

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ В.А. БОНДАРЕНКО»**

На правах рукописи



Маленкина Ксения Александровна

**Структурно-функциональная организация пресноводной экосистемы в
условиях поступления в среду наночастиц железа и веществ анти кворума**

1.5.15. Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук,
доцент
Аринжанов А. Е.

Оренбург – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Наноматериалы: воздействие на пресноводные экосистемы	11
1.2. Ингибиторы <i>Quorum sensing</i> : воздействие на пресноводные экосистемы	23
1.3. Биосистема «микробиом-организм хозяина (рыба)»	31
2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	41
2.1 Материалы и методы исследования.....	41
2.1.1 Объекты исследования в составе пресноводной экосистемы	41
2.1.2. Характеристика исследуемых веществ.....	59
2.1.3 Статистическая обработка материала.....	59
2.2 Результаты собственных исследований.....	61
2.2.1 Результаты первого этапа исследований.....	61
2.2.2 Результаты второго этапа исследований	120
3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	136
ВЫВОДЫ	142
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	144
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	145
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	146
ПРИЛОЖЕНИЯ	171

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Бурное развитие нанотехнологий сопровождается беспрецедентным наращиванием производства наноматериалов, превышающее 100 тыс. тонн в год. Причем, наноматериалы на ряду с высокотехнологичными отраслями широко применяются в сельскохозяйственном производстве, в том числе в птицеводстве (Сизова Е.А., 2017), скотоводстве (Han L. et al., 2021), свиноводстве (Cui Y, et al., 2021) и аквакультуре (Аринжанов А.Е., 2026). Как следует из накопленных наукой данных, уникальные свойства наноматериалов при использовании в животноводстве позволяют обеспечить дополнительный рост продуктивности животных и повысить эффективность использований кормов, что сопровождается повышением экономической эффективности отрасли (Мирошников С.А., Сизова Е.А., 2017).

Наряду с наноматериалами в последнее десятилетие в животноводстве нашли применение и специфические соединения, способные подавлять развитие зоопатогенной микрофлоры. К их числу относятся ингибиторы *Quorum sensing*. Последние, в силу способности нарушать коммуникации между микроорганизмами, представляются крайне перспективными для преодоления антибиотикорезистентности патогенов. Это определило применение ингибиторов *Quorum sensing* в птицеводстве (Климова Т.А., 2024), скотоводстве (Атландерова К.Н., 2019) и аквакультуре (Аринжанов А. Е., 2026).

Практика применения новых веществ в сельском хозяйстве в общем, и в аквакультуре в особенности, равно как и в других отраслях человеческой деятельности, неминуемо сопровождается попаданием последних в водные экосистемы. Это формирует новый запрос на детальное изучение возможных последствий для биосистем.

Степень разработанности темы. Наука накопила достаточно противоречивые данные о возможных последствиях попадания

наноматериалов в водные биосистемы. С одной стороны существуют свидетельства о крайне высокой реакционной способности наноматериалов, с проникновением последних в водные организмы и с далеко идущими негативными последствиями для биосистем. При этом действие наночастиц распространяется на активность ферментов, интенсивность фотосинтеза, процессы клеточного дыхания, структуру микробиоценозов и характер межвидовых взаимодействий в водных биосистемах (Ren Zh. et al., 2024; Huang X. et al., 2024). Есть свидетельства о неспособности существующих технологий обеспечить необходимую очистку сточных вод от техногенных наночастиц, в частности церия, с закономерным попадением наночастиц этого металла в водные экосистемы и питьевую воду (Limbach L.K., et.al. 2008). Наряду с этим существует большой объем данных об отсутствии негативного действия наноматериалов на водные биосистемы, перспективности применения их для очистки вод, ремедиации загрязненных почв, удалении тяжелых металлов, органических загрязнителей и антибиотиков (Yan et al., 2013; Pasinszki and Krebsz, 2020).

Знания о влиянии ингибиторов *Quorum sensing* на водные биосистемы куда более скромные. Эти вещества в отличие от традиционных антимикробных препаратов, не уничтожают микроорганизмы, а нарушают их коммуникацию. Поэтому подавление кворум-чувствительности сегодня рассматривают как более экологичный подход по сравнению с использованием антибиотиков и агрессивных дезинфицирующих средств (Qu Y. et al., 2024; Hu C. et al., 2024). В то же время известно о селективных изменениях в биосистемах пресных водоемов под влиянием ингибиторов *Quorum sensing*, связанных с жизнедеятельностью водорослей и развитием цианобактерий, процессов колонизации и устойчивости микробных сообществ (Vajagathali M., Jesu A., 2024).

Анализ результатов исследований по проблеме позволил констатировать, что современные технологии производства объектов аквакультуры с применением наноматериалов и ингибиторов *Quorum sensing*

пока не получили необходимую оценку по влиянию на пресноводные экосистемы.

Цель и задачи исследования. Целью работы является изучение влияния наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* на биосистему «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*» с исследованием таксономической структуры кишечной микробиоты и адаптационных механизмов организмов пресноводной экосистемы.

При этом решались следующие задачи:

1. Дать оценку адаптационным изменениям в биосистеме «микробиом кишечника - организм хозяина *Cyprinus carpio*» к присутствию в корме рыбы наночастиц железа.

2. Дать оценку адаптационным изменениям в биосистеме «микробиом кишечника - организм хозяина *Cyprinus carpio*» к присутствию в корме рыбы ингибитора *Quorum sensing*.

3. Дать оценку общего состояния пресноводной экосистемы, с оценкой *Cyprinus carpio*, *Anodonta cygnea*, *Lemna minor* и *Daphnia magna* в условиях поступления наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing*.

4. Изучить действие исследуемых факторов на фотосинтезирующие процессы в экосистеме на модели ряски малой (*Lemna minor*).

Научная новизна. Научная новизна работы заключается в изучении совместного воздействия наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* на пресноводную экосистему.

Впервые установлено, что адаптация биосистемы «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*» на фоне поступления с кормом наночастиц железа и вещества-ингибитора кворум-сенсинг умбеллиферона сопровождается изменениями таксономического состава микрофлоры кишечника с последующими селективными перестройками элементного статуса рыбы. Показана зависимость обменного пула макро- и микроэлементов организма *Cyprinus carpio* от таксономической структуры кишечного микробиома. Установлено, что снижение относительного

содержания представителей рода *Cetobacterium* и семейства *Fusobacteriaceae* сопровождается перестройкой обмена железа, кальция и натрия; увеличение численности представителей *Desulfovibrionaceae* ассоциировано с повышением содержания железа; изменение относительной численности *Sphingomonadaceae* и *Rubritaleaceae* связано с перераспределением кальция и формированием новых микробных ниш; изменение представленности родов *Shewanella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Citrobacter*, *Emticicia* и *Niveispirillum* отражает направленную перестройку элементного статуса организма карпа и процессов минерального обмена.

Получены новые для науки данные, демонстрирующие, что поступление наночастиц железа сопровождается селективной перестройкой кишечного микробиома *Cyprinus carpio* без существенного изменения α -разнообразия, но с выраженной трансформацией β -разнообразия и таксономической структуры сообщества. Под действием наночастиц железа снижается представленность доминирующего симбиотического рода *Cetobacterium*, изменяется относительное содержание представителей *Shewanella*, *Vibrio*, *Aeromonas* и *Niveispirillum*, возрастает представленность *Pseudomonadaceae*, *Tolimonas* и *Pseudomonas*, изменяется состав уникальных таксонов микробного сообщества, что свидетельствует о формировании нового устойчивого варианта кишечного микробиоценоза, ассоциированного с перестройкой процессов минерального обмена организма хозяина.

Получены новые для науки данные, демонстрирующие, что введение ингибитора кворум-сенсинга – умбеллиферона – вызывает направленную трансформацию кишечного микробиома *Cyprinus carpio*, сопровождающуюся увеличением β -разнообразия при сохранении показателей α -разнообразия. Наиболее выраженные изменения связаны с перераспределением относительного содержания представителей *Citrobacter*, *Shewanella*, *Aeromonas*, *Cetobacterium*, *Emticicia* и *Niveispirillum*, снижением доминирования *Fusobacteriota* и перераспределением долей *Pseudomonadota* и

Bacteroidota, что сопровождается последующей перестройкой обмена макро- и микроэлементов организма рыб.

Получены новые для науки данные, демонстрирующие, что совместное применение наночастиц железа и ингибитора кворум-сенсинга оказывает комплексное воздействие на биосистему «микробиом кишечника – организм хозяина». Установлено, что сочетанное действие исследуемых факторов сопровождается последовательной сменой доминирующих таксонов кишечного микробиома, снижением относительного содержания *Fusobacteriaceae* и *Cetobacterium*, увеличением представленности *Desulfovibrionaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Rubritaleaceae* и других таксонов, ростом β -разнообразия микробного сообщества и формированием новых микробных ниш. Выявленные изменения сопровождаются взаимосвязанной перестройкой элементного статуса организма, затрагивающей обмен железа, кальция, натрия, калия, цинка, меди, кобальта и никеля, что позволило впервые обосновать существование единой функциональной оси «наночастицы железа – ингибитор кворум-сенсинга – кишечный микробиом – элементный статус организма хозяина».

Теоретическая значимость работы состоит в разработке рабочей гипотезы с последующей проверкой, раскрывающей механизм воздействия наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* в корме рыбы на биосистему «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*».

Теоретически обосновано и показано в эксперименте опосредованное действие наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* – умбеллиферона на элементный статус *Cyprinus carpio* через трансформацию видового состава микрофлоры кишечника рыбы.

Исследование расширяет представления о механизмах устойчивости пресноводных экосистем, с акцентом на устойчивость, зависящую от состояния микробной коммуникации и её химического регулирования. Это позволяет скорректировать современные модели экосистемной стабильности, включая роль микробных кооперативных взаимодействий.

Работа вносит вклад в теорию микробной экологии, подавление кворум-сенсинга позволяет увидеть влияние поведенческих реакций бактерий на формирование структуры микробиома, что является важным элементом экосистемы.

Практическая значимость работы заключается в обосновании возможности применения наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* в качестве средств направленной регуляции системы «микробиом кишечника – организм хозяина» без выраженного нарушения естественных экологических процессов. Полученные результаты могут служить научной основой для разработки технологий экологического сопровождения аквакультуры, направленных на поддержание физиологического состояния гидробионтов посредством управления микробными взаимодействиями без их подавления.

Установленные закономерности изменения кишечного микробиома и элементного состава расширяют возможности использования микробиологических показателей в качестве чувствительных биоиндикаторов оценки состояния гидробионтов и качества водной среды, что позволяет применять их при экологическом мониторинге пресноводных экосистем и оценке эффективности природоохранных мероприятий.

Практическая ценность работы также определяется использованием соединений, близких к естественным компонентам природной среды. Железо является неотъемлемым участником биогеохимического круговорота элементов, а умбеллиферон представляет собой природный растительный метаболит, обладающий антивирулентным действием без выраженного бактерицидного эффекта. При соблюдении физиологически обоснованных концентраций это создает предпосылки для применения данных соединений в экологических технологиях, ориентированных на сохранение микробного разнообразия, снижение антропогенной нагрузки на водные экосистемы и поддержание их устойчивого функционирования.

Методология и методы исследования. В процессе эксперимента применялись стандартные экологические, физиологические и биохимические

методы исследования с применением научно-методической базы кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко» с использованием материально-технической базы Центра коллективного пользования Института микро- и нанотехнологий Оренбургского государственного университета имени В.А. Бондаренко <http://www.osu.ru/doc/1328>, ФГБНУ «ФНЦ биологических систем и агротехнологий РАН» <https://цкп-бст.рф/>, «Персистенция микроорганизмов» ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН» <https://ikvs.info/institut/laboratorii/czkrp>.

Полученные результаты были обработаны с помощью программного пакета «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США).

Основные положения, выносимые на защиту:

- пресноводная экосистема реагирует на введение наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* - умбеллиферона в корм карпа адаптационными реакциями отдельных элементов биосистемы водоема *Anodonta cygnea*, *Lemna minor*, *Daphnia magna*;

- адаптация биосистемы «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*» на фоне поступления с кормом наночастиц железа и ингибитора *Quorum sensing* - умбеллиферона сопровождается изменениями таксономического состава микрофлоры кишечника с последующими селективными и зависимыми перестройками элементного статуса рыбы.

Благодарности. Работа выполнялась в соответствии с госбюджетной НИР ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко» (2023-2026 годы № 12210110049-1), при финансовой поддержке гранта на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технического развития (№ 075-15-2024-550), гранта РНФ №23-76-10054.

Степень достоверности и апробация работы. Научные положения, выводы и предложения производству обоснованы и базируются на аналитических и экспериментальных данных, степень достоверности которых

доказана путем статистической обработки с использованием программного пакета Statistica 10.0.

Выводы и предложения основаны на научных исследованиях, проведенных с использованием современных методов анализа и расчета. Основные материалы диссертационной работы доложены на расширенном заседании кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры ОГУ.

По теме диссертации опубликовано 20 работ, из них 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ, 1 патент на изобретение и 10 баз данных зарегистрированных в Роспатенте.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 181 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, предложений производству и перспектив дальнейшей разработки. Работа содержит 34 таблицы, 28 рисунков и приложений. Список использованной литературы включает 199 источников, в том числе 131 зарубежных авторов.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Наноматериалы: воздействие на пресноводные экосистемы

Нанотехнологии входят в число самых динамично развивающихся направлений современной науки и считаются одним из ключевых драйверов научно-технического прогресса XXI века. Сегодня уже существуют методы экологической рекультивации с использованием наночастиц (НЧ). Получены данные об их эффективности при лечении и профилактике заболеваний бактериальной природы у животных, растений и гидробионтов, особенно в ситуациях, когда применение антибиотиков невозможно. Кроме того, появилась возможность управлять жизненными циклами животных и растений, повышая их продуктивность и устойчивость к неблагоприятным факторам (Javed R. et al., 2020; Zeng Y. et al., 2022; Kah Sem NAD et al., 2023).

Термин «нанотехнологии» впервые предложил Норио Танигути в 1974 году. Это событие положило начало масштабным исследованиям, которые продолжаются и сегодня (Gleiter H., 2000). Новый этап развития отрасли начался в 1981 году после создания сканирующего туннельного микроскопа (СТМ) под руководством Герда Биннига и Генриха Рорера. Прибор позволил впервые наблюдать отдельные атомы и изучать поверхность материалов на наноуровне. Благодаря эффекту туннелирования стало понятно, что частицы способны преодолевать потенциальные барьеры, даже если их энергия ниже необходимого уровня. На основе СТМ позднее были разработаны атомно-силовой и сканирующий зондовый микроскопы – инструменты, без которых сегодня невозможно исследование наноструктур (Bayda S. et al., 2020; Рыков С.А., 2022).

В 1985 году Роберт Кёрл, Гарольд Крото и Ричард Смалли открыли новые модификации углерода, а в 1991 году японский физик Сумио Иидзима обнаружил углеродные нанотрубки. Эти структуры отличаются высокой прочностью, электро- и теплопроводностью. Их открытие стало одним из важнейших событий в развитии наноматериалов. Сегодня углеродные

нанотрубки используют как армирующий компонент в полимерах и бетоне для улучшения механических, термических и электрических характеристик материалов (Bayda S. et al., 2020; Рыков С.А., 2022).

В 2004 году японские исследователи при очистке одностенных углеродных нанотрубок представили новый класс углеродных наноматериалов размером менее 10 нм. Открытие графена придало исследованиям наноструктур выраженный междисциплинарный характер. Низкая токсичность и высокая биосовместимость углеродных наночастиц сделали их перспективными для создания систем адресной доставки лекарств, диагностики онкологических заболеваний и разработки биосовместимых имплантов (Yang S.-T. et al., 2009; Zhou L. et al., 2012; Bayda S. et al., 2020).

В России исследования в области нанотехнологий активно ведутся с 1990-х годов. Важным этапом стало принятие Федерального закона «О российской корпорации нанотехнологий (РКН)» от 04.07.2007 года, который регулирует инвестиционную и внешнеэкономическую деятельность, связанную с реализацией нанотехнологических проектов как внутри страны, так и за её пределами (Пашкова Е.В., 2008).

Развитие нанотехнологий формирует новую технологическую основу мировой экономики. Государства, которые активно инвестируют в эту сферу, получают преимущества в области инноваций и промышленного производства. По этой причине нанотехнологии рассматриваются как один из факторов, определяющих конкурентоспособность страны и темпы её научно-технического развития (Носова С.С., 2015).

Интерес к нанотехнологиям связан прежде всего с возможностью создавать материалы с принципиально новыми свойствами. Это открывает дополнительные возможности для развития техники, медицины, экологии и биотехнологии. Одновременно исследования в данной области помогают выявлять пробелы как в фундаментальных, так и в прикладных знаниях (Рогов В.А., Копылов В.В., 2008).

Основой развития нанотехнологий стало изучение поведения наночастиц на атомном и молекулярном уровнях. Для таких частиц характерны высокая прочность, электропроводность, термостойкость и химическая активность. Наночастицы металлов и оксидов широко применяют при производстве катализаторов, сенсоров, лекарственных препаратов и электронных компонентов (Astumian R., 2016).

Уникальные физические, химические и биологические свойства НЧ проявляются именно на наноуровне, то есть при размерах порядка 10^{-9} м. Особенности таких частиц определяются влиянием поверхностного натяжения и межмолекулярных взаимодействий. Большая удельная поверхность обеспечивает им высокую реакционную способность и позволяет проникать через биологические барьеры, включая клеточные мембраны (De Silva C. et al., 2021; Михайленко В.С. и др., 2021; Аринжанова М.С., 2022).

Сфера применения наночастиц определяется их происхождением, функциональными характеристиками и морфологией. Среди природных и антропогенных частиц наибольшую экологическую опасность представляют техногенные НЧ, содержащие тяжёлые металлы, канцерогенные соединения, оксиды азота и серы. Их токсичность обусловлена способностью проникать через биологические барьеры. К искусственно синтезированным наноматериалам относятся квантовые точки, нанотрубки, фуллерены, нанодиаманты и металлические наночастицы. Для них характерны контролируемые размеры, структура, поверхностные свойства и уровень токсичности (Caputo F. et al., 2019).

Морфология НЧ во многом определяет их реакционную способность, сорбционные свойства, прочность и электропроводность. Сферические частицы обладают минимальной поверхностной энергией и высокой устойчивостью. Наночастицы золота и серебра применяют в оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии, а частицы олова используют для удаления остаточных количеств антибиотиков из воды. Пластинчатые структуры, такие как графен и слоистые силикаты, отличаются высокой

сорбционной активностью благодаря большой площади поверхности. Волокнистые и трубчатые частицы, включая углеродные нанотрубки и нанопроволоки, обладают высокой механической прочностью и хорошей электропроводностью. Игольчатые и дендритные формы характеризуются повышенной реакционной способностью за счёт развитой поверхности (Апери В.В. и др., 2019; Скрипкин Е.В. и др., 2022; Руднева Ю.В., Коренев С.В., 2024).

Магнитные наночастицы занимают особое место среди НЧ. Изменяя их размеры, форму, состав и внутреннее строение, можно управлять магнитными характеристиками материала. Благодаря выраженным магнитным свойствам и сравнительно низкой токсичности такие частицы используют в магнитной гипертермии, МРТ, системах хранения информации, технологиях адресной доставки лекарств и очистке воды. Наиболее изученными являются наночастицы магнетита (Fe_2O_3) и маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Схожие перспективы демонстрируют биосовместимые люминесцентные НЧ (Моргунов Р.Б. и др., 2007; Кокшаров Ю.А., и др. 2022; Абилкосимова Г.М., и др., 2024).

Развитие нанотехнологий привело к активному внедрению наноматериалов в рыбоводство, марикультуру и системы выращивания гидробионтов. В аквакультуре они рассматриваются как инструмент решения ряда актуальных проблем: ухудшения качества воды, роста инфекционной заболеваемости, снижения эффективности кормов, распространения антибиотикорезистентности и загрязнения водоёмов. В системах замкнутого водоснабжения нередко накапливаются нитраты, нитриты и органические отходы, что создаёт благоприятные условия для развития патогенной микрофлоры.

Использование НЧ в системах очистки воды позволяет эффективно удалять тяжёлые металлы, токсины и пестициды. Высокая реакционная способность и большая площадь поверхности способствуют их адсорбции и последующей коагуляции загрязнителей в крупные агрегаты, которые затем осаждаются (Кривошапкин П.В. и др. 2019; Abbas W.T., 2021). Исследования

показывают высокую эффективность наночастиц TiO_2 и Fe_2O_3 при удалении свинца и ртути из водной среды, что снижает токсическую нагрузку на биоценоз (Kamel A. H. et al., 2025). В работе N.N. Nassar (2010) установлено, что наночастицы Fe_2O_3 с адсорбционной способностью 36 мг/г эффективно извлекают двухвалентные ионы свинца из водных растворов (Nassar N.N., 2010). Присутствие гуминовых кислот дополнительно усиливает сорбцию ионов кадмия и свинца частицами железа и магнетита (Осипова Е. А., 2024). Исследования Н. Huang (2017) и коллег показали, что наноматериалы на основе алюминия и органических полимеров ускоряют агрегацию и осаждение твёрдых частиц в УЗВ (Huang H. et al., 2017). Диоксид титана (TiO_2) также обладает фотокаталитической активностью и способен разлагать органические загрязнители под действием света, поддерживая качество воды на стабильном уровне (Liao G. et al., 2021).

НЧ помогают контролировать микробное загрязнение аквабиоценозов. Наночастицы серебра и меди подавляют рост патогенных микроорганизмов и способствуют сохранению здоровья гидробионтов (Olawade D.B. et al., 2024). Их также используют для улучшения характеристик фильтрационных мембран. Добавление оксидов титана и алюминия в мембранные материалы повышает пропускную способность фильтров и увеличивает срок их эксплуатации при очистке воды (Fan X. et al., 2023).

Высокая электропроводность и большая удельная поверхность углеродных нанотрубок, графена и восстановленного оксида графена позволяют использовать их как проводники между электродом и электролитом, что повышает эффективность разрушения загрязнителей (Рычагов А.Ю. и др., 2012). Дополнительный эффект достигается при сочетании НЧ с фотокатализаторами. Например, композиты на основе наночастиц и фталоцианинового красителя, активируемые светодиодным излучением видимого диапазона, расширяют спектр используемого света и повышают эффективность очистки воды (Патент RU 2844040 C1).

Одной из наиболее серьёзных проблем современной аквакультуры остаётся устойчивость патогенной микрофлоры к антибиотикам. Массовое применение антибактериальных препаратов привело к появлению резистентных штаммов, накоплению антибиотиков в тканях рыб, загрязнению водоёмов и распространению генов устойчивости между микроорганизмами. Наибольшую опасность представляют *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Flavobacterium spp.*, способные вызывать массовую гибель гидробионтов (Sakthivel N., Velayudhannair K., 2026).

Благодаря выраженным антимикробным свойствам НЧ рассматриваются как альтернатива антибиотикам. Наночастицы серебра повреждают клеточную стенку бактерий, нарушают её проницаемость и стимулируют образование супероксидных и гидроксильных радикалов. Возникающий окислительный стресс приводит к повреждению белков, липидов и нуклеиновых кислот бактериальных клеток (Shaalan M.I. et al., 2017; Joopari O. S. et al., 2024). Дополнительным преимуществом является пролонгированное действие серебряных наночастиц, позволяющее длительное время поддерживать качество воды без применения химических дезинфектантов (Aslam H. et al., 2024).

Наночастицы оксида цинка и меди проявляют выраженную антибактериальную и противогрибковую активность в отношении широкого круга микроорганизмов. К ним относятся грамположительные и грамотрицательные бактерии, термоустойчивые споры, а также *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* и *Pseudomonas putida*. Исследователи установили, что НЧ ZnO размером около 70 нм при концентрации 3–12 ммоль/л обеспечивали 100%-ную гибель бактерий *Escherichia coli*. По сравнению с оксидом железа (Fe_2O_3) наночастицы оксида цинка демонстрировали более высокую антибактериальную активность в отношении *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* (Мацакова Е.Г., Симакова Д.И., 2020; Gudkov S.V. et al., 2021).

Противогрибковые свойства выявлены и у НЧ оксида цинка, покрытых полианилином. В отношении *Aspergillus parasiticus* минимальная ингибирующая концентрация таких частиц составила 3 ммоль/л (Sohail Y. et al., 2022).

Наночастицы меди (НЧ Cu) оказывают как бактериостатическое, так и бактерицидное действие, особенно в отношении клинически значимых полирезистентных штаммов. Они нарушают барьерные функции бактериальных мембран, вызывая утечку катионов K^+ . Одновременно, ионы меди, высвобождающиеся из частиц, стимулируют образование активных форм кислорода на поверхности клеток, что приводит к разрушению клеточной мембраны (Гудкова Е.С. и др., 2021; Невежина А.В., Фадеева Т.В., 2021). Перспективным считается использование НЧ меди в составе ранозаживляющих гелей, где антимикробный эффект сочетается со способностью ускорять регенерацию тканей (Богословская О.А. и др., 2022).

Антибактериальное действие наночастиц железа связано со снижением устойчивости патогенов к антибиотикам. Частицы инициируют окислительный стресс в клеточных мембранах бактерий, нарушая их целостность и жизнедеятельность, что подтверждают результаты исследований (Gabrielyan L. et al., 2019; Мирошникова Е.П. и др., 2023).

В последние годы особое внимание исследователей привлекают наночастицы хитозана – природного биополимера, получаемого из хитина ракообразных. Связываясь с поверхностными структурами бактериальных клеток, они нарушают проницаемость мембран, затрудняют поступление питательных веществ и кислорода, а также препятствуют выведению токсичных метаболитов. По данным исследований, ионы хитозана способны замещать ионы металлов в тейхоевых кислотах клеточной стенки, влияя на активность автолитических ферментов, участвующих в её деградации (Попова Э.В. и др., 2022).

Область применения НЧ хитозана не ограничивается антимикробными технологиями. Их используют в процессах коагуляции, осаждения, флотации,

мембранной фильтрации и адсорбции для удаления загрязнителей из водной среды. Благодаря способности избирательно поглощать нефтепродукты такие частицы применяют при рекультивации нефтезагрязнённых почв в качестве биоадсорбентов (Гаршин М.В. и др., 2025). Магнитные хитозановые композиты на основе оксидов железа и титаната натрия используют для удаления урана и других радионуклидов из радиоактивных сточных вод (Земскова Л.А., Егорин А.М., 2024).

Наночастицы играют важную роль в поддержании экологического гомеостаза и повышении стрессоустойчивости гидробионтов. В естественной среде водные организмы постоянно сталкиваются с перепадами температуры, гипоксией, изменением солёности, накоплением нитритов и нитратов, загрязнением воды и инфекционной нагрузкой. Под воздействием этих факторов активируется гипоталамо-гипофизарно-интерреналовая система рыб (HPI-axis), возрастает уровень кортизола и катехоламинов. Это сопровождается усиленным образованием активных форм кислорода, нарушением энергетического обмена, угнетением иммунитета и роста, повышением смертности и ухудшением состояния водных экосистем (Liu, Z.-Y. et al., 2026).

Селен (Se) является важным компонентом антиоксидантной системы клеток. Он участвует в регуляции окислительно-восстановительных процессов, снижает уровень активных форм кислорода (АФК) и защищает организм от окислительного стресса. Наноразмерная форма селена отличается высокой скоростью абсорбции, выраженной биологической активностью и сравнительно низкой токсичностью (Zhang T. et al., 2023). Исследования показали, что биосинтезированные наночастицы селена, продуцируемые бактериями *B. subtilis* AS12, способны снижать негативное воздействие кадмия и ртути на рыб и уменьшать накопление этих токсикантов в организме (Saad A.M. et al., 2022). В составе глутатионпероксидазы, тиоредоксинредуктазы и других антиоксидантных белков селен в форме НЧ способствует уменьшению

воспалительных процессов и повышает устойчивость к гипоксии и тепловому стрессу (Li Z-M. et al., 2023).

Одними из наиболее опасных стрессоров для гидробионтов остаются колебания температуры, изменения солёности и недостаток кислорода. Температурный стресс способен вызывать необратимые нарушения биохимических процессов, ухудшать репродуктивную функцию и приводить к гибели организмов. Введение НЧ в рацион стимулирует экспрессию белков HSP70 и HSP90, снижает степень повреждения жабр и печени, повышает термотолерантность рыб (Sun Y., 2025). Наночастицы церия, в свою очередь, регулируют активность эндогенных антиоксидантных ферментов – каталазы и пероксидазы, а также нейтрализуют активные формы кислорода (Yi L. et al., 2024).

Сегодня наночастицы металлов активно используют в системах мониторинга и диагностики аквакультуры. Традиционные методы контроля – микробиологический анализ, ПЦР, хроматография и спектрофотометрия – требуют лабораторного оборудования, значительных затрат времени и ресурсов. Нанотехнологии позволили создать высокочувствительные системы экспресс-диагностики и непрерывного мониторинга. Для эффективного управления аквакультурными объектами необходимо постоянно контролировать качество воды, уровень кислорода, концентрацию нитритов, микробную нагрузку, содержание токсинов и физиологическое состояние рыб (Quintanilla-Villanueva G.E. et al., 2023).

Металлические НЧ лежат в основе современных наносенсоров и биосенсорных платформ, способных обнаруживать минимальные концентрации патогенов и химических соединений в режиме реального времени (Зайдуллина Р.А. и др., 2022). Особый интерес представляют наночастицы золота, серебра, палладия и платины благодаря их уникальным оптическим и плазмонным свойствам. Золотые наночастицы широко применяют в SPR-сенсорах, колориметрических тестах, иммунодиагностике и ДНК-биосенсорах (Оленин А.Ю., 2019; Anh N.H. et al., 2022). Плазмонные

сенсоры на основе золота отличаются высокой чувствительностью к азотистым соединениям и позволяют фиксировать их пороговые концентрации (Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г., 2011).

Сходные возможности демонстрируют магнитные и углеродные наночастицы. Магнитные наночастицы используют для селективного захвата патогенных микроорганизмов. Исследования показали, что иммуномагнитные сорбенты (ИМС) эффективно связывают и концентрируют целевые патогены (Тюменцева И.С. и др., 2009). Графеновые сенсоры способны регистрировать сверхнизкие концентрации биомолекул и токсикантов благодаря высокой чувствительности графена к электростатическим изменениям в окружающей среде. При адсорбции молекул на его поверхности меняется электронное состояние материала, что фиксируется измерительной аппаратурой (Zhang X. et al., 2020).

SPR-сенсоры на основе наночастиц сегодня входят в число наиболее перспективных технологий мониторинга качества воды, выявления патогенов и оценки состояния гидробионтов. Их работа основана на взаимодействии света с металлическими НЧ, преимущественно Au и Ag. В результате возникают локализованные поверхностные плазмонные резонансы, усиливающие электромагнитное поле в области частицы. Когда на поверхности НЧ адсорбируются загрязнители, патогены или ионы, длина волны резонанса изменяется, что позволяет зарегистрировать присутствие исследуемого объекта (Prado E. et al., 2020; Soares M.S. et al., 2024).

Поскольку основное применение НЧ железа связано с кормовыми технологиями, их влияние на экосистему рассматривают через участие железа в биогеохимических циклах и воздействие на микрофлору водоёмов, включая нитрифицирующие бактерии и фитопланктон. Исследователи установили, что НЧ Fe способны снижать токсичность мышьяка (As) и аммиака (NH_4) в воде, ослаблять последствия теплового стресса и подавлять экспрессию генов апоптоза (Cas 3a и Cas 3b) и детоксикации (CYP 450), уменьшая

физиологическую нагрузку на организм (Аринжанова М.С., 2022; Kumar N. et al., 2024).

Несмотря на широкие перспективы применения, высокая реакционная способность НЧ может приводить к токсическим эффектам у гидробионтов и способствовать их накоплению в водных экосистемах. Образование активных форм кислорода, лежащее в основе многих полезных свойств наночастиц, при избытке становится опасным. Накопление супероксид-анионов и гидроксильных радикалов вызывает повреждение клеточных структур и нарушает работу антиоксидантной системы организма. Малые размеры частиц позволяют им взаимодействовать с фосфолипидным бислоем клеточных мембран, повышая их проницаемость, нарушая транспорт ионов и осмотический баланс, а также повреждая жаберный эпителий (Shaw B.J., 2011; Dube E., De Silva C. et al., 2021; Okuthe G. E., 2023).

Высокая реакционная способность, растворимость и биодоступность НЧ тесно связаны с проявлениями гено-, нейро- и иммунотоксичности. Наноразмерные формы металлов способны вызывать мутационные изменения ДНК, нарушать экспрессию генов и нормальный эмбриогенез гидробионтов. Если кратковременное применение может быть относительно безопасным, то хроническое воздействие приводит к снижению активности макрофагов, угнетению фагоцитоза и уменьшению активности лизоцима, что повышает восприимчивость водных организмов к заболеваниям (Dube E., Okuthe G. E., 2023; Мирошникова Е.П. и др., 2024; Huang C. et al., 2026).

Исследования показывают, что наноформы металлов способны активно накапливаться как в тканях организмов, так и в водной среде. Длительное присутствие НЧ в печени, жабрах, кишечнике и мышечной ткани гидробионтов создаёт потенциальный риск для человека при употреблении продукции аквакультуры (Shaw B.J. et al., 2011; Lopes S. et al., 2016). Поэтому одним из ключевых условий безопасного применения остаётся снижение рабочих концентраций наночастиц. Параллельно ведутся исследования по созданию биосовместимых покрытий, внедрению «зелёных» методов синтеза

и поверхностной модификации НЧ (Макаров В.В. и др., 2014; Михайленко В.С. и др., 2021; Маленкина К.А., Аринжанов А.Е., 2024).

Наибольшую токсичность в аквакультуре демонстрируют наночастицы серебра, цинка и меди. Повышенные концентрации НЧ серебра нарушают эмбриональное развитие, вызывают аномалии формирования организма, изменяют состав кишечной микробиоты, повреждают жабры, нарушают осморегуляцию и подавляют рост гидробионтов. В водной среде частицы Ag подвергаются агрегации, растворению, окислению и хлорированию, что напрямую влияет на их биодоступность и токсичность (Karaman E. et al., 2025; Huang C., 2026).

Наночастицы оксида цинка и меди оказывают токсическое действие как сами по себе, так и за счёт высвобождения ионов Zn^{2+} и Cu^{2+} . У рыб наблюдаются снижение активности антиоксидантных ферментов, нарушения обмена веществ, воспалительные процессы, гипоксия и задержка роста. Высокая растворимость НЧ ZnO дополнительно повышает их биодоступность и токсичность. Накопление цинковых и медных наночастиц в водной среде оказывает угнетающее воздействие и на микроорганизмы, населяющие водоёмы (Tong T. Et al., 2014; Sielska A., Skuza L., 2025).

Использование НЧ железа в аквабиоценозах также связано с определёнными рисками. Исследования показывают, что наночастицы железа и его оксиды могут снижать выживаемость тест-организмов и нарушать устойчивость искусственно созданных водных экосистем (Кожевникова Е.А. и др., 2017). Их поведение в воде зависит от фазового состава, состояния поверхности и концентрации суспензии. Для наночастиц, близких по составу к маггемиту ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), характерно заметное снижение рН при диспергировании в воде. Дополнительное влияние оказывает модификация поверхности наночастиц, способная изменять их свойства и характер взаимодействия с водной средой (Коваленко А.С. и др., 2023).

1.2. Ингибиторы *Quorum sensing*: воздействие на пресноводные экосистемы

Одним из наиболее активно развивающихся направлений на сегодняшний день стало изучение веществ, ингибирующих кворум-сенсинг (*Quorum sensing inhibitors*, QSI). Эти соединения нарушают систему бактериальной клеточной коммуникации и рассматриваются как перспективная альтернатива антибиотикам.

Кворум-сенсинг (QS) представляет собой механизм межклеточной коммуникации бактерий, основанный на синтезе, выделении и распознавании низкомолекулярных сигнальных соединений – аутоиндукторов. По мере роста бактериальной популяции их концентрация постепенно увеличивается. Когда она достигает порогового значения, запускается работа регуляторных белков, которые одновременно активируют экспрессию большого числа генов. Благодаря этому отдельные бактериальные клетки начинают действовать согласованно, как единое сообщество.

У грамотрицательных бактерий основную роль в передаче сигнала играют N-ацилгомосеринлактоны (AHL), тогда как у грамположительных микроорганизмов эту функцию выполняют короткие сигнальные пептиды. Многие бактерии также используют универсальную систему AI-2, обеспечивающую межвидовую коммуникацию. Через механизмы QS регулируются образование биоплёнок, синтез токсинов и внеклеточных ферментов, подвижность клеток, колонизация тканей хозяина и адаптация к изменяющимся условиям среды.

Ингибиторы кворум-сенсинга - это природные или синтетические соединения, которые не уничтожают бактерии, а нарушают передачу сигнала между ними. Такой механизм получил название *quorum quenching* (QQ) – «подавление кворум-сенсинга». В отличие от антибиотиков, QSI не оказывают выраженного бактерицидного действия. Их основная функция заключается в

снижении вирулентности микроорганизмов, что уменьшает селективное давление и, как следствие, вероятность формирования устойчивых штаммов.

Действие ингибиторов реализуется несколькими путями. Они могут подавлять синтез аутоиндукторов, разрушать сигнальные молекулы с помощью ферментов (лактоназ, ацилаз, оксидоредуктаз), препятствовать связыванию сигнала с рецепторами, блокировать передачу внутриклеточного сигнала или подавлять экспрессию генов, контролируемых системой QS.

Биологическое значение ингибирования QS состоит в нарушении работы системы кворум-сенсинга приводит к снижению синтеза факторов вирулентности, уменьшению образования биоплёнок, подавлению продукции токсинов и гидролитических ферментов, а также ограничивает способность бактерий прикрепляться к тканям хозяина и распространяться в организме. При этом жизнеспособность большинства микроорганизмов сохраняется. Именно эта особенность отличает ингибиторы QS от антибиотиков и делает их антивирулентной стратегией, направленной не на уничтожение бактерий, а на ослабление их патогенных свойств.

Кумарины представляют собой обширную группу природных и синтетических соединений, содержащих бензо- α -пироновое ядро (1,2-бензопирон). Они широко распространены в растениях семейств *Apiaceae*, *Rutaceae*, *Fabaceae* и других. История изучения кумаринов насчитывает около 200 лет. В 1820 году А. Фогель предложил название этого класса соединений. Термин «кумарин» происходит от французского слова *coumarou*, которым называли плоды растения *Coumarouna odorata* (*Dipteryx odorata*), более известные как бобы тонка, из которых впервые было выделено данное вещество (Kummerle A.E. et al., 2018; Ласькова Ю. Н. и др., 2023).

Кумарины находят применение в пищевой промышленности благодаря фунгицидным и антиоксидантным свойствам. Многие соединения, содержащие кумариновый фрагмент, рассматриваются как перспективные терапевтические агенты. К ним относятся эскулетин, изофраксидин, псорален,

варфарин, аценокумарин, фенпрокумон, дикумарол, каланолид А, хлорикромен и новобиоцин (Annunziata F. et al., 2020).

По особенностям строения кумарины подразделяются на следующие группы: простые кумарины, фуранокумарины (включая дигидрофуранокумарины), пиранокумарины, бикумарины, бензокумарины, куместаны.

Простые кумарины являются наиболее распространённой группой. Они представляют собой производные кумарина с различными заместителями: гидроксильными, метоксильными, алкильными и гликозидными группами. Одним из наиболее известных представителей считается умбеллиферон. Это соединение легко образуется в ходе фенилпропаноидного пути биосинтеза, отличается широким спектром биологической активности и участвует в защите растений от патогенов.

По данным S. Masuri (2023), производные кумарина, в частности умбеллиферон, способны влиять на процессы меланогенеза за счёт ингибирования тирозиназы (Masuri S. et al., 2023). Тирозиназа представляет собой медьсодержащую оксидазу и рассматривается как биомаркер ряда онкологических заболеваний. Контроль её активности в биологических системах остаётся сложной задачей. Yu Ding (2022) с коллегами разработали на основе производного умбеллиферона флуоресцентный зонд, позволяющий обнаруживать тирозиназу, а также визуализировать лизосомы и эндосомы, что открывает возможности для мониторинга клеточных процессов и функций белков. Кроме того, J.-H. Lee (2014) продемонстрировал выраженный антибиоплёточный эффект умбеллиферона на модели *Escherichia coli* O157:H7 (Min S. et al., 2014; Ding Y. et al., 2022).

Эскулетин – простой кумарин, выделенный из коры *Fraxinus chinensis* Roxb. Исследования показывают, что он обладает противовоспалительным действием, снижая экспрессию фактора некроза опухоли- α и провоспалительных интерлейкинов IL-1 β и IL-6. Одновременно эскулетин стимулирует синтез эндогенных антиоксидантных ферментов, включая

супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу (Ju Sh. et al., 2024).

Противовоспалительная активность изофраксидина была подтверждена в исследовании X. Su (2019). Авторы установили, что соединение подавляет индуцированное IL-1 β повышение уровня медиаторов воспаления, включая оксид азота, индуцируемую NO-синтазу, циклооксигеназу-2 и простагландин E2. Эти эффекты способствуют снижению воспалительных процессов при дегенерации межпозвоночных дисков (Su X. et al., 2019).

Фуранокумарины относятся к числу наиболее биологически активных представителей данного класса. Они образуются в результате конденсации кумаринового ядра с фурановым кольцом. Для них характерна выраженная фотосенсибилизирующая активность, благодаря которой эти соединения используются в PUVA-терапии псориаза и витилиго. В растениях фуранокумарины выполняют защитную функцию, предохраняя их от насекомых-вредителей и грибов (Nan Z.-D. et al., 2025).

Особый интерес вызывает противогрибковая активность фуранокумаринов. Псорален, бергаптен и метоксален токсичны для многих видов грибов. Некоторые соединения этой группы способны усиливать действие антибиотиков и снижать устойчивость бактерий к антимикробным препаратам. Примером служит анмарин – растительный антимикотик, представляющий собой смесь производных псоралена, получаемых из семян амми большой (*Ammi majus* L.). Анмарин проявляет высокую активность против возбудителей грибковых инфекций кожи и слизистых оболочек, включая *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum*, *Microsporum canis* и *Candida albicans* (Семкина О.А. и др., 2018; Штратникова В.Ю., 2023).

Дигидрофуранокумарины, являющиеся производными фуранокумаринов, нередко выделяют в самостоятельный класс соединений. Согласно исследованиям коллег, для таких кумаринов характерны противовоспалительные, противомикробные и антиоксидантные свойства.

Пиранокумарины содержат дополнительное шестичленное пирановое кольцо. Они встречаются у высших растений, папоротникообразных, голосеменных, водорослей, грибов и лишайников. Для этой группы характерны сосудорасширяющее, спазмолитическое, антикоагулянтное и противоопухолевое действие.

На основе пиранокумаринов созданы лекарственные препараты. Так, «Фловерин», представляющий собой смесь корневищ и корней вздутоплодника сибирского, применяют для расширения периферических сосудов при заболеваниях, сопровождающихся спазмами, а также при хронической ишемической болезни сердца и гипертонической болезни. Препарат «Сафинор» используют при ишемической болезни сердца, инфаркте миокарда, тяжёлых физических нагрузках, астеноневротических состояниях и вегетативной дистонии (Калинкина Г.И., Коломиец Н.Э., 2014).

Отдельные пиранокумарины обладают антивирусной активностью. Каланолиды, выделенные из растений *Calophyllum lanigerum* Miq. и *Calophyllum inophyllum* L., являются ярким примером таких соединений. Каланолид А относится к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы ВИЧ и проявляет активность против вируса иммунодефицита человека первого типа. В клиническом исследовании с участием 32 ВИЧ-положительных пациентов, ранее не получавших антиретровирусную терапию, наблюдалось снижение вирусной активности по мере увеличения дозировки препарата (Galinis D.L. et al., 1996; Абышев А.З. и др., 2013).

Кроме того, некоторые производные пиранокумаринов уменьшают продукцию оксида азота и провоспалительных цитокинов, что свидетельствует об их противовоспалительном потенциале (Su M. et al., 2023).

