УДК 636:39.087.7

ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И ПОЛУЛЕТАЛЬНАЯ ДОЗА ФУЛЬВОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В АКВАКУЛЬТУРЕ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

А. О. ЖАРИКОВА

УО «Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия», г. Горки, Республика Беларусь, 213407

Н. В. БАРУЛИН

Государственный университет Буффало, г. Буффало, США

(Поступила в редакцию 15.10.2024)

В последние годы в Беларуси активно развивается форелеводство. Согласно Комплексу мер по развитию рыбоводства в Республике Беларусь на 2020-2025 годы в юго-восточном регионе Могилевской области планируется построить три комплекса по выращиванию радужной форели мощностью одна тысяча тонн в год каждый. Необходимым условием для дальнейшего эффективного развития белорусского форелеводства является обеспеченность товарных хозяйств посадочным материалом высокого качества.

В условиях интенсивной аквакультуры качество рыбопосадочного материала может снижаться, и он нуждается в дополнительном использовании безопасных и экологически чистых стимулирующих веществ. Фульвовые кислоты получили распространение в растениеводстве как стимулятор роста. В аквакультуре же использование фульвовых кислот является новым и имеет потенциальные высокие перспективы.

В результате проведенных исследований нами осуществлено сравнение фульвовых кислот, полученных из лигнита и стеблей кукурузы на аквакультурном объекте радужной форели. Установлено, что между токсичностью фульвовых кислот, полученных из лигнита и кукурузного сырья, существуют достоверные различия. Однако, по результатам оценки $ЛД_{50}$ обе фульвовые кислоты, можно отнести к категории «Малая токсичность». $ЛД_{50}$ фульвовой кислоты, полученной из лигнита, составила 1018,70 мг/л, что относит ее к категории «Малая токсичность» (500 мг/л < $ЛД_{50}$ < 5000 мг/л). $ЛД_{50}$ фульвовой кислоты, полученной из кукурузного сырья, составила 706,97 мг/л, что также относит ее к категории «Малая токсичность» (500 мг/л < $ЛД_{50}$ < 5000 мг/л). Эти результаты являются доказательством того, что «лигнитная» фульвовая кислота обладает более высоким токсическим эффектом. Это необходимо учитывать, при установлении и разработке дозировок фульвовой кислоты при использовании ее в качестве кормовой добавки в животноводстве и рыбоводстве.

Ключевые слова: *фульвовая кислота, радужная форель, лигнит, кукурузное сырье, предельно допустимые концентрации, полулетальная доза.*

In recent years, trout farming has been actively developing in Belarus. According to the Complex of Measures for the Development of Fish Farming in the Republic of Belarus for 2020–2025, three rainbow trout farming complexes with a capacity of one thousand tons per year each are planned to be built in the southeastern region of the Mogilev Region. A prerequisite for the further effective development of Belarusian trout farming is the provision of commercial farms with high-quality planting material. In conditions of intensive aquaculture, the quality of fish planting material may decrease, and it requires additional use of safe and environmentally friendly stimulants. Fulvic acids have become widespread in crop production as a growth stimulant. In aquaculture, the use of fulvic acids is new and has potentially high prospects.

As a result of the studies, we compared fulvic acids obtained from lignite and corn stalks in an aquaculture facility of rainbow trout. It was found that there are reliable differences between the toxicity of fulvic acids obtained from lignite and corn raw materials. However, based on the LD_{50} results, both fulvic acids can be classified as having "Low Toxicity". The LD_{50} of lignite-derived fulvic acid was 1018.70 mg/L, which places it in the "Low Toxicity" category (500 mg/L < LD_{50} < 5000 mg/L). The LD_{50} of corn-derived fulvic acid was 706.97 mg/L, which also places it in the "Low Toxicity" category (500 mg/L < LD_{50} < 5000 mg/L). These results prove that "lignite" fulvic acid has a higher toxic effect. This should be taken into account when establishing and developing dosages of fulvic acid when it is used as a feed additive in livestock and fish farming.

