

Научная статья  
УДК 574.64;591.5  
<https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-4-87-96>  
EDN ORVXKC

## Влияние острой токсичности бисфенола А на поведение и локомоторную активность *Danio rerio*

Н. И. Кочетков<sup>1✉</sup>, В. А. Климов<sup>2</sup>, Т. Л. Калита<sup>3</sup>, А. В. Горбунов<sup>4</sup>, А. П. Минаенко<sup>5</sup>

<sup>1-5</sup>Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского  
(Первый казачий университет),  
Москва, Россия, [samatrixs@gmail.com](mailto:samatrixs@gmail.com)✉

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук,  
Москва, Россия

**Аннотация.** Представлены результаты оценки влияния острой экспозиции *Danio rerio* в растворах бисфенола А на поведенческие признаки и локомоторную активность с использованием теста открытого пространства. Было выявлено, что бисфенол А в аквариумах экспозиции приводит к нарушению движения, гиперактивности, увеличению выделения слизи и увеличению движений жаберных крышек. Рыба, не подвергавшаяся воздействию поллютанта, в тесте открытого пространства проводила большую часть времени вблизи краев аквариума, проявляя умеренную исследовательскую активность. Бисфенол А в тесте открытого пространства в концентрациях более 1 мг/л приводил к достоверному увеличению средней скорости движения (до 11,1 см/с) и снижению времени бездействия (до 9,9 с). Показатели локомоторной активности данио, достоверно изменяющиеся при действии бисфенола А, демонстрировали явную зависимость концентрация-эффект: для времени бездействия во внутреннем круге коэффициент корреляции  $R^2$  составил 0,6765, во внешнем кольце  $R^2 = 0,7140$ ; для скорости движения во внутреннем круге  $R^2 = 0,4365$ , во внешнем кольце  $R^2 = 0,4011$ . Острая токсичность бисфенола А приводила к развитию у рыб тревожноподобного поведения, характеризующегося гиперактивностью, повышенной исследовательской активностью и снижением тигмотаксиса. Наиболее вероятно, бисфенол А оказывает влияние на метаболизм нейрхимических соединений, что вызывает изменение поведения рыб. Данное исследование подчеркивает важность оценки воздействия загрязнителей на поведение гидробионтов, т. к. поведенческие изменения могут служить ранним индикатором токсичности химических веществ в окружающей среде.

**Ключевые слова:** поведение рыб, тест открытого пространства, бисфенол А, данио *Danio rerio*, локомоторная активность, концентрация

**Благодарности:** исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-16-00123.

**Для цитирования:** Кочетков Н. И., Климов В. А., Калита Т. Л., Горбунов А. В., Минаенко А. П. Влияние острой токсичности бисфенола А на поведение и локомоторную активность *Danio rerio* // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2024. № 4. С. 87–96. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-4-87-96>. EDN ORVXKC.

Original article

## Effect of acute bisphenol A toxicity on behavior and locomotor activity of *Danio rerio*

N. I. Kochetkov<sup>1✉</sup>, V. A. Klimov<sup>2</sup>, T. L. Kalita<sup>3</sup>, A. V. Gorbunov<sup>4</sup>, A. P. Minaenko<sup>5</sup>

<sup>1-5</sup>K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University),  
Moscow, Russia, [samatrixs@gmail.com](mailto:samatrixs@gmail.com)✉

<sup>1</sup>Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences,  
Moscow, Russia

**Abstract.** The results of evaluating the effects of acute exposure of *Danio rerio* to bisphenol A solutions on behavioral traits and locomotor activity using the open field test are presented. It was found that bisphenol A in the exposure aquariums resulted in impaired movement, hyperactivity, increased mucus secretion, and increased gill cover movements. Fish not exposed to the pollutant in the open field test spent most of their time near the edges of the aquarium, exhibiting moderate exploratory activity. Bisphenol A in the open field test at concentrations greater than 1 mg/l caused a significant in-

crease in mean locomotor speed (to 11.1 cm/s) and a decrease in inactivity time (to 9.9 s). The indices of locomotor activity in *Danio rerio*, significantly altered by bisphenol A, showed a clear concentration-effect relationship: for inactivity time in the inner circle,  $R^2 = 0.6765$ , and in the outer ring,  $R^2 = 0.7140$ ; for movement speed in the inner circle,  $R^2 = 0.4365$ , and in the outer ring,  $R^2 = 0.4011$ . Acute toxicity of bisphenol A resulted in the development of anxiety-like behavior in fish, characterized by hyperactivity, increased exploratory activity, and decreased thigmotaxis.

**Keywords:** fish behavior, open space test, bisphenol A, danio *Danio rerio*, locomotor activity, concentration

**Acknowledgment:** the study was supported by a grant from of the Russian Academy of Sciences grant No. 23-16-00123.

**For citation:** Kochetkov N. I., Klimov V. A., Kalita T. L., Gorbunov A. V., Minaenko A. P. Effect of acute bisphenol A toxicity on behavior and locomotor activity of *Danio rerio*. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing industry*. 2024;4:87-96. (In Russ.). <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-4-87-96>. EDN ORVXKC.

## Введение

Нормирование загрязнений водоемов поллютантами промышленного происхождения является актуальным направлением исследований по всему миру. В настоящий момент имеется большое количество данных о действии различных поллютантов, встречающихся в водных экосистемах, на организмы различного трофического уровня [1]. Среди наиболее распространенных промышленных загрязнителей естественных водоемов можно выделить тяжелые металлы, нефть и продукты ее переработки, поверхностно-активные вещества, а также мелкие частицы пластика (микропластик) и продукты их разложения [2]. Ввиду хронического действия некоторые вещества могут оказывать негативное влияние на водные организмы даже в низких концентрациях, например, аккумулируясь в организмах и/или взаимодействуя с другими токсическими соединениями.

