

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФУЛЬВОВОЙ КИСЛОТЫ
НА РАЗМНОЖЕНИЕ ДАНИО РЕРИО**

Жарикова Анастасия Олеговна, аспирант

Барулин Николай Валерьевич, к. с.-х. н., доцент

Белорусская государственная сельскохозяйственная академия

Zharikova Anastasia, postgraduate, anastsiazh@gmail.com

Barulin Nikolai, PhD, barulin@list.ru

Belarusian State Agricultural Academy

Проведенные исследования установили, что добавление фульвовой кислоты в корм в концентрациях 1 и 5 % оказывает положительное влияние на сумму, среднее количество, медиану количества оплодотворенных эмбрионов; 5 % – отрицательное влияние на количество успешных нерестов половозрелых особей данио рерио.

***Ключевые слова:** данио рерио, фульвовая кислота, размножение, выживаемость, оплодотворение.*

Введение. Рыбы являются удобной моделью для оценки влияния различных факторов на физиологические показатели живых организмов [1].

Пресноводные рыбы данио рерио (*Danio rerio*) в последнее время являются очень популярным модельным объектом в различных биомедицинских исследованиях, направленных на изучение процессов функционирования генов, развития организма, анатомии, физиологических и поведенческих особенностей. Данио – хорошая модель не только для редких наследственных, но и для распространенных заболеваний [2].

Фульвовая кислота (fulvic acid, FA) – это один из двух классов натурального кислотного органического полимера, который может быть извлечен (экстрагирован) из гумуса, обнаруженного в почве, осадке или водной среде [3].

Биологические эффекты комплексных связей гуминовой и фульвовой кислот способны эффективно интенсифицировать обменные процессы в живом организме молоди рыб, ускоряя окислительно-восстановительные процессы, улучшая газообмен в тканях, угнетая рост патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте, ускоряя переваривание белка с усвоением кальция, микроэлементов, питательных веществ. Связанные гуминовыми кислотами бактерии и токсины выводятся естественным путем [3].

В промышленном рыбоводстве специалисты часто прибегают к добавкам к воде на основе фульвовых кислот или, к продуктам на основе гуминовых веществ из сектора кормов для животных. Несмотря на перспективно положительные характеристики фульвовой кислоты, ее использование в области кормления рыб является малоизученным.

Целью наших исследований являлась оценка влияния фульвовой кислоты на размножение половозрелых особей данио рерио.

Материал и методика исследований. Исследования выполнялись на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства в 2021 гг., в студенческой научно-исследовательской лаборатории «Физиология рыб».

В качестве объектов исследований использовали эмбрионов и личинок данио рерио дикого типа, находящихся на стадии икринки и, впоследствии, перешедших на активное питание. Эмбрионы рыб получались от индивидуального нереста (1 самец – 1 самка). Самец и самка накануне, вечером, отсаживались в 3-х литровый лоток-нерестовик, в котором имелась прозрачная перегородка, отделяющая самца от самки. Лоток находился на общем водоснабжении водой из вивария. Температура воды при нересте составляла 27 °С. Утром, в 9:00, перегородка убиралась и через 10-15 минут происходило начало естественного нереста. После извлечения эмбрионов из лотка-нерестовика (в 11:00), они промывались от загрязнений и помещались в инкубационную среду. В качестве инкубационной среды использовалась артезианская вода, предварительно нагретая до 27 °С, с дальнейшей дополнительной аэрацией.

При изучении влияния рекомендуемых дозировок фульвовой кислоты при кормлении половозрелых особей данио рерио на их размножение проводили опыт, схема которого приведена в таблице 1.

