ЭКОЛОГИЯ, 2024, № 2, с. 97–111

УДК 574.21: 577.151.644

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭСТЕРАЗЫ ЖИВОТНЫХ КАК БИОМАРКЕРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПЕСТИЦИДАМИ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

© 2024 г. А. Г. Кинарейкина[a, *], Е. А. Силиванова[a], Д. Н. Кыров[b]

[a] *Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал ТюмНЦ СО РАН, Россия, 625041, Тюмень, ул. Институтская, 2*

[b] *Тюменский государственный университет, Россия, 625003, Тюмень, ул. Володарского, 6*

**e-mail: kinareickina@yandex.ru*

Поступила в редакцию 11.12.2022 г.
После доработки 22.11.2023 г.
Принята к публикации 27.11.2023 г.

Загрязнение водных ресурсов пестицидами негативно влияет на водные организмы и делает водные объекты непригодными для использования человеком. Методы химического анализа при обнаружении вещества не дают информацию о его влиянии на экосистему и ее отдельные компоненты. В статье представлены анализ и обобщение литературных данных о возможностях и особенностях использования ферментов гидробионтов в качестве биомаркеров загрязнения водных экосистем пестицидами. Проанализированы публикации из зарубежных и отечественных источников за последние 20 лет, проиндексированных в базах PubMed, Crossref, Web of Science, Scopus, RSCI, посвященные вопросам пестицидного загрязнения водных объектов и использованию ферментов, в частности неспецифических эстераз, в биомониторинге. Раскрыто понятие “биомаркер”, перечислены группы биомаркеров, цели их использования, преимущества и недостатки как источника информации о состоянии экосистемы. Особое внимание уделено работам по исследованию неспецифических эстераз водных организмов (рыб, моллюсков, рачков, амфибий). Рассмотрены основные типы субстратов, использующихся для измерения активности изоформ эстераз, и особенности изменения ферментативной активности в ответ на воздействие пестицидами из разных химических групп (фосфорорганические соединения, карбаматы, пиретроиды). Обозначены факторы, влияющие на активность неспецифических эстераз водных организмов и ограничивающие их использование для оценки загрязнения водных экосистем.

Ключевые слова: неспецифические эстеразы, карбоксилэстеразы, пестициды, пестицидное загрязнение, гидробионты

DOI: 10.31857/S0367059724020036 **EDN**: DLAHWG

Постоянный рост мирового производства продовольствия сопровождается увеличением использования пестицидов в сельском хозяйстве [1, 2], иногда без какого-либо контроля [3]. Все пестициды прямо или косвенно попадают в природную среду и экосистемы в процессе их применения [4], загрязняя в том числе и водные объекты, делая их непригодными и опасными для человека и животных [5–7]. Пути попадания пестицидов в водные источники разнообразны, включая такую антропогенную деятельность, как индустриализация, сельскохозяйственная практика, сброс сточных вод, поверхностный сток, атмосферные осадки и т.д. [6, 8, 9]. В долгосрочной перспективе все загрязняющие вещества могут в конечном итоге привести к деградации функций прибрежной среды [10] и токсическим эффектам для популяций рыб и других гидробионтов [11].

Данный обзор составлен с целью обобщить имеющиеся сведения о возможностях использования неспецифических эстераз (карбоксилэстераз) в качестве биомаркера загрязнения водных экосистем пестицидами. Проанализированы публикации, посвященные следующим вопросам: 1) загрязнение водных экосистем пестицидами; 2) ферменты как биомаркеры; 3) карбоксилэстеразы водных организмов и их функции; 4) факторы, влияющие на активность карбоксилэстераз водных организмов; 5) влияние пестицидов на активность карбоксилэстераз.

ПЕСТИЦИДЫ КАК ЗАГРЯЗНИТЕЛИ

Пестициды – это химические вещества, которые используют для защиты растений от вредителей (насекомые, мелкие животные, грибы, бактерии, нежелательные дикорастущие расте-

ния), в контроле общественного здоровья (медицинская, бытовая дезинсекция) и для защиты животных от переносчиков трансмиссивных болезней [12, 13]. За 30 лет мировое использование пестицидов увеличилось более чем в 1.5 раза – примерно с 2.3 мегатонн в 1980 г. до 4 мегатонн в 2010 г. в годовом исчислении. После этого уровень потребления пестицидов характеризовался незначительным приростом и оставался относительно постоянным, примерно 4.1 мегатонны в год с 2011 г. по 2018 г. Анализ глобального использования пестицидов за период с 1990 г. по 2018 г. выявил основной вклад Азии, на долю которой приходилось около 53% от общего их потребления (см. рис. 1), Северная и Южная Америки использовали около 30%, Европа – 14%, Африка – около 2%, на долю Океании приходился оставшийся 1%. В топ-10 стран мира по использованию пестицидов в среднем за период с 1990 г. по 2018 г. вошли Китай, США, Бразилия, Аргентина, Россия, Франция, Италия, Япония, Колумбия и Канада [12].

Проблема загрязнения водных ресурсов пестицидами актуальна во всем мире [15–19]. Количество остатков пестицидов после их первичного использования обычно слишком велико, чтобы полностью разложиться естественным путем (метаболическим, микробиологическим или фоторазрушением) [12], поэтому при чрезмерном использовании пестициды могут поступать в водные объекты с дождевыми [16, 20], ирригационными [11] и сточными (промышленными и городскими) водами, с отходами сельскохозяйственного производства [10, 11, 21–23]. Мониторинг, проведенный в странах Европы в 2013–2020 гг., показал, что доля водных объектов, в которых содержание одного или более пестицидов превышало допустимый уровень, составила 10–25% и 4–11% при исследовании поверхностных и подземных вод соответственно. Количество наименований пестицидов в поверхностных водах варьировало от менее 10 (Исландия, Люксембург, Норвегия, Швеция) до более 100 веществ (Чехия, Франция, Германия, Италия, Нидерланды, Испания) [19].

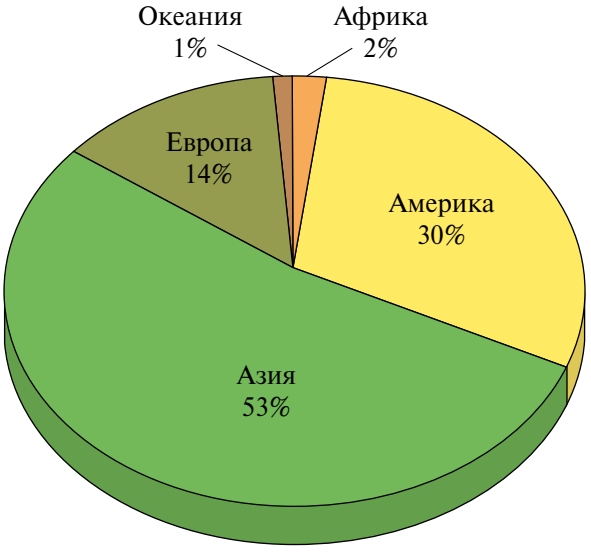

Рис. 1. Глобальное распределение использования пестицидов за 1990–2018 гг. по данным [12, 14].

Согласно исследованию B. Shen с соавт. [15], загрязнение крупнейшего пресноводного озера Бостен в Китае хлорорганическими соединениями является в первую очередь результатом хозяйственной деятельности человека (сельскохозяйственные стоки, бытовые сточные воды), при этом присутствие пестицида дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) в воде объясняется историческим его накоплением, а в донных отложениях как предыдущими, так и недавними его поступлениями. Потенциальным источником хлорорганических пестицидов (ХОП), загрязняющих р. Донгнай во Вьетнаме, были названы жилые и сельскохозяйственные районы, расположенные в верхней части водосбора или прилегающие к местам отбора проб воды [16].

По данным Росгидромета, в воде и донных отложениях поверхностных водных объектов Российской Федерации регистрируются ХОП, в том числе ДДТ и его метаболиты, изомеры гексахлорциклогексана (ГХЦГ). На протяжении 2015–2021 гг. наиболее загрязненной отдельными ХОП (по среднегодовым концентрациям) была вода в бассейнах рек Северной Двины, Оби, Пура, Надыма, Таза, Волги, рек Черноморского побережья Крыма. Максимальное загрязнение ХОП донных отложений наблюдалось в бассейнах рек Волги, Оби и рек Кольского полуострова в бассейне Баренцева моря [24]. В 2020 и 2021 гг. фосфорорганические пестициды и пестициды иной химической природы (трифлуралин, 2,4-Д, ТЦА, триазиновые гербициды) в воде водных объектов не были обнаружены [25].

