), Complementary and Alternative Medicine: Immunization/Vaccinology. Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan, pp: 530- 538. <https://doi.org/10.47278/book.CAM/2024.462>
6. Jin J, Kurobe T, Ramírez-Duarte WF, Bolotaolo MB, Lam CH, Pandey PK, Hung TC, Stillway ME, Zweig L, Caudill J, Lin L, Teh SJ. (2018) Sub-lethal effects of herbicides penoxsulam, imazamox, fluridone and glyphosate on Delta Smelt (*Hypomesus transpacificus*). *Aquat Toxicol*, Apr;197, 79-88 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.01.019>
 7. Kumar, N., Singh, D.K., Chandan, N.K. et al. (2023). Nano zinc enhances gene regulation of non specific immunity and antioxidative status to mitigate multiple stresses in fish. *Sci Rep*, 13, 5015. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32296-y>.
 8. Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: A mechanistic approach. *EXCLI Journal*, 17, 1101–1136. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1710>
 9. Ma, J., Zhu, J., Wang, W., Ruan, P., Rajeshkumar, S., & Li, X. (2019). Biochemical and molecular impacts of glyphosate-based herbicide on the gills of common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Pollution*, 252, 1288–1300. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.040>
 10. Mertens, M., Höss, S., Neumann, G. et al. (2018). Glyphosate, a chelating agent-relevant for ecological risk assessment? *Environ Sci Pollut Res*, 25, 5298–5317. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1080-1>
 11. Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
 12. Santana, M. S., Domingues de Melo, G., Sandrini-Neto, L., Di Domenico, M., & Prodocimo, M. M. (2022). A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. *Chemosphere*, 291, 132730. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132730>
 13. Sharma A., Kumar V., Shahzad B. et al. (2019) Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*. 1. 1–16. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
 14. Shumilova, O., Tockner, K., Sukhodolov, A., & others. (2023). Impact of the Russia–Ukraine armed conflict on water resources and water infrastructure. *Nature Sustainability*, 6, 578–586. <https://doi.org/10.1038/s41893-023-01068-x>
 15. Solokha, M., Demyanyuk, O., Symochko, L., Mazur, S., Vynokurova, N., & Sementsova, K. (2024). Soil degradation and contamination due to armed conflict in Ukraine. *Land*, 13(10), 1614. <https://doi.org/10.3390/land13101614>
 16. Sun, M., Zigman, S. (1978). An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autoxidation. *Analytical biochemistry*, 90(1), 81–89. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90010-6)
 17. Weeks Santos S., Gonzalez P., Cormier B., Mazzella N., Bonnaud B., Morin S., Clérandeau C., Morin B., Cachot J. A (2019) Glyphosate-based herbicide induces sub-lethal effects in early life stages and liver cell line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat Toxicol*, 216.105291. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105291>

DOSE-DEPENDENT EFFECTS OF PHOSPHONATE AND IMIDAZOLINONE DERIVATIVES ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN FISH BLOOD

L.V. Khuda, V.O. Hovorun, V.V. Hakh, O.I. Khudiyi

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
e-mail: l.khuda@chnu.edu.ua
hovorun.valeriia@chnu.edu.ua
hakh.valeriia@chnu.edu.ua
o.khudyi@chnu.edu.ua

The modern agricultural industry actively uses pesticides, among which glyphosate-based herbicides (phosphonate derivatives) and imidazolinones (imazamox, imazapyr) occupy a prominent place. These substances, entering aquatic ecosystems as a result of surface runoff and drainage, pose a global environmental problem. This problem has become particularly acute in the context of military operations in Ukraine, where the destruction of agro-industrial facilities leads to uncontrolled burst emissions that can exceed the established maximum permissible concentrations (MPC) many times over, causing the development of “non-target toxicity” in hydrobionts, most often through the induction of oxidative stress.

This study conducted a comparative analysis of dose-dependent changes in the activity of key antioxidant defense enzymes-superoxide dismutase and catalase - as well as the level of TBA-active products of lipid peroxidation in fish blood upon exposure to water with different concentrations of the herbicides Uragan Forte (glyphosate) and

Eurolighting (imidazolinones). The silver crucian carp (*Carassius gibelio*), known for its ecological plasticity and ability to survive in highly polluted conditions, was chosen as the model organism. The experiment lasted 7 days and included four test concentrations of herbicides: 1 MPC, 2 MPC, 5 MPC, and 10 MPC.

The results showed a clear dose-dependent increase in the level of TBA-active products, which is direct evidence of the development of oxidative stress. Thus, an increase in the concentration of TBK products in blood serum was established under conditions of *Eurolighting* use already at a dose of 2 MPC, and in the 10 MPC group, the maximum value was recorded, exceeding the control by more than twice. The determined activities of SOD and catalase in the blood of *Carassius gibelio* demonstrate the coordinated work of this link in the antioxidant system in response to the effects of herbicides. At low and medium concentrations of *Eurolighting* and Glyphosate, an increase in SOD activity was observed, reflecting an adaptive response to a moderate increase in oxidative stress. At the same time, catalase activity increased or remained at the control level, which is consistent with the response to an increase in H_2O_2 after superoxide dismutation. However, at high concentrations, the response of enzymes was fundamentally different. Thus, under the action of 10 MPC of glyphosate, there was a sharp suppression of SOD and catalase activity. In contrast, the effect of imidazolinones caused a marked increase in the activity of both enzymes, reaching maximum values at 10 MPC. Thus, the dose-dependent differences in the response of antioxidant enzymes indicate the peculiarities of the molecular mechanisms of the toxic action of different classes of herbicides, emphasizing the need for the simultaneous use of several biomarkers for comprehensive environmental monitoring of water bodies.

Keywords: superoxide dismutase, catalase, herbicides, glyphosate, imidazolinones, fish

Отримано редколегією 12.10.2025 р.

ORCID ID

Лідія Худа: <https://orcid.org/0000-0002-1098-7537>

Олексій Худий: <https://orcid.org/0000-0001-5652-0900>