Key words*: fulvic acid, rainbow trout, lignite, corn raw materials, maximum permissible concentrations, half-lethal dose.*

Введение

В последние годы в Беларуси активно развивается форелеводство. Согласно Комплексу мер по развитию рыбоводства в Республике Беларусь на 2020–2025 годы, в юго-восточном регионе Могилевской области планируется построить три комплекса по выращиванию радужной форели мощностью одна тысяча тонн в год каждый. Уже начато строительство рыбоводного комплекса в Краснопольском районе производственной мощностью 1000 тонн.

Необходимым условием для дальнейшего эффективного развития белорусского форелеводства является обеспеченность товарных хозяйств посадочным материалом высокого качества.

В условиях интенсивной аквакультуры качество рыбопосадочного материала может снижаться, и он нуждается в дополнительном использовании безопасных и экологически чистых стимулирующих

веществ. Фульвовые кислоты (ФК) получили распространение в растениеводстве как стимулятор роста, а также получают распространение в животноводстве. В аквакультуре же использование ФК является новым и имеет потенциальные высокие перспективы.

ФК может быть получена из различных источников сырья. Одним из таких источников является лигнит, древесный материал, который превратился в уголь под воздействием давления и температуры на протяжении миллионов лет. Кроме того, ФК может быть синтезирована из растительного сырья, такого как кукуруза.

Изучение предельно допустимых концентраций (ПДК) и токсичности ФК на рыбах важно по нескольким причинам:

1. Охрана окружающей среды: если ФК используется в сельском хозяйстве или других сферах, она может попадать в водные системы через дождевые стоки, водоотводные каналы или другие пути. Это может привести к загрязнению воды и негативному воздействию на местные экосистемы, включая рыбную популяцию.

2. Безопасность для рыбы и других водных организмов: Рыбы являются важной частью акватических экосистем. Токсичные вещества в воде могут оказать негативное воздействие на здоровье рыб, включая нарушение функций жабр, печени, нервной и репродуктивной систем.

3. Биологическая аккумуляция. Некоторые вещества имеют свойство накапливаться в тканях организмов. Если ФК оказывает токсическое воздействие на рыб, она может накапливаться в их тканях, что в конечном итоге может представлять угрозу для здоровья человека, если он употребляет такую рыбу в пищу.

4. Законодательство и нормативы: В большинстве стран существуют законодательные нормативы, регулирующие уровни токсичности веществ в окружающей среде. Изучение токсичности ФК на рыбах может помочь в установлении соответствующих предельно допустимых концентраций.

5. Сбалансированное использование ресурсов: Исследования токсичности помогают оценить риски и преимущества применения ФК в различных областях, таких как сельское хозяйство или водоснабжение. Это позволяет принимать информированные решения о её использовании.

Таким образом, изучение ПДК и токсичности ФК на рыбах имеет важное значение для обеспечения устойчивого и безопасного воздействия этого вещества на окружающую среду и акватические экосистемы.

Цель наших исследований заключалась в определении ПДК и полулетальной дозы ($ЛД_{50}$) ФК из различного сырья, как перспективных кормовых добавок, на примере аквакультурного объекта радужной форели.

Основная часть

В исследованиях использовали ФК различного происхождения, полученные из лигнита (производство Китай), а также из кукурузного сырья (производство Российская Федерация).

Для исследований использовались эмбрионы и личинки радужной форели. Икра радужной форели на стадии глазка была приобретена у польского производителя Dabie Hatchery. Эмбрионы транспортировались в термоконтейнерах со льдом воздушным транспортом. Предварительную адаптацию эмбрионов после перевозки проводили в инкубационном цехе рыбоводного индустриального комплекса ОАО «Форелевое хозяйство «Лохва».

Инкубационный цех оснащен инкубаторами лоткового типа. Цех работает по принципу установок замкнутого водоснабжения (УЗВ). Система водоподготовки включает в себя механическую и биологическую фильтрацию, оксигенацию и обеззараживание воды.

Далее эмбрионы переносились в лабораторные условия кафедры ихтиологии и рыбоводства Белорусской государственной сельскохозяйственной академии.

Для доинкубации эмбрионы в чашках Петри объемом 90 мл были помещены в термостат воздушный ХТ-3/70 (производство Республика Беларусь).