Следует отметить, что перечень пестицидов, подлежащих обязательному мониторингу в водных объектах, может быть неодинаков в разных странах. В РФ “Перечень загрязняющих веществ, в отношении которых применяются меры государственного регулирования в области охраны окружающей среды” (утвержденный распо-

ряжением Правительства РФ от 8 июля 2015 г. № 1316-р) для водных объектов включает 249 наименований. Пестициды, внесенные в раздел II "Стойкие органические загрязнители", ограничены триазиновыми и динитроанилиновыми гербицидами, ХОП (альдрин, метаболиты ДДТ, гексахлорбензол, ГХЦГ), органофосфатами (карбофос, фозалон), фталимидами (каптан). Другие пестициды из широко применяющихся в настоящее время химических классов пиретроидов, неоникотиноидов и фенилпиразолов не перечислены [26]. Ранее исследователи обращали внимание на необходимость контролировать в поверхностных водах Российской Федерации содержание не только стойких органических загрязнителей, но и пестицидов новых химических групп в связи с их потенциальной опасностью для окружающей среды, разнообразным и регулярно обновляемым их ассортиментом и объемами использования на водосборных площадях [27, 28].

Пестициды, присутствующие в воде и донных отложениях водных объектов, могут обладать летальным и сублетальным эффектами по отношению к водным организмам [6]. Например, в р. Рио-Мадре-де-Диос и ее лагуне (Коста-Рика) наблюдалось несколько массовых случаев гибели рыбы, особенно после сильных дождей, которые, как полагают, были вызваны пестицидным загрязнением вследствие поступления дренажных вод с банановых плантаций, ананасовых и рисовых полей. Среди погибших рыб были обнаружены такие виды, как радужный окунь *Parachromis dovii*, черный окунь *Embiotoca jacksoni*, нильская тиляпия *Oreochromis niloticus* и другие виды семейства цихловых Cichlidae [29]. Сублетальное действие пестицидов на гидробионты может выражаться в нарушении воспроизводства и других хронических последствиях [6, 29]. Так, у личинок рыб данио-рерио *Danio rerio*, подвергшихся воздействию хлорпирифоса, наблюдалось значительное увеличение процента организмов с морфологическими деформациями (аномальный изгиб позвоночника, отек сердца) [30]. При воздействии смеси пиретроидов (TRISADA®) отмечали поведенческие аномалии у головастиков аргентинской жабы *Rhinella arenarum*, а именно: нескоординированное плавание, спазматические и беспорядочные движения, длительные периоды неподвижности [31].

Гидрофобные органические вещества (в том числе пестициды), накапливающиеся в донных отложениях и биоте водоемов с медленным течением, заиленных участках, притоках, дельтах и эстуариях, становятся источниками попадания и переноса загрязнителя по пищевой цепи [32]. Концентрации веществ на последующем уровне цепи могут увеличиваться в 10 раз или более по сравнению с предыдущим уровнем, приводя к изменениям в структуре бентического сообщества и видовом разнообразии, изменяя структуру пищевой цепи [29, 32]. Так, при исследовании оз. Зивей в Эфиопии в органах рыб было выявлено наличие ДДТ, гексахлорциклогексанов, хлорданов, гептахлоров, эндосульфана, спироксамина, дельтаметрина и тяжелых металлов [33].

Пестициды в воде не только представляют опасность для водных организмов, но и делают водные объекты непригодными для использования человеком. Например, в тестах с прорастанием семян растений было показано, что вода, в которой содержание гербицида матолахлора, фунгицидов тебуканозола, пропиконазола и неоникотиноидных инсектицидов суммарно превышало допустимые значения, обладала фитотоксичным эффектом в отношении подсолнечника, огурца, кукурузы и горчицы белой, вследствие чего такая вода не может быть использована для орошения сельскохозяйственных полей [8].

БИОМОНИТОРИНГ И БИОМАРКЕРЫ

Биомониторинг, т.е. регулярное и систематическое использование живых организмов для оценки изменений качества воды, является основным инструментом исследования состояния экосистемы [34]. При биомониторинге биологические маркеры органического/неорганического загрязнения считаются ценными дополнительными инструментами для традиционного химического анализа [35]. Методами аналитической химии можно идентифицировать вещества и метаболиты, но нельзя получить информацию об их биологическом и экологическом воздействии [36], а биомаркеры позволяют определить изменения, которые могут произойти в результате химического воздействия на различных уровнях биологической организации (отдельных особей, видов, популяций, сообществ) [34]. Биомаркеры полезны и в случае, когда установленные значения предельно допустимой концентрации загрязнителя оказываются меньше чувствительности существующих аналитических методов. Считается, что гидробионты хорошо подходят для мониторинга загрязнения водных экосистем, несмотря на видовые различия в основных физиологических характеристиках и чувствительно-

сти определенных биомаркеров к загрязнению окружающей среды [21, 37, 38].

Термин “биомаркер” по определению Академии наук США в широком смысле обозначает любой измеряемый показатель, который отражает взаимодействие между биологической системой и потенциально опасным фактором окружающей среды (физическим, химическим, биологическим) [39]. Биомаркеры разделены на три группы [39, 40]:

а) биомаркеры воздействия (экспозиции) – это экзогенные соединения, их метаболиты или продукты взаимодействия между ксенобиотиком и целевой молекулой или клеткой, содержание которых внутри организма может быть измерено;

б) биомаркеры эффекта – измеряемые биохимические, физиологические, поведенческие показатели организма, которые позволяют судить о произошедшем или возможном ухудшении его состояния;

в) биомаркеры восприимчивости или чувствительности – индикаторы врожденной или приобретенной способности организма реагировать на воздействие ксенобиотика (например, полиморфизм ферментов детоксикации, изменение экспрессии белков-рецепторов, влияющих на восприимчивость к ксенобиотику).

Воздействие ксенобиотиков на отдельные организмы отражается на более высоких уровнях биологической организации со значительной задержкой во времени [41], оценка же биомаркеров позволяет выявить ранние предупреждающие сигналы о таком воздействии [38, 41, 42]. Ответные реакции на воздействие ксенобиотиков на более низких уровнях биологической организации более конкретны, чувствительны, воспроизводимы и их легче определить, но труднее соотнести с экологическими изменениями. Ответы же на более высоких уровнях биологической организации непосредственно свидетельствуют о здоровье экосистем, но их труднее определить, они менее конкретны и проявляются только на поздней стадии, когда ущерб окружающей среде уже нанесен [43, 44].

При проведении мониторинговых исследований следует учитывать, что многие применяемые биомаркеры могут быть неспецифичны и реагируют на экологический стресс в целом. Для использования наиболее подходящего биомаркера важно знать зависимость доза – реакция между рассматриваемым загрязнителем и биомаркером [39, 44, 45]. При выборе биомаркера важно проводить его валидацию в конкретных условиях, поскольку невозможно предположить наличие причинно-следственных связей на уровне популяции, сообщества или экосистемы на основе данных первичного токсикологического теста [44]. К тому же загрязняющие вещества в природной среде состоят из очень разнообразных и сложных смесей, поэтому единый биомаркер, который можно использовать для полной диагностики загрязнения окружающей среды, невозможен. Данное ограничение преодолевается использованием комбинации биомаркеров [22, 46]. Одним из основных ограничений при использовании биомаркеров является изменение их фоновых, базальных уровней в результате колебаний, обусловленных физиологическими особенностями (гормональный статус, возраст, пол, питание) или условиями окружающей среды (температура, pH, содержание кислорода) [47, 48]. Существенным препятствием для использования биомаркеров является биоремедиация и приспособляемость видов. Некоторые организмы обладают способностью восстанавливать повреждения, вызванные химическими веществами, в результате чего уровень загрязнения может быть недооценен или возможно появление ложноотрицательных результатов [44].

ФЕРМЕНТЫ КАК БИОМАРКЕРЫ

В качестве биомаркеров химического загрязнения водных объектов широко используют ферменты метаболизма ксенобиотиков [22, 44, 49–51], антиоксидантной системы [46, 47, 52] и ферменты-мишени действия определенных веществ [53–56]. Метаболизм ксенобиотиков – это центральный процесс детоксикации, который происходит во всех организмах. Процесс детоксикации проходит в два основных этапа – фаза I и II [22].

