



## Ихтиофауна морских и континентальных водоемов

УДК 574.64:(678.073+597.4/.5)

[https://doi.org/10.47921/2619-1024\\_2024\\_7\\_4\\_92](https://doi.org/10.47921/2619-1024_2024_7_4_92)

EDN: SOEAWA



**Для цитирования:** Анненков В.В., Пальшин В.А., Лунина Н.А., Даниловцева Е.Н., Зелинский С.Н., Костров С.В., Сафина Д.Р. Влияние наночастиц промышленных пластиков на модельных рыб *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Водные биоресурсы и среда обитания*. 2024. Т. 7, № 4: 92–105. [https://doi.org/10.47921/2619-1024\\_2024\\_7\\_4\\_92](https://doi.org/10.47921/2619-1024_2024_7_4_92).

**For citation:** Annenkov V.V., Palshin V.A., Lunina N.A., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N., Kostrov S.V., Safina D.R. Influence of nanoparticles of industrial plastics on model fish *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Aquatic Bioresources & Environment*. 2024. Vol. 7, no. 4: 92–105. [https://doi.org/10.47921/2619-1024\\_2024\\_7\\_4\\_92](https://doi.org/10.47921/2619-1024_2024_7_4_92). (In Russian).

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПЛАСТИКОВ НА МОДЕЛЬНЫХ РЫБ *DANIO RERIO* (HAMILTON, 1822)

В. В. Анненков<sup>1\*</sup>, В. А. Пальшин<sup>1</sup>, Н. А. Лунина<sup>2</sup>,  
Е. Н. Даниловцева<sup>1</sup>, С. Н. Зелинский<sup>1</sup>, С. В. Костров<sup>2</sup>, Д. Р. Сафина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИИ СО РАН),  
Иркутск 664033, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва 123182, Россия  
\*E-mail: [annenkov@lin.irk.ru](mailto:annenkov@lin.irk.ru)

### Аннотация

**Введение.** Наночастицы промышленных пластиков рассматриваются в качестве потенциально опасных загрязнителей водоемов из-за способности проникать в живые клетки путем эндоцитоза. **Актуальность.** Изучение действия нанопластиков на гидробионтов в концентрациях, ожидаемых для природных вод, является актуальным для разработки природоохранных мероприятий в контексте индустриального развития общества. **Цель.** В данной работе изучено действие наночастиц полистирола, поливинилхлорида и полиметилметакрилата на модельный организм — рыб *Danio rerio* (Hamilton, 1822). **Методы.** Использовали флуоресцентные наночастицы диаметром 110–180 нм; их дисперсии не содержали токсичных стабилизаторов и консервантов. Культивирование в присутствии нанопластика проводили начиная со второго дня после фертилизации в течение 20–30 дней при высоких (1–15 мг/л) и трех месяцев при низких (0,01–0,1 мг/л) концентрациях. **Результаты.** Установлено, что наночастицы не оказывают значимого влияния на выживаемость эмбрионов и мальков при концентрациях 0,01–0,1 мг/л, что превышает ожидаемое наличие нанопластика в природных водах. При высоких концентрациях

(5–15 мг/л) выживаемость снижалась. Использование флуоресцентных наночастиц показало, что пластик в организм рыб проникает при использовании корма, способного ассимилировать наночастицы (инфузории), а при его замене на более крупные организмы (науплии) рыбы очищаются от нанопластика. Взрослые рыбы, пережившие воздействие нанопластика, способны к размножению на уровне контрольных групп, причем в случае воздействия высокой концентрации полимера (15 мг/л) аномалии в развитии эмбрионов отсутствуют, в отличие от контрольных особей. Можно предположить, что высокая концентрация нанопластика действует в качестве фактора отбора, снижая долю особей с генетическими отклонениями, хотя данная гипотеза нуждается в тщательной проверке с использованием молекулярно-генетических и биохимических методов. **Выводы.** Полученные результаты указывают на отсутствие значимого влияния нанопластика на *D. rerio* при возможных природных концентрациях и могут использоваться для разработки методических подходов к изучению воздействия нанопластиков на другие организмы, включая промысловых рыб.

**Ключевые слова:** *Danio rerio*, зебрафиш, нанопластик, флуоресценция, токсичность

## INFLUENCE OF NANOPARTICLES OF INDUSTRIAL PLASTICS ON MODEL FISH *DANIO RERIO* (HAMILTON, 1822)

V. V. Annenkov<sup>1\*</sup>, V. A. Palshin<sup>1</sup>, N. A. Lunina<sup>2</sup>,  
E. N. Danilovtseva<sup>1</sup>, S. N. Zelinskiy<sup>1</sup>, S. V. Kostrov<sup>2</sup>, D. R. Safina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),  
Irkutsk 664033, Russia*

<sup>2</sup>*National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow 123182, Russia*

\*E-mail: annenkov@lin.irk.ru

### Abstract

**Background.** Nanoparticles of industrial plastics are considered as potentially hazardous contaminants of water bodies due to their ability to penetrate living cells by endocytosis. **Relevance.** Study of the effects of nanoplastics on hydrobionts at concentrations expected for natural waters is crucial for the implementation of environmental protection measures in the context of societal industrial development. **Aim.** In this work, the effect of polystyrene, polyvinyl chloride and polymethyl methacrylate nanoparticles on a model organism—fish *Danio rerio* (Hamilton, 1822)—has been studied. **Methods.** Fluorescent nanoparticles with a diameter of 110–180 nm were used; their dispersions did not contain toxic stabilizers and preservatives. Cultivation in the presence of nanoplastic was carried out starting from the second day after fertilization for 20–30 days at high (1–15 mg/L) and three months at low (0.01–0.1 mg/L) concentrations. **Results.** Nanoparticles were found to have no significant effect on embryo and fry survival at concentrations of 0.01–0.1 mg/L, which exceeds the expected presence of nanoplastic in natural waters. At higher concentrations (5–15 mg/L), survival rates decreased. The use of fluorescent nanoparticles showed that plastic is ingested by fish through food sources capable of assimilating nanoparticles (infusoria), and when their feed is replaced by larger organisms (nauplii), the fish are cleared of nanoplastic. Adult fish surviving influence of nanoplastic are able to reproduce at the level of control groups, and in case of exposure to high concentration of polymer (15 mg/L) there are no abnormalities in embryo development, in contrast to the individuals in the control groups. It can be assumed that the high concentration of nanoplastic acts as a selection factor, reducing the proportion of individuals with genetic abnormalities, although this hypothesis needs careful testing using molecular genetics and biochemical methods. **Conclusion.** The results obtained indicate that there is no significant effect of nanoplastics on *D. rerio* at possible natural concentrations; these results can be used to develop methodological approaches to studying the effects of nanoplastics on other organisms, including commercial fish.

**Keywords:** *Danio rerio*, zebrafish, nanoplastic, fluorescence, toxicity

## ВВЕДЕНИЕ

Существование современного индустриального общества невозможно без интенсивного использования полимерных материалов. Пластики используются как конструкционные материалы в строительстве, детали корпусов транспортных средств, материалы для различных бытовых применений. Загрязнение водоемов пластиками происходит различными путями, включая непосредственный сброс отходов и перенос из необорудованных хранилищ мусора, примеси волокон из синтетических тканей в сточных водах после стирки одежды, утерянные рыболовецкие сети. Изучение воздействия пластиковых частиц на живые организмы актуально для разработки мониторинговых и других природоохранных мероприятий, выработки стратегий развития промышленности, сельского хозяйства, здравоохранения и других аспектов жизни людей.

