

UNIVERSITATEA “ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI

FACULTATEA DE GEOGRAFIE ȘI GEOLOGIE

ȘCOALA DOCTORALĂ DE GEOȘTIINȚE

DOMENIUL ȘTIINȚA MEDIULUI

FACULTATEA DE BIOLOGIE

ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE

DOMENIUL BIOLOGIE

*Relevanța ecotoxicologică a unor poluanți și antibiotice administrați
peștilor zebră, în asociere cu antioxidanți*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonatori științifici:

Prof. univ. dr. habil. Mircea Nicușor NICOARĂ

CS. I dr. habil. Alin Stelian CIOBÎCĂ

Doctorand,

Viorica RARINCA

IAȘI

2025

MULȚUMIRI

Doresc să îmi exprim sinceră recunoștință față de toți cei care au sprijinit, în mod direct sau indirect, la realizarea acestei lucrări. În mod special, adresez sincere mulțumiri domnului Prof. univ. dr. habil. Mircea Nicușor NICOARĂ și domnului CS I dr. habil. Alin Stelian CIOBÎCĂ, coordonatorii științifici, pentru sprijinul constant, îndrumarea valoroasă și încrederea acordată pe tot parcursul cercetării. Expertiza și rigoarea lor academică au fost fundamentale pentru dezvoltarea și finalizarea acestui proiect.

Datorită caracterului interdisciplinar al acestei teze, realizarea lucrării a fost posibilă cu sprijinul unor specialiști din țară. Pe această cale, doresc să îmi exprim recunoștința față de doamna Carmen Solcan, din cadrul Universității de Științe ale Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași, pentru ajutorul acordat, timpul dedicat și îndrumarea oferită. De asemenea, mulțumirile mele se îndreaptă către doamna Șef lucr. dr. Elena Todirașcu-Ciornea, din cadrul Facultății de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, precum și către CS III dr. Strungaru-Jijie Roxana, de la Departamentul de Științe Exacte și Științe ale Naturii, Centrul RAMTECH, Institutul de Cercetări Interdisciplinare, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași.

De asemenea, doresc să le mulțumesc tuturor colegilor și prietenilor care m-au susținut și încurajat în momentele dificile. Fiecare conversație și fiecare sugestie oferită au contribuit semnificativ la dezvoltarea mea academică și personală. În încheiere, doresc să adresez cele mai sincere mulțumiri familiei mele. Sprijinul lor necondiționat, răbdarea și înțelegerea manifestate pe tot parcursul realizării acestei teze au avut un rol fundamental. Afecțiunea lor și susținerea constantă mi-au oferit motivația necesară pentru a face față tuturor dificultăților întâlnite pe parcurs

CUPRINS

LISTA ABREVIERI	6
INTRODUCERE	8
CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	10
1.1 Influența unor poluanți asupra comportamentului peștilor zebra	10
1.2. Contaminanții chimici	10
1.3. Antibiotice.....	12
1.4. Antioxidanții	13
1.5. Peștele zebra - model animal	14
1.6. Comportamente specifice peștelui zebra	15
CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE	16
2.1. Organismul model: peștele zebra adult.....	16
2.2. Expunerea la substanțe individuale	21
2.2.1. Expunerea la contaminanți chimici	21
2.2.2. Expunerea la antibiotice	21
2.2.3. Expunerea la antioxidanți	22
2.3. Expunerea la amestecurile binare	23
2.3.1. Expunerea la ampicilină și arsen	23
2.3.2. Expunerea la deltametrin și arsen.....	24
2.3.3. Expunerea la ampicilină și deltametrin	24
2.3.4. Expunerea la amoxicilină și clorură de metil mercur	25
2.3.5. Expunerea la nanoparticule de dioxid de siliciu și N-acetil-L-cisteină .	25
2.4. Expunerea la amestecurile terțiare.....	26
2.4.1. Expunerea la clorură de metil mercur, amoxicilină și acid alfa lipoic ..	26
2.4.2. Expunerea la arsen, ampicilină și quercetină.....	26
2.4.3. Expunerea la deltametrin, ampicilină și quercetină.....	26

CAPITOLUL 3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	28
3.1 Studiul experimental 1: Efectul administrării arsenului asupra comportamentului peștelui zebură.....	28
3.2. Studiul experimental 2: Efectul administrării clorurii de metil mercur asupra comportamentului peștelui zebură.....	28
3.3. Studiul experimental 3: Efectul administrării deltametrinului asupra comportamentului peștelui zebură.....	29
3.4. Studiul experimental 4: Efectul administrării nanoparticulelor de dioxid de siliciu asupra comportamentului social, memoriei și stresului oxidativ la peștele zebură.....	29
3.5. Studiul experimental 5: Efectul administrării ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	30
3.6. Studiul experimental 6: Efectul administrării amoxicilinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	31
3.7 Studiul experimental 7: Efectul acidului α -lipoic asupra comportamentului peștelui zebură	31
3.8. Studiul experimental 8: Efectul administrării quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	32
3.9. Studiul experimental 9: Efectul administrării arsenului și ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	33
3.10 Studiul experimental 10: Efectul arsenului și deltametrinului asupra comportamentului peștelui zebură.....	34
3.11 Studiul experimental 11: Efectul deltametrinului și ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	34
3.12 Studiul experimental 12: Efectul administrării clorurii de metil mercur și amoxicilinei asupra comportamentului peștelui zebură	35
3.13. Studiul experimental 13: Efectul administrării nanoparticulelor de dioxid de siliciu și a NAC asupra comportamentului și stresului oxidativ la peștele zebură	36
3.14. Studiul experimental 14: Efectul administrării amoxicilinei, clorurii de metil mercur și acidului α -lipoic asupra comportamentului peștelui zebură.....	37
3.15. Studiul experimental 15: Efectul administrării ampicilinei, arsenului și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură.....	38

3.16. Studiul experimental 16: Efectul administrării deltametrinului, ampicilinei și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebră	39
3.17. Studiul experimental 17: Efectul administrării arsenului, deltametrinului și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebră.....	40
CONCLUZII.....	41
Bibliografie selectivă.....	42
ANEXE.....	45

LISTA ABREVIERI

ALA=acid α -lipoic

As=Arsen

AVMA= American Veterinary Medical Association (eng)/ Asociația Americană de Medicină Veterinară

UE=unități enzimatic

BDNF=Brain-derived neurotrophic factor (eng)/ Factorul neurotrofic derivat din creier

DL₅₀=doza letală 50 %

DM=deltametrin

DS=deviația standard

DTNB=5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoic acid)

ECDC=European Centre for Disease Prevention and Control (eng)/ Centrul European pentru Prevenirea și Controlul Bolilor

EDTA=Ethylenediaminetetraacetic acid (eng)/ Acid etilendiaminotetraacetic

GABA=acid amino-butaric

GPx=Glutathione Peroxidase (eng)/ Glutathion Peroxidaza

GSH=Glutathion

GST=Glutathion-S-transferaze

HRP=Horseradish peroxidase (eng)/ Peroxidaza de hrean

MDA=Malondialdehyde (eng)/ Malondialdehidă

NAC=N-acetil-L-cisteină

NBT=NitroBlue Tetrazolium

OECD=Organisation for Economic Co-operation and Development (eng)/ Organizația pentru Cooperare și Dezvoltare Economică

PBS= Phosphate Buffered Saline (eng)/ soluție salină tamponată cu fosfat

PM=particulate matter (eng)/ particule în suspensie

QUE= Quercetină

ROS=Specii reactive de oxigen

Rpm= Rotații pe minut

SH=Sulfhidril

SOD=Superoxid dismutază

T°=temperatura

t-Bu-OOH=Hidroperoxid de terț-butil

INTRODUCERE

Ecotoxicologia studiază efectele poluanților asupra organismelor vii și asupra ecosistemelor. Peștele zebură (*Danio rerio*) este un model experimental frecvent utilizat în acest domeniu, datorită dimensiunilor reduse, ciclului de viață scurt, embrionilor transparent și asemănărilor genetice și fiziologice cu vertebratele superioare. Aceste caracteristici îl fac ideal pentru investigarea toxicității acute și cronice a diferitelor substanțe chimice.

Expunerea la poluanți emergenți, precum metalele grele, pesticidele și compușii farmaceutici, poate afecta semnificativ comportamentele sociale și individuale ale peștilor zebură, influențând formarea bancurilor, interacțiunile dintre indivizi, răspunsul la stimuli, comportamentul anxios și activitatea locomotorie. În mediul natural, acești contaminanți nu se regăsesc izolat, ci sub formă de amestecuri complexe, ceea ce poate duce la interacțiuni sinergice sau antagoniste între substanțe, complicând considerabil evaluarea riscurilor ecologice.

Cercetarea a urmărit evaluarea efectelor expunerii individuale și asociate la diverși poluanți, precum și investigarea potențialului efect protector al unor antioxidanți naturali, cum ar fi acidul α -lipoic (ALA), quercetina și N-acetil-L-cisteina (NAC). Combinarea analizelor comportamentale cu cele biochimice a permis o înțelegere aprofundată a mecanismelor de stres oxidativ implicate, prin determinarea unor biomarkeri relevanți, precum superoxid dismutaza (SOD), malondialdehida (MDA), glutatation peroxidaza (GPx) și catalaza (CAT).

Prin integrarea rezultatelor obținute din teste specifice de comportament (testul de mușcătură a oglinzii, testul de performanță a înotului, testul de preferință a culorilor și testul de sociabilitate) cu parametrii biochimici analizați, studiul oferă o perspectivă complexă și interdisciplinară asupra modului în care peștii zebură reacționează la expunerea simultană la mai mulți poluanți. Rezultatele contribuie la înțelegerea mecanismelor de apărare celulară și la identificarea unor strategii de atenuare a efectelor poluării acvatice, evidențiind rolul antioxidanților ca agenți protectori. Cercetarea subliniază relevanța peștelui zebură ca model experimental în ecotoxicologie și importanța acestuia în evaluarea impactului poluanților asupra sănătății ecosistemelor acvatice.

Pentru realizarea scopului propus, cercetarea a urmărit următoarele obiective principale:

Obiectiv 1: Evaluarea efectului administrării individuale a unor poluanți și substanțe cu potențial protector asupra comportamentului peștelui zebra, în vederea elucidării mecanismelor comportamentale induse de expunerea la substanțe chimice.

Obiectiv 2: Investigarea interacțiunilor dintre substanțele toxice, prin evaluarea efectelor amestecurilor binare și terțiare asupra comportamentului peștelui zebra.

