

ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 636:39.087.7

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ФУЛЬВОВЫХ КИСЛОТ НА ЭМБРИОНАХ, ЛИЧИНКАХ И МАЛЬКАХ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

А. О. ЖАРИКОВА

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

(Поступила в редакцию 17.03.2025)

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 1000 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 (ФК) являются перспективными биологически активными веществами природного происхождения, которые находят все более широкое применение в различных областях, включая медицину, сельское хозяйство, животноводство и аквакультуру. В животноводстве Беларуси они используются в составе кормовых добавок и ветеринарных препаратов отечественного производства. Их применение направлено на повышение продуктивности, улучшение здоровья и качества продукции сельскохозяйственных животных. Применение ФК в аквакультуре является относительно новым и перспективным направлением, которое интенсивно развивается в последние годы. Исследования показывают их многоплановое позитивное влияние на здоровье и продуктивность культивируемых гидробионтов.

В результате проведенных нейрофизиологических исследований осуществлено сравнение ФК, полученных из лигнита и стеблей кукурузы на аквакультурном объекте радужной форели. Установлено, что кукурузная ФК (КФК) во всех концентрациях приводила к увеличению общего проплываемого расстояния у мальков радужной форели. Максимальный эффект наблюдался при воздействии концентрации 500 мг/л. В результате сравнения эффектов установлено, что КФК оказывает более сильный эффект на локомоторный ответ мальков радужной форели, увеличивая среднее проплываемое расстояние в 7,47 раз по сравнению с контрольными значениями, в то время как при воздействии лигнитной ФК (ЛФК) среднее проплываемое расстояние увеличивалось в 3,09 раз. Таким образом, в результате исследований установлено, что ФК оказывает нейрофизиологический эффект на частоту сердечных сокращений (ЧСС), поведение и другие параметры радужной форели. Под влиянием ФК происходило снижение ЧСС до 21,64 – 25,8 % и увеличение локомоторного ответа до 3,09–7,47 раз.

Ключевые слова: радужная форель, фульвовая кислота, лигнит, кукурузное сырье, нейрофизиология.

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 1,000 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 the additional use of safe and environmentally friendly stimulants. Fulvic acids (FA) are promising biologically active substances of natural origin, which are increasingly used in various fields, including medicine, agriculture, animal husbandry and aquaculture. In animal husbandry in Belarus, they are used as part of feed additives and veterinary drugs of domestic production. Their use is aimed at increasing productivity, improving the health and quality of farm animals. The use of FC in aquaculture is a relatively new and promising area that has been intensively developing in recent years. Studies show their multifaceted positive effect on the health and productivity of cultivated aquatic organisms. As a result of the conducted neurophysiological studies, a comparison of FC obtained from lignite and corn stalks was carried out on an aquaculture object of rainbow trout. It was found that corn FC (CFC) in all concentrations led to an increase in the total swimming distance of rainbow trout fry. The maximum effect was observed when exposed to a concentration of 500 mg / l. As a result of the comparison of the effects, it was found that CFC has a stronger effect on the locomotor response of rainbow trout fry, increasing the average swimming distance by 7.47 times compared to the control values, while under the influence of lignite FC (LFK), the average swimming distance increased by 3.09 times. Thus, as a result of the studies, it was established that FA has a neurophysiological effect on the heart rate (HR), behavior and other parameters of rainbow trout. Under the influence of FA, there was a decrease in HR to 21.64–25.8% and an increase in the locomotor response to 3.09–7.47 times.

Key words: rainbow trout, fulvic acid, lignite, corn raw materials, neurophysiology.

Введение

Фульвовые кислоты (ФК) являются перспективными биологически активными веществами природного происхождения, которые находят все более широкое применение в различных областях, включая медицину, сельское хозяйство, животноводство и аквакультуру [1].

Интерес к использованию ФК в аквакультуре в последние годы значительно возрос, о чем свидетельствует большое количество научных публикаций, посвященных данной теме. Исследования показывают, что добавление ФК в корма и воду в аквакультуре может стимулировать рост и развитие рыб, повышать их устойчивость к заболеваниям, улучшать усвоение питательных веществ и оказывать иммуномодулирующее действие [2].