Эмбрионы инкубировались при температуре 10,0 ºС. Объем инкубационной среды в каждой чашке Петри составлял 40 мл.

Приготовление концентраций ФК (как из лигнита, так из кукурузного сырья) осуществлялось по следующей методике (табл. 1). Вначале приготавливался маточный раствор в концентрации 5000 мг/л (1 г сухой ФК добавляли в 200 мл инкубационной среды). Затем из маточного раствора приготавливались растворы различных концентраций для экспозиции.

Таблица 1. **Схема приготовления экспозиционных растворов фульвовых кислот**

Концентрация, мг/л	Общий объем экспозиционного раствора, мкл	Необходимый объем инкубационной среды, мкл	Необходимый объем маточного раствора, мкл
0	40000	40000	0
25		39800	200
50		39600	400
100		39200	800
500		36000	4000
1000		32000	8000
2000		24000	16000
5000		0	40000

Экспозиционные растворы приготавливались перед непосредственным добавлениям к эмбрионам и хранились в отдельных пробирках.

После 6-часовой адаптации эмбрионов для каждой концентрации были сформированы 3 группы по 3 эмбриона в каждой. Из чашки Петри с помощью пипетки максимально удалялась вода и сразу же добавлялся экспозиционный раствор необходимой концентрации. Эмбрионы для хранения перемещались в термостат с необходимой для их инкубации температурой.

Ежедневно фиксировали состояние и активность эмбрионов и личинок, осуществляли подсчет погибших. Подмена растворов на свежие также проводилась ежедневно. Длительность эксперимента составила 73 дня.

Результаты исследований токсичности экстрактов ФК, полученных из лигнита и стеблей кукурузы на эмбрионах радужной форели представлены на рис. 1–4, в табл. 2–3.

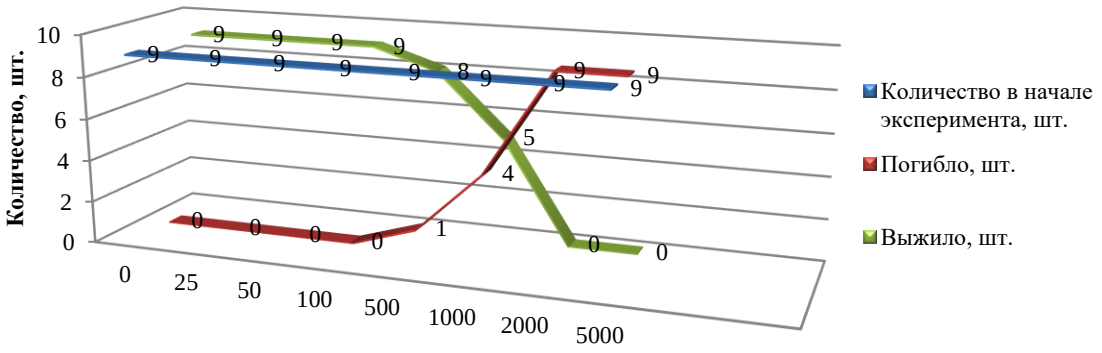

Рис. 1. Выживаемость эмбрионов и личинок радужной форели под влиянием «лигнитной» фульвовой кислоты

Исходя из рис. 1, видно, что смертность в концентрациях 0–100 мг/л составила 0,0 % (0 погибших из 9), 500 мг/л – 11,1 % (1 погибший из 9), 1000 мг/л – 44,4 % (4 погибших из 9), 2000–5000 мг/л – 100,0 % (9 погибших из 9).

Расчет $ЛД_{50}$ осуществляли в программной среде R (RStudio – свободная среда разработки программного обеспечения с открытым исходным кодом для языка программирования R, который предназначен для статистической обработки данных и работы с графикой) по результатам конечной смертности.

Тип функции модели выбирали на основании минимальной величины AIC-критерия при сравнении двух возможных моделей (табл. 2 –3).

Чем меньше значения AIC-критерия, тем лучше модель.