Фаза I биотрансформации ксенобиотика обычно заключается в изменении исходной чужеродной молекулы путем создания или модификации функциональных групп (– OH, – COOH, – SH, – NO_2) в ходе ее окисления, восстановления или гидролиза [42]. К ферментам, участвующим в фазе I, относятся цитохром-P450-монооксигеназы (P450), осуществляющие окисление, гидроксилирование, деалкилирование и десульфурацию [22, 47], и карбоксилэстеразы (CES), осуществляющие гидролиз [50, 51, 57, 58]. Далее

следует реакция конъюгации (фаза II), где к метаболитам фазы I присоединяются эндогенные лиганды, что приводит к образованию более гидрофильных соединений, которые легче выводятся из организма [42, 59].

Ключевыми ферментами II фазы являются уридин-5-дифосфат глюкуронилтрансфераза (UDPGT), обеспечивающая гликозилирование метаболитов [47], и глутатион-S-трансфераза (GST) [55, 60], катализирующая конъюгацию глутатиона (GSH) с ксенобиотиками (фосфорорганические пестициды, цитотоксические альдегиды) [61–63]. Так, повышенная активность P450-монооксигеназ и GST в микросомальной фракции печени молоди рыб европейской солеи *Solea solea*, выловленной в 2015 г. на морском участке в устье р. Эбро (Испания), позволила заключить, что данный вид рыб находился под влиянием стрессовых факторов [64].

Воздействие органических токсикантов, в том числе и пестицидов, также усиливает в организме выработку активных форм кислорода (АФК), которые могут повреждать ДНК, белки, липиды и другие молекулы [22]. Увеличение окислительного стресса может привести к индукции антиоксидантных ферментов глутатионредуктазы (GR), глутатионпероксидазы (GPX), глутатионтрансферазы, каталазы, супероксиддисмутазы, что делает возможным их использование в качестве биомаркеров химического загрязнения [46, 47, 52]. На примере двустворчатых моллюсков *Solen marginatus* из устья р. Эбро было показано [46], что ферменты GR и GPX достаточно хорошо отражают наличие окислительного стресса под воздействием обнаруженных в их мягких тканях ксенобиотиков, в том числе пестицидов.

Механизм действия отдельных групп пестицидов (например фосфорорганических, карбаматов, некоторых соединений растительного происхождения) заключается в ингибировании холинэстераз (ChE). В качестве комплексного биомаркера воздействия антихолинэстеразных соединений в токсикологии используют оценку эстеразного статуса (совокупность эстераз организма, взаимодействующих с ФОС) [53, 54]. Под “эстеразным профилем” соединения понимают набор кинетических констант, описывающих ингибиторную активность соединения в отношении эстераз различной функциональной значимости: ацетилхолинэстеразы (AChE), нейротоксичной эстеразы, бутирилхолинэстеразы, карбоксилэстеразы, параоксоназы.

Эстеразный статус включает аспекты воздействия и чувствительности, он в значительной степени определяет видовую и индивидуальную чувствительность к антихолинэстеразным соединениям [53]. Ингибирование активности ацетилхолинэстеразы, бутирилхолинэстеразы, карбоксилэстеразы часто связано с различными типами загрязняющих веществ [55], в основном фосфорорганическими пестицидами (ФОС) и карбаматами (КМ), а также с присутствием тяжелых металлов, поверхностно-активных веществ [62]. Например, хлорпирифос нарушал липидный обмен, вызывал окислительный стресс и приводил к ингибированию AChE и CES, активации GST в печени взрослых особей японской медаки *Oryzias latipes,* содержавшихся на протяжении 64 ч в воде с концентрацией пестицида 400 мкг/л [65]. Скармливание хлорпирифос-метила в концентрациях 0.5, 4.2 и 23.2 мг/кг корма в течение 30 дней приводило к ингибированию холинэстеразной активности плазмы молоди атлантической трески *Gadus morhua* [56]. Многие ФОС быстро деградируют в окружающей среде, и в результате уровни загрязнения воды часто за несколько часов оказываются ниже пороговых значений. Однако ингибирование эстераз в организме после воздействия ФОС может сохраняться в течение нескольких дней или недель [66].

Примером использования ферментов в качестве биомаркера пестицидного воздействия на гидробионты является определение активности холинэстераз. В работе N. J. Diepens с соавт. [29] исследована активность ChE у рыб *Parachromis dovii* в лабораторных тестах для оценки применимости этого биомаркера в отношении ФОС (этопрофос, хлорпирифос). Ингибирование ChE у *P. dovii*, наблюдавшееся при воздействии хлорпирифоса и этопрофоса в концентрациях ниже полулетальной (LC50), подтвердило возможность использования ChE как эффективного биомаркера воздействия данных пестицидов.

Однако результаты исследований активности холинэстераз не всегда точны, так как причиной их ингибирования может быть не только загрязнение, необходимо также учитывать активацию компенсаторных механизмов, которые направлены на устранение повреждающего воздействия антихолинэстеразных соединений, что потенциально приводит к снижению активности ChE. Эти естественные защитные механизмы могут влиять на активность ферментов и маскировать фактическое влияние ксенобиотика на ChE, создавая ограничение в использовании ChE в ка-

честве биомаркеров [40]. При изучении реакций нейрохимических биомаркеров в ответ на загрязнение основным ограничением является быстрая посмертная деградация тканей. На значения биомаркеров могут влиять такие посмертные факторы, как температура окружающей среды, продолжительность времени между гибелью организма и сбором тканей, а также количество циклов замораживания-оттаивания биоматериала. Характеристики холинэстераз считаются относительно стабильными нейрохимическими биомаркерами [48].

Таким образом, оценивая загрязнение воды пестицидами и его воздействие на водные организмы, целесообразно использовать в качестве биомаркеров одновременно ферменты, отражающие процессы детоксикации, антиоксидантной защиты и специфичного действия химических веществ [46]. Среди факторов, определяющих выбор ферментов-биомаркеров загрязнения, первостепенное значение имеют достаточно высокий уровень их активности в организме, чувствительность к различным внешним токсическим воздействиям, а также простота и надежность методов определения их активности [67].

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭСТЕРАЗЫ

Карбоксилэстеразы – это гетерогенная группа изоферментов, принадлежащих к семейству α-, β-сериновых гидролаз, которые гидролизуют субстраты, содержащие сложноэфирные, амидные и тиоэфирные связи (карбоновые эфиры спиртов, фенолов, нафтолов и липопротеинов), до соответствующего спирта и карбоновой кислоты [46, 68–73]. CES играют значительную роль в трансформации эндогенных молекул (сложных эфиров холестерина) [64], метаболизме таких чужеродных химических веществ [74], как фосфорорганические соединения, пиретроиды, карбаматы [64, 75–78] и других загрязнителей окружающей среды [74, 78–80], способствуя их детоксикации [3, 50, 81].

У позвоночных животных CES доминируют в печени [79, 82], но также присутствуют во многих других тканях, включая почки, кровь, мозг [51, 82], легкие, желудок [83], кишечник [83–85], пищеварительные железы [86], сердце, мышцы [82, 83], яички, жировая ткань, носовые и дыхательные ткани [70]. Например, D. Nos с соавт. [87] описали активность печеночной CES у четырех видов тунца с учетом потенциального влияния размеров рыбы, трофического уровня, географического положения, влияния пестицидов (дихлофоса). B. Sànchez-Nogué с соавт. [88] обнаружили доминирующую активность CES в печени, почках, гонадах и жабрах у молоди рыб *Solea solea* и *S. senegalensis*. В ходе исследования распределения ферментативной активности в кишечнике нильской тиляпии *Oreochromis niloticus* L. наибольшая активность неспецифических эстераз была обнаружена в первых четырех сегментах кишечника – активность фермента наблюдалась как в щеточной кайме, так и в цитоплазме энтероцитов [84].

Для измерения активности изоформ CES используются различные субстраты: 4-нитрофенилбутират (4-NPB), 1-нафтилацетат (α-NA), 1-нафтилбутират (1-NB), 2-нафтилацетат (β-NA), 4-нитрофенилацетат (ρ-NPA) [50, 74]. Выбор подходящих субстратов зависит от вида организма и ткани, но существуют дополнительные факторы, влияющие на активность CES даже в пределах одной и той же ткани и вида (факторы окружающей среды, особенности местообитания, диета, физиологические изменения организма) [46].