Вместе с тем, несмотря на большой объем накопленных данных, обобщающих работ по применению ФК в аквакультуре недостаточно. Многие аспекты, связанные с механизмами действия ФК, оптимальными дозировками и способами применения, а также эффективностью их использования в рыбоводстве в сравнении с другими добавками, остаются недостаточно изученными и требуют дальнейших исследований [3].

По происхождению выделяют ФК, образующиеся в результате разложения растительных остатков в наземных экосистемах (почвенные ФК), и ФК, синтезируемые в водной среде планктонными организмами (водные ФК). Почвенные ФК обычно имеют более высокую молекулярную массу и содержание ароматических фрагментов по сравнению с водными [4].

ФК производятся во многих странах мира из различных природных источников – торфа, бурого угля, сапропеля, леонардита и др. [4].

ФК являются постоянным компонентом природных вод, куда они попадают в результате как почвенного стока, так и внутриводоемных процессов. Содержание растворенных ФК в речных, озерных и морских водах обычно невелико и составляет от 0,1 до 50 мг/л. Повышенные концентрации ФК (до 100–200 мг/л) отмечаются в болотных и термальных водах [5].

Таким образом, ФК распространены в биосфере повсеместно, являясь неотъемлемым компонентом почв, природных вод и органических остатков. Их содержание варьирует в широких пределах в зависимости от генезиса и степени трансформации исходного органического материала. Основными коммерческими источниками ФК служат торф, бурый уголь и сапропели [6].

ФК и гуминовые кислоты (ГК) находят широкое применение в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста и развития растений, мелиорантов почв, компонентов органо-минеральных удобрений [7].

В животноводстве Беларуси ФК и ГК используются в качестве кормовых добавок и ветеринарных препаратов. Введение гуматов в рационы скота и птицы способствует повышению привесов, удоев, яйценоскости, улучшению качества продукции [7].

В медицинской и фармацевтической отраслях Беларуси ФК пока не получили широкого применения. Ведутся исследования возможности использования ФК в качестве антиоксидантов, гепатопротекторов, адаптогенов, иммуномодуляторов. Разрабатываются лекарственные формы и БАДы на основе ФК [7].

Применение ФК в аквакультуре является относительно новым и перспективным направлением, которое интенсивно развивается в последние годы. Исследования показывают многоплановое позитивное влияние ФК на здоровье и продуктивность культивируемых гидробионтов [8].

В аквакультуре ФК перспективны не только для повышения продуктивности рыбоводства, но и для решения экологических проблем. Являясь природными детоксикантами, ФК способны связывать и удалять из воды токсичные вещества, тяжелые металлы, пестициды. ФК ускоряют разложение органических отходов, улучшают качество воды в УЗВ и прудах. Это открывает возможности использования ФК для очистки и кондиционирования водной среды в аквакультуре [9].

Включение ФК в состав кормов является наиболее распространенным способом их применения в аквакультуре. Кормовые добавки с ФК оказывают комплексное стимулирующее действие на организм рыб, улучшая их рост, обмен веществ, здоровье и качество продукции [10].

Механизм ростостимулирующего эффекта ФК связан с их влиянием на процессы пищеварения и обмена веществ. ФК увеличивают активность пищеварительных ферментов – амилазы, липазы, протеаз в ЖКТ рыб. Это способствует лучшему перевариванию и усвоению компонентов корма, увеличению доступности питательных и биологически активных веществ [9].

Кормовые добавки ФК активизируют антиоксидантную систему и уменьшают окислительный стресс в организме рыб. ФК повышают активность антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы, ГПО, увеличивают содержание глутатиона, витаминов А, Е, С. В результате снижается уровень про-

дуктов ПОЛ, свободных радикалов, активных форм кислорода. Это защищает клетки и ткани рыб от окислительных повреждений [10].