Исследование N. Tan (2017) выявило выраженную антибактериальную активность кумариновых соединений, содержащихся в дихлорметановом экстракте корней прангоса *Prangos hulusii*. Экстракт эффективно подавлял рост *Bacillus subtilis* и *Klebsiella pneumoniae* при концентрациях 5 и 63 мкг/мл MIC соответственно (Tan N. et al., 2017).

Антибактериальные свойства кумаринов тесно связаны с их антикворумной активностью. Система *Quorum Sensing* (QS) играет ключевую роль в адаптации бактерий к условиям среды и обеспечивает коммуникацию внутри микробных сообществ. Одним из важнейших факторов выживания бактерий является формирование полисахаридной биоплёнки, защищающей клетки от неблагоприятных воздействий. Кумарины способны подавлять образование и развитие таких биоплёнок, проявляя выраженные антивирулентные свойства. Их действие в большей степени направлено на нарушение формирования биоплёночных структур, чем на непосредственное уничтожение бактериальных клеток (El-Sawy E.R. et al., 2024).

Бикумарины представляют собой димерные соединения, состоящие из двух кумариновых ядер. Наиболее известными представителями этой группы являются дикумарол и афлатоксиноподобные производные. Дикумарол относится к антикоагулянтам непрямого действия и долгое время использовался для профилактики и лечения тромбозов и тромбофлебитов. Однако высокая гепатотоксичность ограничила его применение. В настоящее время его в значительной степени заменили препараты на основе варфарина, обладающие сходным механизмом действия и меньшей токсичностью (Аркадьева Г.В., 2003).

Афлатоксиноподобные соединения представляют собой токсичные метаболиты плесневых грибов рода *Aspergillus*. Они обладают выраженной гепатотоксичностью, канцерогенностью, мутагенностью и тератогенностью. Афлатоксины считаются одними из наиболее опасных гепатотропных ядов. Они повреждают гепатоциты, вызывают некроз и цирроз печени, способствуют развитию рака печени, нарушают клеточный цикл, индуцируют апоптоз и повреждения ДНК. Высокая токсичность этих метаболитов связана с их ролью в межвидовой конкуренции с микроорганизмами и насекомыми, что делает их потенциальным источником высокоэффективных инсектицидных и антибиотических соединений (Джавахира В.Г. и др., 2017).

Сходные свойства демонстрируют бензокумарины – соединения, в структуре которых к кумариновому ядру дополнительно присоединено бензольное кольцо либо фенильный фрагмент. Для них характерны высокая ароматичность, цитотоксичность, антимикробная и антикоагулянтная активность. Производные 4-гидроксикумарина способны препятствовать свёртыванию крови и используются для профилактики тромбозов.

Помимо этого, бензокумарины могут ингибировать карбоангидразу, влиять на сигнальные пути PI3K/Akt/mTOR, активировать белки апоптоза и подавлять ангиогенез опухолей. Наиболее выраженный антиоксидантный эффект характерен для гидроксилированных и метоксилированных производных. Они связывают ROS/RNS, хелатируют переходные металлы и подавляют перекисное окисление липидов, защищая клетки от окислительного стресса (Hai-Ning L. et al., 2014; Medina F.G. et al., 2015; Samanth M., Bhat M. 2024).

Интерес к кумариновым производным в онкологии связан с их способностью проявлять двойственный эффект. В нормальных клетках они действуют как антиоксиданты и цитопротекторы, тогда как в опухолевых усиливают образование активных форм кислорода и запускают апоптоз. Такой селективный редокс-эффект рассматривается как один из перспективных механизмов противоопухолевого действия (Citarella A. et al., 2024).

Токсические свойства бензокумаринов проявляются прежде всего в виде гепатотоксичности при длительном воздействии или использовании высоких доз. Кроме того, они подавляют витамин К-зависимый синтез факторов свёртывания крови II, VII, IX и X, а также белков C, S и Z в печени, что повышает риск кровотечений (Хан В.В. др., 2011; Heghes S.C. et al., 2022).

Биологическая роль куместанов связана прежде всего с их эстрогенной активностью. Эти соединения способны модулировать ответ тканей-мишеней репродуктивной системы, влиять на рецепцию, продукцию и метаболизм эндогенных гормонов. У растений куместаны выполняют функцию фитоалексинов и активно синтезируются в условиях стресса или при атаке

микроорганизмов. Благодаря этому они представляют интерес для дальнейших исследований на животных моделях и гидробионтах. Особое значение имеет куместрол – один из наиболее известных природных фитоэстрогенов бобовых культур (Ботоева Е.А. и др., 2009; Филиппова О.В., 2020)

Куместаны также рассматриваются как перспективные нейропротекторы и антиоксиданты. По данным F.R. Perez (2023), употребление препаратов, содержащих куместрол, ассоциировано со снижением риска развития рака молочной железы, профилактикой остеопороза и защитой кожи от фотостарения (Perez F.R. et al., 2023).

В природных условиях кумарины чаще всего присутствуют в виде сложных смесей, что способствует проявлению синергетических эффектов. Одним из примеров является сесквитерпеновый кумарин фарнезиферол С (ФС). Благодаря уникальной структуре он проявляет цитотоксическую, апоптотическую, противоопухолевую, антимутагенную и противовирусную активность. М. Alam (2016) показал, что одна из фракций неочищенного экстракта *Ferula narthex*, содержащая ФС, подавляет рост клеток РС3 рака предстательной железы. Полученные результаты подтверждают перспективность растительных метаболитов как компонентов противоопухолевых препаратов (Alam M., et al., 2016).

Несмотря на широкий спектр полезных свойств, бесконтрольное применение кумаринов может представлять серьёзную опасность. При высоких дозировках они метаболизируются с образованием токсичного 3,4-эпоксида кумарина. У человека основным путём биотрансформации является образование менее токсичного 7-гидроксикумарина. Однако при наличии генетического полиморфизма CYP2A6 повышается восприимчивость к гепатотоксическому действию этих соединений, особенно при одновременном приёме лекарственных препаратов (Барнаулов О.Д., 2015; Anywar G., Muhumuza E., 2024).

Фуранокумарины также обладают рядом нежелательных эффектов. Псорален и родственные ему соединения повышают чувствительность кожи к ультрафиолетовому излучению и могут вызывать фотохимические ожоги. Производные метоксипсоралена относятся к мощным фотосенсибилизаторам. Под действием ближнего ультрафиолета они приобретают мутагенные, фототоксические и канцерогенные свойства. У ряда соединений дополнительно отмечены гипервентиляция, тремор, светобоязнь и цитотоксический эффект (Iwata N. et al., 2016; Ибрагимова Д.Н. и др., 2017).

1.3. Биосистема «микробиом-организм хозяина (рыба)»

Для рыб микробиом представляет собой сложную совокупность микроорганизмов, населяющих кожу, жабры, кишечник и слизистые оболочки. Эти сообщества участвуют в поддержании здоровья организма, обеспечивают процессы пищеварения, влияют на иммунный ответ и метаболизм.

Среди наиболее распространённых представителей кишечной микробиоты рыб выделяют несколько крупных таксономических групп. Тип *Proteobacteria* относится к числу доминирующих: у пресноводных рыб его доля может варьировать от 3 до 98% бактериального сообщества, а у морских рыб представители этого типа также занимают значительную часть микробиома. Доля *Firmicutes* в зависимости от вида составляет от 1,3 до 45%. Бактерии типа *Fusobacteria* чаще встречаются у пресноводных рыб и обычно не превышают 50% общей численности микробного сообщества. Особый интерес представляет вид *Cetobacterium somerae*, который синтезирует витамин B12 и подавляет развитие патогенных микроорганизмов. Существенную роль в формировании кишечной микробиоты также играют представители типов *Bacteroidetes* и *Actinobacteria*.

Таксономическая принадлежность хозяина во многом определяет состав его микробиома. Для представителей отрядов Сомообразных (*Siluriformes*),

Трескообразных (*Gadiformes*), Карпообразных (*Cypriniformes*) и Корюшкообразных (*Osmeriformes*) характерно присутствие бактерий типа *Firmicutes*, главным образом класса *Clostridia*. У рыб отрядов Окунеобразных (*Perciformes*), Скатообразных (*Rajiformes*), Сельдеобразных (*Clupeiformes*) и Удильщикообразных (*Lophiiformes*) чаще встречаются представители *Cyanobacteria*. Высокая численность *Fusobacteria* отмечена у Окунеобразных (*Perciformes*), Игобрюхообразных (*Tetraodontiformes*), Сомообразных (*Siluriformes*), Карпообразных (*Cypriniformes*) и Удильщикообразных (*Lophiiformes*).

Для таких видов, как данио (*Danio rerio*), канальный сом (*Ictalurus punctatus*), большеротый окунь (*Micropterus salmoides*), синежаберный солнечник (*Lepomis macrochirus*) и японская малоротая корюшка (*Hypomesus nipponensis*), характерно преобладание *Proteobacteria* и *Fusobacteria*. Наряду с ними важное значение имеют представители *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes* и *Tenericutes* (Даниленко В.Н. и др., 2022; Зуева М.С. и др., 2023).

В последние годы исследователи рассматривают микробиом не только как важную часть физиологии рыб, но и как чувствительный биоиндикатор состояния водной среды и общего благополучия организма. Изменения в структуре микробного сообщества часто возникают раньше, чем становятся заметны физиологические или патологические нарушения. Именно поэтому анализ микробиома всё чаще используют в экологическом мониторинге.

Микробиом участвует практически во всех жизненно важных процессах. При нормальном состоянии организма формируется эубиоз – устойчивое равновесие между хозяином и населяющими его микроорганизмами. Для здоровых рыб характерны высокое разнообразие микробиоты и стабильность её состава.

Водная среда служит рыбам не только местом обитания, но и основным источником микроорганизмов, колонизирующих пищеварительный тракт. Поэтому микробные сообщества быстро реагируют на любые изменения внешних условий. На их структуру влияют температура воды, уровень pH,

солёность, концентрация кислорода, содержание органических загрязнителей, тяжёлых металлов и степень эвтрофикации водоёмов.

Поскольку рыбы относятся к пойкилотермным организмам, температура окружающей среды напрямую влияет как на физиологические процессы хозяина, так и на развитие кишечной микробиоты. При повышении температуры ускоряются метаболизм, пищеварение и рост бактерий. Одновременно снижается микробное разнообразие и возрастает численность условно-патогенных микроорганизмов. У радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) повышение температуры вызывало перестройку кишечного микробного сообщества и изменение метаболической активности бактерий. Аналогичные закономерности выявлены у карпа, тилапии и атлантического лосося (Talwar C. et al., 2018; Butt R.L., Volkoff H., 2019).

Солёность также играет важную роль в формировании микробного разнообразия. У пресноводных рыб обычно преобладают представители родов *Aeromonas*, *Pseudomonas* и *Flavobacterium*. В морских условиях доминируют *Vibrio*, *Photobacterium* и различные морские протеобактерии. Особенно заметны изменения у проходных видов, например лососей и угрей, которые мигрируют между пресной и морской водой. Резкая смена солёности приводит к глубокой перестройке кишечного микробиома, причём существенные изменения бактериального состава могут происходить уже через несколько суток (Sullam K.E. et al., 2012; Tarnecki A.M. et al., 2017).

Водородный показатель среды напрямую влияет на рост бактерий, активность ферментов, растворимость питательных веществ и барьерную функцию кишечника. Снижение pH сопровождается уменьшением общего микробного разнообразия и изменением соотношения кислотоустойчивых микроорганизмов (Sylvain F.É. et al., 2016).

Концентрация кислорода определяет состояние кишечной микробиоты. При гипоксии повреждается кишечный эпителий, меняется состав бактериального сообщества и увеличивается численность факультативно-

анаэробных микроорганизмов. Такие процессы нередко сопровождаются развитием воспалительных реакций в кишечнике (Butt R.L., Volkoff H., 2019).

Одним из наиболее значимых факторов, влияющих на микробиом рыб, остаётся загрязнение водоёмов тяжёлыми металлами, включая кадмий, свинец, ртуть, медь и мышьяк, а также пестицидами, нефтепродуктами и микропластиком. Благодаря высокой чувствительности кишечный микробиом реагирует на загрязнение раньше, чем у рыб появляются морфологические или физиологические признаки стресса. Это делает его удобным ранним биомаркером экологических нарушений.

Под воздействием загрязнителей нарушается структура бактериальных сообществ и процессы пищеварения. Повреждается эпителий кишечника, усиливается колонизация патогенами, сокращается численность полезных симбиотических микроорганизмов. Параллельно развиваются оксидативный стресс, воспалительные процессы и ослабление иммунных реакций. Эти изменения лежат в основе формирования дисбиоза (Jin Y. et al., 2018; Byrd K.A. et al., 2021).

Экологический стресс обычно сопровождается снижением микробного разнообразия, нарушением обменных процессов и ухудшением работы иммунной системы. На этом фоне возрастает численность бактерий родов *Vibrio*, *Aeromonas* и *Pseudomonas*, которые часто ассоциированы с воспалительными заболеваниями и инфекциями (Кашинская Е.Н. и др., 2021; Зайцева Ю.В. и др., 2022).

Состояние водоёма влияет и на кормовую базу гидробионтов, а через неё – на состав кишечной микробиоты. Рост доли фитопланктона способствует развитию бактерий, разлагающих полисахариды, тогда как преобладание зоопланктона стимулирует увеличение численности протеолитических микроорганизмов. Кормовая база выступает связующим звеном между экосистемой водоёма и микробиомом рыб.

Исследования показывают, что состав микробиоты меняется и в зависимости от типа корма. При использовании рыбной муки в кишечнике

преобладали грамположительные бактерии родов *Brochothrix* и *Carnobacterium*. Добавление в рацион соевого шрота сопровождалось увеличением численности *Chryseobacterium spp.*, *Psychrobacter glacincola* и *Carnobacterium*. При кормлении комбикормом доминирующее положение занимали представители типа *Proteobacteria* (Байкенова А.И. и др., 2013; John C.A.St. et al., 2021; Zhang B. et al., 2024).

Кожный микробиом также может служить экологическим сенсором. Его структура меняется под воздействием тяжёлых металлов и органических токсикантов, быстро реагирует на развитие инфекций и отражает колебания температуры, солёности и химического состава воды (Sultana S. et al., 2022).

Изменения в составе кишечного и кожного микробиома позволяют судить о качестве среды обитания, уровне загрязнения, наличии стрессовых факторов и адаптационных процессах у рыб. Появление условно-патогенных бактерий на коже может указывать как на угрозу здоровью организма, так и на нарушение экологического равновесия в водоёме. Поэтому рыб с изменённым микробиомом всё чаще используют для биомониторинга, биотестирования качества воды, оценки токсического воздействия загрязнителей и радиоэкологического контроля (Зайцева Ю.В. и др., 2022; Латышева О.Д., Казимирченко О.В., 2024).

Для экологического мониторинга исследователи нередко проводят соскобы слизистой оболочки кишечника со стандартной площади поверхности. Это позволяет сравнивать численность бактерий, связанных со слизистой, и микроорганизмов, находящихся в кишечном содержимом. Метагеномный анализ помогает выявлять изменения таксономического состава микробиоты под действием различных факторов окружающей среды. Для изучения структуры бактериальных сообществ и оценки их разнообразия широко применяют секвенирование гена 16S рРНК (Мирошникова Е.П. и др., 2021; Ruiz A. et al., 2024).

Микробиом тесно взаимодействует с иммунной системой через механизмы врождённого иммунитета. Нормальная кишечная микрофлора

стимулирует защитные реакции организма и подавляет развитие вирулентных микроорганизмов за счёт продукции различных биологически активных веществ. Представители *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Alteromonadales* и *Bacteroidetes* способствуют укреплению кишечного иммунитета и ограничивают рост патогенной микрофлоры.

Конкурируя с патогенами за места прикрепления и питательные ресурсы, симбиотические бактерии создают дополнительный защитный барьер. Многие из них синтезируют соединения с антимикробной активностью и участвуют в регуляции экспрессии генов, связанных с иммунными функциями. У данио рерио (*Danio rerio*), например, бактериальные сообщества пищеварительного тракта регулируют активность 212 генов, участвующих в иммунных процессах (Berggren H. et al., 2022; Kanika N.H. et al., 2025).

Микробиом кишечника играет важную роль и в экологическом мониторинге, поскольку отражает текущее состояние водной среды. Исследования показали, что относительная численность углеводородокисляющих бактерий в пищеварительном тракте прибрежных рыб – колюшек, ельца, густеры, уклейки, окуня, пескаря и плотвы – может служить чувствительным индикатором загрязнения нефтью и нефтепродуктами. В восточной части Финского залива Балтийского моря на станции с наиболее высоким уровнем загрязнения доля таких бактерий превышала 30% (Поляк Ю.М. и др., 2020).

Бактерии кишечной группы в сочетании с другими микроорганизмами также могут использоваться как биоиндикаторы качества водной среды. Так, на реке Тулома исследователи обнаружили, что доминирование представителей рода *Pseudomonas* в весенний период одновременно в воде и кишечнике рыб связано с повышенной загрязнённостью водоёма и усилением процессов эвтрофикации (Ускова И.В. и др., 2019).

В исследовании молоди морского окуня *Lates calcarifer* установлено, что поступление с кормом сублетальных доз ванадия, никеля, железа и тяжёлого

мазута bunker C (HFO) снижает разнообразие кишечного микробиома по сравнению с контрольными группами. Сокращение численности лактобацилл рассматривается как потенциальный биомаркер воздействия металлов и ряда пестицидов (Spilsbury F. et al., 2022; Ruiz A. et al., 2024). Сходные данные получены при изучении влияния свинца (Pb) на молодь карася: выявлена связь между изменениями кишечного микробного сообщества и показателями морфологии кишечника, а также антиоксидантного и иммунного статуса организма (Liu H. et al., 2023). У красного морского карася (*Pagrus major*) внесение в воду фенантрена – вещества, токсичного в высоких концентрациях, – сопровождалось выраженным снижением разнообразия кишечной микробиоты, что свидетельствует о развитии дисбактериоза (Зуева М.С. и др., 2023).

Анализ кишечного микробиома открывает новые возможности для ранней диагностики заболеваний в аквакультуре. Такой подход позволяет своевременно выявлять нарушения здоровья рыб, предотвращать распространение эпидемий и снижать потери поголовья гидробионтов. Исследования по управлению кишечной микробиотой направлены на создание эффективных методов ранней диагностики и профилактики заболеваний. В частности, изучается влияние пробиотиков, пребиотиков и различных факторов среды на состав микробиома, что может лечь в основу новых способов предупреждения и раннего выявления патологий (Méndez-Martínez Y. et al., 2025).

Микробиом играет важную роль в поддержании устойчивости популяций рыб. Кишечная микробиота обеспечивает целостность кишечного барьера, ограничивает размножение условно-патогенных микроорганизмов и участвует в регуляции иммунной системы хозяина. Изменения её состава отражаются на фенотипических признаках, иммунных механизмах и общей приспособленности животных, в том числе в условиях климатических изменений. Кроме того, кишечный микробиом рассматривается как информативный показатель экологического состояния среды и

адаптационного потенциала популяций. Нарушение баланса бактериальных сообществ может снижать способность рыб адаптироваться к изменяющимся условиям, особенно у редких и исчезающих видов. Исследования показывают, что изменения микробного разнообразия под действием загрязнителей или трансформации среды обитания могут служить ранним сигналом для проведения природоохранных мероприятий (Rout A.K. et al., 2023; Zhang B. et al., 2024; Sieler Jr. M.J. et al., 2025).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ

Развитие нанотехнологий, синтез и применение новых классов антибиотических веществ независимо от сферы человеческой деятельности сопровождается попадением наноматериалов и других вновь синтезированных веществ в пресноводные экосистемы. Одной из значительных компонентов загрязнения сегодня является аквакультура, технологически увязанная с включением в корма нанчастицы металлов-микроэлементов и веществ ингибиторов ингибитора *Quorum sensing*. К числу последних относятся кумарины, в частности умбеллиферон.

Экологическая безопасность наноматериалов по-прежнему остаётся предметом активного изучения. После попадания в водную среду наночастицы подвергаются агрегации, химическим преобразованиям и адсорбции органических веществ, а также могут накапливаться в донных отложениях. Эти процессы напрямую влияют на их биодоступность и токсичность. По данным исследований, отдельные виды металлических наночастиц способны вызывать оксидативный стресс, повреждать клеточные мембраны, нарушать работу митохондрий и изменять экспрессию генов у гидробионтов.

Поэтому безопасное внедрение нанотехнологий в аквакультуру требует комплексной оценки не только их эффективности, но и токсичности,

устойчивости в окружающей среде и возможного воздействия на биоразнообразие водных экосистем.

Кумарины представляют собой группу природных вторичных метаболитов растений, основу которых составляет бензо- α -пироновый скелет. Исследования последних лет демонстрируют широкий спектр их биологической активности.

Антиоксидантное действие кумаринов связано со способностью нейтрализовать активные формы кислорода и подавлять процессы перекисного окисления липидов. Для рыб это особенно важно в условиях воздействия стрессовых факторов, таких как загрязнение воды, высокая плотность посадки или температурные колебания.

На фоне роста антибиотикорезистентности фитобиотики на основе кумаринов рассматриваются как экологически безопасный инструмент профилактики инфекционных заболеваний рыб.

Кишечный микробиом представляет собой сложное сообщество бактерий, архей, грибов и вирусов, населяющих пищеварительный тракт рыб. В последние годы его всё чаще рассматривают как органоподобную систему, участвующую в обмене веществ, иммунной защите и адаптации организма к условиям окружающей среды. Нарушение любого из этих процессов может привести к развитию дисбиоза.

Методы высокопроизводительного секвенирования показали, что состав кишечного микробиома быстро реагирует на загрязнение среды тяжёлыми металлами, пестицидами, антибиотиками и наночастицами. По этой причине микробиом рыб рассматривается как чувствительный биомаркер экологического состояния водоёмов. Изменения относительной численности представителей родов *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Vibrio* и других микроорганизмов могут служить ранними индикаторами экологического стресса ещё до появления клинических признаков заболевания.

Анализ результатов исследований по проблеме позволил констатировать, что современные технологии производства объектов

аквакультуры с применением наноматериалов и ингибиторов Quorum sensing пока не получили необходимую оценку по влиянию на пресноводные экосистемы.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы и методы исследования

2.1.1 Объекты исследования в составе пресноводной экосистемы

Работа была выполнена в период с 2023 по 2026 год на кафедре биотехнологии животного сырья и аквакультуры ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко» с использованием материально-технической базы Центров коллективного пользования Института микро- и нанотехнологий Оренбургского государственного университета имени В.А. Бондаренко <http://www.osu.ru/doc/1328>, ФГБНУ «ФНЦ биологических систем и агротехнологий РАН» <https://цкп-бст.рф/>, «Персистенция микроорганизмов» ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН» <https://ikvs.info/institut/laboratorii/czkrp>.

Исследования были выполнены в несколько этапов. На первом этапе, последовательно в трех экспериментах, изучено влияния наночастиц железа и вещества ингибитора кворум-сенсинга бактерий на биосистему «микрофлора кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*», с оценкой изменений в таксономическом составе кишечной микробиоты *Cyprinus carpio*, изучением адаптации *Cyprinus carpio* к выше перечисленным факторам. На втором этапе изучено действие наночастиц железа и вещества ингибитора кворум-сенсинга на аллохтонную водную экосистему, с оценкой адаптационных изменений *Cyprinus carpio*, *Anodonta cygnea*, *Lemna minor*, *Daphnia magna*.

Методика первого этапа исследований включала создание стабильного аквабиоценоза в искусственной водной экосистеме. При проведении работ аквариумы (V=300 л) устанавливали на ровную и устойчивую поверхность, в условиях отсутствия прямых солнечных лучей, при значительном удалении от отопительных приборов, при оптимальном воздухообмене в помещении. Аквариумы тщательно мыли, проводили дезинфекцию. Готовили фильтры для

очистки воды, компрессоры для насыщения воды кислородом, обогреватели и термометры для контроля температуры, осветительные приборы.

Оборудование подбирали с учётом объёма аквариумов и условий экспериментов. Перед наполнением аквариумов водой проводили тщательную водоподготовку. Для этого использовалась водопроводная вода, которую отстаивали несколько суток. В последующем в аквариумы помещались сеголетков *Cyprinus carpio* массой 30-35 г (n=10), выращенные в одном рыбноводном предприятии, содержавшиеся в период перед экспериментами, в течение не менее 2 месяцев в одних и тех же условиях, предварительно отобранных методом пар-аналогов. Затем в аквариумах, соединенных между собой системами жизнеобеспечения, в течение не менее чем 2 недель, одновременно запускали азотный цикл, с формированием сходных и стабильных микробиомов, перерабатывающих токсичные продукты жизнедеятельности рыб и остатки пищи в менее вредные соединения.

По выполнению всех работ подготовительного периода приступали к проведению экспериментов, в ходе которых аквариумы и системы жизнеобеспечения были разделены. Методика первого эксперимента предполагала проведение исследований на трех группах: контрольной и двух опытных. Рыбу кормили полнорационным комбикормом КРК-110-1, с ежесуточной дачей 5 % от массы рыбы в аквариуме, с тем отличием, что опытные группы дополнительно в составе корма получали наночастицы железа (НЧ Fe): в I опытной группе в дозировке - 0,8 г/кг; во II - 2,0 мг/кг. Продолжительность основного учетного периода составляла 49 суток (рисунок 1).

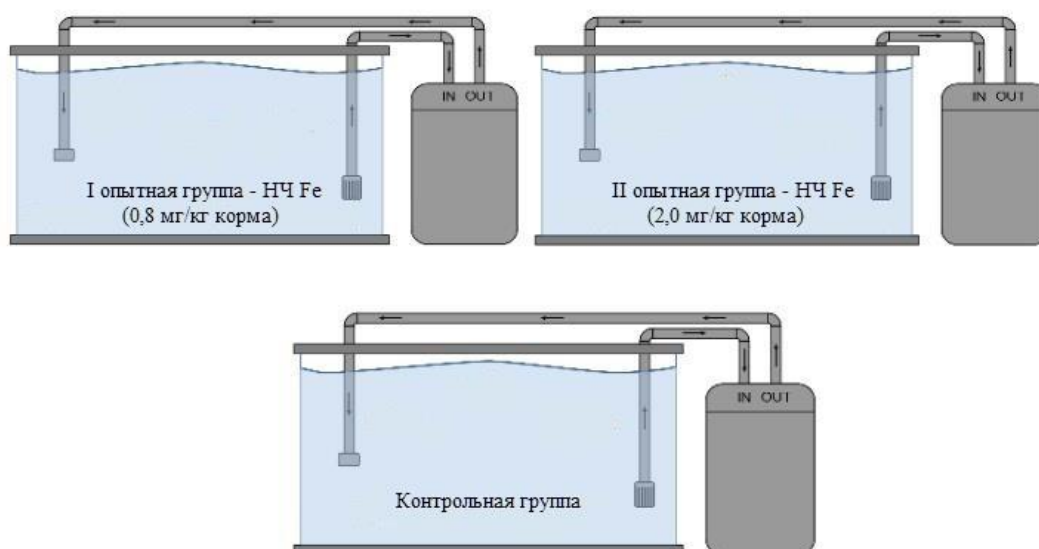


Рисунок 1 - Схема I эксперимента первого этапа исследований

Методика второго эксперимента была сходной, с той разницей, что число опытных групп составило – три и рыбе опытных групп в составе корма скармливали ингибитор кворум-сенсинга бактерий – умбеллиферон (QSI), в I опытной группе в дозировке - 1,0 мг/кг корма, во II - 2,0 мг/кг, в III - 3,0 мг/кг (рисунок 2).

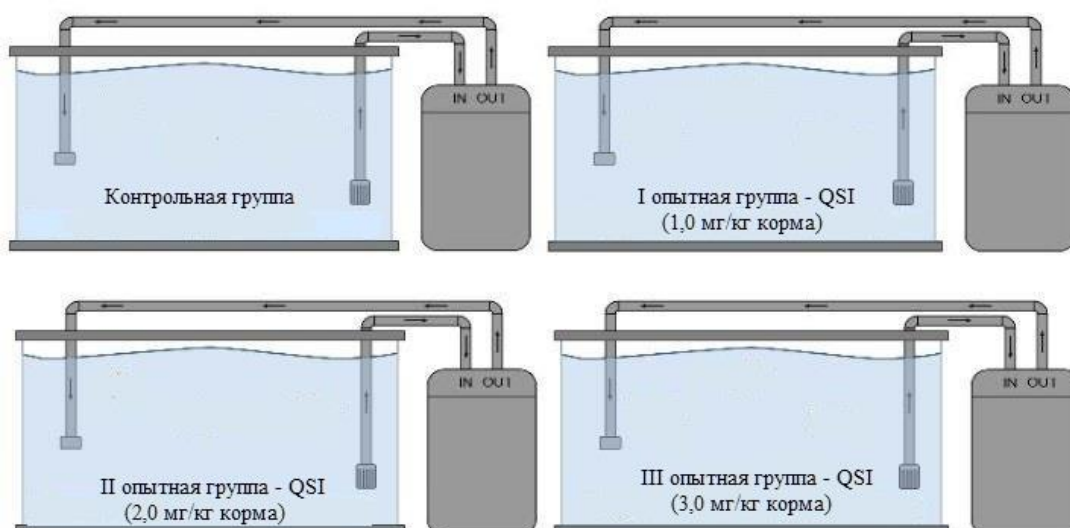


Рисунок 2 – Схема II эксперимента первого этапа исследований

Методика третьего эксперимента была аналогичной методике первого и второго экспериментов, с той разницей, что корм I опытной группы обогащали НЧ Fe в дозировке - 0,8 мг/кг и QSI - 1 мг/кг; во II опытной НЧ Fe - 0,8 мг/кг в сочетании с QSI в концентрации 2 мг/кг; в III НЧ Fe - 0,8 мг/кг, а дозировка QSI увеличивалась до 3 мг/кг (рисунок 3).

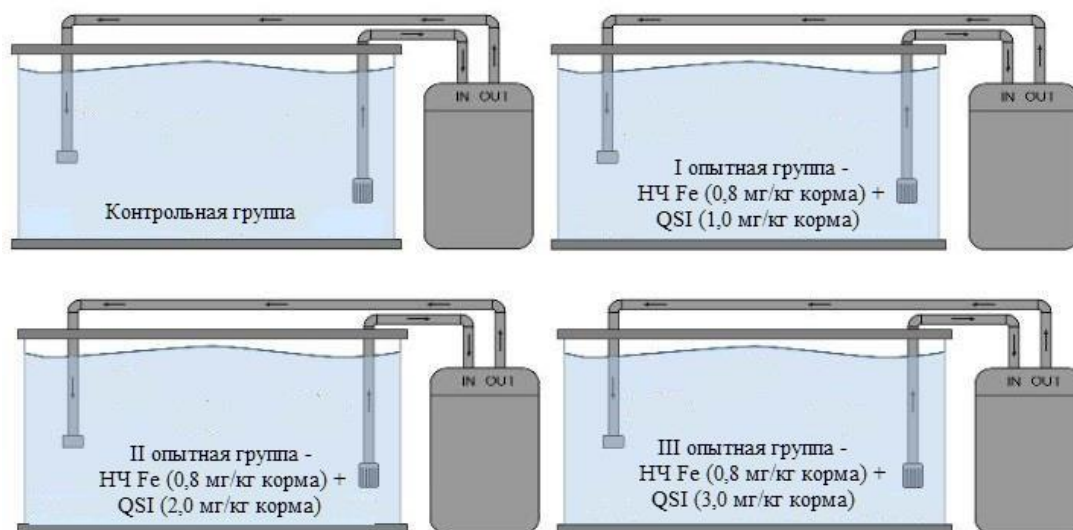


Рисунок 3 – Схема III эксперимента первого этапа исследований

В ходе экспериментов первого этапа исследований изучались изменения в микробиоме кишечника рыбы, адаптация организма *Cyprinus carpio* к изменениям в среде обитания.

Методика второго этапа исследований предполагала формирование и изучение более сложной аллохтонной водной экосистемы, с оценкой адаптационных изменений к действию наночастиц железа и ингибитора кворум-сенсинга бактерий - карпа обыкновенного *Cyprinus carpio*, беззубки обыкновенной *Anodonta cygnea*, ряски малой *Lemna minor*, дафнии большой *Daphnia magna*.

Подготовка и формирование аллохтонной водной экосистемы на втором этапе исследований проходила по сходной схеме с первым циклом экспериментов, с тем различием, что перед посадкой *Cyprinus carpio* в аквариумы производилось размещение особей беззубки обыкновенной

Anodonta cygnea (m=11–12 г, n=7/аквариум); растения ряски малой *Lemna minor* (n = 100/аквариум) и дафнии большие *Daphnia magna* (n = 10/аквариум).

Все организмы перед запуском аквариумов были выращены и содержались в одних условиях. После этого в аквариумы помещали выращенных в одних условиях и разделенных методом аналогов сеголеток карпа *Cyprinus carpio* (m=5 г, n=50) и запускали азотный цикл. По истечению подготовительных работ приступали к проведению основного учетного периода, в ходе которого рыбу кормили полнорационным комбикормом КРК-110-1, с ежесуточной дачей 1 % от массы рыбы в аквариуме, с тем отличием, что опытные группы дополнительно в составе корма получали наночастицы железа (НЧ Fe): в I опытной группе в дозировке - 0,8 мг/кг; во II - QSI 1,0 мг/кг корма; III опытной совместно НЧ Fe – 0,8 мг/кг корма и QSI - 1,0 мг/кг корма (рисунок 4).

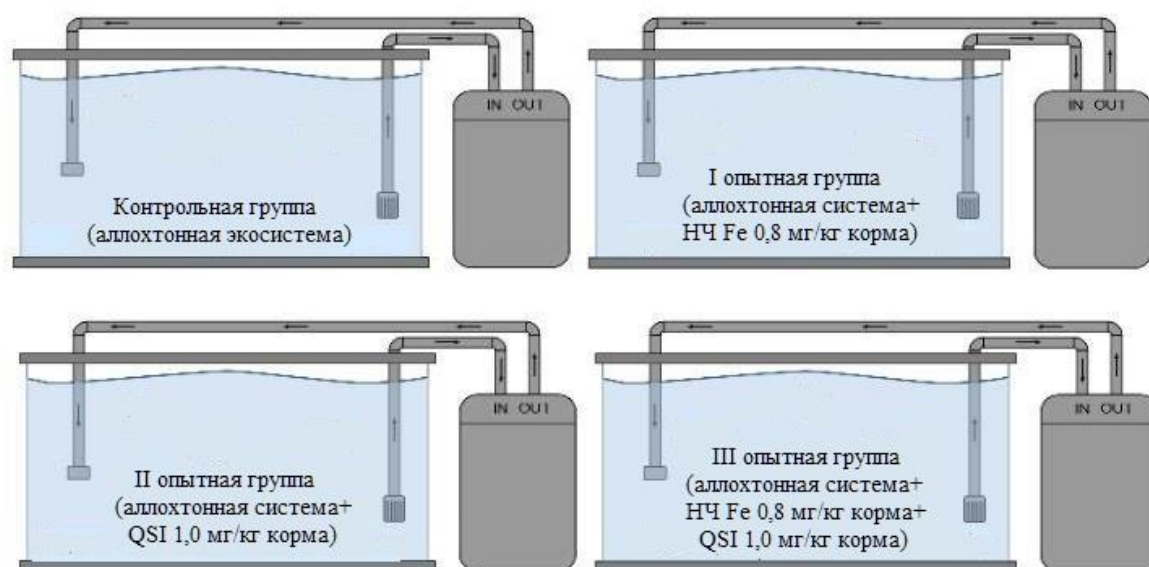


Рисунок 4 – Схема эксперимента второго этапа исследований

В ходе эксперимента была дана комплексная оценка состояния аллохтонной водной экосистемы и отдельных живых организмов биосистемы. Это достигалось с использованием целого ряда методов. Методика визуальной оценки гидробионтов включала анализ морфологических, поведенческих и физиологических характеристик организмов в контролируемых условиях.

До начала исследований была проведена гидробиологическая характеристика среды обитания подопытных особей, включавшая оценку гидрологических параметров (прозрачности и цвета воды), фактора цветения, а также органолептических показателей: запаха, пенистости и содержания взвешенных частиц.

В рамках следующего этапа была выполнена количественная оценка структуры сообществ. После отбора образцов был проведен визуальный осмотр организмов, в ходе которого оценивались:

- состояние наружных покровов и пигментация тела;
- наличие дефектов, язвенных поражений, кровоизлияний и паразитов;
- характер поведенческих реакций и двигательной активности (для рыб, моллюсков и ракообразных).

2.1.1.1 Методы и подходы, использованные при изучении карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*)

Карп обыкновенный (*Cyprinus carpio*) - пресноводная теплолюбивая рыба семейства карповых, одомашненная форма сазана (рисунок 5).



Рисунок 5 – Карп обыкновенный (*Cyprinus carpio*)

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями нормативных актов (Приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 «О мерах по

дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996).

Модельные организмы каждой группы содержались в аквариумах объемом 300 л. Условия содержания карпа были идентичны во всех группах. Каждый аквариум был оснащен системой фильтрации и насыщения воды кислородом, поддерживающие оптимальный уровень жизнеобеспечения. Температура воды поддерживалась на уровне $23 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение всего периода эксперимента. Ежедневно осуществляли кормление рыбы 4 раза в светлое время при помощи автоматических кормушек через равные промежутки времени. Суточная норма кормления карпа составила 2–5 % от массы тела. Расчёт задаваемого корма для карпа осуществлялся еженедельно по результатам поедаемости корма и прироста живой массы рыбы. Поедаемость корма оценивали через 30 минут после кормления при помощи визуального осмотра дна аквариума на присутствие в нем несъеденных остатков.

Измерение температуры воды проводилось ежедневно при помощи ртутного термометра. Измерение растворенного в воде кислорода и уровень pH проводили при помощи термооксиметра Самара 2Б (НПП «Экоприбор», Россия) еженедельно.

Адаптация *Cyprinus carpio* к меняющимся условиям среды обитания изучалась по комплексу параметров, включающих визуальную оценку, весовые характеристики, морфологический и биохимический состав крови, характеристики обмена минеральных веществ. Контроль физиологического состояния карпа включал в себя визуальное наблюдение за поведением, проведение линейно-массовых измерений молоди карпа. Еженедельно утром до кормления проводили индивидуальные взвешивания молоди карпа ($\pm 0,1$ г) с последующим расчетом среднесуточного прироста по Е.П. Мирошниковой и А.Н. Жаркову (2003). Длину рыбы измеряли с помощью мерной ленты с точностью до 0,1 см. Относительный и абсолютный приросты просчитаны согласно приведенной выше методике.

В качестве корма был использован комбикорм КРК-110 (ОАО «Оренбургский комбикормовый завод», г. Оренбург). Корм задавали ежедневно по 4 раза в сутки, 2-5 % от массы тела. Расчет нормы кормления проводили еженедельно после взвешивания.

Патологоанатомическое исследование на момент окончания исследования рыбы проводили с наружного осмотра, обращая внимание на состояние и целостность внешних покровов, плавников, глаз. Приподнимая жаберные крышки, изучали состояние жабр, отмечали изменение их окраски, рисунка, наличие кровоизлияний, очагов некроза, цист паразитов, отдельно просматривая дужки под лупой.

Вскрытие проводили обездвиженной уснувшей рыбы. Брюшную полость рыб вскрывали путем разреза брюшной стенки по белой линии от анального отверстия до области межчелюстного пространства. Вторым полулунным разрезом, проходящим по уровню боковой линии, отсекали брюшную стенку, обнажая внутренние органы. Далее, осматривали брюшную и сердечную полости, обращая внимание на расположение органов, наличие жидкости, ее количество, цвет, запах, консистенцию, или газа, паразитов, внешний вид внутренних органов.

Затем надрезали кишечник в области псевдодиафрагмы и ануса, с последующим извлечением всего комплекса внутренних органов, с отделением органов друг от друга: желудок, кишечник, печень с желчным пузырем, селезенку, плавательный пузырь. В процессе изъятия органов, отмечали их размеры, консистенцию, цвет, кровенаполнение, наличие кровоизлияний, очагов некроза. При осмотре скелетной мускулатуры обращали внимание на цвет, консистенцию, наличие кровоизлияний, отеков, припухлостей, цист паразитов.

Отбор крови проведен согласно методическим указаниям по проведению гематологического обследования рыб, утвержденным Минсельхоз России (1999). Отбор крови выполнен в последний день проведения эксперимента, утром, после индивидуального взвешивания карпа.

Предварительно рыба была выдержана в хорошо аэрированной воде в течение 5-10 минут после отлова. Отбор крови у рыб проведен путем отсечения хвостового плавника (Пищенко Е.В., 2002) (у особей массой свыше 30 грамм) и непосредственно из сердца, по средней линии тела между грудными плавниками инъекционной иглой (у особей массой свыше 5 грамм). Показатели крови с фиксацией даты, времени, группы и места отбора были направлены в лабораторию были направлены в лабораторию Испытательного центра Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» г. Оренбург (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015). При исследовании крови использовались автоматический гематологический анализатор «URIT-2900 Vet Plus» (URIT Medical, Китай) и автоматический биохимический анализатор «DIRUI CS-T240» (Китай, DURIT Industrial Co., Ltd).

Анализ элементного состава мышечной ткани рыб был проведён в лаборатории Испытательного центра Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» г. Оренбург (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015) с использованием атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии. Для контроля живой массы рыбы применяли весы BAT 1 («Veit» electronics», Чехия).

2.1.1.2 Методы и подходы, использованные при изучении таксономического состава кишечника *Cyprinus carpio*

Для определения биологического разнообразия микробиома исследовали образцы содержимого кишечника карпа по средству выделения ДНК с использованием набор реагентов FastDNA® Spin Kit for Feces (MP Biomedicals IIs, США). Секвенирование образцов выполнено в ЦКП «Персистенция

микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург).

Тотальную ДНК выделяли с помощью набора реагентов SkyAmp® Micro DNA Kit (SkyGen, Россия) на основании следующего протокола. Добавляли фрагмент биосубстрата (<10 мг) в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку, затем немедленно добавляли 180 мкл Буфера ГА и инкубировали при комнатной температуре 5 минут. Затем добавляли 20 мкл Протеиназы К, перемешали на вортексе в течение 10 секунд. Инкубировали при +56 °С 30 минут, перемешивая на вортексе в течение 10 секунд каждые 15 минут для улучшения качества лизиса. Удаляли капли со стенок пробирки коротким центрифугированием. Добавляли 200мкл Буфера ГБ и 1 мкл стокового раствора РНК-носителя (1мкг/мкл), аккуратно перемешали переворачиванием. Инкубировали пробирки в термостате при +70°С в течение 10 минут, перемешивая на вортексе в течение 10 секунд каждые 3 минуты для улучшения качества лизиса. Удаляли капли со стенок пробирки коротким центрифугированием.

Добавляли 200 мкл холодного этанола (96%-100%). Закрывали крышку и аккуратно перемешали раствор переворачиванием. Инкубировали 5 минут при комнатной температуре. Удаляли капли со стенок пробирки коротким центрифугированием. Аккуратно переносили лизат на спин-колонку SP2 (в 2 мл собирательной пробирке), избегая попадания лизата на крышку колонки. Закрывали крышку и центрифугировали при 12 000 rpm в течение 30 секунд. Удаляли супернатант. Аккуратно открывали спин-колонку SP2 и добавляли 500 мкл Буфера ГД. После закрытия и центрифугировали 30 секунд при 12 000 rpm. Удаляли супернатант. После открытия спин-колонки SP2 и добавляли 600 мкл Буфера ПВ, избегая попадания Буфера ПВ на крышку колонки. Закрывали крышку и центрифугировали 30 секунд при 12 000 rpm. Удаляли супернатант. Центрифугировали спин-колонку 2 минуты при 12 000 rpm. Сливали супернатант и инкубировали при комнатной температуре в течение 2-5 минут для полного высыхания мембраны. Помещали спин-колонку SP2 в

новую 1,5 мл собирательную пробирку. Наносили в центр мембраны колонки 40 мкл Буфера ТБ, закрывали крышки и инкубировали колонку 5 минут при комнатной температуре. Центрифугировали 2 минуты при 12 000 rpm для сбора очищенной ДНК. Делали аликвоты 5 мкл полученной ДНК для электрофореза в агарозном геле. Хранили ДНК при температуре -20°C в течение длительного времени или при температуре 4°C до использования.

