ТЕОРЕТИЧНА ЕКОЛОГІЯ

УДК [502/504:582.232]:615
DOI https://doi.org/10.32846/2306-9716/2022.eco.4-43.35

ВПЛИВ ЕКОЛОГІЧНО РЕАЛЬНИХ ТА СУБТОКСИЧНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ МАЛАТІОНУ НА НЕТАРГЕТНІ ОРГАНІЗМИ (НА ПРИКЛАДІ *DANIO RERIO*)

Горин О.І., Хатіб Іхаб, Ковальська Г.Б., Познанський Д.В., Чернік І.В., Боднар О.І.
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 47028
horynoi@tnpu.edu.ud

Роль гербіцидів та інсектицидів у підвищенні продуктивності сільського господарства сьогодні є беззаперечною. Водночас ці сполуки є небезпечними та персистентними джерелами забруднення навколишнього середовища загалом та водних екосистем зокрема. Вивчення впливу фосфорорганічних інсектицидів на водну біоту є важливим з огляду на постійні екологічні зміни умов їх проживання та модифікації хімічного складу пестицидів. Це, в свою чергу, потребує систематичних додаткових досліджень стосовно механізмів дії таких забруднювачів, що дасть можливість вдосконалити стратегії захисту гідроекосистем.

Метою нашої роботи стало дослідження впливу малатіону у екологічно реальній (5 мкг/л) та субтоксичній (50 мкг/л) концентраціях на коропову рибу *Danio rerio.* Для оцінки ступеня токсичності використовували визначення показників стану антиоксидантної системи та системи біотрансформації ксенобіотиків, а також маркерів ендокринних розладів та нейротоксичності. Одержані результати дозволяють зробити висновок, що, незважаючи на відносно швидкий період розпаду та статус речовини середнього класу токсичності, малатіон уже в екологічно реальних концентраціях викликає у смугастого даніо прояви ознак окисного стресу, ендокринних розладів та нейротоксичності, а також ензимні порушення системи детоксикації ксенобіотиків. При цьому залежність значення показників від концентрації діючого чинника дозволяє виокремити вміст вітелогенінподібних протеїнів та активність карбоксилестерази як найбільш чутливі серед досліджуваних параметрів індикатори забруднення водойм даним інсектицидом. Для більш глибшого і детальнішого з'ясування механізмів дії цього інсектициду пропонуються подальші дослідження гормонального профілю, нейротоксичності, наслідків окисних ушкоджень, а також їх перехресної взаємодії. Це стане вихідною інформацією для розробки попереджувальних стратегій зменшення небезпечного впливу малатіону на риб та припинення скорочення їх популяцій. *Ключові слова:* інсектициди, малатіон, *Danio rerio,* окисний стрес, нейротоксичність, ендокринні розлади.

Effect of environmentally relevant and subtoxic concentrations of malathion on non-target organisms (on the *Danio rerio* example). Horyn O., Khatib Ikhab, Kovalska H., Poznanskyi D., Chernik I., Bodnar O.

Nowadays, the role of herbicides and insecticides in increasing agricultural productivity is undeniable. At the same time, these compounds are dangerous and persistent sources of pollution in the environment, particularly aquatic ecosystems. The study of the organophosphorus insecticides effect on water organisms is important due to the constant ecological changes in their living conditions and modifications in the pesticide's chemical composition. This, in turn, requires systematic additional research into the mechanisms of the pollutants action to enable the improvement of the aquatic ecosystems' protection strategies. The present work aims to study the effects of malathion in environmentally relevant (5 μg L-1) and subtoxic (50 μg L-1) concentrations on carp fish *Danio rerio*. Indicators of the oxidative stress, system of the xenobiotics biotransformation, markers of the endocrine disorders and neurotoxicity were determined to assess the toxicity degree. Our results revealed that despite the relatively rapid decay period and the status of the middle toxicity substance, malathion even in environmentally relevant concentrations causes signs of oxidative stress, endocrine disorders and neurotoxicity, as well as changes in the enzymes activity in the xenobiotics biotransformation system. The dependence of the biomarker values on the active factor concentration allows to distinguish the content of vitellogenin-like proteins and carboxylesterase activity as the most sensitive among the studied indicators of water pollution with the given insecticide. Additional research in the hormonal profile, neurotoxicity, effects of oxidative damage and their cross-interaction will be conducted to further investigate the action mechanisms of this insecticide. The results will be the starting point for developing prevention strategies to reduce the malathion dangerous effects on fish and stop their population reduction. *Key words:* insecticides, malathion, *Danio rerio*, oxidative stress, neurotoxicity, endocrine disorders.