Таким образом, введение ФК в корма является эффективным способом реализации их полезных свойств в аквакультуре. ФК стимулируют рост, оптимизируют обмен веществ, укрепляют иммунитет и повышают устойчивость рыб к заболеваниям. Это позволяет увеличить продуктивность, сохранность поголовья и качество продукции в рыбоводстве.

Цель наших исследований заключалась в исследовании нейрофизиологических эффектов ФК на эмбрионах, личинках и мальках радужной форели.

Основная часть

В течение 2024 г. на кафедре ихтиологии и рыбоводства осуществлялось исследование нейрофизиологических эффектов ФК, полученных из лигнита и стеблей кукурузы на эмбрионах, личинках и мальках радужной форели.

Для исследований использовали эмбрионы и личинки радужной форели. Однополые эмбрионы самок радужной форели приобретались на стадии глазка в рыбопитомнике Dabie Hatchery (Польша). Для их транспортировки применяли термопластиковую тару со льдом. После перевозки эмбрионы проходили адаптацию в инкубационном цехе рыбокомплекса ОАО «Форелевое хозяйство Лохва». Этот цех оснащен системой УФ облучения воды и включает в себя емкости для доинкубации, механическую и биологическую фильтрацию, оксигенацию и обеззараживание воды. Затем эмбрионы переносились в лабораторные условия.

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

Инкубацию эмбрионов осуществляли в 90 мм полистирольных чашках Петри, которые помещались в инкубаторы с системой охлаждения и нагревания ST 5 SMART (Pol-Eko-Aparatura, Польша). Температура инкубации эмбрионов составляла 10,0 °C. Объем инкубационной среды в каждой чашке Петри составлял 40 мл.

Приготовление концентраций лигнитной ФК (ЛФК) и кукурузной ФК (КФК) осуществлялось по следующей методике. Вначале приготавливался маточный раствор в концентрации 5000 мг/л (1 г сухой ФК в 200 мл инкубационной среды). Затем из маточного раствора приготавливались растворы разных концентраций для экспозиции по следующей схеме (табл. 1).

Таблица 1. Схема приготовления экспозиционных растворов ФК в диапазоне концентраций 0–5000 мг/л

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

Экспозиционные растворы приготавливались непосредственно перед добавлением к эмбрионам и хранились в отдельных пробирках.

Через 6 часов после адаптации эмбрионов, они переносились в отдельные емкости по 3 эмбриона в трехкратной повторности для каждой концентрации. Затем у эмбрионов оперативно удалялась вода, и сразу добавлялся экспозиционный раствор соответствующей концентрации. Далее эмбрионы помещались в термостат для инкубации.

В период инкубации эмбрионов осуществлялось измерение частоты сердечных сокращений (ЧСС) у эмбрионов радужной форели 7 раз через каждые 2 дня.

Через 3 недели после начала инкубации выклюнувшиеся мальки проходили тест на локотомоторный ответ (locomotor response, LMR).

Для проведения LMR-теста, каждый малек помещался в отдельный 100 мл пластиковый лабораторный стаканчик, которые помещали на платформу с инфракрасной подсветкой и затем накрывали затемненным боксом, поддерживающим температуру (28,0 °C). Видеозаписи подвижности мальков анализировали с помощью программного обеспечения EthoVision XT (Noldus, Нидерланды) в режиме DanioVision с использованием камеры микроскопа Basler, оснащенной инфракрасным фильтром. Интервал записи составлял 15 секунд. Всего было записано 20 видео.

Результаты влияния ЛФК на локомоторный ответ мальков радужной форели в зависимости от различных концентраций представлены на рис. 1–6 и в табл. 2.

