

УДК 574.3:591.5:592

І.М. КОНОВЕЦЬ, к. б. н., ст. наук. співроб., зав. лаб.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: i.m.konovets@gmail.com
ORCID 0000-0003-4234-5026

В.І. ЮРИШИНЕЦЬ, д. б. н., голов. наук. співроб., проф.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: ciliator@ukr.net
ORCID 0000-0001-6310-7874

Л.С. КІПНІС, к. б. н., ст. наук. співроб., ст. наук. співроб.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ, 04210, Україна
e-mail: ecos_inhydro@ukr.net
ORCID 0000-0002-4008-5120

О.В. РОМАНЕНКО, акад. НАН України, д. б. н., проф., зав. каф.,
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
просп. Берестейський, 34, Київ, 03057, Україна
e-mail: bio.dep.nmu@gmail.com
ORCID 0000-0002-8622-1757

ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ВОДЯНИХ БЕЗХРЕБЕТНИХ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ КРИТЕРІЙ ВИЯВЛЕННЯ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ (ОГЛЯД)¹

Проведено аналіз сучасних підходів щодо використання поведінкових реакцій гідробіонтів як тест-критерію встановлення токсичності у системах контролю якості води та біотестуванні. Показники, що характеризують зміни їхньої поведінки, мають ряд суттєвих переваг порівняно з класичними летальними і сублетальними токсикологічними тест-критеріями завдяки короткому терміну прояву ефекту, високій чутливості, здатності виявляти низькі концентрації токсикантів, нелетальності для тест-організмів та ін. Рухову активність гідробіонтів (риб, ракоподібних) успішно застосовано у практиці безперервного контролю якості води — системах біологічного раннього попередження в режимі реального часу (re-

¹ Роботу виконано за підтримки Національного фонду наукових досліджень України — Проект 2023.04/0045 «Розробка уніфікованої тест-системи для оцінки токсичності та ідентифікації класу забруднюючих речовин, що потрапляють у водні об'єкти внаслідок воєнних дій».

Ц и т у в а н н я: Коновець І.М., Юришинець В.І., Кіпніс Л.С., Романенко О.В. Поведінкові реакції водяних безхребетних як перспективний критерій виявлення токсичного впливу (огляд). *Гідробіол. журн.* 2025. Т. 61, № 3. С. 86—101.

al-time biological early warning systems, BEWS), які впроваджено водним менеджментом багатьох країн світу.

Показано, що рухова активність гіллястовусих ракоподібних достовірно змінюється у відповідь на присутність у водному середовищі широкого спектра речовин (фармацевтичні препарати, токсини синьозелених водоростей, важкі метали, ксенобіотики та ін.). Дослідження показали можливість застосування як поведінкових тест-критеріїв таких показників рухової активності як тривалість плавання, швидкість плавання, подолана відстань, частота рухів кінцівками, кількість поворотів, кут повороту, час відпочинку, тривалість спокою та ін.

Використання штучного інтелекту (комп'ютерні моделі глибокого навчання на основі штучних нейронних мереж) пропонується для аналізу великих наборів даних щодо поведінки тест-організмів та виявлення патернів, специфічних до дії певних токсикантів та ідентифікації чинників токсичності.

Ключові слова: поведінкові реакції, тест-критерій, токсичність, біотестування, водяні безхребетні.

Антропогенне забруднення навколишнього середовища носить глобальний характер, а його прояви та впливи спостерігаються повсюдно на регіональному та локальному рівнях. Комплексний хімічний моніторинг усіх хімічних речовин, які використовує людство (близько 100 тисяч хімічних речовин використовуються щодня, а понад 50 мільйонів хімічних речовин відомі та зареєстровані, зокрема, у реєстрах Хімічної Реферативної Служби — Chemical Abstracts Service, CAS) разом із продуктами їхньої трансформації неможливий, а також не достатньо дієвий через брак даних про вплив кожної речовини на живих істот.

Оцінити комплексний вплив різноманітних забруднювальних речовин за рівнем токсичності дозволяє використання методології та методів біотестування: встановлення токсичності для живих організмів певних середовищних матриць, яке ґрунтується на реєстрації змін того чи іншого біологічного показника (фізіологічного, біохімічного, цитогенетичного тощо) або виявленні смертельної (летальної) дії на тест-об'єкти або тест-культури. Головні переваги цього підходу полягають у його відносній простоті та доступності, відсутності потреби у складному устаткуванні та вартісних реактивах, високій чутливості належно підібраних і утримуваних тест-організмів.

Традиційні тести на токсичність потребують достатньо тривалого періоду спостережень у випадку, коли оцінюються низькі концентрації токсичних речовин, оскільки хронічні тести зазвичай використовують за критерій впливу сублетальні ефекти (вплив на ріст, відтворення тощо). Тому одним із важливих завдань сучасної методології біотестування є скорочення тривалості тестів без зменшення надійності виявлення негативного впливу. Особливо це важливо за кризових умов, зокрема ворожих загарбницьких воєнних дій, прикладом яких є війна РФ проти України. Одним із можливих шляхів підвищення швидкості виявлення токсичного впливу є використання рухових реакцій тест-організмів як експрес-тесту.

Ще одним важливим та дотичним завданням, де можуть бути використані поведінкові реакції гідробіонтів, є моніторинг якості поверхне-

вих вод та швидке виявлення їхнього забруднення на основі розробки біологічних систем раннього попередження в режимі реального часу (*real-time biological early warning systems, BEWS*) як невід'ємна складова охорони здоров'я людини, підтримки сталого економічного розвитку та прогнозування впливу забруднювачів на водні екосистеми [15].

Метою цієї роботи стало узагальнення сучасних уявлень про застосування поведінкових реакцій гідробіонтів як тест-критерію встановлення токсичності у системах контролю якості води та біотестуванні.