ДНК-библиотеки подготовлены в соответствии с двухэтапным протоколом Illumina (Part #15044223, Rev. B).

На первом этапе методом ПЦР были получены ампликоны переменных участков гена 16S рРНК с использованием праймеров S-D-Bact-0341-b-S-17 и S-D-Bact-0785-a-A-21 (Klindworth et al., 2013) несущие на 5'-концах оверхенги для секвенирования. Проверку качества полученных библиотек проводили методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Результаты приведены в таблице 1.

Далее производили очистку ампликонов методом твердофазной иммобилизации на парамагнитных частицах AMPure XP (Beckman Coulter, USA), в соответствии с рекомендациями Illumina.

На втором этапе методом ПЦР к каждому образцу были добавлены уникальные последовательности парных индексов (баркоды i7 и i5) из набора Nextera XT (Illumina, USA).

Полученные ампликоновые ДНК-библиотеки очистили с помощью AMPure XP, измерили концентрацию библиотек на приборе Qubit 4 (Invitrogen, USA), с использованием набора dsDNA High Sensitivity Assay Kit.

На первом этапе качество исходных ридов оценивали с помощью программы FastQC v. 0.11.9. Оценка была необходима для определения параметров дальнейшей обработки и включала оценку качества и длины прочтений, а также наличия последовательностей адаптеров. Адаптеры удалялись с помощью программы cutadapt v. 1.9.1. (Martin, 2011). Парные прочтения объединялись с помощью программы USEARCH V. 11.0.667

(drive5.com/Usearch). После объединения и удаления адаптеров прочтения повторно оценивались с помощью FastQC v. 0.11.7.

Таблица 1 – Результаты горизонтального электрофореза ДНК-библиотек в агарозном геле

Состав реакционной смеси на 10 мкл:						
ДНК	MQ	Буфер 5x	dNTP	16S F	16S R	Q5-pol
1 мкл	5,95 мкл	2 мкл	0,5 мкл	0,25 мкл	0,25 мкл	0,05 мкл
ПАРАМЕТРЫ ПЦР: 1. 95 °C – 3 мин (начальная денатурация) 2. 25 циклов 95°C – 30 с (денатурация) 56°C – 30 с (отжиг праймеров) 72°C – 30 с (элонгация) 3. 72°C – 5 мин (завершающий этап элонгации)						

Последующая обработка объединенных прочтений проводилась с помощью программы Usearch V. 11.0.667 и включала фильтрацию по качеству (ожидаемая ошибка или maxee <1,00) и минимальной длине ампликона (400 п.н.).

На следующем этапе проводилась дерепликация и восстановление истинных биологических последовательностей (денойзинг) среди отфильтрованных прочтений с помощью алгоритма UNOISE (Edgar & Flyvbjerg, 2015). В результате дерепликации и денойзинга были сформированы операционные таксономические единицы (zOTU). Химерные последовательности были обнаружены и удалены с использованием алгоритма UCHIME2 во время этапа денойзинга. Объединенные прочтения выравнивали на финальные zOTU с помощью глобального выравнивания на уровне сходства 97% для оценки покрытия соответствующих zOTU. Контаминирующие последовательности zOTU были идентифицированы и удалены с помощью команды «usearch_ublast» путем сопоставления последовательностей опытных образцов и образцов отрицательного контроля.

Из дальнейшего анализа были удалены синглтоны и даблтоны (последовательности, которые встречаются один или два раза). Таксономическая классификация последовательностей была проведена с использованием баз данных SILVA (версия 138.2) (Pruesse et al., 2012) и GTDB (версия 214) (Parks et al., 2022). Таксоны с низкой поддержкой были далее вручную проверены по базе данных NCBI с использованием алгоритма BLAST.

Все статистические тесты и визуализация проводились в среде R версии 4.4.0 с использованием пакетов phyloseq v. 1.48.0 (McMurdie & Holmes, 2013), ggplot2 v. 3.5.1 (Wickham, 2016), MicrobiotaProcess v. 1.16.0 (Xu et al., 2023) и microbiome v. 1.26.0 (Lahti & Shetty). Индексы альфа-разнообразия рассчитывались с использованием пакета microbiome (Parks et al., 2022). Для оценки бета-разнообразия бактериальных сообществ были использованы дистанция Брея–Кертиса и взвешенные расстояния UniFrac (Lozupone & Knight, 2005).

Для оценки достоверности в индексах бета-разнообразия был применен многофакторный дисперсионный анализ (PERMANOVA) с использованием функции «mp_adonis» пакета MicrobiotaProcess (Xu et al., 2023). Графики анализа главных координат (PCoA) для дистанций Брея–Кертиса или взвешенных расстояний UniFrac были построены с использованием функции «mp_plot_ord» пакета MicrobiotaProcess (Xu et al., 2023). Для идентификации маркерных таксонов мы провели анализ LEfSe (линейный дискриминантный анализ размера эффекта) (Segata et al., 2011) для нормализованного в CPM (ридов на миллион) обилия zOTU с поправкой на множественные сравнения («multigrp_strat») с помощью пакета microbiomeMarker v. 1.6.0 (Cao et al., 2022).

2.1.1.3 Методы и подходы, использованные при изучении ряски малой (*Lemna minor*)

Ряска малая (*Lemna minor*) - многолетнее плавающее водное растение семейства Ароидные или Аронниковые (рисунок 6).



Рисунок 6 - Ряска малая (*Lemna minor*)

В рамках исследования *Lemna minor* в модельном эксперименте было проведено исследование выживаемости и физиологического состояния водных растений: изменение окраски, фототаксис, общая численность растений ряски, а также содержания фотосинтезирующих пигментов. Визуальная оценка растений выполнялась с учетом рекомендаций Домницкого И.Ю. (2016); Ольковой А.С. (2017); Никифорова Л.Н. (2021); Локтевой А. (2023); Сысы А.Г. (2025).

Растения *Lemna minor* предварительно были выращены в одних условиях, затем разделены на отдельные группы и помещены в аквариумы с температурой воды 22-24°C и освещением люминесцентными лампами (1000 лк на поверхности воды). Контроль состояния растений фиксировали ежедневно.

Определение содержания фотосинтезирующих пигментов *Lemna minor* проходило спектрофотометрическим методом. Перед работой с спектрофотометром навеску измельченного растительного материала (0,05 г)

растирали с небольшим количеством ацетона (3-4 мл) и помещали в колбу Бунзена. Далее, процедуру растирания с добавлением растворителя повторяли вновь 3 раза до обесцвечивания фильтра. После чего, часть полученной вытяжки заливали в кювету спектрофотометра размером 1,040 мм. Вторую кювету заполнили чистым экстрагентом, обозначенным как контроль. Определение концентрации пигментов без их разделения производили на спектрофотометре при длинах волн для ацетона – 662; 644; 440,5 нм. В дальнейшем, рассчитывали количество пигментов в мг/л:

$$C_a = 9,784 \times E_{662} - 0,990 \times E_{644} \quad (1)$$

$$C_b = 21,426 \times E_{644} - 4,650 \times E_{662} \quad (2)$$

$$C_{a+b} = 5,134 \times E_{662} + 2,436 \times E_{644} \quad (3)$$

$$C_k = 4,695 \times E_{440} - 0,268 \times C_{a+b} \quad (4)$$

где C_a – концентрация хлорофилла а, мг/л;

C_b – концентрация хлорофилла в, мг/л;

C_k – концентрация каротиноидов, мг/л;

E – найденное для исследуемого раствора поглощение (при толщине слоя 1 см), отсчитываемое по шкале спектрофотометра и указываемое в длинах волн.

Расчет количества пигментов проводили по следующей формуле:

$$A = (C \times V) / (1000 \times a) \quad (5)$$

где A – количество пигментов в сырой массы, мг/г;

C – концентрация пигментов, мг/л;

V – объём вытяжки, мл (10 мл);

a – масса навески, г.

2.1.1.4 Методы и подходы, использованные при изучении беззубки обыкновенной (*Anodonta cygnea*)

Беззубка обыкновенная *Anodonta cygnea* - пресноводный двустворчатый моллюск, представитель семейства униионид (*Unionidae*) являющийся

фильтратором (с током воды, через вводной сифон, всасывают зоо- и фитопланктон, а также детрит (рисунок 7).



Рисунок 7 - Беззубка обыкновенная (*Anodonta cygnea*)

На модели *Anodonta cygnea* в эксперименте были проведены исследования выживаемости, интенсивности роста моллюсков, а также прирост живой массы тела, дана оценка элементного состава тела.

В ходе исследования *Anodonta cygnea* визуально оценивали поведенческие реакции и внешний облик моллюска. Так, в спокойном состоянии беззубка находится на дне брюшной стороной (полуоткрытыми створками) вниз. Движение при помощи «ноги» (мускулистого клина) ровное, медленное. Во время изъятия моллюск проявлял нормальное поведение - втягивал ногу и захлопывал раковину с помощью мышц-замыкателей.

При формировании моллюсками отдельных групп сравнения были использованы особи выращенные в одинаковых условиях. При этом комплектование групп производилось методом пар-аналогов. Отбирали особей одного размера, веса и цвета раковины с нормой посадки: по 7 особей на аквариум, размером 100-120 мм. Моллюсков содержали при температуре 22-25°C, pH 7,0–8,0.

Контроль за поведенческими реакциями в опытных и контрольной группах беззубки осуществлялся ежедневно: регистрировали количество живых особей и их поведение (степень и характер передвижения, выдвижение

ноги и ее реакцию на раздражение), интенсивность потребления корма, выделение слизи.

Определение массы тела моллюсков проводили путем взвешивания на технических весах. Для этого обсушивали моллюсков на фильтровальной бумаге и взвешивали (с точностью до 0,1 грамма). Для контроля живой массы рыбы применяли весы BAT 1. («Veit» electronics», Чехия).

Для анализа элементного состава тела моллюсков использовали мягкие ткани и раковину, которые подвергались измельчению в трех повторностях до гомогенного состояния, поместили в вакуумные пакеты с фиксацией даты, времени, группы и места отбора опытных образцов. В дальнейшем, анализ элементного состава мягкой ткани проводили в лаборатории Испытательного центра Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» г. Оренбург (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015) с использованием атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии на содержание 25 элементов (K, Na, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Cu, Se, I, Mn, Co, Cr, V, Si, B, Ni, Li, Sn, Al, As, Hg, Pb, Cd, Be).

2.1.1.5 Методы и подходы, использованные при изучении дафнии большой (*Daphnia magna*)

Большая дафния (*Daphnia magna*) - вид пресноводных ракообразных из семейства дафнид, являющийся фильтратором: питается фито- и бактериопланктоном, а также может соскребать обрастания со дна (рисунок 8). В рамках исследования дафнии большой (*Daphnia magna*) в модельном эксперименте была проведена оценка выживаемости испытуемых организмов, а также визуальное наблюдение за поведенческими реакциями.

Рачков *Daphnia magna* в возрасте 18 часов помещали в аквариум по 10 единиц в каждом под слоем мельничного газа во избежание контакта с испытуемыми организмами. Температура воды - 23°C.

В качестве корма для дафний использовалась культура зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. Культура водоросли выращивалась в культиваторе KB-05 в течение 24 часов на 5% среде Тамия. Кормление культур рачков проводилось до начала исследования суспензией хлореллы, количество которой составляло 1/20 части объема культуры дафний. На период исследования рачков не кормили.



Рисунок 8 - Большая дафния (*Daphnia magna*)

Визуальная оценка при исследовании дафний направлена на изучение их двигательной активности и физиологического состояния. В рамках исследования культуру дафний выдерживали 24 часа совместно с опытными организмами в аквариумах, куда вносили кормовые добавки в виде НЧ Fe и веществ анти кворум в различных дозировках. Неподвижных особей считают погибшими, если не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана. Анализ двигательной активности происходил путем подсчёта количества пересечений дафнией условных линий наблюдаемого поля зрения в течение 5 минут. Для этого использовали палетку с сеткой ячеек 5×5 мм, которую размещали под дном ёмкости с дафниями. Физиологическое состояние анализировали при микроскопическом осмотре: окраску тела, наполненность кишечника, состояние фильтрационного аппарата.

2.1.2. Характеристика исследуемых веществ

В рамках проведенных исследований в качестве тестируемого препарата применялись наночастицы железа на углеродной основе (НЧ Fe), а в роли агентов, подавляющих кворум-сенсинг, выступал умбеллиферон. НЧ Fe, внедренные в углеродную матрицу (размером 40–60 нм) были синтезированы с использованием плазменно-дуговой технологии в Институте теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН. Способ синтеза включал распыление в плазме электрического дугового разряда постоянного тока в атмосфере инертного газа композитного электрода в виде графитового стержня с просверленной полостью, в которую запрессована смесь порошков металла и углерода в виде графита.

Для введения НЧ в корм карпа применялся метод опрыскивания корма предварительно диспергированным в физиологическом растворе комплексом НЧ ультразвуковым диспергатором УЗДН-2Т (производитель NPP Academpribor, Россия) с параметрами 35 кГц, мощность 300/450 Вт, ток 10 мкА в течение 30 минут.

Умбеллиферон ($C_9H_6O_3$, молекулярная масса 162,14 г/моль, чистота 98%, CAS RN 93-35-6, производитель Tokyo Chemical Industry Co., LTD) представляет собой порошок с доказанной антибактериальной активностью и способностью ингибировать системы QS. Препарат получен путем экстракции из коры дуба (*Quercus cortex*) и отличается низкой токсичностью для микроорганизмов (по Дерябину Д.Г. и др., 2023).

2.1.3 Статистическая обработка материала

Статистический анализ проведен путем сравнения опытных групп с контролем с использованием пакета программ «Microsoft Office» («Microsoft», США) и «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США). Достоверность просчитывали с применением t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали

значения с $P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$ и $P \leq 0,001$. Табличные данные представлены как $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка средней арифметической. По Спирмену рассчитывались коэффициенты корреляции.

Применяли непараметрические процедуры обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна-Уитни). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался меньшим или равным 0,05. Взаимосвязи между параметрами оценивали при помощи метода ранговых корреляций Спирмена. Для определения тесноты связи между изучаемыми признаками проводили вычисление коэффициента корреляции (r).

Для определения биологического разнообразия микробиома использовали программы FastQC v. 0.11.9, USEARCH V. 11.0.667, алгоритм дупликации и восстановления истинных биологических последовательностей UNOISE, база данных SILVA (версия 138.2), . Все статистические тесты и визуализация проводились в среде R версии 4.4.0 с использованием пакетов phyloseq v. 1.48.0, ggplot2 v. 3.5.1, MicrobiotaProcess v. 1.16.0 и microbiome v. 1.26.0. Для оценки достоверности в индексах бета-разнообразия был применен (PERMANOVA) с использованием функции «mp_adonis» пакета MicrobiotaProcess. Графики анализа главных координат (PCoA) были построены с использованием пакета MicrobiotaProcess «mp_plot_ord». Для идентификации маркерных таксонов - LEfSe и пакета microbiomeMarker v. 1.6.0.

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Результаты первого этапа исследований

2.2.1.1 Результаты I эксперимента первого этапа исследований по оценке биологической системы «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»

2.2.1.1.1 Адаптация *Cyprinus carpio*

В ходе исследований нами не были выявлены изменения в поведении и внешнем виде подопытной рыбы. После вылова рыбы демонстрировали все признаки жизнедеятельности: активно реагировали на внешние стимулы, совершали нормальные движения жаберными крышками, дыхание спокойное, без скоплений у поверхности воды.

В ходе исследования проводился детальный осмотр чешуйчатого покрова, эпидермиса, слизистых оболочек, глаз, жаберных лепестков, плавников, брюшной полости и внутренних органов. Оценивалась степень мышечного окоченения и наличие или отсутствие экссудата в брюшной полости. Дополнительно фиксировался запах рыбы с поверхности тела и вскрытой брюшной полости. Живая рыба, как контрольной, так и опытных групп, отловленная в последний день эксперимента, отличалась естественной окраской тела, прозрачной слизью, блестящей и плотно прилегающей чешуей без механических травм. Жабры имели красный оттенок, глаза были выпуклыми и прозрачными. Характерный для здоровой рыбы запах не содержал гнилостных примесей. Патологические симптомы (тусклость окраски, обильная мутная слизь, вздутие живота, разрушение плавников, анемия жабр, помутнение хрусталиков, кровоизлияния или присутствие паразитов) выявлены не были.

При вскрытии особей опытных групп в брюшной полости жидкость отсутствовала, а серозные оболочки выглядели прозрачными и блестящими.

Слизь сохраняла прозрачность, не содержала крови и посторонних запахов. Глаза рыб контрольной и опытных групп были выпуклыми или слегка запавшими с прозрачной роговицей, что свидетельствует о свежести тушки. Живот оставался нормальным, без вздутия, экссудат при вскрытии не обнаружен. Печень имела гладкую поверхность, красно-коричневый цвет и умеренную плотность. ЖКТ не был вздут, слизистая оболочка ровная, без повреждений, язв или кровоизлияний, количество слизи было в пределах нормы. Гнилостный запах при вскрытии отсутствовал. Мышечная ткань отличалась плотностью, упругостью, естественным цветом и надежной фиксацией к скелету. Жабры сохраняли ярко-красный цвет, без признаков побледнения, потемнения или избыточного ослизнения.

Результаты исследования показали, что организм карпа хорошо адаптировался к присутствию в корме наночастиц железа. Это хорошо видно по динамике живой массы опытной рыбы (таблица 2). Так, введение в рацион добавки в дозировке 0,8 мг/кг корма I опытной группе сопровождалось увеличением живой массы рыбы на 13,3% ($P \leq 0,05$) в сравнении с контрольной группой. Ввиду адаптации карпа на протяжении первых четырех недель к кормовому рациону и условиям среды, достоверное увеличение живой массы рыбы наблюдали с пятой недели - на 8,2% ($P \leq 0,05$).

Таблица 2 - Динамика живой массы рыбы, г/особь

Неделя эксперимента	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Начало эксперимента	25,2 ± 2,1	25,3 ± 2,3	25,3 ± 2,4
1	28,5 ± 3,2	29,0 ± 3,4	30,1 ± 2,8
2	31,1 ± 3,5	31,9 ± 3,4	32,1 ± 2,8
3	35,6 ± 4,5	36,9 ± 4,6	37,2 ± 4,5
4	41,0 ± 4,7	43,1 ± 5,5	42,6 ± 4,9
5	48,7 ± 5,6	52,7 ± 5,7*	51,5 ± 5,5
6	58,6 ± 6,1	61,2 ± 5,9	62,0 ± 6,2
7	68,8 ± 6,8	75,3 ± 6,4*	72,3 ± 6,6
8	78,7 ± 8,1	89,2 ± 7,6*	82,0 ± 7,2

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

В то же время увеличение дозировки наночастиц железа на 2 мг/кг корма не сопровождалось достоверным изменением живой массы карпа.

В ходе исследований установлено, что организм карпа хорошо адаптировался к присутствию наночастиц железа в корме (таблица 3). В частности, на это указывает повышение целого ряда морфологических параметров крови в опытной группах: уровня эритроцитов на 16,9% ($P \leq 0,05$), гемоглобина - 9,9% ($P \leq 0,01$), гематокрита - на 20,1% ($P \leq 0,05$) и тромбоцитов на 26,3% ($P \leq 0,05$) в крови карпа II опытной группы.

Таблица 3 - Морфологический состав крови карпа ($M \pm m$, $n = 3$)

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	$0,77 \pm 0,046$	$0,73 \pm 0,036$	$0,9 \pm 0,044^*$
Гемоглобин, г/л	$132 \pm 2,65$	$128 \pm 3,11$	$145 \pm 3,0^{**}$
Лейкоциты, $10^9/л$	$117,6 \pm 4,1$	$105,7 \pm 2,8^*$	$111,3 \pm 3,7$
Гематокрит, %	$15,9 \pm 1,2$	$13,2 \pm 1,2$	$19,1 \pm 0,7^*$
Тромбоциты, $10^9/л$	$15,2 \pm 0,7$	$19,7 \pm 1,5^*$	$19,2 \pm 1,3^*$
Средний объем эритроцитов, %	$210,1 \pm 3,26$	$204 \pm 6,25$	$203,9 \pm 5,1$
Индекс распределения эритроцитов, %	$34,4 \pm 1,36$	$41,7 \pm 1,5^*$	$35,4 \pm 0,9$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	$825 \pm 18,7$	$800,6 \pm 13,1$	$782 \pm 23,7$

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

В крови рыбы I группы зафиксировано повышение содержания тромбоцитов на 29,6% ($P \leq 0,05$) и снижение содержания лейкоцитов на 10,1% ($P \leq 0,05$). Индекс распределения эритроцитов, показывающий количество атипичных клеток, показал повышение у рыб I опытной группы в сравнении с контролем на 21,2% ($P \leq 0,05$). Вместе с тем, судя по биохимическим показателям крови адаптационная реакция организма карпа на действие анализируемых факторов была не столь выраженной (таблица 4).

Таблица 4 - Биохимический состав сыворотки крови карпа ($M \pm m$, $n = 3$)

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Глюкоза, ммоль/л	8,83±0,06	8,82±0,21	8,92±0,15
Общий белок, г/л	31,54±1,21	31,61±1,05	31,63±0,8
Альбумин, г/л	23±1,0	23,7±0,58	22,7±1,53
АЛТ, Ед/л	32,3±1,71	34,2±1,75	33,5±1,6
АСТ, Ед/л	31,7±2,27	34,4±2,2	33,6±1,86
Билирубин общий, мкмоль/л	12,34±1,58	15,49±1,33	13,55±1,6
Холестерин, ммоль/л	1,55±0,21	1,34±0,21	1,54±0,2
Триглицериды, ммоль/л	2,91±0,25	2,84±0,21	2,96±0,14
Мочевина, ммоль/л	6,6±0,3	6,4±0,15	6,3±0,4
Креатинин, мкмоль/л	0,72±0,045	0,65±0,025	0,27±0,035***
Мочевая кислота, мкмоль/л	314±12,5	280±16,5	289±14,5
Железо, мкмоль/л	22,3±1,4	32,0±2,11**	20,0±1,3
Кальций, ммоль/л	1,87±0,12	1,86±0,09	1,86±0,1
Фосфор, ммоль/л	1,07±0,085	1,02±0,087	1,05±0,087

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Так, в I опытной группе нами было выявлено снижение уровня креатинина - на 62,5% ($P \leq 0,001$). В II опытной группе отметили повышение уровня железа на 43,5% ($P \leq 0,01$).

Как следует из полученных данных адаптация организма карпа к присутствию наночастиц железа сопровождалась значительными изменениями в минеральном обмене подопытной рыбы. В частности, это выражалось значительными изменениями в элементном составе мышечной ткани опытной рыбы (таблица 5).

Так в мышечной ткани карпа I опытной группу зафиксировано повышение уровня натрия – на 24,5% ($P \leq 0,01$), марганца – на 63,6% ($P \leq 0,001$), кобальта – на 23,3% ($P \leq 0,001$), железа – на 192,5% ($P \leq 0,001$), никеля – на 69,2% ($P \leq 0,001$), брома – на 25,0% ($P \leq 0,05$), молибдена – на 31,42% ($P \leq 0,05$), йода – на 156,92% ($P \leq 0,001$), хрома – на 260,1% ($P \leq 0,001$), лития – на 162,5% ($P \leq 0,001$), относительно контрольных значений.

Таблица 5 - Концентрация макро- и микроэлементов в мышечной ткани рыб, мг/кг

Элемент	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Макроэлементы			
Na	2465±103	3070±149**	3040±172**
Mg	1253±71	1315±61	1300±77
P	10030±420	10418±518	10378±616
K	17424±806	17852±747	17652±877
Ca	1849±78	1946±79	1741±91
Эссенциальные и условно-эссенциальные микроэлементы			
Mn	1,54±0,091	2,52±0,105***	1,55±0,088
Co	0,021±0,0014	0,049±0,004***	0,024±0,0023
Fe	46,43±2,82	135,79±6,79***	66,06±3,79**
Ni	0,39±0,023	0,66±0,036***	0,36±0,012
Cu	2,52±0,09	2,85±0,18	2,54±0,18
Zn	41,66±1,62	43,69±2,16	45,34±2,29
Se	1,16±0,083	1,25±0,054	1,18±0,064
Br	8,45±0,61	10,56±0,46*	9,51±0,82
Mo	0,035±0,006	0,046±0,0023*	0,035±0,003
Ag	0,59±0,038	0,28±0,0266**	0,14±0,015***
I	0,65±0,029	1,67±0,11***	1,13±0,076***
Cr	5,59±0,23	20,13±1,052***	8,28±0,37***
Li	0,008±0,001	0,021±0,0012***	0,0095±0,0049

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

В мышечной ткани карпа II опытной группы отмечено повышение концентрации натрия на 23,3% ($P \leq 0,01$), железа – на 42,3% ($P \leq 0,01$), йода – на 73,9% ($P \leq 0,001$), хрома – на 48,1% ($P \leq 0,001$), на фоне снижения концентрации серебра – на 23,7% ($P \leq 0,001$), относительно контроля.

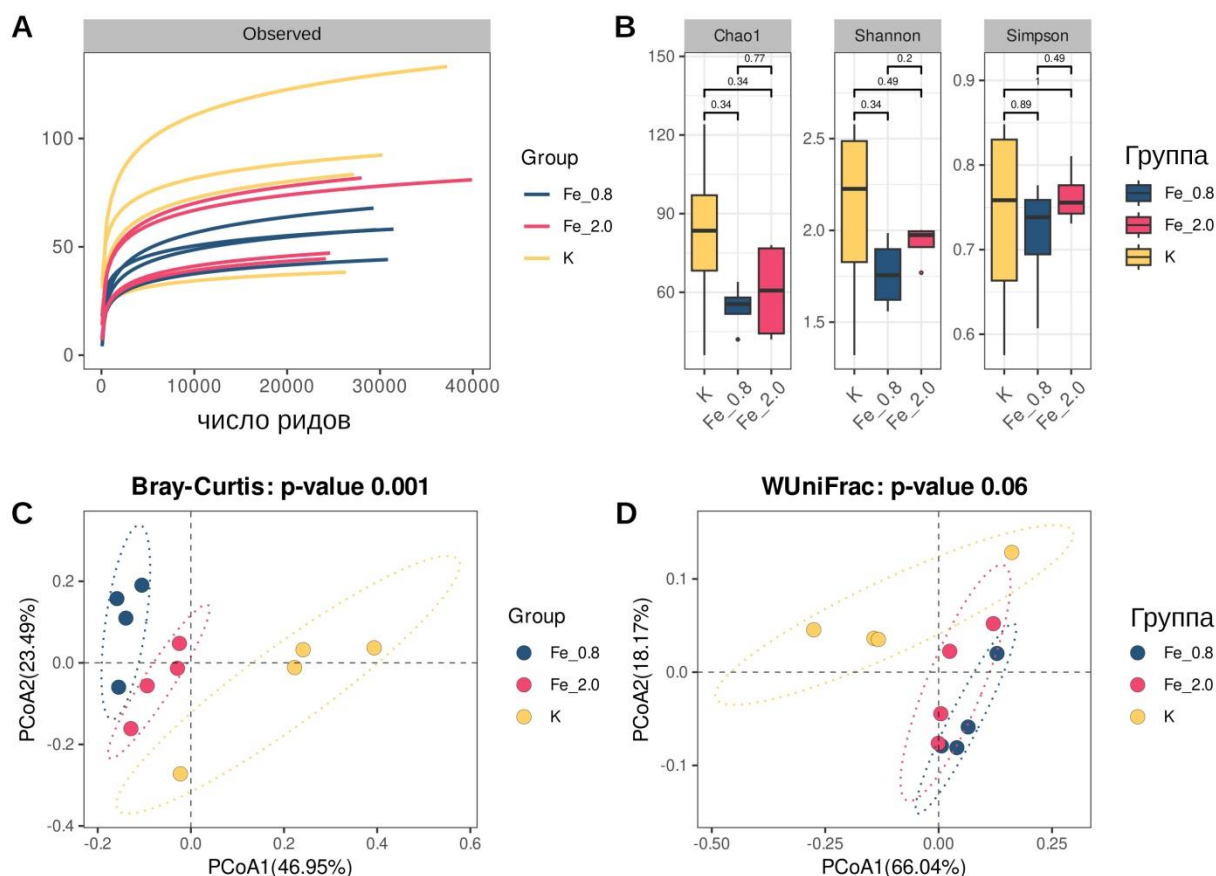
Содержание токсических элементов нами выявлено достоверное повышение алюминия – на 96,04% ($P \leq 0,01$), олова – на 22,22% ($P \leq 0,05$), бария – на 47,37% ($P \leq 0,01$) в I опытной группе и повышение бария – на 42,1% ($P \leq 0,01$) во II группе (таблица 6).

Таблица 6 - Концентрация токсических и малоизученных элементов в мышечной ткани рыб, мг/кг

Элемент	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Токсические и потенциально токсические микроэлементы			
Al	4,81±0,83	9,43±0,46**	4,76±0,3
Sr	4,0±0,213	4,22±0,19	3,85±0,21
Cd	0,0035±0,0007	0,004±0,001	0,003±0,0004
Sn	0,054±0,0033	0,066±0,0028*	0,047±0,0019
Hg	0,04±0,017	0,04±0,015	0,05±0,01
As	0,037±0,011	0,028±0,007	0,036±0,006
Малоизученные микроэлементы			
Sb	0,004±0,0002	0,0064±0,0005	0,0055±0,001
Ba	0,19±0,01	0,28±0,015**	0,27±0,012**

2.2.1.1.1 Микробиом кишечника *Cyprinus carpio*

В результате секвенирования было получено 435 741 прочтений (ридов), что соответствовало средней глубине секвенирования 36,311 ридов на образец. Риды были отфильтрованы от последовательностей адаптеров, а также по качеству и длине. Последовательности, классифицированные как хлоропласты и митохондрии, также были исключены из анализа. В результате средняя глубина последовательностей высокого качества составила $29\,918 \pm 4\,687$ на образец. Всего было выявлено 314 ОТЕ, где наибольшее число ОТЕ (39–125) было в контрольной группе, 42–64 ОТЕ в группе Fe_0.8, и 42–78 ОТЕ в группе Fe_2.0. Кривые разрежения для всех образцов достигли плато (рисунок 9А), что указывает на то, что прокариотические сообщества во всех изученных группах были проанализированы практически полностью. Мы оценили разницу в богатстве и разнообразии прокариотических сообществ, сравнив индексы альфа-разнообразия, включая Чао 1, Шеннона и Джини-Симпсона.



А - Кривые разрежения, отражающие зависимость наблюдаемых ASV от глубины секвенирования. В - Индексы альфа-разнообразия Чао 1, Шеннона и Джини-Симпсона. С-D - Результаты анализа главных координат (PCoA) прокариотических сообществ с использованием расстояний Брея-Кертиса (С) и взвешенных расстояний UniFrac (D) соответственно.

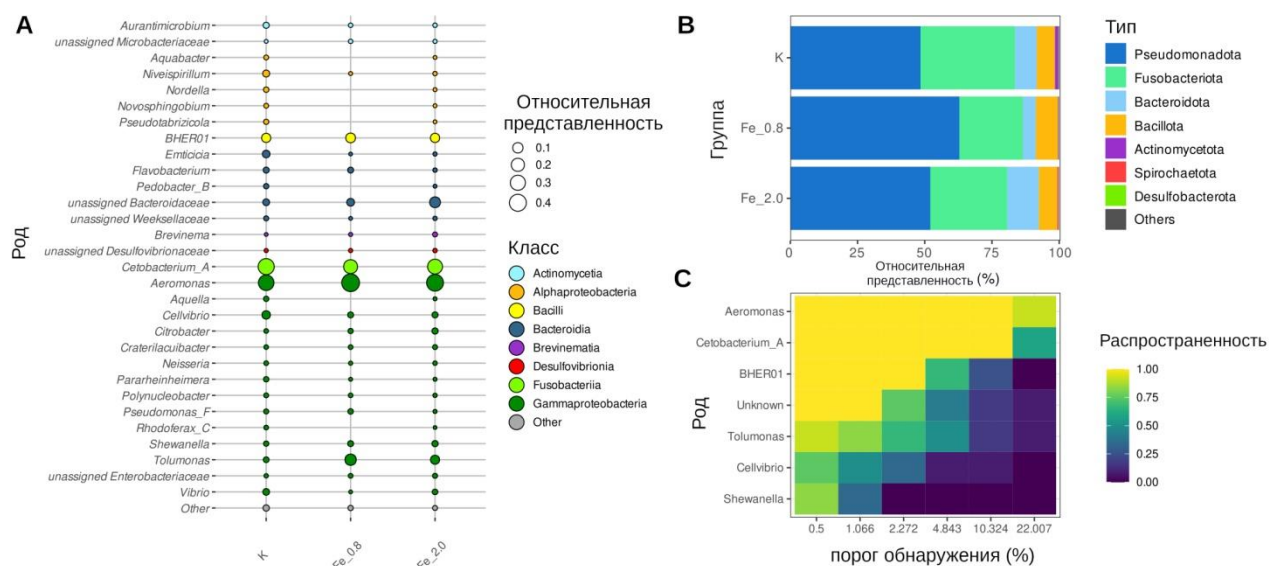
Рисунок 9 – Альфа- и бета-разнообразие микробиомов кишечника карпа *Cyprinus carpio*.

Индекс богатства Чао 1 для образцов К, Fe_0.8 и Fe_2.0 составил 82, 54,25 и 60,5 соответственно. Индекс разнообразия Шеннона составил 6,08 для группы К, 6,24 для группы Fe_0.8 и 5,72 для группы Fe_2.0. Индекс Джини-Симпсона составил 0,73 для группы К, 0,71 для группы Fe_0.8 и 0,76 для группы Fe_2.0. Мы не обнаружили достоверных различий (Wilcoxon rank-sum test, $p \leq 0,05$) в индексах разнообразия среди всех исследуемых групп образцов (рисунок 9В).

Для оценки влияния наночастиц железа на структуру микробного сообщества кишечника рыб был проведен анализ PERMANOVA на основе

дистанции Брея-Кертиса и взвешенных расстояния UniFrac. На диаграммах ординации, построенных методом главных компонент на основе дистанций Брея-Кертиса (рисунок 9C) и взвешенной дистанции UniFrac (рисунок 9D) образцы группируются в отдельные кластеры, соответствующие исследуемым экспериментальным группам. Было обнаружено, что бета-разнообразие на основе дистанции Брея-Кертиса достоверно отличается в исследуемых группах (PERMANOVA; $F = 4,32$, $R^2 = 0,49$, $p = 0,005$), однако не отличается на основе взвешенных расстояний UniFrac (PERMANOVA; $F = 2,48$, $R^2 = 0,36$, $p = 0,06$). Однако, при сравнении образцов контроля с объединенными образцами железа (Fe_0.8 + Fe_2.0) были выявлены достоверные различия в бета-разнообразии на основе взвешенных расстояний UniFrac (PERMANOVA; $F = 4,42$, $R^2 = 0,30$, $p = 0,05$).

В результате таксономической аннотации с использованием базы данных GTDB (версия r220) 314 ОТЕ были классифицированы в 17 фил, 24 класса, 50 порядков, 79 семейств, 117 родов. Представители фил *Pseudomonadota*, *Fusobacteriota*, *Bacteroidota*, *Bacillota*, и *Actinomycetota* доминировали во всех образцах, незначительно различаясь по доле (рисунок 10B). Доля других бактериальных фил не превышала 1% в сообществах. Отмечено, что относительная численность представителей *Actinomycetota* была ниже в микробиомах кишечника рыб, получавших добавки наночастиц железа на 0,24 и 0,20%, в I и II опытных группах, соответственно, по сравнению с 1,29% в контрольной группе. Филадель *Pseudomonadota* была в основном представлен классом *Gammaproteobacteria* (44,22% - 62,74%), а также небольшой долей *Alphaproteobacteria* (0,10% - 4,63%), причем доля *Alphaproteobacteria* заметно снизилась в микробиомах кишечника рыб, получавших добавки НЧ Fe (рисунок 10A). *Gammaproteobacteria* были в основном представлены родом *Aeromonas* (рисунок 10B), относительная численность которого была схожей во всех группах (31,52%, 45,16% и 41,59% в образцах контрольной, I и II опытных группах, соответственно).



А - Наиболее представленные роды/классы прокариот в микробных сообществах. Размер круга отражает относительную долю таксона в образце, где 1 = 100%. В - Относительное обилие различных фил бактерий в микробных сообществах. На рисунке отражены топ 7 наиболее представленных фил, прочие филы помещены в категорию “другие”. С - Основной микробиом, представленный на уровне рода. Распространенность оценивалась как доля образцов, в которых выявлен каждый род, в %.

Рисунок 10 – Таксономическая структура микробиома кишечника карпа *Cyprinus carpio*.

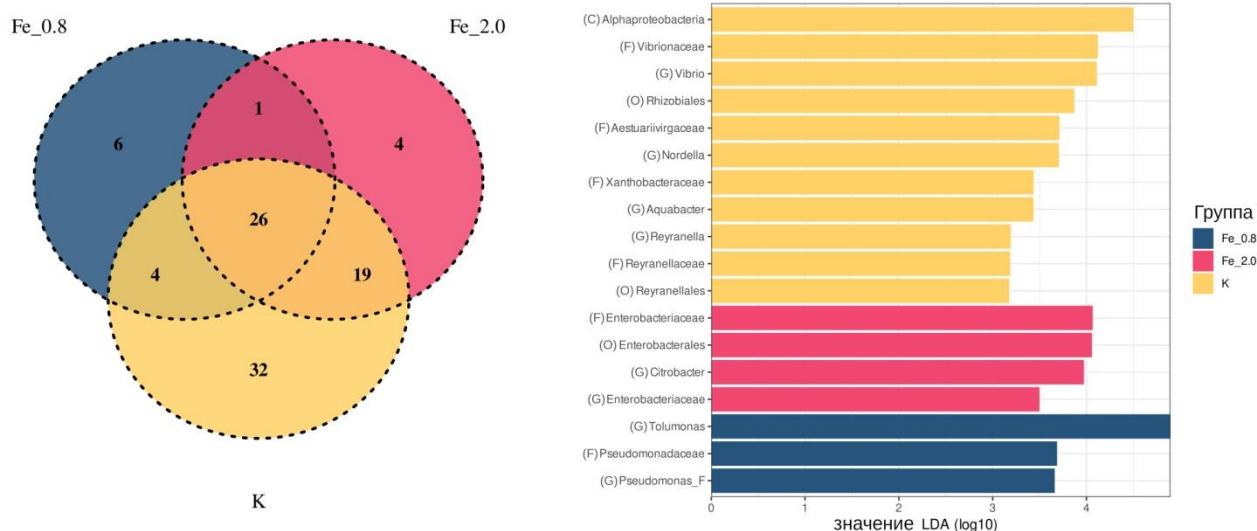
Род *Cellvibrio* был более представлен в контрольной группе, в то время как *Tolumonas* был более обильным в I опытной группе (13,16%) и II опытной (6,83%). Установлено, что некоторые роды бактерий отсутствовали в микробиомах кишечника рыб, получавших добавки наночастиц железа в концентрации 0.8 ppm (I опытная группа), они были обнаружены только в контрольных образцах и в II опытной группе: *Aquabacter*, *Nordella*, *Novosphingobium*, *Pseudotabrizicola* (Alphaproteobacteria), *Pedobacter_B* (Bacteroidota), *Aquella* и *Rhodoferax_C* (Gammaproteobacteria).

Фила *Fusobacteriia* была представлена в основном родом *Cetobacterium_A*, доля которого составила 34,43%, 23,64% и 27,12% в контрольной, I и II опытных группах, соответственно (рисунок 10А, 10В).

Фила *Bacteroidota* была третьей по численности и была представлена родами *Flavobacterium* и *Emticicia* (рисунок 10А, 10В). Фила *Bacillota* была представлена одной доминирующей ОТЕ, доля которой была приблизительно равной во всех исследуемых группах и принадлежала некультивируемому изоляту BHER01 (рисунок 10А, 10В). Поиск наиболее близких аналогов в базе данных NCBI с использованием алгоритма BLAST выявил последовательности бактерий со 100% покрытием и 100% идентичностью, которые были обнаружены в микробиомах кишечника белого амура *Ctenopharyngodon idellus* - рыбы семейства карповых.

В результате анализа контрольного микробиома было выявлено 6 родов бактерий с минимальной долей 0,5% сообщества как минимум в 50% образцах (рисунок 10С). Основным микробиом кишечника *Cyprinus carpio* состоял из следующих таксонов: *Cetobacterium_A* (класс *Fusobacteriia*); BHER01 (класс *Bacilli*); *Aeromonas*, *Tolumonas*, *Cellvibrio* и *Shewanella* (класс *Gammaproteobacteria*).

Для уточнения результатов анализа бета-разнообразия и оценки влияния различных концентраций наночастиц железа в рационе на относительное обилие таксонов прокариот были построены диаграммы Венна и проведен линейный дискриминантный анализ (LDA) на основе размера эффекта (LEfSe). Диаграмма Венна показала, что среди 92 проанализированных родов 26 были общими для всех микробиомов (рисунок 11А). Микробиомы контрольной группы характеризовались наибольшим количеством уникальных родов (32). Она также имела больше общих родов с группой Fe_2.0 (19), чем с группой Fe_0.8 (4), что также подтверждается анализом бета-разнообразия (рисунок 9С, 9D).



А - Диаграмма Венна, отражающая уникальные и общие роды бактерий в микробиомах кишечника *Cyprinus carpio* контрольной и экспериментальных групп. В - Результаты линейного дискриминантного анализа (LDA) на основе размера эффекта (LefSe).

Рисунок 11 – Влияние различного содержания наночастиц железа на микробиом кишечника карпа *Cyprinus carpio*.

Линейный дискриминантный анализ размера эффекта (LefSe) позволил выявить 18 таксонов бактерий, которые дифференциально представлены в микробных сообществах образцов контрольной, I и II опытных групп. Контрольная группа имела наибольшее количество значительно обогащенных таксонов ($p < 0.05$, FDR, LDA > 2), а именно класс *Alphaproteobacteria*, порядки *Rhizobiales* и *Reyranellales*, семейства *Vibrionaceae*, *Aestuariivirgaceae*, *Xanthobacteraceae*, *Reyranellaceae*, роды *Vibrio*, *Nordella*, *Aquabacter*, и *Reyranella*. Микробные сообщества кишечника особей I опытной группы были значительно обогащены представителями семейства *Pseudomonadaceae*, а также родов *Tolumonas* и *Pseudomonas_F*. Микробные сообщества второй опытной группы были значительно обогащены бактериями порядка

Enterobacterales, семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Citrobacter* и неклассифицированным представителем семейства *Enterobacteriaceae*.

2.2.1.1.3 Биосистема «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»: зависимость элементного статуса рыбы от видового состава микробиом кишечника

Корреляционный анализ показал, что элементный состав мышечной ткани тесно связан с конфигурацией кишечного микробиома, причём наиболее выраженные ассоциации формируют бактерии микробиома, выступающие регуляторами усвоения элементов, перераспределения и удержания в организме.

В рамках эксперимента в контрольной группе прослеживается выраженное разделение бактерий на несколько групп. Выраженная положительная корреляция с большинством микро- и макроэлементов выявлены для *Crenobacter*, *Niveispirillum*, *Pseudomonas*, *Cellvibrio*, *Vogesella*, *Flavobacterium*, *Emticicia* и *Kingella*. Особенно тесная связь наблюдается с Se, Bi, Br, K, Co, Cd, Al, Mn, Ba, Sb, Pb, Cr, Fe и Hg. Это свидетельствует о том, что увеличение численности данных микроорганизмов сопровождается накоплением соответствующих элементов в тканях рыб. Подобная зависимость объясняется тем, что представители *Pseudomonas*, *Flavobacterium* и *Cellvibrio* активно участвуют в процессах минерализации органического вещества, трансформации металлов и повышении их биодоступности. *Vibrio*, *Bacteroides*, *Aeromonas* и *Citrobacter* демонстрируют отрицательные корреляции с большинством элементов, в частности с Se, Bi, Br, K, Co, Cd, Al и Mn. Увеличение относительной численности этих бактерий сопровождается снижением накопления элементов вследствие конкуренции за питательные вещества, изменения кишечной среды или нарушения процессов всасывания. Род *Shewanella* демонстрирует преимущественно слабые или близкие к нулю

корреляции, что свидетельствует о ее нейтральной роли в регуляции элементного обмена в нормальных условиях (рисунок 12).