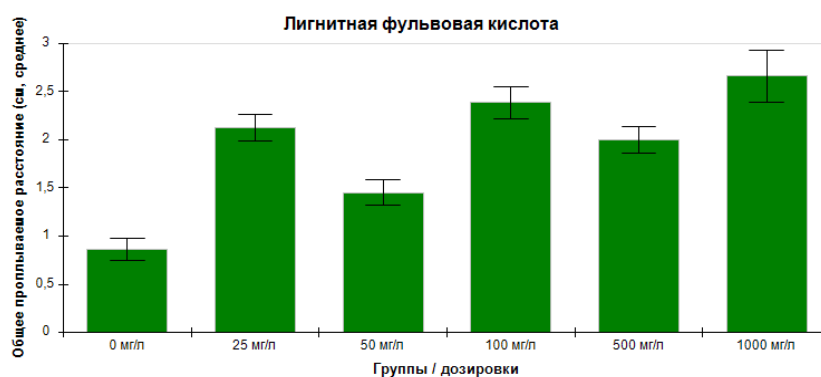


Рис. 1. Влияние ЛФК на общее проплываемое расстояние (см) мальков радужной форели в LMR-тесте

Таблица 2. Влияние ЛФК на общее проплываемое расстояние (см) мальков радужной форели в LMR-тесте

Дозировка, мг/л	N	Среднее	SE
0	160	0,863487	0,112685
25	160	2,12342	0,135622
50	159	1,45219	0,129268
100	160	2,38817	0,167076
500	160	2,00271	0,13712
1000	97	2,66236	0,268415

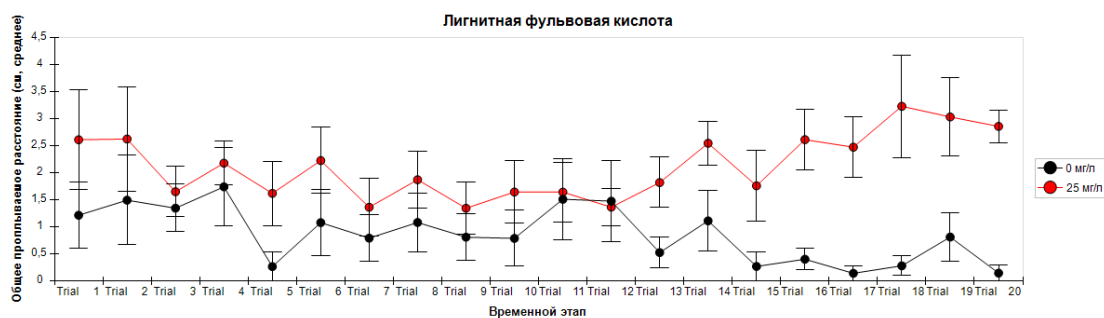


Рис. 2. Динамика общего проплываемого расстояния мальков радужной форели в LMR-тесте при воздействии ЛФК в концентрации 25 мг/л по сравнению с контрольными значениями (0 мг/л)

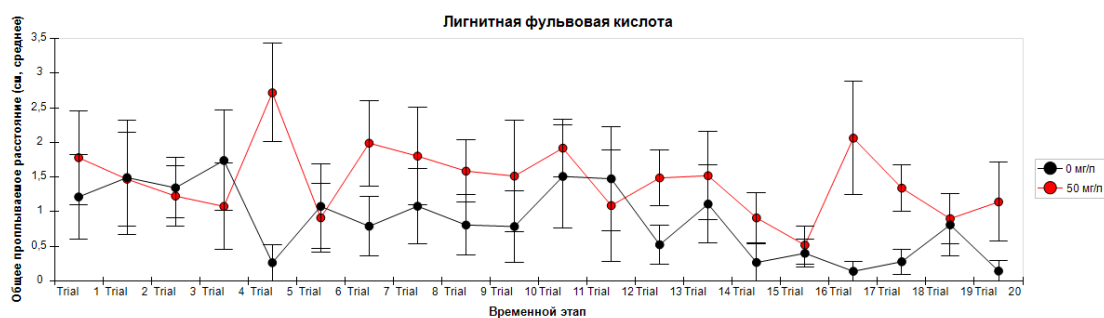


Рис. 3. Динамика общего проплываемого расстояния мальков радужной форели в LMR-тесте при воздействии ЛФК в концентрации 50 мг/л по сравнению с контрольными значениями (0 мг/л)