Например, при исследовании активности карбоксилэстеразы разных видов рыб (*S. solea*, *Dicentrarchus labrax*, *Trachyrhynchus scabrus*, *Mora moro*, *Alepocephalus rostratus*, *Cataetyx laticeps*), выловленных на различных глубинах Средиземного моря, обнаружено значительное варьирование ферментативной активности в зависимости от вида, субстрата и субклеточной фракции. Гидролиз α-NA был выше, чем ρ-NPA, независимо от субклеточной фракции. В случае α-NA различия между микросомальной и цитозольной средними активностями CES варьировали от 2.6 раза у *S. solea* до 9.6 раза у *A. rostratus*. Разброс активности ρ-NPA–CES между микросомальной и цитозольной фракциями был больше, чем для активности α-NA–CES, варьируя от 3.5 раза у *C. laticeps* до 30.5 раза у *A. rostratus* [47]. При исследовании активности CES у прибрежных видов рыб (*Trachurus trachurus*, *Merluccius merluccius*, *Trisopterus luscus*), выловленных на Галисийском побережье (северо-запад Испании), обнаружено, что скорость гидролиза α-NA в 3–7 раз выше во всех тканях (мозг, мышцы, печень), чем при использовании в качестве субстрата ρ-NPA [82]. A.M. Attademo с соавт. [83] наблюдали различия в активности CES в зависимости от субстрата, ткани и стадии жизни лягушек *Pseudis paradoxa*, собранных во временных прудах прибрежных лесов трех провинций Санта-Фе (Аргентина): у го-

ловастиков и взрослых особей активность CES с использованием ρ-NPA была выше, чем при использовании α-NA в качестве субстрата.

Активность эстераз может различаться в зависимости от вида организма, диеты, пола, физических факторов окружающей среды. Образ жизни является важным фактором, способствующим межвидовым вариациям активности ферментов биотрансформации: сидячие и малоподвижные бентические виды проявляют более низкую активность ферментов по сравнению с более активными пелагическими видами [89]. Также важны размеры тела рыбы, например замечено, что у *S. senegalensis*, *Alpheus rostratus* активность CES снижается с увеличением размера тела [90].

Диета является потенциальным фактором межвидовой изменчивости активности CES. Более высокое разнообразие карбоновых эфиров, присутствующих в растительных материалах, объясняет более высокую активность CES у травоядных и всеядных видов. Также диеты, богатые липидами, приводят к высокому уровню активности CES. Например, максимальные и минимальные значения общей активности CES соответствовали видам рыб с разнообразной (*Trachyrincus scabrus*) и ограниченной (*A. rostratus*) диетой соответственно [47]. И хотя рыбы могут метаболизировать и выделять ксенобиотики, но постоянное воздействие на рацион питания может привести к биоаккумуляции и воздействию на организм [56].

У средиземноморской трески *Lepidion lepidion* все биомаркеры, в том числе и CES, значительно варьируют в зависимости от сезона, причем большинство ферментов демонстрируют увеличение активности весной и ее снижение летом, а также высокую антиоксидантную активность осенью. Сезонная изменчивость ферментативной активности, характерная для *L. lepidion*, вероятно, не связана с колебаниями репродуктивной активности, а является результатом других факторов, например различия в доступности пищи (более высокие потоки частиц весной могут быть ответственны за увеличение активности ферментов биотрансформации, включая CES) [90]. При изучении влияния периода размножения на ферментативную активность у двустворчатых моллюсков *Mytilus galloprovincialis*, *Cerastoderma edule*, *Solen marginatus* не обнаружено четко идентифицируемых различий [46]. По данным J. Damásio с соавт. [37], активность B-эстераз моллюсков *Corbicula fluminea* в заливах дельты р. Эбро (загрязнение ФОС) варьировала в зависимости от месяца, демонстрируя наибольший эффект ингибирования в июле и августе. S. Dallarés с соавт. [46] отмечали, что у мидий *M. galloprovincialis* CES более чувствительны к ингибированию загрязнителями, в том числе и пестицидами, в жабрах и пищеварительной железе с мая по июль при использовании субстратов α-NA и ρ-NPA. V. Bresler с соавт. [86] не обнаружили значительной сезонной изменчивости активности CES у моллюсков *Donax trunculus* из Средиземного моря, *Cornus florida* и *Deraeocoris histrio* – из загрязненных в том числе и ФОС, участков Красного моря.

У водных организмов, например молоди кижуча *Oncorhynchus kisutch*, увеличение нейротоксичности пестицидов (смесь ФОС) наблюдалось при повышенных температурах воды из-за снижения активности AChE и CES [13]. У двустворчатых моллюсков при росте температуры воды увеличивались скорость метаболизма, выработка АФК, изменялась каталитическая эффективность [46]. Тот же эффект был характерен и для лягушек [91]: у *Physalaemus nattereri* и *Rhinella schneideri* отмечалась более высокая восприимчивость CES к гербициду кломазону при повышении температуры.

ВЛИЯНИЕ ПЕСТИЦИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭСТЕРАЗЫ

Большинство инсектицидов имеют сходный способ действия как на насекомых, так и на многих других животных, в том числе и водных [65, 92]. Из-за скорости метаболизма рыбы метаболизируют ксенобиотики медленнее, чем млекопитающие [92]. Ингибирование эстераз может быть показателем присутствия оксоновых форм фосфорорганических инсектицидов [93–95], карбаматов [3, 42] или сульфаниламидов [46]. Однако ингибирование активности CES является видо- и химически специфическим [49]. Высокие уровни CES в организме гидробионтов могут способствовать устойчивости их к пестицидам, поскольку данные ферменты гидролизуют ФОС [87, 96], пиретроиды и КМ [83, 97].

Карбоксилэстеразы обеспечивают защиту от пестицидного отравления посредством различных механизмов, например прямого гидролиза сложноэфирных связей в ФОС; связывания с ФОС или связывания ФОС с другими белками, что ведет к снижению концентрации доступных молекул ФОС [94, 95]; фосфорилирования CES

путем связывания с сериновой гидроксильной группой в ее активном центре [79].

Таким образом, CES осуществляет защитный механизм, действуя как "поглотитель", уменьшая количество эффективного пестицида, необратимо связывая активные метаболиты ФОС [98–100] и, следовательно, препятствуя достижению его основной цели – AChE [11, 40, 101] или других биомишеней (ацилпептидгидролаза, гидролаза амидов жирных кислот, арилформамидаза, сывороточный альбумин). Карбоксилэстеразы могут связываться с молекулами пестицидов (смесь хлорпирифоса и атразина [102], монокротофос [103]) в некоторых случаях с большим сродством, чем AChE [104–106]. Следовательно, CES являются вторичными мишенями (нецелевые мишени, взаимодействие с которыми не приводит к физиологическому эффекту), т. е. сайтами альтернативного фосфорилирования [53] / карбамилирования [42]. Поэтому, например, для двустворчатых моллюсков CES служит более адекватным показателем воздействия ФОС, так как часто наблюдается отсутствие влияния пестицидов на активность AChE в жабрах и гемолимфе [46].

О более высоком сродстве карбоксилэстераз гидробионтов к ФОС по сравнению с ацетилхолинэстеразой свидетельствуют и другие исследования. Так, по данным C.P. Tridico с соавт. [107], воздействие диазиноном вызывало ингибирование CES в жабрах, но не в печени и не влияло на активность AChE у самцов нильской тиляпии O. *niloticus*. Как было показано в работе C. Ribalta и соавт. [47], карбоксилэстераза груборылого гренадера *Trachyrincus scabrus* обладала более высокими активностью и сродством к дихлофосу по сравнению с CES других изученных видов рыб, что делает фермент *T. scabrus* более чувствительным биомаркером действия ФОС. Исследование C. Barata с соавт. [93] свидетельствует о том, что у дафнии *Daphnia* и мексиканского бокоплава *Hyalella azteca* CES были в 50 раз и более чувствительны к ФОС, чем AChE, а ингибирование CES увеличивало для данных организмов токсичность фосфорорганических (в 2 раза) и карбаматных (в 5 раз) пестицидов.

У молоди чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* карбоксилэстераза была ингибирована концентрациями хлорпирифоса, которые не влияли на активность AChE, что также указывает на большее сродство CES к ФОС [98]. В исследовании S.G. Ru с соавт. [103] было выявлено, что печеночная CES у морского окуня *Sciaenops ocellatus* более чувствительна к сублетальным концентрациям пестицида монокротофоса, чем мозговая AChE. При воздействии минимальной концентрации монокротофоса и в течение короткого времени активность печеночной CES подавлялась, достигая самой низкой активности, и оставалась такой с увеличением концентрации и времени. В работе показано, что ингибирование мозговой AChE монокротофосом слабее и ниже, чем у печеночной CES, поэтому последняя является лучшим индикатором при мониторинге загрязнения морской воды монокротофосом.

