

ОЦЕНКА БИОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ И БИОЭЛЕМЕНТОВ В ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ

✉ Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А.

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

Витебск, Республика Беларусь

✉ e-mail: krasochko@mail.ru

Представлены результаты исследования бицидных свойств наночастиц серебра, меди и диоксида кремния. Рассмотрены вопросы о безопасности использования наноконпонентов в связи с неизученным воздействием их на экологию. Для оценки бицидного действия наночастиц благородных металлов и биоэлементов использована одноклеточная эукариотическая тест-система, представляющая собой реснитчатый протистный микроорганизм *Paramecium caudatum*, обитающий в прудовых водоемах. Установлено, что растворы наночастиц благородных металлов и биоэлементов не являются биоинертными и биостимулирующими. Коллоидные растворы наночастиц серебра, меди и кремния диоксида имеют бицидное воздействие, проявляют схожий дозозависимый эффект при наличии одинаковых концентраций наночастиц в исходных коллоидных растворах (300 мкг/мл). Коллоидный раствор серебра характеризуется более выраженной токсической активностью в одноклеточной протистной биологической модели, так как полная бицидность в отношении парамеций обеспечивается разведениями коллоидного раствора наночастиц до значения 1 : 6 от исходного. По сравнению с ним у растворов наночастиц меди и оксида кремния показатель бицидности 100% достигается только в значениях двух- и трехкратного разведения исходного раствора. Коллоидные растворы наночастиц в концентрациях, не вызывающих полной гибели инфузорий (1 : 5 от исходной для наночастиц меди и оксида кремния и 1 : 7 от исходной для наночастиц серебра), угнетают интенсивность их размножения приблизительно на одинаковую величину в 55–61% (индекс интенсивности размножения парамеций от 0,455 до 0,390 соответственно).

Ключевые слова: наночастицы серебра, наночастицы меди, наночастицы кремния диоксида, бицидность, инфузория-туфелька, *Paramecium caudatum*

ESTIMATION OF BIOCIDAL EFFECT OF METAL AND BIOELEMENT NANOPARTICLES IN A UNICELLULAR EUKARYOTIC TEST SYSTEM

✉ Krasochko P.A., Korochkin R.B., Ponaskov M.A.

Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine

Vitebsk, Republic of Belarus

✉ e-mail: krasochko@mail.ru

The results of the study of biocidal properties of silver, copper and silicon dioxide nanoparticles are presented. Questions about the safety of nanocomponents in connection with their unstudied impact on the environment are considered. To evaluate the biocidal effect of noble metal nanoparticles and bioelements, a unicellular eukaryotic test-system, represented by a ciliated protist microorganism *Paramecium caudatum* inhabiting pond water bodies, was used. It was found that solutions of noble metal nanoparticles and bioelements are not bioinert and biostimulating. Colloidal solutions of silver, copper and silicon dioxide nanoparticles have a biocidal effect and show a similar dose-dependent effect if the concentration of nanoparticles in the initial colloidal solutions is the same (300 µg/ml). The colloidal silver solution is characterized by a more pronounced toxic activity in a unicellular protist biological model, since full biocidal activity against paramecium is provided by dilutions of the colloidal solution of nanoparticles to the value 1: 6 of the initial one. Compared to it, solutions of copper nanoparticles and silicon oxide have a biocidal index of 100% achieved only in values of two- or three-times dilution of the initial solution. Colloidal solutions of nanoparticles in concentrations that do not cause complete mortality of the infusoria (1: 5 of the original for copper and silicon oxide nanoparticles and 1: 7 of the original for silver nanoparticles) inhibit their

reproduction intensity by approximately the same value of 55-61% (paramecium reproduction intensity index of 0.455 to 0.390 respectively).

Keywords: silver nanoparticles, copper nanoparticles, silicon dioxide nanoparticles, biocidal activity, ciliates, *Paramecium caudatum*

Для цитирования: Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А. Оценка биоцидного действия наночастиц металлов и биоэлементов в одноклеточной эукариотической тест-системе // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2022. Т. 52. № 1. С. 106–113. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-1-12>

For citation: Krasochko P.A., Korochkin R.B., Ponaskov M.A. Estimation of biocidal effect of metal and bioelement nanoparticles in a unicellular eukaryotic test system. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2022, vol. 52, no. 1, pp. 106–113. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-1-12>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Нанотехнологии значительно расширили сферы использования материалов на основе нанокomпонентов, что неминуемо приводит к их воздействию на экологию. До настоящего времени остаются неизученными вопросы влияния наночастиц на объекты биосферы, так как многие вещества могут приобретать биологическую активность в случае их применения в виде наночастиц [1, 2]. Исследования обитающих в воде эукариот показали, что нанокomпоненты могут нарушать водные экосистемы [3].