Obiectiv 3: Elucidarea mecanismelor ecotoxicologice fundamentale implicate în toxicitatea substanțelor chimice, prin corelarea modificărilor biologice, fiziologice și comportamentale.

Obiectiv 4: Contribuția la dezvoltarea ecotoxicologiei comportamentale, prin analiza detaliată a efectelor substanțelor toxice asupra comportamentului organismelor acvatice, cu scopul fundamentării unor măsuri eficiente de protecție a mediului.

CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1.1 Influența unor poluanți asupra comportamentului peștilor zebură

Poluanții chimici, precum antibioticele, pesticidele și metalele grele au efecte negative semnificative asupra sănătății umane și asupra mediului. Pesticidele, de exemplu deltametrinul, utilizat în agricultură, pot genera toxicitate dacă nu sunt folosite corespunzător. Nanoparticulele de SiO₂, folosite în industrie și medicină, ridică îngrijorări privind potențialul lor toxic. Metalele grele, precum arsenul și mercurul, afectează negativ solurile, apele și biodiversitatea. Antibioticele din clasa penicilinelor, precum ampicilina și amoxicilina, sunt frecvent utilizate pentru tratamentul infecțiilor bacteriene.

Pe de altă parte, antioxidanții naturali și sintetici, cum ar fi ALA, NAC și quercetina, ajută la neutralizarea radicalilor liberi și reduc stresul oxidativ, protejând celulele împotriva daunelor provocate de poluanți. Aceștia joacă un rol important în susținerea sănătății și în contracararea efectelor toxice.

Este importantă conștientizarea impactului poluanților asupra sănătății publice și promovarea măsurilor de reducere a expunerii, inclusiv utilizarea antioxidanților ca metodă de protecție.

1.2. Contaminanții chimici

Contaminanții chimici de mediu provin din activități umane, precum procese industriale, agricultură și eliminarea deșeurilor (Figura I.1), afectând ecosistemele și sănătatea umană (Shakya *et al.*, 2023).

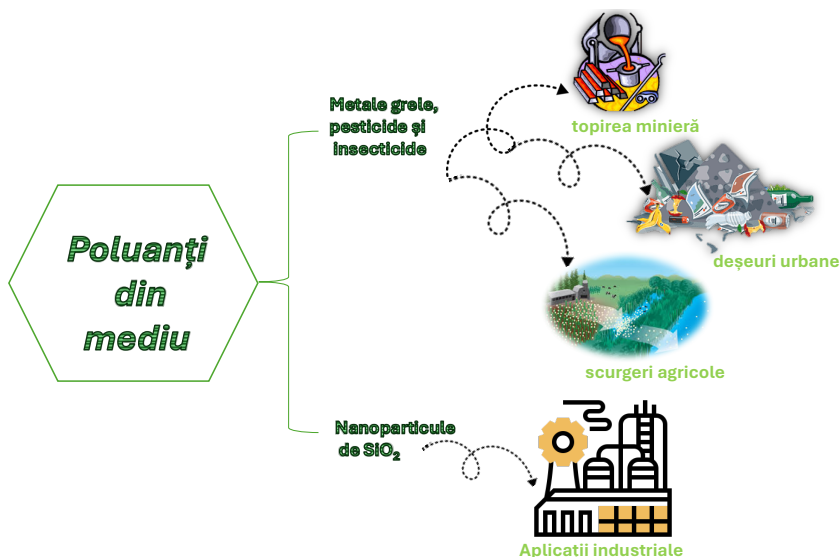


Figura I.1. Principalele surse de poluanți din mediu.

Arsenul este un metaloid toxic prezent în mod natural în scoarța terestră, dar și eliberat prin activități precum mineritul, utilizarea pesticidelor și a îngrășămintelor (Gibb *et al.*, 2011). Contaminează apele subterane și de suprafață, reprezentând riscuri de cancer și leziuni cutanate.

Mercurul, un metal greu foarte toxic, provine din arderea cărbunelui, minerit și incinerarea deșeurilor (Smith *et al.*, 2009). Se bioacumulează în lanțurile trofice acvatice, afectând sănătatea oamenilor prin consumul de pește contaminat. Este o preocupare majoră la nivel global pentru sănătate.

Deltametrinul este un insecticid sintetic utilizat în agricultură, care poate pătrunde în mediu prin scurgeri și afectează organismele non-țintă, inclusiv albinele și viața acvatică (Yadav *et al.*, 2023). Are un timp de înjumătățire lung și poate cauza efecte toxice la animale.

Nanoparticulele de dioxid de siliciu au proprietăți speciale, dar impactul lor ecologic este încă studiat (Janjua *et al.*, 2023). Expunerea poate induce inflamație pulmonară, fibroză și efecte imunologice.

Este esențială implementarea unor strategii de gestionare și reglementări pentru a reduce impactul acestor contaminanți asupra mediului și sănătății publice.

1.3. Antibioticele

România ocupă primul loc în Uniunea Europeană privind consumul de antibiotice sistemice, cu peste 3% din populație utilizând antibiotice zilnic, iar în timpul pandemiei COVID-19 s-a înregistrat o creștere semnificativă a consumului, în special a antibioticelor cu spectru larg (Ghiga *et al.*, 2023). La nivel european, consumul mediu este de 19,4 doze zilnice la 1.000 de locuitori, cu variații între țări. Cele mai utilizate clase de antibiotice sunt macrolidele, cefalosporinele și tetraciclina (Figura I.2), iar la nivel global, amoxicilina, azitromicina și ciprofloxacina sunt cele mai frecvente utilizate antibiotice.

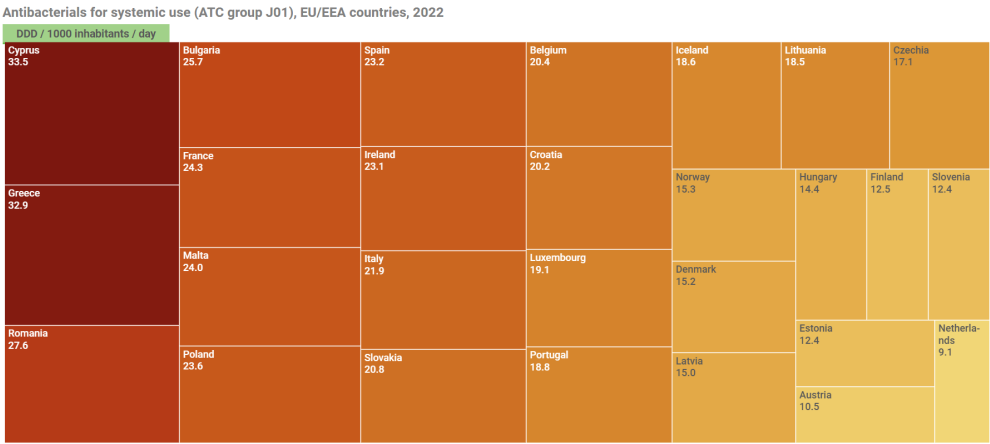


Figura I.2. Antibacteriene de utilizare sistemică (sursa: European Centre for Disease Prevention and Control, 2023)

Poluarea mediului cu antibiotice (Figura I.3), prin apa uzată și deșeurile farmaceutice, reprezintă o problemă majoră, deoarece favorizează dezvoltarea bacteriilor rezistente, complicând tratamentul infecțiilor. Sursele principale de poluare includ apele uzate de la producători, fermele zootehnice, acvacultura, spitalele și gospodăriile.

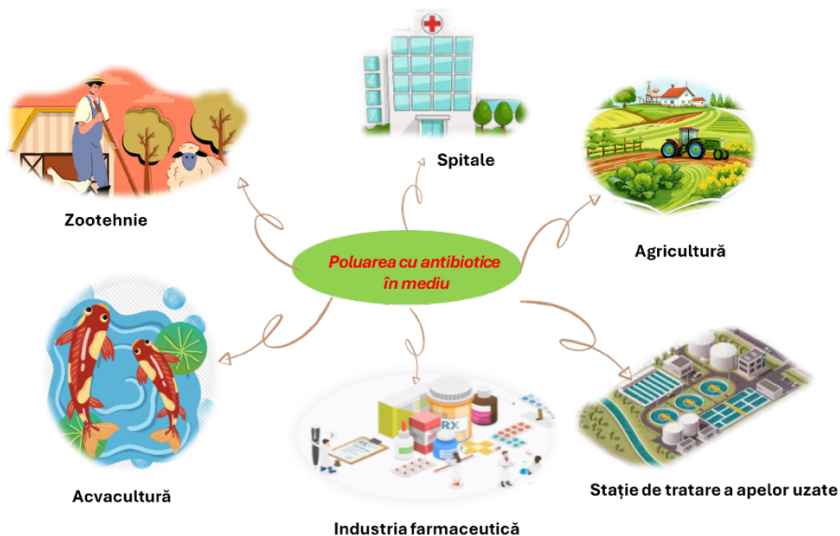


Figura I.3. Principalele surse de poluare cu antibiotice

Rezistența bacteriană apare prin diverse mecanisme, precum producerea de enzime care inactivează antibioticele, modificări ale membranei celulare, pompe de eflux și mutații genetice ce modifică țintele antibioticului. Pentru prevenirea poluării și a rezistenței, sunt necesare măsuri concrete, inclusiv eliminarea corespunzătoare a deșeurilor farmaceutice și reducerea utilizării inutile a antibioticelor.

1.4. Antioxidanții

Antioxidanții sunt substanțe care protejează organismul împotriva efectelor dăunătoare ale radicalilor liberi, care pot cauza leziuni celulare și inflamații. Deși nu influențează direct antibioticele, aceștia sprijină sistemul imunitar și pot crește eficiența tratamentului antibiotic, reducând în același timp efectele secundare, precum inflamația și stresul oxidativ.

Quercetina, un flavonoid prezent în multe fructe și legume (Pany *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014), are puternice proprietăți antioxidante și poate proteja țesuturile de leziunile induse de medicamente. Studiile arată că, în asociere cu unele antibiotice,

quercetina poate crește activitatea antibacteriană și poate preveni stresul oxidativ fără a afecta eficacitatea tratamentului.

ALA este un antioxidant natural important pentru metabolism și protecția celulară, care poate regenera și alți antioxidanți în organism (Tripathi *et al.*, 2023). Cu toate acestea, producția și utilizarea ALA pot genera reziduuri ce pot afecta mediul, contaminând solul și apele.

N-acetil-L-cisteina este utilizată pentru capacitatea sa de a modula stresul oxidativ și pentru efectele benefice în prevenirea anxietății și a altor tulburări psihice (Reis *et al.*, 2020). Experimentele pe pești zebură au arătat că NAC reduce comportamentele asemănătoare anxietății și protejează creierul de deteriorările oxidative. În concluzie, antioxidanții pot îmbunătăți eficacitatea antibioticelor și pot reduce reacțiile adverse, însă menținerea unui echilibru între radicalii liberi și antioxidanți este esențială pentru sănătate.