Постановка проблеми. В останні десятиліття з метою підвищення продуктивності сільського господарства та захисту культур невпинно зростає кількість та різноманіття застосовуваних пестицидів. Водночас, гербіциди та інсектициди є небезпечними джерелами забруднення навколишнього середовища і зумовлюють суттєвий пошкоджувальний вплив на природні екосистеми, а відтак на здоров'я людини [1]. Зокрема доведено здатність пестицидів викликати як гострі, так і хронічні токсичні ефекти, включаючи окисний стрес, генетичні пошкодження та репродуктивні розлади у організмів різних екологічних та еволюційних груп [2–3].

Актуальність дослідження. На сьогодні одним з найбільш часто застосовуваних фосфорограничних інсектицидів є малатіон – селективний

інгібітор ацетилхолінестерази (АХЕ) [4]. Для людини та ссавців малатіон відноситься до речовин середнього класу токсичності і може викликати структурно-функціональні порушення як окремих клітин та їх компартментів, так і органів загалом [1, 3]. Так, на моделях мишей та ізольованих клітин людини було встановлено, що малатіон обумовлює пригнічення ацетилхолінестеразної активності, викликає окисний стрес, генотоксичність, активацію запальних процесів та апоптозу [5–6]. Для *Daphnia magna* і риб *Channa punctatus* та *Oncorhynchus mykis* виявлена небезпека малатіону щодо пошкодження ДНК у клітинах печінки за дії у концентрації 0,59–1,49 мкг/л [7–8].

Слід зазначити, що ступіть прояву негативних ефектів залежить від чистоти препарату, концентрації та тривалості впливу, а також шляхів потрапляння в організм [9].

Незважаючи на відносно короткий період напіврозпаду малатіону у воді (40 год. при pH 8,16 і 418 год (17 днів) при pH 6,0), його концентрація подекуди досягає рівня 0,18 мкг/л у поверхневий водах та 0,1 мкг/л у питній воді [2, 10].

Слід зазначити, що більшість досліджень впливу полютантів, включно пестицидів, зосереджена на окремих фізіологічних процесах чи метаболічних ланках. Тому актуальними та важливими для розуміння, як термінової так і віддаленої небезпеки на біоту та водні екосистеми, є роботи комплексного характеру, які дозволяють систематизувати та узагальнити можливі прогнози їх токсичності.

Мета та завдання дослідження. Виходячи з вищесказаного, метою нашої роботи стало дослідження впливу інсектициду малатіону на прісноводних риб у екологічно реальній та субтоксичній концентраціях. Вивчення проводилося з використанням представника коропових риб *Danio rerio* – типової біологічної моделі для механістичних та токсикологічних досліджень. Для оцінки ступеня токсичності використовували визначення показників стану антиоксидантної системи та системи біотрансформації ксенобіотиків, а також маркерів ендокринних розладів та нейротоксичності, апробовані у попередніх наших дослідженнях [7, 11].

Матеріали та методи. Дослідження проводились на дорослих особинах акваріумної рибки даніо *Danio rerio* (родина Коропові), як типової моделі для біологічних досліджень. Тварин купували у магазині мережі «ЗооСвіт» (Тернопіль). Для аклімації та створення експериментальних умов використовували відстояну водопровідну воду. Вміст розчиненого у воді кисню підтримували на рівні 7,0–8,0 мг/л, вуглекислого газу – 2,2–2,8 мг/л, температуру – 20±1 °С, pH – 7,6–8,0. Годували тварин двічі в день сублімованим кормом марки «Tetra». Після 7-ми днів аклімації до лабораторних умов риб випадковим чином розподіляли на 3 групи – контрольна та дві дослідні. Дослідні групи піддавалися дії низької (5 мкг/л) (МН) та високої (50 мкг/л) (МВ) концентрацій малатіону, які знаходяться у екологічно реальному та субтоксичному діапазонах відповідно [10]. Заміну води та поновлення діючих речовин у експериментальних групах здійснювали кожні 3 дні, тривалість експозиції – 14 діб.