Эндокринно-деструктивные вещества (ЭДВ) – это группа химических веществ, широко распространенных в окружающей среде, способных к аккумуляции и нарушению функции эндокринной системы [3]. Бисфенол А (БФА) является одним из представителей ЭДВ и относится к группе фенольных соединений [4]. Негативное влияние БФА на эндокринную систему обусловлено его структурной гомологией с  $17\beta$ -эстрадиолом, что позволяет ему прочно связываться с рецепторами эстрогенов и гамма-рецепторами, связанными с эстрогенами у позвоночных животных [5]. Во множестве работ на рыбах было показано, что БФА приводит к нарушению репродуктивной функции [6], обладает тератогенным и генотоксическим действием [6, 7] и может приводить к отклонениям в работе антиоксидантных систем организма [8]. В водную среду БФА попадает через сточные воды очистных сооружений, промышленные стоки нефтехимических производств и фильтраты свалок [9]. При этом его концентрация в естественных водоемах может варьировать от 1–10 до 1 720 мкг/л [10].

Оценка действия поллютантов на водные организмы подразумевает использование нескольких биомаркеров, что позволяет установить пороговые и недействующие концентрации, а также выявить предполагаемый механизм действия [11]. Поведение рыб является важным показателем при оценке экологических рисков, т. к. позволяет соотнести физиологические функции организма с экологическими процессами в водоеме [12]. Развитие авто-

матических средств для оценки поведения привело к появлению множества этологических тестов, позволяющих изучить влияние изучаемого фактора на локомоторную активность, тревожность, групповое поведение, реакцию на хищника и многое другое [13–15]. Подобные исследования крайне удобно проводить на лабораторных видах рыб (например, *Danio rerio*, *Oryzias latipes*), которые отличаются небольшими размерами и изученными этологическими реакциями. В частности, было показано, что БФА в концентрациях, обнаруживаемых в окружающей среде, приводит к неравномерному характеру плавания, изменению активности и скорости плавания, а также повышению агрессии у рыб [8, 16, 17], при этом до настоящего времени не проводилась оценка острого действия БФА в сублетальных концентрациях на локомоторную активность рыб. Важно отметить, что острая и хроническая токсичность вещества могут значительно различаться, однако данные по краткосрочным эффектам низких концентраций и долгосрочные последствия высоких концентраций одинаково важны для системного понимания механизмов воздействия поллютанта.

Таким образом, целью исследования является оценка острого действия бисфенола А на поведенческие признаки и локомоторную активность *Danio rerio* с использованием теста открытого пространства.

## Материалы и методы

*Danio rerio* (дикий тип) возрастом 4–5 месяцев содержались в аквариумах объемом 300 л по 200 особей в каждом с системами механической и биологической фильтрации и подменой 10 % объема воды в сутки. Содержание и уход за рыбами производился согласно рекомендациям Westerfield [18]. До начала опыта рыбы получали корм Tetra Min Flakes XL (Melle, Germany). Температура ( $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), режим освещенности (12 : 12 ч) и гидрохимические параметры ( $\text{pH } 7,3 \pm 0,3$ ;  $\text{EC } 500\text{ }\mu\text{mS}$ ,  $\text{O}_2\text{ } 7,9 \pm 0,2\text{ }\text{mg/l}$ ;  $\text{NH}_4 < 0,05\text{ }\text{mg/l}$ ;  $\text{NO}_2\text{ } 0,15 \pm 0,02\text{ }\text{mg/l}$ ;  $\text{NO}_3\text{ } 3,1 \pm 0,9\text{ }\text{mg/l}$ ) в опытных аквариумах на начало острого опыта соответствовали аквариумам содержания. Для исследования отбирались особи обоих полов без видимых повреждений со средним размером  $2,12 \pm 0,3\text{ }\text{cm}$  и массой  $0,29 \pm 0,03\text{ }\text{g}$ . По ходу острого опыта проводился контроль смертности рыб, изменений поведения и появления клинических нарушений.

Диапазон концентраций БФА (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) для острого опыта включал следующие концентрации: 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 12,0, 16,0 и 20,0 мг/л. Для приготовления маточного раствора БФА использовался диметилсульфоксид (DMSO) в качестве стандартного растворителя в концентрации 1 % (v/v), согласно данным других авторов [19]. В контрольной группе рыбы подвергались действию только DMSO. Длительность экспозиции составила 96 ч. Подробное описание экспериментов и результаты оценки острой токсичности БФА на выживаемость, гистологические и гематологические показатели приведены в работе [7].

Для оценки локомоторной активности и тревожности данио при остром действии БФА использовался тест открытого пространства с некоторыми модификациями. Известно, что данио проявляют отторжение к ярко освещенным и открытым пространствам, но при этом имеют естественное стремление к исследованию новой среды [13]. Таким образом, в тесте открытого пространства избегание центра арены и замирание (скорость <0,1 см/с) трактуется как тревожное поведение [20].

Для проведения теста использовалась круглая стеклянная емкость диаметром 60 см и высотой 10 см, окрашенная с внешней стороны в белый цвет. В качестве параметров, характеризующих тревожность и локомоторную активность рыбы, использовали время нахождения в центральном круге/внешнем кольце емкости (с), время бездействия (с), дистанцию (см) и скорость движения (см/с). Данные параметры измерялись отдельно в двух частях емкости: внешнее кольцо шириной 10 см и внутренний круг диаметром 40 см. Съемка поведения производилась с использованием веб-камеры C920 HD PRO (Logitech, Швейцария), расположенной перпендикулярно над емкостью. В качестве источника света использовали студийный диодный кольцевой осветитель RL-0518 Kit (Raylab, Россия) с цветовой температурой, равной 4 200 К, и освещенностью 1 000 лк. Оценка поведения проводилась в отдельном помещении с минимизацией дневного освещения и зву-

коизоляции [21]. Исследование поведения производилось сразу после завершения острой экспозиции. Для оценки поведения из каждой группы случайно отбиралось по 5 особей, которые переносились в тестовое помещение партиями и акклиматизировались в течение 30 мин [15]. Далее рыба переносилась в центральную часть емкости для тестирования, где 1 мин уделялась для акклиматизации и 5 мин для съемки поведения (300 с). После завершения тестирования рыба переносилась в отдельную емкость, вода в емкости для тестирования заменялась на новую, и процедура повторялась вновь для следующей группы [13].

Для первоначальной обработки видеофайлов (уменьшение частоты кадров, корректировка контрастности) применялись возможности программы Avidemux. С целью автоматического отслеживания движения рыбы и расчета параметров поведения использовали плагин AnimalTracker [22] для программы Fiji ImageJ2 [23].