1.5. Peștele zebură - model animal

Peștele zebură este o specie mică de apă dulce, folosită frecvent ca model experimental în cercetarea științifică datorită unor caracteristici unice. Originar din India, se remarcă prin dungile albastre și albe de pe corp. Are capacitatea de a regenera țesuturi, precum inima și măduva spinării, ceea ce îl face ideal pentru studiul regenerării și al terapiilor medicale. Embrionii săi transparenți permit observarea în timp real a dezvoltării organelor (Beffagna, 2019).

Are un sistem nervos complex și manifestă comportamente sociale și agresive controlate genetic, fiind astfel util pentru studierea neurobiologiei și a bolilor umane, precum cancerul, bolile cardiace și neurologice. Genomul său complet secvențiat și ușurința manipulării genetice îl recomandă ca model în biologia dezvoltării vertebratelor. Peștele zebură este omnivor și trăiește în ape puțin adânci, având plasticitate comportamentală în fața schimbărilor de mediu.

De asemenea, este utilizat pentru testarea toxicității substanțelor chimice și poluanților, fiind sensibil la compuși toxici. Embrionii fertilizați extern și transparenți facilitează studiile de toxicologie și neurotoxicologie (Veldman și Lin,

2008). Cercetările au demonstrat că administrarea asociată de metale grele, antibiotice, pesticide și antioxidanți pot afecta comportamentul și pot crește stresul oxidativ la peștii zebură.

1.6. Comportamente specifice peștelui zebură

Peștii zebură prezintă o serie de comportamente caracteristice speciei, cum ar fi răspunsuri antiprădător, comportamentul social de formare de bancuri, capacități de învățare și memorie, precum și reacții la stres. Expunerea la substanțe chimice poate influența negativ aceste comportamente.

Activitatea locomotorie este frecvent studiată în experimente pentru a evalua efectele diversilor factori, însă nu există o metodă standardizată de măsurare, fiind utilizate diverse paradigme experimentale, inclusiv în stadiile timpurii de dezvoltare (Ingebretson și Masino, 2013). În ceea ce privește comportamentul anxios, peștii zebură reacționează la stres prin manifestarea unor comportamente caracteristice anxietății, precum evitarea zonelor deschise sau preferința pentru întuneric, iar formarea de bancuri dense este un indicator al stării de anxietate.

Deși sunt o specie socială, peștii zebură pot manifesta comportamente agresive, stabilind ierarhii de dominanță în anumite condiții (Teles și Oliveira, 2016). Comportamentul social al peștilor zebură se manifestă prin tendința de a se deplasa în grupuri compacte, fenomen cunoscut drept formarea bancurilor, caracterizat prin un grad ridicat de coeziune socială. Acest aspect îi face un model valoros pentru studiul geneticii și neuroștiinței comportamentale. Fiind o specie diurnă și relativ rezistentă la perturbările mediului, peștii zebură sunt ideali pentru observații comportamentale.

CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE

2.1. Organismul model: peștele zebură adult

Experimentele au fost efectuate pe pești zebură adulți, cu vârsta între 6 și 7 luni. Aceștia au fost achiziționați din surse diferite pentru a evita consangvinizarea și pentru a asigura diversitatea genetică. Peștii au fost acomodați timp de o lună (Figura II.1) în Laboratorul de Ecotoxicologie al Facultății de Biologie din Iași, în condiții controlate: temperatura a fost menținută la 27 ± 1 °C, pH-ul între 7,0 și 7,5, duritatea de 57 ± 16 mg L⁻¹ CaCO₃, oxigenul dizolvat între 7,1 și 8,4 mg L⁻¹, iar nivelurile de amoniac și nitriți au fost sub 0,001 mg L⁻¹, conform standardelor OECD.



Figura II.1. Indivizii de pești zebură adulți (imagine originală)

Apa acvariilor de întreținere a fost schimbată zilnic cu apă declorinată, iar în acvariile experimentale era reîmprospătată cu soluțiile testate. Fotoperioda a fost controlată prin temporizatoare pentru un ciclu de 10 ore lumină : 14 ore întuneric, cu

o intensitate luminoasă de 307,5 lux, asigurată prin benzi LED albe. Peștii au fost hrăniți de două ori pe zi cu fulgi tropicali TetraMin.

Metodologia experimentului a inclus mai multe teste comportamentale utilizate peșteului zebură. Testul de performanță a înotului a fost realizat într-un labirint în formă de T, cu trei brațe active și unul blocat cu o fantă incoloră (Figura II.2). Mișcările peștilor au fost înregistrate cu o cameră cu infraroșu conectată la un calculator, iar datele au fost analizate cu software-ul EthoVision XT 11.5. Parametrii urmăriți au fost distanța totală parcursă și viteza de înot. Fiecare sesiune a durat patru minute, după o perioadă de acomodare de 30 de secunde.

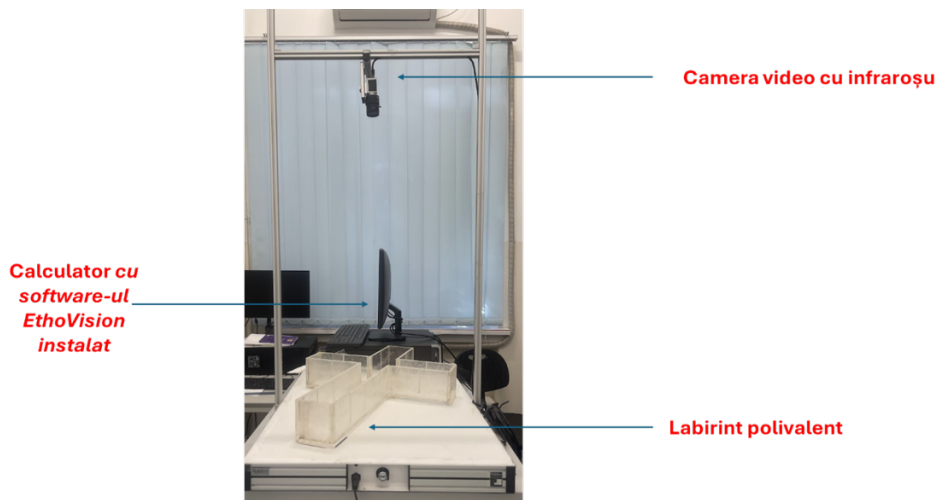


Figura II.2. Labirint în formă de cruce, adaptat pentru testul de performanță a înotului (imagine originală)

Testul de sociabilitate a fost realizat utilizând un labirint similar, în care brațul stâng era blocat cu o fantă incoloră, permițând vizualizarea unui conspecific plasat în acest braț, care a acționat ca stimul social (Figura II.3). Comportamentul a fost evaluat înainte și după expunerea la substanțele chimice, acut (96 de ore) sau cronic (21 de zile), cu măsurători periodice conform protocolului OECD. Substanțele au fost administrate zilnic, iar grupul control a fost tratat similar, fără expunere.

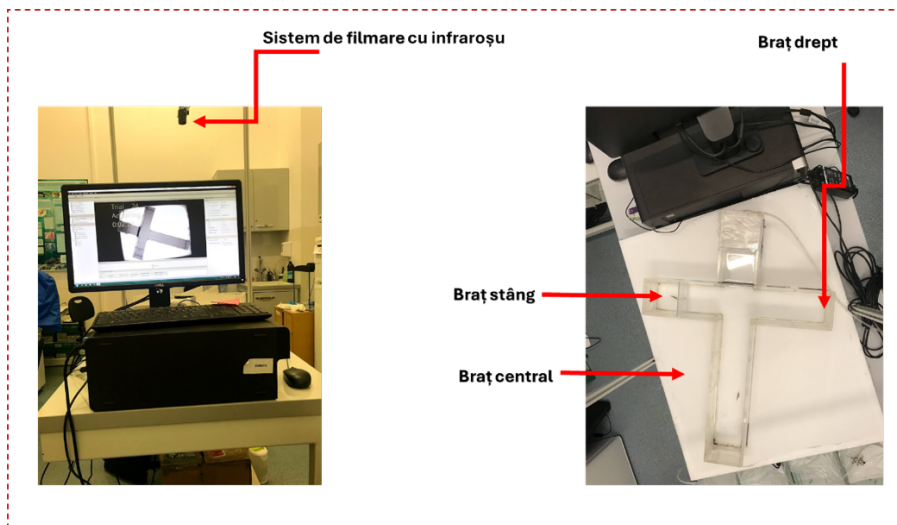


Figura II.3. Labirint în formă de cruce adaptat pentru testul de sociabilitate (imagine originală)

Testul de preferință a culorilor s-a realizat într-un labirint în formă de T, cu brațul stâng colorat în roșu și cel drept colorat verde (Figura II.4).

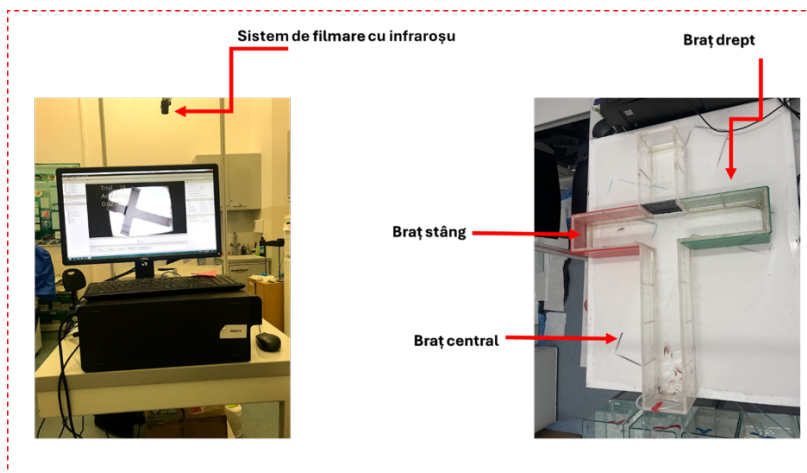


Figura II.4. Labirint în formă de cruce adaptat pentru testul de preferință a culorilor (imagine originală)

S-au evaluat timpul petrecut în fiecare braț, numărul de intrări, distanța parcursă și viteza de înot pentru a evidenția posibile modificări ale comportamentului vizual.

Testul de mușcătură a oglinzii a fost folosit pentru a evalua agresivitatea. O oglindă a fost fixată pe peretele lateral al brațului stâng al labirintului T (Figura II.5), iar comportamentul a fost înregistrat timp de patru minute. S-au monitorizat distanța totală parcursă, timpul petrecut mușcând oglinda și timpul petrecut în apropierea acesteia.