В ранних работах оценка экотоксического действия ксенобиотических веществ проводилась на многоклеточных тест-объектах, таких как насекомые, рыбы и даже грызуны [4]. Тем не менее, наиболее подходящей тест-системой для оценки экотоксического действия следует признать протистные организмы. Особенно это касается водных сред [5], так как простейшие являются естественными водными обитателями. Простейшие отличаются высоким потенциалом биоадаптации к токсикантам, они не требуют создания особых условий содержания.

В настоящее время доступно лишь ограниченное число научных публикаций по оценке биоцидного действия наночастиц в одноклеточной тест-модели [6–8]. Следует признать фактическое отсутствие единой методики токсической оценки наночастиц на одноклеточные эукариоты. Многие авторы зачастую используют собственные адаптации и вариации данной методики.

В наших опытах для изучения эко- и цитотоксического действия коллоидных растворов наночастиц металлов и биоэлементов использована свободноживущая инфузория-туфелька *Paramecium caudatum*. Данный представитель реснитчатых относится к числу высокоорганизованных простейших, представляет собой широко распространенного обитателя пресноводных водоемов. Этот свободноживущий простейший часто используется для оценки токсичности многих природных и искусственных соединений [9]. С одной стороны, этот микроорганизм имеет все структурные признаки клетки, обладает автономностью существования во внешней среде и реагирует на внешние раздражители как самостоятельный организм. С другой стороны, инфузория-туфелька *Paramecium caudatum* не требовательна к условиям культивирования, поэтому при ее использовании можно получать большой объем лабораторных данных [10].

В качестве тестируемых нановеществ использованы три типа наночастиц: серебра, меди и диоксида кремния. Первый из них относится к категории благородных металлов, остальные – к классу биоэлементов. Данный выбор определялся относительно широким их использованием в ветеринарной и медицинской практике. Кроме того, такой набор нановеществ наиболее широко отражает различные классы тестируемых нанокomпонентов: серебро является благородным металлом, медь представляет собой биометалл, диоксид кремния является био-

элементом из числа неметаллов. Экоотоксичность их наноразмерных форм ранее не изучалась, хотя исследовались их биоцидные свойства [6, 11].

Цель исследования – оценить биоцидные свойства наночастиц серебра, меди и диоксида кремния на одноклеточном эукариотическом тест-объекте *Paramecium caudatum*.

Задачи исследования: провести экспресс-оценку биологической активности коллоидных растворов наночастиц металлов и биоэлементов, определить биологическое воздействие тестируемых коллоидных растворов наночастиц на резистентность парамеций к отрицательным внешним воздействиям, оценить их экоотоксичность по интенсивности подавления размножения парамеций.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Оценку биоцидного действия коллоидных растворов наночастиц серебра, меди и диоксида кремния на свободноживущей инфузорию-туфельку *Paramecium caudatum* проводили согласно методическим рекомендациям¹. Культивирование парамеций осуществляли в среде Лозина-Лозинского (рН 6,2–7,8) и при температуре 20–26 °С (контрольная среда). В качестве корма для тест-объекта служили дрожжи *Rhodotorula gracilis* с добавлением зерен риса.

В опытах оценивали интегрированное действие различных нановеществ на живую протистную клетку, поэтому исследования включали три этапа. На первом этапе проводили экспресс-оценку биологической активности коллоидных растворов наночастиц серебра, меди и диоксида кремния. Все коллоиды имели исходную концентрацию наночастиц около 300 мкг/мл.