Поведінкові реакції можна розглядати як реакцію тварин на вплив певного зовнішнього подразника, яка виявляється за допомогою спостереження. Крім абіотичних та біотичних чинників, таких як зміни температури, освітлення, присутність хижаків, наявність їжі тощо, зміни поведінкових реакцій можуть бути пов'язані з антропогенним впливом на екосистеми, включно із забрудненням водних екосистем токсичними речовинами. Відомо, що поведінка будь-якого виду живих істот є адаптивною, її особливості, інтенсивність і час прояву можуть змінюватись в межах генетично зумовленого діапазону толерантності. Отже, поведінка є важливим механізмом реагування та адаптації до змін у навколишньому середовищі, зокрема до впливу забруднювачів [22].

Вивчення змін у поведінці, викликаних впливом забруднювальних речовин, є невід'ємною частиною етології (біхейвірології — поведінкової науки), яку запропоновано назвати поведінковою екотоксикологією. Перевагами поведінкових тест-критеріїв є короткий час реагування, неінвазивність, екологічна значущість, можливість аналізу відповіді у часі (*time-to-response, TTR*), що дозволяє використовувати більш чутливі та інформативні показники порівняно з фіксованими у часі ($ЛК_{50}$) [29].

Доцільність та переваги використання поведінкових реакцій як інструменту для оцінки токсичного впливу забруднювальних речовин на водні організми були підтверджені шляхом проведення комплексного мета-аналізу, суть якого полягала у порівнянні чутливості і тривалості досліджень поведінкових реакцій з дослідженнями, де тест-критеріями були смертність організмів та показники розвитку і розмноження [46]. Констатуючи безсумнівну важливість загальноприйнятих показників для повного розуміння впливу токсичних речовин на гідробіонтів на організмовому і популяційному рівнях, автори наголошують на цінності поведінкових критеріїв, оскільки вони надають змогу у порівняно короткий час отримати достовірні результати за чутливими показниками.

Біологічні системи раннього попередження в режимі реального часу (real-time biological early warning systems, BEWS). Технологічний прогрес сприяв активному розвитку автоматизованих систем контролю певних фізико-хімічних показників води. Автоматизовані та багатопараметричні системи хімічного зондування, які в режимі реального часу здатні вимірювати такі стандартні показники гідрохімічного режиму як рН, каламутність, вміст деяких аніонів та катіонів, розчиненого кисню, загального органічного вуглецю, свого часу були розгорнуті в багатьох країнах Європи, Азії та Сполучених Штатах [15, 32]. Однак сучасний рівень роз-

витку аналітичних методів газової і рідинної хроматографії і спектрометрії не дає можливості повною мірою виконувати контроль хімічного стану поверхневих вод в режимі реального часу, навіть попри високу вартість та ресурсоемність подібного моніторингу [15, 33].

Одним із перспективних шляхів у цьому напрямі, який активно розвивається, є застосування біосенсорів, зокрема використання генетично модифікованих бактеріальних клітин як розпізнавального елемента для оптоелектронних біосенсорів. Вважається, що у поєднанні з новими технологіями і мініатюрною оптоелектронікою генетично модифіковані бактерії можуть використовуватись у системах швидкої детекції, де рекомбінантні клітини випромінюють флуоресцентне або люмінесцентне світло у відповідь на присутність цільового токсиканта [17]. Проте більшість біосенсорів все ще обмежені, як правило, одним цільовим аналітом, а також необхідністю заміни чутливих елементів після детекції або біооб'ростання.

Ще одним шляхом доповнення традиційних підходів до оцінки якості води стали біологічні системи раннього попередження на основі реєстрування змін поведінкових та/або фізіологічних характеристик чутливих водяних тварин [31, 32]. Перші концептуальні електронні BEWS були запропоновані в 70-х роках ХХ ст. на основі транзисторних систем та використовували поведінкові і фізіологічні реакції риб (локомоція, електроміографія, зміни об'єму газообміну та дихального тиску) як тест-критерії виявлення токсичності промислових стічних вод в режимі реального часу [15]. Такі системи були запроваджені у багатьох країнах світу, проте були виведені з експлуатації у 80-х роках, через технологічну застарілість, недосконалість електронного збору даних, автоматизації та високі витрати на обслуговування і підтримку їхньої безперервної роботи [30]. А втім, в останні роки спостерігається розробка нового покоління систем контролю на основі сучасних підходів до реєстрації та аналізу отриманих даних.

Зміни поведінкових параметрів виявилися чутливим критерієм сублетального впливу, здатним розширити можливості моніторингу [29, 31, 34]. Поведінкові реакції таких організмів, як риби, ракоподібні та молюски, можна з достатньою точністю відстежувати в режимі реального часу за допомогою сучасних електронних засобів, при цьому такі реакції часто передують розладам фізіологічного стану, прояву вад у розвитку або зменшенню темпів розмноження [34]. Переваги BEWS, що використовують аналіз поведінкових реакцій в реальному часі, полягають у можливості безперервного моніторингу та раннього попередження про зміни параметрів якості води [43]. Важливо зазначити, що тест-організми виявляють і попереджають про наявність хімічних речовин, які не включені в стандартні схеми аналітичних вимірювань або мають неприйнятно високі межі виявлення [43]. Показано, що використання поведінкових реакцій уможливорює визначення впливу певних токсикантів у концентраціях, близьких до порогових величин їхнього аналітичного виявлення [29].

Відстеження тварин з використанням комп'ютерної обробки цифрових відеозаписів на сьогодні є провідним підходом у вивченні поведінкових реакцій в екотоксикологічних та етологічних дослідженнях, який включає кілька незалежних етапів: відеозапис, програмне відстеження траєкторії руху тварин та аналіз даних [15, 35, 36].