Таблица 2. **Сравнение моделей выживаемости эмбрионов и личинок радужной форели под влиянием «лигнитной» фульвовой кислоты по AIC-критерию и значения $ЛД_{50}$ каждой модели**

Критерий	Probit / Concentration	Probit / ln (Concentration)	Logit / Concentration	Logit / ln (Concentration)
$ЛД_{50}$	**1018,70**	943,05	1016,11	961,87
AIC	**9,04**	9,95	9,38	10,07

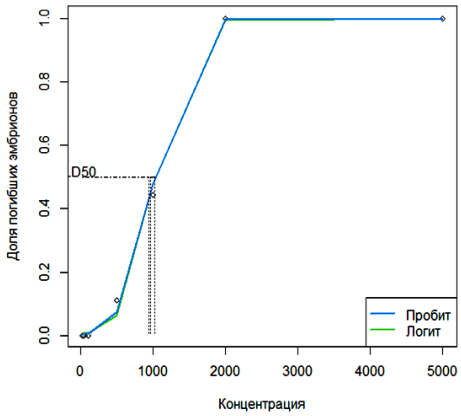

Рис. 2. Пробит-логит зависимости для выживаемости эмбрионов радужной форели под влиянием «лигнитной» фульвовой кислоты

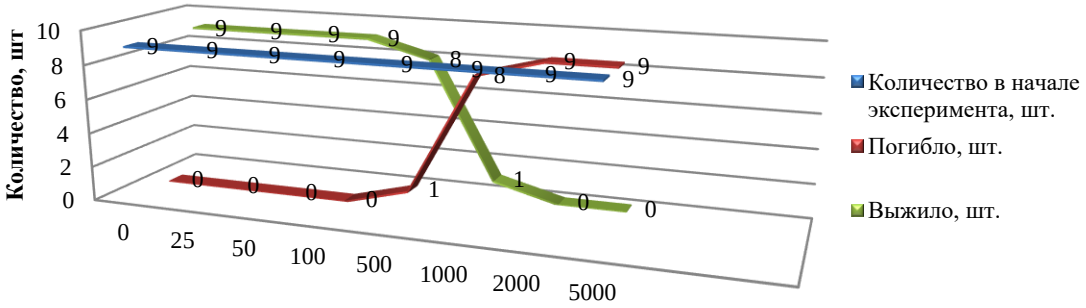

Рис. 3. Выживаемость эмбрионов и личинок радужной форели под влиянием «кукурузной» фульвовой кислоты

Исходя из рис. 3, видно, что смертность в концентрациях 0–100 мг/л составила 0,0 % (0 погибших из 9), 500 мг/л – 11,1 % (1 погибший из 9), 1000 мг/л – 88,9 % (8 погибших из 9), 2000–5000 мг/л – 100,0 % (9 погибших из 9).

Таблица 3. **Сравнение моделей выживаемости эмбрионов и личинок радужной форели под влиянием «кукурузной» фульвовой кислоты по AIC-критерию и значения $ЛД_{50}$ каждой модели**

Критерий	Probit / Concentration	Probit / ln (Concentration)	Logit / Concentration	Logit / ln (Concentration)
$ЛД_{50}$	751,09	**706,97**	754,46	706,03
AIC	7,79	**7,77**	7,91	7,80

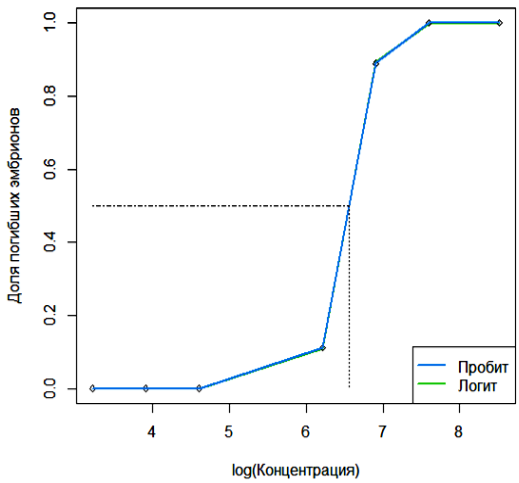

Рис. 4. Пробит-логит (log) зависимости для выживаемости эмбрионов радужной форели под влиянием «кукурузной» фульвовой кислоты

Заключение

В результате исследований установлено, что между токсичностью ФК, полученных из различных источников сырья, есть разница. Однако, по результатам оценки $ЛД_{50}$, обе ФК (как из лигнита, так из кукурузного сырья), можно отнести к категории «Малая токсичность» (500 мг/л < $ЛД_{50}$ ≤ 5000 мг/л).