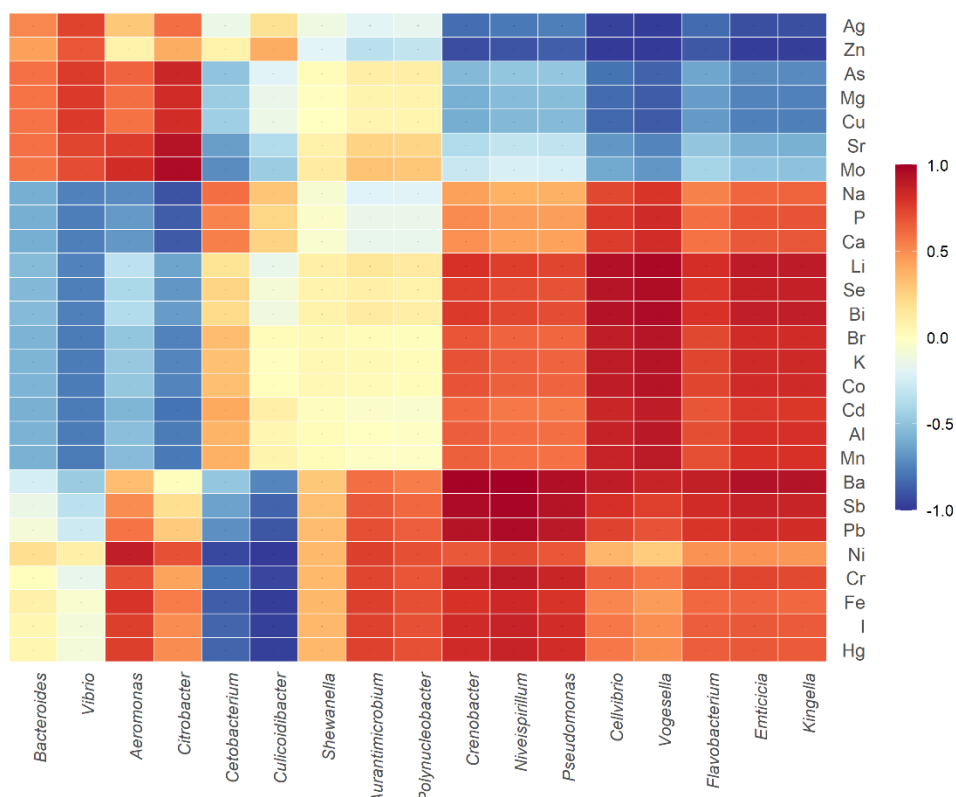


Рисунок 12 – Корреляционные взаимосвязи в контрольной группе

В контрольной группе сформированы устойчивые естественные взаимосвязи между структурой микробиома и элементным составом организма.

После введения наночастиц железа (0,8 мг/кг) структура корреляций заметно перестраивается (рисунок 13).

Наиболее выраженные положительные корреляции формируются для *Crenobacter*, *Cellvibrio* и *Shewanella*. Они тесно связаны практически со всеми исследованными эссенциальными элементами (Ba, Se, Fe, Mn, Ca, K, Zn), что свидетельствует об усилении участия этих бактерий в регуляции минерального обмена. Особенно интересен род *Shewanella*, где произошло усиление положительной связи с железом, марганцем и кальцием, что

соответствует литературным данным о ее способности участвовать в биогеохимическом цикле металлов.

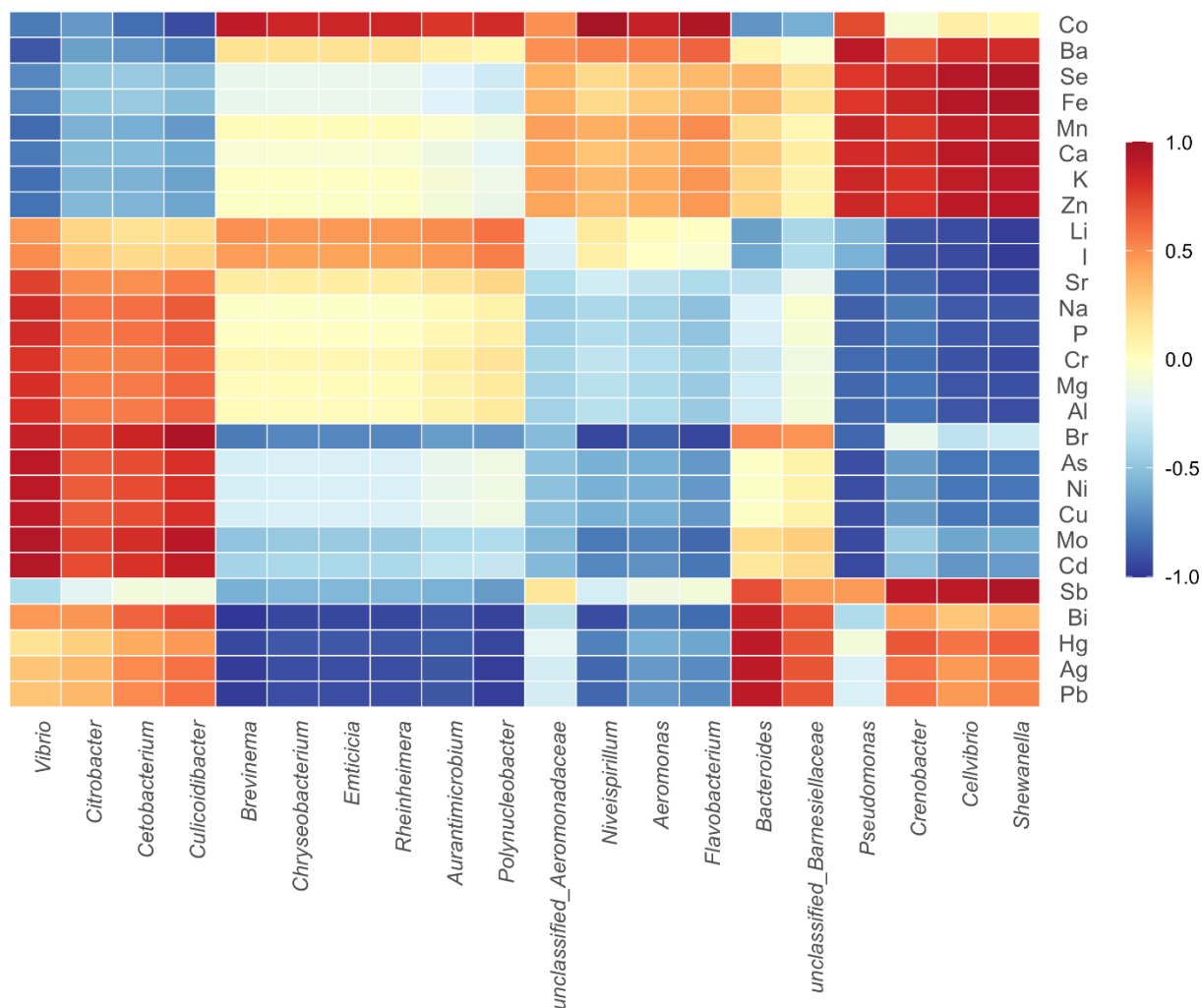


Рисунок 13 - Корреляционные взаимосвязи в I опытной группе

Высокие положительные корреляции также сохраняются у *Cellvibrio*. Род *Pseudomonas* демонстрирует более избирательные взаимосвязи, что может отражать перераспределение функций внутри микробного сообщества.

Для родов *Vibrio*, *Citrobacter*, *Cetobacterium* и *Culicibacter* характерны выраженные отрицательные корреляции с большинством элементов, что свидетельствует о снижении их вклада в поддержание минерального обмена при воздействии наночастиц железа. Отдельно выделяется *Bacteroides*, демонстрирующий положительные связи преимущественно с токсичными

элементами (Hg, Ag, Pb), тогда как с эссенциальными элементами связь значительно слабее. Добавление Fe в дозе 0,8 мг/кг приводит к перестройке функциональной организации микробиома. Основную роль начинают играть бактерии (*Shewanella*, *Crenobacter*, *Cellvibrio*), что свидетельствует об адаптации кишечного сообщества к изменению содержания железа.

При увеличении концентрации наночастиц железа до 2,0 мг/кг корреляционная структура становится еще более выраженной и однородной (рисунок 14).

Выраженные положительные взаимосвязи наблюдаются между *Crenobacter*, *Flavobacterium*, *Rheinheimera*, *Chryseobacterium*, *Aeromonas*, *Shewanella* и *Pseudomonas* и большинством эссенциальных элементов (Ag, Na, Mg, P, Li, As, K, Mn, Mo). Особенно выражены связи у *Crenobacter*, *Aeromonas* и *Shewanella*, что свидетельствует об их ведущей роли в адаптации микробиома к повышенной концентрации железа. Известно, что представители этих родов способны изменять окислительно-восстановительное состояние железа, участвовать в продукции сидерофоров и регулировать доступность микроэлементов. При этом, *Vibrio*, *Culicibacter*, *Arcticibacter* и *Emticicia* демонстрируют отрицательные корреляции с токсичными элементами (Cd, Hg, Bi, Cr), а также с кальцием, стронцием, железом и алюминием, что отражает вытеснение менее устойчивых бактерий под действием повышенной концентрации железа. При дозе Fe 2,0 мг/кг формируется наиболее организованная сеть взаимосвязей между микробиомом и элементным составом. Усиливается роль бактерий, способных участвовать в трансформации металлов и поддержании минерального гомеостаза, тогда как часть чувствительных таксонов теряет тесную связь с элементным обменом.

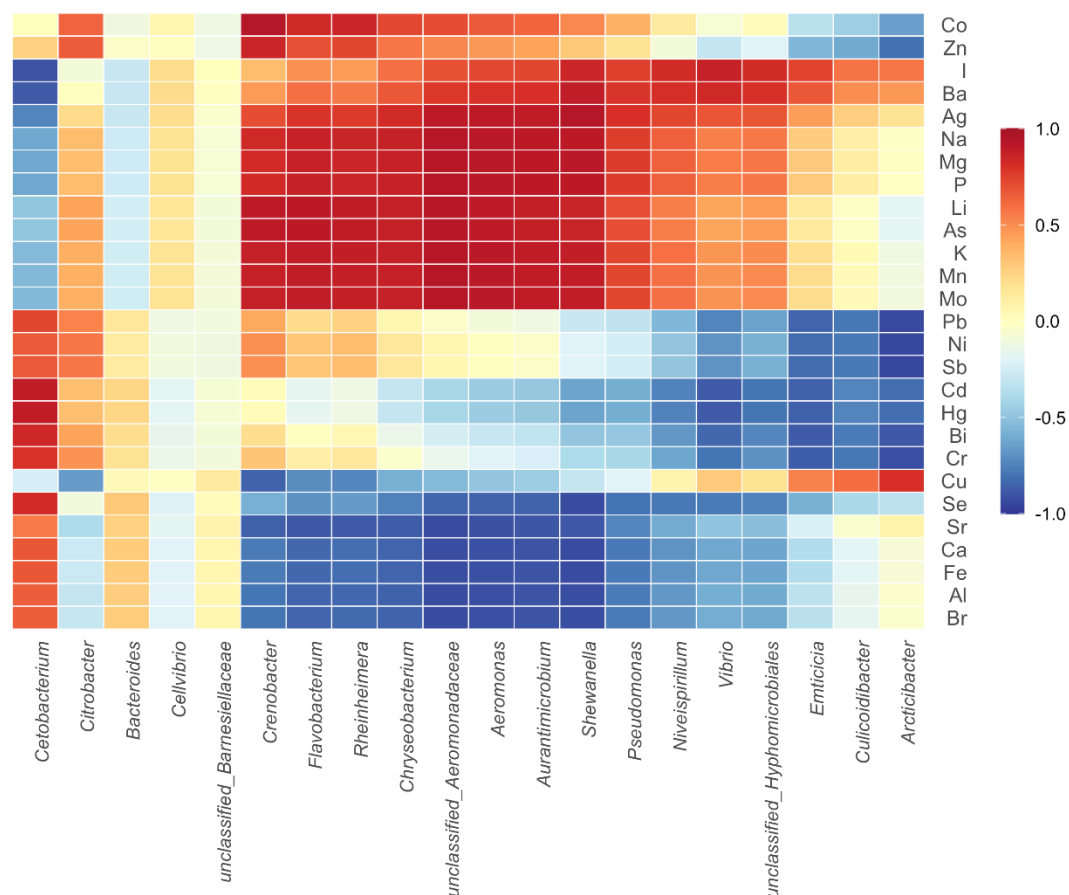


Рисунок 14 - Корреляционные взаимосвязи в II опытной группе

Общая корреляционная картина взаимосвязей всех исследуемых групп представлена в таблице 7.

Наиболее ярко это проявилось в противопоставлении *Shewanella* и *Vibrio*: первый род ассоциировался преимущественно с повышением Mg, Zn, Na, Pb и частично Fe, тогда как второй – со снижением Fe, Mg, Zn, Na, Se, I, Co, Cr, Li и Al. Рост доли *Shewanella* ассоциирован с более высоким накоплением элементов в мышечной ткани за счёт участия этого рода в редокс-процессах, трансформации металлов и поддержании кишечной среды, благоприятной для их абсорбции. *Vibrio* чувствителен к повышению минеральной обеспеченности хозяина, а также отражает изменение редокс-среды кишечника.

Таблица 7 - Корреляции между родами микробиома и дополнительными элементами мышечной ткани

Элементы	Таксоны									
	<i>Aeromonas</i>	<i>Cetobacterium</i>	<i>Culicoidibacter</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Cellvibrio</i>	<i>Emticia</i>	<i>Shewanella</i>	<i>Niveispirillum</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Flavobacterium</i>
Ca	-0.17	0.13	-0.01	-0.21	0.30	0.16	-0.29	0.03	-0.43	0.56
Na	0.47	-0.27	0.12	0.30	-0.41	-0.53	0.65	-0.65	-0.75	-0.20
Mg	0.61	-0.34	-0.08	0.11	-0.61	-0.72	0.836	-0.81	-0.81	-0.06
K	0.33	-0.48	-0.30	-0.33	0.35	0.28	10.17	-0.21	-0.26	0.34
Fe	0.46	-0.25	-0.06	0.24	-0.33	-0.38	0.30	-0.67	-0.80	0.17
Zn	0.45	-0.22	-0.07	0.50	-0.56	-0.52	0.70	-0.66	-0.71	-0.11
P	0.18	-0.18	0.17	-0.27	0.02	-0.04	0.33	-0.18	-0.50	-0.04
Cu	0.21	-0.01	0.41	0.03	-0.40	-0.38	0.02	-0.36	-0.25	-0.11
Se	-0.12	0.03	-0.18	0.22	0.33	0.13	0.03	-0.08	-0.78	0.44
I	0.56	-0.31	0.06	0.14	-0.42	-0.54	0.47	-0.61	-0.75	0.08
Mn	0.420	-0.26	0.01	-0.21	-0.15	-0.29	0.23	-0.37	-0.66	0.39
Co	0.461	-0.26	-0.034	-0.16	-0.21	-0.34	0.21	-0.42	-0.68	0.38
Cr	0.43	-0.20	0.067	-0.03	-0.31	-0.42	0.23	-0.49	-0.69	0.22
Ni	0.34	-0.17	0.045	-0.22	-0.17	-0.25	0.04	-0.30	-0.57	0.33
Li	0.43	-0.23	0.051	-0.15	-0.24	-0.36	0.20	-0.43	-0.68	0.230
Al	0.26	-0.11	0.091	-0.17	-0.10	-0.22	0.06	-0.33	-0.70	0.35
As	-0.22	0.11	0.104	-0.15	0.08	0.23	-0.11	0.30	0.51	-0.42
Hg	-0.10	-0.14	-0.423	0.59	0.27	0.28	0.17	0.32	-0.10	-0.16
Pb	0.41	-0.20	-0.019	0.71	-0.48	-0.59	0.68	-0.65	-0.63	-0.36
Cd	-0.57	0.53	0.214	0.02	0.19	0.20	-0.59	0.08	-0.36	-0.07

Род *Niveispirillum* также демонстрировал выраженный отрицательный профиль по Mg, Fe, Zn, Pb и Na, а *Aeromonas* – положительную сопряжённость с Mg, I, Na, Fe и рядом микроэлементов. Поскольку *Niveispirillum* относится к минорным компонентам микробиома, его корреляции особенно ценны как индикаторные сигналы. Представители рода *Aeromonas* широко распространены в кишечнике пресноводных рыб и обладают развитым набором систем для захвата железа, включая сидерофоры, гем-связывающие белки и транспортёры железа, в том числе, способность эффективно использовать железо хозяина и конкурировать за него в условиях ограниченной доступности, что является одним из факторов их экологической успешности и вирулентности.

Напротив, *Cetobacterium*, *Culicoidibacter* и *Flavobacterium* менее информативную картину. Представители данных родов относятся к ядру кишечного микробиома, их рассматривают как важный анаэробный

компонент, участвующий в продукции короткоцепочечных жирных кислот и витамина B12, а также в поддержании общего метаболического баланса кишечника.

В совокупности это позволяет рассматривать *Vibrio*, *Shewanella*, *Niveispirillum* и *Aeromonas* как наиболее информативные индикаторные таксоны, отражающие перестройку системы «микробиом–минеральный обмен» у карпа.

2.2.1.1.4 Резюме по итогам первого эксперимента первого этапа исследований

Биосистема «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*» изменяется под действием НЧ Fe. Во всех исследованных группах обнаружено, что структура кишечного микробиома тесно связана с элементным составом организма рыб и влияет на перераспределение элементов. В контрольной группе преобладают естественные взаимосвязи между отдельными таксонами и макро- и микроэлементами. Введение наночастиц железа приводит к выраженной перестройке корреляционной сети: возрастает значение бактерий, участвующих в биогеохимическом цикле металлов (*Shewanella*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Crenobacter*), усиливаются связи с железом и другими эссенциальными элементами. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о том, что кишечная микробиота регулирует биодоступность металлов посредством продукции сидерофоров, изменения окислительно-восстановительных условий, сорбции и биотрансформации элементов, оказывая существенное влияние на минеральный обмен организма хозяина.

Введение НЧ Fe сопровождалось изменениями как альфа-, так и бета-разнообразия микробных сообществ. Между контрольной и опытными группами были выявлены различия как в количественном, так и в качественном составе микробиоты. При этом, максимальные значения показателей альфа- и бета-разнообразия были зарегистрированы у рыб

контрольной группы, тогда как минимальные значения отмечались у рыбы, получавшей НЧ Fe в дозировке 0,8 мг/кг корма.

Включение НЧ в количестве 0,8 мг/кг корма сопровождалось увеличением общей биомассы карпа в среднем на 13,3 % по сравнению с контролем ($P \leq 0,05$). Применение НЧ Fe в дозировке 2,0 мг/кг корма стимулировало процессы кроветворения, что проявлялось в активации синтеза эритроцитов и транспорта гемоглобина. Изменения гематологических показателей, выражавшиеся в снижении содержания лейкоцитов и креатинина при одновременном повышении уровня тромбоцитов, можно рассматривать как адаптационную реакцию организма на НЧ Fe.

2.2.1.2 Результаты II эксперимента первого этапа исследований по оценке биологической системы «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»

2.2.1.2.1 Адаптация *Cyprinus carpio*

Сохранность рыб во всех сравниваемых группах была равна 100 % (таблица 8). В течение первых трех недель эксперимента достоверных отличий по живой массе зафиксировано не было. С четвертой недели установлено достоверное повышение массы рыб. В I опытной группе повышение живой массы рыбы отмечено на четвертой неделе – на 4,9% ($P \leq 0,05$), на пятой и шестой неделе – на 4,3% ($P \leq 0,05$), на седьмой и восьмой неделях – на 7,6% и 8,6% ($P \leq 0,01$), соответственно, относительно контрольной группы.

В II опытной группе прирост живой массы на четвертой неделе был выше контрольной группы на 7,4% ($P \leq 0,05$), на седьмой неделе 7,5% ($P \leq 0,01$), на восьмой неделе – 7,7% ($P \leq 0,01$). Аналогично, в III опытной группе повышение массы зафиксировали на четвертой неделе 6,6% ($P \leq 0,05$), на седьмой неделе – на 4,4% ($P \leq 0,01$) и 7,2% ($P \leq 0,01$) на восьмой неделе, в сравнении с контролем.

Таблица 8 - Динамика живой массы карпа, г/особь

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	31,4 ± 1,95	31,6 ± 1,6	31,4 ± 1,15	31,8 ± 1,8
1	35,9 ± 2,02	36,3 ± 1,46	37,1 ± 2,06	37,0 ± 1,28
2	39,8 ± 1,67	40,7 ± 1,34	41,4 ± 2,14	41,2 ± 1,07
3	48,2 ± 1,96	49,2 ± 1,37	49,4 ± 2,22	49,8 ± 1,45
4	51,2 ± 2,39	53,7 ± 1,28*	55,0 ± 2,21*	54,6 ± 1,92*
5	58,8 ± 2,02	61,3 ± 1,82*	62,1 ± 1,83**	61,7 ± 1,93**
6	67,6 ± 2,33	70,5 ± 2,62*	70,6 ± 1,68**	70,3 ± 2,48*
7	77,4 ± 2,09	83,3 ± 2,99**	83,2 ± 1,95**	80,8 ± 2,12**
8	95,0 ± 3,2	103,2 ± 2,85**	102,3 ± 2,81**	101,9 ± 3,0**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Оценка адаптации организма *Cyprinus carpio* к действию оцениваемого фактора выявила некоторые изменения в картине крови рыбы. В частности, уровень эритроцитов в крови карпа I опытной группы повысился на 56% ($P \leq 0,05$) относительно контрольной группы, уровень гематокрита – на 37,6% ($P \leq 0,01$). Содержание гемоглобина в III опытной группе было ниже, чем в контрольной группе на 8,4% ($P \leq 0,05$), уровень гематокрита – на 27,1% ($P \leq 0,01$), в сравнении с контролем. Морфологические показатели крови карпа при поступлении умбеллиферона находились в пределах физиологической нормы (таблица 9).

Таблица 9 - Морфологические показатели крови *Cyprinus carpio*

Показатель	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	0,66 ± 0,05	0,75 ± 0,025	1,03 ± 0,12*	0,56 ± 0,082
Гемоглобин, г/л	136,7 ± 5,51	132 ± 3,61	133 ± 4,58	125,3 ± 4,04*
Лейкоциты, $10^9/л$	106,7 ± 5,13	109,7 ± 5,03	109 ± 5,57	108,7 ± 4,73
Гематокрит, %	13,3 ± 0,55	13,8 ± 0,7	18,3 ± 1,04**	9,7 ± 0,31**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Анализ биохимических показателей крови показал снижение содержания альбумина в I опытной группе на 34,7% ($P \leq 0,01$). Уровень билирубина в III опытной группе был достоверно ниже на 46,4% ($P \leq 0,001$),

относительно контроля. Снижение содержания мочевой кислоты было зафиксировано в I опытной группе на 21,5% ($P \leq 0,05$) и во II на 21,5% ($P \leq 0,01$). Повышение содержания железа в сыворотке крови карпа зафиксировано на 26,7% ($P \leq 0,05$) в III группе, а также и кальция - на 55,6% ($P \leq 0,01$) в I группе и на 44,5% ($P \leq 0,05$) и III группе, в сравнении с контролем (таблица 10).

Таблица 10 – Биохимические показатели крови карпа

Показатель	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Глюкоза, ммоль/л	3,8±0,43	4,1±0,89	3,7±0,55	4,1±0,24
Общий белок, г/л	20,7±2,36	20,9±4,9	17,9±0,79	25,5±3,08
Альбумин, г/л	17,3±0,58	11,3±1,16**	14 ± 2	14 ± 2
АЛТ, Ед/л	28,6±1,31	27,1±4,0	29,3±2,68	26,8 ± 3,94
АСТ, Ед/л	464,9±44,19	545,2±58,26	356,4±54,02	482,3±19,39
Билирубин общий, мкмоль/л	1,53±0,1	1,39±0,12	1,39±0,182	0,82 ±0,049***
Холестерин, ммоль/л	3,75±0,466	3,73±0,506	3,16±0,345	3,51±0,309
Триглицериды, ммоль/л	2,39 ± 0,318	2,62 ± 0,195	2,73 ± 0,215	2,69±0,551
Мочевина, ммоль/л	3,47±0,379	3,5±0,361	2,8±0,265	3,27±0,231
Креатинин, мкмоль/л	17,9±1,75	19,6±1,49	16,7±1,36	18,1±1,21
Мочевая кислота, мкмоль/л	28,8±2,45	22,6±1,83*	22,6±0,95*	28,1±3,56
Железо, ммоль/л	3,0 ± 0,21	2,9 ± 0,2	3,3 ± 0,17	3,8 ± 0,26*
Кальций, ммоль/л	1,8 ± 0,19	2,8 ± 0,25**	1,9 ± 0,26	2,6 ± 0,33*
Фосфор, ммоль/л	3,6 ± 0,35	4,2 ± 0,33	4,5 ± 0,51	4,2 ± 0,41

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Адаптация организма карпа к действию умбеллиферона сопровождалась изменениями в минеральном обмене (таблица 11, 12). В частности, в опытных группах претерпели изменения в элементном составе мышечной ткани. Повышение уровня натрия фиксировали в I опытной группе на 21,8% ($P \leq 0,05$), во II – на 25,1% ($P \leq 0,01$), в III – на 21,6% ($P \leq 0,01$). Уровень кальция был выше в I опытной группе - на 39,3% ($P \leq 0,05$), во II – на

28,6%($P \leq 0,01$) и в III – на 41,7% ($P \leq 0,01$). Уровень кобальта варьировал в следующих пределах: в II группе – выше контроля на 480,9%, в III группе – на 452,4%. Схожая динамика была зафиксирована в отношении никеля: в II группе – на 753%, в III группе – на 656,4% выше контрольной группы.

Таблица 11 – Содержание макроэлементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Na	2333,7±112,17	2843,0±295,25*	2918,3±97,08**	2838,7±31,89**
Mg	1269,0±50,48	1263,0±143,82	1287,3±63,57	1262,3±28,36
P	9372,7±303,33	9813,0±933,64	9751,7±363,33	9828,3±133,45
K	14734,7±646,17	15242,7±1402,57	15002,3±564,83	15233,0±226,02
Ca	1483,7±107,56	2067,0±263,32*	1908,0±46,16**	2101,667±103,4**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Анализ содержания микроэлементов в мышечной ткани карпа показал: уровень меди был превышен в I опытной группе на 17,5% ($P \leq 0,05$), в II группе – на 69,5% ($P \leq 0,05$), в III группе – 63,1% ($P \leq 0,05$). Уровень молибдена был выше контрольной группы только в I группе – на 25% ($P \leq 0,05$) и в III группе – на 21,4% ($P \leq 0,05$). Значительное повышение хрома фиксировали в II опытной группе на 271,2% ($P \leq 0,05$) и в III группе – на 266,9% ($P \leq 0,01$). Уровень железа был выше контроля в I группе зафиксировали на 11,2% ($P \leq 0,05$), в II группе – на 112,4% ($P \leq 0,05$), в III группе – 105,9% ($P \leq 0,05$). Содержание цинка было превышено в I группе на 14, 1% ($P \leq 0,05$), в II группе – на 11,7% ($P \leq 0,05$), и в III группе – на 20,2% ($P \leq 0,01$).

Анализ уровня токсических элементов показал достоверное повышение в всех опытных группах (таблица 13). Так, содержание стронция было превышено в I группе на 54,5% ($P \leq 0,05$), в II группе – на 37,4% ($P \leq 0,01$), в III группе – на 54,1% ($P \leq 0,01$). Серебро в высоких значениях обладает токсическим действием на организм: уровень элемента в I группе на 76,3% ($P \leq 0,001$), в II группе – на 82,7% ($P \leq 0,01$), в III группе – на 51,1% ($P \leq 0,01$). Кадмий был превышен в II и III опытных группах в 2 раза.

Уровень бария превышен только в III опытной группе на 47,3%($P \leq 0,01$), а уровень ртути в II группе – на 9,1%($P \leq 0,05$).

Таблица 12 - Содержание микроэлементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Li	0,014±0,003	0,028±0,014	0,023±0,008	0,013±0,003
Mn	1,33±0,376	1,27±0,063	1,03±0,378	1,00±0,0288
Co	0,021±0,005	0,023±0,002	0,122±0,043*	0,116±0,025**
Ni	0,117±0,048	0,082±0,016	0,998±0,404*	0,885±0,211**
Cu	2,085±0,137	2,45±0,121*	3,534±0,555*	3,399±0,403**
Se	0,85±0,071	0,992±0,138	1,0±0,098	0,888±0,028
Mo	0,028±0,003	0,035±0,001*	0,038±0,007	0,034±0,002*
I	0,758±0,046	2,48±1,852	3,932±4,083	1,511±0,476
Cr	3,168±0,694	3,926±0,206	11,76±4,347*	11,621±2,907**
Fe	37,094±2,943	44,2±1,693*	78,798±19,893*	76,408±15,305*
Zn	39,052±1,488	44,546±2,372*	43,621±1,833*	46,93±1,558**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Таблица 13 - Содержание токсических элементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Al	11,4±4,14	11,7±4,14	13,9±5,59	8,6±1,67
Sr	2,28±0,207	3,522±0,451*	3,133±0,106**	3,513±0,145**
Ag	0,746±0,053	1,315±0,029***	1,363±0,179**	1,127±0,131**
Cd	0,002±0,0	0,002±0,0	0,004±0,002	0,004±0,001*
Sb	0,003±0,002	0,086±0,143	0,003±0,001	0,003±0,001
Ba	0,186±0,011	0,174±0,159	0,239±0,048	0,274±0,016**
Hg	0,277±0,013	0,22±0,168	0,302±0,006*	0,299±0,006
Tl	0,001±0,0	0,003±0,002	0,001±0,0	0,001±0,0
Pb	0,024±0,007	0,028±0,004	0,036±0,012	0,024±0,002
Bi	0,002±0,001	0,003±0,001	0,003±0,0	0,001±0,0
As	0,038±0,008	0,037±0,005	0,034±0,003	0,037±0,006

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

2.2.1.2.2 Микробиом кишечника *Cyprinus carpio*

Анализ альфа-разнообразия показал, что добавление в рацион карпа ингибитора чувства кворума бактерий не вызывало существенных изменений индексов разнообразия кишечной микробиоты Шеннона (рисунок 15) и

Симпсона (рисунок 16) по сравнению с контролем. Так, индекс разнообразия Шеннона существенно не изменился в опытных группах по сравнению с контролем. Увеличение индекса Шеннона до 1,59-2,15 и индекса Симпсона до 0,69-0,79 наблюдалось лишь при добавлении умбеллиферона в максимальной концентрации 3 мг/кг корма (в контроле индекс Шеннона – 0,38-1,70, индекс Симпсона – 0,13-0,69) (рисунок 15, 16).

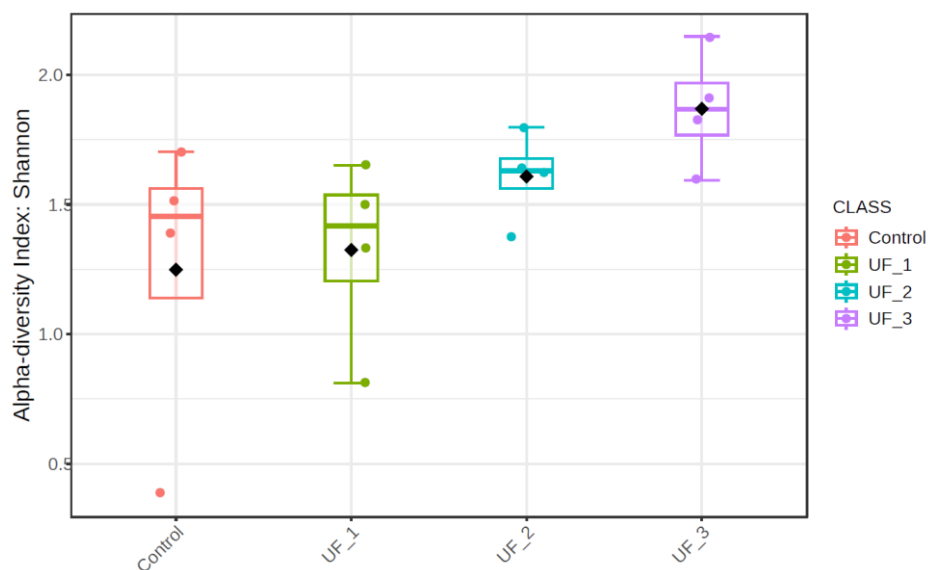


Рисунок 15 – Индекс разнообразия Шеннона кишечной микробиоты рыб контрольной и опытных групп (Control – контрольная группа; опытные группы: UF_1, UF_2, UF_3 – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно)

Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса не показал статистически значимых различий между контрольными образцами кишечной микробиоты и образцами опытных групп рыб, получавших в составе рациона ингибитор чувства кворума бактерий (рисунок 17).

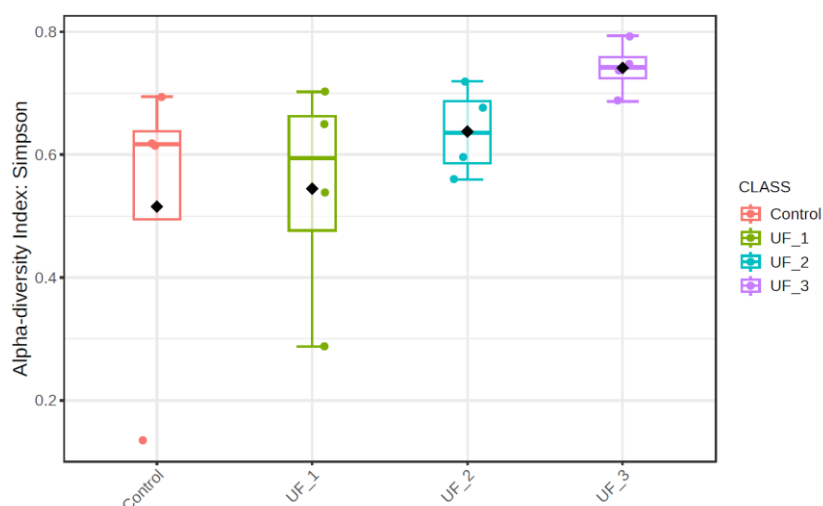


Рисунок 16 – Индекс разнообразия Симпсона кишечной микробиоты рыб контрольной и опытных групп (Control – контрольная группа; опытные группы: UF_1, UF_2, UF_3 – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

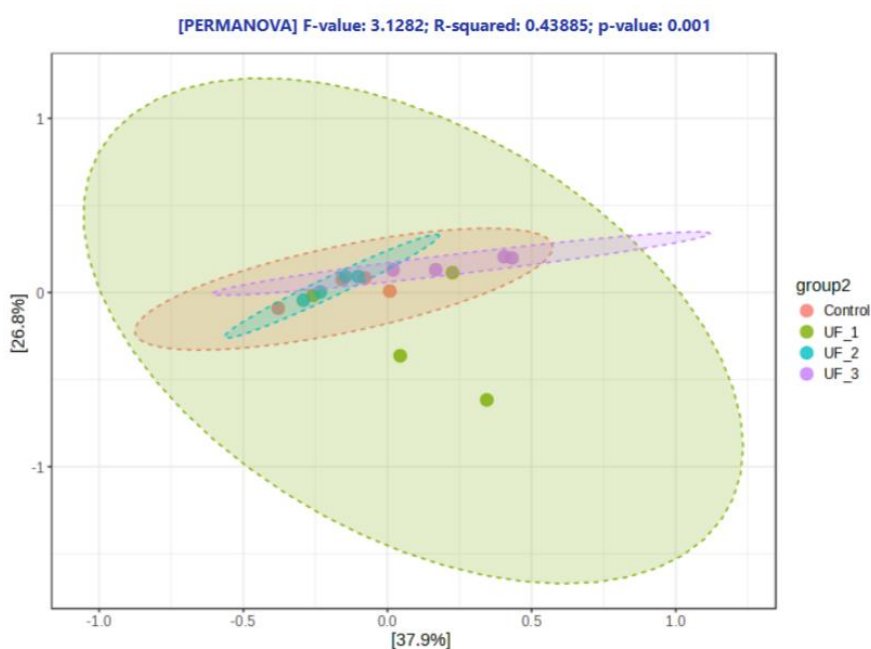


Рисунок 17 – 2D диаграмма ординации кишечной микробиоты рыб контрольной и опытных групп, построенная методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1**, **UF_2**, **UF_3** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

Хотя общий результат PERMANOVA ($p = 0,001$) указал на наличие

различий между группами в целом, но post-hoc анализ не позволил выявить статистически значимые различия между отдельными парами. Согласно результатам попарного анализа PERMANOVA с коррекцией на множественные сравнения по методу Бенджамини – Хохберга (FDR), ни одна из сравниваемых пар групп не показывает статистически значимых различий при стандартном уровне значимости $\alpha = 0,05$ возможно, из-за небольшого размера выборки.

Добавление в рацион карпа умбеллиферона привело к существенным изменениям относительного обилия отдельных бактериальных таксонов в микробиоте кишечника карпа (рисунки 18-21).

По сравнению с контрольной группой, в кишечнике двух опытных групп - I и III, наблюдались существенные изменения относительного обилия бактериальных фил. В I опытной группе возросла доля филы *Thermodesulfobacteriota* до 1,09–85,30% (0–2,43% в контроле) и *Actinomycetota* до 0,05–1,66% (0,05–0,17% в контроле) (рисунок 16). Доля филы *Fusobacteriota* снизилась до 4,04–67,66% (46,50–94,74% в контроле). Во II опытной группе существенных изменений не наблюдалось. В III опытной группе возросла доля *Pseudomonadota* до 22,54–55,49% (3,74–37,95% в контроле), *Spirochaetota* до 0,68–42,45% (0,01–8,95% в контроле) и *Thermodesulfobacteriota* до 13,23–45,57% (0–2,43% в контроле). В отдельных образцах появились филы *Chloroflexota* (до 0,31%), *Deinococcota* (до 0,08%), *Мухосoccota* (до 0,09%) и *Patescibacteria* (до 0,12%), отсутствовавшие в контроле. Доля *Fusobacteriota* снизилась до 5,89–41,86% (46,50–94,74% в контроле), а *Bacillota* – до 0,65–3,36% (1,38–8,00% в контроле).



Рисунок 18 – Таксономический состав на уровне фил микробиоты рыб контрольной и опытных групп (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1, UF_2, UF_3** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

На уровне класса в I опытной группе, по сравнению с контрольной группой, возросла доля класса *Desulfovibrionia* до 1,09–85,30% (0–2,43% в контроле), снизилась доля *Fusobacteriia* до 4,04–67,66% (46,50–94,74% в контроле) (рисунок 17). Во II опытной группе существенных изменений не наблюдалось. В III опытной группе возросла доля *Brevinematia* до 0,68–42,45% (0,01–8,95% в контроле) и *Desulfovibrionia* до 13,23–45,57% (0–2,43% в контроле). Снизилась доля *Fusobacteriia* до 5,89–41,86% (46,50–94,74% в контроле) и *Bacilli* до 0,65–3,36% (1,38–8,00% в контроле).

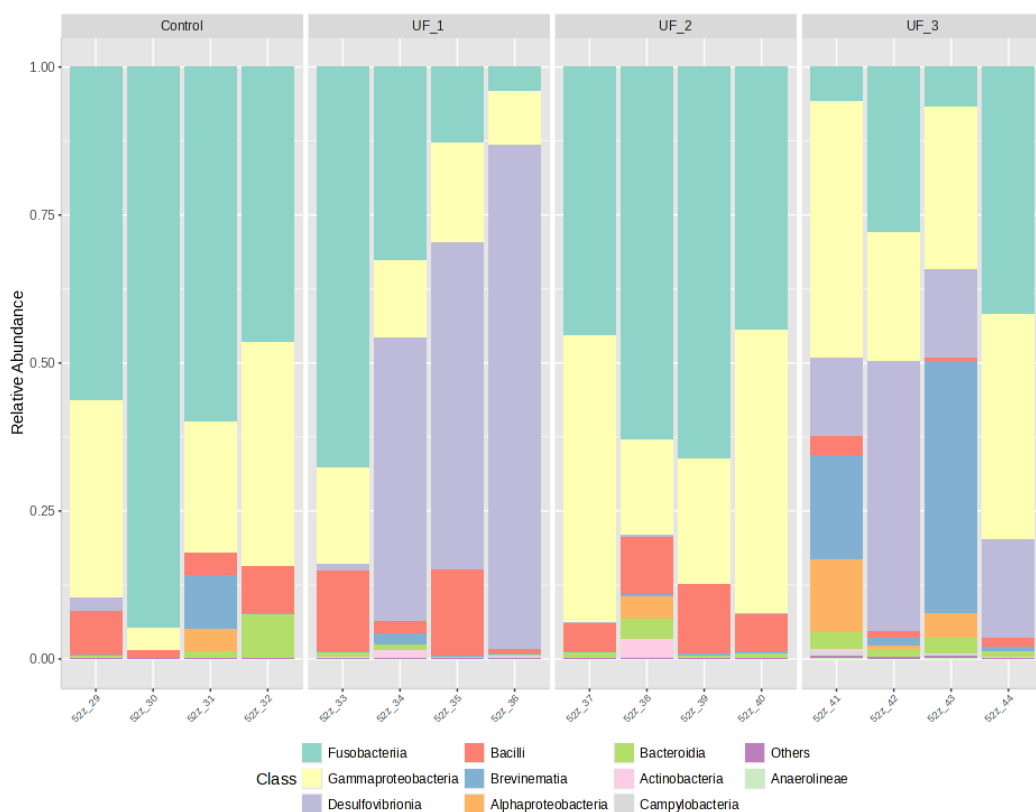


Рисунок 19 – Таксономический состав на уровне классов микробиоты рыб контрольной и опытных групп (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1**, **UF_2**, **UF_3** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

На уровне семейства в I опытной группе существенно возросла доля *Desulfovibrionaceae* до 1,09–85,30% (0–2,43% в контроле) (рисунок 17), снизилась доля *Fusobacteriaceae* до 4,04–67,66% (46,50–94,74% в контроле) и *Spirosomataceae* до 0–0,03% (0–6,35% в контроле), исчезли представители семейства *Neisseriaceae* (0–0,09 в контроле). Во II опытной группе существенных изменений не наблюдалось. В III опытной группе значительно возросла доля *Brevinemataceae* до 0,68–42,45% (0,01–8,95% в контроле), *Desulfovibrionaceae* до 13,23–45,57% (0–2,43% в контроле) и *Azospirillaceae* до 0,02–11,18% (0–0,01% в контроле). Появились *Sphingomonadaceae* (до 0,02–1,21%), *Devosiaceae* (до 0,36%) и *Legionellaceae* (до 0,12–0,31%). Снизилась доля *Fusobacteriaceae* до 5,89–41,86% (46,50–94,74% в контроле), *Erysipelotrichaceae* до 0,41–3,36% (1,38–8,00% в контроле).



Рисунок 20 – Таксономический состав на уровне семейств микробиоты рыб контрольной и опытных групп (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1**, **UF_2**, **UF_3** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

На уровне родов в I опытной группе существенно возросла доля неклассифицированных представителей *Desulfovibrionaceae* до 1,09–85,30% (0–2,43% в контроле), *Legionella* до 0–0,27% (0–0,005% в контроле) (рисунок 18). Снизилась доля *Cetobacterium* до 4,04–67,66% (46,50–94,74% в контроле), *Aeromonas* до 6,77–13,20% (3,19–34,05% в контроле) и неклассифицированных представителей MB19 до 0,05–0,22% (0,31–0,65% в контроле). Исчез род *Emticicia* (0–6,30% в контроле). Во II опытной группе существенных изменений не наблюдалось, за исключением увеличения доли рода *Shewanella* до 1,01–1,66% (0,05–0,71% в контроле). Кроме того, исчез род *Emticicia* (0–6,30% в контроле). В III опытной группе значительно возросла доля *Brevinema* до 0,68–42,45% (0,01–8,95% в контроле), неклассифицированных

представителей *Desulfovibrionaceae* до 13,23–45,57% (0–2,43% в контроле), *Legionella* до 0,01–0,31% (0–0,005% в контроле), *Niveispirillum* до 0,02–4,94% (0–0,01% в контроле), *Flavobacterium* до 0,53–2,66% (0,01–0,58% в контроле). Снизилась доля *Cetobacterium* до 5,89–41,86% (46,50–94,74% в контроле) и *Culicoidibacter* до 0,41–3,36% (1,38–8,00% в контроле). В сообществе появились отсутствующие в контроле *Azospirillum* в доле до 0–6,25% и *Sphingomonas* до 0–1,21%.