Помимо ФОС, активность карбоксилэстераз гидробионтов может меняться в ответ на действие других пестицидов. Так, R.C. Lajmanovich с соавт. [31] продемонстрировали зависимость доза – эффект при изучении активности CES у головастиков лягушек *R. arenarum*, подвергшихся воздействию смеси пиретроидов (TRISADA®), причем активность фермента снижалась с увеличением концентрации пестицида. У речного рака *Astacus leptodactylus* также наблюдали снижение активности CES и AChE при исследовании воздействия фунгицида пенконазола, при этом эффект пестицида был дозозависимым [61]. Поскольку скорость ингибирования CES была выше, чем AChE, авторы предположили, что CES более чувствительна к токсичности пенконазола, чем AChE. Вышеописанные наблюдения поддерживают использование CES в качестве биомаркера воздействия агрохимикатов [96].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая приведенные выше сведения, можно отметить, что загрязнение поверхностных вод пестицидами является актуальной мировой проблемой. К сожалению, в нашей стране перечень загрязняющих веществ, содержание которых подлежит государственному мониторингу, не включает многие современные широко применяемые пестициды. Иногда чувствительность существующих аналитических методов не позволяет обнаруживать в воде отдельные пестициды на установленном уровне ПДК и ниже. Альтернативой могут быть методы биоиндикации и биомониторинга с использованием ферментов гидробионтов в качестве биомаркеров.

Эстеразы широко используются в качестве биомаркера определения загрязнения фосфорорганическими пестицидами, карбаматами и другими нейротоксическими веществами.

Использование данных ферментов в качестве биомаркера предпочтительно из-за таких характеристик, как чувствительность к большому количеству значительных загрязнителей окружающей среды, низкая стоимость, простота проведения количественных анализов, адаптивность к огромному числу видов из различных экосистем, хорошая воспроизводимость и биологическая/экологическая значимость [108]. При использовании карбоксилэстераз в качестве биомаркера воздействия пестицидов на водные экосистемы важно знание естественных вариаций их активности у водных организмов в зависимости от вида, пола, особенностей образа жизни и питания, температуры, присутствия других загрязняющих веществ.

На наш взгляд, для измерения ферментативной активности предпочтительнее использовать в качестве субстрата α-NA, поскольку скорость его гидролиза ферментом из разных тканей гидробионтов, как правило, выше, а варьирование между клеточными фракциями меньше, чем в случае использования ρ-NPA. Предпочтительность α-NA в качестве ферментативного субстрата подкрепляется сведениями о большей чувствительности α-эстеразной активности к пестицидному воздействию.

Снижение активности эстераз у гидробионтов может свидетельствовать, с одной стороны, о присутствии пестицидов, являющихся специфическими ингибиторами фермента (в первую очередь ФОС и карбаматов), с другой стороны, может указывать на присутствие других загрязнителей, способных влиять на эстеразную активность (тяжелых металлов, детергентов). Для получения более надежных результатов в ходе биомониторинга водных экосистем целесообразно использовать комплекс биомаркеров. Учитывая, что угнетение эстераз у гидробионтов может быть следствием хронического воздействия на их организм поллютантов в среде обитания, более информативно, по нашему мнению, проводить наряду с биохимическими тестами молекулярные исследования уровня экспрессии генов, кодирующих разные изоформы эстераз, что поможет выявить истинную причину изменения ферментативной активности и охарактеризовать состояние экосистемы в целом.

Таким образом, при экологической оценке водных экосистем после загрязнения пестицидами в набор тестов целесообразно включать биохимические методы оценки биомаркеров. Это позволит более точно прогнозировать скорость изменения и степень нарушения конкретной экосистемы, включая функционирование естественных механизмов биоремедиации, в том числе при участии гидробионтов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа частично осуществлена в рамках проекта 121042000066-6 “Изучение и анализ эпизоотического состояния по болезням инвазионной этиологии и разработка методов научно-обоснованного применения средств дезинсекции, химической и биологической регуляции численности паразитов животных и пчел”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья носит обзорный характер и не содержит исследований людей или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Casu V., Tardelli F., De Marchi L.* et al. Soluble esterases as biomarkers of neurotoxic compounds in the widespread serpulid *Ficopomatus enigmaticus* (Fauvel, 1923) // J. Environ. Sci. Health. B. 2019. V. 54(11). P. 883–891. https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1640028
2. *Devi I.P., Manjula M., Bhavani R.V.* Agrochemicals, environment, and human health // Ann. Rev. of Environ. and Resour. 2022. V. 47(1). P. 399–421. https://doi.org/10.1146/annurev-environ-120920-111015
3. *Leite P.Z., Margarido T.C., de Lima D.* et al. Esterase inhibition in tadpoles of *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae) as a biomarker for exposure to organophosphate pesticides // Environ. Sci. Pollut. Res. 2010. V. 17. P. 1411–1421. https://doi.org/10.1007/s11356-010-0326-y
4. *Wang X., Li Q., Li M.* et al. Interference adsorption mechanisms of dimethoate, metalaxyl, atrazine, malathion and prometryn in a sediment system containing coexisting pesticides/heavy metals based on fractional factor design (resolution V) assisted by 2D-QSAR // Chem. Res. Chin. Univ. 2018. V. 34. P. 397–407. https://doi.org/10.1007/s40242-018-7253-8
5. *Noguerol T.-N., Boronat S., Casado M.* et al. Evaluating the interactions of vertebrate receptors with persistent pollutants and antifouling pesticides using recombinant yeast assays // Anal.

Bioanal. Chem. 2006. V. 385(6). P. 1012–1019. https://doi.org/10.1007/s00216-006-0476-4
6. *Shefali G., Kumar R., Sankhla M.S.* et al. Impact of pesticide toxicity in aquatic environment // Biointerf. Res. in Appl. Chem. 2021. V. 11(3). P. 10131–10140. https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1013110140
7. *Pawełczyk A.* Assessment of health risk associated with persistent organic pollutants in water // Environ. Monit. Assess. 2013. V. 185(1). P. 497–508. https://doi.org/10.1007/s10661-012-2570-8
8. *Gvozdenac S., Bursić V., Vuković G.* et al. Phytotoxic effects of irrigation water depending on the presence of organic and inorganic pollutants // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016. V. 23(18). P. 18596–18608. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7024-3
9. *Wu Y., Wang X., Li Y.* et al. Polybrominated diphenyl ethers, organochlorine pesticides, and polycyclic aromatic hydrocarbons in water from the Jiulong River Estuary, China: levels, distributions, influencing factors, and risk assessment // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2017. V. 24(10). P. 8933–8945. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4782-2
10. *Du H.T., Kunzmann A.* The sediment load and deposition by river discharge and their relation to organochlorine pesticides pollutants in the sediment bottom of Nha Trang Bay, Vietnam // Ocean Sci. J. 2015. V. 50. P. 455–466. https://doi.org/10.1007/s12601-015-0041-1
11. *Korkmaz V., Güngördü A., Ozmen M.* Comparative evaluation of toxicological effects and recovery patterns in zebrafish (*Danio rerio*) after exposure to phosalone-based and cypermethrin-based pesticides // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. V. 160. P. 265–272. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.055
12. *Ponnuchamy M., Kapoor A., Senthil Kumar P.* et al. Sustainable adsorbents for the removal of pesticides from water: a review // Environ. Chem. Lett. 2021. V. 19. P. 2425–2463. https://doi.org/10.1007/s10311-021-01183-1
13. *Wee S.Y., Aris A.Z.* Ecological risk estimation of organophosphorus pesticides in riverine ecosystems // Chemosphere. 2017. V. 188. P. 575–581. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.035
14. FAOSTAT – URL: http://www.fao.org/faostat/en/#data/ (дата обращения: 02.11.2022).
15. *Shen B., Wu J., Zhao Z.* Organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Bosten Lake, Northwest China // J. Arid. Land. 2017. V. 9. P. 287–298. https://doi.org/10.1007/s40333-017-0008-4
16. *Nguyen T.X., Nguyen B.T., Tran H.T.T.* et al. Seasonal, spatial variation, and potential sources of organochlorine pesticides in water and sediment in the lower reaches of the Dong Nai River system in Vietnam // Arch. Environ Contam. Toxicol. 2019. V. 77(44). P. 514–526. https://doi.org/10.1007/s00244-019-00653-6
17. *Syafrudin M., Kristanti R.A., Yuniarto A.* et al. Pesticides in drinking water-a review // Int. J. Environ. Res. Public. Health. 2021. V. 18(2). Art. 468. https://doi.org/10.3390/ijerph18020468
18. *Rad S.M., Ray A.K., Barghi S.* Water pollution and agriculture pesticide // Clean Technol. 2022. V. 4. P. 1088–1102. https://doi.org/10.3390/cleantechnol4040066
19. European Environment Agency. Pesticides in rivers, lakes and groundwater in Europe, December 2022 – URL: https://www.eea.europa.eu/ims/ (дата обращения: 12.04.2023).
20. *Zhou J., Zheng D., Jin S.* et al. Analysis and risk assessment of organic pollutants in surface water from Xujiahe basin, China // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2020. V. 105(3). P. 453–459. https://doi.org/10.1007/s00128-020-02970-2
21. *Ozmen M., Güngördü A., Kucukbay F.Z.* et al. Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey // Ecotoxicology. 2006. V. 15(2). P. 157–169. https://doi.org/10.1007/s10646-005-0045-1
22. *Hassan I., Jabir N.R., Ahmad S.* et al. Certain phase I and II enzymes as toxicity biomarker: an overview // Water Air. Soil. Pollut. 2015. V. 226 (153). P. 1–8. https://doi.org/10.1007/s11270-015-2429-z
23. *Fikarová J., Kříženecká S., Elznicová J.* et al. Spatial distribution of organic pollutants (PAHs and polar pesticides) in the floodplain of the Ohře (Eger) River, Czech Republic // J. Soils. Sediments. 2018. V. 18. P. 259–275. https://doi.org/10.1007/s11368-017-1807-0
24. Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (ежегодники качества поверхностных вод РФ) – URL: https://www.meteorf.gov.ru/product/infomaterials/ezhegodniki/ (дата обращения: 12.04.2023).
25. Ежегодник качества поверхностных вод Российской Федерации за 2021 / Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды; гл. ред. к. б. н. М.М. Трофимчук. Ростов н/Д, 2021. 620 с.
26. Распоряжение Правительства РФ от 8 июля 2015 г. № 1316-р “Об утверждении перечня загрязняющих веществ, в отношении которых применяются меры государственного регулирования в области охраны окружающей среды” (с изменениями и дополнениями от 10.05.2019).
27. *Skurlatov Y.I., Zaitseva N.I., Shtamm E.V.* et al. New-generation pesticides as a factor of chemical hazard to aquatic ecosystems // Russ. J. Phys. Chem. B. 2015. V. 9. P. 490–497. https://doi.org/10.1134/S1990793115030215
28. *Никаноров А.М., Коротова Л.Г.* Пути усовершенствования наблюдений за содержанием пестици-