В 54 пробирки наливали по 4,2 мл культуры инфузорий *Paramecium caudatum*, находящейся в стационарной фазе роста. В качестве контроля использовали известный бактерицид (норфлоксацин) и адаптоген (элеутерококк). В первую пробирку добавляли одинаковые объемы коллоидных рас-

творов наночастиц, после чего производили перемешивание и получали двукратное разведение их раствора (1 : 2). Для математической записи и последующей статистической обработки использовали запись в формате $1 \times n^{-1}$, где n означает степень разведения, то есть представляет собой знаменатель в абсолютном выражении (например, 1×2^{-1} для разведения 1 : 2). Дальнейшим добавлением растворителя (дистиллированной воды) получали разведения наночастиц 1 : 3; 1 : 4; 1 : 5; 1 : 6 и 1 : 7, или в нашей математической записи от 1×3^{-1} до 1×7^{-1} . После этого пробирки помещали на 24 ч в термостат при температуре 22 °С. Содержимое из каждой пробирки в количестве 0,1 мл переносили в микроаквариумы для микроскопической оценки. При микроскопии количество парамеций было не менее 100.

Оценку состояния протистных микроорганизмов проводили по следующим показателям: ПН – индифферентность (у инфузорий заметно равномерное броуновское движение, не различимое с таковым в контроле); БА – биоактивность (увеличение интенсивности движения инфузорий); БЦ₅₀ – биоцидность (гибель около половины ($50 \pm 5\%$) популяции инфузорий); БЦ₁₀₀ – биоцидность (гибель практически всей ($90 \pm 10\%$) популяции инфузорий); причем в контрольных образцах должно быть не менее 100 инфузорий, совершающих равномерное броуновское движение.

На следующем этапе определяли биологическую активность тестируемых коллоидных растворов наночастиц методом токсической нагрузки после воздействия сверхгипертонического (с десятикратным превышением значения изотоничности) раствора натрия хлорида (8%). С этой целью использовали четыре пробирки с 1 мл контрольной культуры парамеций, куда добавляли 0,3 мл 8%-го раствора натрия хлорида, вызывающего гибель всех инфузорий в течение 5 мин. Учет гибели парамеций проводили в микроаквариумах под световым микроско-

¹Шабунин С.В. Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты): методические рекомендации. М.; Воронеж: Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, 2006. 51 с.

пом с использованием минутного таймера в секундных выражениях. Затем провели аналогичный опыт с культурами парameций первого этапа (после суточной экспозиции наночастиц). Для получения достоверных данных опыта проводили несколько наблюдений.

Расчет индекса биологической активности (ИБА) проводили по формуле

$$\text{ИБА} = \frac{\text{ТО}}{\text{ТК}}, \quad (1)$$

где ИБА – индекс биологической активности исследуемого вещества; ТО – продолжительность жизни (в секундах) инфузорий-туфелек под действием 0,3 мл 8%-го раствора натрия хлорида после их инкубации в течение 24 ч в среде Лозина-Лозинского с исследуемой концентрацией исследуемого нановещества; ТК – продолжительность жизни (в секундах) парameций под действием 0,3 мл 8%-го раствора натрия хлорида после инкубации в течение 24 ч в контрольной среде (среде Лозина-Лозинского).

После расчета показателя ИБА проводили ее оценку. При значении ИБА, равной $1,000 \pm 0,1000$, нановещество нами признавалось биоинертным. Показатель индекса биологической активности выше $1,000 \pm 0,1000$ указывал на положительное влияние тестируемого вещества на сопротивляемость парameций к гипертоническому шоку. Показатель индекса биологической активности менее $1,000 \pm 0,1000$ указывал на отрицательное воздействие тестируемого вещества на жизнеспособность парameций.

На последнем этапе исследований проведена оценка биологической активности коллоидных растворов наночастиц серебра, меди и диоксида кремния по интенсивности размножения парameций после воздействия сублетальных (незначительно ниже летальных) концентраций наночастиц. Для этого использовали культуру парameций в активной фазе роста после контакта с исследуемым коллоидным раствором нановещества. В начале опыта устанавливали плотность инокулята (количество парameций в 1 мл среды). Для этого определяли количество клеток инфузорий в 1 мл культуры: к

1 мл парameций добавляли 20 микролитров 5%-го спиртового раствора йода. Затем содержимое перемешивали, помещали в камеру Фукса-Розенталя, производили подсчет количества парameций в 10 квадратах, определяя среднее количество клеток в одном квадрате. Объем одного квадрата составлял одну десятитысячную миллилитра.

После выдерживания пробирок в термостате при температуре 22 °С в течение 72 ч в каждой определяли плотность инокулята.