Figura II.5. Testul de mușcătură a oglinzii (imagine originală)

La finalul experimentelor, peștii au fost eutanasiați pentru recoltarea probelor necesare analizelor biochimice.

Pentru evaluarea stresului oxidativ, creierul și restul corpului de la cinci pești zebră au fost omogenizate în tampon fosfat (PBS) și centrifugate pentru obținerea supernatantului utilizat în analize. Creierile au fost disecate imediat după eutanasiere și procesate separat (Figura II.6).

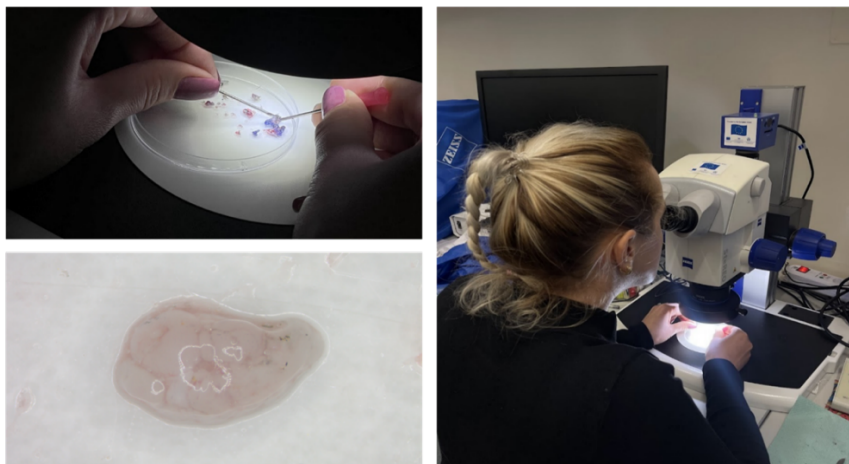


Figura II.6. Prelevarea creierului peștilor zebură (imagini originale)

Activitatea enzimelor antioxidante a fost măsurată spectrofotometric. SOD a fost determinată prin inhibiția reducerii nitroblue tetrazoliumului, cu absorbție citită la 450 nm, iar rezultatele au fost exprimate în unități mg^{-1} proteină.

Activitatea GPx a fost evaluată prin consumul de nicotinamidă adenină dinucleotidă fosfat la 340 nm, indicând conversia glutationului redus. Reacția a fost desfășurată la 25 °C, pH 8, iar rezultatele au fost exprimate în unități mg^{-1} proteină.

Concentrația MDA a fost măsurată printr-un test ELISA competitiv, cu absorbție citită la 450 nm și valori exprimate în $\mu\text{g mL}^{-1}$, raportate la conținutul de proteină.

Activitatea CAT a fost determinată prin măsurarea descompunerii H_2O_2 . H_2O_2 rezidual a reacționat cu un reactiv cromogen, iar absorbția produsului colorat a fost citită la 570 nm. Activitatea enzimei a fost exprimată în $\text{nmoli H}_2\text{O}_2$ descompuși pe minut per mL probă.

Datele comportamentale și biochimice au fost exprimate ca medie $\pm$ SD și analizate cu testul t Student și ANOVA, urmate de testul Tukey. Semnificația a fost considerată la $p = 0,05$. Analizele au fost realizate în GraphPad Prism 9 (2019).

Peștii au fost tratați conform recomandărilor UE (2007) și Directivei 63/2010 privind protecția animalelor. Experimentul a fost aprobat de Comisia de Etică a Facultății de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” Iași, nr. 2924/05.10.2021.

2.2. Expunerea la substanțe individuale

2.2.1. Expunerea la contaminanți chimici

Arsenul, provenit din surse industriale și agricole, se acumulează în pești prin branșii și hrană, afectând specii precum peștele zebură. În acest studiu, peștii au fost expuși timp de 96 de ore la două concentrații, respectiv 25 și 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ arsen, evaluându-se comportamentul locomotor și comportamentul social.

Mercurul, contaminant neurotoxic, afectează dezvoltarea și comportamentul peștilor zebură prin expunere cronică. Peștii au fost tratați cu 1 și 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ clorură de metil mercur timp de 96 de ore, iar comportamentul prin două teste specifice, respectiv testul de sociabilitate și testul de performanță a înotului.

Deltametrinul, un insecticid piretroid, pătrunde în apele naturale din surse agricole. Peștii zebură din cadrul acestui experiment au fost expuși la 0,5 și 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, iar comportamentul locomotor și social a fost analizat cu software-ul EthoVision XT.

Nanoparticulele de SiO_2 pot induce stres oxidativ și modificări comportamentale. Peștii zebură au fost expuși timp de 7 zile la concentrații de 100 și 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, iar ulterior au fost evaluați prin teste de sociabilitate, de preferință cromatică și prin analize ale biomarkerilor de stres oxidativ.

2.2.2. Expunerea la antibiotice

Ampicilina, un antibiotic din clasa penicilinelor, este utilizată pentru tratarea infecțiilor bacteriene la oameni și animale. Acest studiu a investigat efectele ampicilinei asupra comportamentului peștilor zebură, concentrându-se pe activitatea locomotorie, anxietate și interacțiuni sociale.

Peștii au fost împărțiți în trei grupuri: control, 50 mg L⁻¹ ampicilină și 100 mg L⁻¹ ampicilină, cu o expunere de 96 de ore. Comportamentul a fost evaluat prin testele de performanță a înotului și de sociabilitate. Scopul a fost de a înțelege impactul ampicilinei asupra sănătății și comportamentului acestor organisme acvatice.

Amoxicilina este un antibiotic larg utilizat, însă administrarea pe termen lung poate altera flora intestinală și induce schimbări comportamentale prin mecanisme neuroendocrine.

Studii anterioare pe modele animale (șoareci, pești zebură) au demonstrat că doze mari de amoxicilină pot modifica activitatea locomotorie, comportamentul social și parametrii biochimici, inclusiv reducerea sulfhidrilului și activității catalazei, cu creșterea activității SOD în creier.

În studiul prezent, peștii au fost expuși la 50 și 100 mg L⁻¹ amoxicilină timp de 96 de ore, iar efectele asupra comportamentului au fost evaluate prin testele de performanță a înotului și de sociabilitate. Obiectivul a fost evaluarea toxicității acute și a riscurilor ecologice asociate prezenței amoxicilinei în mediul acvatic.

2.2.3. Expunerea la antioxidanți

Acidul α -lipoic este un antioxidant solubil în apă și grăsimi, esențial pentru metabolismul celular și detoxifiere. Studiile pe șobolani au arătat că dozele moderate de ALA (5–20 mg kg⁻¹) nu afectează comportamentul în mod semnificativ, iar doza de 20 mg kg⁻¹ reduce efectele toxice ale Thimerosalului asupra interacțiunii sociale și comportamentelor stereotipe (Namvarpour *et al.*, 2018). ALA stimulează activitatea enzimelor antioxidante SOD și CAT, protejând memoria și funcția neuronală în condiții de stres oxidativ. În acest studiu experimental, peștii au fost expuși la concentrații de 10 și 20 mg L⁻¹ de ALA pentru 96 de ore, iar efectele asupra comportamentului social și activității locomotorii au fost evaluate.

Quercetina este un flavonoid natural cu proprietăți antioxidante, antiinflamatorii și antivirale, prezent în fructe, legume și băuturi. Concentrațiile variază în funcție de sursă, incluzând mere, merișoare, ceapă și ceai negru (Bhagwat

et al., 2011). Studiile arată că dozele mici de quercetină ($0,01\text{--}10\ \mu\text{g L}^{-1}$) îmbunătățesc comportamentul social și reduc anxietatea la peștii zebură, în timp ce dozele mari (până la $1000\ \mu\text{g L}^{-1}$) au efecte negative, cum ar fi scăderea mobilității și creșterea anxietății. Aceste diferențe sugerează mecanisme distincte de acțiune asupra sistemului nervos în funcție de dozaj. La șoareci, quercetina reduce depresia și stresul prin reactivarea astrocitelor și prin efecte neuroprotectoare. În cadrul acestui experiment, peștii zebură au fost expuși la 1 și $1000\ \mu\text{g L}^{-1}$ quercetină timp de 96 de ore, iar efectele asupra performanței înotului și comportamentului social au fost evaluate.

2.3. Expunerea la amestecurile binare

Expunerea simultană la două substanțe chimice poate avea efecte sinergice, antagoniste sau aditive asupra organismului, influențând biodisponibilitatea, toxicitatea și mecanismele de acțiune la nivel celular și molecular. Studii recente au investigat impactul asocierii unor compuși specifici, precum nanoparticulele de SiO_2 , NAC, mercurul, amoxicilina, arsenul, ampicilina și deltametrinul.

2.3.1. Expunerea la ampicilină și arsen

În experimentul realizat, s-au evaluat efectele comportamentale ale arsenului și ampicilinei, individual și în asociere, asupra peștilor zebură, pe durata a 96 de ore. Ampicilina poate altera microbiota intestinală și induce stres oxidativ, în timp ce arsenul, metal toxic răspândit în mediu, are efecte neurotoxice, imunotoxice și genotoxice prin modificarea macromoleculelor intracelulare și inducerea dezechilibrelor celulare. Organismul dispune în mod normal de un sistem antioxidant format din enzime, precum GPx, SOD și CAT, pentru a contracara stresul oxidativ. Evaluarea efectelor combinate este importantă, întrucât interacțiunile dintre aceste substanțe pot amplifica sau diminua efectele toxice. Dozele utilizate au fost $100\ \text{mg L}^{-1}$ ampicilină și $50\ \mu\text{g L}^{-1}$ arsen, conform literaturii de specialitate (Maselli *et al.*, 2020, Coral *et al.*, 2021). Studiul ajută la înțelegerea mecanismelor de acțiune ale celor două substanțe asupra organismelor acvatice și la dezvoltarea unor strategii

pentru reducerea impactului asupra ecosistemelor. Peștii zebură au fost împărțiți în patru loturi: lotul 1 (control), lotul 2 expus la arsen, lotul 3 expus la ampicilină și lotul 4 expus la ambele substanțe, cu o durată de 96 de ore și reîmprospătarea zilnică a apei.