Данные сравнения анализируемых переменных представлены в виде средних  $\pm$ SD. Статистическая достоверность определялась с использованием непараметрических тестов (тест Крускала – Уоллиса, U-тест Манна – Уитни) и параметрических тестов (односторонняя ANOVA с последующим тестом Тьюки) в зависимости от распределения данных и однородности вариаций (тесты Шапиро – Уилка и Левена). Значение  $p < 0,05$  было принято как статистически достоверное. Для выявления зависимости концентрация-эффект применялся регрессионный анализ с использованием корреляции Пирсона. Обработка статистических данных производилась с использованием GraphPad Prism version 9.0 software (GraphPad, San Diego, CA, USA) и R software (v3.5.2)/RStudio.

### Результаты

При остром действии БФА изменение поведения наблюдалось в опытных аквариумах, в которых происходила экспозиция (табл. 1).

Таблица 1

Table 1

#### Качественная оценка изменений поведенческих и клинических признаков *Danio rerio*, подвергавшихся острому воздействию бисфенола А\*

#### Qualitative assessment of changes in the behavioral and clinical signs of *Danio rerio* exposed to acute exposure to bisphenol A

Концентрация, мг/л	Баланс	Гиперактивность	Движение	Заглатывание воздуха, оперкулярные движения
Контроль	+++	++	+++	+
0,5	+++	+	+++	+
1	+++	+	++	++
2	++	+	++	+
4	++	++	+++	++
6	+	+++	+++	++
8	+	+++	++	+++

\* + Слабое; ++ умеренное; +++ сильное.

Среди изменений отмечались: потеря равновесия, изменение цвета кожи, увеличение движений жаберных крышек, выделение слизи, подергивание, неустойчивое движение и заглатывание воздуха.

При этом тяжесть нарушений клинических и поведенческих признаков увеличивалась с повышением концентрации и наиболее ярко проявлялась при концентрациях 6 и 8 мг/л.

Бисфенол А при остром действии оказывал значимое воздействие на локомоторную активность данио. В контроле рыба демонстрировала типичное поведение для теста открытого пространства (табл. 2, рис. 1, а): большую часть времени она проводила во внешнем кольце (157,7 с) с меньшей скоростью движения (6,3 см/с), при этом проявляла исследовательскую активность и выплывая во внутренний круг.

Таблица 2

Table 2

Показатели локомоторной активности *Danio rerio*, подвергавшихся острому воздействию бисфенола А

Indicators of locomotor activity of *Danio rerio* exposed to acute exposure to bisphenol A

Концентрация, мг/л	Зона	Время в зоне, с	Время бездействия, с	Дистанция, см	Скорость, см/с
Контроль	Внутренний круг	137,7 ± 19,9	32,7 ± 6,5	875,9 ± 162,1	8,2 ± 0,6
0,5		131,3 ± 12,7	30,4 ± 7	749,1 ± 152,3	8,6 ± 1,1
1		121,1 ± 28,9	23,2 ± 6,7	<b>1 396,9 ± 117,7*</b>	10 ± 0,8
2		122,9 ± 24,7	28,3 ± 5,1	<b>1 470,8 ± 123,7</b>	9,6 ± 1,1
4		113,6 ± 25,1	<b>15,7 ± 4,4</b>	<b>1 397,5 ± 349,3</b>	<b>11 ± 1,3</b>
6		135,7 ± 22,4	<b>10,4 ± 2,1</b>	<b>1 628,2 ± 269,2</b>	<b>11 ± 1,6</b>
8		140,2 ± 33,6	<b>3,2 ± 1,4</b>	<b>1 602,7 ± 365,6</b>	<b>12 ± 1,1</b>
Контроль		Внешнее кольцо	157,7 ± 21,2	42,2 ± 5,8	1 034,6 ± 130,5
0,5	165,8 ± 13,2		43,4 ± 7,2	1 209 ± 187,7	7,3 ± 1,7
1	171,5 ± 31,3		39,3 ± 12,6	<b>2 135 ± 323,2</b>	8,5 ± 1,8
2	175,1 ± 24,8		<b>21,5 ± 6,8</b>	<b>1 883,7 ± 442,5</b>	<b>9,3 ± 1,4</b>
4	182,8 ± 26,4		<b>21,6 ± 7,7</b>	1 551,6 ± 326,8	<b>10 ± 1,9</b>
6	162,5 ± 20,3		<b>16,8 ± 5,7</b>	<b>1 694,1 ± 479,3</b>	<b>10,7 ± 1,3</b>
8	144,6 ± 32,4		<b>6,7 ± 1,4</b>	1 399,5 ± 372,3	<b>10,4 ± 0,4</b>
Контроль	Вся емкость		300	75 ± 9,9	1 910,5 ± 169,3
0,5		73,8 ± 12,5		1 958,1 ± 235,5	7,4 ± 0,9
1		62,5 ± 11,3		<b>3 531,9 ± 233,2</b>	9,1 ± 0,9
2		<b>49,8 ± 9,8</b>		<b>3 354,5 ± 455,3</b>	<b>9,3 ± 1</b>
4		<b>37,3 ± 8,4</b>		<b>2 949,1 ± 614,2</b>	<b>10,2 ± 1,1</b>
6		<b>27,3 ± 4,6</b>		<b>3 322,3 ± 397,8</b>	<b>10,9 ± 1,1</b>
8		<b>9,9 ± 2,4</b>		<b>3 002,2 ± 267,3</b>	<b>11,1 ± 0,8</b>

\* Значения, выделенные жирным шрифтом, достоверно отличались от контроля.

Поведение контрольных рыб во внутреннем круге характеризовалось меньшей пройденной дистанцией (875,9 см) и большей скоростью движения (8,2 см/с).

В свою очередь, рыбы, экипированные в растворе БФА в концентрации 0,5 мг/л, проявляли схожую локомоторную активность (см. рис. 1, б), демонстрируя незначительное увеличение пройденной дистанции и скорости движения в сравнении с контролем.

Начиная с концентрации 1 мг/л данио проявляют большую локомоторную активность, что выражается в достоверном ( $p < 0,05$ ) увеличении пройденного расстояния (как во внешнем кольце, так и во внут-

реннем круге), а также средней скорости движения (см. рис. 1, в, г). Например, в группе, подвергшейся действию БФА в концентрации 2 мг/л, скорость движения во внутреннем круге составила 9,6 см/с, а во внешнем кольце 9,3 см/с, достоверно отличаясь от показателей контроля ( $p < 0,05$ ). В более высоких концентрациях тенденция сохраняется, достигая максимальных значений при 6 и 9 мг/л, где средняя скорость рыб во всей емкости составила 10,9 и 11,1 см/с соответственно.