дов в поверхностных водных объектах Российской Федерации // Метеорология и гидрология. 2013. № 4. С. 89–95.

29. *Diepens N.J., Pfennig S., Van den Brink P.J.* et al. Effect of pesticides used in banana and pineapple plantations on aquatic ecosystems in Costa Rica // J. Environ. Biol. 2014. V. 35(1). P. 73–84.
30. *Pérez J., Domingues I., Monteiro M.* et al. Synergistic effects caused by atrazine and terbuthylazine on chlorpyrifos toxicity to early-life stages of the zebrafish *Danio rerio* // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2013. V. 20(7). P. 4671–4680. https://doi.org/10.1007/s11356-012-1443-6
31. *Lajmanovich R.C., Peltzer P.M., Martinuzzi C.S.* et al. B-esterases and behavioral biomarkers in tadpoles exposed to pesticide pyrethroid-TRISADA® // Toxicol. Environ. Health Sci. 2018. V. 10. P. 237–244. https://doi.org/10.1007/s13530-018-0371-3
32. *Nikanorov A.M., Stradomskaya A.G.* Chronic pollution of freshwater bodies: data on accumulation of pesticides, oil products, and other toxic substances in bottom deposits // Water Resour. 2007. V. 34. P. 314–320. https://doi.org/10.1134/S0097807807030098
33. *Teklu B.M., Hailu A., Wiegant D.A.* et al. Impacts of nutrients and pesticides from small- and large-scale agriculture on the water quality of Lake Ziway, Ethiopia // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2018. V. 25(14). P. 13207–13216. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6714-1
34. *Pretti C., Cognetti-Varriale A.M.* The use of biomarkers in aquatic biomonitoring: the example of esterases // Aquatic Conserv.: Mar. and Freshw. Ecosyst. 2001. V. 11. P. 299–303. https://doi.org/10.1002/aqc.457
35. *Sole M., Hambach B., Cortijo V.* et al. Muscular and hepatic pollution biomarkers in the fishes phycis blennoides and micromesistius poutassou and the crustacean *Aristeus antennatus* in the Blanes submarine canyon (NW Mediterranean) // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2009. V. 57(1). P. 123–132. https://doi.org/10.1007/s00244-008-9250-2
36. *Neamtu M., Ciumasu I.M., Costica N.* et al. Chemical, biological, and ecotoxicological assessment of pesticides and persistent organic pollutants in the Bahlui River, Romania // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2009. V. 16 (Suppl. 1). P. 76–85. https://doi.org/10.1007/s11356-009-0101-0
37. *Damásio J., Navarro-Ortega A., Tauler R.* et al. Identifying major pesticides affecting bivalve species exposed to agricultural pollution using multi-biomarker and multivariate methods // Ecotoxicology. 2010. V. 19(6). P. 1084–1094. https://doi.org/10.1007/s10646-010-0490-3
38. *Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.* Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2003. V. 13(2). P. 57–149. https://doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6
39. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. IPCS. Environmental health criteria 155. Geneva: WHO, 1993. 82 p.
40. *Gonçalves A.M.M., Rocha C.P., Marques J.C.* et al. Fatty acids as suitable biomarkers to assess pesticide impacts in freshwater biological scales-a review // Ecol. Indic. 2021. V. 122. Art. 107299. P. 1–8. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107299
41. *Holdway D.A., Brennan S.E., Ahokas J.T.* Short review of selected fish biomarkers of xenobiotic exposure with an example using fish hepatic mixed-function oxidase // Austral Ecology. 1995. V. 20. P. 34–44. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1995.tb00520.x
42. *Rodrigues C., Guimarães L., Vieira N.* Combining biomarker and community approaches using benthic macroinvertebrates can improve the assessment of the ecological status of rivers // Hydrobiologia. 2019. V. 839. P. 1–24. https://doi.org/10.1007/s10750-019-03991-7
43. *Au D.W.* The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review // Mar. Pollut. Bull. 2004. V. 48(9–10). P. 817–834. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.032
44. *Lomartire S., Marques J.C., Goncalves A.M.* Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems // Ecol. Indic. 2021. V. 122. Art. 107207. P. 1–9. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107207
45. *Pereira B.B., de Campos Júnior E.O.* Enzymatic alterations and genotoxic effects produced by sublethal concentrations of organophosphorous temephos in *Poecilia reticulata* // J. Toxicol. Environ. Health A. 2015. V. 78(16). P. 1033–1037. https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1050566
46. *Dallarés S., Carrasco N., Álvarez-Muñoz D.* et al. Multibiomarker biomonitoring approach using three bivalve species in the Ebro Delta (Catalonia, Spain) // Environ. Sci. Pollut. Res. 2018. V. 25(36). P. 36745–36758. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3614-6
47. *Ribalta C., Sanchez-Hernandez J.C., Sole M.* Hepatic biotransformation and antioxidant enzyme activities in Mediterranean fish from different habitat depths // Sci. Total. Environ. 2015. V. 532. P. 176–183. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.001
48. *Basu N.* Applications and implications of neurochemical biomarkers in environmental toxicology // Environ. Toxicol. Chem. 2015. V. 34(1). P. 22–29. https://doi.org/10.1002/etc.2783
49. *Baker J.K., Long S.M., Hassell K.L.* et al. Health status of sand flathead (*Platycephalus bassensis*), inhabiting an industrialisedand urbanised embayment, Port Phillip Bay, Victoria as mea-