Експерименти на тваринах проводили керуючись Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвалою Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000) та рішенням етичної комісії Тернопільського національного педагогічного університету (Протокол № 2, 2020).

Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю каталази та глутатіонредуктази. Активність каталази (КАТ) визначали у розчинній фазі гомогенату печінки після його центрифугування протягом 10 хв. при 6 000 ×g за методом Аебі [12]. Світлопоглинання вимірювали при 240 нм. Активність глутатіонредуктази (GR) визначали за методом Карлберга як результат зменшенням світлопоглинання реакційної суміші в наслідок розщеплення НАДФН за довжини хвилі 340 нм [13].

Вміст вітелогенінподібних протеїнів (Втг-ПП) використовували як маркер ендокринних розладів і визначали за вмістом лужнолабільних фосфатів [14]. Принцип методу ґрунтується на осадженні ліпофосфопротеїнів трихлороцтовою кислотою та їх лужному гідролізі для виділення лабільних фосфатів. Вміст вільних лужнолабільних фосфатів визначали фосфомолібденовим способом.

Стан системи трансформації ксенобіотиків визначали як активність карбоксилестерази (КЕ). Вимірювання проводили у мікросомальній фракції із застосуванням субстрату п-нітрофенілацетату. Інтенсивність гідролізу п-нітрофенілацетату оцінювали за зниженням оптичної густини комплексу при 405 нм [11].

Активність протеїн-тирозинових-фофатаз (ПТФ) визначали за рівнем розкладу п-нітрофенолфосфату, який реєстрували спектрофотометрично за довжини хвилі 405 нм [15].

Активність ацетилхолінестерази (АХЕ), як показника нейротокисчності, визначали колориметричним методом Елмана та ін. [16].

Результати досліджень відображали у вигляді M ± SD для 8 зразків тканини. Вірогідною вважали відмінність між рядами $p<0,05$. Біологічні параметри аналізували з використанням програмного забезпечення Statistica v 12.0 та Exel для Windows-2016.

Викладення основного матеріалу. Експозиція даніо у присутності екологічно реальної та субтоксичної концентрацій малатіону призвела до пригнічення активності ензимів антиоксидантної системи та системи трансформації ксенобіотиків, а також прояву ознак ендокринних порушень та нейротоксичності. Зокрема, у риб, які піддавалися дії

нижчої з досліджуваних доз інсектициду (МН) активність каталази та глутатіонредуктази знизилися на 44,94 і 57,32 % відповідно. За впливу вищої, субтоксичної, концентрації (МВ) ці показники у тварин знизилися на 20,76 та 23,37 % (рис. 1).

Ступінь ендокринних ушкоджень змінювався концентраційно залежно – вміст Втг-ПП у групах МН та МВ зріс на 38,52 та 67,18 % (рис. 2А). Окрім того, вплив досліджуваного органофосфатного інсектициду викликав зниження активності протеїнфосфатази (38,4 і 14,58 %) та карбоксилестерази (46,92 та 45,77 %) у групах МН та МВ відповідно (рис. 2 B-C). Активність АХЕ, як показника нейротоксичної дії, у групі, яка піддавалася впливу екологічно реальної концентрації малатіону, знизилася приблизно на третину (рис. 2 D).

Ступінь ендокринних ушкоджень змінювався концентраційно залежно – вміст Втг-ПП у групах МН та МВ зріс на 38,52 та 67,18 % (рис. 2А). Окрім того, вплив досліджуваного органофосфатного інсектициду викликав зниження активності протеїнфосфатази (38,4 і 14,58 %) та карбоксилестерази (46,92 та 45,77 %) у групах МН та МВ відповідно