Обратная зависимость была выявлена для показателя времени бездействия. По ходу увеличения концентрации БФА наблюдалось выраженное сни-

жение данного параметра, который во всей емкости для контроля составил 75 с, а в концентрации 8 мг/л

значимо снизился до 9,9 с ( $p < 0,05$ ).

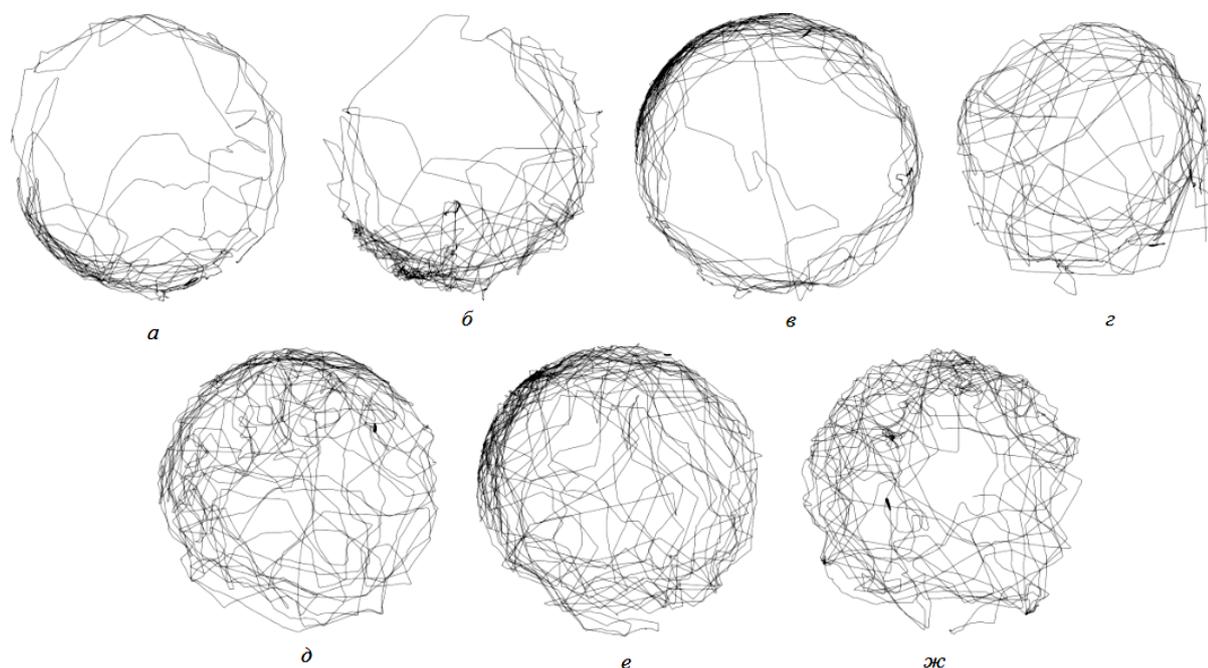


Рис. 1. Локомоторные траектории активности *Danio rerio*, подвергавшихся острому воздействию различных концентраций бисфенола А: а – контроль; б – 0,5 мг/л; в – 1 мг/л; г – 2 мг/л; д – 4 мг/л; е – 6 мг/л; ж – 8 мг/л

Fig. 1. Locomotor trajectories of *Danio rerio* activity exposed to acute exposure to various concentrations of bisphenol A: а – control; б – 0.5 mg/l; в – 1 mg/l; г – 2 mg/l; д – 4 mg/l; е – 6 mg/l; ж – 8 mg/l

Отмеченные изменения показателей локомоторной активности наглядно представлены на рис. 1. В концентрациях 0,5 и 1 мг/л заметно проявление поведенческого паттерна предпочтение места, схожее с контрольными особями и выраженное в большем времени нахождения в одном из квадрантов круга (см. рис. 1, б, в). Начиная с концентрации 2 мг/л рыбы проявляют меньший тигмотаксис и проводят равное время во внешнем кольце и внутреннем круге, проплывая сравнимое расстояние (см. рис. 1, г, д). Уже в концентрациях 6 и 8 мг/л рыбы проходят расстояние во внутреннем круге, в два раза превосходящее показатель контроля (см. табл. 1, рис. 1, е, ж).

Для выявления возможной зависимости между концентрацией БФА и показателями локомоторной активности данио был проведен линейно-регрессионный анализ. Значимая отрицательная корреляция наблюдалась между концентрацией БФА и временем бездействия (рис. 2, а, б).

Так, коэффициент корреляции ( $R^2$ ) во внутреннем круге составил 0,6765, а во внешнем кольце 0,7140. При этом значимых зависимостей между концентрацией поллютанта и временем нахождения в определенной зоне тестовой емкости выявлено не было. Следует отметить наличие положительной связи между дистанцией, пройденной рыбой во внутреннем круге, и концентрацией БФА ( $R^2 = 0,4479$ ; см. рис. 2, в). Столь низкий коэффициент корреляции связан с тем, что значительного изменения пройденной дистанции не наблюдалось, начиная с концентрации 1 мг/л.

Схожая положительная зависимость была выявлена для показателя средней скорости движения, которая постепенно увеличивалась по мере роста концентрации БФА как во внутреннем круге ( $R^2 = 0,4365$ ; см. рис. 2, г), так и во внешнем кольце ( $R^2 = 0,4011$ ; см. рис. 2, д). Для других измеренных показателей локомоторной активности значимых зависимостей установлено не было.