Рисунок 21 – Таксономический состав на уровне родов микробиоты рыб контрольной и опытных групп (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1**, **UF_2**, **UF_3** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно).

Методом линейного дискриминантного анализа с оценкой эффекта (LEfSe) таксоны, имеющие статистически значимую разницу в относительном обилии в контрольной и экспериментальных группах карпа, получавших добавки умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма не выявлены.

2.2.1.2.3 Биосистема «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»: зависимость элементного статуса рыбы от видового состава микробиом кишечника

Корреляционный анализ показал, что кишечный микробиом является одним из ключевых факторов, определяющих элементный состав мышечной ткани карпа. В контрольной группе наблюдается сформированная сеть корреляционных взаимосвязей между составом кишечного микробиома и элементным профилем организма рыб (рисунок 22).

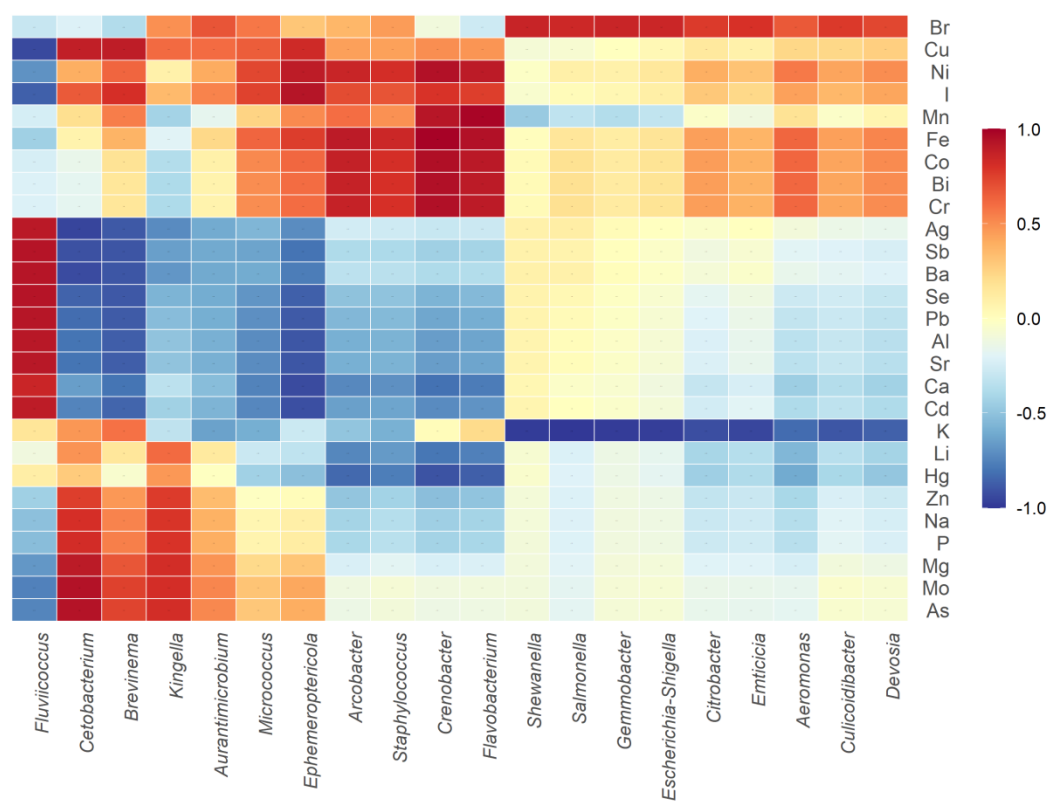


Рисунок 22 - Корреляционные взаимосвязи в контрольной группе

Выраженные положительные корреляции выявлены для представителей *Cetobacterium*, *Aeromonas*, *Shewanella*, *Pseudomonas* и *Flavobacterium*, которые ассоциированы с повышенным содержанием эссенциальных макро- и микроэлементов. Особенно отчетливые положительные связи прослеживаются с железом, цинком, кальцием, калием, магнием и марганцем, что свидетельствует об участии данных микроорганизмов в поддержании

минерального гомеостаза. Представители *Cetobacterium*, являющиеся доминирующими симбионтами кишечника пресноводных рыб, традиционно рассматриваются как бактерии, обеспечивающие синтез витамина B12, образование короткоцепочечных жирных кислот и повышение эффективности усвоения питательных веществ. Благодаря этому их высокая численность закономерно сопровождается более эффективным обменом минеральных веществ.

Положительные взаимосвязи также характерны для *Shewanella* и *Pseudomonas*, способных участвовать в трансформации соединений железа и продукции сидерофоров, регулирующих биодоступность металлов. В то же время, отдельные условно-патогенные представители демонстрируют отрицательные корреляции с рядом элементов, что может отражать конкурентные отношения внутри микробного сообщества и различия в метаболических стратегиях отдельных таксонов. Контрольная группа характеризуется сбалансированной корреляционной структурой, отражающей естественные взаимодействия между кишечной микробиотой и обменом химических элементов.

После введения умбеллиферона в дозе 1,0 мг/кг происходит заметная перестройка корреляционной структуры. Количество выраженных положительных взаимосвязей возрастает, а сами корреляции становятся более однородными (рисунок 23).

Наиболее тесные положительные корреляции наблюдаются у *Cetobacterium*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* и *Rheinheimera*. Эти микроорганизмы демонстрируют сильную связь с содержанием железа, кальция, магния, цинка, калия, натрия и марганца. Известно, что умбеллиферон обладает антиоксидантной и антикворумной активностью. Подавляя системы *quorum sensing*, он ограничивает развитие конкурентоспособных условно-патогенных бактерий и способствует сохранению метаболически активных симбионтов. Этим объясняется

усиление положительных корреляций между полезной микрофлорой и элементарным обменом.

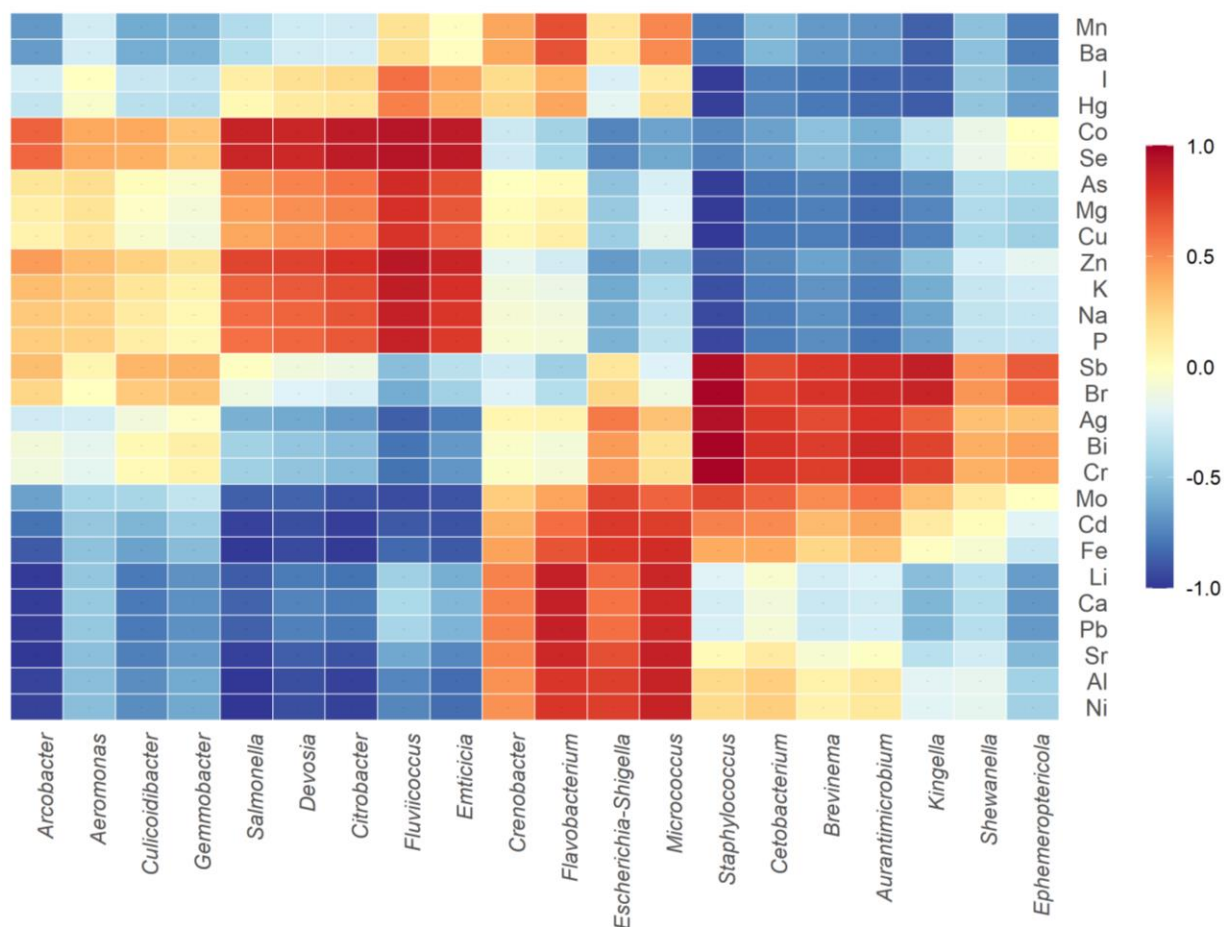


Рисунок 23 - Корреляционные взаимосвязи в I опытной группе

Одновременно уменьшается число отрицательных взаимосвязей, а их интенсивность становится значительно ниже, чем в контроле, что свидетельствует о стабилизации микробного сообщества.

Добавление умбеллиферона в дозе 1,0 мг/кг способствует усилению функциональных взаимосвязей между кишечной микробиотой и минеральным обменом, сохраняя при этом высокую устойчивость микробного сообщества.

При увеличении дозы до 2,0 мг/кг корреляционная сеть становится максимально организованной. Большинство бактерий демонстрируют сильные положительные связи с эссенциальными элементами (рисунок 24).

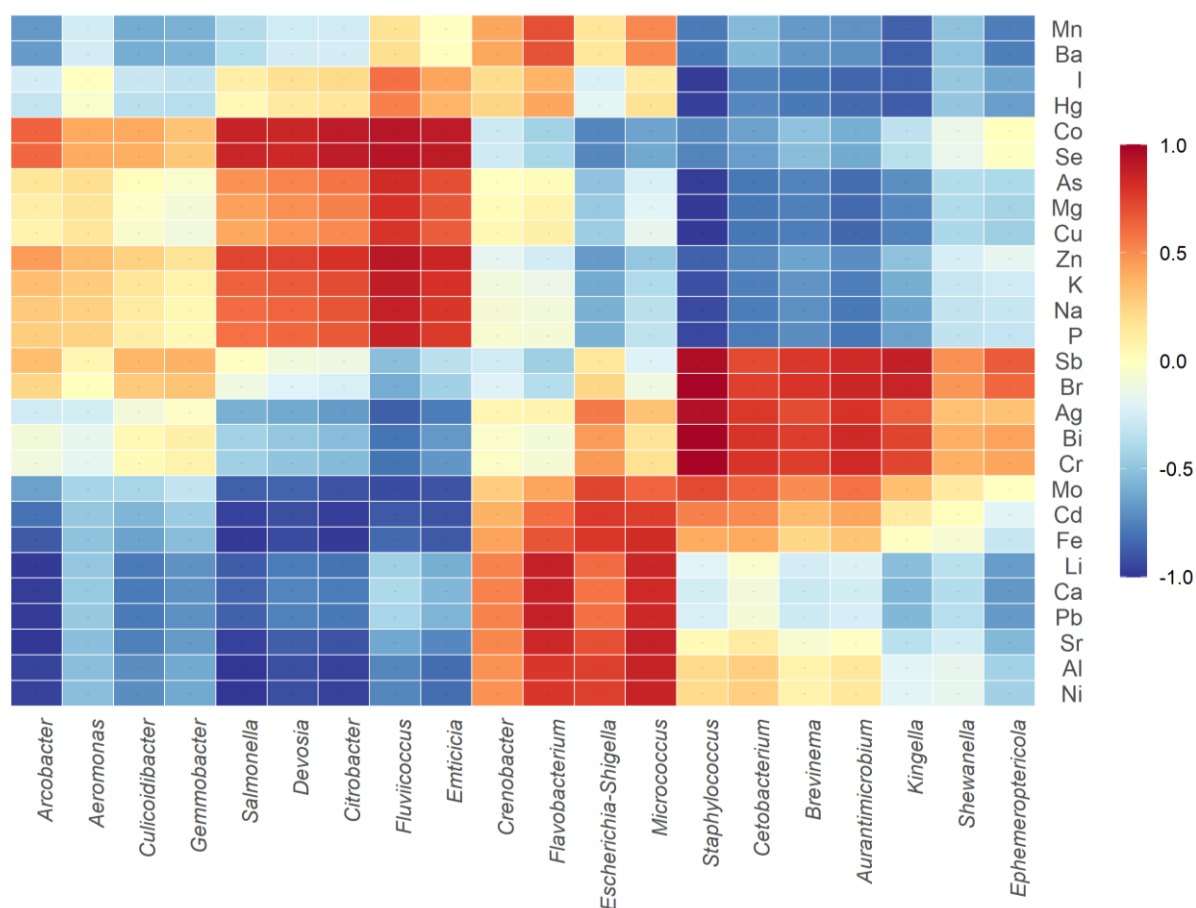


Рисунок 24 - Корреляционные взаимосвязи в II опытной группе

Наиболее выраженные корреляции характерны для *Cetobacterium*, *Flavobacterium*, *Shewanella*, *Chryseobacterium*, *Aeromonas*, *Rheinheimera* и *Pseudomonas* с железом, цинком, кальцием, магнием, марганцем, калием, натрием и фосфором.

Одновременно существенно уменьшается число отрицательных корреляций. Они сохраняются преимущественно для отдельных условно-патогенных микроорганизмов и касаются токсичных элементов, что может свидетельствовать об ограничении их участия в процессах накопления тяжелых металлов. Полученные результаты хорошо согласуются с современными представлениями о биологической активности кумаринов. Умбеллиферон способен регулировать межбактериальную коммуникацию, снижать вирулентность потенциальных патогенов, уменьшать выраженность воспалительных процессов и создавать условия для формирования

стабильного симбиотического сообщества. Дозировка 2,0 мг/кг обеспечивает наиболее благоприятную организацию корреляционной сети между кишечным микробиомом и элементным составом организма, что свидетельствует о наиболее эффективной функциональной перестройке микробиоценоза.

При дальнейшем увеличении дозировки до 3,0 мг/кг структура корреляций вновь изменяется. Несмотря на сохранение большого количества положительных взаимосвязей, их распределение становится менее равномерным (рисунок 25).

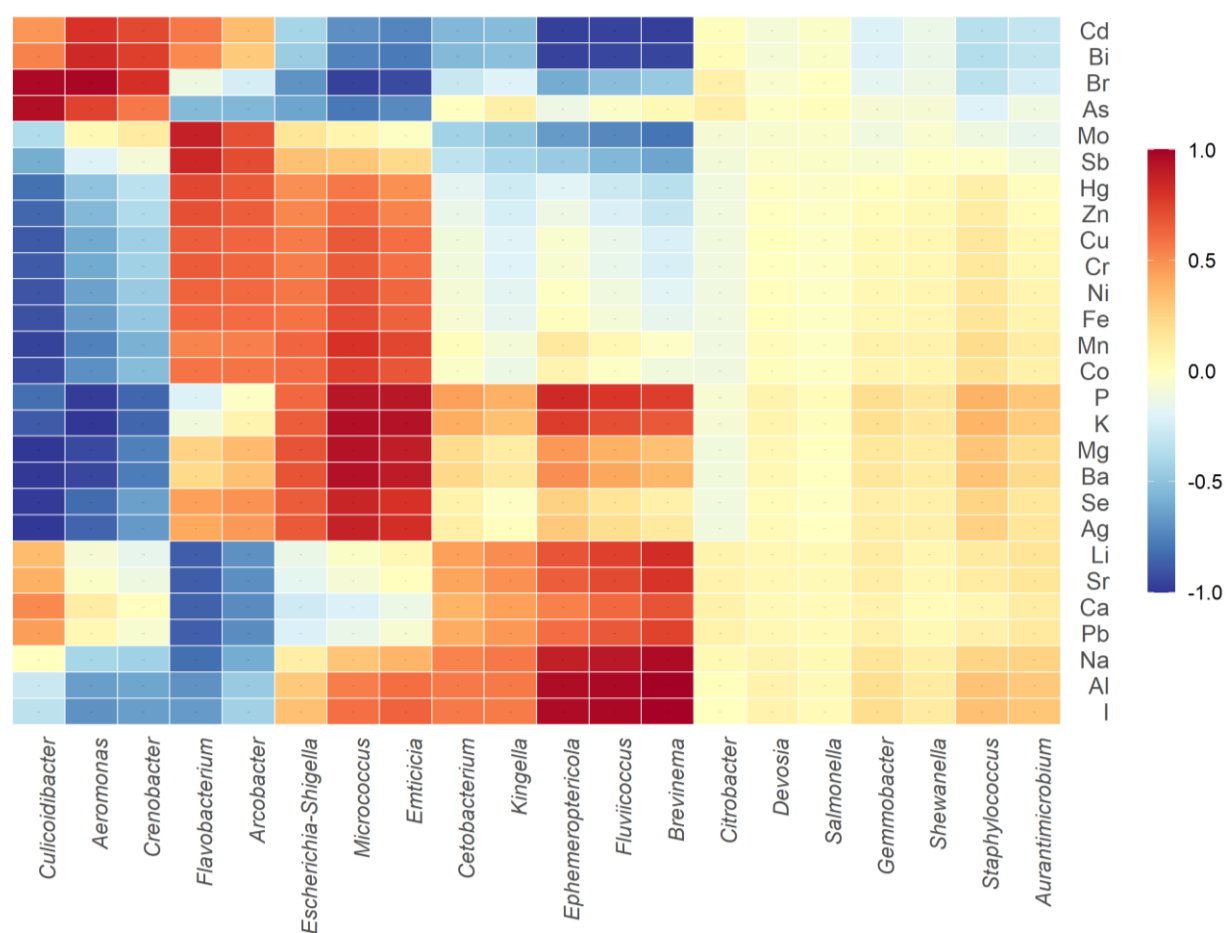


Рисунок 25 - Корреляционные взаимосвязи в III опытной группе

Выраженные положительные корреляции сохраняются у *Cetobacterium*, *Shewanella*, *Flavobacterium* и *Pseudomonas*. При этом, для других бактерий наблюдается ослабление взаимосвязей либо появление отрицательных корреляций с отдельными микро- и макроэлементами. Отрицательные

взаимосвязи становятся более выраженными для некоторых условно-патогенных представителей микробиоты, что говорит о перестройке микробного сообщества в ответ на более высокую концентрацию умбеллиферона. Подобный эффект соответствует литературным данным, согласно которым повышение концентрации кумаринов может усиливать селективное давление на кишечную микробиоту и изменять межвидовые взаимодействия.

Несмотря на это, ключевые симбиотические бактерии сохраняют устойчивые положительные связи с железом, кальцием, магнием, калием и цинком, подтверждая сохранение их ведущей роли в регуляции минерального обмена. Умбеллиферон в дозировке 3,0 мг/кг сохраняет положительное влияние на функциональную организацию микробиома, однако дальнейшее увеличение дозировки сопровождается частичной перестройкой корреляционной сети и появлением признаков селективного воздействия на отдельные бактериальные таксоны.

Общая корреляционная матрица между исследуемыми группами показана в таблице 14.

Корреляционный анализ показал, что кишечный микробиом является одним из ключевых факторов, определяющих элементный состав мышечной ткани карпа. Наиболее выраженные положительные связи с эссенциальными элементами выявлены для рода *Citrobacter*: с P ($r = 0,729$), K ($r = 0,723$), Se ($r = 0,723$) и Mg ($r = 0,632$). Род *Shewanella* также продемонстрировал тесную положительную корреляцию с Ni ($r = 0,628$), Co ($r = 0,587$), Mn ($r = 0,580$), Cu ($r = 0,568$), Cr ($r = 0,540$) и Fe ($r = 0,503$), тогда как *Aeromonas* положительно коррелировал с Ni ($r = 0,577$), Cr ($r = 0,551$), Fe ($r = 0,543$), Co ($r = 0,538$) и Cu ($r = 0,528$).

Напротив, *Cetobacterium* чаще встречается там, где этих элементов меньше. Для нее характерны отрицательные связи с Fe ($r = -0,537$), Pb ($r = -0,525$), Cu ($r = -0,521$), Ni ($r = -0,520$), Co ($r = -0,517$) и Cr ($r = -0,514$). Наиболее сильные отрицательные корреляции выявлены *Emticicia* по Hg ($r = -$

0,992) и Mg ($r = -0,700$), а также *Niveispirillum* по Hg ($r = -0,890$), Mg ($r = -0,650$), P ($r = -0,462$) и K ($r = -0,445$).

Таблица 14 - Корреляции между родами микробиома и дополнительными элементами мышечной ткани

Элементы	Таксоны									
	Aeromonas	Cetobacterium	Culicoidibacter	Cellvibrio	Emticia	Citrobacter	Shewanella	Niveispirillum	Vibrio	Flavobacterium
Li	-0.13	-0.16	0.55	0.04	-0.02	0.14	0.01	0.33	-	-0.12
Na	0.16	-0.36	0.29	0.31	-0.28	0.53	0.41	-0.15	-	0.47
Mg	-0.23	0.12	0.14	0.14	-0.70	0.63	-0.04	-0.65	-	-0.01
Al	0.40	-0.22	-0.16	0.22	-0.04	-0.32	0.10	0.13	-	-0.22
P	-0.15	0.05	0.03	0.24	-0.54	0.73	0.12	-0.46	-	0.30
K	-0.24	0.19	-0.11	0.21	0.50	0.72	0.02	-0.45	-	0.24
Ca	-0.03	-0.20	0.42	-0.02	-0.08	0.08	0.25	0.22	-	0.45
Mn	0.52	-0.50	0.19	0.24	-0.34	-0.28	0.58	-0.38	-	0.23
Co	0.54	-0.52	0.18	0.25	-0.33	-0.26	0.59	-0.37	-	0.24
Ni	0.58	-0.52	0.12	0.33	-0.33	-0.30	0.63	-0.38	-	0.21
Cu	0.53	-0.52	0.17	0.27	-0.31	-0.13	0.57	-0.30	-	0.28
Se	0.25	-0.38	0.25	-0.17	-0.14	0.72	-0.16	-0.08	-	0.20
Cd	0.39	-0.34	0.05	-0.06	0.18	-0.22	0.31	-0.15	-	0.45
I	-0.02	-0.40	0.86	-0.07	-0.29	0.41	0.06	-0.18	-	-0.03
Hg	-0.13	0.14	0.06	0.13	-0.99	0.21	0.15	-0.89	-	0.15
Pb	0.20	-0.53	0.83	-0.18	-0.13	0.10	0.02	0.01	-	-0.10
Cr	0.55	-0.51	0.15	0.20	-0.28	-0.26	0.54	-0.31	-	0.23
Fe	0.54	-0.54	0.22	0.16	-0.26	-0.22	0.51	-0.27	-	0.20
Zn	0.01	-0.20	0.30	-0.08	-0.18	0.38	0.18	-0.07	-	0.47
As	-0.21	0.16	-0.02	0.33	0.44	0.23	0.30	-0.42	-	0.33

2.2.1.2.4 Резюме по итогам второго эксперимента первого этапа исследований

Включение вещества ингибитора кворум сенсинг бактерий - умбеллиферона в рацион карпа в дозах 1 и 2 мг/кг корма способствовало увеличению интенсивности роста рыб, а также сопровождалось повышением показателей иммунной и антиоксидантной защиты организма. Вместе с тем действие умбеллиферона носило дозозависимый характер. При увеличении дозировки наблюдались неблагоприятные изменения морфологических и биохимических показателей крови.

Анализ элементного состава мышечной ткани карпа показал накопление макро- и микроэлементов, участвующих в процессах антиоксидантной защиты, энергетического обмена и кроветворения. Наиболее выраженные изменения зафиксированы во II и III опытных группах, что подтверждает дозозависимый эффект веществ антикворум. Наиболее эффективной оказалась дозировка 1 мг/кг корма, использованная в I опытной группе. Она обеспечила повышение содержания железа, меди, марганца, кобальта, никеля и хрома без признаков токсического воздействия.

Во II опытной группе было отмечено значительное накопление эссенциальных элементов. Вероятно, это привело к повышенной нагрузке на метаболические системы организма, включая подавление активности кишечной микробиоты. В этой группе показатели альфа- и бета-разнообразия микробного сообщества оказались минимальными.

Установлено, что применение веществ антикворум в дозировке 1 мг/кг корма стимулирует рост и метаболическую активность кишечных микроорганизмов. Корреляционный анализ показал, что введение умбеллиферона существенно изменяет характер взаимосвязей между кишечной микробиотой и элементным составом организма рыб. Во всех опытных группах усиливаются положительные корреляции между доминирующими симбиотическими бактериями (*Cetobacterium*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*) и эссенциальными макро- и микроэлементами, что свидетельствует об улучшении функциональной интеграции микробного сообщества с обменными процессами организма. Наиболее выраженный эффект наблюдается при дозировке 2,0 мг/кг, где формируется наиболее согласованная корреляционная сеть. При увеличении дозировки до 3,0 мг/кг сохраняется положительное действие умбеллиферона, однако появляются признаки селективной перестройки микробиома.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что изменение структуры кишечного микробиома сопровождается закономерной перестройкой элементного профиля тканей, поскольку микроорганизмы

участвуют в процессах мобилизации, трансформации и усвоения минеральных веществ. Следовательно, именно микробиота кишечника выступает первичным регулятором элементного гомеостаза, а изменения концентрации макро- и микроэлементов в мышечной ткани являются отражением происходящих в микробиоценозе процессов. Это подтверждает ключевую роль кишечного микробиома в поддержании метаболического статуса рыб и открывает перспективы целенаправленной коррекции минерального обмена посредством управления составом микробного сообщества.

2.2.1.3 Результаты III эксперимента первого этапа исследований по оценке биологической системы «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»

2.2.1.3.1 Адаптация *Cyprinus carpio*

Организм карпа хорошо адаптировался к действию оцениваемых веществ, что выражалось в том числе в повышении интенсивности роста рыбы. В частности, динамика живой массы карпа демонстрирует значительный прирост в III опытной группе, начиная с второй недели: на 8,1% ($P \leq 0,05$), на третьей неделе – на 7,5% ($P \leq 0,05$), на четвертой – на 12,9% ($P \leq 0,05$), на пятой – 13,9% ($P \leq 0,051$), на шестой – на 15,3% ($P \leq 0,01$), на седьмой – на 23,5% ($P \leq 0,01$) и восьмой неделе – на 23,7% ($P \leq 0,001$). В то время как в II группе прирост живой массы был отмечен на седьмой и восьмой неделях – на 5,8% ($P \leq 0,05$) и 3,8% ($P \leq 0,05$), соответственно (таблица 15).

В рамках исследования влияния комплекса добавок из НЧ Fe и веществ анти кворум на биосистему «микробиом-организм хозяина *Cyprinus carpio*» установлен факт увеличения содержания эритроцитов в крови рыбы I опытной группы на 110,1% ($P \leq 0,001$), относительно контроля. Уровень гемоглобина достоверно увеличен на 32,8% ($P \leq 0,001$) во II опытной группе – на

26,3%($P \leq 0,001$), а гематокрита – на 110,7%($P \leq 0,001$) в I опытной группе и на 35,1%($P \leq 0,01$) в II опытной группе (таблица 16).

Таблица 15 - Динамика живой массы карпа, г/особь

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	31,3 ± 1,59	32,1 ± 1,95	32,1 ± 1,49	32,1 ± 1,52
1	35,6 ± 1,07	35,7 ± 0,89	36,9 ± 1,67	37,2 ± 1,13
2	39,6 ± 1,33	39,7 ± 1,11	40,9 ± 1,51	42,8 ± 2,28*
3	47,9 ± 1,88	46,3 ± 2,11	49,7 ± 1,61	51,5 ± 1,96*
4	51,0 ± 1,74	51,2 ± 3,32	53,8 ± 2,87	57,6 ± 4,12*
5	58,3 ± 2,05	58 ± 3,45	61,4 ± 2,81	66,4 ± 4,42**
6	66,7 ± 2,36	65,2 ± 3,56	69,2 ± 3,42	76,9 ± 3,71**
7	75,8 ± 2,11	75,8 ± 3,72	80,2 ± 3,56*	93,6 ± 4,07**
8	94,9 ± 3,12	96,2 ± 4,13	98,5 ± 2,93*	117,4 ± 5,93***

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Таблица 16 - Морфологический состав крови карпа, ($M \pm m$)

Показатель	Группа			
	Контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	0,69 ± 0,035	1,45 ± 0,09***	0,62 ± 0,07	0,65 ± 0,065
Гемоглобин, г/л	138 ± 5,57	183,3 ± 6,11***	174,3 ± 5,51***	153 ± 9,02
Лейкоциты, $10^9/л$	108 ± 6,0	110,6 ± 6,51	110,7 ± 8,5	111 ± 6,03
Гематокрит, %	13,1 ± 0,97	27,6 ± 2,0***	17,7 ± 2,1**	15,7 ± 2,52

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Анализ биохимического профиля сыворотки крови карпа показал неоднородную динамику показателей (таблица 17). Так, уровень глюкозы был достоверно снижен в II опытной группе на 22,5% ($P \leq 0,01$). Содержание общего белка зафиксировали на 12,1% ($P \leq 0,05$) выше контрольной в I группе. Уровень альбумина понижался в III группе на 19,7% ($P \leq 0,05$). Показатель аланинаминотрансферазы (АЛТ) показал следующую динамику: снижение уровня фермента в сыворотке крови I опытной группы на 14,3% ($P \leq 0,05$) и повышение в II и III опытных группах – на 17,3% ($P \leq 0,05$) и на 35,2% ($P \leq 0,01$), соответственно. Аспаратаминотрансфераза (АСТ) в значительной мере

снижена в сыворотке крови особей II и III опытных групп на 48,2% ($P \leq 0,01$) и 47,2% ($P \leq 0,01$), соответственно. Уровень билирубина достоверно снижен только в I опытной группе на 63,8% ($P \leq 0,001$). Содержание холестерина было ниже контрольной группы в II группе на 32,5% ($P \leq 0,01$) и в III группе – на 55% ($P \leq 0,001$). В III группе зафиксировали снижение триглицеридов на 40,6% ($P \leq 0,05$), креатинина – на 15,1% ($P \leq 0,05$), и мочевой кислоты – на 28,1% ($P \leq 0,05$), относительно контроля.

Таблица 17 - Биохимический состав сыворотки крови карпа, ($M \pm m$)

Показатель	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Глюкоза, ммоль/л	$4 \pm 0,19$	$4 \pm 0,39$	$3,1 \pm 0,05^{**}$	$3,4 \pm 0,36$
Общий белок, г/л	$21 \pm 1,8$	$24,6 \pm 0,91^*$	$22,9 \pm 1,98$	$19,1 \pm 0,86$
Альбумин, г/л	$18,3 \pm 0,58$	$17 \pm 1,73$	$15,7 \pm 2,08$	$14,7 \pm 1,15^*$
АЛТ, Ед/л	$30,1 \pm$	$25,8 \pm 1,89^*$	$35,3 \pm 2,19^*$	$40,7 \pm 3^{**}$
АСТ, Ед/л	$478 \pm 22,07$	$437,3 \pm 21,13$	$247,4 \pm 36,94^{**}$	$252,4 \pm 15,37^{***}$
Билирубин общий, мкмоль/л	$1,63 \pm 0,12$	$0,59 \pm 0,069^{***}$	$1,19 \pm 0,25$	$1,53 \pm 0,223$
Холестерин, ммоль/л	$4,0 \pm 0,14$	$3,5 \pm 0,46$	$2,7 \pm 0,43^{**}$	$1,8 \pm 0,32^{***}$
Триглицериды, ммоль/л	$2,34 \pm 0,226$	$2,45 \pm 0,269$	$1,39 \pm 0,352^*$	$1,98 \pm 0,191$
Мочевина, ммоль/л	$3,57 \pm 0,306$	$3,3 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,592$	$3,8 \pm 0,436$
Креатинин, мкмоль/л	$18,5 \pm 0,954$	$20,4 \pm 1,908$	$15,7 \pm 0,755^*$	$16,1 \pm 0,603^*$
Мочевая кислота, мкмоль/л	$28,5 \pm 2,72$	$27,9 \pm 2,23$	$20,5 \pm 3,195^*$	$25,1 \pm 1,305$
Железо, ммоль/л	$3,0 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,21$	$3,2 \pm 0,35$
Кальций, ммоль/л	$1,83 \pm 0,116$	$1,93 \pm 0,232$	$1,99 \pm 0,25$	$2,36 \pm 0,209^*$
Фосфор, ммоль/л	$3,6 \pm 0,34$	$4,4 \pm 0,45$	$3,2 \pm 0,34$	$3,5 \pm 0,17$

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Анализ динамики минеральных веществ в мышечной ткани карпа при включении в рацион НЧ Fe и веществ анти кворум показал следующую картину (таблица 18). Так, среди макроэлементов достоверное снижение уровня фиксировали в отношении натрия – на 13,2% ($P \leq 0,05$) в II группе и на 8,5% ($P \leq 0,05$), в III группе, магния – на 12,3% ($P \leq 0,01$) в II группе и на

8,9%($P \leq 0,05$), калия – на 11,8%($P \leq 0,05$) в II группе, а также повышение уровня кальция на 59,9%($P \leq 0,01$) в III опытной группе.

Таблица 18 – Содержание макроэлементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Na	2333,7±112,17	2493,0±67,22	2024,7±70,07*	2135,0±22,91*
Mg	1269,0±50,48	1205,0±45,21	1113,3±26,95**	1155,7±11,5*
P	9372,7±303,33	9107,7±520,06	9026,3±477,74	9297,3±147,994
K	14734,7±646,18	13858,0±522,88	12999,0±303,14*	13916,3±78,27
Ca	1483,7±107,56	2049,3±461,73	2563,3±667,5	2373,7±279,15**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Содержание кобальта было превышено в II группе на 42,9%($P \leq 0,05$), молибдена – на 25%($P \leq 0,05$) в I группе, а меди – снижено на 13,9%($P \leq 0,05$) в III группе (таблица 19).

Таблица 19 – Содержание микроэлементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Li	0,014±0,003	0,065±0,081	0,02±0,007	0,012±0,004
Mn	1,333±0,376	1,753±0,165	1,638±0,205	1,072±0,02
Co	0,021±0,005	0,028±0,005	0,03±0,001*	0,017±0,001
Ni	0,117±0,048	0,134±0,046	0,109±0,024	0,039±0,009
Cu	2,09±0,137	2,1±0,073	2,03±0,044	1,8±0,036*
Se	0,85±0,071	0,97±0,028	0,87±0,014	0,86±0,035
Mo	0,028±0,003	0,035±0,003*	0,029±0,003	0,025±0,003
I	0,76±0,046	1,78±1,693	0,62±0,055*	0,503±0,065**

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Уровень токсических элементов в мышечной ткани карпа был следующим: содержание стронция был превышен в II группе на 94,3% ($P \leq 0,05$) и на 75%($P \leq 0,01$) в III группе, серебра – на 56%($P \leq 0,01$) в I группе и на 84%($P \leq 0,01$) в II группе выше относительно контроля. Концентрация бария была выше контрольной во всех опытных группах – на 21,1%($P \leq 0,05$) в I

группе, на 42,1%($P \leq 0,05$) в II группе и на 15,8%($P \leq 0,05$) в III группе. Уровень ртути был достоверно снижен на 58,3%($P \leq 0,05$) (таблица 20).

Таблица 20 – Содержание токсических элементов в мышечной ткани карпа

Элемент	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Al	11,35±4,136	8,49±1,489	9,91±2,286	5,96±1,03
Sr	2,28±0,207	3,52±0,824	4,43±1,254*	3,99±0,465**
Ag	0,75±0,053	1,17±0,142**	1,38±0,135**	1,08±0,319
Cd	0,002±0,0	0,002±0,001	0,001±0,001	0,002±0,0
Sb	0,003±0,002	0,002±0,0	0,003±0,0	0,002±0,0
Ba	0,19±0,011	0,23±0,019*	0,27±0,033*	0,22±0,012*
Hg	0,277±0,013	0,318±0,008**	0,28±0,002	0,226±0,0**
Tl	0,001±0,0	0,001±0,0	0,001±0,0	0,001±0,0
Pb	0,024±0,007	0,015±0,003	0,017±0,002	0,01±0,001*
Bi	0,002±0,001	0,002±0,001	0,002±0,0	0,001±0,001
As	0,038±0,008	0,037±0,008	0,037±0,007	0,027±0,007

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

2.2.1.3.2 Микробиом кишечника *Cyprinus carpio*

Оценка действия исследуемых факторов на биосистему «микробиом-организм хозяина *Cyprinus carpio*» не выявила существенных изменений индексов разнообразия кишечной микробиоты Шеннона (рисунок 26) и Симпсона (рисунок 27) по сравнению с контролем.

Анализ бета-разнообразия кишечной микробиоты карпа методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса не показал статистически значимых различий между контрольными образцами кишечной микробиоты и образцами опытных групп рыб (рисунок 28).

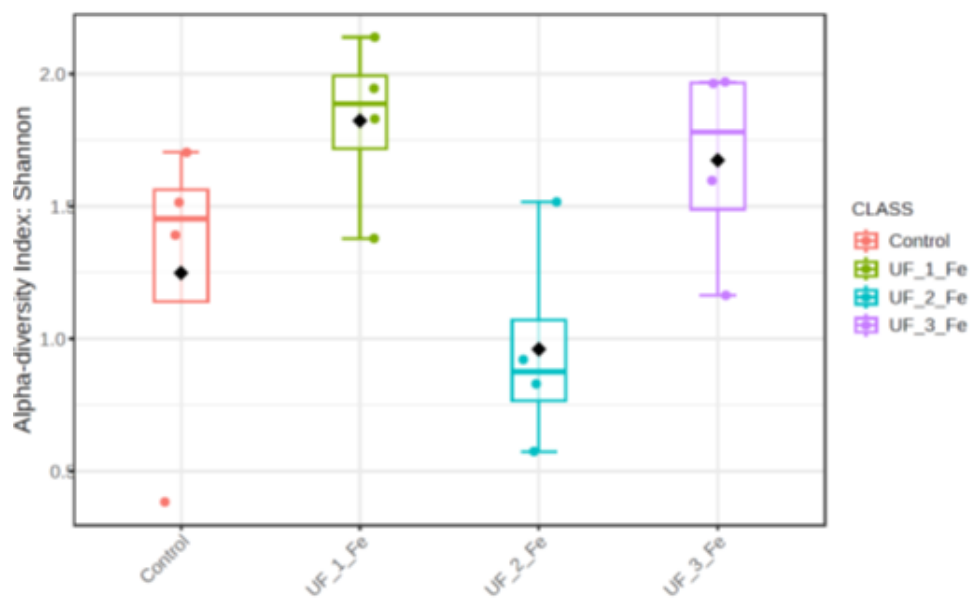


Рисунок 26 – Индекс разнообразия Шеннона кишечной микробиоты рыб (Control – контрольная группа; опытные группы: UF_1_Fe, UF_2_Fe, UF_3_Fe – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

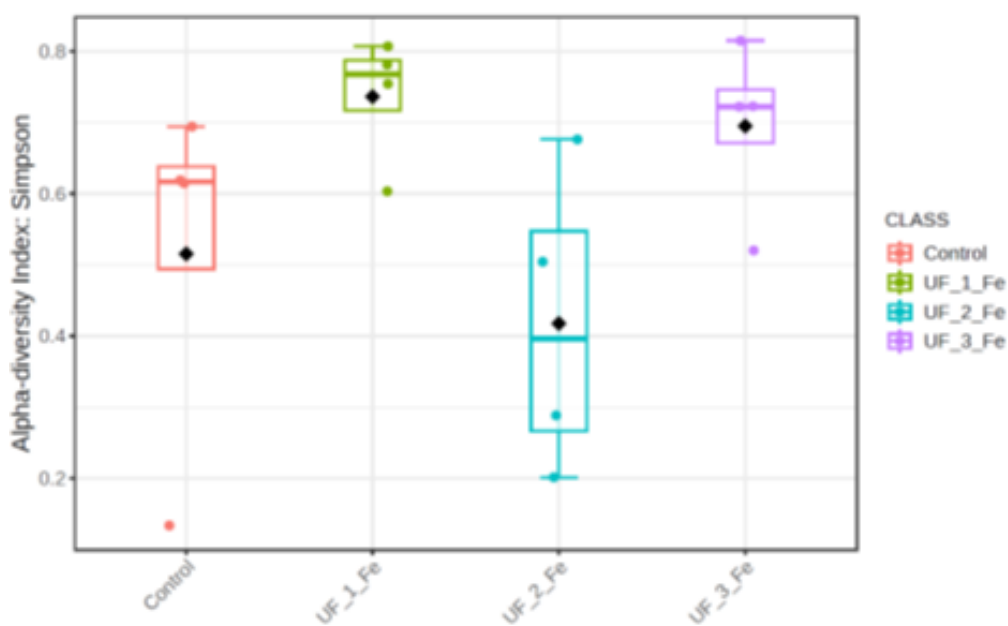


Рисунок 27 – Индекс разнообразия Симпсона кишечной микробиоты рыб (Control – контрольная группа; опытные группы: UF_1_Fe, UF_2_Fe, UF_3_Fe – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

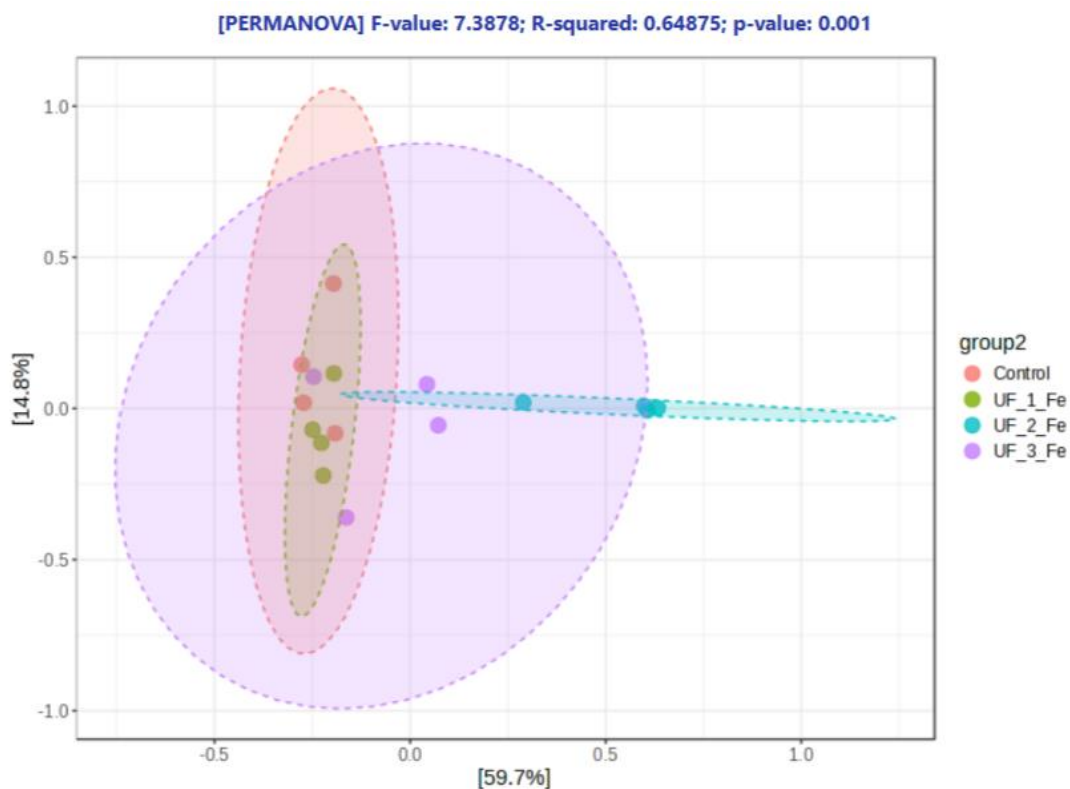


Рисунок 28 – 2D диаграмма ординации кишечной микробиоты рыб, построенная методом главных координат на основе дистанций Брея-Кёртиса (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

Добавление в рацион карпа умбеллиферона и наночастиц железа привело к существенным изменениям соотношений бактериальных таксонов в микробиоте кишечника карпа на таксономических уровнях филы, класса, семейства и рода (рисунки 29-32).