Основні проблеми цієї методології пов'язані з необхідністю одночасного отримання цифрового відеопотоку, відстеження тварин і виявлення значимих змін поведінкових індикаторів впливу (таких як, наприклад, середня швидкість, прискорення, кількість поворотів тощо) в режимі реального часу [15]. Крім того, відстеження тварин у більшості досліджень здійснюється лише у двовимірному просторі, що не дозволяє використовувати тривимірні траєкторії руху. Вважається, що тривимірна візуалізація може виявити набагато складніші патерни поведінкових реакцій порівняно з двовимірною [6].

Переваги використання риб як тест-організмів у системах BEWS полягають у відносній простоті їхнього утримання, доступності, можливості обрати малорозмірні види та тривалому життєвому циклу. Складність нервової системи риб дозволяє фіксувати їхні специфічні реакції на дію більшості промислових забруднювачів [28]. Крім риб, гіллястовусі ракоподібні є іншою таксономічною групою, представники якої найчастіше використовуються з цією метою [6]. Прикладом успішної комерційної розробки у цьому напрямку є портативний пристрій DaphTox II (DaphniaToximeter II) німецької компанії bbe Moldaenke [21], який використовує високу чутливість гіллястовусих ракоподібних *Daphnia magna* до змін якості води [6, 15]. DaphTox II аналізує поведінку дафній, які утримуються у скляній проточній камері об'ємом 30 мл, за допомогою горизонтально розташованої цифрової камери з високою роздільною здатністю. Однокамерна система може бути модернізована до двокамерної, де одна з камер слугуватиме негативним або позитивним контролем. DaphTox II може безперервно відстежувати рухову активність десяти особин протягом більше семи діб, використовуючи метод контрастного відстеження [15, 44]. Для розрахунку інтегрального поведінкового критерію впливу аналізуються такі параметри, як середня швидкість, відстань між організмами, висота плавання, розподіл у камері, кількість поворотів і обертань [44]. Завдяки своїй чутливості та успішній валідації цей метод також широко впроваджений для виявлення токсичних речовин у країнах Європи, США, Канаді, Кореї та Китаї з численним спектром застосувань (моніторинг дамб, тестування зворотних стічних вод, оцінка стану водних шляхів, онлайн-моніторинг забірної і питної води) [15]. Проте успішне використання систем BEWS потребує і розуміння обмежень, які накладає цей підхід (таблиця).

Використання поведінкових реакцій представників Cladocera у еко-токсикологічних дослідженнях. Проведений нами аналіз публікаційної активності свідчить про незмінне зростання зацікавленості міжнародної наукової спільноти у дослідженнях поведінкових реакцій гіллястовусих ракоподібних за змін екологічних чинників середовища. На рисунку 1

Таблиця

Переваги і недоліки біологічних систем раннього попередження (BEWS) [15]

Переваги	Недоліки
<ul style="list-style-type: none"> - безперервне вимірювання параметрів якості води в режимі реального часу; - висока чутливість за умов адекватного підбору тест-організмів і тест-критеріїв відповідно до стратегії застосування; - одночасний аналіз багатьох параметрів; - можливість досягнення високого рівня автоматизації; - простота експлуатації, мінімальна необхідність у втручанні людини; - невисока вартість обслуговування і поточного ремонту, особливо у порівнянні зі складними спектрометричними аналітичними системами; - гнучкість з точки зору стратегії застосування: у разі використання тест-організмів з тривалим життєвим циклом (риби, молюски) можливі як лабораторні, так і польові технічні рішення; - можливість живлення від акумуляторних пристроїв, що забезпечує значну автономність під час відключень електрики; - можливість використання декількох видів тест-організмів 	<ul style="list-style-type: none"> - відсутність специфічності стосовно типу забруднення та концентрації забруднювальних речовин; - необхідність періодичної заміни тест-організмів в разі обмеженої тривалості життя (дафнії — тиждень, риби — до чотирьох тижнів, молюски — до трьох місяців); - поріг виявлення небезпеки визначається чутливістю і часом відповіді тест-організмів, на що може впливати низка чинників (фізико-хімічні характеристики води, доступність і якість їжі, захворювання та ін.); - потреба у годівлі та стандартизації цієї процедури; - чутливість тест-організмів до активного хлору води у разі моніторингу якості хлорованої питної води; - необхідність розробки уніфікованих еталонних стандартів при дослідженні поведінкових реакцій

представлено результати пошуку наукових публікацій у провідній міжнародній реферативній базі даних Web of Science Core Collection (1970—2025 рр.) за запитом $TS=(behavior) AND TS=(daphnia OR cladocera)$.

Аналіз ступеня зв'язку між ключовими словами у цих публікаціях (2509 записів) показує, що вивчення поведінки гіллястовусих ракоподібних (вузли «Cladocera» та «поведінка») були пов'язані головним чином з двома напрямками досліджень — екологічним та токсикологічним (рис. 2).

Перший включав в себе такі питання як поведінкові реакції гіллястовусих ракоподібних за зміни абіотичних і біотичних чинників середовища, включно із взаємодією Cladocera (як компоненти зоопланктону) з іншими трофічними рівнями в світлі базових біологічних концепцій (еволюція, фенотипічна пластичність, відбір, трофічні рівні). Можна відмітити, що протягом останніх двадцяти років відбувся певний зсув зацікавленості з екологічних аспектів до токсикологічних. Поведінкові реакції все частіше розглядаються як перспективний інструмент в екоотоксикологічних дослідженнях для швидкого визначення сублетальної дії токсичних речовин різної природи.