Таблица 1. – Схема опыта размножения

Группа	Период			Количество рыб, экз.	Повторы
	Предварительный	Опытный	Заключительный		
Контроль	ОР	ОР	ОР	1♀ + 1♂	3
Опытная 1	ОР	ОР + раствор 1% фульвовой кислоты	ОР	1♀ + 1♂	3
Опытная 2	ОР	ОР + раствор 5% фульвовой кислоты	ОР	1♀ + 1♂	3
Продолжительность, сут.	10	10	10		

В ходе данного эксперимента было сформировано 3 исследуемые группы: 1 контрольная группа и 2 опытные группы: по 1 самке и 1 самцу половозрелых особей данио рерио в каждой группе. Каждая группа содержалась в 3-х литровых пластиковых лотках. Эксперимент состоял из трех пе-

риодов: предварительного, опытного и заключительного. Каждая опытная и контрольная группа имела дополнительно 2 дубликата. Продолжительность каждого периода составляла 10 суток. Во время предварительного периода все исследуемые группы получали основной рацион. Во время опытного периода в основной рацион опытных групп 1 и 2 вводилась фульвовая кислота. Во время опытного периода в основной рацион контрольной группы вводилась артезианская вода. Во время заключительного периода все исследуемые группы также получали основной рацион (ОР) без включения фульвовой кислоты.

Основной рацион включал в себя корм Tetra "TetraMin. Granules". Состав: рыба и побочные рыбные продукты, зерновые культуры, дрожжи, экстракты растительного белка, растительные продукты, овощи, моллюски и раки, водоросли, масла и жиры, минеральные вещества. Аналитические компоненты: сырой белок 46%, сырые масла и жиры 7%, сырая клетчатка 2%, влага 8%. Добавки: витамины, провитамины и химические вещества с аналогичным воздействием: витамин А 30035 МЕ/кг, витамин Д3 1860 МЕ/кг. Комбинации микроэлементов: Е5 марганец 68 мг/кг, Е6 цинк 40 мг/кг, Е1 железо 26 мг/кг, красители, антиоксиданты.

Ежедневная дозировка корма составляла 100 мг на каждую исследуемую группу. Кормление осуществлялось 1 раз в сутки.

Фульвовая кислота вводилась путем замачивания ежедневной дозировки корма в растворе фульвовой кислоты из расчета 1 мл раствора на 100 мг корма: 1 % раствор для опытной группы 1 и 5 % раствор для опытной группы 2. Замачивание корма в растворе осуществляли в течение 30 минут в термостате при температуре 28 °С.

В контрольной и опытных группах ежедневно осуществляли регистрацию количества получаемых эмбрионов. После получения эмбрионов от каждой исследуемой группы, они помещались в отдельные чашки Петри, с дальнейшей регистрацией выживаемости. Условия и параметры инкубации данных эмбрионов описаны выше.

Содержание исследуемых групп осуществлялось в специализированном виварии, предназначенном для содержания данио рерио. Виварий представляет собой лабораторную установку замкнутого водоснабжения общим объемом 320 л, которая оснащена системой аэрации, биофльтрации, обеззараживания, регулирования температуры и освещения. Основные параметры водной среды в целом соответствовали оптимальным параметрам содержания данио рерио: рН 8,5, кислород – 7,0 мг/л, нитриты, нитраты и аммонийный азот отсутствовали. Объем подмены свежей воды – в среднем 30 % от общего объема воды в виварии в сутки.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе оценки влияния фульвовой кислоты при кормлении половозрелых экземпляров данио рерио нами были проанализированы следующие показатели характеризующие эффективность размножения: количество успешных нерестов, среднее количество, сумма оплодотворенных эмбрионов. Поскольку данные не имели нормального распределения, что является обычным явлением при проведении биологических и сельскохозяйственных исследованиях, мы дополнительно анализировали медиану количества оплодотворенных эмбрионов. Анализу подвергались данные в предварительный, опытный и заключительный период.

При анализе влияния применения фульвовой кислоты при кормлении половозрелых экземпляров данио рерио на количество успешных нерестов нами было установлено, что как в опытной так и контрольной группе происходило увеличение количества успешных нерестов в опытный период с дальнейшим их снижением в заключительный период. Увеличение количества успешных нерестов во всех исследуемых группах в опытный период, по сравнению с предварительным, можно объяснить наступившей адаптацией к новым условиям выращивания. Снижение количества успешных нерестов в заключительный период во всех исследуемых группах можно объяснить накоплением стрессовых факторов, в результате ежедневного мониторинга за эффективностью размножения.