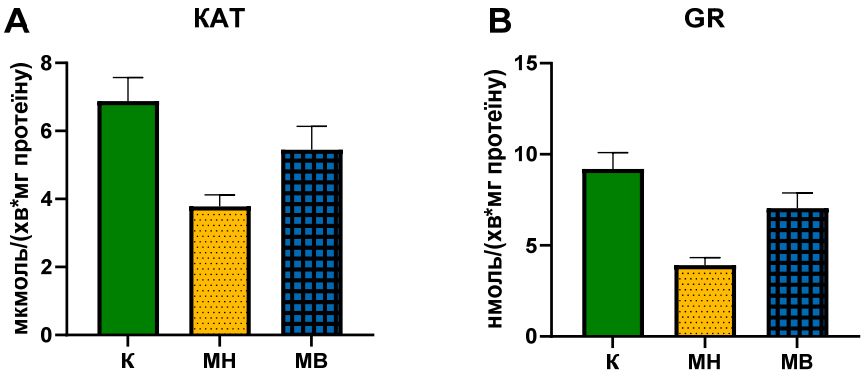

Рис. 1. Показники стану активності ензимів антиоксидантної системи у печінці даніо за дії низької (МН) та високої (МВ) концентрацій малатіону протягом 14 діб: А – каталаза, В – глутатіонредуктаза

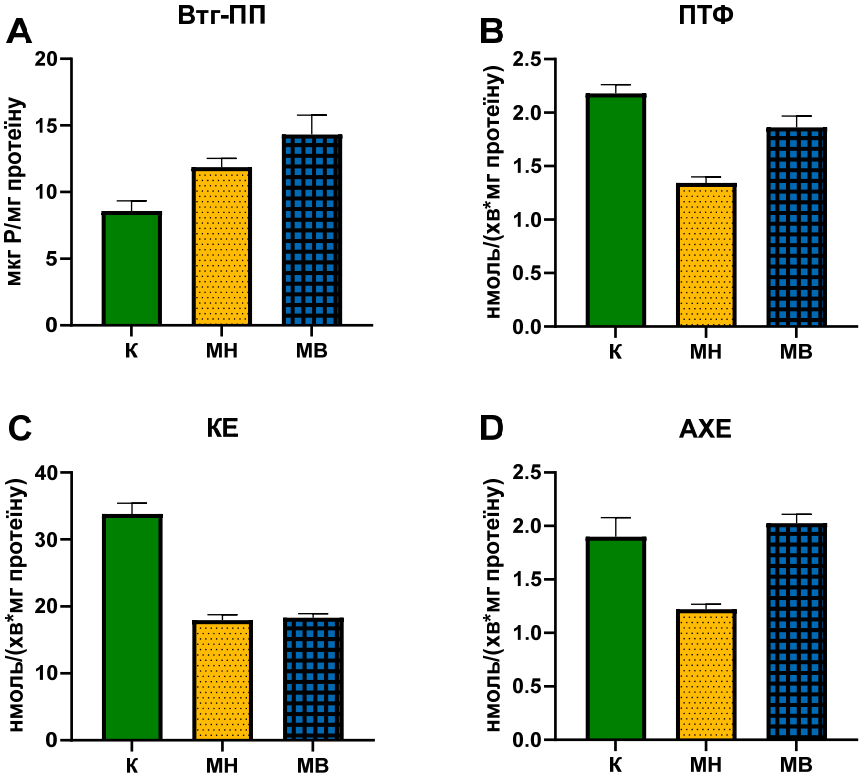

Рис. 2. Показники вмісту вітелогенін-подібних протеїнів у плазмі крові (А), активності протеїн-тирозин-фосфатази (В) і карбоксилестерази (С) у печінці та ацетилхолінестерази (D) у мозку даніо за дії низької (МН) та високої (МВ) концентрацій малатіону протягом 14 діб

(рис. 2 B-C). Активність АХЕ, як показника нейротоксичної дії, у групі, яка піддавалася впливу екологічно реальної концентрації малатіону, знизилася приблизно на третину (рис. 2 D).

Розвиток окисного стресу, який виникає як наслідок дисбалансу між продукуванням активних форм оксигену (АФО) та активністю антиоксидантних ензимів, є однією з неспецифічних реакцій організму на вплив пошкоджуючих чинників. Каталаза – локалізований в периксосомах ензим, який метаболізує H_2O_2 до молекулярного кисню і води – забезпечує першу лінію захисту клітин від АФО [6]. Роль глутатіонредуктази у діяльності антиоксидантної системи полягає у перетворенні окисненого глутатіону у відновлений стан з використанням НАДФН, таким чином підтримуючи високе внутрішньоклітинне співвідношення GSH/GSSG [17]. Зниження активності обох з цих ензимів, яке спостерігалося у нашому дослідженні, є свідченням пригнічення здатності клітини протидіяти окисному стресу [18]. Окрім того, за даними Жанг та ін. [19] пригнічення активності GR може бути пов'язано зі зміною доступності НАДФН в клітині. Одержані нами результати співвідносяться із попередньо отриманим даним щодо впливу пестицидів на коропових риб: зниження активності КАТ і GR спостерігали у *Danio rerio* за дії 50 та 200 мкг/л ізокарбофосу [20], в *Cyprinus carpio* – за дії 0,02, 0,2 та 2 мкг/л тербутрину [21], у *Carassius auratus* – за дії 5,7 та 71,4 мг/л зенкору [22].