(придатків), які також відіграють важливу роль у диханні. Оскільки активність грудних кінцівок може змінюватися під впливом різних стресових чинників, її запропоновано використовувати як фізіологічний критерій впливу [5]. Ще одним показником, який чутливо реагує на вплив різноманітних чинників, є частота скорочень серця та проективна площа під час систоли та діастоли [6]. Можливість використання як індикаторів рухів інших частин тіла цих планктонних ракоподібних (око, постабдомінальний кігтик, мандибули) досліджена менше, проте показано, що їх застосування цілком можливе завдяки аналізу цифрового зображення, отриманого за допомогою мікроскопічної техніки [6, 37].

Плавальна поведінка — це широкий термін, що охоплює різні прояви плавальної активності. Аналіз параметрів руху *Daphnia magna* є новим перспективним методологічним підходом в галузі екологічної токсикології [6, 15, 29, 46, 52, 56, 59].

Встановлено, що рухові параметри *Daphnia magna* є чутливим біомаркером впливу хімічних речовин різної природи: серед іншого, важких металів [51, 58], пестицидів [8, 10, 14, 23, 26, 39, 53, 61], нейротоксинів ціанобактерій [9], фармацевтичних препаратів, продуктів персональної гігієни, речовин, що порушують роботу ендокринної системи [2, 4, 7, 8, 11—13, 24, 41, 49], природних і синтетичних барвників [1], наночасток і мікропластику [45, 47, 50].

Серед параметрів, які широко використовуються для дослідження рухової активності, є час плавання, швидкість плавання, частота рухів антенами, горизонтальний і вертикальний розподіл організмів, подолана відстань, кількість поворотів, кут повороту, час відпочинку, тривалість спокою, скупчення, обертання та інші [6]. Наведений перелік свідчить про те, що дослідження рухової активності *Daphnia magna* за дії забруднювальних речовин надає широкий спектр показників, які в інтегрованому вигляді можуть бути цінним тест-критерієм для оцінки впливу токсичних речовин у екоотоксикологічному аспекті.

Показник часу плавання (тривалість періоду, протягом якого дафнія зберігає рухливість) досить легко фіксується неозброєним оком, тому вже довгий час використовується при визначенні токсичних властивостей забруднювальних речовин різної хімічної природи (тест на іммобілізацію). Важливо зазначити, що вплив деяких фармацевтичних препаратів, зокрема агоністів дофамінових рецепторів, також призводить до скорочення тривалості плавання [4].

Швидкість плавання — один з найпоширеніших параметрів оцінки плавальної поведінки дафній. У подібних дослідженнях швидкість розглядають як векторну величину, яка характеризується певним значенням і напрямком. Рух дафній не є постійним, виділяють дві моделі плавальної поведінки дафній [48], описані як стрибкоподібний та швидкий неперервний рух. Зазвичай плавання дафній характеризується періодичними «стрибками і зануреннями» завдяки силовим рухам других антен, які надають їм швидкого прискорення, після чого настає фаза занурення. При такому типі плавання показник швидкості зазвичай не перевищує

10 мм/с. Інший тип плавання — швидкий неперервний рух — подібний до стрибкоподібного плавання, але без фази занурення, при цьому швидкість перевищує 10 мм/с [48]. Як правило, періоди прискореного руху чергуються з уповільненими [6]. Із збільшенням інтенсивності освітлення швидкість руху дафній зростає, проте дослідження з помірним світлом дозволяють краще розрізнити індивідуальні реакції організмів за впливу біологічно активних речовин [54]. Встановлено, що швидкість плавання залежить від розміру організмів. Дафнії більших розмірів рухаються швидше і протягом довших проміжків часу порівняно з меншими особинами [25, 40]. Залежно від напрямку у тривимірному просторі можна розрізнити швидкість плавання при горизонтальному, висхідному та низхідному русі [49]. Цей параметр було успішно застосовано для тестування деяких фармацевтичних препаратів, включно з антибіотиками [11, 49]. Встановлено стійкий взаємозв'язок між швидкістю руху і активністю ферменту ацетилхолінестерази у дослідях з її прямими і непрямими інгібіторами [53]. Аналіз літератури свідчить про те, що за впливу речовин токсичної дії (важкі метали, пестициди) швидкість плавання дафній має стійку тенденцію до зниження, що позначається також на зменшенні подоланої відстані [6]. Виключення можуть становити реакції на помірні концентрації токсикантів у короткочасових експозиціях, коли організми збільшують рухову активність для уникнення шкодочинної дії.

Відмічено достовірні зміни у відстані, яку долають піддослідні тварини протягом певного часу (подолана відстань) під впливом різних чинників [6]. Наприклад, виявлено зменшення цього показника за дії токсинів синьозелених водоростей та опромінення ультрафіолетом [27, 40]. Вплив деяких антибіотиків також призводив до збільшення часу, протягом якого дослідні тварини перебували у стані спокою [49].

Ще одним параметром плавальної активності, який успішно використовується у тестуванні токсичних речовин і фармацевтичних препаратів, є загальна кількість стрибків за певний проміжок часу, адже саме завдяки різким періодичним рухам антен пересуваються гіллястовусі ракоподібні. Важливою особливістю цього тест-критерію є те, що він меншою мірою залежить від розмірів особин, при цьому різні токсиканти можуть змінювати частоту стрибків протилежним чином [6, 57]. Перспективним тест-критерієм вважають також зміни напрямку руху дафній. Встановлено, що кількість поворотів та кут повороту змінюються не тільки у відповідь на екологічні чинники (кількість їжі, наявність хижаків тощо), але є також індикатором впливу речовин токсичної дії [20, 62].