По сравнению с контрольной группой, в каждой из опытных групп наблюдались существенные изменения относительного обилия бактериальных фил (рисунок 29).

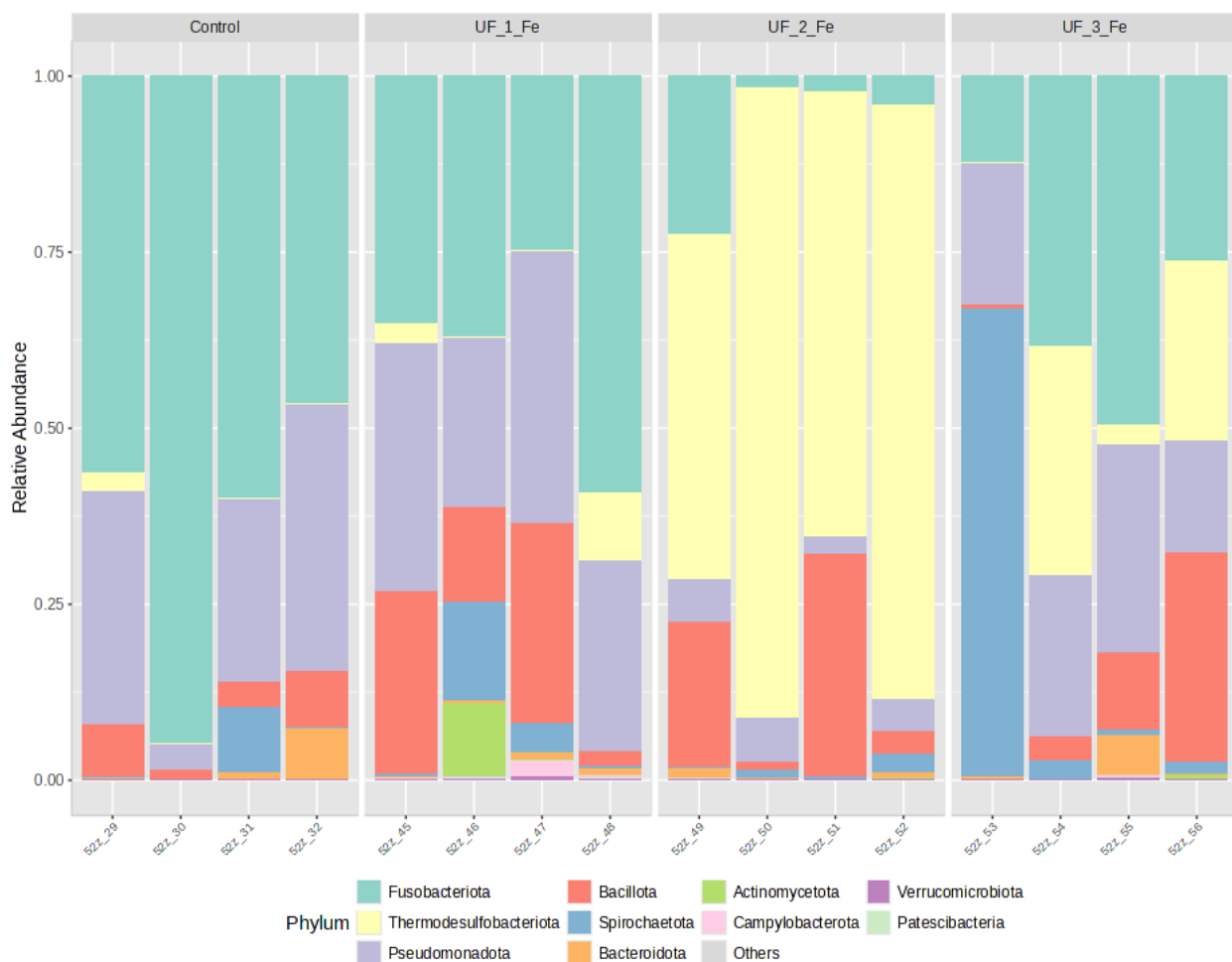


Рисунок 29 – Таксономический состав на уровне фил микробиоты рыб (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

В I опытной группе возросла доля фил *Actinomycetota* до 0,05–10,57% (0,05–0,17% в контроле), *Bacillota* до 2,24–28,52% (1,38–8,00% в контроле). При этом снизилась доля *Fusobacteriota* до 24,80–59,24% (46,50–94,74% в контроле). Во II опытной группе возросла доля *Bacillota* до 1,22–31,89% (1,38–8,00% в контроле) и *Thermodesulfobacteriota* до 48,82–89,27% (0–2,43% в контроле). В некоторых образцах появились филы *Patescibacteria* (до 0,08%) и *Chloroflexota* (до 0,13%). Снизилась доля *Fusobacteriota* до 1,76–22,48% (46,50–94,74% в контроле) и *Pseudomonadota* до 2,44–6,25% (3,74–37,95% в контроле). В опытной группе увеличилась доля *Spirochaetota* до 0,46–66,25% (0,01–8,95% в контроле) и *Thermodesulfobacteriota* до 0,08–32,24% (0–2,43% в

контроле), снизилась доля *Fusobacteriota* до 12,23–49,61% (46,50–94,74% в контроле). Появились отсутствующие в контроле *Patescibacteria* (0,03–0,12%).

На уровне классов в I опытной группе возросла доля *Bacilli* до 2,24–28,52% (1,38–8,00% в контроле) и снизилась доля *Fusobacteriia* до 24,80–59,24% (46,50–94,74% в контроле) (рисунок 30). Во II опытной группе возросла доля класса *Desulfovibrionia* до 48,82–89,27% (0–2,43% в контроле), в двух образцах резко возросла доля *Bacilli* до 20,69–31,89% (1,38–8,00% в контроле). Кроме того, снизилась доля *Fusobacteriia* до 1,76–22,48% (46,50–94,74% в контроле) и *Gamma proteobacteria* до 2,39–5,91% (3,73–37,79% в контроле). Появился отсутствующий в контроле класс *Anaerolineae* (до 0,13%).

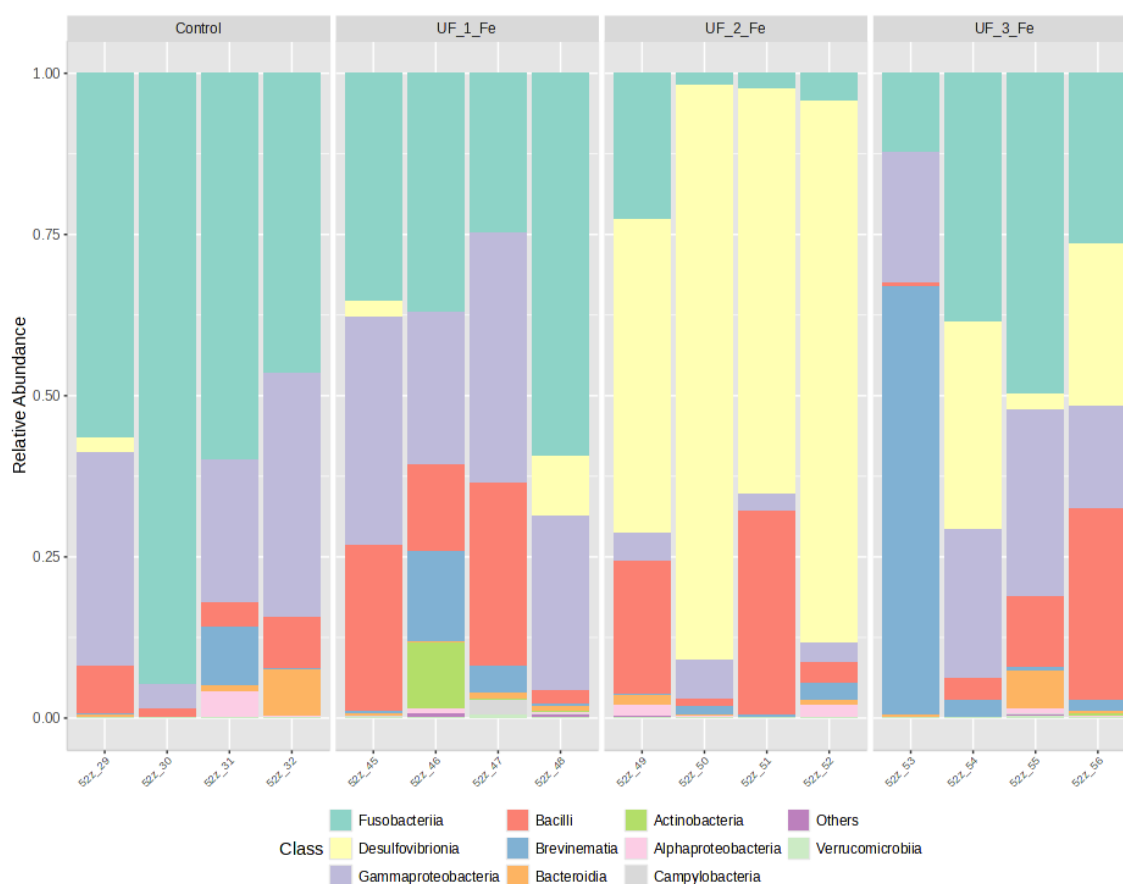


Рисунок 30 – Таксономический состав на уровне классов микробиоты рыб (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

В III опытной группе возросла доля *Brevinematia* до 0,46–66,25% (0,01–8,95% в контроле), *Desulfovibrionia* до 0,08–32,24% (0–2,43% в контроле). Снизилась доля *Fusobacteriia* до 12,23–49,61% (46,50–94,74% в контроле). Появился класс *Saccharimonadia* (0,03–0,11% в контроле).

На уровне семейства в I опытной группе существенно возросла доля *Erysipelotrichaceae* до 2,23–28,52% (1,38–8,00% в контроле), *Desulfovibrionaceae* до 0,02–9,47% (0–2,43% в контроле), снизилась доля *Fusobacteriaceae* до 24,80–59,24% (46,50–94,74% в контроле) (рисунок 31).

Появилось семейство *Weeksellaceae* в доле 0,09–0,33% (0–0,02% в контроле), в 3-х из 4-х образцов появились отсутствующие в контроле семейства *Rubritaleaceae* в доле 0,05–0,46% и *Saprospiraceae* в доле 0,01–0,27%. Во II опытной группе значительно возросла доля *Desulfovibrionaceae* до 48,82–89,27% (0–2,43% в контроле). Появилось семейство *Xanthobacteraceae* (0,04–0,39%), в 3-х из 4-х образцов появились отсутствующие в контроле семейства *Sphingomonadaceae* в доле 0,23–0,59% и неклассифицированные представители *Ardenticatenales* в доле 0,04–0,13%. При этом снизилась доля *Fusobacteriaceae* до 1,76–22,48% (46,50–94,74% в контроле), *Aeromonadaceae* до 2,23–4,38% (3,19–34,99% в контроле), *Microbacteriaceae* до 0–0,06% (0,05–0,17% в контроле) и MB19 до 0–0,03% (0,31–0,65% в контроле). В III опытной группе возросла доля *Desulfovibrionaceae* до 0,08–32,24% (0–2,43% в контроле), появилось неклассифицируемое семейство порядка *Saccharimonadales* (0,03–0,11%). Снизилась доля *Fusobacteriaceae* до 12,23–49,61% (46,50–94,74% в контроле), исчезли *Microbacteriaceae* (0,05–0,17% в контроле) и *Anaplasmataceae* (0–0,20% в контроле).

На уровне родов в I опытной группе существенно возросла доля *Culicoidibacter* до 2,23–28,52% (1,38–8,00% в контроле) и *Ephemeropterocola* до 0,09–1,20% (0–0,05% в контроле) (рисунок 32). В 3-х из 4-х образцов появились отсутствующие в контроле род *Luteolibacter* в доле 0,05–0,46% и неклассифицированный представитель *Saprospiraceae* в доле 0,01–0,27%. При этом снизилась доля *Cetobacterium* до 24,80–59,24% (46,50–94,74%).



Рисунок 31 – Таксономический состав на уровне семейств микробиоты рыб (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

Во II опытной группе значительно возросла доля неклассифицированных представителей *Desulfovibrionaceae* до 48,82–89,27% (0–2,43% в контроле), появился род *Ancylobacter* в доле 0,04–0,35%. При этом снизилась доля *Cetobacterium* до 1,76–22,48% (46,50–94,74% в контроле), *Aeromonas* до 2,09–4,38% (3,19–34,99% в контроле), *Aurantimicrobium* до 0–0,6% (0,05–0,17% в контроле). Род *Emticicia* остался только в одном образце в доле 0,005% (0,16–6,30% в контроле в 3-х из 4-х образцов). В III опытной группе существенно возросла доля *Pseud aeromonas* до 0,80–2,08% (0–0,85% в контроле). В 3-х из 4-х образцов появились новые доминанты: *Brevinema* в доле 66,25% в 1-м образце, неклассифицируемые роды семейства *Mycoplasmataceae* в доле 15,47% в 1-м образце и семейства *Desulfovibrionaceae*

в долях 25,34 и 32,24% в 2-х образцах. Появился неклассифицируемый род порядка *Saccharimonadales* в доле 0,03–0,11%. Снизилась доля *Cetobacterium* до 12,23–49,61% (46,50–94,74%), *Citrobacter* до 0–0,02% (0,07–0,22% в контроле) и неклассифицируемого рода таксона MB19 до 0,09–0,32% (0,31–0,65% в контроле). Исчезли род *Neorickettsia* (0,01–0,20% в контроле в 3-х из 4-х образцов) и неклассифицируемый род семейства *Aeromonadaceae* (0,02–0,09% в контроле в 3-х из 4-х образцов).

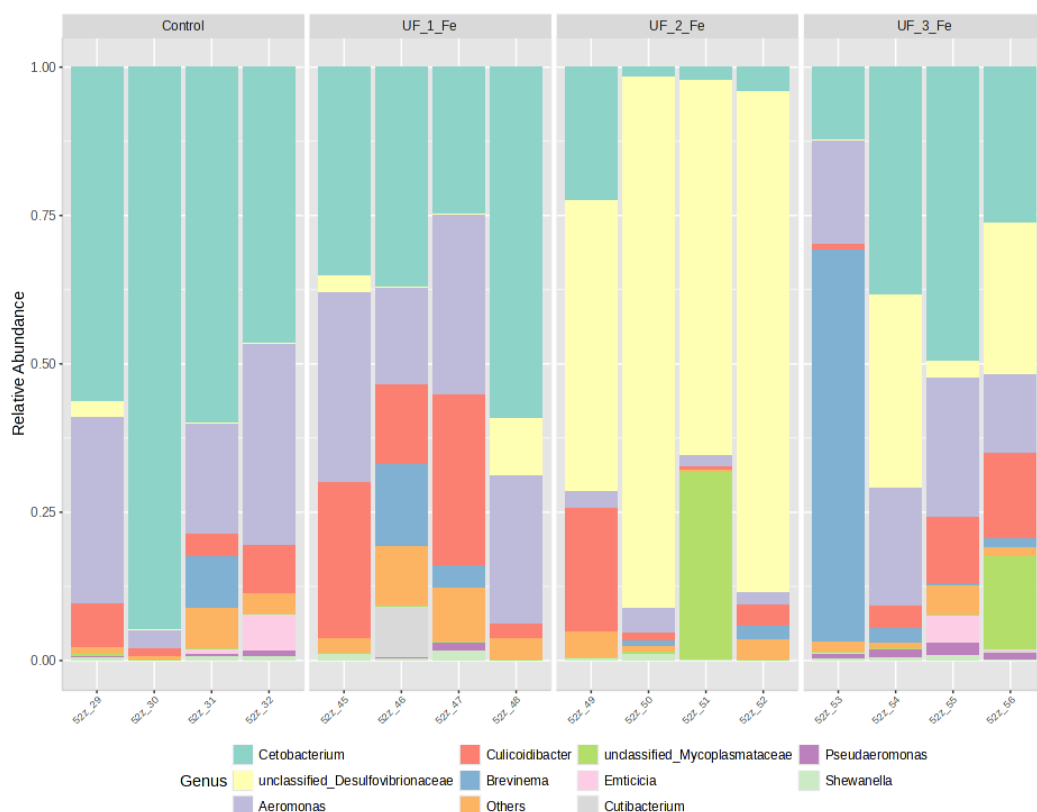


Рисунок 32 – Таксономический состав на уровне родов микробиоты рыб (**Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm).

Методом линейного дискриминантного анализа с оценкой эффекта (LEfSe) таксоны, имеющие статистически значимую разницу в относительном обилии в контрольной и экспериментальных группах карпа удалось выявить таксоны на уровне филума, имеющие статистически значимую разницу в относительном обилии в контрольной и экспериментальных группах карпа,

получавших добавки умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма в сочетании с наночастицами железа (рисунок 33). Параметры анализа: пороговое значение $p\text{-value} < 0,05$ (с коррекцией на множественные сравнения по методу Бенджамина – Хохберга, FDR), пороговое значение логарифмического показателя линейной дискриминации (LDA score) $\geq 2,0$. Установлено, что две филы достоверно различались по относительному обилию в контрольной и опытных группах: *Thermodesulfobacteriota* ($p=0,0076$; FDR = 0,0577; LDA = 4,4) и *Patescibacteria* ($p=0,0077$; FDR = 0,0577; LDA = 1,5).

Linear Discriminant Analysis Effect Size (LEfSe) 

Taxonomy level:

Experimental factor:

P-value cutoff: ☐ Original ☒ FDR-adjusted

Log LDA score :

Graphical Summary [Result Table](#)

The table below shows at most 500 features ranked by their p values, with significant features highlighted in orange.

Name ↑↓	Pvalues ↑↓	FDR ↑↓	Control ↑↓	UF_1_Fe ↑↓	UF_2_Fe ↑↓	UF_3_Fe ↑↓	LDAscore ↑↓	View
Thermodesulfobacteriot	0.0075515	0.057664	137.5	1423.0	50547.0	10540.0	4.4	
Patescibacteria	0.0076886	0.057664	0.0	0.0	17.5	61.0	1.5	
Bdellovibrionota	0.054463	0.21163	2.25	34.5	0.0	0.0	1.26	

Рисунок 33 – Таксоны бактерий на уровне филы, имеющие статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) относительного обилия в контрольной и опытных группах, выявленные с помощью линейного дискриминантного анализа с оценкой эффекта (LEfSe). Для каждого таксона приведены исходные значения $p\text{-value}$, скорректированные значения FDR, показатели относительного обилия в каждой из групп и значение LDA score. Обозначения групп: Control – контрольная группа; опытные группы UF_1_Fe, UF_2_Fe, UF_3_Fe – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с наночастицами железа в концентрации 0,8 ppm.

Наибольшее обилие фил *Thermodesulfobacteriota* и *Patescibacteria* наблюдалось в I и III опытных группах, в контрольной группе и II опытной группе значения их обилия были значительно ниже (рисунок 34, 35). Филадельфия *Thermodesulfobacteriota* характеризовалась максимально высокими значениями обилия во II опытной группе, а филадельфия *Patescibacteria* – в III опытной группе.

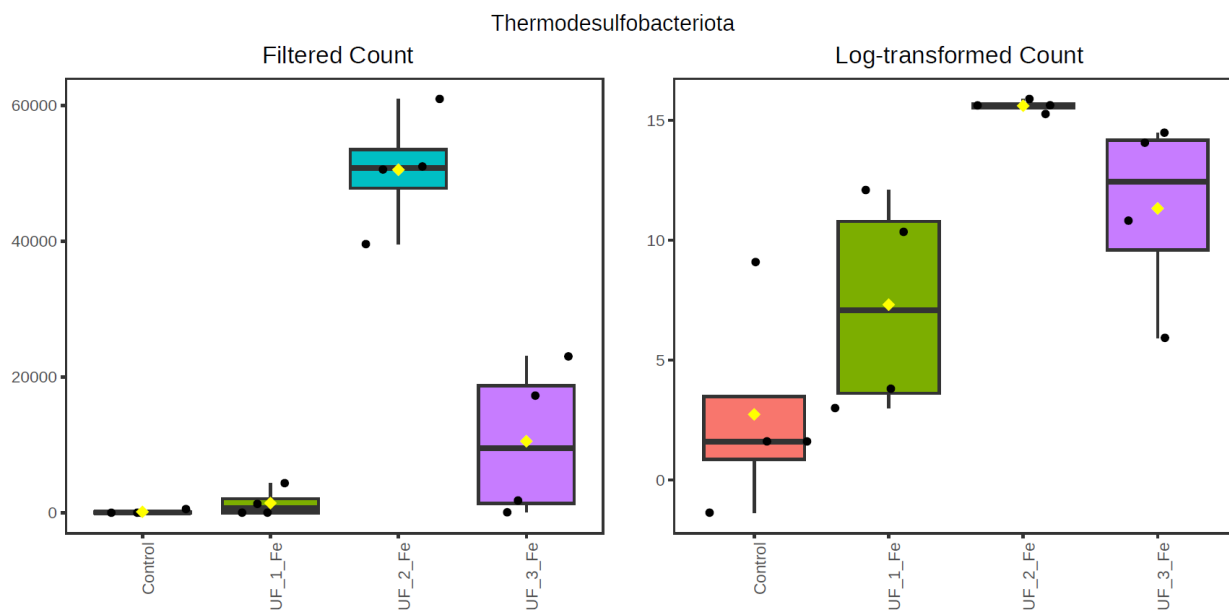


Рисунок 34 – График, демонстрирующий различия относительного обилия филы *Thermodesulfobacteriota* между группами, полученные методом линейного дискриминантного анализа с оценкой эффекта (LEfSe). Обозначения групп: **Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с НЧ Fe в концентрации 0,8 ppm.

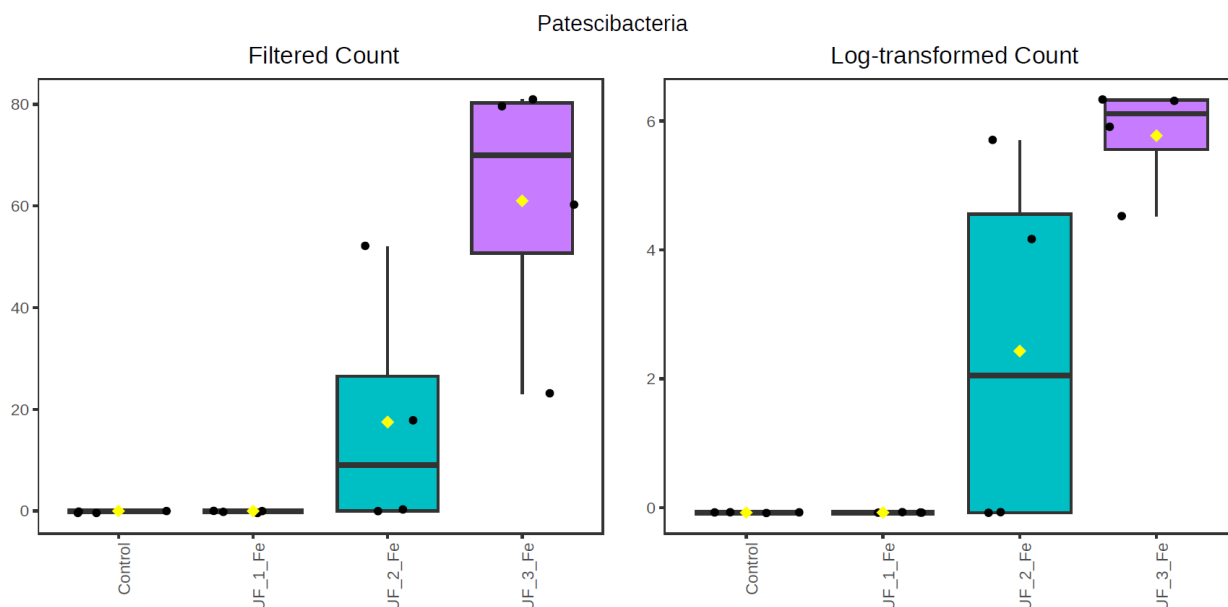


Рисунок 35 – График, демонстрирующий различия относительного обилия филы *Patescibacteria* между группами, полученные методом линейного дискриминантного анализа с оценкой эффекта (LEfSe). Обозначения групп: **Control** – контрольная группа; опытные группы **UF_1_Fe**, **UF_2_Fe**, **UF_3_Fe** – добавка умбеллиферона в концентрациях 1, 2 и 3 мг/кг корма, соответственно, в сочетании с наночастицами железа в концентрации 0,8 ppm.

2.2.1.3.3 Биосистема «микробиом кишечника-организм хозяина *Cyprinus carpio*»: зависимость элементного статуса рыбы от видового состава микробиом кишечника

Корреляционный анализ выявил тесную взаимосвязь между таксономическим составом кишечного микробиома и элементным составом мышечной ткани рыб, что свидетельствует о значительной роли микробного сообщества в регуляции минерального обмена.

Широкий спектр положительных корреляций с элементами (Sb, Sr, Pb, Cd, Hg) в контрольной группе отражает фоновую сорбционную активность микробиоты (рисунок 36).

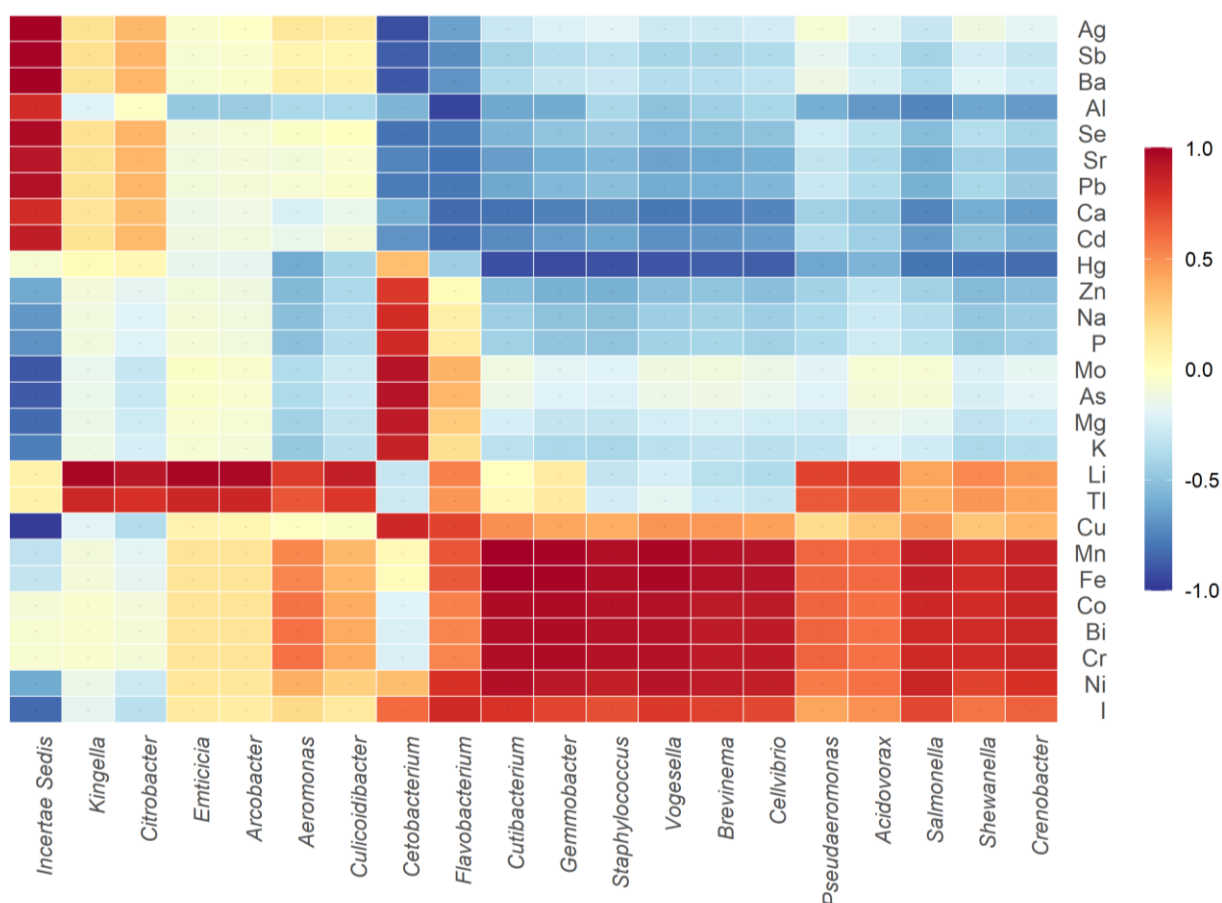


Рисунок 36 - Корреляционные взаимосвязи в контрольной группе

Многие представители кишечного сообщества обладают способностью к пассивной биосорбции и активному внутриклеточному накоплению ионов тяжелых металлов. Слабая корреляция с Zn может указывать на то, что данный эссенциальный элемент активно вовлечен в метаболизм и не накапливается в биомассе линейно, а используется в качестве кофактора ферментов, что согласуется с концепцией строгой регуляции внутриклеточных концентраций металлов .

Внесение комплекса добавок на основе ноначастиц железа и умбеллиферона активирует механизмы конкурентного связывания и перераспределения (рисуно 37).

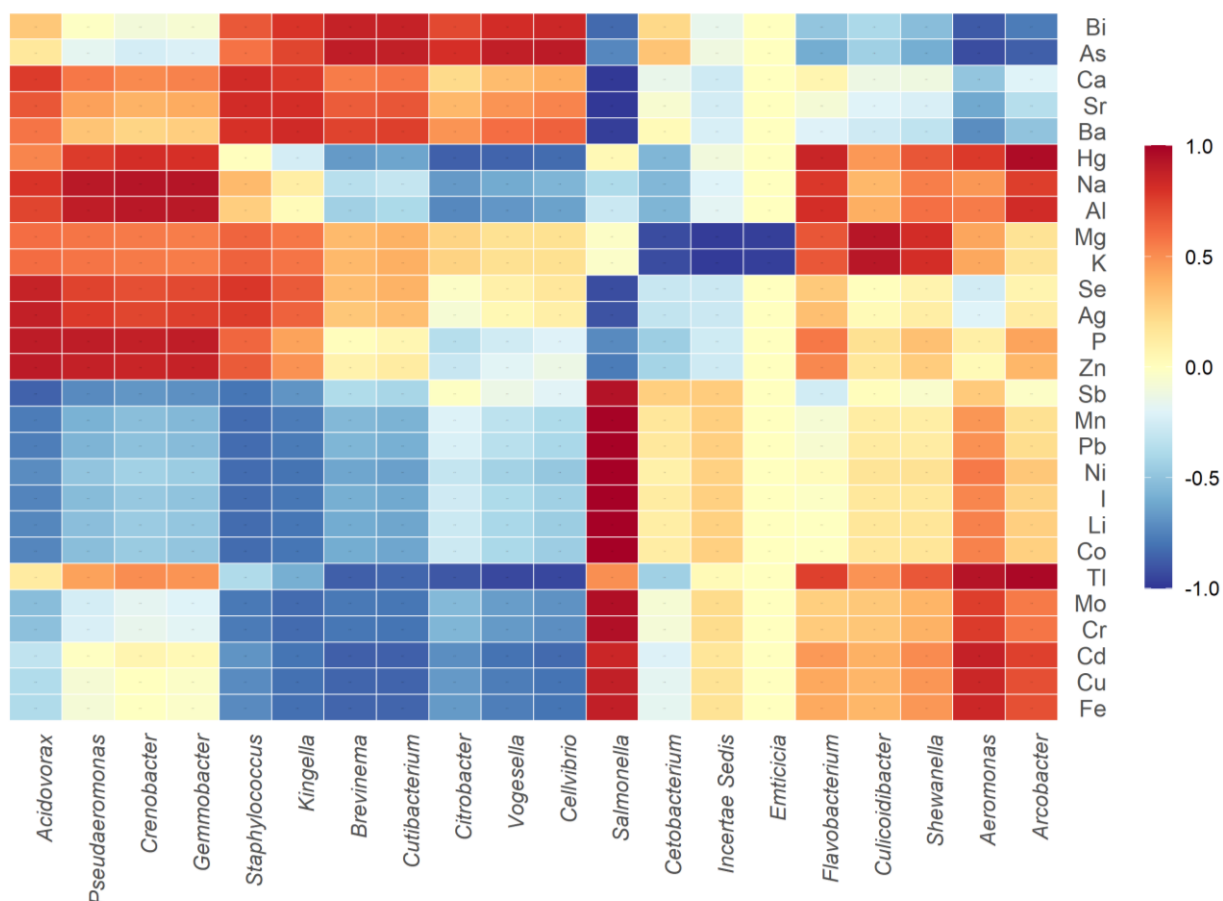


Рисунок 37 - Корреляционные взаимосвязи в I опытной группе

Появление отрицательных корреляций (с Na и P) свидетельствует об изменении ионного баланса и выделения метаболитов, изменяющих растворимость элементов. Микроорганизмы активно секвестрируют фосфаты для осаждения металлов, снижая доступность других ионов. Это соответствует данным о том, что железо модулирует состав микробиоты, влияя на продукцию короткоцепочечных жирных кислот и pH среды. Рода *Aclodroxa*, *Gemmobac* начинают выступать в роли «насосов»: они изменяют редокс-потенциал среды, что влияет на валентность элементов.

Рост значений корреляции и появление высокоспецифичных связей (например, для *Citrobacter*) указывает на дифференциацию экологических ниш (рисунок 38).

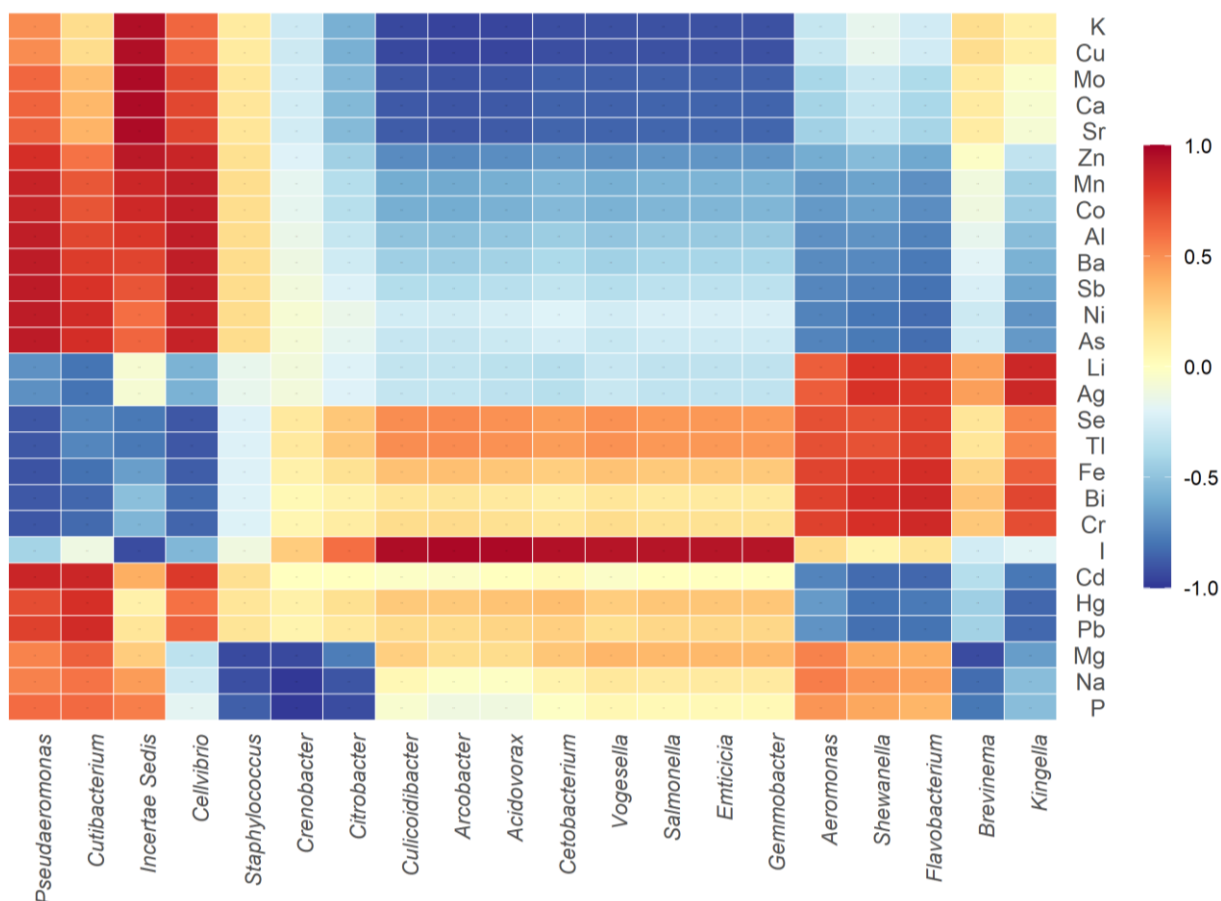


Рисунок 38 - Корреляционные взаимосвязи в II опытной группе

Бактерии применяют видоспецифичные механизмы для захвата элементов: продукция сидерофоров для железа, специфичные транспортные системы АТФ-связывающих кассет (АВС-транспортеры) для других металлов и внутриклеточное хранение в ферритинах или ферросомах. Подобное перераспределение является частью микробной конкуренции за лимитирующие ресурсы, где один таксон может ограничивать рост другого, истощая пул доступных элементов. Появление высоких значений (>1.0) для *Chilkatite*, *Inertia*, *Citrobacter* означает, что эти таксоны стали эпицентрами накопления специфических элементов (Se, Tl, Li).

При максимальной нагрузке доминирование отдельных таксонов (например, *Culbacteiium*) отражает механизмы активной детоксикации (рисунок 39).

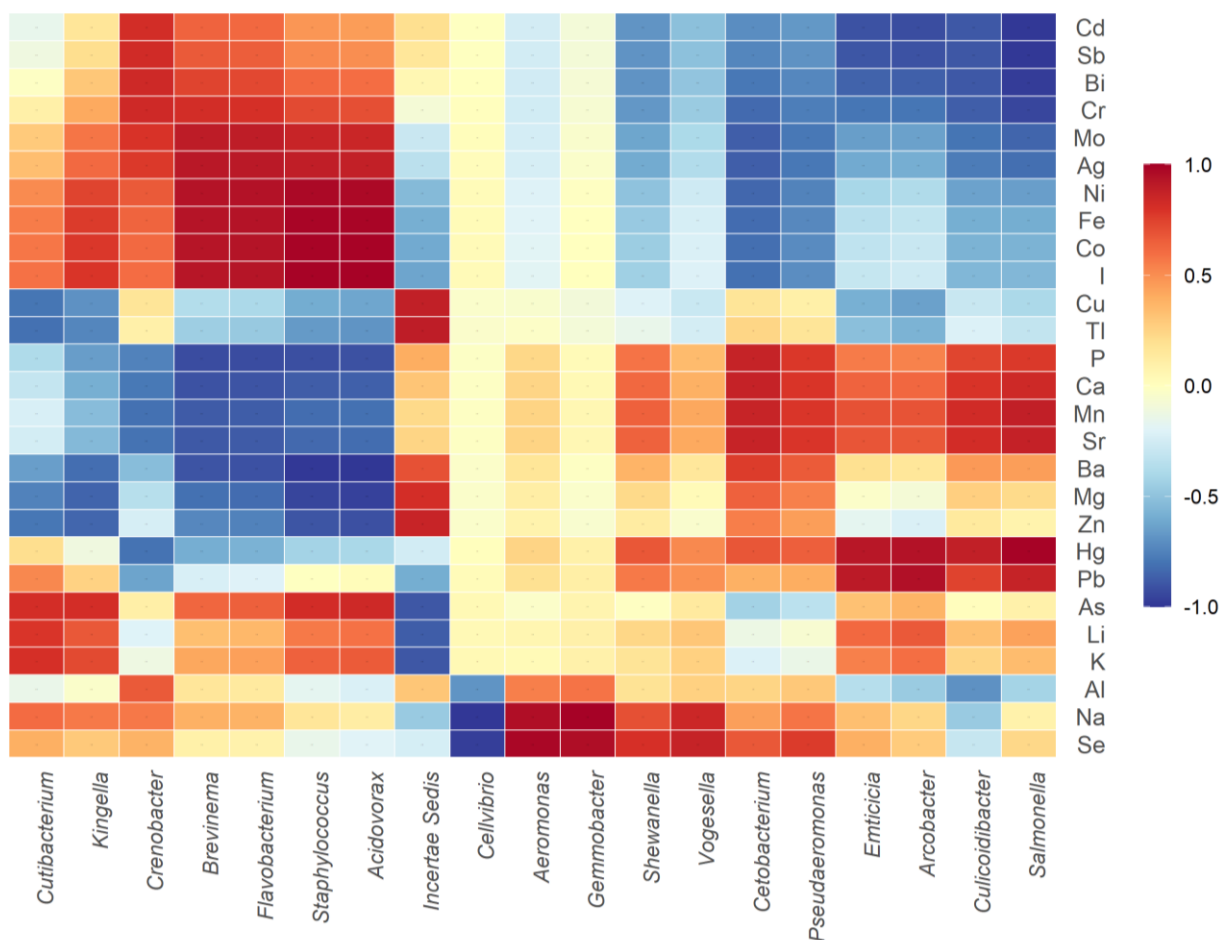


Рисунок 39 - Корреляционные взаимосвязи в III опытной группе

Бактерии способны к биотрансформации металлов, например, через метилирование, что переводит токсичные элементы в летучие или менее доступные формы и способствует их выведению из организма. Связывание элементов в клеточных стенках и образование нерастворимых фосфатов также снижает их абсорбцию хозяином. Доминирование *Culbacterium* с широкой положительной связью говорит о том, что именно этот таксон становится основным барьером, одновременно связывая и токсичные (Cd, Sb, Bi), и эссенциальные (Mo, Cr) элементы.

2.2.1.3.4 Резюме по итогам третьего эксперимента

Полученные результаты показывают, что адаптация биосистемы «микробиом-организм хозяина» к действию НЧ Fe и вещества анти-кворум носят разноплановый характер. Их применение способствует улучшению кислородного обеспечения тканей за счет стимуляции эритропоэза, оптимизации кишечной микробиоты под действием анти-кворум соединений, более эффективному усвоению питательных веществ, активации энергетического обмена и усилению антиоксидантной защиты организма.

Повышенное содержание эритроцитов и гемоглобина у рыб I и II опытных групп указывает на стимуляцию эритропоэза и улучшение кислородтранспортной функции крови. Этот эффект связан с присутствием железосодержащих наночастиц. Рост показателя гематокрита также свидетельствует об улучшении физиологического состояния рыб и увеличении кислородной емкости крови, что особенно важно при интенсивном выращивании. Увеличение содержания общего белка на 12,1% ($P \leq 0,05$) в I группе традиционно рассматривается как показатель усиления белок синтетической функции печени и более высокой интенсивности анаболических процессов. Изменение активности трансфераз, в частности повышение уровня АЛТ на фоне резкого снижения АСТ, отражает перестройку печеночного метаболизма под воздействием веществ анти-кворум в дозировках 2 и 3 мг/кг в сочетании с НЧ Fe в дозировке 0,8 мг/кг корма.

Динамика массы тела подтверждает выраженное ростостимулирующее действие комплекса препаратов анти-кворум и НЧ при максимальной дозировке умбеллиферона – 3 мг/кг.