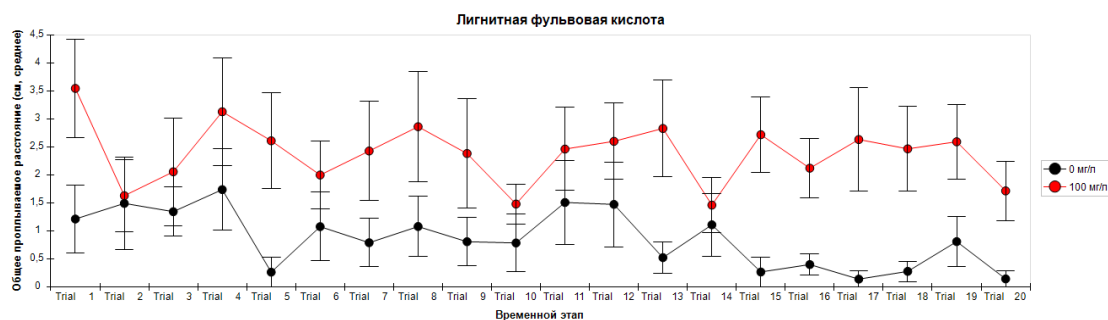


Рис. 4. Динамика общего проплываемого расстояния мальков радужной форели в LMR-тесте при воздействии ЛФК в концентрации 100 мг/л по сравнению с контрольными значениями (0 мг/л)

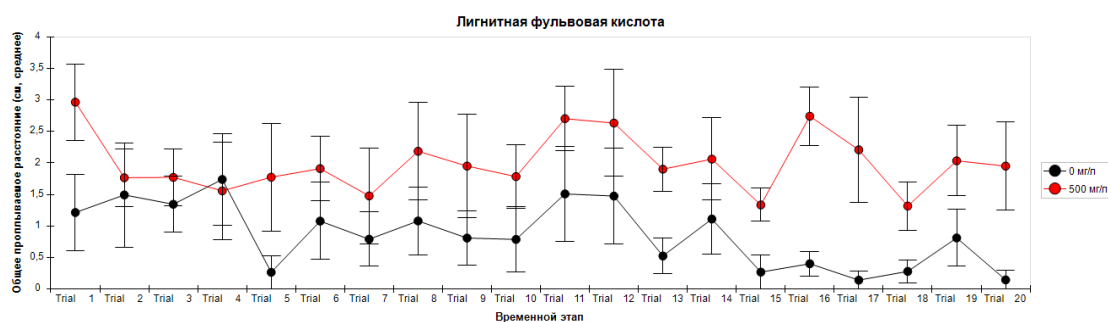


Рис. 5. Динамика общего проплываемого расстояния мальков радужной форели в LMR-тесте при воздействии ЛФК в концентрации 500 мг/л по сравнению с контрольными значениями (0 мг/л)

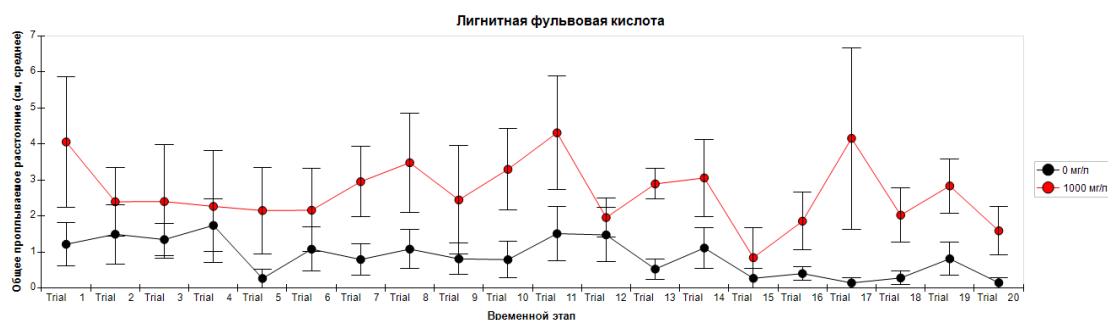


Рис. 6. Динамика общего проплываемого расстояния мальков радужной форели в LMR-тесте при воздействии ЛФК в концентрации 1000 мг/л по сравнению с контрольными значениями (0 мг/л)

В результате наших исследований установлено, что ЛФК во всех концентрациях приводила к увеличению общего проплываемого расстояния у мальков радужной форели. Максимальный эффект наблюдался при воздействии концентрации 1000 мг/л (рис. 6). При концентрации 5000 мг/л мальки не доживали до локомоторного тестирования.