Актуальным видом пластикового загрязнения являются частицы микро- и нанопластиков, практически невидимые невооруженным глазом, но потенциально способные проникать в организмы гидробионтов. К микропластику принято относить частицы менее 5 мм [1], но определение нанопластика не столь однозначно. С одной стороны, под нанопластиком можно понимать частицы менее 1000 нм, способные не оседать в толще воды за счет броуновского движения [2]. С другой стороны, в качестве наночастиц часто рассматривают объекты менее 100 нм. В то же время предполагается, что особую опасность для живых организмов представляет способность нанопластиков проникать в клетки живых организмов за счет эндоцитоза. В качестве предельного размера для подобных частиц рассматривается 500 нм [3, 4], что можно считать верхней границей размеров частиц нанопластика.

Обнаружение и определение частиц микропластика в водоемах не представляет особой сложности. Размеры, форму и химическую природу этих частиц можно определять с помощью ИК-микроскопии и других достаточно доступных методов [5]. В случае нанопластиков ситуация осложняется большой удельной поверхностью частиц, обуславливающей сильную ассоциацию частиц друг с другом и другими органическими, а также неорганическими частицами в воде [6]. Выделение нанопластика из природной воды в чистом виде является трудноразрешимой задачей,

поскольку любое разрушающее воздействие на примеси может привести и к разрушению наночастиц пластика. С другой стороны, представление о возможном содержании нанопластика в природных водах необходимо для планирования экспериментов по его воздействию на гидробионты, включая рыб. Эксперименты по механической деструкции в воде (истиранию камнями) таких промышленных пластиков, как полистирол (ПС), поливинилхлорид (ПВХ) и полиметилметакрилат (ПММА), показали [7], что возможные концентрации нанопластиков в воде существенно ниже 0,01 мг/л.

Некоторые бактерии способны выделять ферменты, разлагающие углеводородные цепи [8]. Гетеротрофные и миксотрофные организмы, например, динофлагелляты [9], грибы [10], способны поглощать частицы нанопластиков, поскольку их размеры сопоставимы с размерами частиц пищи (вирусы, органические продукты распада живых организмов). В дальнейшем нанопластики утилизируются в лизосомах, в некоторых случаях оказывая токсическое действие. Организмы, находящиеся на более высоких уровнях развития, например, рыбы, обладают механизмами, защищающими их от неспецифического проникновения наночастиц, присутствующих в воде. С другой стороны, наночастицы могут попадать в организм рыб с пищей, в т. ч. с гетеротрофными микроорганизмами. Изучение влияния нанопластиков на рыб часто проводится с использованием *Danio rerio* (Hamilton, 1822), представляющего собой удобный модельный объект благодаря высокой плодовитости, внешнему оплодотворению и быстрому развитию, а также почти прозрачному эмбриону. С использованием этих рыб проводятся многочисленные эксперименты по токсикологии и изучению различных заболеваний человека [11]. Эксперименты с модельным организмом позволяют не только получить новые данные, но и отработать методические подходы, применимые к другим организмам.

К сожалению, эксперименты с нанопластиками с использованием *D. rerio* проводились либо при чрезмерно высокой концентрации нанопластика (более 1 мг/л) [12–15], либо в течение короткого времени (менее недели), не позволяющего проявиться потенциальным токсическим эффектам [15, 16]. Использование крайне мелких наночастиц (диаметр менее 50 нм) приводило к проник-

новению наночастиц в органы рыб [17–21], но существование подобных наночастиц в природе маловероятно из-за их высокой агрегационной и химической активности. Существенной проблемой ряда работ является коммерческое производство препаратов наночастиц, содержащих неизвестные стабилизаторы и консерванты.

В данной статье рассмотрено влияние наночастиц из ПСт, ПВХ и ПММА на выживаемость эмбрионов и личинок *D. rerio*, а также на фертильность взрослых особей и наличие отклонений в развитии потомства. Используются синтезированные авторами наночастицы диаметром 110–180 нм.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза наночастиц использовали ПВХ (Россия, Усолье-Сибирское) с молекулярной массой 1600 кДа, ПСт (Merk, 192 кДа) и ПММА из одноразовых спектрофотометрических кювет (BRAND GMBH + CO KG). Додецилсульфат натрия (SDS) использовали без предварительной подготовки. Тетрагидрофуран (ТГФ) кипятили с натрием в атмосфере аргона, фильтровали и перегоняли над  $\text{LiAlH}_4$  в атмосфере аргона. Ацетон очищали перегонкой. При синтезе наночастиц использовали дибензилфлуоресцеин (Merk) как флуоресцентный краситель.

Дисперсии наночастиц пластиков получали в соответствии с ранее разработанными методиками [7, 22]. Раствор полимера и флуоресцентного красителя в тетрагидрофуране (ацетоне для ПММА) добавляли по каплям к интенсивно перемешиваемому водному раствору SDS. Избыток SDS удаляли центрифугированием частиц с последующим повторным суспендированием в воде и фильтрованием через шприцевой фильтр с порами 0,45 мкм. Размеры частиц измеряли методом динамического светорассеяния на приборе Photocor Complex. Концентрацию полимера в полученных дисперсиях определяли с помощью УФ-спектроскопии для ПСт, ИК-спектроскопии для ПВХ и гравиметрически для ПММА. Диаметр частиц ПСт составлял 180 нм, ПВХ — 110 нм и ПММА — 150 нм. Концентрация частиц в дисперсиях составляла 400–1500 мг/л.

В работе использовали линию *D. rerio* дикого типа АВ. Поддержание лабораторных линий *D. rerio* проводили с использованием проточно-рециркуляционной аквариумной системы для содержания рыб, оборудованной установками

для механической, химической, биологической и ультрафиолетовой очистки воды, соблюдая постоянство следующих параметров: рН 7,0–7,5; проводимость 180–350 мкСм/см; температура 28 °С (Aquarien-Bau Schwarz, Германия). В опытных и контрольных группах использовали эмбрионы одних и тех же нерестов.