Так, среднее количество успешных нерестов в контрольной группе в предварительном периоде составило 1,66 шт.; в опытной группе № 1 – 3,0 шт.; в опытной группе № 2 – 3,33 шт. Среднее количество успешных нерестов в контрольной группе в опытный период составило 6,0 шт. (в 3,6 раз больше по сравнению с предварительным периодом); в опытной группе № 1 – 8,33 шт. (в 2,77 раз больше); в опытной группе № 2 – 5,66 шт. (в 1,69 раз больше) (таблица 2). Среднее количество успешных нерестов в контрольной группе в заключительном периоде составило 4,0 шт. (в 2,4 раз

больше по сравнению с предварительным периодом); в опытной группе № 1 – 7,0 шт. (в 2,33 раз больше); в опытной группе № 2 – 4,66 шт. (в 1,39 раз больше).

Таблица 2. – Влияние применения фульвовой кислоты при кормлении половозрелых экземпляров данио рерио на количество успешных нерестов в опытный период

Повторность	Предварительный период	Опытный период	Величина изменения	p критерий (Парный тест Уилкоксона)
Контроль				
1	1	10	9	
2	3	3	0	
3	1	5	4	
Среднее значение	1,66	6	4,33	0,3711
Опытная группа 1				
1	1	8	7	
2	2	8	6	
3	6	9	3	
Среднее значение	3	8,33	5,33	0,25
Опытная группа 2				
1	4	6	2	
2	1	1	0	
3	5	10	5	
Среднее значение	3,33	5,66	2,33	0,3711

При анализе влияния применения фульвовой кислоты при кормлении половозрелых экземпляров данио рерио на среднее количество оплодотворенных эмбрионов нами было установлено, что в опытных группах № 1 и № 2 в опытный период идет увеличение среднего количества эмбрионов по сравнению с контрольными значениями, с дальнейшим снижением в опытной группе № 1 в заключительный период. Опытные группы с дозировками 1 и 5 % фульвовой кислоты оказали положительное влияние.

При анализе влияния на сумму оплодотворенных эмбрионов нами было установлено, что как в опытных так и контрольной группе происходило увеличение суммы оплодотворенных эмбрионов в опытный период с дальнейшим их снижением в заключительный период. Увеличение суммы оплодотворенных эмбрионов во всех исследуемых группах в опытный период, по сравнению с предварительным, можно объяснить наступившей адаптацией к новым условиям выращивания. Снижение суммы оплодотворенных эмбрионов в заключительный период во всех исследуемых группах можно объяснить накоплением стрессовых факторов, в результате ежедневного мониторинга за эффективностью размножения.

При анализе влияния на медиану количества оплодотворенных эмбрионов было установлено, что в опытных группах № 1 и № 2 в опытный период идет увеличение медианы количества эмбрионов по сравнению с контрольными значениями, с дальнейшим снижением в опытной группе № 1 в заключительный период. Снижение медианы количества оплодотворенных эмбрионов в опытной группе № 1 в заключительный период, по сравнению с предварительным периодом можно объяснить эффектом отмены фульвовой кислоты.

Заключение. Таким образом, наши исследования установили, что добавление фульвовой кислоты в корм в концентрациях 1 % и 5 % оказывало положительное влияние на сумму, среднее количество, медиану количества оплодотворенных эмбрионов данио рерио. Добавление фульвовой кислоты в корм в концентрации 5 % оказывало отрицательное влияние только на количество успешных нерестов половозрелых особей данио рерио.

Список использованных источников

1. Барулин, Н. В. Комплекс диагностического мониторинга физиологического состояния ремонтно–маточных стад осетровых рыб в установках замкнутого водоснабжения / Н. В. Барулин // Вестник Государственной полярной академии. – 2014. – № 1 (18). – С. 19–20.
2. Троицкий вариант – Наука [Электронный ресурс] / Зебраданио потеснили мышей и дрозофил в биомедицине. – Режим доступа: <https://trv-science.ru/2018/02/zebradanio-v-biomedicine/>. – Дата доступа: 18.04.2022.
3. Лотош Т. Д. Экспериментальные основы и перспективы применения препаратов гуминовых кислот торфа в медицине и сельскохозяйственном производстве // Гуминовые вещества в биосфере // Научн. докл. высш. школы. Биол. науки. – 2011. – № 10 (334). – С. 99–103.