Результаты влияния КФК на локомоторный ответ мальков радужной форели в зависимости от различных концентраций представлены на рис. 7 и табл. 3.

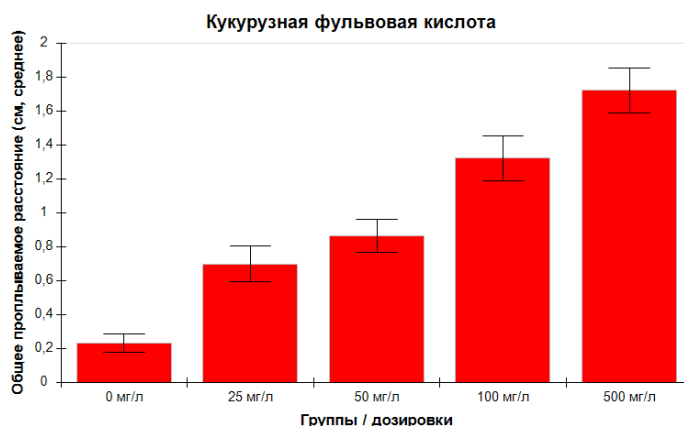


Рис. 7. Влияние различных концентраций КФК на общее проплываемое расстояние (см) мальков радужной форели в LMR-тесте

Таблица 3. Влияние КФК на общее проплываемое расстояние (см) мальков радужной форели в LMR-тесте

Дозировка, мг/л	N	Среднее	SE
0	160	0,234064	0,053073
25	140	0,69879	0,105348
50	160	0,864052	0,097139
100	140	1,32311	0,132355
500	139	1,72148	0,131822

Заключение

В результате исследований установлено, что КФК во всех концентрациях приводила к увеличению общего проплываемого расстояния у мальков радужной форели. Максимальный эффект наблюдался при воздействии концентрации 500 мг/л. При концентрации 1000–5000 мг/л мальки не доживали до локомоторного тестирования.

В результате сравнения эффектов ЛФК и КФК установлено, что КФК оказывает более сильный эффект на локомоторный ответ мальков радужной форели, увеличивая среднее проплываемое расстояние в 7,47 раз по сравнению с контрольными значениями, в то время как при воздействии ЛФК среднее проплываемое расстояние увеличивалось в 3,09 раз.

Таким образом, в результате исследований установлено, что ФК оказывает нейрофизиологический эффект на ЧСС, поведение и другие параметры радужной форели. Под влиянием ФК происходило снижение ЧСС до 21,64 – 25,8 % и увеличение локомоторного ответа до 3,09–7,47 раз. Установлены различные эффекты для КФК и ЛФК.

Благодарности

Исследования выполнялись при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ проекта Б23М-080). Тема проекта: «Сравнительный анализ эмбриотоксических, нейрофизиологических и рыбоводно-биологических эффектов фульвовых кислот, полученных из лигнита и кукурузного сырья, на модельном объекте *Danio rerio* и аквакультурном объекте радужной форели».

ЛИТЕРАТУРА

1. Britannica [Electronic resource]: Fulvic acid chemical compound. – Mode of access: <https://www.britannica.com/science/fulvic-acid>. – Date of access: 06.03.2025.
2. Schellekens, J. Molecular Features of Humic Acids and Fulvic Acids from Contrasting Environments / J. Schellekens, P. Buurman, K. Kalbitz [et al.] // 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. Кошак, Ж. В. Гуминовые препараты в составе комбикормов для осетровых рыб / Ж. В. Кошак [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2022. – №37. – С. 341–356.
8. 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.
9. Banaszkiewicz W. The influence of natural peat and isolated 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.
10. 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.