Одним з важливих і перспективних напрямків використання поведінкових реакцій гіллястовусих ракоподібних у екоотоксикологічних дослідженнях є виявлення подібності змін параметрів рухової активності за дії певних класів забруднювачів, оскільки речовини зі спільними метаболічними та/або структурними мішенями в організмі викликатимуть, імовірно, подібні фізіологічні реакції. Проте література з цього питання вкрай обмежена, а дані суперечливі. У роботі [61] стверджується, що за такими показниками руху *Daphnia magna* як загальний подоланий шлях

та зміни напрямку (куту) траєкторії плавання можна достовірно розрізнити вплив речовин інсектицидної дії з різним механізмом дії, а саме — речовин-прототипів інсектицидів класу неонікотиноїдів (фізостигмін, нікотин) та інсектицидів-інгібіторів ацетилхолінестерази (хлорпірифос, імідаклопрід). Дослідження середньої швидкості руху *D. magna* за дії ширшого спектру речовин — сполук наркотичної дії (етанол, ізопропанол), інгібіторів ацетилхолінестерази (трихлорфон, карбофуран), агоніста рецептора ацетилхоліну (імідаклопрід), агоніста і антагоніста рецептора ГАМК (абамектин і фіпроніл), регуляторів натрієвих каналів (есфенвалерат, циперметрин), алкалоїду (кофеїн), психотропного засобу (сертралін) та купруму сульфату — не виявили специфічних поведінкових патернів токсичної дії за цим показником, хоча спостерігались певні концентраційні і часові залежності [19].

Хоча можливість використання базових, усереднених параметрів руху з метою достовірного виявлення стресового стану у гіллястовусих ракоподібних у несприятливому середовищі не викликає сумніву, ідентифікація специфічних чинників токсичної дії за поодинокими параметрами має значні обмеження. Вони зумовлені тим, що прояви фізіологічних та поведінкових ефектів токсичного впливу мають досить складні концентраційно-часові взаємозв'язки.

Існує думка про те, що використання штучного інтелекту може стати цінним інструментом при дослідженні поведінкових реакцій гідробіонтів. Деякі моделі машинного навчання успішно використовуються для видалення перешкод і автоматичного віднімання фону при аналізі траєкторій руху [16, 42]. Але найперспективнішим напрямом досліджень є використання штучних нейронних мереж з метою ідентифікації речовин, що чинять токсичну дію. Гіллястовусі ракоподібні є досить високоорганізованими організмами і мають достатньо складні механізми фізіолого-біохімічної реакції на різноманітні подразники. Їхня поведінка є складною сукупністю фізіолого-біохімічних реакцій за участю сенсорної, нервової, м'язової та інших систем, тому вважається, що ці організми можуть виявляти унікальні патерни локомоторних траєкторій у відповідь на вплив хімічних речовин з різним механізмом токсичної дії [18].

Для аналізу великих наборів даних, до яких можна віднести і чисельний опис рухової активності гіллястовусих ракоподібних, останнім часом широко використовуються комп'ютерні моделі глибокого навчання (deep learning model) на основі штучних нейронних мереж (artificial neural network), тренування яких проходить на великих масивах даних без втручання людини. Як правило, такі моделі мають три або більше рівнів «нейронів», об'єднаних певним чином у мережі, спрямовані на пошук характерних послідовностей у даних [3].

Автори дослідження [18] провели машинний аналіз великої кількості локомоторних траєкторій *Daphnia magna* з використанням низки моделей глибокого навчання на основі конволюційних нейронних мереж, які знаходять широке застосування для аналізу візуальних даних. При використанні моделі ResNet50 вдалося досягти 87,3 %-вої точності при іден-

тифікації чинників токсичної дії, серед яких досліджувалося 117 хімічних речовин різних класів (важкі метали, пестициди, антипірени, пластифікатори та ін.). Автори цього дослідження вважають, що їм вдалося запропонувати недорогий, ефективний та «екологічно чистий» метод *in vivo* ідентифікації забруднювачів води із застосуванням моделей глибокого навчання. Проте, незважаючи на безсумнівну перспективність, метод мав певні обмеження, оскільки вплив не всіх хімічних речовин характеризується унікальними патернами руху *D. magna* і локомоторні реакції у відповідь на дію деяких з них були схожими. Також цей метод не враховував сумісної дії кількох хімічних речовин [18].

Таким чином, моделі глибокого машинного навчання є цінним інструментом для виявлення тих закономірностей у даних, що приховані від розкриття за допомогою традиційних аналітичних підходів. За нашим переконанням, поєднання методів виявлення особливостей поведінкових реакцій водяних безхребетних у токсичному середовищі з підходами TIE (Toxicity Identification Evaluation), спрямованими на ідентифікацію чинника токсичності шляхом проведення певних маніпуляцій зі зразком води [60], може бути вкрай корисним, оскільки дозволить суттєво скоротити час і сприятиме підвищенню чутливості при проведенні подібних досліджень, а також дозволить усунути певну невизначеність при інтерпретації рухової активності за впливу складних сумішей забруднювальних речовин.

Висновки

Зміни у поведінці тварин, викликані дією несприятливих чинників оточуючого середовища (зокрема — речовинами токсичної дії), пропонується застосовувати як ефективні та чутливі критерії встановлення впливу. Використання параметрів рухової активності дозволяє суттєво скоротити час, необхідний для виявлення гострої токсичної дії хімічних речовин, стічних і поверхневих вод, донних відкладів, а також реєструвати вплив нижчих концентрацій токсичних речовин порівняно зі стандартними летальними тест-критеріями (смертність, іммобілізація).

Рухову активність гідробіонтів (риб, ракоподібних) успішно застосовано у практиці безперервного контролю якості води — системах біологічного раннього попередження в режимі реального часу (real-time biological early warning systems, BEWS), які впроваджено водним менеджментом багатьох країн світу. Параметри руху гідробіонтів (риб та безхребетних) використано у біотестуванні токсичності хімічних речовин різної природи, встановлено особливості змін локомоторної активності у відповідь на токсичну дію.