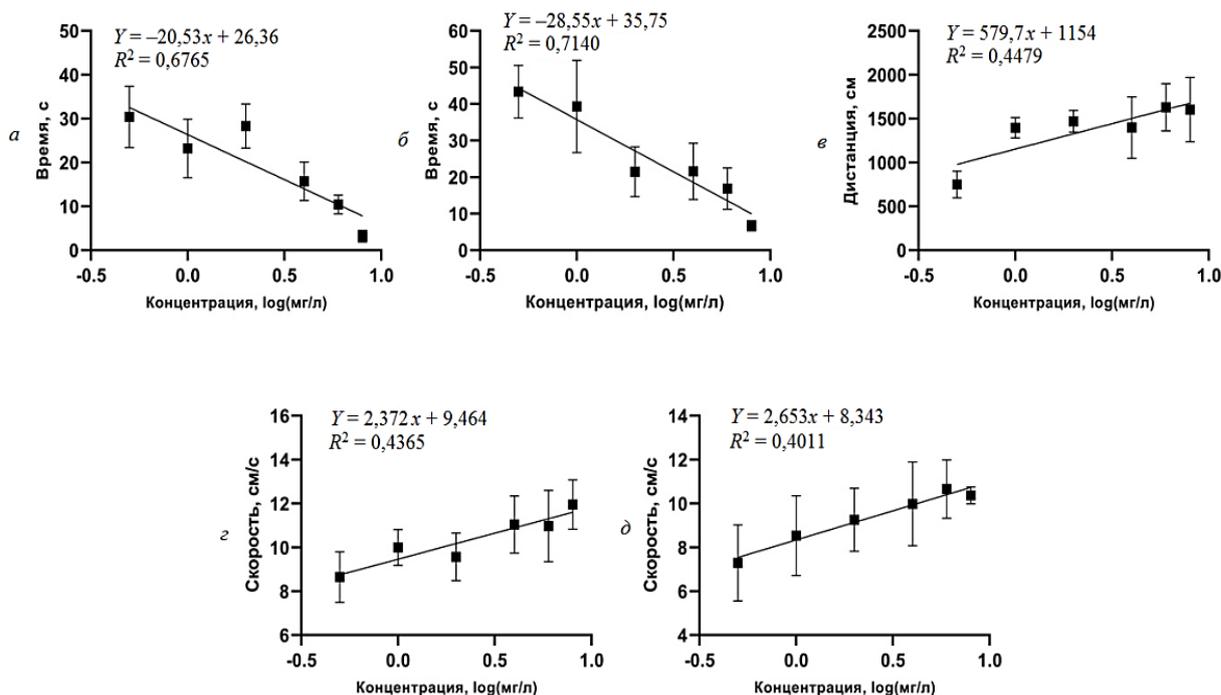


Рис. 2. Линейно-регрессионный анализ показателей локомоторной активности *Danio rerio*, подвергавшихся острому воздействию бисфенола А: а – время бездействия, внутренний круг; б – время бездействия, внешнее кольцо; в – дистанция, внутренний круг; г – скорость, внутренний круг; д – скорость, внешнее кольцо

Fig. 2. Linear regression analysis of *Danio rerio* locomotor activity indicators exposed to acute exposure to bisphenol A: а – inactivity time, inner circle; б – inactivity time, outer ring; в – distance, inner circle; г – speed, inner circle; д – speed, outer ring

### Обсуждение

Представленные данные оценки поведения данио в аквариумах экспозиции сходятся с ранее полученными результатами других авторов. Например, в работе [6] короткая экспозиция *Oncorhynchus mykiss* и *Vimba vimba* также приводила к потере баланса и изменению скорости плавания. При этом длительная экспозиция БФА в более низких концентрациях приводила к такому же изменению локомоторной активности у *Aristichthys nobilis*: изменение положения тела, аномальное плавание и анорексия [8]. Таким образом, действие БФА на поведение рыбы уже ярко проявляется при визуальной оценке и говорит о существенном влиянии данного соединения на когнитивные функции организма.

Локомоторная активность и поведение, наблюдаемые у контрольных особей данио в данном эксперименте, являются классическим проявлением противоречия между необходимостью избегать открытых пространств и тягой к исследовательской активности, что было описано в множестве работ [14, 15, 21, 24]. В таком случае действие БФА выражалось в нарушении данного паттерна. Например, увеличение средней скорости движения в высоких концентрациях БФА связано с появлением в движении у данио однократных, но повто-

ряющихся ускорений (рывков) в одном направлении. Помимо этого, в данных концентрациях у рыб наблюдалась неустойчивость в движении, которая выражалась в резком изменении направления [24]. В ряде случаев она сочеталась с резким ускорением. Следует, однако, отметить, что наиболее значительный рост скорости движения и пройденного расстояния был выявлен начиная с концентрации 1 мг/л. Описанное действие низкой концентрации (500 мкг/л) БФА на данио выражалось в уменьшении локомоторной активности, снижении агрессии и социальной активности, а также нарушении циркадных ритмов [16]. Очевидно, что действие низких и высоких концентраций БФА на поведенческую активность рыб значительно различается, при этом сохраняя свою выраженность.

Увеличение двигательной активности напрямую связано со снижением времени бездействия. Зафиксированный в опыте концентрация-зависимый эффект указывает на проявление у рыб гиперактивности, которая характеризуется аномально быстрым плаванием на протяжении длительного времени. При этом типичные для данио и наблюдаемые в контроле колебания локомоторной активности, представленные чередованием фаз быстрой и низкой скорости [24], в высоких концентрациях БФА

практически не наблюдались. В работе [17] было продемонстрировано, что краткосрочная экспозиция личинок данио приводит к увеличению локомоторной активности и нарушает предпочтение к свету/темноте. Паттерны поведения, зафиксированные в данном исследовании, характерны для тревожно-подобного поведения, которое наблюдается либо при потенциальной опасности, либо может быть вызвано различными стимулами/веществами [20].

Нарушение поведения, вызванное БФА, приведенное в данной работе и описанное другими авторами, может быть связано с действием поллютанта на нейрохимические процессы. В частности, было показано, что эстрогенная активность веществ может оказывать влияние на дофаминергическую, серотонинергическую и холинергическую системы [25]. Данные, приведенные в работе [17], показывают, что БФА приводит к достоверному снижению активности серотониновых рецепторов, ацетилхолина, холина, бетаина, фенилаланина, тирозина и глутаминовой кислоты. Вышеприведенные данные указывают на существование связи между метаболизмом нейрохимических соединений и изменением поведения при действии БФА [4]. В частности, можно предположить, что снижение уровней ацетилхолина и дофамина ассоциировано с изменением локомоторной активности и проявлением тревожноподобного поведения у данио [26].