Расчеты проводили по формуле

$$\text{ИИР} = \frac{\text{ПНОК} \times \text{ПИКИ}}{\text{ПИКК} \times \text{ПИОН}}, \quad (2)$$

где ИИР – индекс интенсивности размножения парameций; ПНОК – плотность инокулята в опыте после 72 ч инкубации; ПИКИ – плотность инокулята в контроле перед инкубацией; ПИКК – плотность инокулята в контроле после 72 ч инкубации; ПИОН – плотность инокулята в опыте перед инкубацией.

После расчета показателя индекса интенсивности размножения парameций проводили оценку цитотоксичности среды, исходя из следующих значений: при индексе интенсивности размножения парameций $1,000 \pm 0,100$ химическое нановещество признавалось биологически инертным. Показатель индекса интенсивности размножения парameций выше $1,000 \pm 0,100$ свидетельствовал о стимулирующем воздействии нановещества на парameции. При получении значения индекса интенсивности размножения парameций менее $1,000 \pm 0,100$ делали вывод об угнетении химическим нановеществом размножения парameций.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований по оценке токсического действия коллоидных растворов наночастиц металлов и биоэлементов первоначально получены качественные результаты (см. табл. 1). Они оценивались по характеристикам броуновского движения парameций, а токсическое действие препарата выражалось в замедлении движения протист, причем с удлинением экспозиции ингибция возрастала, однако окончательную

Табл. 1. Дозозависимое действие нановеществ на парамеций при экспозиции 24 ч (по критерию «концентрация – эффект»)

Table 1. Dose-dependent effect of nano-substances on parameciums at 24 h exposure («concentration-effect» criterion)

Исследуемое вещество	Биоцидность в разведениях $1 \times n^{-1}$					
	n					
	2	3	4	5	6	7
Контроль	–	–	–	–	–	–
Элеутерококк	–	–	–	–	–	–
Норфлоксацин	+	+	±	±	±	±
Наночастицы серебра	+	+	+	+	+	±
Наночастицы меди	+	+	±	±	–	–
Наночастицы диоксида кремния	+	+	±	±	±	–

Примечание. Тире – биоцидность отсутствует (ПН); «±» – биоцидность до 50% (менее $БЦ_{50}$); «+» – биоцидность 100% (около $БЦ_{100}$).

оценку токсичности проводили спустя 24 ч воздействия тестируемого вещества.

По результатам исследований установлено, что все тестируемые коллоидные растворы наночастиц имеют различающуюся биоцидную активность: все тестируемые образцы наночастиц демонстрировали высокий уровень биоцидности при минимальном разведении (1 : 2), определяемый по состоянию активности инфузорий. У наночастиц серебра уровень биоцидности отмечен значительно выше по сравнению с наночастицами биоэлементов (меди и кремния диоксида). Разведения раствора наночастиц серебра 1 : 2–1 : 6 однозначно демонстрировали высокое биоугнетающее действие в отношении инфузорий, только в последнем разведении (1 : 7) биоцидность падала ниже показателя $БЦ_{50}$.

Растворы наночастиц меди вызывали полную гибель инфузорий только в небольших разведениях (1 : 2–1 : 3), по мере увеличения разведения биоактивность резко снижалась. Наночастицы диоксида кремния имели сравнимую биоцидность, так как гибель парамеций отмечалась в аналогичных высоких концентрациях нановеществ (разведения 1 : 2–1 : 3). Известный биоцид норфлоксацин имел сравнимую цитотоксич-

Табл. 2. Влияние нановеществ на резистентность парамеций (по критерию «концентрация – сопротивляемость токсической нагрузке»)

Table 2. Effect of nano-substances on the resistance of parameciums (according to the "concentration-resistance to toxic load" criterion)

Исследуемое вещество	Индекс биологической активности в разведениях $1 \times n^{-1}$					
	n					
	2	3	4	5	6	7
Контроль	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Элеутерококк	1,480	1,560	1,918	1,334	1,016	1,002
Норфлоксацин	–	–	0,698	0,854	0,957	1,000
Наночастицы серебра	–	–	–	–	–	0,499
Наночастицы меди	–	–	0,589	0,655	0,789	0,856
Наночастицы диоксида кремния	–	–	0,455	0,578	0,675	0,745

Примечание. Тире – биоцидное действие.

ность. Растворы наночастиц биоэлементов в наибольшем разведении (1×7^{-1} , или 1 : 7) не оказывали протистоцидного эффекта, в то время как наночастицы серебра при наивысшем разведении все еще не достигали биоинертности (отмечалась гибель инфузорий в значении менее 50%-й популяции).