Успішно розвиваються методи біотестування з використанням параметрів руху гіллястовусих ракоподібних (насамперед, *Daphnia magna*). Умови визначення цих параметрів піддаються нормуванню та стандартизації, а самі параметри виражаються чисельними показниками, які можуть бути оброблені за допомогою загальноприйнятих статистичних методів. Дані свідчать про те, що якісні та кількісні зміни у параметрах руху

гіллястовусих ракоподібних можуть бути використані у підходах ТІЕ (оцінки ідентифікації токсичності) для води та донних відкладів та стати додатковою доказовою ланкою при виявленні чинників токсичної дії.

Використання штучного інтелекту (комп'ютерні моделі глибокого навчання, штучні нейронні мережі) пропонується для аналізу великих наборів даних щодо поведінки тест-організмів та виявлення патернів, специфічних до дії певних токсикантів, та ідентифікації чинників токсичності.

Список використаної літератури

1. Abe F.R., Machado A.L., Soares A.M.V.M. et al. Life history and behavior effects of synthetic and natural dyes on *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 2019. Vol. 236. 124390.
2. Alla L.N.R., Monshi M., Siddiqua Z. et al. Detection of endocrine disrupting chemicals in *Danio rerio* and *Daphnia pulex*: Step-one, behavioral screen. *Chemosphere*. 2021. Vol. 271. 129442.
3. Alvi F. Deep learning model training checklist: essential steps for building and deploying models. 2024. [Електронний ресурс]. Режим доступу <https://opencv.org/blog/deep-learning-model-training/>.
4. Barrozo E.R., Fowler D.A., Beckman M.L. Exposure to D2-like dopamine receptor agonists inhibits swimming in *Daphnia magna*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2015. Vol. 137. P. 101—109.
5. Bownik A. Clove essential oil from *Eugenia caryophyllus* induces anesthesia, alters swimming performance, heart functioning and decreases survival rate during recovery of *Daphnia magna*. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 2015. Vol. 15. P. 157—166.
6. Bownik A. *Daphnia* swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review. *Sci. Total Environ.* 2017. Vol. 601—602. P. 194—205.
7. Bownik A., Jasieczek M., Kosztowny E. Ketoprofen affects swimming behavior and impairs physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Sci. Total Environ.* 2020. Vol. 725. 138312.
8. Bownik A., Kowalczyk M., Banczerowski J. Lambda-cyhalothrin affects swimming activity and physiological responses of *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 2019. Vol. 216. P. 805—811.
9. Bownik A., Pawlik-Skowronska B. Early indicators of behavioral and physiological disturbances in *Daphnia magna* (Cladocera) induced by cyanobacterial neurotoxin anatoxin-a. *Sci. Total Environ.* 2019. Vol. 695. Art. 133913.
10. Bownik A., Pawlocik M., Sokolowska N. Effects of neonicotinoid insecticide acetamiprid on swimming velocity, heart rate and thoracic limb movement of *Daphnia magna*. *Pol. J. Nat. Sci.* 2017. Vol. 32, N 3. P. 481—493.
11. Bownik A., Slaska B., Bochra J. et al. Procaine penicillin alters swimming behaviour and physiological parameters of *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2019. Vol. 26, N 18. P. 18662—18673.
12. Bownik A., Slaska B., Dudka J. Cisplatin affects locomotor activity and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *J. Hazard. Mater.* 2020. Vol. 384. 121259.
13. Bownik A., Sokołowska N., Slaska B. Effects of apomorphine, a dopamine agonist, on *Daphnia magna*: Imaging of swimming track density as a novel tool in the assessment of swimming activity. *Sci. Total Environ.* 2018. Vol. 635. P. 249—258.
14. Bownik A., Szabelak A. Short-term effects of pesticide fipronil on behavioral and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021. Vol. 28, N 25. P. 33254—33264.
15. Bownik A., Wlodkowic D. Advances in real-time monitoring of water quality using automated analysis of animal behaviour. *Sci. Total Environ.* 2021. Vol. 789. 147796.