sured by biomarkers of exposure and effects // PLoS One. 2016. V. 11(10). Art. e0164257. P. 1–15. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164257
50. *Solé M., Freitas R., Viñas L.* et al. Biomarker considerations in monitoring petrogenic pollution using the mussel *Mytilus galloprovincialis* // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2020. V. 27(25). P. 31854–31862. https://doi.org/10.1007/s11356-020-09427-3
51. *Solé M., Vega S., Varó I.* Characterization of type "B" esterases and hepatic CYP450 isoenzimes in *Senegalese sole* for their further application in monitoring studies // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2012. V. 78. P. 72–79. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.013
52. *Koenig S., Fernandez P., Company J.B.* et al. Are deep-sea organisms dwelling within a submarine canyon more at risk from anthropogenic contamination than those from the adjacent open slope? A case study of Blanes canyon (NW Mediterranean) // Prog. Oceanogr. 2013. V. 118(Suppl. 3). P. 249–259. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2013.07.016
53. *Makhaeva G., Rudakova E., Richardson R.* Investigation of the esterase status as a complex biomarker of exposure to organophosphorus compounds // Biomed. Chem.: Res. Methods. 2018. V. 1(3). Art. e00028. https://doi.org/10.18097/BMCRM00028
54. *Barriga-Vallejo C., Aguilera C., Cruz J.* et al. Ecotoxicological biomarkers in multiple tissues of the neotenic *Ambystoma* spp. for a non-lethal monitoring of contaminant exposure in wildlife and captive populations // Water, Air. Soil. Pollut. 2017. V. 228. Art. 415. https://doi.org/10.1007/s11270-017-3590-3
55. *Aguilera C., Leija A., Torres M.* et al. Assessment of environmental quality in the tamaulipas laguna Madre, Gulf of Mexico, by integrated biomarker response using the Cross-Barred Venus clam *Chione elevate* // Water, Air, Soil. Pollut. 2019. V. 230. Art. 27. https://doi.org/10.1007/s11270-019-4078-0
56. *Olsvik P.A., Larsen A.K., Berntssen M.H.G.* et al. Effects of agricultural pesticides in aquafeeds on wild fish feeding on leftover pellets near fish farms // Front. Genet. 2019. V. 10. Art. 794. https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00794
57. *Güngördü A., Uçkun M., Yoloğlu E.* Integrated assessment of biochemical markers in premetamorphic tadpoles of three amphibian species exposed to glyphosate- and methidathion-based pesticides in single and combination forms // Chemosphere. 2016. V. 144. P. 2024–2035. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.125
58. *Velki M., Lackmann C., Barranco A.* et al. Pesticides diazinon and diuron increase glutathione levels and affect multixenobiotic resistance activity and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae // Environ. Sci. Eur. 2019. V. 31. Art. 4. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0186-0
59. *Solé M., Antó M., Baena M.* et al. Hepatic biomarkers of xenobiotic metabolism in eighteen marine fish from NW Mediterranean shelf and slope waters in relation to some of their biological and ecological variables // Mar. Environ. Res. 2010. V. 70(2). P. 181–188. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.04.008
60. *Solé M., Varó I., González-Mira A.* et al. Xenobiotic metabolism modulation after long-term temperature acclimation in juveniles of *Solea senegalensis* // Mar. Biol. 2015. V. 162. P. 401–412. https://doi.org/10.1007/s00227-014-2588-2
61. *Alkan Uçkun A., Barım Öz Ö.* Acute exposure to the fungicide penconazole affects some biochemical parameters in the crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) // Environ. Sci. Pollut. Res. 2020. V. 27(28). P. 35626–35637. https://doi.org/10.1007/s11356-020-09595-2
62. *Jemec A., Drobne D., Tišler T.* et al. Biochemical biomarkers in environmental studies – lessons learnt from enzymes catalase, glutathione S-transferase and cholinesterase in two crustacean species // Environ. Sci. Pollut. Res. 2010. V. 17(3). P. 571–581. https://doi.org/10.1007/s11356-009-0112-x
63. *Moreira S.M., Guilhermino L.* The use of *Mytilus Galloprovincialis* acetylcholinesterase and glutathione S-transferases activities as biomarkers of environmental contamination along the northwest Portuguese coast // Environ. Monit. Assess. 2005. V. 105(1–3). P. 309–325. https://doi.org/10.1007/s10661-005-3854-z
64. *Crespo M., Solé M.* The use of juvenile *Solea solea* as sentinel in the marine platform of the Ebre Delta: in vitro interaction of emerging contaminants with the liver detoxification system // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016. V. 23(19). P. 19229–19236. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7146-7
65. *Jeon H.J., Lee Y.H., Mo H.H.* et al. Chlorpyrifos-induced biomarkers in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. V. 23(2). P. 1071–1080. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4598-0
66. *Hannam M.L., Hagger J.A., Jones M.B.* et al. Characterisation of esterases as potential biomarkers of pesticide exposure in the lugworm *Arenicola marina* (Annelida: Polychaeta) // Environ. Pollut. 2008. V. 152(2). P. 342–350. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.022
67. Есимбекова Е.Н., Торгашина И.Г., Калябина В.П. и др. Ферментативное биотестирование: научные основы и применение // Сибирский экологич. журн. 2021. Т. 28. № 3. С. 364–382. https://doi.org/10.15372/SEJ20210308
68. *Solé M., García de la Parra L.M., Alejandre-Grimaldo S.* et al. Esterase activities and lipid peroxidation levels in offshore commercial species of the NW Mediterranean Sea // Mar. Pollut. Bull. 2006. V. 52(12). P. 1708–1716. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.07.015
69. *Li S.N., Fan D.F.* Activity of esterases from dif-

ferent tissues of freshwater fish and responses of their isoenzymes to inhibitors // J. Toxicol. Environ. Health. 1997. V. 51(2). P. 149–157. https://doi.org/10.1080/00984109708984018

70. *Wheelock C.E., Phillips B.M., Anderson B.S.* et al. Applications of carboxylesterase activity in environmental monitoring and toxicity identification evaluations (TIEs) // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2008. V. 195. P. 117–178. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77030-7_5
71. *Solé M., Sanchez-Hernandez J.C.* An in vitro screening with emerging contaminants reveals inhibition of carboxylesterase activity in aquatic organisms // Aquat. Toxicol. 2015. V. 169. P. 215–222. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.001
72. *Hirji K.N., Courtney W.A.M.* Non-specific carboxylic esterase-activity in the digestive-tract of the perch, *Perca fluviatilis* L. // J. of Fish Biology. 1983. V. 22(1). P. 1–7. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb04719.x
73. *Barron M.G., Charron K.A., Stott W.T.* et al. Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout // Environ. Toxicol. Chem. 1999. V. 18(11). P. 2506–2511. https://doi.org/10.1002/etc.5620181117
74. *Arendarczyk A., Jakubowska A., Zgorska A.* et al. Toxic effects of cadmium-spiked sediments in *Tubifex tubifex*: enzyme biomarkers measurements // Desal. Water Treatm. 2014. V. 52(19–21). P. 3798–3803. https://doi.org/10.1080/19443994.2014.884793
75. *Li M.H.* Effects of nonylphenol on cholinesterase and carboxylesterase activities in male guppies (*Poecilia reticulata*) // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2008. V. 71(3). P. 781–786. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.014
76. *Güngördü A., Erkmen B., Kolankaya D.* Evaluation of spatial and temporal changes in biomarker responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) for biomonitoring the Meric Delta, Turkey // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2012. V. 33(3). P. 431–439. https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.01.003
77. *Güngördü A., Sireci N., Küçükbay H.* et al. Evaluation of in vitro and in vivo toxic effects of newly synthesized benzimidazole-based organophosphorus compounds // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2013. V. 87. P. 23–32. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.10.007
78. *Zang Y., Zhang X., Huang P.* et al. Cloning and expression of two carboxylesterases, and their activity modulation in chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* under pesticide exposer // Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 2020. V. 20(7). P. 521–529. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_7_02
79. *Leticia A.G., Gerardo G.B.* Determination of esterase activity and characterization of cholinesterases in the reef fish *Haemulon plumieri* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2008. V. 71(3). P. 787–797. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.01.024
80. *Farcy E., Burgeot T., Haberkorn H.* et al. An integrated environmental approach to investigate biomarker fluctuations in the blue mussel *Mytilus edulis* L. in the Vilaine estuary, France // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2013. V. 20(2). P. 630–650. https://doi.org/10.1007/s11356-012-1316-z
81. *Velki M., Meyer-Alert H., Seiler T.B.* et al. Enzymatic activity and gene expression changes in zebrafish embryos and larvae exposed to pesticides diazinon and diuron // Aquat. Toxicol. 2017. V. 193. P. 187–200. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.019
82. *Martínez-Morcillo S., Pérez-López M., Míguez M.P.* et al. Comparative study of esterase activities in different tissues of marine fish species *Trachurus trachurus*, *Merluccius merluccius* and *Trisopterus luscus* // Sci. Total. Environ. 2019. V. 679. P. 12–22. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.047
83. *Attademo A.M., Peltzer P.M., Lajmanovich R.C.* et al. Tissue-specific variations of esterase activities in the tadpoles and adults of *Pseudis paradoxa* (Anura: Hylidae) // Water, Air. Soil. Pollut. 2014. V. 225. Art. 1903. https://doi.org/10.1007/s11270-014-1903-3
84. *Tengjaroenkul B., Smith B.J., Caceci T.* et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. // Aquaculture. 2000. V. 182(3–4). P. 317–327. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00270-7
85. *Kozarić Z., Kužir S., Petrinec Z.* et al. Histochemical distribution of digestive enzymes in intestine of goldline, *Sarpa salpa* L. 1758 // J. Appl. Ichthyol. 2006. V. 22(1). P. 43–48. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00694.x
86. *Bresler V., Bissinger V., Abelson A.* et al. Marine molluscs and fish as biomarkers of pollution stress in littoral regions of the Red Sea, Mediterranean Sea and North Sea // Helgol. Mar. Res. 1999. V. 53. P. 219–243. https://doi.org/10.1007/s101520050026
87. *Nos D., Navarro J., Macias D.* et al. Carboxylesterase activities as potential biomarkers of pollution in marine pelagic predators // Ecol. Indic. 2021. V. 122. Art. 107217. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107217
88. *Sànchez-Nogué B., Varó I., Solé M.* Comparative analysis of selected biomarkers and pesticide sensitivity in juveniles of *Solea solea* and *Solea senegalensis* // Environ. Sci. Pollut. Res. 2013. V. 20. P. 3480–3488. https://doi.org/10.1007/s11356-012-1355-5
89. *Solé M., Rodríguez S., Papiol V.* et al. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables // Comp. Biochem. Physiol. 2009. V. 149(1). P. 83–89. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.07.008
90. *Koenig S., Solé M.* Natural variability of hepatic biomarkers in Mediterranean deep-sea organisms // Mar. Environ. Research. 2012. V. 79. P. 122–131.