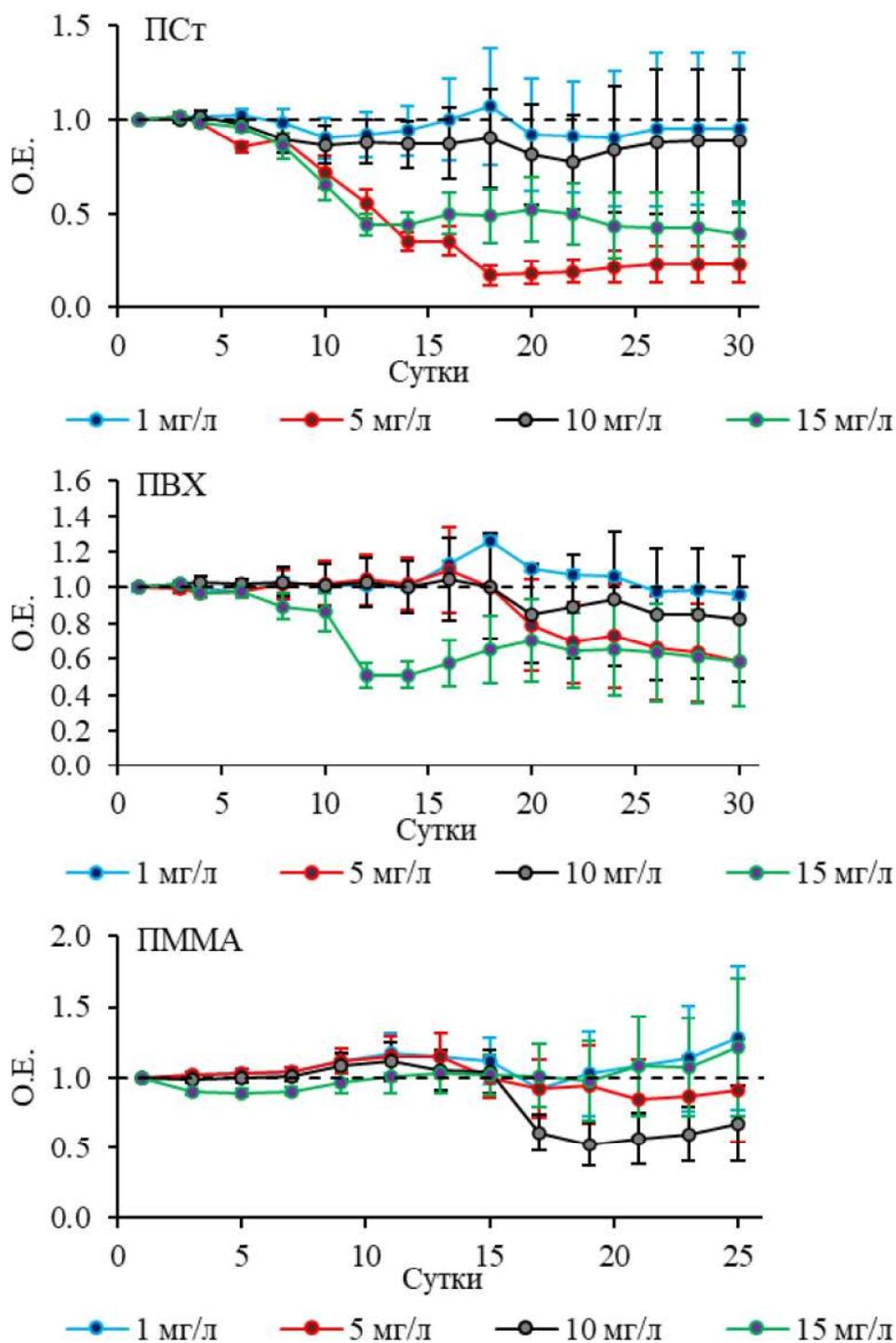
50–100 эмбрионов в возрасте 48 часов после фертилизации, предварительно дехлорированных механическим способом [23], помещали в аквариумные контейнеры объемом 1 л и добавляли 200 мл воды, содержащей пластиковые частицы. В контрольных группах эмбрионы помещали в воду без пластика. Ежедневно проводили 50%-ную подмену воды у рыб опытных и контрольных групп. На 29-е сутки эксперимента мальков переводили в аквариумы емкостью 2 л, куда добавляли 0,5 л воды, содержащей пластиковые частицы. Также была подведена дополнительная аэрация в каждый аквариум. На этой стадии экспериментов замену 50 % воды осуществляли один раз в два дня. Максимальная длительность содержания рыб в воде с пластиковыми частицами составляла 89 дней.

Кормление рыб проводили начиная с 4-го дня после фертилизации (дпф) 1 раз в сутки инфузурией *Paramecium caudatum* (Ehrenberg, 1838), с 10-го дпф науплиями *Artemia salina* (Linnaeus, 1758), а на 47-е сутки эксперимента дополнили кормление мальков сухим кормом TetraMin Baby (Tetra GmbH, Германия).

Биоимиджинг рыб опытных и контрольных групп, инфузурий и науплий проводили с использованием прямого флуоресцентного микроскопа Leica ICC50 HD (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия), а также конфокального микроскопа Zeiss LSM 900 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия), при увеличении от 50 до 100 раз.

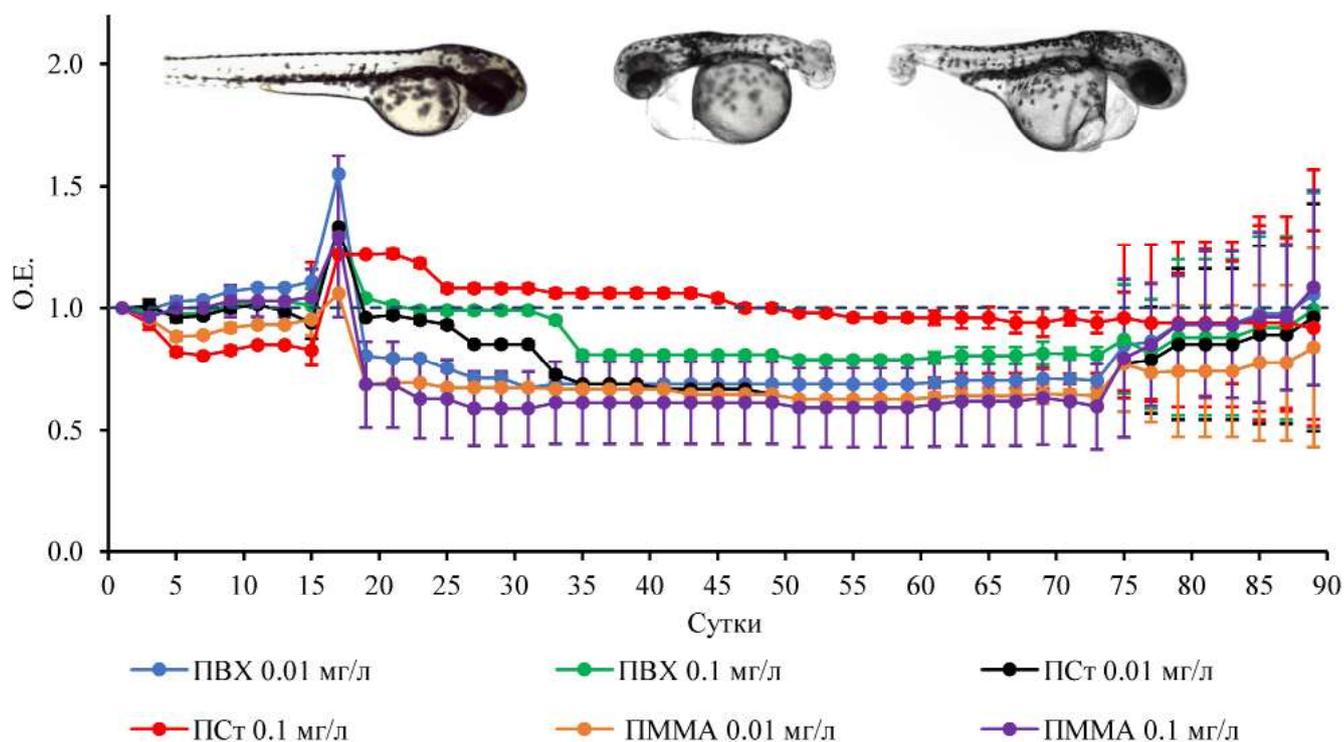
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выращивание мальков *D. rerio* в присутствии наночастиц пластиков в высоких концентрациях показало (рис. 1) отсутствие достоверного влияния нанопластика на выживаемость особей при концентрации 1 мг/л в течение 1 месяца. Повышение содержания пластика до 5–15 мг/л увеличивало гибель мальков, особенно в случае ПСт, но однозначной зависимости выживаемости от концентрации не удалось выявить. Длительное культивирование при концентрациях пластика 0,01 и 0,1 мг/л (рис. 2) приводило к понижению выживаемости