2.3.2. Expunerea la deltametrin și arsen

Arsenul și deltametrinul sunt substanțe chimice care afectează semnificativ organismul, influențând procesele fiziologice și comportamentale. Deltametrinul interacționează cu funcționarea sistemului nervos, provocând inhibarea funcțiilor motorii și modificări ale comportamentului, în timp ce arsenul induce stres oxidativ și afectează macromoleculele intracelulare, provocând disfuncții celulare. Studiul a urmărit efectele individuale și în asociere ale celor doi compuși asupra peștilor zebură, analizând modificările comportamentale prin testul de sociabilitate și testul de performanță a înotului, pe o perioadă de 96 de ore. Concentrațiile utilizate au fost $2 \mu\text{g L}^{-1}$ deltametrin și $50 \mu\text{g L}^{-1}$ arsen. Rezultatele au evidențiat potențialul de amplificare a efectelor toxice în cazul expunerii în asociere, oferind informații valoroase pentru ecotoxicologie și protecția mediului, contribuind la dezvoltarea unor strategii pentru limitarea impactului chimicelor asupra ecosistemelor acvatice.

2.3.3. Expunerea la ampicilină și deltametrin

Experimentul a investigat efectele comportamentale și fiziologice ale expunerii individuale și asociate la ampicilină și deltametrin asupra peștilor zebură pe o perioadă de 96 de ore, concentrându-se pe modificările comportamentului social și performanței înotului. Expunerea asociată poate potența efectele toxice, influențând comportamentul social și capacitatea de înot a peștilor. Evaluarea interacțiunilor sinergice sau antagonice este esențială pentru înțelegerea modului în care aceste substanțe afectează organismele acvatice. Dozele utilizate au fost 100 mg L^{-1} ampicilină și $2 \mu\text{g L}^{-1}$ deltametrin.

2.3.4. Expunerea la amoxicilină și clorură de metil mercur

Acest studiu a investigat efectele comportamentale ale expunerii individuale și asociată la amoxicilină și clorură de metil mercur asupra peștelui zebură, pe o durată de 96 de ore, evaluând efectul asupra sociabilității și performanței înotului. Expunerea simultană la aceste substanțe poate amplifica toxicitatea, determinând efecte mai pronunțate asupra comportamentului. Studiul a folosit testul de sociabilitate și testul de performanță a înotului pentru a monitoriza schimbările comportamentale. Concentrațiile administrate au fost 100 mg L^{-1} amoxicilină și $15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ clorură de metil mercur. Peștii au fost distribuiți în patru loturi: lotul 1 (control), lotul 2 (expunere la amoxicilină), lotul 3 (expunere la mercur) și lotul 4 (expunere amoxicilină și mercur).

2.3.5. Expunerea la nanoparticule de dioxid de siliciu și N-acetil-L-cisteină

Acest studiu investighează efectele expunerii individuale și asociate la nanoparticulele de SiO_2 și NAC asupra comportamentului peștelui zebură, folosind testele de sociabilitate și preferință a culorilor. Testul de sociabilitate evaluează interacțiunea socială, iar testul de preferință a culorilor analizează răspunsurile vizuale și preferințele cromatice ale peștilor.

Substanțele au fost administrate în concentrații relevante pentru mediu și domeniul farmacologie: $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ nanoparticule de SiO_2 și 10 mg L^{-1} NAC. Peștii au fost împărțiți în patru grupuri: lotul 1 (control), lotul 2 (NAC), lotul 3 (nanoparticule de SiO_2) și lotul 4 (NAC + nanoparticule de SiO_2), iar expunerea a durat 7 zile, urmată de teste comportamentale și analize biochimice.

Nanoparticulele au fost bine dispersate înainte de utilizare, iar NAC a fost preparată proaspăt. La final, peștii au fost eutanasiați conform normelor AVMA 2020.

Studiul contribuie la înțelegerea impactului nanoparticulelor de SiO_2 și al NAC asupra comportamentului și sănătății organismelor acvatice, evidențiind interacțiunile dintre poluanți și substanțele protectoare din ecosisteme.

2.4. Expunerea la amestecurile terțiare

2.4.1. Expunerea la clorură de metil mercur, amoxicilină și acid alfa lipoic

Acest studiu examinează efectele unui amestec format din clorură de metil mercur, amoxicilină și ALA asupra peștelui zebură, punând accent pe rolul ALA în reducerea stresului oxidativ indus de celelalte substanțe. Peștii au fost împărțiți în patru loturi: lotul 1 (control), lotul 2 (ALA), lotul 3 (amoxicilină + mercur), și lotul 4 (amoxicilină + mercur + ALA). Expunerea a durat 21 de zile, iar comportamentul peștilor a fost monitorizat zilnic prin teste de sociabilitate și performanță a înotului. Studiul urmărește să evidențieze efectele toxice ale amestecului și potențialul protector al ALA asupra stresului oxidativ și comportamentului.

2.4.2. Expunerea la arsen, ampicilină și quercetină

În acest studiu am investigat impactul arsenului, ampicilinei și quercetinei asupra peștelui zebură, în special în contextul toxicității induse de arsen, care generează specii reactive de oxigen și modificări celulare oxidative. Peștii au fost împărțiți în patru loturi: lotul 1 (control), lotul 2 (quercetină), lotul 3 (ampicilină + arsen) și lotul 4 (ampicilină + arsen + quercetină). Expunerea a durat 96 de ore, iar evaluarea comportamentală a fost evaluată prin teste de performanță a înotului și sociabilitate. Studiul analizează efectele toxice ale arsenului și ampicilinei, precum și potențialul antioxidant și protectiv al quercetinei.

2.4.3. Expunerea la deltametrin, ampicilină și quercetină

Studiul investighează efectele toxice ale ampicilinei și deltametrinului asupra peștelui zebură și potențialul protector al quercetinei, un flavonoid antioxidant. Peștii au fost împărțiți în 4 grupuri experimentale: lotul 1 (control), lotul 2 (quercetină), lotul 3 (deltametrin + ampicilină) și lotul 4 (deltametrin + ampicilină + quercetină), expuși timp de 96 de ore. Comportamentul a fost evaluat prin teste de

performanță a înotului și de sociabilitate. La final, peștii au fost eutanasiați conform protocoalelor etice, iar probe biologice au fost prelevate pentru analize biochimice. Scopul studiului este de a înțelege modul în care quercetina poate modula efectele toxice ale poluanților chimici în mediile acvatice.

CAPITOLUL 3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

3.1 Studiul experimental 1: Efectul administrării arsenului asupra comportamentului peștelui zebură

Expunerea peștilor zebură la arsen (25 și $50 \mu\text{g L}^{-1}$) a determinat o reducere semnificativă a performanței locomotorii, măsurată prin distanța totală parcursă și viteza de înot. Efectul a fost dependent de doză, cu scăderi mai mari la concentrația mai ridicată comparativ cu controlul. Aceste modificări sugerează un posibil efect neurotoxic al arsenului, afectând funcția musculară sau sistemul neuromotor.

Timpul petrecut în zona cu stimul social a scăzut semnificativ în grupurile expuse la arsen comparativ cu lotul control, indicând o diminuare a interesului social. În paralel, timpul petrecut în zona fără stimul social a crescut comparativ cu controlul, ceea ce poate reflecta un comportament anxiogen sau de evitare. Aceste schimbări pot fi interpretate ca semne de disfuncție socială și stres comportamental indus de arsen.

Rezultatele arată că arsenul afectează negativ atât performanța locomotorie, cât și comportamentul social al peștelui zebură, în mod dependent de doză. Scăderea capacității de mișcare poate rezulta din efecte neurotoxice, iar modificările sociale pot indica un răspuns anxiogen sau o alterare a percepției stimulilor sociali. Aceste constatări sunt în concordanță cu literatura de specialitate și evidențiază importanța evaluării parametrilor comportamentali pentru identificarea impactului contaminanților în ecotoxicologie.

3.2. Studiul experimental 2: Efectul administrării clorurii de metil mercur asupra comportamentului peștelui zebură

Expunerea peștilor zebură la clorură de metil mercur (1 și $15 \mu\text{g L}^{-1}$) a redus semnificativ performanța înotului și a modificat comportamentul social, determinând scăderea timpului petrecut în zona cu stimul social și intensificarea comportamentului de evitare. Efectele au fost dependente de doză, indicând

neurotoxicitate care afectează atât funcția motorie, cât și interacțiunile sociale. Studiul confirmă impactul negativ al clorurii de metil mercur asupra comportamentului peștilor zebra, evidențiind necesitatea monitorizării poluării.

3.3. Studiul experimental 3: Efectul administrării deltametrinului asupra comportamentului peștelui zebra

Expunerea peștilor zebra la deltametrin ($0,5$ și $2 \mu\text{g L}^{-1}$) a redus semnificativ performanța locomotorie, evidențiată prin diminuarea distanței totale parcurse și a vitezei de înot, într-un mod dependent de doză. De asemenea, a fost afectat comportamentul social, peștii petrecând mai puțin timp în zona cu stimul social și mai mult timp în zona fără stimul, indicând creșterea anxietății sau reducerea interesului social. Aceste efecte sunt atribuite acțiunii neurotoxice a deltametrinului asupra sistemului nervos și neurotransmițătorilor implicați în comportament.

3.4. Studiul experimental 4: Efectul administrării nanoparticulelor de dioxid de siliciu asupra comportamentului social, memoriei și stresului oxidativ la peștele zebra

Studiul experimental 4 a investigat efectele administrării nanoparticulelor de SiO_2 asupra comportamentului social, preferinței pentru culori și stresului oxidativ la peștele zebra. În ceea ce privește comportamentul social, s-a observat o tendință de creștere a activității locomotorii, exprimată prin distanța totală parcursă, în special la doza mai mare de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, însă aceste modificări nu au fost semnificative statistic comparativ cu lotul control. Aceasta poate sugera o stimulare a comportamentului locomotor, posibil datorită modificărilor neurochimice sau unui răspuns de stres. În testul de preferință socială, timpul petrecut în brațul cu stimul social a scăzut odată cu creșterea concentrației de nanoparticule, dar fără diferențe semnificative comparativ cu lotul control.

În ceea ce privește preferinței pentru culori, la doza de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, peștii au parcurs o distanță semnificativ mai mică și au petrecut mai mult timp în brațul roșu, o culoare de obicei evitată, ceea ce sugerează o posibilă alterare a percepției

senzoriale și a proceselor decizionale, indicând efecte neurotoxice. De asemenea, timpul petrecut în brațul verde, preferat natural, a scăzut semnificativ în grupurile tratate cu nanoparticule, sugerând o perturbare a comportamentului cromatic natural și un potențial efect de stres sau anxietate. Durata cumulativă a mobilității a scăzut semnificativ la doza mare, în timp ce imobilitatea a crescut.