https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.06.005
91. *Freitas J.S., Felício A.A., Teresa F.B.* et al. Combined effects of temperature and clomazone (Gamit®) on oxidative stress responses and B-esterase activity of *Physalaemus nattereri* (Leiuperidae) and *Rhinella schneideri* (Bufonidae) tadpoles // Chemosphere. 2017. V. 185. P. 548–562. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.061
92. *Schmitt C., McManus M., Kumar N.* et al. Comparative analyses of the neurobehavioral, molecular, and enzymatic effects of organophosphates on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) // Neurotoxicol. Teratol. 2019. V. 73. P. 67–75. https://doi.org/10.1016/j.ntt.2019.04.002
93. *Barata C., Solayan A., Porte C.* Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna* // Aquat. Toxicol. 2004. V. 66(2). P. 125–139. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.07.004
94. *Arufe M.I., Arellano J.M., García L.* et al. Cholinesterase activity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae: characterization and sensitivity to the organophosphate azinphosmethyl // Aquat. Toxicol. 2007. V. 84(3). P. 328–336. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.06.009
95. *Ferrari A., Venturino A., de D'Angelo A.M.P.* Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes // Pestic. Biochem. Physiol. 2007. V. 88(2). P. 134–142. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.10.005
96. *Nigam A.K., Kumari U., Mittal S.* et al. Characterization of carboxylesterase in skin mucus of *Cirrhinus mrigala* and its assessment as biomarker of organophosphate exposure // Fish. Physiol. Biochem. 2014. V. 40. P. 635–644. https://doi.org/10.1007/s10695-013-9872-9
97. *Jeon H.J., Lee Y.H., Mo H.H.* et al. Chlorpyrifos-induced biomarkers in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) // Environ. Sci. Pollut. Res. 2016. V. 23. P. 1071–1080. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4598-0
98. *Wheelock C.E., Eder K.J., Werner I.* et al. Individual variability in esterase activity and CYP1A levels in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to esfenvalerate and chlorpyrifos // Aquat. Toxicol. 2005. V. 74(2). P. 172–192. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.05.009
99. *Cacciatore L.C., Guerrero N.V., Cochon A.C.* Cholinesterase and carboxylesterase inhibition in *Planorbarius corneus* exposed to binary mixtures of azinphos-methyl and chlorpyrifos // Aquat. Toxicol. 2013. V. 128-129. P. 124–134. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.005
100. *Mit C., Tebby C., Gueganno T.* et al. Modeling acetylcholine esterase inhibition resulting from exposure to a mixture of atrazine and chlorpyrifos using a physiologically-based kinetic model in fish // Sci. Total Environ. 2021. V. 773. Art. 144734. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144734
101. *Ferrari A., Lascano C., de D'Angelo A.M.P.* et al. Effects of azinphos methyl and carbaryl on *Rhinella arenarum* larvae esterases and antioxidant enzymes // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 2011. V. 153(1). P. 34–39. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.08.003
102. *Xing H., Wang J., Li J.* et al. Effects of atrazine and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and carboxylesterase in brain and muscle of common carp // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2010. V. 30(1). P. 26–30. https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.03.009
103. *Ru S., Wei X., Jiang M.* et al. In vivo and in vitro inhibitions of red drum (*Sciaenops ocellatus*) brain acetylcholinesterase and liver carboxylesterase by monocrotophos at sublethal concentrations // Water, Air. Soil. Pollut. 2003. V. 149. P. 17–25. https://doi.org/10.1023/a:1025607702964
104. *Siscar R., Varó I., Solé M.* Hepatic and branchial xenobiotic biomarker responses in *Solea* spp. from several NW Mediterranean fishing grounds // Mar. Environ. Res. 2015. V. 112(Pt A). P. 35–43. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.09.001
105. *Guerreño M., López Armengol M.F., Luquet C.M.* et al. Comparative study of toxicity and biochemical responses induced by sublethal levels of the pesticide azinphosmethyl in two fish species from North-Patagonia, Argentina // Aquat. Toxicol. 2016. V. 177. P. 365–372. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.06.015
106. *Solé M., Lacorte S., Vinyoles D.* Biochemical aspects of susceptibility to stressors in two small cyprinids *Squalius laietanus* and *Barbus meridionalis* from the NW Mediterranean // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 2021. V. 242. Art. 108940. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108940
107. *Pereira Trídico C., Ferreira Rodrigues A.C., Nogueira L.* et al. Biochemical biomarkers in *Oreochromis niloticus* exposed to mixtures of benzo[a]pyrene and diazinon // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2010. V. 73(5). P. 858–863. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.01.016
108. *Nunes B.* The use of cholinesterases in ecotoxicology // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2011. V. 212. P. 29–59. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8453-1_2

NON-SPECIFIC ANIMAL ESTERASES AS BIOMARKERS OF PESTICIDE POLLUTION OF AQUATIC ECOSYSTEMS (REVIEW)

A. G. Kinareikina[1, *], E. A. Silivanova[1], D. N. Kyrov[2]

[1]All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology, Branch of the Tyumen Scientific Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Tyumen, 625041, Russia

[2]University of Tyumen, Tyumen, 625003, Russia

**e-mail: kinareickina@yandex.ru*

Abstract—Pollution of water resources with pesticides negatively affects aquatic organisms and makes water bodies unsuitable for use by humans. Chemical analysis methods do not provide information about the impact of a detected substance and its individual components on the ecosystem. The article presents an analysis and synthesis of published data on the possibilities and features of the use of aquatic enzymes as biomarkers of pollution of aquatic ecosystems with pesticides. Publications over the past 20 years, indexed in the PubMed, Crossref, Web of Science, Scopus, and RSCI databases devoted to the issues of pesticide pollution of water bodies and the use of enzymes, in particular nonspecific esterases, in biomonitoring were analyzed. The concept of "biomarker" is revealed, groups of biomarkers, the purposes of their use, advantages and disadvantages as a source of information about the state of the ecosystem are listed. Particular attention is paid to study of nonspecific esterases in aquatic organisms (fish, mollusks, crustaceans, amphibians). The main types of substrates used to measure the activity of esterase isoforms and the features of changes in enzymatic activity in response to exposure to pesticides from different chemical groups (organophosphorus compounds, carbamates, pyrethroids) are considered. The factors influencing the activity of nonspecific esterases of aquatic organisms and limiting their use for assessing pollution of aquatic ecosystems are identified.

Keywords: nonspecific esterases, carboxylesterases, pesticides, pesticide pollution, hydrobionts