**Рис. 1.** Выживаемость развивающихся рыб *D. rerio* при выращивании в воде с высоким содержанием пластиковых частиц. По оси абсцисс отложена длительность эксперимента (сутки), по оси ординат — отношение уровня выживаемости особей в опытных группах к уровню выживаемости особей из контрольных групп

**Fig. 1.** Survival rate of developing *D. rerio* fish when grown in water with high content of plastic particles. The abscissa axis shows the duration of the experiment (days), while the ordinate axis shows the ratio of the survival rate of individuals in the experimental groups to the survival rate of individuals in the control groups



**Рис. 2.** Выживаемость развивающихся рыб *D. rerio* при выращивании в воде с низким содержанием пластиковых частиц. По оси абсцисс отложена длительность эксперимента (сутки), по оси ординат — отношение уровня выживаемости особей в опытных группах к уровню выживаемости особей из контрольных групп. Вставка: фотографии эмбрионов *D. rerio* на 2-й дпф; слева — нормальное развитие, по центру и справа — аномальное развитие эмбриона

**Fig. 2.** Survival rate of developing *D. rerio* fish when grown in water with low content of plastic particles. The abscissa axis shows the duration of the experiment (days), the ordinate axis shows the ratio of the survival rate of individuals in the experimental groups to the survival rate of individuals in the control groups. Inset: photos of *D. rerio* embryos on the 2<sup>nd</sup> dpf; left — normal embryo development, center and right — abnormal development

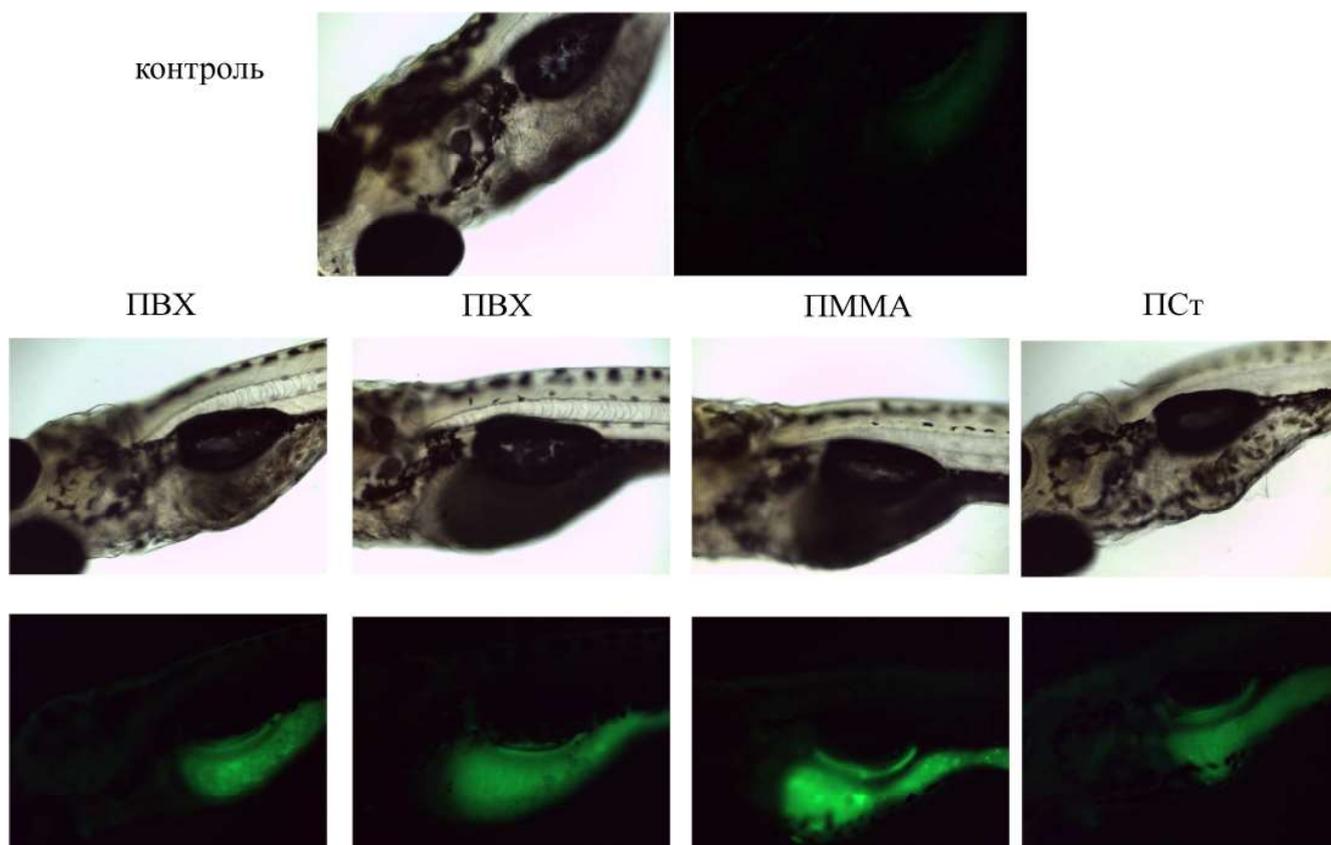
к окончанию 1–2-го месяца, но при достижении зрелого возраста (3 мес.) различия между контрольными и экспериментальными группами практически отсутствовали.

Используемые в работе наночастицы пластиков окрашены красителем на основе флуоресцеина, обеспечивающим зеленое свечение. Для анализа возможного присутствия пластиковых частиц в теле *D. rerio* проводили исследование рыб с использованием флуоресцентного и конфокального микроскопов. Показано (рис. 3), что на 5–7-й день у мальков, выращиваемых в воде с содержанием пластиковых частиц, наблюдается выраженное усиление флуоресцентного свечения развивающегося кишечника, по сравнению с особями из контрольной группы. По-видимому, это связано с поступлением пластиковых частиц с пищей (инфузории) через сформировавшееся ротовое

отверстие. Признаков свечения в других частях тела не обнаружено.