На втором этапе проведено определение индекса биологической активности тестируемых образцов наночастиц методом токсической нагрузки (после добавления гипертонического раствора натрия хлорида, оказывающего мембраноповреждающее действие), в котором оценивали валеонегативный (снижающий выживаемость и жизнеспособность биоорганизованных систем) эффект. Результаты этих исследований отображены в табл. 2.

Полученные данные свидетельствуют, что из всех используемых в опытах веществ только элеутерококк имеет валеопозитивное действие, так как он способствует повышению сопротивляемости клеток парамеций к токсическому воздействию сверхгипертонической среды (8%-й раствор натрия хлорида): значение индекса биологической активности препарата составляло значение выше 1,000 (от 1,002 до 1,918), причем наибольшее биостимулирующее действие на

парамеции он проявлял в разведении 1 : 4. В опыте показатель ИБА выше единицы указывает на увеличение продолжительности жизни клеток парамеций под влиянием препарата и выражается в значениях более 100%-й защитной активности. Данный результат вполне ожидаем, так как элеутерококк является известным адаптогеном. Концепция адаптогена, впервые предложенная советскими учеными в конце 1950-х годов, утверждает, что адаптоген – это любое вещество, которое оказывает воздействие на биологический объект, корректируя любую его дисфункцию и не вызывая нежелательных побочных эффектов. Адаптогенсодержащее растение *Eleutherococcus senticosus*, называемое также «сибирским женьшенем», содержит большое число химических веществ, которые оказывают защитное и/или ингибирующее действие против свободных радикалов, причем перечень таких веществ, содержащихся в элеутерококке, не до конца определен [12].

Остальные тестируемые компоненты, включая известное биоцидное вещество норфлоксацин вместе с коллоидными растворами наночастиц, имели сильное биоугнетающее действие (значение индекса биологической активности ниже 1,000). Значения ИБА свидетельствуют, что наночастицы имеют более выраженное негативное воздействие на резистентность парамеций, так как коэффициент повышения выносливости инфузорий после их экспозиции был несколько ниже, чем при действии норфлоксацина (см. табл. 2). Объективное сравнение токсичности антибиотика (норфлоксацина) и наночастиц в данном опыте не вполне корректно, так как эти препараты совершенно разных классов и имеют разные показатели выражения их концентраций. Нам удалось оценить воздействие наночастиц серебра на выносливость парамеций только в максимальном разведении их раствора (1 : 7), так как меньшие его значения имели протистотоксичный эффект. При сравнении значений ИБА наночастиц была подтверждена более высокая цитотоксичность наночастиц благородного металла (показатель 0,499) по срав-

нению с наночастицами биоэлементов (меди и кремния) (0,856 и 0,745 соответственно).

На последнем этапе интегрированного биотестирования нановеществ проведена их оценка по показателям индекса интенсивности размножения парамеций. Для этого рассчитаны его значения при добавлении сублетальных концентраций тестируемых веществ. Для всех них принято разведение 1 : 5, так как оно во всех случаях (за исключением наночастиц серебра) превышало на два пункта летальную концентрацию (1 : 3), за исключением адаптогена элеутерококка, у которого фактически таковая отсутствовала. Результаты определения биологической активности изучаемых коллоидных наночастиц в оптимальной сублетальной концентрации по интенсивности размножения парамеций приведены в табл. 3.

Раствор элеутерококка в концентрации 1 : 5 повышает интенсивность деления парамеций почти в 1,6 раза (индекс интенсивности размножения инфузорий 1,589), что вполне объяснимо из ожидаемого адаптогенного эффекта этого компонента (см. табл. 3). Изучаемые биоциды (норфлоксацин и коллоидные растворы наночастиц) в концентрациях, не вызывающих полной гибели инфузорий, угнетали интенсивность их размножения приблизительно на одинаковую величину – 55–61% (индекс интенсивности размножения парамеций от 0,455 до 0,390 соответственно). Все тестируемые на-

Табл. 3. Влияние изучаемых препаратов в сублетальной концентрации на размножение инфузорий

Table 3. Effect of the studied preparations at sublethal concentration on the reproduction of infusoria

Исследуемое вещество	Оптимальная концентрация (разведение $1 \times n^{-1}$)	Индекс интенсивности размножения инфузорий
Контроль	–	1,000
Элеутерококк	5	1,589
Норфлоксацин	5	0,450
Наночастицы серебра	7	0,390
Наночастицы меди	5	0,462
Наночастицы диоксида кремния	5	0,385

ночастицы в сублетальных концентрациях, как минимум, на половину снижают интенсивность размножения протист. Однако объективное сравнение в этом случае возможно лишь в отношении биоэлементов, так как только они биотестировались в одинаковом разведении (1 : 5), в то время как наночастицы серебра изначально отличаются более высокой цитотоксичностью и поэтому были взяты в опыт в большем разведении (1 : 7).