16. Bruijning M., Visser M.D., Hallmann C.A., Jongejan E. *trackdem*: Automated particle tracking to obtain population counts and size distributions from videos in R. *Methods Ecol. Evol.* 2018. Vol. 9, N 4. P. 965—973.
17. Campana O., Wlodkowic D. Ecotoxicology goes on a chip: embracing miniaturized bioanalysis in aquatic risk assessment. *Environ. Sci. Technol.* 2018. Vol. 52, N 3. P. 932—946.
18. Cheng Sh., Yuan S., Wu X. et al. Identification of chemicals based on locomotor tracks of *Daphnia magna* using deep learning. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 2023. Vol. 10, N 11. P. 998—1003.
19. Chevalier J., Harscoet E., Keller M. et al. Exploration of *Daphnia* behavioral effect profiles induced by a broad range of toxicants with different modes of action. *Environ. Toxicol. Chem.* 2015. Vol. 34, N 8. P. 1760—1769.
20. Christensen B.T., Lauridsen T.L., Ravn H.W., Bayley M. A comparison of feeding efficiency and swimming ability of *Daphnia magna* exposed to cypermethrin. *Aquat. Toxicol.* 2005. Vol. 73. P. 210—220.
21. DaphniaToximeter II. Biomonitoring using *Daphnia*. bbe Moldaenke GmbH [Електронний ресурс]. Режим доступу <https://www.bbe-moldaenke.de/en/products/toxicity/details/daphtox-II.html>.
22. Dell’Omo G. Behavioural Ecotoxicology. UK: Wiley. 2002. 463 p.
23. Di Nica V., Rizzi C., Finizio A. et al. Behavioural responses of juvenile *Daphnia magna* to two organophosphorus insecticides. *Int. J. Limnol.* 2022. Vol. 81. 2015.
24. Dionisio R., Daniel D., de Alkimin G.D., Nunes B. Multi-parametric analysis of ciprofloxacin toxicity at ecologically relevant levels: Short- and long-term effects on *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2020. Vol. 74. 103295.
25. Dodson S., Ramcharan C. Size-specific swimming behavior of *Daphnia pulex*. *J. Plankton Res.* 1991. Vol. 13. P. 1367—1379.
26. Egan N., Stinson S.A., Deng X. et al. Swimming behavior of *Daphnia magna* is altered by pesticides of concern, as components of agricultural surface water and in acute exposures. *Biology.* 2023. Vol. 12, N 3. 425.
27. Ferrao-Filho A.S., Soares M.C., Lima R.S., Magalhaes V.F. Effects of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) on the swimming behavior of *Daphnia* (Cladocera). *Environ. Toxicol. Chem.* 2014. Vol. 33. P. 223—229.
28. Freitas L.M., Valadares L.A., Camozzi M. et al. Animal models in the neurotoxicology of 2,4-D. *Hum. Exp. Toxicol.* 2019. Vol. 38. P. 1178—1182.
29. Gerhardt A. Aquatic Behavioral ecotoxicology — prospects and limitations. *Hum. Ecol. Risk Assess.: Int. J.* 2007. Vol. 13, N 3. P. 481—491.
30. Gerhardt A. Online biomonitoring for integrated smart real-time water management. *Water Solut.* 2020. Vol. 3. P. 20—23.
31. Gerhardt A., De Bisthoven L.J., Schmidt S. Automated recording of vertical negative phototactic behaviour in *Daphnia magna* Straus (Crustacea). *Hydrobiologia.* 2006. Vol. 559, N 1. P. 433—441.
32. Gruber D., Frago C.H., Rasnake W.J. Automated biomonitors — first line of defense. *J. Aquat. Ecosyst. Health.* 1994. Vol. 3. P. 87—92.
33. Gunatilaka A., Diehl G., Puzicha H. The evaluation of “dynamic daphnia test” after a decade of use. In: *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change 2*. Ed. by Butterworth F.M., Gunatilaka A., Gensebatt M.E. New York, 2000. P. 29—59.
34. Hellou J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2011. Vol. 18. P. 1—11.
35. Henry J., Wlodkowic D. Towards high-throughput chemobehavioural phenomics in neuropsychiatric drug discovery. *Mar. Drugs.* 2019. Vol. 17, N 6. 340.
36. Henry J., Wlodkowic D. High-throughput animal tracking in chemobehavioral phenotyping: Current limitations and future perspectives. *Behav. Processes.* 2020. Vol. 180. 104226.

37. Herrera N., Palacio J., Echeverri F., Ferrão-Filho A. Effects of a cyanobacterial bloom sample containing microcystin-LR on the ecophysiology of *Daphnia similis*. *Toxicol. Rep.* 2014. Vol. 1. P. 909—914.
38. Hromova Yu., Afanasyev S.O., Shevtsova L.V. Structural organization of zooplankton in transformed small rivers. *Hydrobiol. J.* 2013. Vol. 49, N 1. P. 21—29.
39. Hussain A., Audira G., Malhotra N. et al. Multiple screening of pesticides toxicity in zebrafish and daphnia based on locomotor activity alterations. *Biomolecules.* 2020. Vol. 10, N 9. 1224.
40. Hylander S., Ekvall M.T., Bianco G. et al. Induced tolerance expressed as relaxed behavioural threat response in millimetre-sized aquatic organisms. *Proc. Biol. Sci.* 2014. Vol. 281, N 1788. 2014036.
41. Jeong T.-Y., Yoon D., Kim S. et al. Mode of action characterization for adverse effect of propranolol in *Daphnia magna* based on behavior and physiology monitoring and metabolite profiling. *Environ. Pollut.* 2018. Vol. 233. P. 99—108.
42. Kim J., Yuk H., Choi B. et al. New machine learning-based automatic high-throughput video tracking system for assessing water toxicity using *Daphnia magna* locomotory responses. *Sci. Rep.* 2023. Vol. 13. 3530.
43. LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser): Recommendations on the deployment of continuous biomonitors for the monitoring of surface waters. Stuttgart, 1998.
44. Lechelt M., Blohm W., Kirschneit B. et al. Monitoring of surface water by ultrasensitive *Daphnia* toximeter. *Environ. Toxicol.* 2000. Vol. 15, N 5. P. 390—400.
45. Lovern S.B., Strickler J.R., Klaper R. Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C60, and C60HxC70Hx). *Environ. Sci. Technol.* 2007. Vol. 41, N 12. P. 4465—4470.
46. Melvin S.D., Wilson S.P. The utility of behavioral studies for aquatic toxicology testing: A meta-analysis. *Chemosphere.* 2013. Vol. 93, N. 10. P. 2217—2223.
47. Noss C., Dabrunz A., Rosenfeldt R.R. et al. Three-dimensional analysis of the swimming behavior of *Daphnia magna* exposed to nanosized titanium dioxide. *PloS One.* 2013. Vol. 8, N 11. e80960.
48. O'Keefe T.C., Brewer M.C., Dodson S.I. Swimming behavior of *Daphnia*: its role in determining predation risk. *J. Plankton Res.* 1998. Vol. 20. P. 973—984.
49. Pan Y., Yan Sw., Li Rz. et al. Lethal/sublethal responses of *Daphnia magna* to acute norfloxacin contamination and changes in phytoplankton-zooplankton interactions induced by this antibiotic. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. 40385.
50. Park J., Park C., Lee Y. et al. Acute adverse effects of metallic nanomaterials on cardiac and behavioral changes in *Daphnia magna*. *Environments.* 2022. Vol. 9, N 2. 26.
51. Qin F., Zhao N., Yin G. et al. Rapid response of *Daphnia magna* motor behavior to mercury chloride toxicity based on target tracking. *Toxics.* 2024. Vol. 12, N 9. 621.
52. Rajewicz W., Romano D., Schmickl Th., Thenius R. *Daphnia*'s phototaxis as an indicator in ecotoxicological studies: A review. *Aquat. Toxicol.* 2023. Vol. 265. 106762.
53. Ren Q., Zhao R., Wang C. et al. The role of AChE in swimming behavior of *Daphnia magna*: correlation analysis of both parameters affected by deltamethrin and methomyl exposure. *J. Toxicol.* 2017. 3265727.
54. Simao F.C., Martinez-Jeronimo F., Blasco V. et al. Using a new high-throughput video-tracking platform to assess behavioural changes in *Daphnia magna* exposed to neuro-active drugs. *Sci. Total Environ.* 2019. Vol. 662. P. 160—167.
55. Taipale S.J., Brett M.T., Pulkkinen K., Kainz M.J. The influence of bacteria-dominated diets on *Daphnia magna* somatic growth, reproduction, and lipid composition. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012. Vol. 82, N 1. P. 50—62.
56. Tkaczyk A., Bownik A., Dudka J. et al. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Sci. Total Environ.* 2021. Vol. 763. 143038.
57. Tkaczyk A., Mitrowska K., Posyniak A. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. *Sci. Total Environ.* 2020. Vol. 717. 137222.