$ЛД_{50}$ «лигнитной» ФК составила 1018,70 мг/л, $ЛД_{50}$ «кукурузной» ФК составила 706,97 мг/л. ПДК ФК из лигнита и кукурузного сырья, при использовании в аквакультуре радужной форели, составила 100 мг/л.

Основные причины, указывающие на то, что токсичность «лигнитной» ФК выше «кукурузной» ФК, по нашему мнению, следующие:

1. *Примеси*: лигнит, как природный материал, может содержать самые разнообразные примеси, включая тяжелые металлы, органические соединения и другие вещества, которые могут повысить токсичность;

2. *Остаточные соединения*: процессы извлечения ФК из лигнита могут оставлять остаточные соединения, которые в свою очередь могут иметь токсичные свойства.

3. *Различия в структуре и свойствах*: «лигнитная» и «кукурузная» могут иметь контрастную структуру и химический состав. Эти различия могут привести к неодинаковым уровням токсичности.

4. *Механизмы токсичности*: возможно, что ФК из лигнита воздействует на организмы через более эффективные или интенсивные механизмы, что приводит к повышенной токсичности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Britannica [Electronic resource]: Fulvic acid chemical compound. – Mode of access: https://www.britannica.com/science/fulvic-acid. – Date of access: 11.10.2024.

2. Schellekens, J. Molecular Features of Humic Acids and Fulvic Acids from Contrasting Environments / J. Schellekens, P. Buurman, K. Kalbitz, A. V. Zomeren, P. Vidal-Torrado, C. Cerli, R. N. J Comans. // Environmental Science and Technology. – 2017. – Vol. 51, iss. 3. – P. 1330–1339.

3. Klucakova. M. Size and Charge Evaluation of Standard Humic and Fulvic Acids as Crucial Factors to Determine Their Environmental Behavior and Impact / M. Klucakova // Frontiers in Chemistry. – 2018. – Vol. 6. – P. 235.

4. Бендерский, Н. С. Фульвовая кислота – биологически активная добавка или лекарство? / Н. С. Бедерский, О. М. Куделина, Е. В. Ганцгорн, А. В. Сафроненко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2020. – Т. 27, № 3. – С. 78–91.

5. Chien, S. J. Fulvic acid attenuates homocysteine-induced cyclooxygenase-2 expression in human monocytes / Chien S. J., Chen T. C., Kuo H. C., Chen C. N., Chang S. F. // BMC Complementary Medicine and Therapies. – 2015. – Vol. 15, iss. 61. – P. 7.

6. Yuan, T. Effects of application humic acid on yield, nitrogen absorption and nitrogen use efficiency of summer maize / T. Yuan, J. Wang, J. Ji, J. Niu // Journal of Nuclear Agricultural Sciences. – 2017. – Vol. 4. – P. 794–802.

7. Лотош Т. Д. Экспериментальные основы и перспективы применения препаратов гуминовых кислот торфа в медицине и сельскохозяйственном производстве / Т. Д. Лотош // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 2011. – № 10 (334). – С. 99–103.

8. Banaszkiewicz W. The influence of natural peat and isoleted humic acid solution on certain indices of metabolism and of acid-base equilibrium in experimental animals / W. Banaszkiewicz, M. Drobnik // Roczniki Panstwowego Zaklady Higieny. – 2014. – Vol. 45, iss. 4. – P. 353–360.

9. Планируемое применение гуминовой и фульвовой природных кислот в целях повышения количественной численности выживания молоди ценных и товарно-промысловых пород рыб с приобретением высоких качеств выживания и формирования крепкой иммунной системы молоди рыб / Т. В. Денисова, Е. А. Мидлер, В. Л. Кочетов [и др.] // Молодой ученый. – 2019. – № 3 (241). – С. 135–138.