În ceea ce privește stresul oxidativ, nanoparticulele au crescut semnificativ activitatea enzimelor antioxidante SOD și CAT la ambele concentrații administrate, indicând un răspuns fiziologic la stresul oxidativ generat. Activitatea glutatyon peroxidazei a crescut la doza mică comparativ cu lotul control, dar a fost mai scăzută la doza mare comparativ cu controlul, ceea ce poate indica o epuizare a capacității antioxidante la nivel enzimatic în condiții de stres sever. Nivelurile de MDA, un marker al peroxidării lipidice, nu au prezentat diferențe semnificative comparativ cu lotul control, deși s-a observat o tendință de creștere la peștii expuși.

În concluzie, expunerea la nanoparticule de SiO_2 , în special la concentrația de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, a influențat comportamentul locomotor și social, preferința pentru culori, și a generat un stres oxidativ semnificativ comparativ cu lotul control, sugerând efecte neurotoxice și dezechilibre în homeostazia oxidativă, care pot afecta negativ funcțiile neurologice și comportamentale ale peștilor zebură.

3.5. Studiul experimental 5: Efectul administrării ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 5 a analizat efectele administrării ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură, concentrându-se pe performanța locomotorie și comportamentul social. În testul de înot, s-a observat că expunerea la ampicilină în concentrație de 100 mg L^{-1} a dus la modificări semnificative ale activității locomotorii, manifestate prin scăderea distanței totale parcurse și a vitezei de înot comparativ cu grupul control și cu grupul expus la 50 mg L^{-1} , indicând un efect dependent de doză.

În ceea ce privește comportamentul social, peștii expuși la 100 mg L^{-1} au petrecut semnificativ mai puțin timp în brațul labirintului cu stimul social și mai mult

timp în brațul opus, semnalând o posibilă alterare a interacțiunilor sociale și un comportament anxiogen sau de evitare.

Aceste rezultate sugerează că ampicilina, mai ales la doze mari, afectează atât performanța motorie, cât și comportamentul social al peștilor zebură, ceea ce ridică semne de întrebare asupra impactului antibioticelor în mediul acvatic și necesită o monitorizare atentă a prezenței acestora în ecosisteme.

3.6. Studiul experimental 6: Efectul administrării amoxicilinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 6 a investigat efectele amoxicilinei asupra comportamentului locomotor și social al peștilor zebură după 96 de ore de expunere. La concentrația de 100 mg L⁻¹, s-au înregistrat modificări semnificative ale performanței locomotorii, cu o reducere a distanței totale parcurse și a vitezei de înot comparativ cu grupul control și cu cel expus la 50 mg L⁻¹, sugerând un impact negativ asupra sistemului neuromuscular sau asupra nivelului general de activitate.

În ceea ce privește comportamentul social, peștii expuși la doza mai mare au petrecut semnificativ mai puțin timp în brațul labirintului cu stimul social și mai mult timp în brațul opus comparativ cu lotul control, indicând o posibilă creștere a anxietății sau o reducere a comportamentului de explorare și socializare.

Rezultatele susțin ipoteza că amoxicilina la doze ridicate poate induce efecte neurotoxice ce afectează atât mobilitatea, cât și interacțiunile sociale, în concordanță cu alte studii care au raportat impact neurocomportamental al antibioticelor în organisme acvatice și chiar la mamifere. Aceste constatări evidențiază potențialele riscuri ecotoxicologice ale prezenței antibioticelor în mediul acvatic.

3.7 Studiul experimental 7: Efectul acidului α -lipoic asupra comportamentului peștelui zebură

Expunerea acută la ALA a influențat performanța locomotorie a peștilor zebură în funcție de doză. La concentrația de 20 mg L⁻¹, s-a observat o reducere

semnificativă a distanței totale parcurse și a vitezei de înot după 96 de ore, indicând un efect negativ asupra capacității de deplasare. În schimb, doza de 10 mg L^{-1} nu a produs modificări semnificative, dar a sugerat o tendință slab stimulatorie a activității locomotorii.

Comportamentul social a fost influențat pozitiv de doza mai mare de ALA (20 mg L^{-1}), manifestată printr-o creștere semnificativă a timpului petrecut în brațul labirintului cu stimul social. Aceasta indică o amplificare a preferinței sociale. Pe de altă parte, timpul petrecut în brațul fără stimul social a scăzut semnificativ comparativ cu lotul control, susținând o modificare clară a interacțiunii sociale.

Rezultatele evidențiază un efect dependent de doză al ALA asupra comportamentului peștelui zebură, cu o acțiune duală: doze moderate pot stimula într-o măsură redusă activitatea locomotorie și comportamentul social, în timp ce dozele ridicate afectează negativ performanța motorie, posibil prin efecte neurotoxice sau dezechilibre metabolice. Studiile anterioare sugerează că ALA poate modula neurotransmițătorii implicați în comportamentul social, cum ar fi serotonina și dopamina. De asemenea, efectele paradoxale asupra locomoției și sociabilității ar putea reflecta diferite căi neurofiziologice și posibile stări anxiogene.

Acest studiu subliniază importanța evaluării impactului antioxidanților asupra organismelor acvatice și evidențiază necesitatea unei monitorizări atente a dozelor utilizate, în contextul potențialului terapeutic, dar și toxic al ALA.

3.8. Studiul experimental 8: Efectul administrării quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 8 a investigat efectul quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură, cu accent pe performanța locomotorie și comportamentul social. Peștii au fost expuși timp de 96 de ore la două doze: $1 \mu\text{g L}^{-1}$ și $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, comparativ cu un grup control.

La doza mică nu s-au observat modificări semnificative comparativ cu lotul control în distanța parcursă sau viteza de înot. În schimb, doza mare a redus

semnificativ comparativ cu lotul control acest parametru, sugerând un efect negativ dependent de doză asupra activității locomotorii.

Comportamentul social a fost evaluat utilizând un labirint în formă de T. La doza mică, peștii au preferat zona cu stimul social, indicând un posibil efect anxiolitic. La doza mare, s-a remarcat o tendință de evitare socială, fără semnificație statistică.

Studiul concluzionează că quercetina are efecte doză-dependente: la doze mici, poate avea beneficii antioxidante și neuroprotective, iar la doze mari poate deveni toxică, afectând funcțiile motorii și sociale. Aceste rezultate subliniază necesitatea unei evaluări toxicologice riguroase pentru utilizarea quercetinei în scopuri biologice sau farmaceutice.

3.9. Studiul experimental 9: Efectul administrării arsenului și ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 9 a analizat efectele expunerii la $50 \mu\text{g L}^{-1}$ arsen, 100 mg L^{-1} ampicilină și asocierea lor asupra locomoției și comportamentului social la peștele zebură.

Rezultatele au arătat că arsenul și asocierea arsenului cu ampicilină au redus semnificativ distanța parcursă și viteza de înot comparativ cu lotul control, indicând afectarea funcției locomotorii. Comparativ, ampicilina administrată individual a avut un efect mai redus, dar asocierea cu arsenul a intensificat toxicitatea.

În testul de sociabilitate, toate grupurile tratate au manifestat o scădere a preferinței sociale comparativ cu lotul control, petrecând mai puțin timp în zona cu stimul social. Ampicilina și asocierea acesteia cu arsen au indus și o tendință de evitare activă, sugerând un nivel ridicat de anxietate.

Concluziile evidențiază că arsenul și ampicilina, în special în asociere, pot avea efecte neurotoxice semnificative chiar la doze mici, subliniind riscurile ecotoxicologice ale contaminanților combinați în ecosistemele acvatice.

3.10 Studiul experimental 10: Efectul arsenului și deltametrinului asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 10 a investigat efectele expunerii la $50 \mu\text{g L}^{-1}$ arsen, $2 \mu\text{g L}^{-1}$ deltametrin și asocierea acestora asupra comportamentului peștelui zebură.

Testul de performanță a înotului s-a evidențiat o scădere semnificativă a distanței parcurse și a vitezei de înot în toate grupurile tratate comparativ cu lotul control, cu efecte mai accentuate în asocierea arsenului cu deltametrin, sugerând o afectare severă a funcției locomotorii.

În testul de sociabilitate, toți peștii expuși au evitat stimulul social, petrecând mai mult timp în zona fără stimul, indicând un comportament anxiogen sau afectarea recunoașterii sociale. Diferențele observate între arsen și deltametrin sugerează mecanisme neurotoxice distincte.

Rezultatele evidențiază un efect semnificativ, cu un posibil sinergic asupra funcției motorii și sociale, cu implicații ecologice importante asupra supraviețuirii și dinamicii populațiilor acvatice.

3.11 Studiul experimental 11: Efectul deltametrinului și ampicilinei asupra comportamentului peștelui zebură

În testul de performanță a înotului, după 96 de ore de expunere, s-a observat că deltametrinul ($2 \mu\text{g L}^{-1}$) a redus semnificativ distanța totală parcursă și viteza de înot a peștilor zebură comparativ cu controlul ($p < 0,001$). Ampicilina (100 mg L^{-1}) administrată individual nu a afectat atât de puternic performanța locomotorie, dar asocierea de deltametrin și ampicilină a accentuat scăderea vitezei și distanței parcurse comparativ cu controlul, indicând un efect potențat al celor două substanțe.

Toate grupurile tratate au petrecut semnificativ mai puțin timp în brațul labirintului cu stimul social ($p < 0,001$) și mai mult timp în brațul fără stimul social, comparativ cu lotul control. Aceste modificări indică o reducere a interesului pentru interacțiunea socială și o posibilă creștere a anxietății sau alterarea proceselor cognitive legate de recunoașterea socială.

Rezultatele confirmă efectul neurotoxic puternic al deltametrinului asupra performanței motorii a peștelui zebură, datorat interferenței cu canalele de sodiu neuronale. Modificările comportamentului social sugerează afectarea circuitelor neuronale implicate în interacțiunea socială și posibile tulburări emoționale sau cognitive.

3.12 Studiul experimental 12: Efectul administrării clorurii de metil mercur și amoxicilinei asupra comportamentului peștelui zebură

După 96 de ore de expunere, toate grupurile tratate cu amoxicilină, clorură de metil mercur sau asocierea lor au prezentat o reducere semnificativă a distanței totale parcurse și a vitezei de înot față de grupul control ($p < 0,001$). Comparativ, asocierea celor două substanțe a avut un efect mai puternic decât administrarea individuală, indicând un posibil efect sinergic sau aditiv asupra motilității peștilor. Aceste modificări pot reflecta perturbări neurotoxice, stres oxidativ sau disfuncții metabolice induse de contaminanți.