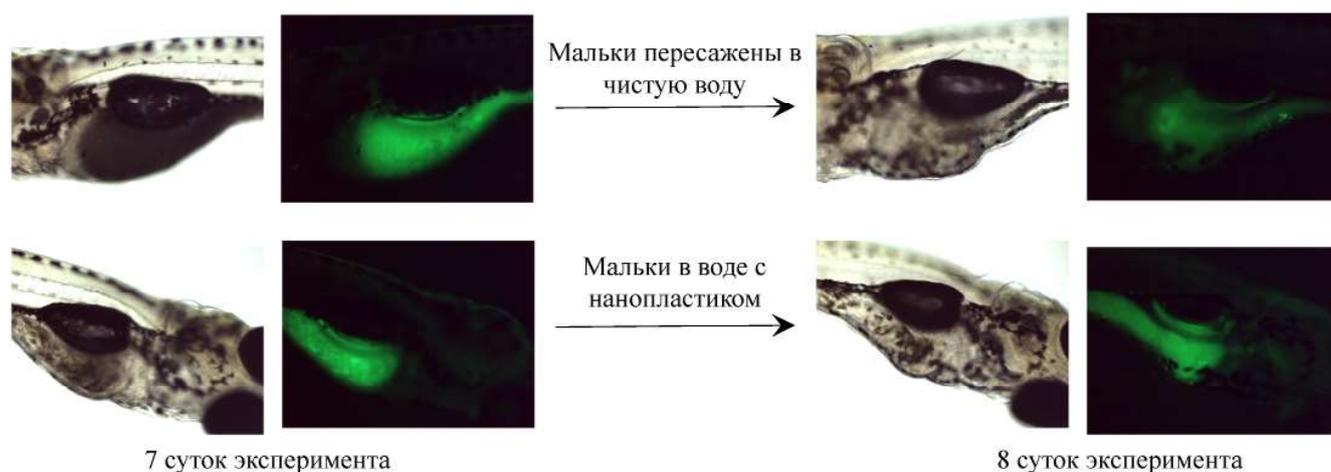
В дальнейшем свечение в желудочно-кишечном тракте мальков ослабевает (очевидно, в связи с активизацией функционирования кишечника) и к 20-му дню инкубации (через 10 дней после перехода на кормление науплиями) полностью исчезает. При переводе мальков после 6 дней инкубации в воду с содержанием пластиковых частиц в чистую воду угасание флуоресцентного свечения кишечника происходит через 1 день (рис. 4). В этом случае полное отсутствие флуоресценции наблюдается через 7 дней инкубации в чистой воде.

Наночастицы пластиков могут проникать в организм рыб как сами по себе, так и в составе корма. В связи с этим с помощью флуоресцентной микроскопии изучены инфузории *P. caudatum* и установлено (рис. 5), что через 4 ч пребывания в



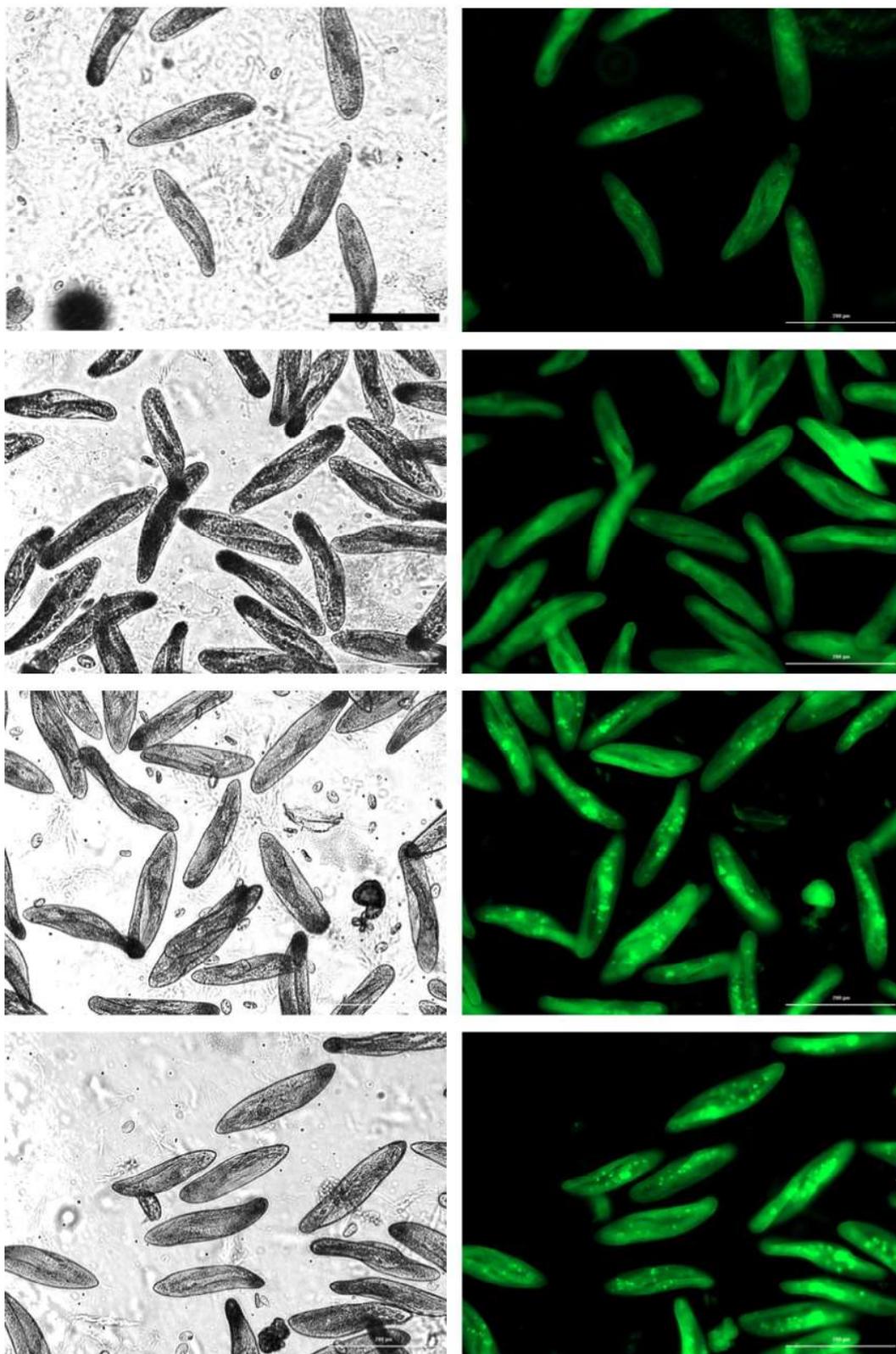
**Рис. 3.** Видимые и флуоресцентные изображения развивающихся мальков *D. rerio* после трех суток кормления инфузорией *P. caudatum* в присутствии наночастиц пластиков в концентрации 1 мг/л

**Fig. 3.** Visible and fluorescence images of developing *D. rerio* fry after three days of feeding with *P. caudatum* infusoria in the presence of 1 mg/L plastic nanoparticles



**Рис. 4.** Видимые и флуоресцентные изображения развивающихся мальков *D. rerio* после 6 суток кормления инфузорией *P. caudatum* в присутствии наночастиц ПВХ (1 мг/л) и последующего выдерживания в течение суток в воде без пластика

**Fig. 4.** Visible and fluorescence images of developing *D. rerio* fry after 6 days of feeding with *P. caudatum* infusoria in the presence of 1 mg/L PVC nanoparticles, followed by 1-day incubation in plastic-free water



**Рис. 5.** Видимые и флуоресцентные изображения инфузорий *P. caudatum* (сверху) и инфузорий после 4 ч культивирования в присутствии 0,05 мг/л наночастиц ПСт, ПВХ и ПММА (далее сверху вниз). Масштаб — 200 мкм

**Fig. 5.** Visible and fluorescence images of *P. caudatum* infusoria (top) and infusoria after 4 h of culturing in the presence of 0.05 mg/L of PSt, PVC and PMMA nanoparticles (further from top to bottom). Scale — 200 µm

воде с концентрацией наночастиц 0,05 мг/л клетки инфузорий содержат включения с сильной зеленой флуоресценцией, свидетельствующей о вхождении в клетки нанопластика. Культивирование науплий *A. salina* в присутствии нанопластиков не привело к вхождению наночастиц в их тела, с чем, вероятно, и связано удаление нанопластика из тел рыб после окончания кормления инфузориями.