Біологічні ефекти АФО, які накопичуються в клітинах у наслідок розвитку окисного стресу, обумовлюють широкий спектр змін і варіацій в залежності від типу клітин. Так, одним із виявлених впливів є модуляція сигнальних шляхів шляхом безпосередньої зміни активності протеїнкіназ і протеїнфосфатаз [23]. Протеїн-тирозинові-фосфатази є ключовими регуляторними компонентами в шляхах передачі сигналу і контролю клітинного циклу, тому зниження їх активності (рис 2B) негативно впливає на контроль росту, проліферацію, диференціацію, трансформацію та синаптичну пластичність клітин [23–24].

Також зазначимо, що малатіон, як один з інсектицидів класу органофосфатів, окиснюється цитохромами у печінці до електрофільних метаболітів (оксонів), які є високоефективними неспецифічними інгібіторами серинових гідролаз (наприклад, АХЕ та КЕ) [5, 15]. Ацетилхолінестераза гідролізує нейромедіатор ацетилхолін в нейронних і нервово-м'язових синапсах центральної і периферичної нервової системі, тому її інгібування призводить до надлишкового накопичення нейромедіатора у щілинах синапсів, тим самим порушуючи холінергічну передачу сигналів [16]. Протягом тривалого часу активність цього ензиму розглядалася як специфічний біомаркер впливу фосфорорганічних та карбаматних пестицидів [8], проте зараз дедалі частіше повідомляється про небезпеку зміни активності АХЕ за впливу ряду інших сполук: металів, поліциклічних ароматичних вуглеводнів, гербіцидів, ціанотоксинів, тощо [11, 25]. Водночас, в останні роки з'являються повідомлення про неспецифічну реакцію, як зростання активності, за дії певних концентрацій пестицидів. Так, наприклад, у личинок даніо цей показник збільшувався за експозиції 0,1 мкг/л діазинону, дихлофосу та малатіону [9]. Відтак, відсутність чіткої залежності між активністю АХЕ і концентрацією діючого чинника, отриманих у пропонованому дослідженні, зокрема, та специфічністю реакцій АХЕ мозку даніо за дії органофосфатів і їх діапазон загалом, вимагає більш детального вивчення та з'ясування механізмів регуляції цих процесів.

Пригнічення активності карбоксилестерази, яка бере участь у метаболізм I фази ксенобіотиків, призводить до зниження стійкості організмів у протидії полютантам та зменшення їх адаптивного потенціалу. Одержані нами результати відповідають літературним даним, які показують, що слідові, екологічно реальні концентрації пестицидів (напр. малатіон, діазинон, етопрофос) здатні суттєво знижувати активність даного ензиму у різних видів риб (*Danio rerio*, *Labeo rohita, Oncorhynchus kisutch*), особливо на стадії личинок [25–27].

Окрім цього, відомо, що фосфорорганічні пестициди, до яких належить малатіон, мають здатність імітувати дію статевих стероїдів та впливати на гіпоталамо-гіпофізарно-гонадну вісь, що відповідно призводить до порушення гаметогенезу. При цьому дія на самців і на самок відрізняється – у перших спостерігається регресія гонад, а в других – передчасний розвиток статевих залоз [28]. Типовим маркером впливу ксеноестрогенів є вітелогенін. Зростання його вмісту в крові самців *D. rerio* після впливу малатіону підтверджує здатність останнього спричиняти ендокринні порушення навіть за низьких, екологічно реальних концентрацій, а прямопропорційна залежність між концентраціями Втг-ПП і пошкоджуючих чинників – релевантність використання даного показника як біомаркера забруднення водного середовища пестицидами. Аналогічним чином, через зміни рівня вітелогеніну, даніо реагують й на інші гербіциди (раундап, атразин) [7, 29], інсектициди (хлорпірифос, циперметрин) [11, 28] та фунгіциди (азоксистробін, карбендазим) [30].