Timpul petrecut în brațul cu stimul social a fost semnificativ redus în toate grupurile tratate, indicând o diminuare a sociabilității ($p < 0,01$). De asemenea, peștii expuși au petrecut mai mult timp în brațul fără stimul social comparativ cu lotul control, ceea ce sugerează o creștere a nivelului de anxietate sau o evitare activă a interacțiunii sociale. Aceste modificări sunt compatibile cu efecte neurotoxice și afectări ale proceselor cognitive și emoționale induse de contaminanți.

Rezultatele arată că expunerea la amoxicilină și clorură de metil mercur, atât individual, cât și asociat, afectează negativ comportamentul locomotor și social al peștelui zebură, evidențiind un impact neurotoxic. Efectele asociate pot fi mai severe, ceea ce subliniază importanța evaluării ecotoxicologice în condiții care reflectă contaminarea reală, adesea cu amestecuri de poluanți.

3.13. Studiul experimental 13: Efectul administrării nanoparticulelor de dioxid de siliciu și a NAC asupra comportamentului și stresului oxidativ la peștele zebură

Studiul experimental 13 a urmărit investigarea efectele nanoparticulelor de SiO_2 și ale NAC asupra comportamentului și stresului oxidativ la peștii zebură. Expunerea la $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ nanoparticule de SiO_2 a determinat o creștere semnificativă a activității locomotorii, evidențiată printr-o distanță totală parcursă și o viteză de înot crescute în comparație cu lotul control, indicând un comportament de tip hiperactiv. Totodată, peștii expuși la nanoparticule de SiO_2 au prezentat o reducere semnificativă a sociabilității, petrecând mai puțin timp în zona cu stimul social, ceea ce indică un comportament social afectat.

Administrarea NAC, în doza de 10 mg L^{-1} , a atenuat hiperactivitatea indusă de nanoparticule, sugerând un posibil efect protector. Cu toate acestea, NAC nu a reușit să restabilească complet interesul social diminuat în urma expunerii la nanoparticule de SiO_2 .

În ceea ce privește preferințele pentru culori, expunerea la nanoparticule de SiO_2 a determinat o scădere a distanței totale parcurse în zona preferată, afectând comportamentul vizual. NAC administrată individual nu a modificat aceste preferințe, însă co-administrarea sa cu nanoparticule a prevenit parțial efectele negative ale nanoparticulelor de SiO_2 . Peștii expuși la nanoparticule de SiO_2 au petrecut mai mult timp în zona roșie, culoare pe care în mod normal o evită, iar NAC a redus acest comportament anormal. De asemenea, nanoparticulelor de SiO_2 a scăzut timpul petrecut în zona verde, considerată preferată, iar NAC a ameliorat această scădere. Nanoparticulele de SiO_2 au redus viteza de înot, în timp ce NAC a contribuit la creșterea acesteia, contracarând parțial efectul negativ.

La nivel biochimic, expunerea la nanoparticulele de SiO_2 a crescut activitatea enzimelor antioxidante (SOD, CAT, GPx), sugerând un nivel ridicat de stres oxidativ. Administrarea de NAC a redus această activitate enzimatică, evidențiind potențialul său antioxidant, deși nu a restabilit complet valorile markerilor biochimici.

Nivelul MDA a fost, de asemenea, crescut în urma expunerii, iar NAC a determinat o reducere parțială a acestuia.

În concluzie, nanoparticulele de SiO₂ au indus hiperactivitate locomotorie, reducerea sociabilității și alterarea preferințelor comportamentale și vizuale la peștii zebură. NAC a exercitat un efect protector parțial, reducând stresul oxidativ și ameliorând manifestările comportamentale, ceea ce susține potențialul său ca agent neuroprotector în contextul expunerii la nanoparticule.

3.14. Studiul experimental 14: Efectul administrării amoxicilinei, clorurii de metil mercur și acidului α -lipoic asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 14 a evaluat efectele amoxicilinei, clorurii de metil mercur și acidului α -lipoic asupra comportamentului peștelui zebură. Expunerea la amoxicilină și clorură de metil mercur a redus semnificativ distanța totală parcursă și viteza de înot comparativ cu controlul, indicând un efect toxic asociat asupra mobilității. Deși, acidul α -lipoic poate reduce temporar activitatea locomotorie, administrarea sa concomitentă cu celelalte substanțe a avut un efect protector, ameliorând performanța locomotorie.

În ceea ce privește comportamentul social, peștii expuși la amoxicilină și clorură de metil mercur au petrecut mai puțin timp în zonele de explorare, sugerând un comportament anxios sau posibile alterări cognitive. Acidul α -lipoic a redus aceste efecte negative, indicând un potențial rol neuroprotector.

În concluzie, amoxicilina și clorură de metil mercurul au efecte negative sinergice asupra comportamentului locomotor și social, iar acidul α -lipoic oferă o protecție parțială împotriva acestor modificări, evidențiind potențialul său terapeutic în reducerea toxicității chimice la pești.

3.15. Studiul experimental 15: Efectul administrării ampicilinei, arsenului și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 15 a investigat efectele administrării ampicilinei, arsenului și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură. În ceea ce privește performanța locomotorie, testele realizate în labirintul T au arătat că expunerea asociată la arsen și ampicilină determină o reducere semnificativă a distanței totale parcurse și a vitezei de înot, indicând o afectare motorie severă. Administrarea quercetinei individual a avut un efect ușor stimulator asupra activității locomotorii, însă fără semnificație statistică. Administrarea quercetinei în asociere cu arsen și ampicilină, s-a observat o ameliorare parțială a performanței locomotorii, deși valorile rămăneau sub cele ale grupului control.

În ceea ce privește comportamentul social, expunerea la arsen și ampicilină a redus semnificativ timpul petrecut în zona cu stimul social și a crescut timpul petrecut în zona fără stimul social, semnalând evitarea socială și afectarea comportamentului social. Administrarea concomitentă a quercetinei a crescut timpul petrecut în zona socială și a redus timpul în zona non-socială, sugerând un efect ameliorativ parțial. Grupul unde s-a administrat arsen și ampicilină a prezentat, de asemenea, o mobilitate generală redusă și o durată crescută a imobilității, ceea ce indică o posibilă afectare a funcției motorii și efecte neurotoxice sau anxiogene. Quercetina administrată în asociere a redus semnificativ durata imobilității, apropiind valorile de cele ale grupului control.

În concluzie, asocierea arsenului cu ampicilină are un impact toxic puternic asupra funcției motorii și comportamentului social al peștelui zebură, probabil prin mecanisme ce implică stres oxidativ și afectarea sistemului nervos. Quercetina oferă o protecție parțială datorită proprietăților antioxidante și antiinflamatoare, însă nu restabilește complet funcțiile afectate. Aceste rezultate recomandă continuarea cercetărilor pentru optimizarea dozelor și duratei tratamentului cu quercetină și pentru elucidarea mecanismelor moleculare implicate în efectele sale neuroprotectoare.

3.16. Studiul experimental 16: Efectul administrării deltametrinului, ampicilinei și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură

Studiul experimental 16 a analizat efectele administrării deltametrinului, ampicilinei și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebură, cu accent pe performanța locomotorie și comportament social. Rezultatele au arătat că peștii expuși la asocierea deltametrinului cu ampicilină (lotul 3) au parcurs o distanță semnificativ mai mică și au avut o viteză de înot redusă comparativ cu lotul control. În schimb, administrarea quercetinei, atât individual (lotul 2), cât și în asocierea deltametrinului cu ampicilină (lotul 4), a condus la o creștere semnificativă a distanței parcurse și a vitezei de înot comparativ cu lotul control, indicând un efect benefic asupra performanței locomotorii și o posibilă activare comportamentală accentuată în condiții de stres toxic.

În ceea ce privește comportamentul social, testul de sociabilitate a evidențiat diferențe semnificative între grupurile experimentale. Timpul petrecut în brațul labirintului cu stimul social a fost influențat de administrarea quercetinei și a combinației celor trei substanțe, modificând semnificativ preferințele pentru interacțiuni sociale. De asemenea, timpul petrecut în brațul fără stimul social a variat între grupuri, ceea ce reflectă impactul tratamentelor asupra preferinței spațiale și comportamentului social în condiții de stres.

Discuțiile studiului au subliniat că quercetina, în doză de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, exercită un efect de stimulare asupra comportamentului locomotor și poate reduce manifestările anxioase, favorizând adaptarea la condiții de stres sau agresivitate percepută. De asemenea, interacțiunea sinergică între deltametrin, ampicilină și quercetină pare să amplifice aceste efecte pozitive, sugerând o protecție comportamentală și fiziologică sporită. Rezultatele susțin necesitatea continuarea cercetărilor pentru înțelegerea mecanismelor moleculare ale acestei interacțiuni complexe și pentru evaluarea potențialului terapeutic al quercetinei în ameliorarea efectelor toxice.

3.17. Studiul experimental 17: Efectul administrării arsenului, deltametrinului și quercetinei asupra comportamentului peștelui zebră

Administrarea quercetinei a avut un efect favorabil asupra comportamentului locomotor și social al peștelui zebră expus la deltametrin și arsen. Peștii cărora li s-a administrat asocierea celor trei substanțe au prezentat o distanță mai mare parcursă și o viteză de înot crescută comparativ cu lotul control, indicând o activare locomotorie accentuată. În plus, în testul de sociabilitate, aceștia au petrecut mai mult timp în apropierea altor indivizi, comparativ cu loturile tratate doar cu deltametrin și arsen. Aceste rezultate sugerează că quercetina, în concentrația utilizată, poate reduce impactul negativ al stresului indus de poluanți și poate susține comportamente adaptative îmbunătățite în medii toxice.

CONCLUZII

Studiile evidențiază impactul semnificativ al contaminanților emergenți, precum antibioticele, pesticidele, metalele grele și nanoparticulele de SiO_2 , asupra comportamentului locomotor, anxios și social al peștelui zebură, specie model în ecotoxicologie. Expunerea la acești poluanți a condus la alterări notabile ale activității motorii, prin scăderea distanței parcurse și a vitezei de înot, precum și ale comportamentului social, cu o tendință marcată de evitare a stimulilor sociali, sugerând un posibil efect anxiogen sau neurotoxic.

În cazul nanoparticulelor de SiO_2 s-a observat o hiperactivitate locomotorie și modificări ale preferințelor cromatice, ceea ce sugerează afectarea sistemelor senzoriale sau un dezechilibru neurochimic. De asemenea, asocierile de poluanți, cum ar fi arsenul asociat cu deltametrin sau ampicilină, au generat efecte mai severe decât cele observate în cazul substanțelor individuale, evidențiind interacțiuni sinergice sau cumulative între compuși.