ВЫВОДЫ

1. Биотестирование наночастиц металлов и биоэлементов надежно и качественно осуществлять на свободноживущей инфузории *Paramecium caudatum*, так как это является недорогой удобной моделью оценки биоцидного действия.

2. Ни один из растворов наночастиц благородных металлов и биоэлементов, использованных в опыте, не может быть признан биоинертным или биостимулирующим в отношении эукариотического тест-объекта *Paramecium caudatum*.

3. Коллоидные растворы наночастиц серебра, меди и кремния диоксида имеют биоцидное воздействие, каждый из которых проявляет дозозависимый эффект, причем первый из них характеризуется намного выраженной токсической активностью в одноклеточной протистой биологической модели.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Красочко П.П., Понаськов М.А., Коцаев А.Г., Черных О.Ю. Оценка бактериоингибирующего действия нано- и коллоидных частиц серебра и кремния диффузионным методом // Ветеринария Кубани. 2019. № 4. С. 15–17.
2. Mayne R., Whiting J., Adamatzky A. Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live *Paramecium caudatum* Cells // BioNanoScience. 2018. Vol. 8. Is. 1. P. 90–94.
3. Vlachogianni T., National V. Nanomaterials: Environmental Pollution, Ecological Risks and Adverse Health Effects // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 2014. Vol. 8. P. 208–226.
4. Venkateswara Rao J., Gunda V.G., Srikanth K., Arepalli S.K. Acute toxicity bioassay using *Paramecium caudatum*, a key member to study the effects of monocrotophos on swimming behaviour, morphology and reproduction // Toxicological & Environmental Chemistry. 2007. Vol. 89. Is. 2. P. 307–317.
5. Blinova I., Kanarbik L., Irha N., Kahru A. Ecotoxicity of nanosized magnetite to crustacean *Daphnia magna* and duckweed *Lemna minor* // Hydrobiologia. 2017. Vol. 798. Is. 1. P. 141–149.
6. Асанова А.А., Полонский В.И. Выживаемость равноресничных инфузорий (*Paramecium caudatum*) в присутствии наночастиц и ионов серебра // Проблемы агрохимии и экологии. 2017. № 4. С. 60–62.
7. Крючкова М.А., Ахатова Ф.С., Фахруллин Р.Ф. Выживаемость инфузорий *Paramecium caudatum* в присутствии наночастиц оксида алюминия // Российские нанотехнологии. 2021. Т. 16. № 4. С. 572–577.
8. Fatemeh B., Manizheh K., Robabeh M. Silver Nanoparticles (Ag-NPs) Illustrate the Toxicity Effect of Colchicine in Fresh Water *Paramecium caudatum* // Advanced Science, Engineering and Medicine. 2019. Vol. 11. N 3. P. 178–181.
9. Володина Т.А. Обоснование оптимального состава композиций из растительных экстрактов с использованием биологического теста на парамециях // Омский научный вестник. 2012. № 2 (114). <https://cyberleninka.ru/article/n/obosnovanie-optimalnogo-sostava-kompozitsiy-iz-rastitelnyh-ekstraktov-s-ispolzovaniem-biologicheskogo-testa-na-parametsiyah>. Дата доступа: 10.06.2020.
10. Демиденко Г.А., Шуранов В.В. Оценка токсичности кормов с использованием инфузорий *Paramecium caudatum* // Вестник КрасГАУ. 2015. № 10. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-toksichnosti-kormov-s-ispolzovaniem-infuzoriy-paramecium-caudatum>. Дата доступа: 10.06.2020.
11. Kvitek L., Vanickova M., Panacek A., Soukupova J., Dittrich M., Valentova E. Initial Study on the Toxicity of Silver Nanoparticles (NPs) against *Paramecium caudatum* // The Journal of Physical Chemistry C. 2009. Vol. 113 (11). P. 4296–4300.
12. Davydov M., Krikorian A.D. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look // Journal of Ethnopharmacology. 2000. Vol. 72 (3). P. 345–393.