Головні висновки. Відтак можна зробити висновок, що незважаючи на відносно швидкий період розпаду та номіновану помірну токсичність, малатіон вже в екологічно реальних концентраціях викликає у смугастого даніо прояв ознак окисного стресу, ендокринних розладів та нейротоксичності, а також порушення системи детоксикації ксенобіотиків. При цьому залежність значення показників від концентрації діючого чинника, отриманих у нашому дослідженні, та огляд літератури дозволяє виокремити вміст вітелогенінподібних протеїнів та активність карбоксилестерази як найбільш чутливі індикатори

забруднення водойм малатіоном серед досліджуваних нами параметрів.

Перспективи використання результатів дослідження. Для більш глибшого і детальнішого з'ясування механізмів дії цього інсектициду пропонуються подальші дослідження гормонального профілю, нейротоксичності, наслідків окисних ушкоджень, а також їх перехресної взаємодії. Це стане вихідною інформацією для розробки попереджувальних стратегій зменшення небезпечного впливу малатіону на риб та припинення скорочення їх популяцій.

Подяка

Робота виконана за підтримки Національного фонду досліджень України (№ 2020.02/0270) та Міністерства освіти і науки (№ МВ-2).

Література

1. Ozsoy A.Z., Nursal A.F., Karsli M.F. Protective effect of intravenous lipid emulsion treatment on malathion-induced ovarian toxicity in female rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016. Vol. 20. P. 2425–2434.
2. National Pesticide Information Center. URL: http://npic.orst.edu/factsheets/malagen.html
3. Esen M., Uysal M. Protective effects of intravenous lipid emulsion on malathion-induced hepatotoxicity. *Bratisl Lek Listy*. 2018. Vol. 119. P. 373– 378. DOI: 10.4149/BLL_2018_069
4. Colovic M.B., Krstic D.Z., Lazarevic-Pasti T.D., Bondzic A.M., Vasic V.M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol*. 2013. Vol. 11(3). P. 315–335. DOI:10.2174/1570159X11311030006
5. Geng X., Shao H., Zhang Z. Malathion-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male *Wistar rats*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015. Vol. 39. P. 659–667. DOI: 10.1016/j. etap.2015.01.010
6. Ince S., Arslan-Acaroz D., Demirel H. H. Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. *Biomed Pharmacother*. 2018. Vol. 96. P. 263–268. DOI: 10.1016/j.biopha.2017. 09.141
7. Боднар О. І., Сенько С. В., Осипенко І. О., Хатіб І., Касянчук Н. М., Фальфушинська Г. І. Стан систем антиоксидантного захисту та прояви цитоксичності у смугастого даніо за впливу органофосфатних гербіцидів. *Наук. зап. Тернопіл. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол*. 2020. № 3–4. С. 34–41.
8. Kumar R., Nagpure N. S., Kushwaha B., Srivastava S. K., Lakra W. S. Investigation of the genotoxicity of malathion to freshwater teleost fish *Channa punctatus* (Bloch) using the micronucleus test and comet assay. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2009. Vol. 58(1). P. 123–130.
9. Sánchez-Santed F., Colomina M.T., Herrero Hernández E. Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. *Cortex*. 2016. Vol. 74. P. 417–426. DOI: 10.1016/j.cortex.2015.10.003
10. Glyphosate Herbicide Found in Many Midwestern Streams, Antibiotics Not Common. URL: https://toxics.usgs.gov/highlights/glyphosate02.html
11. Falfushynska H., Bodnar O., Khatib I., Kovalska H., Hulyk S. Zebrafish as a suitable model for studying the mode of action and harmfulness of organophosphate pesticides. *E3S Web Conf.* 2021. Vol. 280. P 11005. DOI: 10.1051/e3sconf/202128011005
12. Aebi H. Catalase. In: Bergmayer, H.U. (Ed.), Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, London. 1974, P. 671–684. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
13. Carlberg I., Mannervik B. Glutathione level in rat brain. *J Biol Chem*. 1975. Vol. 250. P. 4575.