Важно отметить, что представленные результаты и имеющиеся на данный момент сведения о токсичности БФА не позволяют провести однозначную связь между эстрогенной активностью поллютанта и нарушением поведенческих паттернов рыбы. По всей видимости, помимо гормональной регуляции поведения может также проявляться токсическое

действие изучаемых концентраций БФА через другие регуляторные механизмы. Представленные в работе методы оценки локомоторной активности лабораторного вида рыб возможно использовать не только в токсикологии, но и при оценке различных биологически активных компонентов и безопасности кормов, которые могут оказывать влияние на кормовое поведение [27].

### Заключение

Краткосрочная экспозиция данио в спектре концентраций бисфенола А приводила к проявлению следующих поведенческих и клинических признаков: потеря равновесия, изменение цвета кожи, увеличение движений жаберных крышек, выделение слизи, подергивание, неустойчивое движение и заглатывание воздуха.

Тест открытого пространства позволил установить, что бисфенол А приводит к значительному увеличению локомоторной активности данио, которая выражалась в значимом увеличении средней скорости движения (до 11,1 см/с) и снижении времени бездействия (до 9,9 с).

Показатели локомоторной активности данио, достоверно изменяющиеся при действии бисфенола А, демонстрировали явную зависимость концентрация-эффект: для времени бездействия во внутреннем круге  $R^2 = 0,6765$  и во внешнем кольце  $R^2 = 0,7140$ ; для скорости движения во внутреннем круге  $R^2 = 0,4365$  и во внешнем кольце  $R^2 = 0,4011$ .

Паттерны поведения, зафиксированные в данном исследовании, а именно гиперактивность, повышенная исследовательская активность и снижение тигмотаксиса, характерны для тревожноподобного поведения.

### Список источников

1. Лозовик П. А. Оценка состояния и загрязнения водных объектов и нормирование допустимой антропогенной нагрузки на них с учетом процессов, происходящих в водной среде // Современные проблемы гидрохимии и мониторинга качества поверхностных вод: материалы Науч. конф. с междунар. участием (Ростов-на-Дону, 08–10 сентября 2015 г.). Ростов н/Д.: Изд-во ФГБУ «Гидрохимический институт», 2015. Т. 2. С. 252–256.
2. Wu L. H., Zhang X. M., Wang F., Gao C. J., Chen D., Palumbo J. R., Zeng E. Y. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review // Science of the Total Environment. 2018. V. 615. P. 87–98.
3. Clotfelter E. D., Bell A. M., Levering K. R. The role of animal behaviour in the study of endocrine-disrupting chemicals // Animal behaviour. 2004. V. 68. N. 4. P. 665–676.
4. Dergacheva N. I., Patkin E. L., Suchkov I. O., Sofronov H. A. Bisphenol A and human diseases. Mechanisms of action // Ecological genetics. 2019. V. 17. N. 3. P. 87–98.
5. Okada H., Tokunaga T., Liu X., Takayanagi S., Matsushima A., Shimohigashi Y. Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor- $\gamma$  // Environmental health perspectives. 2008. V. 116. N. 1. P. 32–38.
6. Minaz M., Er A., Ak K., Nane İ. D., İpek Z. Z., Kurtoglu İ. Z., Kayış Ş. Short-term exposure to bisphenol A (BPA) as a plastic precursor: hematological and behavioral effects on *Oncorhynchus mykiss* and *Vimba vimba* // Water, Air, & Soil Pollution. 2022. V. 233. N. 4. P. 122.
7. Smorodinskaya S., Kochetkov N., Gavrilin K., Nikiforov-Nikishin D., Reznikova D., Vatlin A., Danilenko V. The Effects of Acute Bisphenol A Toxicity on the Hematological Parameters, Hematopoiesis, and Kidney Histology of Zebrafish (*Danio rerio*) // Animals. 2023. V. 13. N. 23. P. 3685.
8. Akram R., Iqbal R., Hussain R., Ali M. Effects of bisphenol a on hematological, serum biochemical, and histopathological biomarkers in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) under long-term exposure // Environmental Science and Pollution Research. 2021. P. 1–16.
9. Uadia P. O. A survey of the level of bisphenol A (BPA) in effluents, soil leachates, food samples, drinking water and consumer products in south-western Nigeria // World Environ. 2015. V. 5. N. 4. P. 135–139.