Воздействие комплекса НЧ Fe и веществ анти-кворум на элементный статус карпа проявляется в перераспределении электролитов между тканями и более активном их вовлечении в обменные процессы. Минимальная дозировка веществ анти-кворум – 1 мг/кг корма в сочетании с НЧ Fe (0,8 мг/кг корма) –

преимущественно стимулировала процессы кроветворения и белкового обмена. Дозировка 2 мг/кг корма совместно с НЧ Fe (0,8 мг/кг корма) оказывала наиболее выраженное влияние на показатели энергетического и липидного обмена. Введение веществ анти-кворум в дозировке 3 мг/кг корма вместе с НЧ Fe (0,8 мг/кг корма) обеспечивало максимальный ростостимулирующий эффект: живая масса рыб увеличивалась на 23,7% по сравнению с контролем.

При этом исследование выявило накопление ряда токсических элементов – стронция, серебра и бария. Несмотря на положительное влияние добавки на физиологическое состояние рыб, этот факт требует дополнительной оценки экологической и пищевой безопасности ее длительного применения в аквакультуре.

Представленные данные согласуются с современными представлениями о том, что кишечная микробиота выступает ключевым фактором, определяющим распределение и биодоступность металлов за счет совокупности механизмов: конкурентного связывания и пассивной сорбции, активного захвата через специализированные системы (ABC-транспортеры), внутриклеточного накопления и хранения, ферментативной биотрансформации, изменяющей форму элемента, и регуляции экспрессии генов в зависимости от доступности металлов.

В совокупности полученные данные подтверждают современные представления о том, что кишечный микробиом является одним из основополагающих регуляторов элементного гомеостаза организма. Через продукцию органических кислот, сидерофоров, металлсвязывающих соединений, ферментативную модификацию химических форм элементов и влияние на проницаемость кишечного эпителия микробиота способна определять эффективность всасывания и последующее распределение макро- и микроэлементов в тканях хозяина. Следовательно, изменения элементного состава мышечной ткани следует рассматривать как следствие перестройки кишечного микробиоценоза.

2.2.2 Результаты второго этапа исследований

2.2.2.1 Оценка среды обитания организмов аллохтонная экосистема в ходе исследований

Микрофлора водной среды оказалась в значительной зависимости от характера внешнего воздействия. В частности, численность мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов была достоверно снижена на третьей неделе в сравнении с началом эксперимента – в I опытной группе на 79,5% ($P \leq 0,01$), во II группе – на 53,6% ($P \leq 0,01$) и повышен в контрольной группе – на 91,4% ($P \leq 0,001$), в III группе – на 140% ($P \leq 0,01$). При этом, на период окончания эксперимента ОМЧ в сравнении с третьей неделей показало увеличение численности бактериальных штаммов во всех группах: в контрольной – на 41,3% ($P \leq 0,05$), в I группе – 210,1% ($P \leq 0,001$), в II группе – на 219,9% ($P \leq 0,001$), в III группе – на 100,3% ($P \leq 0,01$).

Анализ ОМЧ грамотрицательных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе бактерий группы кишечной палочки показал снижение уровня биоты в контрольной группе на 97,2% ($P \leq 0,001$), в I опытной группе на 98,5% ($P \leq 0,001$), и повышение уровня в II группе в 30 раз ($P \leq 0,01$). При этом в III опытной группе и на период окончания эксперимента бактериальных штаммов обнаружено не было (таблица 22).

Общее микробное число лактобацилл в воде показало увеличение уровня микробиоты на протяжении эксперимента. На третьей неделе численность лактобактерий в аквариумах экосистемы I опытной группы в сравнении с началом эксперимента увеличилась в три раза ($P \leq 0,05$), в III группе - в 30 раз ($P \leq 0,001$). На период восьмой недели эксперимента количество лактобактерий зафиксировали на следующем уровне: в воде аквариума I опытной группы произошло повышение на 154,2% ($P \leq 0,05$), в II группе – в 47 раз ($P \leq 0,001$), в III группе – пул микроорганизмов снизился в 4,4 раза ($P \leq 0,001$).

Таблица 22 – Численность микроорганизмов в воде КОЕ/100мкл

Группа	Численность микроорганизмов КОЕ/100мкл		
	ГРМ-агар	Эндо-агар	Лакто-агар
	1 неделя эксперимента		
Контрольная	46,33±6,44	47,33±4,26	-
I опытная	368,33±50,02	90,67±6,96	8,00±1,15
II опытная	251,33±13,78	4,33±0,33	1,00±0,58
III опытная	42,00±5,20	0,67±0,33	1,67±0,67
	3 неделя эксперимента		
Контрольная	88,67±6,01**	1,33±0,33***	0,33±0,33
I опытная	75,67±7,06**	1,33±0,67***	3,67±0,88*
II опытная	116,67±7,80***	34,33±4,41**	0,67±0,33
III опытная	101,00±13,61**	-	51,67±5,21***
	8 неделя эксперимента		
Контрольная	125,33±13,57*	-	1,33±0,33
I опытная	234,67±17,17***	-	9,33±1,76*
II опытная	373,33±14,38***	-	31,67±3,38***
III опытная	202,33±8,57**	-	11,67±2,33***
Примечание: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 по отношению к предыдущему исследованию			

2.2.2.2 Адаптация *Lemna minor*

В процессе визуальной оценки не было выявлено различий между сравниваемыми группами по характеристикам *Lemna minor*. В подавляющем большинстве оцениваемых вариантов, отмечали здоровые листецы зеленого и светло-зеленого цвета с незначительным пожелтением и обесцвечиванием. Сохранность растений, состоящих из 4–6 листецов, была высокой. Листецы слегка выпуклые с верхней стороны и плоские с нижней стороны. Корневая система резко сохранила свою целостность, корни волосовидные от бледно-зелёного до тёмно-коричневого цвета.

Анализ роста и развития *Lemna minor* показал уменьшение численности растений по сравнению с началом эксперимента, что указывает на развитие стрессовой реакции под действием исследуемых препаратов (таблица 23). В контрольной группе наблюдалась типичная динамика развития культуры *Lemna minor* при длительном культивировании: после первоначальной

активации роста численность растений постепенно снижалась по мере истощения ресурсов питательной среды.

В I опытной группе НЧ Fe оказывали выраженное угнетающее влияние на процессы вегетативного размножения *Lemna minor*. После начального стрессового периода растения частично адаптировались к условиям среды, но интенсивность образования дочерних особей оставалась ниже уровня, характерного для нормально развивающейся популяции.

Во II опытной группе включение в аквабиосистему ингибиторов кворум-сенсинга бактерий сначала также вызывало стрессовую реакцию. После адаптации характер роста изменился: скорость вегетативного размножения существенно возросла и превысила значения, соответствующие биологической норме.

В III опытной группе сочетание НЧ Fe и ингибиторов кворум-сенсинга вызвало большее угнетение роста в первые недели эксперимента. После адаптации растения сформировали выраженную компенсаторную реакцию, сопровождавшуюся интенсивным образованием дочерних особей. Такая динамика свидетельствует о высокой пластичности физиологических механизмов *Lemna minor*.

Таблица 23 – Рост и развитие *Lemna minor*, шт

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	100	100	100	100
1	105	40	70	37
2	114	50	48	33
3	93	82	151	147
4	84	75	135	139
5	86	62	120	143
6	110	50	54	89
7	90	50	49	64
8	78	53	50	66

В ходе изучения адаптации *Lemna minor* к изменениям в среде обитания дана оценка содержанию фотосинтезирующих пигментов (таблица 24).

Таблица 24 - Содержание фотосинтезирующих пигментов *Lemna minor*

Начало эксперимента	Хл а		Хл б		Каротиноиды	
	х _{ср} , мг/кг	С _v , %	х _{ср} , мг/кг	С _v , %	х _{ср} , мг/кг	С _v , %
	0,35±0,04	11,5	0,22 ±0,04	8,1	0,20±0,02	10
Конец эксперимента	х _{ср}	С _v	х _{ср}	С _v	х _{ср}	С _v
	мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%
контроль	0,183±0,012	6,6	0,096±0,021	21,8	0,121±0,009	7,4
I	0,247±0,042	17	0,109±0,023	21,1	0,138±0,026	18,8
II	0,241±0,019	7,9	0,112±0,017	15,2	0,139±0,009	6,5
III	0,246±0,035	14,3	0,126±0,035	27,7	0,132±0,013	9,8

Анализ содержания фотосинтетических пигментов показал, что в начале эксперимента соотношение хлорофиллов а/б составляло около 1,6, что ниже биологической нормы (2,0–3,0). Вместе с тем для водных растений такое значение считается физиологически допустимым.

В контрольной группе на протяжении всего эксперимента отмечалось постепенное снижение содержания фотосинтетических пигментов. Подобная динамика характерна для адаптации растений к условиям культивирования. Несмотря на уменьшение концентрации пигментов, их уровень оставался в пределах физиологической нормы для *Lemna minor*.

В I опытной группе внесение НЧ Fe частично предотвращало деградацию фотосинтетического аппарата. Повышенное содержание хлорофилла а и каротиноидов по сравнению с контролем указывает на сохранение большей площади функционально активных хлоропластов и более высокой эффективности фотосинтеза. Вероятно, это связано с улучшением минерального питания растений, повышением устойчивости мембран хлоропластов и снижением интенсивности свободнорадикального окисления.

Во II опытной группе при внесении ингибитора кворум-сенсинга содержание всех фотосинтезирующих пигментов превышало показатели контрольной группы. При этом коэффициент вариации оставался низким, что

свидетельствует о более однородной реакции растений на воздействие препарата.

В III опытной группе содержание фотосинтетических пигментов также сохранялось на сравнительно высоком уровне, чем в контрольной группе. Наиболее заметным оказалось содержание хлорофилла b, что может отражать адаптацию светособирающих комплексов фотосистем к действию исследуемого комплекса препаратов. Одновременно коэффициент вариации для хлорофилла b оказался самым высоким среди всех групп. Это указывает на значительную индивидуальную изменчивость реакции растений и неодинаковую эффективность воздействия препарата.

2.2.2.3 Адаптация *Cyprinus carpio*

Анализ морфологических параметров крови карпа в период окончания эксперимента показал достоверное повышение показателей (таблица 25). В частности, эритроцитов на 47,6% ($P \leq 0,05$) в I группе, на 109,5% ($P \leq 0,05$) в II группе и на 117,9% ($P \leq 0,05$) в III группе. Увеличение уровня лейкоцитов было зафиксировано только в II группе на 20,2% ($P \leq 0,05$) и в III группе на 22,8% ($P \leq 0,05$).

Таблица 25 – Морфологические параметры крови карпа, ($M \pm m$)

Показатель	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	$1,79 \pm 0,12$	$2,64 \pm 0,12^*$	$3,75 \pm 0,17^*$	$3,9 \pm 0,12^*$
Лейкоциты, $10^9/л$	$112,83 \pm 3,18$	$113,9 \pm 1,75$	$135,6 \pm 9,59^{**}$	$138,53 \pm 3,86^*$

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Динамика живой массы карпа демонстрирует снижение показателей в сравнении с контролем во всех опытных группах на протяжении всего эксперимента (таблица 26). Так, в первую неделю живая масса была снижена в

I опытной группе на 3,3% ($P \leq 0,05$), в III группе – на 7,3% ($P \leq 0,05$). В вторую неделю – получен аналогичный результат. В третью неделю – снижение массы фиксировали на 9,4% ($P \leq 0,01$) в I группе, на 2,7% ($P \leq 0,05$) в II группе, на 6,4% ($P \leq 0,01$) в III группе. В четвертую неделю – на 1,3% ($P \leq 0,05$) в I группе и на 5,5% ($P \leq 0,05$) в II группе. На пятой неделе снижение массы регистрировали на незначительном уровне. Ввиду сложившейся динамики живой массы, очевидно, что потенциал роста возрастал до четвертой недели. Начиная с пятой недели происходило снижение массы внутри групп.

Таблица 26 - Динамика живой массы *Cyprinus carpio*, г/гол

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	$3,8 \pm 0,52$	$3,8 \pm 0,51$	$3,8 \pm 0,51$	$3,8 \pm 0,54$
1	$3,96 \pm 0,63$	$3,83 \pm 0,82^*$	$3,84 \pm 0,90$	$3,67 \pm 0,68^{**}$
2	$3,96 \pm 0,63$	$3,82 \pm 0,81^*$	$3,84 \pm 0,9$	$3,67 \pm 0,68^{**}$
3	$4,05 \pm 0,78$	$3,67 \pm 0,84^{**}$	$3,94 \pm 1,01^*$	$3,79 \pm 0,79^*$
4	$4,01 \pm 0,69$	$3,96 \pm 0,77^*$	$3,79 \pm 0,93^*$	$3,86 \pm 0,89$
5	$3,81 \pm 0,90$	$3,80 \pm 0,91^*$	$3,81 \pm 0,72^*$	$3,54 \pm 0,96$
6	$3,55 \pm 0,74$	$3,89 \pm 0,82$	$3,71 \pm 0,71$	$3,51 \pm 1,02$
7	$3,69 \pm 0,68$	$4,05 \pm 0,94$	$3,59 \pm 0,77$	$3,78 \pm 1,29$
8	$3,55 \pm 0,71$	$3,85 \pm 1,22$	$3,63 \pm 0,81$	$3,99 \pm 1,50$

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Исследование выживаемости карпа на протяжении всего эксперимента показало выраженную межгрупповую вариабельность (таблица 27).

Наименьшие показатели отмечены в контрольной группе, тогда как III опытная группа характеризовалась максимальной сохранностью особей и соответствием физиологической норме. Полученные данные указывают на наличие дозозависимого или модифицирующего эффекта экспериментального фактора, улучшающего выживаемость *Cyprinus carpio* в условиях исследования

Анализ химического состава мышечной ткани карпа показал, что во всех группах по сравнению с биологической нормой наблюдается: устойчивое

снижение белка, повышение жира, повышение зольности, снижение сухого вещества. На период окончания эксперимента, в контрольной и I опытной группе наблюдались выраженный распад белковых структур на фоне относительного накопления липидов как энергетического резерва. В III опытной группе - более сбалансированное состояние среди опытных групп: уровень белка и сухого вещества был выше, что указывает на лучшую сохранность мышечной ткани.

Таблица 27 – Выживаемость *Cyprinus carpio*, шт

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	50	50	50	50
1	49	50	50	50
2	49	49	49	50
3	47	48	49	49
4	47	47	47	48
5	46	46	47	48
6	45	45	47	47
7	45	45	46	47
8	43	44	46	47

Динамика эссенциальных элементов в тканях карпа показала незначительные достоверные различия в группах (таблица 28). Содержание натрия в II опытной группе был снижен на 28,4% ($P \leq 0,05$), а в III опытной – на 31,1% ($P \leq 0,05$). Уровень калия фиксировали на 63,4% ($P \leq 0,05$) ниже контроля в I опытной группе и на 67,5% ($P \leq 0,01$) в II опытной группе.

Таблица 28 - Содержание макроэлементов в теле рыбы при внесении препаратов в среду обитания, мг/кг

Элемент	Начало эксперимента	Конец эксперимента (группа)			
		контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Na	874,7±54,8	699,7±30,55	663,7±14,15	626,3±34,24*	603±30,81*
Mg	223± 28,89	178,0±35,04	190,7±11,9	230±47,82	170±23,06
P	4993±487,92	4086±857,2	4486±301,86	5774±1158,8	3808±582,6
K	1803,3±88,03	728±20,66	679,3±19,86*	586,7±27,54**	749,3±37,23
Ca	5894±568,9	5793±1247,2	6391±447,06	8416±1811	5287±808,51

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Уровень лития в II группе был достоверно выше на 45,5%($P \leq 0,05$) относительно контрольной, молибдена – в I группе на 40%($P \leq 0,05$) выше и в II группе на 32%($P \leq 0,05$) ниже контроля (таблица 29).

Таблица 29 - Содержание эссенциальных микроэлементов в теле рыбы при внесении препаратов в среду обитания, мг/кг

Элемент	Начало эксперимента	Конец эксперимента (группа)			
		контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Li	0,0113±0,002	0,011±0,002	0,071±0,052	0,016±0,002*	0,009±0,001
Mn	3,58±0,27	2,83±0,61	3,1±0,332	4,12±1,052	2,66±0,449
Co	0,014±0,001	0,041±0,056	0,009±0,001	0,012±0,002	0,008±0,001
Ni	0,04±0,002	0,04±0,009	0,33±0,0	0,044±0,009	0,031±0,002
Cu	0,809±0,026	0,502±0,068	0,513±0,031	0,571±0,077	0,484±0,059
Se	0,556±0,018	0,129±0,018	0,125±0,016	0,124±0,017	0,096±0,018
Mo	0,0176±0,001	0,025±0,002	0,021±0,001	0,035±0,004*	0,017±0,002**
I	0,32±0,014	0,44±0,17	0,56±0,014	0,45±0,037	0,42±0,158

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Аналогичная картина содержания токсических элементов была показана в отношении малоизученного элемента висмута – на 50%($P \leq 0,01$) ниже и мышьяка – на 29,4%($P \leq 0,05$) ниже контроля (таблица 30).

Таблица 30 - Содержание токсических микроэлементов в теле рыбы при внесении препаратов в среду обитания, мг/кг

Элемент	Начало эксперимента	Конец эксперимента (группа)			
		контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Al	8,86±3,071	6,49±2,079	4,709±1,805	8,492±3,313	4,22±0,19
Sr	49,9±2,82	47,8±10,15	51,9±3,62	72,0±19,34	42,5±7,23
Cd	0,0025±0,00004	0,005±0,0003	0,004±0,0004	0,004±0,0001	0,004±0,0001
Sb	0,001±0,00001	0,001±0,00002	0,001±0,00004	0,001±0,00003	0,001±0,00001
Ba	1,79±0,094	2,11±0,522	2,305±0,195	3,37±0,878	1,98±0,39
Hg	0,0004±0,0001	0,01±0,001	0,01±0,001	0,009±0,001	0,008±0,002
Pb	0,007±0,001	0,008±0,002	0,006±0,001	0,01±0,003	0,005±0,001
Bi	0,002±0,0001	0,002±0,0003	0,001±0,0002	0,002±0,0001	0,001±0,0002**
As	0,017±0,0	0,017±0,002	0,016±0,001	0,022±0,004	0,012±0,003*

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

2.2.2.4 Адаптация *Anodonta cygnea*

В ходе исследований установлено, что выловленные особи *Anodonta cygnea* имели асимметричную овально-треугольную форму раковины с закруглённой передней частью и слегка заострённой задней. Края створок округлые, без резких углов. Внешняя поверхность раковины шероховатая, покрыта тонким перламутровым слоем, без повреждений и трещин, цвет светло-серый с радиальными лучами, что является нормой. Мантийная полость складчатая, без спаек, повреждений и паразитов. Жабры, гонады, пищеварительная система легко отделимы друг от друга, без кровоизлияний. Сифоны расположены на задней части створок раковины, без аномалий, напротив друг друга.

Мы в своих исследованиях не выявили сколько нибудь заметной адаптации *Anodonta cygnea* к действию оцениваемых факторов. Анализ динамики роста беззубки обыкновенной (*Anodonta cygnea*) не выявил достоверных изменений между группами. В контрольной группе изменение живой массы соответствовало нормальному росту двустворчатых моллюсков при отсутствии неблагоприятных условий среды. Стандартное отклонение на протяжении всего периода наблюдений изменялось незначительно (от 2,52 до 2,74).

В I и II опытных группах исследуемые препараты не оказали выраженного угнетающего воздействия на рост моллюсков. В III опытной группе стандартное отклонение достигало 4,47, что отражает сравнительно высокую индивидуальную изменчивость темпов роста. При этом средняя масса особей оставалась на уровне контрольной группы, поэтому увеличение вариабельности нельзя рассматривать как проявление токсического действия препаратов. Рост массы наблюдался до четвёртой недели эксперимента, после чего, начиная с пятой недели, во всех группах отмечалось её постепенное снижение (таблица 31).

Таблица 31– Рост и сохранность *Anodonta cygnea*

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	11,8 ± 2,73	11,9 ± 3,51	12 ± 3,22	11,9 ± 3,74
1	11,8 ± 2,73	11,9 ± 3,51	12 ± 3,22	11,9 ± 3,74
2	12,2 ± 2,52	12 ± 3,41	11,9 ± 3,14	12,1 ± 4,3
3	12,1 ± 2,6	11,9 ± 3,3	12,2 ± 3,11	12,4 ± 4,26
4	12,3 ± 2,71	11,9 ± 3,26	12 ± 3,11	12,2 ± 4,26
5	12,2 ± 2,64	11,6 ± 3,67	12 ± 3,19	12 ± 4,29
6	12,7 ± 2,74	11,6 ± 4,06	12 ± 3,22	12 ± 4,33
7	12,3 ± 2,58	11,5 ± 3,57	11,9 ± 3,32	12 ± 4,47
8	12,4 ± 2,52	11,4 ± 3,61	11,8 ± 3,06	12 ± 4,33
Сохранность, %	100	100	100	100

Элементный статус мышечной ткани беззубки показал незначительные колебания макроэлементов – уровень натрия зафиксирован на 46,2%($P \leq 0,01$) (таблица 32). Тогда как, динамика уровня микроэлементов была выраженной.

Таблица 32 - Содержание эссенциальных и условно эссенциальных химических элементов в теле *Anodonta cygnea* при внесении препаратов в среду обитания, мг/кг

Элемент	Начало эксперимента	Конец эксперимента (группа)			
		контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Na	666,7±12,26	690,0±44,71	802,3±69,79	811,7±73,05	974,7±50,01**
Mg	31±5,715	18,3±13,796	19,7±0,577	17,0±9,0	19,0±2,65
P	265,7±91,22	262±67,74	333,7±125,3	247,3±52,77	226,3±120,51
K	25,7±5,44	39,7±9,29	31,7±9,07	32,3±7,64	24,7±5,51
Ca	77336,7 ±4229	42027,3 ±26270	36354 ±10290	26123,3± 21929	37725 ±498,32
Li	0,033± 0,003	0,039± 0,002	0,053± 0,005*	0,055± 0,001***	0,057± 0,004**
Mn	275,4±14,73	186,44±2,84	239,2±20,79*	240,31±38,27	268,5±2,98***
Co	0,69±0,0138	0,048±0,002	0,05±0,009	0,04±0,021	0,055±0,007
Ni	0,49±0,025	0,404±0,15	0,33±0,058	0,25±0,101	0,35±0,112
Cu	4,56±0,859	6,17±0,915	3,9±0,491*	3,09±0,375**	3,86±2,616
Se	0,057±0,005	0,032±0,0	0,04±0,014	0,04±0,006	0,03±0,007
Mo	0,0089±0,002	0,15±0,118	0,32±0,026	0,392±0,08*	0,357±0,067
I	0,47±0,133	0,44±0,022	0,58±0,091	0,503±0,04	0,42±0,125
Cr	0,17±0,055	0,105±0,129	0,01±0,017	0,036±0,063	0,025±0,043
Fe	41,01±10,48	16,3±20,70	5,8±2,72	3,99±3,073	5,63±3,027
Zn	9,44±3,272	4,36±0,982	5,71±1,912	4,41±0,837	3,85±2,205

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

Так, содержание лития на период окончания эксперимента было выше на 35,9%($P \leq 0,05$) в I группе, на 41,1%($P \leq 0,001$) в II группе, на 46,2%($P \leq 0,01$) в III группе, относительно контроля. Содержание марганца находилось на уровне выше контрольной группы – на 28,3%($P \leq 0,05$) в I группе и на 44,1%($P \leq 0,001$) в III группе. Уровень меди был значительно снижен в I группе на 37,6%($P \leq 0,05$), в II группе – на 49,9%($P \leq 0,01$). При этом, уровень молибдена был выше контрольной на 164,9%($P \leq 0,01$) (таблица 32).

Нами отмечено, что уровень токсических элементов в тканях моллюска опытных групп был ниже, за исключением стронция – его уровень был выше контроля в III группе на 43,1% ($P \leq 0,05$). Содержание кадмия зафиксировали отметке ниже контрольной группы на 67,1%($P \leq 0,05$) в II группе. Концентрация ртути в тканях беззубки была на 40,5%($P \leq 0,05$) ниже контроля в I группе и на 59,5%($P \leq 0,01$) в II группе (таблица 33).

Таблица 33 - Содержание токсических химических элементов в теле *Anodonta cygnea* при внесении препаратов в среду обитания, мг/кг

Наименование элемента	Начало эксперимента	Конец эксперимента (группа)			
		контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Al	295,5±71,22	163,03±25,0	5,2±3,307	0,97±0,398	8,74±14,68
Sr	256,3±15,79	209,0±34,65	265,5±46,73	239,3±78,66	298,9±22,34*
Cd	0,008±0,002	0,007±0,001	0,006±0,002	0,003±0,001*	0,004±0,004
Sb	0,0034± 0,001	0,005±0,002	0,004±0,001	0,003±0,0	0,004±0,003
Ba	35,04±1,325	38,6±3,537	41,9±2,005	40,37±4,14	41,22±1,407
Hg	0,0005±0,0	0,001±0,0	0,001±0,0	0,001±0,0	0,001±0,0
Pb	0,065±0,013	0,079±0,017	0,047±0,006*	0,032±0,003*	0,046±0,034
As	0,17±0,035	0,16±0,018	0,15±0,026	0,14±0,018	0,013±0,037

Примечание: *различия с контрольной группой достоверны при $p \leq 0,05$

2.2.2.5 Индикация процессов с использованием *Daphnia magna*

Подопытные рачки *Daphnia magna* имели овальную форму тела с хорошо различимым тёмно-зелёным пищеводом и жёлто-коричневым покровам. Фильтрационный аппарат в виде грудных ножек в постоянном движении, через всасывательные камеры постоянно циркулировала вода. Кишечник, тянувшийся через все тело, у большинства особей был пуст, что является нормой, так как во время исследования рачков не кормили.

Исследование выживаемости *Daphnia magna* показало, что во всех группах жизнеспособность рачков сохранялась на протяжении восьми недель эксперимента. Во всех опытных вариантах наблюдалось активное размножение, соответствующее биологической норме для данного вида при благоприятных условиях содержания.

Максимальная интенсивность воспроизводства отмечена в контрольной группе, где к завершению эксперимента численность популяции достигла 33 особей (таблица 34).

Таблица 34 – Выживаемость *Daphnia magna*, шт

Неделя	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
Начало эксперимента	10	10	10	10
1	10	10	10	10
2	14	14	14	10
3	15	13	15	15
4	10	14	14	11
5	12	15	11	16
6	10	15	14	28
7	11	14	16	11
8	33	27	16	12

В I опытной группе этот показатель составил 27 особей, что также свидетельствует о высокой репродуктивной активности. Во II опытной группе прирост был менее выраженным – до 16 особей, однако увеличение численности происходило стабильно на протяжении всего эксперимента. В III

опытной группе численность изменялась наиболее неравномерно: максимум был зарегистрирован на шестой неделе – 28 особей, после чего количество рачков снизилось до 12 (таблица 34).

2.2.2.6 Резюме по итогам четвертого эксперимента

Полученные результаты показывают, что исследуемые препараты оказывают на аквабиосистему комплексное воздействие, которое преимущественно носит адаптационный характер. При этом отдельные компоненты экосистемы реагировали по-разному. Наиболее заметные изменения произошли в составе микробиоценоза водной среды, физиологическом состоянии высших водных растений и элементном составе гидробионтов. Моллюски и дафнии, напротив, продемонстрировали высокую устойчивость к исследуемым воздействиям, а признаки токсического эффекта были минимальными. Такая картина соответствует современным представлениям о функционировании водных экосистем: изменения химического состава среды прежде всего отражаются на микробном, после чего развиваются физиологические реакции растений и животных.

Самым чувствительным компонентом экосистемы оказалась микрофлора воды. В начале эксперимента общая численность бактерий снижалась, однако затем микробное сообщество постепенно восстанавливалось, причем доля лактобацилл заметно увеличилась. В I и II опытных группах численность мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов была снижена, тогда как в контрольной и III опытной группах она возрастала, что свидетельствует о бактериостатическом действии исследуемых препаратов. К завершению эксперимента во всех группах регистрировали увеличение общего микробного числа, характерное для процессов экологической адаптации микробного сообщества. Представители семейства *Enterobacteriaceae* практически полностью исчезли в контрольной и I опытной группах и полностью отсутствовали в III группе,

что можно рассматривать как благоприятный санитарно-микробиологический показатель качества воды. Одновременно во всех опытных группах постепенно увеличивалась численность лактобацилл, что свидетельствует о формировании более стабильного и благоприятного микробиоценоза.

У ряски малой развивалась типичная стресс-адаптационная реакция. Первоначальное угнетение роста сменялось восстановлением растений и сохранением фотосинтетического аппарата, что указывает на активацию защитных механизмов и повышение физиологической устойчивости. Действие наночастиц железа обусловило снижение интенсивности вегетативного размножения в первые недели эксперимента в сравнении с биологической нормой, однако на период окончания опыта темпы роста постепенно восстановились, что свидетельствует о включении компенсаторных механизмов. Использование ингибиторов кворум-сенсинга как отдельно, так и совместно с наночастицами железа, аналогично вызвало выраженный стресс, но в последние недели исследования сопровождалось ускоренным образованием дочерних особей. Такая динамика соответствует горметической реакции, при которой умеренное стрессовое воздействие запускает адаптационные процессы и стимулирует физиологическую активность растений.

Во всех опытных группах деградация фотосинтетического аппарата была менее выражена, чем в контроле. Особенно показательной оказалась III опытная группа, где сохранялось повышенное содержание хлорофилла b. Это может свидетельствовать о перестройке светособирающих комплексов фотосистемы, универсальном механизме адаптации растений к неблагоприятным условиям среды.

Включение в аквабиосистему НЧ Fe и веществ-ингибиторов кворум сенсинга демонстрирует дозозависимый эффект препаратов, способствует улучшению физиологического состояния карпа, повышая его выживаемость и влияя на морфологические и метаболические параметры. Значительное увеличение эритроцитов во всех опытных группах свидетельствует о

адаптивных процессах, улучшающих кровоснабжение и обмен веществ. Повышение выживаемости в экспериментальных группах, особенно в III группе, указывает на положительный эффект на иммунитет и общую устойчивость организма, что особенно важно для условий выращивания.

В то же время, наблюдаемые изменения в массе и тканевом составе указывают на наличие стрессовых факторов, вызывающих перераспределение ресурсов организма. Снижение живой массы, хотя наблюдалось и в контрольных, и в опытных группах, говорит о наличии стрессовых факторов, связанных с периодами интенсивного метаболического перераспределения. Распад белковых структур и накопление липидов в мышечной ткани свидетельствуют о метаболическом стрессе, особенно в контрольной и первой группе. Повышение уровня пула макро- и микроэлементов в опытных группах, а также значительное снижение токсичных элементов, говорит о снижении токсической нагрузки на организм. Особенно перспективной выглядит III опытная группа, где показатели сохранности и биохимического баланса оказались лучше всего сбалансированы.

Беззубка обыкновенная и *Daphnia magna* также продемонстрировали высокую устойчивость к действию исследуемых факторов. Одновременно снижение содержания ряда токсичных элементов в тканях гидробионтов позволяет предположить, что исследуемые препараты могут способствовать процессам детоксикации. У беззубки обыкновенной морфологических признаков токсического воздействия выявлено не было. Динамика роста практически не различалась между группами, а более высокая индивидуальная вариабельность массы в III группе не сопровождалась изменением средних значений и поэтому не может рассматриваться как проявление токсического эффекта. Анализ элементного состава тканей показал высокую способность моллюсков к аккумуляции отдельных микроэлементов. При этом, содержание большинства токсичных элементов, включая кадмий и ртуть, оказалось ниже контрольных значений. Эти данные подтверждают известную роль двустворчатых моллюсков как природных биофильтраторов, способных

эффективно связывать, перераспределять и накапливать химические элементы без существенного нарушения физиологических функций.

Результаты исследования *Daphnia magna* не выявили признаков выраженной токсичности исследуемых препаратов. Во всех группах сохранялись высокая выживаемость и способность к размножению. Снижение численности в III группе после шестой недели, вероятнее всего, связано с естественными внутрипопуляционными процессами, а не с действием исследуемых веществ.

В совокупности полученные результаты согласуются с современными представлениями о действии наночастиц железа и ингибиторов кворум-сенсинга. В использованных концентрациях эти препараты не вызывали выраженного токсического воздействия на аквабиосистему, но запускали адаптационно-компенсаторные процессы на уровне микроорганизмов, высших водных растений и гидробионтов.

3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Современные пресноводные экосистемы испытывают нарастающий антропогенный пресс, который формируется сочетанием эвтрофирования, поступления тяжёлых металлов, органических поллютантов, лекарственных веществ и антибиотиков, а также общего усиления техногенной нагрузки на водосборы. На этом фоне нарушаются биогеохимические циклы, меняется структура бактериальных сообществ, снижается буферная способность водоёмов и ослабевают механизмы естественного самоочищения. В последние годы эту проблему всё чаще рассматривают не только как экологическую, но и как вопрос биологической безопасности: пресноводные системы становятся резервуаром антибиотикорезистентных микроорганизмов и генов устойчивости, которые способны циркулировать между окружающей средой, гидробионтами и объектами аквакультуры. Поэтому, поиск подходов, позволяющих одновременно поддерживать продуктивность рыбоводных систем и снижать микробиологические риски, имеет уже не локальное, а стратегическое значение для устойчивой аквакультуры.

На этом фоне особый интерес вызывает использование наночастиц железа и соединений с антикворумной активностью как компонентов экологически ориентированных биотехнологий. Железо – один из ключевых микроэлементов водных экосистем и метаболизма гидробионтов. Оно участвует в дыхательных процессах, транспорте электронов, работе оксидоредуктаз, синтезе гемсодержащих белков и антиоксидантной защите. Одновременно, именно железо во многом определяет интенсивность микробного роста, поскольку для большинства бактерий его доступность выступает лимитирующим фактором колонизации, синтеза сидерофоров и экспрессии ряда факторов вирулентности. Поэтому введение наноформ железа потенциально способно одновременно влиять и на физиологию рыб, и на структуру микробиоценозов, и на скорость микробиологической трансформации органического вещества в системе. Известно, что

железосодержащие наночастицы могут повышать доступность железа для организма, модулировать активность ферментных систем и влиять на антиоксидантный статус, однако при превышении физиологически оправданных концентраций они способны запускать прооксидантные реакции, менять состав микробиоты и усиливать клеточный стресс.

С методологической точки зрения важным итогом представленной работы стало то, что эффекты наночастиц железа и веществ антикворума оценивались не изолированно, а в системе «среда-микробиоценоз – гидробионт». Такой подход принципиален, поскольку в природных пресноводных системах именно взаимодействие этих трёх блоков определяет конечный биологический эффект. Полученные результаты подтверждают, что присутствие наночастиц железа в системе меняет сразу несколько взаимосвязанных параметров: доступность железа для бактерий и тканей рыбы, интенсивность окислительно-восстановительных реакций, работу ферментных комплексов, а также условия конкуренции между различными группами микроорганизмов. В этой связи, железо может выполнять роль метаболического и транспортного модулятора, а ингибиторы кворум-сенсинга – ограничивать нежелательный бактериальный ответ, прежде всего биоплёнкообразование, кооперативную вирулентность и избыточную колонизацию экологических ниш.

Система *Quorum sensing* сегодня рассматривается как один из центральных механизмов микробной организации в водной среде и аквакультуре. Через сигнальные молекулы бактерии координируют экспрессию генов, отвечающих за формирование биоплёнок, синтез внеклеточного матрикса, выработку токсинов, подвижность, секрецию ферментов и взаимодействие с хозяином. Для объектов аквакультуры это имеет особое значение, поскольку биоплёнки в установках, бассейнах, на субстратах, жабрах и слизистых покровах рыб становятся не просто формой бактериального существования, а фактором хронического микробного давления. Внутри биоплёнок микроорганизмы приобретают повышенную

устойчивость к антибиотикам, дезинфектантам и иммунным реакциям хозяина. На этом фоне вещества антикворума представляют особый интерес как более точный инструмент микробной регуляции по сравнению с прямым бактерицидным воздействием. Их принципиальное преимущество в том, что они не обязательно уничтожают бактерии, а вмешиваются в систему межклеточной коммуникации, снижая согласованность патогенного поведения популяции. Такой механизм уменьшает селективное давление на микробиоту и может быть предпочтительнее постоянного применения антибиотиков, особенно в системах длительного культивирования рыбы, где проблема антибиотикорезистентности уже приобрела глобальный масштаб.

В этом свете результаты, наблюдаемый синергизм формируется не за счёт одного механизма, а в результате наложения нескольких эффектов. Железосодержащие наночастицы могут менять метаболический фон системы, влияя на доступность микроэлементов, окислительно-восстановительный потенциал и ферментативную активность. Антикворумные соединения, в свою очередь, ослабляют способность отдельных бактериальных популяций переходить к кооперативному патогенному поведению, в том числе к формированию зрелых биоплёнок. Одновременно изменение условий в среде способно перераспределять конкурентные преимущества между таксонами микробиоты, ограничивая избыточный рост потенциально неблагоприятных групп и поддерживая более устойчивую структуру сообщества. Для организма рыбы такое комбинированное воздействие может означать снижение хронического микробного стресса на фоне сохранения или улучшения микроэлементного обеспечения.

Известно, что под действием эвтрофирования, органической перегрузки, антибиотиков и металлов в водоёмах нередко происходит сдвиг от функционально разнообразных сообществ к упрощённым, нестабильным системам с увеличением доли условно-патогенных бактерий. Это сопровождается снижением устойчивости к внешним воздействиям, ростом вероятности вспышек заболеваний и изменением трофических

взаимодействий. Ввиду того, что комбинированное применение наночастиц железа и антикворумных веществ приводит к ослаблению образования биоплёнки и сдерживанию патогенной микрофлоры, полученный нами эффект ведет к улучшению санитарного статуса среды, потенциальному восстановлению нормальной микробной сукцессии в искусственно поддерживаемой аквакультурной системе.

Микробное сообщество водной среды и кишечника рыбы включает не только потенциально патогенные, но и полезные группы, участвующие в минерализации органического вещества, синтезе витаминов, трансформации азотсодержащих соединений, конкурентном вытеснении патогенов и поддержании барьерных функций кишечника. Поэтому, желаемым результатом следует считать селективное ослабление тех кооперативных форм поведения, которые повышают вирулентность, устойчивость к стрессу и биоплёночную инвазивность. С этой точки зрения, положительный эффект антикворумных веществ особенно ценен тогда, когда он сочетается с сохранением общего микробного разнообразия и отсутствием признаков дестабилизации кишечного микробиома рыбы.

По данным FAO, аквакультура стала одним из ключевых источников водных биоресурсов и продолжает расти как самый быстро развивающийся сектор производства животного белка. Одновременно усиливается запрос на технологии, которые позволяют наращивать продуктивность без увеличения экологического ущерба. Особенно это касается пресноводной аквакультуры, где высокая плотность посадки, органическая нагрузка, накопление метаболитов, нестабильность гидрохимического режима и частые бактериальные осложнения создают постоянный риск ухудшения среды. В таких условиях классическая стратегия «лечить антибиотиками после вспышки» становится всё менее приемлемой и по экологическим, и по экономическим причинам. Устойчивое рыбоводство требует перехода к профилактическим, а не реактивным схемам управления, где контроль качества среды, поддержание микробного равновесия, снижение

вирулентности патогенов и оптимизация элементного питания рассматриваются как единая система. В этом смысле изученная комбинация наночастиц железа и антикворумных веществ хорошо соответствует современной логике биобезопасности и экотехнологий в аквакультуре.

Однако, практическая перспектива такого подхода напрямую связана с вопросом дозозависимости и экологической безопасности. Железо, будучи необходимым микроэлементом, в избытке может усиливать образование активных форм кислорода, нарушать проницаемость клеточных мембран, менять липидный профиль тканей и косвенно влиять на воспалительные реакции. В водной среде избыточное внесение железосодержащих наночастиц способно также менять сорбцию фосфатов, доступность других микроэлементов и поведение органических коллоидов. Для антикворумных соединений аналогичным ограничителем остаётся возможность к нежелательному отбору бактериальных популяций с альтернативными системами сигналинга или повышенной устойчивостью к регуляторным воздействиям.

Совокупность полученных данных позволяет рассматривать наночастицы железа и вещества антикворума как потенциальную основу для новых экологически ориентированных технологий в пресноводной аквакультуре. Их ценность заключается не только в возможном прямом влиянии на рост, обмен веществ или микробную обсеменённость, но и в способности воздействовать на систему в целом — через регуляцию микроэлементного статуса, микробной коммуникации, биоплёночной организации и устойчивости водной среды. Вместе с тем, результаты убеждают, что подобные технологии непосредственно связаны с следующими критериями: физиологическим состоянием рыбы, микробиологическим профилем воды и кишечника, признаками оксидативного стресса, биогеохимическим поведением железа, стабильностью функциональных групп микробиоты и отсутствием долгосрочного накопительного эффекта в системе.

В целом результаты исследования подтверждают, что комбинированное применение наночастиц железа и веществ антикворума следует рассматривать как перспективный инструмент управления микробно-экологическим состоянием пресноводных систем. Его сильная сторона заключается в возможности одновременно воздействовать на несколько ключевых узлов неблагополучия: микроэлементный дефицит, микробную вирулентность, биоплёнкообразование и снижение устойчивости среды. Ограничивающим фактором остаётся необходимость строгой дозировки и экологической верификации. В этой связи, именно такие комплексные подходы сегодня выглядят наиболее реалистичным направлением развития аквакультуры, ориентированной не только на рост продукции, но и на сохранение экологической устойчивости водных экосистем.

ВЫВОДЫ

1. Введение наночастиц железа и вещества-ингибитора кворум-сенсинг (умбеллиферона) в корм карпа не вызывает критических нарушений функционирования тест-организмов: адаптация беззубки обыкновенной (*Anodonta cygnea*), ряски малой (*Lemna minor*), дафнии большой (*Daphnia magna*) сопровождается адаптационными реакциями с сохранением высокой жизнеспособности, выражающийся в восстановлении роста и активности фотосинтетического аппарата.

2. Адаптация биосистемы «микробиом кишечника – организм хозяина *Cyprinus carpio*» на фоне поступления с кормом наночастиц железа сопровождается изменениями в составе кишечного микробиома с последующими изменениями элементного статуса карпа. В частности, увеличение содержания *Shewanella* сопровождалось повышением концентрации Mg ($r = 0,836$), Zn ($r = 0,702$), Na ($r = 0,651$) и Pb ($r = 0,679$), увеличение доли *Vibrio* ассоциировалось со снижением Fe ($r = -0,797$), Mg ($r = -0,812$), Na ($r = -0,753$), Zn ($r = -0,708$), I ($r = -0,749$), Co ($r = -0,682$), Cr ($r = -0,694$), Li ($r = -0,680$) и Al ($r = -0,699$). Род *Aeromonas* положительно коррелировал с Mg ($r = 0,612$), I ($r = 0,559$), Na ($r = 0,474$) и Fe ($r = 0,459$), *Niveispirillum* характеризовался отрицательными корреляциями с Mg ($r = -0,806$), Fe ($r = -0,668$), Zn ($r = -0,664$) и Na ($r = -0,644$).

3. Адаптация биосистемы «микробиом кишечника – организм хозяина *Cyprinus carpio*» на фоне поступления с кормом вещества-ингибитора кворум-сенсинга сопровождается изменениями состава кишечного микробиома с последующими взаимосвязанными изменениями элементного статуса карпа. В частности, род *Citrobacter* демонстрировал выраженные положительные корреляции с P ($r = 0,729$), K ($r = 0,723$), Se ($r = 0,723$) и Mg ($r = 0,632$), *Shewanella* — с Ni ($r = 0,628$), Co ($r = 0,587$), Mn ($r = 0,580$), Cu ($r = 0,568$), Cr ($r = 0,540$) и Fe ($r = 0,503$), а *Aeromonas* — с Ni ($r = 0,577$), Cr ($r = 0,551$), Fe ($r = 0,543$), Co ($r = 0,538$) и Cu ($r = 0,528$). Одновременно, *Cetobacterium*

характеризовался отрицательными корреляциями с Fe ($r = -0,537$), Pb ($r = -0,525$), Cu ($r = -0,521$), Ni ($r = -0,520$), Co ($r = -0,517$) и Cr ($r = -0,514$), а наиболее выраженные отрицательные связи для *Emticicia* и *Niveispirillum* отмечены с Hg ($r = -0,992$ и $-0,890$, соответственно) и Mg ($r = -0,700$ и $-0,650$, соответственно).