Воздействие неблагоприятных факторов на живые организмы может приводить к генетическим нарушениям и, соответственно, снижению фертильности и аномалиям в развитии потомства. Мы изучили способность к размножению и аномалии в развитии потомства у рыб *D. rerio*, которые подвергались воздействию нанопластика в предыдущих экспериментах. Проводили скрещивание пар, достигших 6-месячного возраста, используя в качестве контроля особей из контрольной группы, участвовавших в тех же

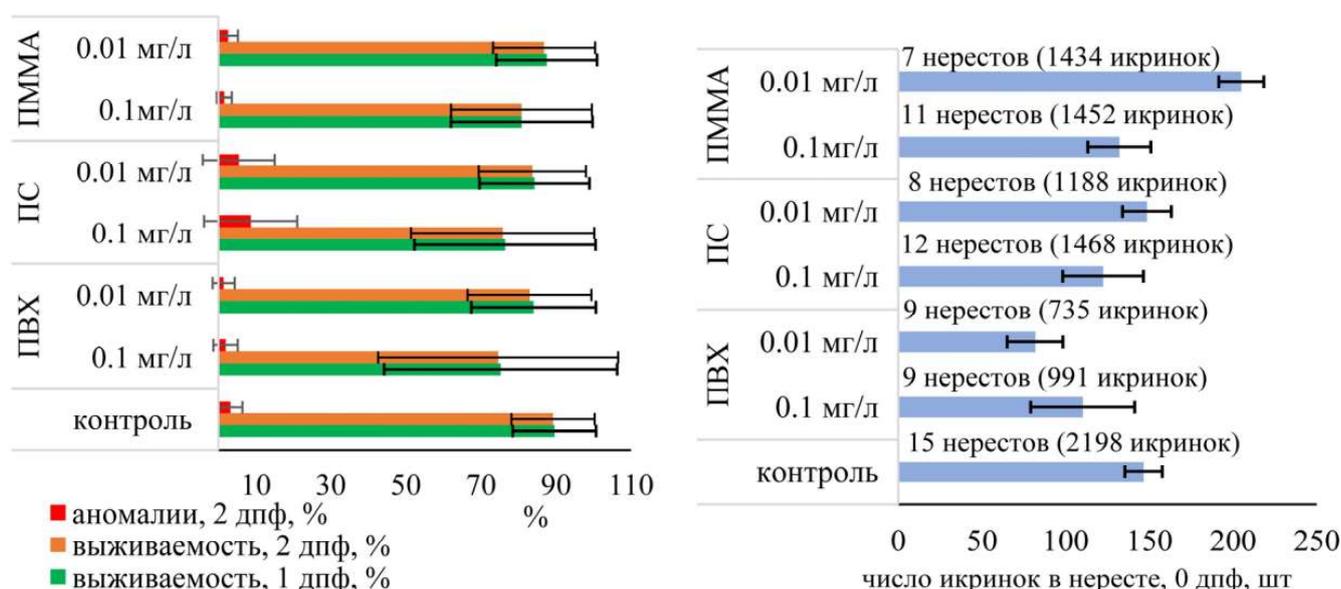
экспериментах по анализу выживаемости. Первый эксперимент проведен с использованием родительских пар, которые первый месяц жизни содержались в воде с наночастицами ПММА в концентрации 15 мг/л. Полученные результаты (таблица) указывают на несколько лучшую выживаемость эмбрионов, полученных от родителей, испытавших действие нанопластика. Также в этих группах отсутствуют эмбрионы с аномалиями развития (см. рис. 2), в отличие от контрольных групп.

Выживаемость эмбрионов и аномалии в развитии на второй день после фертилизации были изучены также для потомства рыб, которых первые три месяца жизни растили в воде с добавлением 0,1 и 0,01 мг/л пластиковых наночастиц (рис. 6). Полученные данные не показывают достоверного влияния нанопластика на способность рыб *D. rerio* к производству жизнеспособного потомства.

Выживаемость и аномальное развитие эмбрионов, полученных при скрещивании родительских пар, которые 1 месяц жизни содержались в воде с пластиковыми наночастицами ПММА в концентрации 15 мг/л

Survival and abnormal development of the embryos obtained by crossing parental pairs that were kept in water with PMMA plastic nanoparticles at a concentration of 15 mg/L for 1 months

Показатель Indicator	Опытные группы Experimental groups					Контрольные группы Control groups				
	1	2	3	4	Среднее Average	1	2	3	4	Среднее Average
Общее число икринок в день нереста Total number of eggs on the spawning day	92	74	85	40	73±23	82	47	98	74	75±21
Живые эмбрионы на 1-й дпф в процентах от общего числа эмбрионов в день нереста Live embryos on the 1 <sup>st</sup> dpf as a percentage of the total number of embryos on the spawning day	88	100	100	95	96±6	94	97	68	97	89±14
Живые эмбрионы на 2-й дпф в процентах от общего числа эмбрионов в день нереста Live embryos on the 2 <sup>nd</sup> dpf as a percentage of the total number of embryos on the spawning day	88	100	100	95	96±6	90	97	67	97	88±14
Эмбрионы с аномальным развитием на 2-й дпф в процентах от числа живых эмбрионов на 2-й дпф Embryos with abnormal development on the 2 <sup>nd</sup> dpf as a percentage of the number of live embryos on the 2 <sup>nd</sup> dpf	0	0	0	0	0	0,6	0,5	3,8	0	1,2±1,7



**Рис. 6.** Показатели выживаемости и аномального развития у эмбрионов на 1-й дпф. Родительских особей анализируемых эмбрионов первые три месяца жизни растили в воде с содержанием пластиковых наночастиц в концентрациях 0,1 и 0,01 мг/л. Представлено суммарное число анализируемых икринок для каждой опытной и контрольной группы. Выживаемость представлена как процент живых эмбрионов, рассчитанный от общего количества икринок в нересте. Аномалии представлены как процент аномально развитых эмбрионов от количества живых в день анализа

**Fig. 6.** Survival rates and abnormal development of embryos on the 1<sup>st</sup> dpf. Parental individuals of the analyzed embryos were grown in water containing plastic nanoparticles at concentrations of 0.1 and 0.01 mg/L for the first three months of their life. The total number of analyzed eggs for each experimental and control group is presented. Survival is presented as the percentage of live embryos calculated from the total number of eggs in spawning. Abnormalities are presented as the percentage of abnormally developed embryos from the number of live embryos on the day of analysis

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по выращиванию рыб *D. rerio* в присутствии наночастиц ПСт, ПВХ и ПММА в течение трех месяцев указывают на отсутствие значимого влияния нанопластика на выживаемость эмбрионов и мальков при концентрациях наночастиц 0,01–0,1 мг/л, что превышает ожидаемое наличие нанопластика в природных водах. При высоких концентрациях (5–15 мг/л) выживаемость снижалась. Использование флуоресцентных наночастиц позволило установить, что пластик в организм рыб проникает при использовании корма, способного ассимилировать наночастицы (инфузории). Взрослые рыбы, пережившие воздействие нанопластика в первые 3 месяца жизни, способны к размножению на уровне контрольных групп, причем в случае воздействия высокой концентрации полимера (15 мг/л) аномалии в развитии эмбрионов отсутствуют, в отличие от контрольных особей. Можно предположить, что высокая концентрация нанопластика действует в качестве фактора отбора, снижая долю