10. Liu J., Zhang L., Lu G., Jiang R., Yan Z., Li Y. Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment - A review // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021. V. 208. P. 111481.
11. Maulvault A. L., Barbosa V., Alves R., Anacleto P., Camacho C., Cunha S., Diniz M. Integrated multi-biomarker responses of juvenile seabass to diclofenac, warming and acidification co-exposure // *Aquatic toxicology*. 2018. V. 202. P. 65–79.
12. Legradi J. B., Di Paolo C., Kraak M. H. S., Van der Geest H. G., Schymanski E. L., Williams A. J., Hollert H. An ecotoxicological view on neurotoxicity assessment // *Environmental Sciences Europe*. 2018. V. 30. P. 1–34.
13. Midttun H. L., Vindas M. A., Nadler L. E., Øverli Ø., Johansen I. B. Behavioural effects of the common brain-infecting parasite *Pseudoloma neurophilia* in laboratory zebrafish (*Danio rerio*) // *Scientific reports*. 2020. V. 10. N. 1. P. 8083.
14. Галстян Д. С., Колесникова Т. О., Косицын Ю. М., Забегалов К. Н., Губайдуллина М. А., Маслов Г. О., Калугев А. В. Когнитивные тесты зебранию (*Danio rerio*): Т- и Y-образные лабиринты // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20. № 2. С. 163–168.
15. Araujo J., Maximino C., de Brito T. M., da Silva A. W. B., Oliveira K. R. M., de Jesus Oliveira Batista E., Gouveia A. Behavioral and pharmacological aspects of anxiety in the light/dark preference test // *Zebrafish protocols for neurobehavioral research*. 2012. P. 191–202.
16. Wang J., Wang X., Xiong C., Liu J., Hu B., Zheng L. Chronic bisphenol A exposure alters behaviors of zebrafish (*Danio rerio*) // *Environmental Pollution*. 2015. V. 206. P. 275–281.
17. Kim S. S., Hwang K. S., Yang J. Y., Chae J. S., Kim G. R., Kan H., Bae M. A. Neurochemical and behavioral analysis by acute exposure to bisphenol A in zebrafish larvae model // *Chemosphere*. 2020. V. 239. P. 124751.
18. Westerfield M. The zebrafish book. A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). Univ. of Oregon Press, Eugene, 2000. URL: [https://web.archive.org/web/201108103608/http://zfin.org/zf\\_info/zfbook/zfbk.html](https://web.archive.org/web/201108103608/http://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html) (дата обращения: 12.07.2024).
19. Di Paola D., Capparucci F., Lanteri G., Cordaro M., Crupi R., Siracusa R., Peritore A. F. Combined toxicity of xenobiotics Bisphenol A and heavy metals on zebrafish embryos (*Danio rerio*) // *Toxics*. 2021. V. 9. N. 12. P. 344.
20. Stewart A. M., Gaikwad S., Kyzar E., Kalueff A. V. Understanding spatio-temporal strategies of adult zebrafish exploration in the open field test // *Brain research*. 2012. V. 1451. P. 44–52.
21. Cachat J., Stewart A., Grossman L., Gaikwad S., Kadri F., Chung K. M., Kalueff A. V. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish // *Nature protocols*. 2010. V. 5. N. 11. P. 1786–1799.
22. Gulyás M., Bencsik N., Pusztai S., Liliom H., Schlett K. AnimalTracker: An ImageJ-Based Tracking API to Create a Customized Behaviour Analyser Program // *Neuroinform*. 2016. V. 14. P. 479–481.
23. Rueden C. T., Schindelin J., Hiner M. C., DeZonia B. E., Walter A. E., Arena E. T., Elieciir K. W. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data // *BMC bioinformatics*. 2017. V. 18. P. 1–26.
24. Kalueff A. V. Illustrated zebrafish neurobehavioral glossary // *The rights and wrongs of zebrafish: Behavioral phenotyping of zebrafish*. Springer, 2017. P. 291–317.
25. McEwen B. Estrogen actions throughout the brain // *Recent progress in hormone research*. 2002. V. 57. P. 357–384.
26. Оценка общей двигательной активности и тревожности зебранию (*Danio rerio*) с использованием тестов незнакомого аквариума, открытого поля, черного белого аквариума и построения косяка // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20. № 2. С. 123–133. DOI: 10.17816/RCF202123-133.
27. Nikiforov-Nikishin D. L., Kochetkov N. I., Bakharova A. A., Nikiforov-Nikishin A. L., Nevalennyu A. N. A rainbow trout feeding behavior assessment (*Oncorhynchus mykiss*) when introducing a Complex feed additive increasing digestibility // *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing industry*. 2023. N. 3. P. 36–46. DOI: 10.24143/2073-5529-2023-3-36-46.

## References

1. Lozovik P. A. Ocenka sostoyaniya i zagryazneniya vodnyh ob"ektov i normirovanie dopustimoy antropogennoj na-gruzki na nih s uchetom processov, proiskhodyashchih v vodnoj srede [Assessment of the condition and pollution of water bodies and normalization of the permissible anthropogenic load on them, taking into account the processes occurring in the aquatic environment]. *Sovremennye problemy gidrohimii i monitoringa kachestva poverhnostnyh vod: materialy Nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (Rostov-na-Donu, 08–10 sentyabrya 2015 g.)*. Rostov-on-Don, Izd-vo FGBU «Gidrohimicheskij institut», 2015. Vol. 2. Pp. 252–256.
2. Wu L. H., Zhang X. M., Wang F., Gao C. J., Chen D., Palumbo J. R., Zeng E. Y. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Science of the Total Environment*, 2018, vol. 615, pp. 87–98.
3. Clotfelter E. D., Bell A. M., Levering K. R. The role of animal behaviour in the study of endocrine-disrupting chemicals. *Animal behaviour*, 2004, vol. 68, no. 4, pp. 665–676.
4. Dergacheva N. I., Patkin E. L., Suchkov I. O., Sofronov H. A. Bisphenol A and human diseases. Mechanisms of action. *Ecological genetics*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 87–98.
5. Okada H., Tokunaga T., Liu X., Takayanagi S., Matsushima A., Shimohigashi Y. Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor- $\gamma$ . *Environmental health perspectives*, 2008, vol. 116, no. 1, pp. 32–38.
6. Minaz M., Er A., Ak K., Nane İ. D., İpek Z. Z., Kurtoğlu İ. Z., Kayış Ş. Short-term exposure to bisphenol A (BPA) as a plastic precursor: hematological and behavioral effects on *Oncorhynchus mykiss* and *Vimba vimba*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2022, vol. 233, no. 4, p. 122.
7. Smorodinskaya S., Kochetkov N., Gavrilin K., Nikiforov-Nikishin D., Reznikova D., Vatlin A., Danilenko V. The Effects of Acute Bisphenol A Toxicity on the Hematological Parameters, Hematopoiesis, and Kidney Histology of Zebrafish (*Danio rerio*). *Animals*, 2023, vol. 13, no. 23, p. 3685.
8. Akram R., Iqbal R., Hussain R., Ali M. Effects of bisphenol a on hematological, serum biochemical, and histopathological biomarkers in bighead carp (*Aristichthys nobilis*)

lis) under long-term exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, pp. 1-16.

9. Uadia P. O. A survey of the level of bisphenol A (BPA) in effluents, soil leachates, food samples, drinking water and consumer products in south-western Nigeria. *World Environ*, 2015, vol. 5, no. 4, pp. 135-139.

10. Liu J., Zhang L., Lu G., Jiang R., Yan Z., Li Y. Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment - A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, vol. 208, p. 111481.

11. Maulvault A. L., Barbosa V., Alves R., Anacleto P., Camacho C., Cunha S., Diniz M. Integrated multi-biomarker responses of juvenile seabass to diclofenac, warming and acidification co-exposure. *Aquatic toxicology*, 2018, vol. 202, pp. 65-79.

12. Legradi J. B., Di Paolo C., Kraak M. H. S., Van der Geest H. G., Schymanski E. L., Williams A. J., Hollert H. An ecotoxicological view on neurotoxicity assessment. *Environmental Sciences Europe*, 2018, vol. 30, pp. 1-34.