Administrarea unor antioxidanți, precum quercetina, acidul α -lipoic și N-acetilcisteina, a dus la o ameliorare parțială a performanței locomotorii și a comportamentului social, sugerând un efect protector moderat. În ciuda acestei protecții, comportamentul normal nu a fost complet recuperat, indicând limitele acțiunii acestor substanțe în condiții de stres toxic combinat.

Rezultatele obținute susțin utilizarea peștelui zebură ca model ecotoxicologic sensibil pentru testarea efectelor comportamentale ale poluanților acvatici și subliniază necesitatea unei monitorizări mai riguroase a contaminanților emergenți în ecosisteme acvatice reale, precum și a dezvoltării unor strategii eficiente de atenuare a efectelor toxice prin intermediul compușilor cu potențial antioxidant.

Bibliografie selectivă

- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. American Veterinary Medical Association, 2020.
<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
- Beffagna G. Zebrafish as a smart model to understand Regeneration after heart Injury: How fish could help humans. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2019;6. DOI:10.3389/fcvm.2019.00107
- Bhagwat S, Haytowitz DB, Holden JM. USDA database for the flavonoid content of selected foods release 3 prepared by USDA database for the flavonoid content of selected foods release 3 prepared by. U.S. Department of Agriculture; 2011. p. 1-156
- Coral JA, Heaps S, Glaholt SP, Karty JA, Jacobson SC, Shaw JR, Bondesson M. Arsenic exposure induces a bimodal toxicity response in zebrafish. *Environ Pollut*. 2021 Oct 15;287:117637. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117637.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2023. Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) - Annual Epidemiological Report 2022. Stockholm: ECDC.
- Ghiga I, Pitchforth E, Lundborg CS, Machowska A. Family doctors' roles and perceptions on antibiotic consumption and antibiotic resistance in Romania: a qualitative study. *BMC Primary Care*. 2023;24(1). DOI:10.1186/s12875-023-02047-z.
- Gibb H, Haver C, Gaylor D, Ramasamy S, Lee JS, Lobdell D, Wade T, Chen C, White P, Sams R. Utility of Recent Studies to Assess the National Research Council 2001 Estimates of Cancer Risk from Ingested Arsenic. *Environmental Health Perspectives*. 2010;119(3):284-290. DOI:10.1289/ehp.1002427.
- Janjua TI, Cao Y, Kleitz F, Linden M, Popat A. Silica nanoparticles: A review of their safety and current strategies to overcome biological barriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2023;203:115115. DOI:10.1016/j.addr.2023.115115.

- Maselli KM, Gee K, Isani M, Fode A, Schall KA, Grikscheit TC. Broad-spectrum antibiotics alter the microbiome, increase intestinal *fxr*, and decrease hepatic steatosis in zebrafish short bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020 Aug 1;319(2):G212-G226. DOI: 10.1152/ajpgi.00119.2020.
- Namvarpour Z, Nasehi M, Amini A, Zarrindast MR. Protective role of alpha-lipoic acid in impairments of social and stereotyped behaviors induced by early postnatal administration of thimerosal in male rat. *Neurotoxicol Teratol*. 2018 May-Jun;67:1-9. DOI: 10.1016/j.ntt.2018.02.002.
- Pany S, Pal A, Sahu PK. Neuroprotective effect of quercetin in neurotoxicity induced rats: role of neuroinflammation in neurodegeneration. *Asian J Pharm Clin Res*. 2014 Sep;7(4):152-6.
- Reis CG, Mocelin R, Benvenuti R, Marcon M, Sachett A, Herrmann AP, Elisabetsky E, Piato A. Effects of N-acetylcysteine amide on anxiety and stress behavior in zebrafish. *Naunyn-Schmiedeberg S Archives of Pharmacology*. 2019;393(4):591-601. DOI:10.1007/s00210-019-01762-8
- Sakya A, Dodson M, Artiola JF, Ramirez-Andreotta M, Root RA, Ding X, Chorover J, Maier RM. Arsenic in drinking water and diabetes. *Water*. 2023;15(9):1751. DOI:10.3390/w15091751
- Smith LE, Carvan MJ, Dellinger JA, Ghorai JK, White DB, Williams FE, Weber DN. Developmental selenomethionine and methylmercury exposures affect zebrafish learning. *Neurotoxicology and Teratology*. 2009;32(2):246-255. DOI:10.1016/j.ntt.2009.09.00
- Tripathi AK, Ray AK, Mishra SK, Bishen SM, Mishra H, Khurana A. Molecular and Therapeutic Insights of Alpha-Lipoic Acid as a Potential Molecule for Disease Prevention. *Rev Bras Farmacogn*. 2023;33(2):272-287. DOI: 10.1007/s43450-023-00370-1. Epub 2023 Feb 7. PMID: 36778891; PMCID: PMC9904877.
- Yadav RK, Shinde ND, Patil KT, Kote A. Deltamethrin toxicity: impacts on non-target organisms and the environment. *Environ Ecol*. 2023 Sep;41(3D):2039-2043. DOI:10.60151/envec/VFHT1065.
- Zhang XD, Liu XQ, Kim YH, Whang WK. Chemical constituents and their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities from leaves of

Acanthopanax henryi: potential complementary source against Alzheimer's disease. Arch Pharm Res. 2014 May;37(5):606-16. DOI: 10.1007/s12272-013-0252-x. Epub 2013 Oct 2. PMID: 24085630.

ANEXE

Anexa 1- Diseminarea rezultatelor

Lista lucrărilor publicate

I. Articole ISI publicate ce conțin rezultate ale tezei de doctorat

1. **Rarinca V**, Nicoara MN, Plavan IG, Visternicu M, Ionescu C, Ciobîcă A, Behavioral effects of acute exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to arsenic and ampicillin, and the protective role of quercetin, Present Environment and Sustainable Development, **2025**, (F.I.=0,5; zona gri/Q3 pentru Geography)
2. **Rarinca V**, Nicoara MN, Ureche D, Ciobica A. Exploitation of Quercetin's Antioxidative Properties în Potential Alternative Therapeutic Options for Neurodegenerative Diseases, Antioxidants, **2023**, 12, no. 7: 1418. <https://doi.org/10.3390/antiox12071418> (F.I.=6.0; zona verde /Q1)

II. Articole ISI publicate în afara subiectului tezei de doctorat, dar în același domeniu de cercetare

1. **Rarinca V**, Hritcu LD, Burducea M, Plavan G, Lefter R, Burlui V, Romila L, Ciobîcă A, Todirascu-Ciornea E, Barbacariu C-A. Assessing the Influence of Low Doses of Sucrose on Memory Deficits in Fish Exposed to Common Insecticide Based on Fipronil and Pyriproxyfen, Current Issues in Molecular Biology, 46(12), **2024**, 14168-89. (F.I.=2.8, zona gri/Q3)
2. Paduraru E, Iacob D, **Rarinca V**, Plavan G, Ureche D, Jijie R, Nicoara M. Zebrafish as a Potential Model for Neurodegenerative Diseases: A Focus on Toxic Metals Implications, International Journal of Molecular Sciences **2023**. 24, no. 4: 3428. <https://doi.org/10.3390/ijms24043428> (F.I.=5,6; zona

roșie/Q1 pentru Biochemistry and Molecular Biology) Certificat of publication-Highly Cited Papers of IJMS în 2023.

3. Paduraru E, Iacob D, **Rarinca V**, Rusu A, Jijie R, Ilie O-D, Ciobica A, Nicoara M, Doroftei B. Comprehensive Review Regarding Mercury Poisoning and Its Complex Involvement în Alzheimer's Disease, International Journal of Molecular Sciences, **2022**. 23, no. 4: 1992. <https://doi.org/10.3390/ijms23041992> (F.I.=5,6; zona roșie/Q1 pentru *Biochemistry and Molecular Biology*) Certificat of publication-Highly Cited Papers of IJMS în 2022.

II. Articole BDI publicate ce conțin rezultate ale tezei de doctorat

1. **Viorica Rarinca**, Visternicu Malina, Ionescu Catalina, Ciobică Alin, Nicoară Mircea. Neuropsychiatric impact of antibiotic administration on social behavior în zebrafish: Investigating the antioxidant role of alpha lipoic acid, Bulletin of Integrative Psychiatry. **2024**. 4(103):53-62. 10.36219/BPI.2024.4.05.

III. Participări la manifestări științifice internaționale

1. **Viorica Rarinca**, Gabriel Plăvan, Angelica Rusu, Alin Ciobica, Mircea Nicoară, prezentare orală cu titlul "Zebrafish as a model to study the effects of environmental concentrations of antibiotics", International Conference on Innovation and Recent Trends în Engineering and Science", 10-11 iunie 2023

IV. Participări la manifestări științifice naționale

1. **Viorica Rarinca**, Visternicu Malina, Ionescu Catalina, Ciobică Alin, Burlui Vasile. Behavioral Impairments in Zebrafish (*Danio rerio*) Following Acute Mercuric Chloride (HgCl_2) Exposure, Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași, Pregătim viitorul promovând excelența Ediția a XXXV-a, 27 februarie-1 martie 2024, Iași, Romania
2. **Viorica Rarinca**, Mircea Nicoara, Vasile Burlui, Alin Ciobica, Catalina Ionescu, prezentare orală cu titlu “The single and combined effects of ampicillin and quercetin on the social behavior in zebrafish’, Natural Science în the dialogue of generatons, editia VII, Septembrie 12-13, Chișinău, Republica Moldova, 2024
3. **Viorica Rarinca**, Alin Ciobica, Mircea Nicoară, prezentare orală cu titlul “The single and combined effects of ampicillin and alpha lipoic acid on the social behavior în zebrafish”, Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași, Pregătim viitorul promovând excelența Ediția a XXXIV-a, 29 februarie-3 martie 2024, Iași, Romania
4. **Viorica Rarinca**, Alin Stelian Ciobica, Mircea Nicoara, poster cu titlu „Effects of single and combined arsenic and ampicillin treatments on social behavior”, *November 2-4, 2023, Bacău, Romania*
5. **Viorica Rarinca**, Alin Ciobică, Alin-Constantin Dîrțu, Gabriel Plăvan, Mircea Nicoară, prezentare orală cu titlul „Toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals în the environment: a fish perspective”, Present Environment and Sustainable Development, cu participare internațională, Iași, 2021
6. **Viorica Rarinca**, Alin Ciobică, Alin-Constantin Dîrțu, Gabriel Plăvan, Mircea Nicoară, prezentare orală cu titlul „Pesticides and industrial compounds’ impact on zebrafish (*Danio rerio*) social behaviour”, Present

Environment and Sustainable Development, cu participare internațională,
Iași, 2020