14. Nagler J. J., Ruby S. M., Idler D. R., So Y. P. Serum phosphoprotein phosphorus and calcium levels as reproductive indicators of vitellogenin in highly vitellogenic mature female and estradiol-injected immature rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Zoology*. 1987. Vol. 65(10). P. 2421–2425. DOI: 10.1139/z87-365
15. McAvoy T., Nairn A. C. Serine/threonine protein phosphatase assays. *Protoc Mol Biol.* 2010. Vol. 18. P. 8. DOI: 10.1002/0471142727.mb1818s92
16. Ellman G. I., Courtney K. D., Andres V. jr., Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961. Vol. 7. P. 88–95. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
17. Lushchak V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat. Toxicol*. 2011. Vol. 101. P. 13–30.
18. Reddy J.K., Hashimoto T. Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system. *Annu Rev Nutr*. 2001 Vol. 21. P. 193–230. DOI: 10.1146/annurev.nutr.21.1.193
19. Zhang J. F., Wang X. R., Guo H. Y., Wu J. C., Xue Y. O. Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defences of the goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf*. 2004. Vol. 58. P. 110–116.
20. Jha A. N. Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. *Mutagenesis*. 2008. Vol. 23(3). P. 207–221.
21. Velisek, J., Stara, A., Kolarova, J., Svobodova, Z. Biochemical, physiological and morfological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after long-term exposure to terbutryn in real environmental concentration. *Pest. Biochem. Physiol*. 2011. Vol. 100. P. 305–313.
22. Maksymiv I. V., Husak V. V., Mosiichuk N. M., Matviishyn T.M., Sluchyk I.Y., Storey J. M., Storey K. B., Lushchak V. I. HepatotoXicity of herbicide Sencor in gold- fish may result from induction of mild oxidative stress. *Pest. Biochem. Physiol.* 2015. Vol. 122. P. 67–75.
23. Sattler M., Verma S., Shrikhande G., Byrne C.H., Pride Y.B., Winkler T., Greenfield E.A., Salgia R., Griffin J.D. The BCR/ABL tyrosine kinase induces production of reactive oxygen species in hematopoietic cells. *J Biol Chem*. 2000. Vol. 275(32). P. 24273-8. DOI: 10.1074/jbc.M002094200
24. Li H., Liu S., Hu Y., Zhao B., Sun Y., Xu D. Endosulfan promotes cell migration via PTP4A3-mediated signaling pathways in HUVECs. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020. Vol. 192. P. 110267. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110267
25. Schmitt C., McManus M., Kumar N., Awoyemi O., Crago J. Comparative analyses of the neurobehavioral, molecular, and enzymatic effects of organophosphates on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). *Neurotoxicol Teratol.* 2019. Vol. 73. P. 67–75. DOI: 10.1016/j.ntt.2019.04.002

26. Karmakar S., Patra K., Jana S., Mandal D. P., Bhattacharjee S. Exposure to environmentally relevant concentrations of malathion induces significant cellular, biochemical and histological alterations in Labeo rohita. *Pestic Biochem Physiol.* 2016. Vol. 126. P. 9–57. DOI: 10.1016/j.pestbp.2015.07.006
27. Laetz C. A., Baldwin D. H., Hebert V. R., Stark J. D., Scholz N. L. Elevated temperatures increase the toxicity of pesticide mixtures to juvenile coho salmon. *Aquat Toxicol*. 2014. Vol. 146. P. 38–44. DOI: 10.1016/j.aquatox.2013.10.022
28. Guo D., Liu W., Yao T., Ma M., Wang Q., Qiu J., Qian Y. Combined endocrine disruptive toxicity of malathion and cypermethrin to gene transcription and hormones of the HPG axis of male zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 2021. Vol. 267. P. 128864. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128864
29. Walker B.S., Kramer A.G., Lassiter C.S. Atrazine affects craniofacial chondrogenesis and axial skeleton mineralization in zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicol Ind Health.* 2018. Vol. 34(5). P. 329–338. DOI: 10.1177/0748233718760419
30. Jiang J., Shi Y., Yu R., Chen L., Zhao X. Biological response of zebrafish after short-term exposure to azoxystrobin. *Chemosphere*. 2018. Vol. 202. P. 56–64. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.03.055