REFERENCES

1. Krasochko P.A., Korochkin R.B., Krasochko P.P., Ponas'kov M.A., Koshchayev A.G., Chernykh O.Yu. Assessment of bacterial inhibition action of colloidal solutions of silver and silicium nanoparticles by diffusion method. *Veterinariya Kubani = Veterinaria Kubani*, 2019, no. 4, pp. 15–17. (In Russian).
2. Mayne R., Whiting J., Adamatzky A. Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live Paramecium caudatum Cells. *BioNanoScience*, 2018, vol. 8, is. 1, pp. 90–94.
3. Vlachogianni T., National V. Nanomaterials: Environmental Pollution, Ecological Risks and Adverse Health Effects. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2014, vol. 8, pp. 208–226.
4. Venkateswara Rao J., Gunda V.G., Srikanth K., Arepalli S.K. Acute toxicity bioassay using Paramecium caudatum, a key member to study the effects of monocrotophos on swimming behaviour, morphology and reproduction. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2007, vol. 89, is. 2, pp. 307–317.
5. Blinova I., Kanarbik L., Irha N., Kahru A. Ecotoxicity of nanosized magnetite to crustacean Daphnia magna and duckweed Lemna minor. *Hydrobiologia*, 2017, vol. 798, is. 1, pp. 141–149.
6. Asanova A.A., Polonskiy V.I. Survival of infusoria Paramecium Caudatum in the presence of silver nanoparticles and ions. *Problemy agrokhimii i ekologii = Problemy agrokhimii i ekologii*, 2017, no. 4, pp. 60–62. (In Russian).
7. Kryuchkova M.A., Akhatova F.S., Fakhrulin R.F. Survival of Paramecium Caudatum infusoria in the presence of aluminum oxide nanoparticles. *Rossiiskie nanotekhnologii = Nanotechnologies in Russia*, 2021, vol. 16, no. 4, pp. 572–577. (In Russian).
8. Fatemeh B., Manizheh K., Robabeh M. Silver Nanoparticles (Ag-NPs) Illustrate the Toxicity Effect of Colchicine in Fresh Water Paramecium caudatum. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 2019, vol. 11, no. 3, pp. 178–181.
9. Volodina T.A. Rationale for the optimal composition of plants extracts using biological test for paramecium. *Omskii nauchnyi vestnik = Omsk Scientific Bulletin*, 2012, no. 2 (114). (In Russian). <https://cyberleninka.ru/article/n/obosnovanie-optimalnogo-sostava-kompozitsiy-iz-rastitelnyh-ekstraktov-s-ispolzovaniem-biologicheskogo-testa-na-paramet-siyah>. 10.06.2020. (In Russian).
10. Demidenko G.A., Shuranov V.V. The assessment of the forage toxicity using the Paramecium Caudatum ciliates. *Vestnik KrasGAU = The Bulletin of KrasGAU*, 2015, no. 10. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-toksichnosti-kormov-s-ispolzovaniem-infuzoriy-paramecium-caudatum>. 10.06.2020. (In Russian).
11. Kvitek L., Vanickova M., Panacek A., Soukupova J., Dittrich M., Valentova E. Initial Study on the Toxicity of Silver Nanoparticles (NPs) against Paramecium caudatum. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, vol. 113 (11), pp. 4296–4300.
12. Davydov M., Krikorian A.D. Eleutherococcus senticosus (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, vol. 72 (3), pp. 345–393.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Красочко П.А.**, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор; **адрес для переписки:** Республика Беларусь, 210026, Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11; e-mail: krasochko@mail.ru

Корочкин Р.Б., кандидат ветеринарных наук, доцент

Понаськов М.А., магистр ветеринарных наук, ассистент

AUTHOR INFORMATION

✉ **Petr A. Krasochko**, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Doctor of Science in Biology, Professor; **address:** 7/11, 1st Dovatora St., Vitebsk, 210026, Republic of Belarus; e-mail: krasochko@mail.ru

Rudolf B. Korochkin, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Associate Professor

Mikhail A. Ponaskov, Master of Veterinary Sciences, Assistant

Дата поступления статьи / Received by the editors 21.10.2021
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 28.01.2022
Дата публикации / Published 25.03.2022