58. Untersteiner H., Kahapka J., Kaiser H. Behavioural response of the cladoceran *Daphnia magna* Straus to sublethal copper stress — validation by image analysis. *Aquat. Toxicol.* 2003. Vol. 65, N. 4. P. 435—442.

59. Uttieri M., Sandulli R., Spezie G., Zambianchi E. From small to large scale: a review of the swimming behaviour of *Daphnia*. In: *Daphnia: Biology and Mathematics Perspectives* / Ed. by M. El-Doma. 2014. Chapter 9. P. 209—322.

60. Yuryshynets V.I., Konovets I.M., Kipnis L.S. et al. Modern approaches to identification of pollutants causing toxicity of water and bottom sediments of the aquatic ecosystems (a review). *Hydrobiol. J.* 2025. Vol. 61, N 2. P. 47—60.

61. Zein M.A., McElmurry S.P., Kashian D.R. et al. Optical bioassay for measuring sublethal toxicity of insecticides in *Daphnia pulex*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014. Vol. 33, N 1. P. 144—151.

62. Zein M.A., McElmurry S.P., Kashian D.R. et al. Toxic effects of combined stressors on *Daphnia pulex*: interactions between diazinon, 4-nonylphenol, and wastewater effluent. *Environ. Toxicol. Chem.* 2015. Vol. 34. P. 1145—1153.

Надійшла 20.03.2025

I.M. Konovets, PhD (Biol.), Senior Researcher, Head of Laboratory,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyuk Avenue, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: i.m.konovets@gmail.com
ORCID 0000-0003-4234-5026

V.I. Yuryshynets, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Leading Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyuk Avenue, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: ciliator@ukr.net
ORCID 0000-0001-6310-7874

L.S. Kipnis, PhD (Biol.), Senior Researcher, Senior Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Volodymyr Ivasyuk Avenue, 12, Kyiv, 04210, Ukraine
e-mail: kipnisludmila@gmail.com
ORCID 0000-0002-4008-5120

O.V. Romanenko, Dr. Sc. (Biol.), Prof., NAS Full member, Head of Department,
O.O. Bogomolets National Medical University,
Beresteyskyi Avenue, 34, Kyiv, 03057, Ukraine
e-mail: bio.dep.nmu@gmail.com
ORCID 0000-0002-8622-1757

BEHAVIORAL RESPONSES OF AQUATIC INVERTEBRATES AS A PROMISING ENDPOINT FOR THE DETECTION OF TOXIC EFFECTS (REVIEW)

The article analyzes modern approaches in the application of behavioral reactions of aquatic organisms as endpoints (test criteria) for the evaluation of toxicity in water quality control systems and biotesting. Changes in the behavior of animals caused by deteriorating environmental factors (in particular, toxic chemical substances) are proposed to be used as a criterion of exposure. Applying behavioral responses as endpoints for toxicity identification has several significant advantages: short duration, sensitivity, ability to detect low concentrations of toxicants, non-lethality for test objects, etc.

The locomotor activity of hydrobionts (fish, crustaceans) has been successfully applied in continuous water quality monitoring — real-time biological early warning systems (BEWS), which have been implemented by water management in many countries.

It has been shown that various indicators of the locomotor activity of aquatic organisms (mainly planktonic crustaceans) change relevantly in response to the presence of chemicals in the aquatic environment that have a toxic effect (medicines, metabolites of aquatic organisms, xenobiotics, etc.). Studies have shown the possibility of using the follo-

wing indicators of locomotor activity as behavioral test criteria: swimming time, swimming speed, distance traveled, frequency of limb movements, number of turns, angle of turn, duration of quiescence, etc.

The use of artificial intelligence (computer models of deep learning based on artificial neural networks) is proposed to analyze large data sets on the behavior of test organisms to identify patterns specific to the action of certain toxicants and to identify toxicity factors.

Keywords: *behavioral reactions, endpoints, toxicity, biotesting, aquatic invertebrates.*