особей с генетическими отклонениями. Данная гипотеза нуждается в тщательной проверке с использованием молекулярно-генетических и биохимических методов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект 122012600070-9 (ЛИН СО РАН), и частично поддержана финансированием в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

## ACKNOWLEDGMENTS

This work is conducted with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Project No. 122012600070-9 (Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences), and partially funded as part of the State Assignment of the National Research Center “Kurchatov Institute”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Environmental and health risks of microplastic pollution. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2019. 64 p. <https://doi.org/10.2777/54199>.
2. Gigault J., Ter Halle A., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B., Reynaud S. Current opinion: What is a nanoplastic? *Environmental Pollution*. 2018. Vol. 235: 1030–1034. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024>.
3. Manzanares D., Ceña V. Endocytosis: The nanoparticle and submicron nanocompounds gateway into the cell. *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, no. 4: e371. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040371>.
4. Pezzoli D., Giupponi E., Mantovani D., Candiani G. Size matters for *in vitro* gene delivery: Investigating the relationships among complexation protocol, transfection medium, size and sedimentation. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7: e44134. <https://doi.org/10.1038/srep44134>.
5. Zhao B., Richardson R.E., You F. Microplastics monitoring in freshwater systems: A review of global efforts, knowledge gaps, and research priorities. *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 477: e135329. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135329>.
6. Ter Halle A., Ghiglione J.F. Nanoplastics: A complex, polluting terra incognita. *Environmental Science and Technology*. 2021. Vol. 55: 14466–14469. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04142>.
7. Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N., Pal'shin V.A. Submicro- and nanoplastics: How much can be expected in water bodies? *Environmental Pollution*. 2021. Vol. 278: e116910. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116910>.
8. Брагина Т.М., Лобазова В., Рысбек А. Выделение гена «алкан-гидроксилазы» у бактерий рода *Rhodococcus* Zopf, 1981. *Polish Journal of Science*. 2021. № 45 (2): 15–20.
9. Annenkov V.V., Pal'shin V.A., Annenkova N.V., Zelinskiy S.N., Danilovtseva E.N. Uptake and effects of nanoplastics on the dinoflagellate *Gymnodinium corollarium*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2023. Vol. 42, no. 5: 1124–1133. <https://doi.org/10.1002/etc.5604>.
10. Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Pal'shin V.A., Zelinskiy S.N., Polyakova M.S., Mincheva E.V. Assimilation of synthetic plastic nanoparticles by the oomycete *Pythium aquatile*. *Limnology and Freshwater Biology*. 2022. No. 6: 1728–1733. <https://doi.org/10.31951/2658-3518-2022-A-6-1728>.
11. Teame T., Zhang Z., Ran C., Zhang H., Yang Y., Ding Q., Xie M., Gao C., Ye Y., Duan M., Zhou Z. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*. 2019. Vol. 9, no. 3: 68–77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>.
12. Bashirova N., Poppitz D., Klüver N., Scholz S., Matysik J., Alia A. A mechanistic understanding of the effects of polyethylene terephthalate nanoplastics in the zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Scientific Reports*. 2023. Vol. 13, no. 1: e1891. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28712-y>.
13. Yeo X.Y., Choi J.S., Kim R., Chae W.R., Tan L.Y., Jin B., Kim J., Suk H.Y., Lee N.Y., Kim G.-H., Cho N.-J., Jung S., Park J.-W. The neurological impact of polystyrene nanoplastics on *Danio rerio* behavior. 2024. 33 p. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4653661>. URL:[https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=4653661](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4653661) (дата обращения 05.08.2024).
14. Liu R., Gao H., Liang X., Zhang J., Meng Q., Wang Y., Guo W., Martyniuk C.J., Zha J. Polystyrene nanoplastics alter intestinal toxicity of 2,4-DTBP in a sex-dependent manner in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 478: e135585. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135585>.
15. Lee H., Song S.J., Kim C.-S., Park B. Polystyrene nanoplastics-induced intestinal barrier disruption via inflammation and apoptosis in zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 2024. Vol. 274: e107027. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107027>.
16. De Souza Teodoro L., Jablonski C.A., Pelegrini K., Pereira T.C.B., Maraschin T.G., De Sousa Araujo A.C., Monserrat J.M., De Souza Basso N.R., Kist L.W., Bogo M.R. Toxic effects of environmental-relevant exposure to polyethylene terephthalate (PET) micro and nanoparticles in zebrafish early development. *NanoImpact*. 2024. Vol. 33: e100497. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2024.100497>.
17. Santos A.L., Rodrigues L.C., Rodrigues C.C., Cirqueira F., Malafaia G., Rocha T.L. Polystyrene nanoplastics induce developmental impairments and vasotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 464: e132880. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132880>.
18. Cao X., Xie W., Feng M., Chen J., Zhang J., Luo J., Wang Y. Nanoplastic exposure mediates neurodevelopmental toxicity by activating the oxidative stress response in zebrafish (*Danio rerio*). *ACS Omega*. 2024. Vol. 9, no. 14: 16508–16518. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00231>.
19. Ahmadifar E., Shohreh P., Kalhor N., Shahriari Moghadam M., Yilmaz S., Mohammadzadeh S., Khajeh M., Abarghouei S. Assessing the impact of dietary polystyrene nanoplastics on growth performance, immunological parameters, and antioxidant defense in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the World Aquaculture Society*. 2024. Vol. 55, no. 2: e13046. <https://doi.org/10.1111/jwas.13046>.
20. Manuel P., Almeida M., Martins M., Oliveira M. Effects of nanoplastics on zebrafish embryo-larval stages: A case study with polystyrene (PS) and polymethylmethacrylate (PMMA) particles. *Environmental*