13. Midttun H. L., Vindas M. A., Nadler L. E., Øverli Ø., Johansen I. B. Behavioural effects of the common brain-infecting parasite *Pseudoloma neurophilia* in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Scientific reports*, 2020, vol. 10, no. 1, p. 8083.

14. Galstyan D. S., Kolesnikova T. O., Kositsyn Y. M., Zabegalov K. N., Gubaidullina M. A., Maslov G. O., Kaluev A. V. Kognitivnye testy zebredanio (*Danio rerio*): T- i Y-obraznye labirinty [Cognitive tests zebra danio (*Danio rerio*): T- and Y-shaped mazes]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*, 2022, vol. 20, no. 2, pp. 163-168.

15. Araujo J., Maximino C., de Brito T. M., da Silva A. W. B., Oliveira K. R. M., de Jesus Oliveira Batista E., Gouveia A. Behavioral and pharmacological aspects of anxiety in the light/dark preference test. *Zebrafish protocols for neurobehavioral research*, 2012, pp. 191-202.

16. Wang J., Wang X., Xiong C., Liu J., Hu B., Zheng L. Chronic bisphenol A exposure alters behaviors of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 2015, vol. 206, pp. 275-281.

17. Kim S. S., Hwang K. S., Yang J. Y., Chae J. S., Kim G. R., Kan H., Bae M. A. Neurochemical and behavioral analysis by acute exposure to bisphenol A in zebrafish larvae model. *Chemosphere*, 2020, vol. 239, p. 124751.

18. Westerfield M. *The zebrafish book. A guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio)*. Univ. of Oregon

Press, Eugene, 2000. Available at: [https://web.archive.org/web/20201108103608/http://zfin.org/zf\\_info/zfbook/zfbk.html](https://web.archive.org/web/20201108103608/http://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html) (accessed: 12.07.2024).

19. Di Paola D., Capparucci F., Lanteri G., Cordaro M., Crupi R., Siracusa R., Peritore A. F. Combined toxicity of xenobiotics Bisphenol A and heavy metals on zebrafish embryos (*Danio rerio*). *Toxics*, 2021, vol. 9, no. 12, p. 344.

20. Stewart A. M., Gaikwad S., Kyzar E., Kalueff A. V. Understanding spatio-temporal strategies of adult zebrafish exploration in the open field test. *Brain research*, 2012, vol. 1451, pp. 44-52.

21. Cachat J., Stewart A., Grossman L., Gaikwad S., Kadri F., Chung K. M., Kalueff A. V. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nature protocols*, 2010, vol. 5, no. 11, pp. 1786-1799.

22. Gulyás M., Bencsik N., Pusztai S., Liliom H., Schlett K. AnimalTracker: An ImageJ-Based Tracking API to Create a Customized Behaviour Analyser Program. *Neuroinform*, 2016, vol. 14, pp. 479-481.

23. Rueden C. T., Schindelin J., Hiner M. C., DeZonia B. E., Walter A. E., Arena E. T., Eliceiri K. W. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC bioinformatics*, 2017, vol. 18, pp. 1-26.

24. Kalueff A. V. *Illustrated zebrafish neurobehavioral glossary. The rights and wrongs of zebrafish: Behavioral phenotyping of zebrafish*. Springer, 2017. Pp. 291-317.

25. McEwen B. Estrogen actions throughout the brain. *Recent progress in hormone research*, 2002, vol. 57, pp. 357-384.

26. Ocenka obshchej dvigatel'noj aktivnosti i trevozhnosti zebredanio (*Danio rerio*) s ispol'zovaniem testov nezna-komogo akvariuma, otkrytogo polya, cherno-belogo akvariuma i postroeniya kosyaka [Assessment of the general motor activity and anxiety of the zebra danio (*Danio rerio*) using tests of an unfamiliar aquarium, an open field, a black-and-white aquarium and the construction of a shoal]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*, 2022, vol. 20, no. 2, pp. 123-133. DOI: 10.17816/RCF202123-133.

27. Nikiforov-Nikishin D. L., Kochetkov N. I., Bakhareva A. A., Nikiforov-Nikishin A. L., Nevalenny A. N. A rainbow trout feeding behavior assessment (*Oncorhynchus mykiss*) when introducing a Complex feed additive increasing digestibility. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing industry*, 2023, no. 3, pp. 36-46. DOI: 10.24143/2073-5529-2023-3-36-46.

Статья поступила в редакцию 12.08.2024; одобрена после рецензирования 17.10.2024; принята к публикации 09.12.2024  
The article was submitted 12.08.2024; approved after reviewing 17.10.2024; accepted for publication 09.12.2024

### Информация об авторах / Information about the authors

**Никита Ильич Кочетков** – младший научный сотрудник центра аквакультуры; Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет); младший научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов; Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН; samatrixs@gmail.com

**Nikita I. Kochetkov** – Junior Researcher of the Aquaculture Center; K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University); Junior Researcher of Laboratory of Bacterial Genetics; Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences; samatrixs@gmail.com

**Виктор Александрович Климов** – кандидат технических наук; научный сотрудник центра аквакультуры; Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет); v.klimov@mgutm.ru

**Татьяна Львовна Калига** – кандидат биологических наук; заведующий кафедрой биологии и биоинформатики; Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет); t.kalita@mgutm.ru

**Александр Вячеславович Горбунов** – кандидат биологических наук; научный сотрудник центра аквакультуры; Московский государственный университет технологий и управления им. К. Г. Разумовского (Первый казачий университет); akvabiotex@rambler.ru

**Ангелина Павловна Минаенко** – младший научный сотрудник центра аквакультуры; Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет); lina111299@mail.ru

**Viktor A. Klimov** – Candidate of Technical Sciences; Researcher of the Aquaculture Center; K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University); v.klimov@mgutm.ru

**Tatyana L. Kalita** – Candidate of Biological Sciences; Head of the Department of Biology and Bioinformatics; K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University); t.kalita@mgutm.ru

**Alexander V. Gorbunov** – Candidate of Biological Sciences; Researcher of the Aquaculture Center; K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University); akvabiotex@rambler.ru

**Angelina P. Minaenko** – Junior Researcher of the Aquaculture Center; K. G. Razumovsky Moscow State University of technologies and management (the First Cossack University); lina111299@mail.ru