- Research. 2022. Vol. 213: e113584. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113584>.
21. Brun N.R., van Hage P., Hunting E.R., Haramis A.-P.G., Vink S.C., Vijver M.G., Schaaf M.J.M., Tudorache C. Polystyrene nanoplastics disrupt glucose metabolism and cortisol levels with a possible link to behavioural changes in larval zebrafish. *Communications Biology*. 2019. Vol. 2: e382. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0629-6>.
  22. Palshin V.A., Danilovtseva E.N., Strelova M.S., Zelinskiy S.N., Annenkov V.V. Fluorescent nanoplastic particles: Synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology*. 2020. Vol. 3, no. 5: 1067–1072. <https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067>.
  23. Henn K., Braunbeck T. Dechoriation as a tool to improve the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2011. Vol. 153, no. 1: 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.09.003>.
- ## REFERENCES
1. Environmental and health risks of microplastic pollution. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2019. 64 p. <https://doi.org/10.2777/54199>.
  2. Gigault J., Ter Halle A., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B., Reynaud S. Current opinion: What is a nanoplastic? *Environmental Pollution*. 2018. Vol. 235: 1030–1034. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024>.
  3. Manzanares D., Ceña V. Endocytosis: The nanoparticle and submicron nanocompounds gateway into the cell. *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, no. 4: e371. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040371>.
  4. Pezzoli D., Giupponi E., Mantovani D., Candiani G. Size matters for *in vitro* gene delivery: Investigating the relationships among complexation protocol, transfection medium, size and sedimentation. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7: e44134. <https://doi.org/10.1038/srep44134>.
  5. Zhao B., Richardson R.E., You F. Microplastics monitoring in freshwater systems: A review of global efforts, knowledge gaps, and research priorities. *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 477: e135329. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135329>.
  6. Ter Halle A., Ghiglione J.F. Nanoplastics: A complex, polluting terra incognita. *Environmental Science and Technology*. 2021. Vol. 55: 14466–14469. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04142>.
  7. Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N., Pal'shin V.A. Submicro- and nanoplastics: How much can be expected in water bodies? *Environmental Pollution*. 2021. Vol. 278: e116910. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116910>.
  8. Bragina T.M., Lobazova V., Rysbek A. Vyделение gena “alkan-gidroksilazy” u bakteriy roda *Rhodococcus* Zopf, 1981 [Isolation of the “alkane-hydroxylase” gene in bacteria of the genus *Rhodococcus* Zopf, 1981]. *Polish Journal of Science*. 2021. No. 45 (2): 15–20. (In Russian).
  9. Annenkov V.V., Pal'shin V.A., Annenkova N.V., Zelinskiy S.N., Danilovtseva E.N. Uptake and effects of nanoplastics on the dinoflagellate *Gymnodinium corollarium*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2023. Vol. 42, no. 5: 1124–1133. <https://doi.org/10.1002/etc.5604>.
  10. Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Pal'shin V.A., Zelinskiy S.N., Polyakova M.S., Mincheva E.V. Assimilation of synthetic plastic nanoparticles by the oomycete *Pythium aquatile*. *Limnology and Freshwater Biology*. 2022. No. 6: 1728–1733. <https://doi.org/10.31951/2658-3518-2022-A-6-1728>.
  11. Teame T., Zhang Z., Ran C., Zhang H., Yang Y., Ding Q., Xie M., Gao C., Ye Y., Duan M., Zhou Z. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*. 2019. Vol. 9, no. 3: 68–77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>.
  12. Bashirova N., Poppitz D., Klüver N., Scholz S., Matysik J., Alia A. A mechanistic understanding of the effects of polyethylene terephthalate nanoplastics in the zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Scientific Reports*. 2023. Vol. 13, no. 1: e1891. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28712-y>.
  13. Yeo X.Y., Choi J.S., Kim R., Chae W.R., Tan L.Y., Jin B., Kim J., Suk H.Y., Lee N.Y., Kim G.-H., Cho N.-J., Jung S., Park J.-W. The neurological impact of polystyrene nanoplastics on *Danio rerio* behavior. 2024. 33 p. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4653661>. Available at: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=4653661](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4653661) (accessed 05.08.2024).
  14. Liu R., Gao H., Liang X., Zhang J., Meng Q., Wang Y., Guo W., Martyniuk C.J., Zha J. Polystyrene nanoplastics alter intestinal toxicity of 2,4-DTBP in a sex-dependent manner in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 478: e135585. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135585>.
  15. Lee H., Song S.J., Kim C.-S., Park B. Polystyrene nanoplastics-induced intestinal barrier disruption via inflammation and apoptosis in zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 2024. Vol. 274: e107027. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107027>.
  16. De Souza Teodoro L., Jablonski C.A., Pelegrini K., Pereira T.C.B., Maraschin T.G., De Sousa Araujo A.C., Monserrat J.M., De Souza Basso N.R., Kist L.W., Bogo M.R. Toxic effects of environmental-relevant exposure to polyethylene terephthalate (PET) micro and nanoparticles in zebrafish early development. *NanoImpact*. 2024. Vol. 33: e100497. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2024.100497>.

17. Santos A.L., Rodrigues L.C., Rodrigues C.C., Cirqueira F., Malafaia G., Rocha T.L. Polystyrene nanoplastics induce developmental impairments and vasotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 464: e132880. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132880>.
18. Cao X., Xie W., Feng M., Chen J., Zhang J., Luo J., Wang Y. Nanoplastic exposure mediates neurodevelopmental toxicity by activating the oxidative stress response in zebrafish (*Danio rerio*). *ACS Omega*. 2024. Vol. 9, no. 14: 16508–16518. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00231>.
19. Ahmadifar E., Shohreh P., Kalhor N., Shahriari Moghadam M., Yilmaz S., Mohammadzadeh S., Khajeh M., Abarghouei S. Assessing the impact of dietary polystyrene nanoplastics on growth performance, immunological parameters, and antioxidant defense in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the World Aquaculture Society*. 2024. Vol. 55, no. 2: e13046. <https://doi.org/10.1111/jwas.13046>.
20. Manuel P., Almeida M., Martins M., Oliveira M. Effects of nanoplastics on zebrafish embryo-larval stages: A case study with polystyrene (PS) and polymethylmethacrylate (PMMA) particles. *Environmental Research*. 2022. Vol. 213: e113584. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113584>.
21. Brun N.R., van Hage P., Hunting E.R., Haramis A.-P.G., Vink S.C., Vijver M.G., Schaaf M.J.M., Tudorache C. Polystyrene nanoplastics disrupt glucose metabolism and cortisol levels with a possible link to behavioural changes in larval zebrafish. *Communications Biology*. 2019. Vol. 2: e382. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0629-6>.
22. Palshin V.A., Danilovtseva E.N., Strelova M.S., Zelinskiy S.N., Annenkov V.V. Fluorescent nanoplastic particles: Synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology*. 2020. Vol. 3, no. 5: 1067–1072. <https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067>.
23. Henn K., Braunbeck T. Dechoriation as a tool to improve the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2011. Vol. 153, no. 1: 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.09.003>.

#### Об авторах:

**Анненков Вадим Владимирович**, доктор химических наук, профессор, заместитель директора по науке ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук» (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278), ORCID 0000-0002-6616-154X, [annenkov@lin.irk.ru](mailto:annenkov@lin.irk.ru)

**Пальшин Виктор Александрович**, кандидат химических наук, научный сотрудник ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук» (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278), ORCID 0000-0002-8110-5546, [acrom@mail.ru](mailto:acrom@mail.ru)

**Лунина Наталия Александровна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”» (123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 2), ORCID 0000-0002-1301-8467, [lunina-na.img@yandex.ru](mailto:lunina-na.img@yandex.ru)

**Даниловцева Елена Николаевна**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук» (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278), ORCID 0000-0002-7961-8158, [daniilovtseva@lin.irk.ru](mailto:daniilovtseva@lin.irk.ru)

**Зелинский Станислав Николаевич**, кандидат химических наук, научный сотрудник ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук» (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278), ORCID 0000-0002-5142-5944, [jt1233@mail.ru](mailto:jt1233@mail.ru)

**Костров Сергей Викторович**, доктор химических наук, член-корреспондент РАН, заместитель директора ФГБУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”» (123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 2), ORCID 0000-0002-8512-7857, [kostrov@img.rsa.ru](mailto:kostrov@img.rsa.ru)

**Сафина Дина Рашидовна**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”» (123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 2), ORCID 0000-0001-9664-1766, [nauruz@mail.ru](mailto:nauruz@mail.ru)

Поступила в редакцию 07.10.2024

Поступила после рецензии 23.10.2024

Принята к публикации 25.10.2024

*Конфликт интересов*

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант.*

**Received** 07.10.2024

**Revised** 23.10.2024

**Accepted** 25.10.2024

*Conflict of interest statement*

The authors do not have any conflict of interest.

*All authors have read and approved the final manuscript.*