4. Воздействие НЧ Fe и вещества-ингибитора QS на фотосинтезирующие процессы в экосистеме на модели ряски малой (*Lemna minor*), сопровождалось снижением интенсивности вегетативного размножения в начальный период эксперимента. По мере адаптации растений происходило восстановление физиологического состояния. Во всех опытных группах содержание фотосинтетических пигментов к завершению эксперимента оставалось выше, чем в контрольной группе. Выраженный адаптационный эффект наблюдался при использовании умбеллиферона как самостоятельно, так и в сочетании с НЧ Fe путем активации вегетативного размножения после периода адаптации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Совместное применение наночастиц железа в дозировке 0,8 мг/кг и умбеллиферона в дозировке 1,0 мг/кг в кормлении рыб не наносит вреда пресноводной экосистеме водоема.

При этом, происходит снижение токсических веществ: ртути и алюминия, а также повышение пула макро- и микроэлементов: натрия, кальция, калия, фосфора, железа, хрома, марганца. Адаптация тест-объектов в период использования добавок характеризуется развитием адаптационных реакций, устойчивостью и повышением воспроизводительной функции.

Рекомендуется использовать комплекс тест-организмов, представляющих основные трофические уровни водных экосистем: макрофиты, зоопланктон, зообентос и рыб. Это обеспечивает экосистемный подход и повышает экологическую обоснованность нормативов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты позволяют рассматривать систему «микробиом кишечника – организм хозяина» как перспективный объект экологического управления. Дальнейшие исследования целесообразно направить на изучение функциональной активности кишечного микробиома с использованием метагеномных и метаболомных подходов, что позволит раскрыть механизмы регуляции элементного обмена, иммунного ответа и адаптации гидробионтов к воздействию экологических факторов.

Перспективным является исследование долговременного влияния наночастиц железа и ингибиторов Quorum sensing на микробиом и физиологическое состояние гидробионтов, включая оценку устойчивости выявленных изменений и экологической безопасности их применения. Используемые соединения представляют особый интерес благодаря своей биосовместимости: железо является естественным элементом биогеохимических циклов, а умбеллиферон относится к природным кумаринам, участвующим в регуляции взаимодействий микроорганизмов. При использовании физиологически обоснованных концентраций такие вещества обладают высоким потенциалом для создания экологически безопасных технологий.

Практическое значение дальнейших исследований связано с разработкой новых подходов к управлению микробными сообществами без применения антибиотиков. Ингибиторы Quorum sensing подавляют бактериальную коммуникацию и образование биопленок, не вызывая массовой гибели микроорганизмов, что снижает риск формирования антибиотикорезистентности и способствует сохранению экологического равновесия. В перспективе сочетание природных ингибиторов Quorum sensing и биосовместимых наночастиц может стать основой технологий, направленных на повышение устойчивости гидробионтов, сохранение биоразнообразия и поддержание стабильного функционирования пресноводных экосистем.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абилкосимова, Г.М. Магнитные наночастицы: получение, стабилизация, применение / Г.М. Абилкосимова, Д.М. Аронбаев, С.Д. Аронбаев // *Universum: химия и биология*. - 2024. - №4(118). – С. 54-66.
2. Абышев, А.З. Современное состояние синтеза и исследования анти-ВИЧ активности соединений ряда 2Н-1-бензопиран-2-она / А.З. Абышев, Р.А. Абышев, С.В. Гадзиковский, В.Х. Нгуен, В.А. Морозова // *Бутлеровские сообщения*. - 2013. - Т.33. - №1. – С. 1-21.
3. Апяри, В. В. Наночастицы золота и серебра в методах оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии / В. В. Апяри, С. Г. Дмитриенко, М. В. Горбунова, А. А. Фурлетов, Ю. А. Золотов // *Журнал аналитической химии*. - 2019. - Т. 74. - № 1. - С. 26-38.
4. Аринжанов, А. Е. Влияние минеральных и биологически активных добавок на продуктивность, микробиом и элементный статус цыплят-бройлеров и рыбы. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Оренбург, ФНЦБСТ РАН, 2025 – 417 с.
5. Аринжанова, М.С. Ультрадисперсные препараты металлов-микроэлементов: опыт использования и перспективы применения в аквакультуре / М.С. Аринжанова// *Животноводство и кормопроизводство*. - 2022. - Т. 105. - № 1. - С. 8-30.
6. Аркадьева, Г. В. Профилактика и лечение тромбозов и тромбоземболий антикоагулянтами непрямого действия / Г.В. Аркадьева // *Российский Кардиологический Журнал*. - 2003. - №6. – С. 73-79.
7. Атландерова, К. Н. Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Оренбург, ФНЦ БСТ РАН, 2019 – 123 с.

8. Байкенова, А.И. Оценка микробиоценоза при промышленном воспроизводстве рыб / А.И. Байкенова, Н.С. Браздылова, А.М. Садыков, А.А. Балтабеков, С.К. Койшыбаева // Инновации в науке. - 2013. - №22. - С.1-12.
9. Барнаулов, О.Д. Сравнительная оценка антиконвульсантной активности кумаринов умбеллиферона, обтусифола и отвара из надземной части *haplofillum obtusifolium* / О.Д. Барнаулов // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. - 2015. - №2. – С.49-53.
10. Богословская, О. А. Современные ранозаживляющие гели с антибактериальными свойствами на основе наночастиц меди / О. А. Богословская, И. П. Ольховская, М. Н. Овсянникова, А. Г. Яблоков, Н. Н. Глущенко // Российские нанотехнологии. - 2022. - Т. 17. - № 2. - С. 243-251
11. Ботоева, Е. А. Биологическая роль фитоэстрогенов (обзор литературы) / Е. А. Ботоева, И. П. Убеева, С. М. Николаев // Вестник БГУ. Медицина и фармация. - 2009. - №12. – С. 16-21.
12. Власенко, Л. В. Наночастицы металлов как потенциальные ингибиторы систем «*Quorum sensing*» у бактерий (обзор) / Л. В. Власенко, Д. Б. Косян // Животноводство и кормопроизводство. - 2021. - №2. – С.8-15.
13. Гаршин, М. В. Биотестирование нефтезагрязненных почв после ремедиации природным сорбентом – хитозаном / М. В. Гаршин, Л. А. Храмцова, Р. Р. Сулейманов // «Живые и биокосные системы». – 2025. – № 52. – С. 6-11
14. Гудкова, Е.С. Антибактериальный эффект наночастиц металлов на антибиотикорезистентные штаммы бактерий / Е.С. Гудкова, Е.С. Удегова, К.А. Гильдеева, Т.В. Рукоусева, Б. Съед// Инфекция и иммунитет. – 2021. - Т. 11. - № 4. - С. 771–776
15. Даниленко, В. Н. Микробиом животных: поиск биологически активных ингредиентов для создания пробиотиков и фармабиотиков / В. Н. Даниленко, Р. А. Ильясов, Р. А. Юнес, А. С. Яненко, Ю. Е. Козловский, Н. В. Сверчкова, Э. И. Коломиец // Успехи современной биологии. – 2022. - Т. 142. - № 4. - С. 333-348.

16. Джавахия В.Г., Стацюк Н.В., Щербакова Л.А., Поплетаева С.Б. Д
40 Афлатоксины: ингибирование биосинтеза, профилактика загрязнения и
деконтаминация агропродукции: монография – М.: ООО «Редакция журнала
“Достижения науки и техники АПК”», 2017. – 162 с.

17. Дыкман, Л. А. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы / Л. А. Дыкман, Н. Г. Хлебцов // Acta Naturae. - 2011. - №2. – С. 36-58

18. Зайдуллина, Р. А. Функционализированные наночастицы магнетита и перспективы их применения в экомониторинге / Р. А. Зайдуллина, В. А. Васенева, А. В. Мазур, Н. Н. Малышева, Т. С. Свалова, А. Н. Козицина // Экологическая безопасность в техносферном пространстве : сборник материалов Пятой Международной научно-практической конференции преподавателей, молодых ученых и студентов (Екатеринбург, 20 мая 2022 г.). - Екатеринбург: РГППУ. - 2022. - С. 149-154.

19. Зайцева, Ю.В. Микробиоценоз кишечника радужной форели в условиях садкового хозяйства / Ю.В. Зайцева, Д.А. Доколин, И.В. Злобин //Аграрный вестник Урала. – 2022. - № 12(227). - С. 42-53.

20. Земскова, Л.А. Композитные материалы на основе хитозана – сорбенты для очистки жидких радиоактивных отходов / Л.А. Земскова, А.М. Егорин // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. - 2024. - №6. - С. 144-158.

21. Зуева, М.С. Современные исследования по изучению микробиома кишечника рыб / М.С. Зуева, Е. П. Мирошникова, А. Е. Аринжанов, Ю. В. Килякова // Животноводство и кормопроизводство. - 2023. - №2. – С.198-212.

22. Ибрагимова, Д.Н. АЗА и токсического эффекта 3-замещенных и конденсированных хромен-2-онов (Кумаринов) / Д.Н. Ибрагимова, О.В. Федотова, А.Г. Озерова, О.В. Кофтин, В.Б. Бородулин, В.А. Самохвалов // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. - № 12. - С.7-10.

23. Ихтиопатология: метод. пособие по выполнению лабораторных работ для направления подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и

аквакультура / И.Ю. Домницкий, В.В. Салаутин, А.А. Терентьев // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – Саратов, 2016 – 81 с.

24. Калинкина Г. И., Коломиец Н. Э. Основы фитотерапии: учебное пособие. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2014. – 84 с.

25. Кашинская, Е.Н. Изменчивость состава микробиоты желудочно-кишечного тракта обыкновенного окуня *Perca fluviatilis* и серебряного карася *Carassius gibelio* в течение вегетационного сезона / Е.Н. Кашинская, Е.П. Симонов, Г.И. Извекова, О.А. Батурина, М.М. Соловьев // Вопросы ихтиологии. - 2021. - Т. 61. - № 6. - С. 713-729.

26. Климова, Т. А. Влияние фитохимического вещества на продуктивность и обмен веществ в организме цыплят-бройлеров. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Оренбург, ФНЦБСТ РАН, 2024 – 155 с.

27. Коваленко, А. С. Сравнительный анализ характеристик водных суспензий магнитных наночастиц оксидов железа различного фазового состава / А. С. Коваленко, О. А. Шилова, А. М. Николаев, С. В. Мякин // Коллоидный журнал. – 2023. - Т. 85. - № 3. - С. 319–327.

28. Кожевникова, Е.А. Биоэкологическая оценка модельного водоёма при экспериментальном загрязнении металлами в наноформе / Е.А. Кожевникова, С.А. Леднева, Е.А.Сизова, А.Е. Аринжанов // Вестник ОГУ. - 2017. - №5 (205). – С. 63-69.

29. Кокшаров, Ю. А. Магнитные наночастицы в медицине: успехи, проблемы, достижения / Ю. А. Кокшаров, С. П. Губин, И. В. Таранов, Г. Б. Хомутов, Ю. В. Гуляев // Радиотехника и электроника. – 2022. - Т. 67. - № 2. – С. 99-116

30. Кривошапкин, П.В. Основы коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы / П.В. Кривошапкин, Е.Ф. Кривошапкина, Е.А. Назарова, В.В. Сталюгин – СПб: Университет ИТМО. - 2019. – С. 138.

31. Крутов, П.В. Фурукумарины как потенциальные источники новых лекарственных средств / П.В. Крутов, Е.В. Ферубко, Т.Д. Даргаева, К.А. Пупыкина, Р.Р. Шакирова //Традиционная медицина. – 2019. - № 2(57). – С. 45-54.
32. Ласькова, Ю. Н. Борсодержащие кумарины (обзор)/ Ю. Н. Ласькова, А. А. Сердюков, И. Б. Сиваев // Журнал неорганической химии. – 2023. - Т. 68. - № 6. - С. 701-723.
33. Латышева О.Д., Казимирченко О.В. Циркуляция условно-патогенных бактерий в микробиоте декоративных рыб аквариумного комплекса музея мирового океана (г. Калининград) / О.Д. Латышева, О.В. Казимирченко // Вестник молодежной науки. - 2024. - №2 (44). – С.1-8.
34. Локтева, Д.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза при инвазионной патологии. Экспертиза моллюсков : учебное пособие / Д.А. Локтева, Т.Н. Сивкова; ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь : ИПЦ «Прокрость», 2023 – 114 с.
35. Макаров, В. В. «Зеленые» нанотехнологии: синтез металлических наночастиц с использованием растений / В. В. Макаров, А. Лав, О. В. Сеницына, С. С. Макарова, И. В. Яминский, М. Э. Тальянский, Н. О. Калинина // Acta Naturae. - 2014. - №1 (20). – С. 37-46.
36. Маленкина, К.А. Результаты исследований и рекомендации по использованию добавок микроэлементов в кормлении рыб: органические соединения, хелаты, наночастицы и комплексные препараты (обзор) / К.А. Маленкина, А.Е. Аринжанов // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2024. - № 1. – С. 27-49.
37. Мацакова, Е. Г. Наночастицы, проявляющие антибактериальные эффекты: свойства, получение, механизм действия, применение / Е. Г. Мацакова, Д. И. Симакова // Российские нанотехнологии. – 2020. - Т. 15. - № 2. - С. 238-243.

38. Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет) Рекомендации 52.24.763 – 2012 Оценка состояния пресноводных экосистем по комплексу химико-биологических показателей, Ростов на Дону, 2012

39. Мирошников, С.А. Наноматериалы в животноводстве (обзор) / С.А. Мирошников, Е.А. Сизова // Вестник мясного скотоводства. – 2017. – № 3(99). – С. 7-22.

40. Мирошникова, Е.П. Микробиом кишечника и обмен макроэлементов в теле рыб на фоне присутствия в водной среде наночастиц молибдена / Е.П. Мирошникова, А.Е. Аринжанов, Ю.В. Килякова // V Международная научно-практическая конференция «Биоэлементы», посвященная памяти профессора В.А. Бондаренко и 20-летию создания РОСМЭМ.12-13 мая 2021. - Оренбург. – С. 14-15.

41. Мирошникова, Е.П. Анализ взаимосвязи изменения состава микробиома кишечника и аминокислотного состава печени карпа (*Cyprinus carpio*) на фоне использования в кормлении различных биологически активных добавок / Е.П. Мирошникова, А.Е. Аринжанов, А.Н. Сизенцов, Ю.В. Килякова, М.С. Аринжанова // Рыбное хозяйство. - 2024. - № 2. - С. 88-94.

42. Мирошникова, Е.П. Обзор метааналитических эмпирических данных использования наночастиц эссенциальных элементов в аквакультуре / Е.П. Мирошникова, А.Н. Сизенцов, А.Е. Аринжанов, Ю.В. Килякова // Животноводство и кормопроизводство. - 2023. - №106(1). - С. 21-34.

43. Михайленко, В.С. Особенности свойств ультрадисперсных материалов / В.С. Михайленко, М. Д. Горбунова, Т.В. Ларина // Интерэкспо Гео-Сибирь. - 2021. - №1. – С. 73-78

44. Михайленко, В.С. Особенности свойств ультрадисперсных материалов / В.С. Михайленко, М.Д. Горбунова, Т.В. Ларина // Интерэкспо Гео-Сибирь. - 2021. - №1. С. -73-78.

45. Моргунов, Р.Б. Магнитные свойства наноструктур: методические указания в курсу «Физика конденсированного состояния» / Р.Б. Моргунов, А.И. Дмитриев, М.А. Баширов: - Оренбург: ГОУ ОГУ. – 2007. – С. 35.
46. Невежина, А.В. Перспективы создания антимикробных препаратов на основе наночастиц меди и оксидов меди / А.В. Невежина, Т.В. Фадеева // Acta biomedica scientifica. – 2021. - № 6(2). – С. 37-50.
47. Никифоров, Л. Н. Разработка параметров стандартизации сырья ряски малой (*Lemna minor L.*) / Л. Н. Никифоров, С. В. Кривошеков, Н. Э. Коломиец, Т. В. Кадырова, Н. В. Исайкина, Н. Ю. Абrameц, Е. А. Безверхняя, М. В. Белоусов // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2021. - Т. 10. - № 1. – С. 74-81.
48. Носова, С.С. Нанотехнология – ядро роста конкурентоспособности экономики России / С.С. Носова // Известия МГТУ МАМИ. – 2015. – Т. 9. - № 4-5. – С. 169-172.
49. Оленин, А. Ю. Химически модифицированные наночастицы золота и серебра в спектрометрическом анализе / А. Ю. Оленин // Журнал аналитической химии. – 2019. - Т. 74. - № 4. - С. 254-278.
50. Олькова, А.С. Оценка токсичности природных и техногенных сред по двигательной активности *Daphnia Magna* / А.С. Олькова, Е.А. Санникова, Д.В. Будина, Т.И. Кутявина, Н.М. Зимонина // Современные проблемы науки и образования. 2017. - № 3. – С. 138
51. Осипова, Е. А. Влияние наночастиц железа и магнетита на связывание ионов кадмия и свинца гуминовыми кислотами / Е. А. Осипова // Российский журнал прикладной экологии. - 2024. - №1. – С.84-91.
52. Органический фотокатализатор для очистки воды от указанных примесей - Патент RU2844040C1 / Е.О. Моисеева, Д.А. Горин, Т.В. Дубинина. - АНО ВО «Сколковский институт науки и технологий» (Сколковский институт науки и технологий). – 2024. – 1с.

53. Пашкова, Е.В. Развитие нанотехнологий и формирование качественно новой структуры промышленности России / Е.В. Пашкова // Вестник Российского университета дружбы народов. - 2008. - №2. - С. 82-96.
54. Поляк Ю. М., Демчук А. С., Шаров А. Н., Губелит Ю. И., Березина Н. А. Углеводородокисляющие бактерии в пищеварительном тракте рыб как индикатор загрязнения прибрежной морской среды / Ю. М. Поляк, А. С. Демчук, А. Н. Шаров, Ю. И. Губелит, Н. А. Березина // Доклады российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. - Т.491. - С. 212–216.
55. Попова, Э. В. Фунгицидная и бактерицидная активность хитозанов с разной молекулярной массой и медных комплексов на их основе/ Э. В. Попова, Н. М. Коваленко, Н. С. Домнина // Прикладная биохимия и микробиология. – 2022. – Т. 58. - № 3. - С. 287–293
56. Рогов, В.А. Тенденции развития нанотехнологий / В.А. Рогов, В.В. Копылов// Вестник Российского университета дружбы народов. - 2008. - №2. - С. 5-8.
57. Руднева, Ю.В., Дисперсные металлические сплавы: методы синтеза и каталитические свойства (обзор)/ Ю.В. Руднева, С.В. Коренев // Журнал неорганической химии. - 2024. - Т. 69. - №8. - С. 1181-1200.
58. Рыков, С.А. Сканирующая туннельная микроскопия и атомарно-силовая микроскопия полупроводниковых материалов и наноструктур : учеб. пособие / С.А. Рыков. – Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого: СПб. - 2022. – 75 с.
59. Рычагов, А. Ю. Перспективные электродные материалы для суперконденсаторов / А. Ю. Рычагов, Ю. М. Вольфович, М. А. Воротынцев, Л. Д. Квачева , Д. В. Конев, А. В. Крестинин, Ю. Г. Кряжев, В. Л. Кузнецов, Ю. А. Кукушкина, В. М. Мухин, В. В. Соколов, С. П. Червонобродов // Электрохимическая энергетика. - 2012. - Т. 12. - № 4. - С. 167-18
60. Семкина, О.А. Технологические аспекты разработки капсул с анмарином для лечения системных микозов/ О.А. Семкина, С.П. Комкова,

М.А. Джавахян // Здоровье и образование в XXI веке. - 2018. – Т. 20. - №1. – 2-16.

61. Скрипкин, Е.В. Применение сферических наночастиц диоксида олова в эффективной очистки воды от остаточных количеств антибиотиков / Е.В. Скрипкин, П.Ю. Черезова, Н.П. Бобрышева, М.Г. Осмоловский, М.А. Вознесенский, О.М. Осмоловская // XX Молодежная научная конференция ИХС РАН, посвященная 135-летию со дня рождения академика И.В. Гребенщикова, Санкт-Петербург. – 2022. - С. 106-108.

62. Сыса, А.Г. Токсичность катионов тяжелых металлов и их смесей для *Letna Minor* и *Daphnia Magna* в контексте оценки экологических рисков / А.Г. Сыса, Е.П. Живицкая, Н.И. Кравченя // Экобиотех. - 2025. – Т. 8. - № 4. - С. 477-490.

63. Тюменцева, И. С. Иммуномагнитные сорбенты для экспресс-диагностики опасных инфекционных заболеваний: аспекты биотехнологии и опыт применения / И. С. Тюменцева, Е. Н. Афанасьев, Л. В. Ляпустина, О. И. Коготкова, И. В. Жарникова, В. И. Ефременко, Д. А. Будыка, Н. Ф. Василенко, Е. Е. Афанасьева, А. Н. Куличенко // Проблемы особо опасных инфекций. - 2009. - №3. – С. 59-61.

64. Ускова, И.В. Комплексный мониторинг бактериопланктона рыбоводного хозяйства реки Тулома и энтеральной микробиоты кишечника, культивируемой в садках форели / И.В. Ускова, В.А. Потешкина, К.А. Калинин // Вестник МГТУ. - 2019. - Т. 22. - № 3. - С. 432–440.

65. Филиппова, О.В. Фитоэстрогены: перспективы применения / О.В.Филиппова // Эффективная фармакотерапия. - 2020. - Т. 16. - № 22. - С. 30–36.

66. Хан В.В., Линченко С.Н., Дробышева О.М., Бондина В.М. Вещества цитотоксического, нейротоксического действия и ядовитые технические жидкости: учебно-методическое пособие. Краснодар, КГМУ, 2011. – 108 с.

67. Штратникова, В. Ю. Фуранокумарины зонтичных: история исследования, разнообразие, генетические основы синтеза, физиологическая роль в растении и применение в медицине / В.Ю. Штратникова // Физиология растений – 2023. - Т. 70. - № 7. - С. 715-735.

68. 16SMetagenomic Sequencing Library Preparation protocol from Illumina. Part #15044223, Rev. B. [Электронный ресурс]. – 2014. – URL:https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf (дата обращения 01.08.2021)

69. Abbas W.T. Advantages and prospective challenges of nanotechnology applications in fish cultures: a comparative review // Environmental Science and Pollution Research, 2021. – V.28(7). – P. 7669-7690.

70. Alam M., Khan A., Wadood A., Khan A., Bashir S., Aman A., Jan A.K., Rauf A., Ahmad B., Khan A.R. Farooq U. Bioassay-Guided Isolation of Sesquiterpene Coumarins from *Ferula narthex* Bioss: A New Anticancer Agent // Frontiers in Pharmacology. - 2016. - V. 7. - P. 26.

71. Alavi M., Li L., Nokhodchi A. Metal, metal oxide and polymeric nanoformulations for the inhibition of bacterial quorum sensing // Drug Discovery Today. – 2023. – Vol. 28. – I. 1. – P.103392.

72. Annunziata F., Pinna C., Dallavalle S., Tamborini L., Pinto A. An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities // International Journal of Molecular Sciences. - 2020. – Vol. 21(13). - P.4618.

73. Anywar G., Muhumuza E. Bioactivity and toxicity of coumarins from African medicinal plants // Front. Pharmacol. – 2024. – Vol. 14. – P. 1231006.

74. Aslam H., Aslam H., Umar A., Khan M.U., Honey S., Sohail J. Silver iodide nanostructures in aquaculture and fisheries // Aquaculture, Fish and Fisheries. – 2024. - V.8. – P. 096.

75. Astumian R. Running on information // Nature nanotech. 2016. – V.11. – P.582–583.

76. Aydin F., Çek, Ş. Mineral-microbiota interactions in aquaculture: implications for fish gut health and nutrition // *Vet Res Commun.* - 2026. – V.50. – P. 268.
77. Bacha A.S., Khan I., Irfan M., Host–Microbiota Metabolic Interactions in Atherosclerosis: Oral, gut, and Blood Perspectives // *Probiotics & Antimicro.* – 2026. – Vol. 2. – P.11054.
78. Bayda S., Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani M., Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine // *Molecules.* - 2020. – V. 25. – P. 112.
79. Berggren H., Tibblin P., Yıldırım Y., Broman E., Larsson P., Lundin D., Forsman A. Fish Skin Microbiomes Are Highly Variable Among Individuals and Populations but Not Within Individuals // *Front. Microbiology.* - 2022. – Vol.12. P. 767770.
80. Bisai K., Ashokan A., Parida C.K. Fish microbiome as a mediator of xenobiotic toxicity: mechanistic insights, ecological implications and future directions // *JoBAZ.* – 2026. – V. 87. – P. 38.
81. Borah D., Rout J., Nooruddin T. Application of Nanotechnology in Bioenergy Production from Algae and Cyanobacteria // *Modern Nanotechnology/* - 2023. - Vol. – 8(12). – P. 267–291.
82. Brooks C.N., Field E.K. Iron Flocs and the Three Domains: Microbial Interactions in Freshwater Iron Mats // *MBio.* – 2020. Vol. 11(6). P/ 02720-20.
83. Brodie Ch., Payne Ch., Lindsay E., Perry W. The role of the gut microbiome in sustainable teleost aquaculture // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* – 2022. – Vol. 287. – P. 0184.
84. Butt R.L., Volkoff H. Gut Microbiota and Energy Homeostasis in Fish // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2019. – Vol. – 10. - P. 9.
85. Byrd K.A., Thilsted S.H., Fiorella K.J. Fish nutrient composition: a review of global data from poorly assessed inland and marine species // *Public Health Nutr.* – 2021. – Vol.24(3). P. 476-486.

86. Cao X., Fan G., Wu S., Luo J., Lin Y., Zheng W., Min S., Xu K-Q. Preparation of Iron-Based Nanozymes and Their Application in Water Environment: A Review // *Water*. – 2024. – Vol. 16(23). – P. 3431.
87. Cao Y., Dong Q., Wang D., Zhang P., Liu Y., Niu C. Microbiome Marker: An R/Bioconductor Package for Microbiome Marker Identification and Visualization // *Bioinformatics*. – 2022. – Vol. 38. – P. 4027–4029.
88. Caputo F., Caputo F., Clogston J., Calzolari L., Rösslein M., Prina-Mello A. Measuring particle size distribution of nanoparticle enabled medicinal products, the joint view of EUNCL and NCI-NCL. A step by step approach combining orthogonal measurements with increasing complexity // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – V. 299. – P. 31-43.
89. Citarella A., Vittorio S., Dank C., Ielo L. Syntheses, reactivity, and biological applications of coumarins. // *Front. Chem.* – 2024. – Vol. 12. – P. 1362992.
90. Cui Y., Tian Z., Lu H., Deng D., Liu Z., Rong T., Yu M., Ma X. Zinc oxide nanoparticles improve gut health and reduce faecal zinc excretion in piglets // *Livestock Sci.* – 2021. – Vol. 251. – P.104610.
91. De Silva C., Nawawi N.M., Abd Karim M.M., Abd Gani S., Masarudin M.J., Gunasekaran B., Ahmad S.A. The mechanistic action of biosynthesised silver nanoparticles and its application in aquaculture and livestock industries // *Animals (Basel)*. – 2021. – V. 11(7). – P.2097.
92. De Silva, C. The mechanistic action of biosynthesised silver nanoparticles and its application in aquaculture and livestock Industries / N.M. Nawawi, M.M. A. Karim, S. A. Gani, M.J. Masarudin, B. Gunasekaran, S.A. Ahmad // *Animals*. – 2021. – V. 11. P. 2097.
93. Dube, E. Engineered nanoparticles in aquatic systems: Toxicity and mechanism of toxicity in fish / E. Dube, G. E. Okuthe // *Emerging Contaminants*. – 2023. - V. 9. – I. 2. – P.100212

94. Edgar R. C., Flyvbjerg H. Error filtering, pair assembly and error correction for next-generation sequencing reads // *Bioinformatics*. - 2015. - V.31(21). - P.3476-3482.
95. El-Sawy E.R., Abdel-Aziz M.S., Abdelmegeed H., Kirsch G. Coumarins: Quorum Sensing and Biofilm Formation Inhibition // *Molecules*. - 2024. - V. 29(19). - P. 4534.
96. Elshaer S.L., Shaaban M.I. Inhibition of Quorum Sensing and Virulence Factors of *Pseudomonas aeruginosa* by Biologically Synthesized Gold and Selenium Nanoparticles // *Antibiotics (Basel)*. – 2021. – Vol.10(12). – P.1461.
97. Fan X., Wei G., Quan X. Carbon nanomaterial-based membranes for water and wastewater treatment under electrochemical assistance // *Environmental Science: Nano*. - 2023. – V.10. - P.11-40.
98. Lei C., Sun Y., Tsang D.C.W., Lin D. Environmental transformations and ecological effects of iron-based nanoparticles // *Environmental Pollution*. – 2018. – Vol. 232. – P.10–30.
99. Hasan K.N., Banerjee G. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review // *JoBAZ*. 2020. – Vol.81. – P.53.
100. Gabrielyan L., Hakobyan L., Hovhannisyan A., Trchounian A. Effects of iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles on *Escherichia coli* antibiotic-resistant strains // *Applied Microbiology*. - 2019. - V.126(4). - P. 1108-1116.
101. Gleiter H. Nanostructured materials: basic concepts and microstructure // *Acta materialia*. – 2000. – V. 48(1). – P. 1-29.
102. Gudkov S.V., Burmistrov D.E., Serov D.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. A mini review of antibacterial properties of ZnO nanoparticles // *Frontiers in Physics*. – 2021. – V. 9. – P. 641481.
103. Gulakowski R.J., McKee T.C., Cardellina J.H., Riccio R., D'Auria M.V., Iorizzi M., Minale L., Moran R.A., McMahon J.B. HIV-Inhibitory Natural Products. 11. Comparative Studies of Sulfated Sterols from Marine Invertebrates // *J. Med. Chem.* – 1994. – Vol. 37. – P. 793–797.

104. Hai-Ning L., Peng-Fei T., Yong J. Benzocoumarins: isolation, synthesis, and biological activities // *Mini Rev Med Chem.* – 2014. – Vol.4(7). – P.603-22.
105. Han L., Pang K., Fu T., Phillips CJC, Gao T. Nano-selenium supplementation increases selenoprotein (Sel) gene expression profiles and milk selenium concentration in lactating dairy cows // *Biol Trace Elem Res.* - 2021. – Vol. 199(1). – P. 113–119.
106. Heghes S.C., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C.A., Filip L. Safety Profile of Nutraceuticals Rich in Coumarins: An Update // *Front. Pharmacol.* - 2022. – V.13. – P.803338.
107. Hu C., He G., Yang Y., Wang N., Zhang Y., Su Y., Zhao F., Wu J., Wang L., Lin Y., Shao L. Nanomaterials Regulate Bacterial Quorum Sensing: Applications, Mechanisms, and Optimization Strategies // *Adv Sci (Weinh).* – 2024/ - Vol. 11(15). – P.2306070.
108. Huang C., Yan M., Wei X., Huang J., Xu L., Gan L., Chu W. Mechanistic insights into toxic effects of silver nanoparticles on fish // *Gong Gondwana Research.* – 2026. – V. 156. – P. 156-170.
109. Huang H., Winter J.M., Osterberg E.C., Horton R.M., Beckage B. Total and extreme precipitation changes over the Northeastern United States // *Journal of Hydrometeorology.* – 2017. – V.18(6). – P. 1783-1798.
110. Huang X., Auffan M., Eckelman M.J. Trends, risks and opportunities in environmental nanotechnology // *Nat Rev Earth Environ.* 2024. – V. 5. – P.572–587.
111. Iwata N., Kainuma M., Kobayashi D., Kubota T., Sugawara N., Uchida A., Ozono S., Yamamuro Y., Furusyo N., Ueda K., Tahara E., Shimazoe T. The Relation between Hepatotoxicity and the Total Coumarin Intake from Traditional Japanese Medicines Containing Cinnamon Bark // *Front. Pharmacol.* - 2016. - V. 7. – P.174.

112. Javed R., Zia M., Naz S. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects // *Nanobiotechnol.* – 2020. – V. 18(172). – P. 1-15.
113. Jin Y., Xia J., Pan Z., Yang J., Wang W., Fu Z. Polystyrene microplastics induce microbiota dysbiosis and inflammation in the gut of adult zebrafish // *Environ Pollut.* – 2018. – Vol. 235. – P.322-329.
114. John St. C.A., Kee V.E., Kirilchik S., Bogdanov B., Neely D., Sandel M.W., Aguilar A. Diversification along a benthic to pelagic gradient contributes to fish diversity in the world's largest lake (Lake Baikal, Russia) // *Molecular Ecology.* - 2021. – Vol. 31(1). - P. 238-251.
115. Joopari O. S., Khajerahimi A. E., Kazempoor R., Nowruzi B. Evaluating the biological activities of silver and zinc oxide nanoparticles biosynthesized by *neowestiellopsis persica* A1387 // *Journal of microbiology, biotechnology and food Sciences.* – 2017. – V.14(3). – P. e10397.
116. Ju Sh., Tan Y., Wang Q., Zhou L., Wang K., Wen Ch., Wang M. Antioxidant and anti inflammatory effects of esculin and esculetin (Review) // *Experimental and Therapeutic Medicine.* – 2024. - V.27(6). DOI: 10.3892/etm.2024.12536
117. Kah Sem N.A.D. Abd Gani S., Chong C.M., Natrah I., Shamsi S. Management and mitigation of vibriosis in aquaculture: nanoparticles as promising alternatives // *International journal of molecular sciences.* – 2023. - V.24(16). – P.12542.
118. Kamel A. H., Hisham S. M., A. A. Abd-Rabboh Metal oxides and their composites for the remediation of organic pesticides: advanced photocatalytic and adsorptive solutions // *RSC Advances.* – 2025. – V.15. – P. 6875-6901.
119. Kanika N.H., Liaqat N., Chen H., Ke J., Lu G., Wang J., Wang C. Fish gut microbiome and its application in aquaculture and biological conservation // *Front. Microbiol.* - 2025 – V.15. – P.1521048.

120. Karaman E., Eravci D.B., Sanin S.L., Turksoy V.A. Differential toxicity of ionic silver and silver nanoparticles: a meta-analysis of ecotoxicological studies // *Toxics*. - 2025. – V. 14(1). – P. 28.
121. Klindworth A., Priesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., Oliver F. Glöckner Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies // *Nucleic Acids Research*. – 2013. - V. 41. - Issue 1. - P. 1808.
122. Kumar N., Thorat S.T., Gunaware M.A., Kumar P. and Reddy K.S. Unraveling gene regulation mechanisms in fish: insights into multistress responses and mitigation through iron nanoparticles // *Front. Immunol.* - 2024. – V.15. – P.1410150.
123. Kumar S., Ram A., Sahu K., Kumari P., Maity J., Kumar B., Chhatwal R. J., Singh B., Prasad A. Efficient and stereoselective synthesis of sugar fused pyrano[3,2-c]pyranones as anticancer agents // *RSC Advances*. – 2023. – Vol. 13. – P. 24604–24616
124. Kummerle A.E., Vitorio F., Franco D.P., Pereira T.M. Coumarin Compounds in Medicinal Chemistry: Some Important Examples from the Last Year // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2018. – V.18. – P.124–128.
125. Lee J.-H., Kim Y.-G., Cho H.S., Ryu S.Y., Cho M.H., Lee J. Coumarins Reduce Biofilm Formation and the Virulence of *Escherichia coli* O157:H7 // *Phytomedicine*. - 2024. – V.21. - P.1037–1042.
126. Lekamge S., Ball A.S., Shukla R., Nuggeoda D. The Toxicity of Nanoparticles to Organisms in Freshwater. In: de Voogt, P. (eds) // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. - 2018. - V. 248. – P. 1–80.
127. Li Z.-M., Wang X.-L., Jin X.-M., Huang J.-Q., Wang L.-S. The effect of selenium on antioxidant system in aquaculture animals // *Frontiers in Physiology*. – 2023. - V.14. - P. 1153511.
128. Liao G., She A., Chu W., Zuo J., Yao W. Zeolite-loaded titanium dioxide photocatalytic cement-based materials for efficient degradation of drinking

water disinfection byproduct trichloroacetamide // *Frontiers in Materials*. – 2021. – V. 8. – P.674287.

129. Limbach L.K., Bereiter R., Mueller E., Krebs R., Gaelli R., Stark W.J. Removal of oxide nanoparticles in a model wastewater treatment plant: Influence of agglomeration and surfactants on clearing efficiency // *Environ Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 42. – P.5828–5833.

130. Liu H., Zhang H., Yu Q., Zhang S., Tu X., Zhuang F. Fu S. Lead induced structural and functional damage and microbiota dysbiosis in the intestine of crucian carp (*Carassius auratus*) // *Front. Microbiol.* - 2023. – Vol.14. – P.1239323.

131. Liu Z.-Y., Yu Y., Yu X.-Z. Interplay between oxidative stress and inflammation in aquatic animals: mechanisms, consequences, and implications for aquaculture health // *Antioxidants*. – 2026. – V.15. – P. 208.

132. Lopes S., Pinheiro C., Soares A. M.V.M., Loureiro S. Joint toxicity prediction of nanoparticles and ionic counterparts: Simulating toxicity under a fate scenario // *Journal of Hazardous Materials*. – 2016. – V. 320. - P. 1-9.

133. Lozupone C., Knight R. UniFrac: A New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2005. – Vol. 71. – P. 8228–8235.

134. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads / *EMBnet. journal.* - 2011. - V.17(1). - P.10-12.

135. Masuri S., Era B., Pintus F., Cadoni E., Cabiddu M.G., Fais A., Pivetta T. Hydroxylated Coumarin-Based Thiosemicarbazones as Dual Antityrosinase and Antioxidant Agents // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2023. – Vol. 24(2). - P. 1678.

136. Mbuyazi T.B., Ajibade P.A. Magnetic iron oxides nanocomposites: synthetic techniques and environmental applications for wastewater treatment // *Discover Nano*. - 2024. - V. 19. - P. 158.

137. Mdluli N.S., Mabena K.G., Kiwanuka M.J., Mketi N. Effect of Algae-Based Nanoparticles and Implications in Remediation. In: Guldhe, A., Lakkakula,

J., Wagh, N.S. (eds) Biomaterials for Environmental Applications: Detection and Remediation. Environmental Challenges and Solutions // Environmental Challenges and Solutions. – 2026. - Vol. 25. – P. 209-219

138. McMurdie P.J., Holmes S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data // PLoS ONE. – 2013. – V.8. – P. e61217.

139. Medina F.G., Marrero J.G., Macías-Alonso M., González M.C., Córdova-Guerrero I., Teissier García A.G., Osegueda-Robles S. Coumarin heterocyclic derivatives: chemical synthesis and biological activity // Nat Prod Rep. - 2015. – Vol. 32(10). – P.1472-507.

140. Méndez-Martínez Y., Campa-Córdova Á.I., Luna-González A. Editorial: Innovative approaches to modulate fish gut microbiota for disease management in aquaculture // Front. Microbiol. - 2025. - V.16. – P.1721029.

141. Min S., Lee H, Shin M., Lee J. Synthesis and Biological Properties of Pyranocoumarin Derivatives as Potent Anti-Inflammatory Agents // International Journal of Molecular Sciences. - 2023. – V.24. – P.10026.

142. Nassar N. N. Rapid removal and recovery of Pb(II) from wastewater by magnetic nanoadsorbents // Journal of Hazardous Materials. – 2010. – V.184 (1-3). – P. 538–546.

143. Nayak S.K. Role of gastrointestinal microbiota in fishn // Aquaculture Research. – 2010. – Vol. 41. – I.11. – P.1553–1573.

144. Nguyen H. A., Mai Q. D., Ngo X. D., Tran Q. H., Doan Q. T., Le Th. N. L., Bui V. H., Le A. Gold nanoparticle-based optical nanosensors for food and health safety monitoring: recent advances and future perspectives // RSC Advances. – 2022. – V.12. - P. 10950-10988.

145. Olawade D.B., Wada O.Z., Fapohunda O., Egbewole B.I., Ajisafe O., Ige A.O. Nanoparticles for microbial control in water: mechanisms, applications, and ecological implications // Frontiers in Nanotechnology. – 2024. – V. 6. - P. 1427843.

146. Oyekanmi N., Kefinde A., Adejoke V., Oyetola O., Oluwabukola, P. Jumoke J., Eno E., Oyinye U., Kabiru P., Shuaibu B., Adijat J., Deborah A., Zainab K.-B. Microbiome Diversity Analysis of the Bacterial Community in Idah River, Kogi State, Nigeria // *Advances in Microbiology*. – 2024. – Vol. 12. – P.343-362.
147. Pang X., Zhou D., Song Y., Pei D., Wang J. Iron–microbiome interactions // *Polyhedron*. - 2018. – V. 155. – P. 136–143
148. Parks, D.H. GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy // *Nucleic acids research*. – 2022. – V. 50(1). – P.785–794.
149. Pasinszki T., Krebsz M. Synthesis and Application of Zero-Valent Iron Nanoparticles in Water Treatment, Environmental Remediation, Catalysis, and Their Biological Effects // *Nanomaterials*. – 2020. – V. 10. – I. 5. – P. 917.
150. Perez R. F., Pillow J.J., Kaur P. Bioprospecting microbes and enzymes for the production of pterocarpanes and coumestans // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2023. – V.11. – P.1154779.
151. Prado E., Florent C., Laurent S., Evrard J., Tardivel M., Forest B., Bocher A., Rouxel J. Toward a SPR imaging in situ system to detect biotoxin in seawater // *SPIE Photonics Conference*. – 2020. – V. 21. – P. 2559856.
152. Pruesse E., Peplies J., Glöckner F. O. SINA: accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes // *Bioinformatics*. – 2012. – V. 28(14). P. 1823-1829.
153. Qu Y., Zou Yi., Wang G., Zhang Y., Yu Q. Disruption of Communication: Recent Advances in Antibiofilm Materials with Anti-Quorum Sensing Properties // *ACS Applied Materials & Interfaces*. - 2024. – V. 16 (11). – P. 13353-13383.
154. Qu C., Feng F., Tang J., Tang X., Wu D., Xiao R., Tang C. J. A review of quorum sensing regulating heavy metal resistance in anammox process: Relations, mechanisms and prospects // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. – 2024. – V.54(5). – P. 369–384.

155. Quintanilla-Villanueva G.E., Maldonado J., Luna-Moreno D., Rodríguez-Delgado J.M., Villarreal-Chiu J.F., Rodríguez-Delgado M.M. Progress in Plasmonic Sensors as Monitoring Tools for Aquaculture Quality Control // Biosensors. – 2023. – V. 13. – P. 90.
156. Ray A.K., Sengupta S., Samanta S.K. Microbial ecology in aquaculture systems // Aquaculture Research. – 2012. – V. 43. – P. 1-18.
157. Ringø E., Zhou Z., Vecino J.L.G., Wadsworth S., Romero J., Krogdahl A., Olsen R.E., Dimitroglou A., Foey A., Davies S., Owen M., Lauzon H.L., Martinsen L.L., De Schryver P., Bossier P., Sperstad S., Merrifield D.L. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? // Aquacult Nutr. – 2016. – V. 22. – P.219–282.
158. Rocha V., Lago A., Silva B., Barros Ó., Neves I.C., Tavares T. Immobilization of biogenic metal nanoparticles on sustainable materials – green approach applied to wastewater treatment: a systematic review // Environ. Sci.: Nano. – 2024. – V.11. – P. 36-60.
159. Rout A.K., Tripathy P.S., Dixit S., Behera D.U., Behera B., Das B.K., Behera B.K. Unveiling the Microbiome Landscape: A Metagenomic Study of Bacterial Diversity, Antibiotic Resistance, and Virulence Factors in the Sediments of the River Ganga, India // Antibiotics (Basel). – 2023. – V.12(12). – P.1735.
160. Ruiz A., Torrecillas S., Kashinskaya E., Andree K.B., Solovyev M., Gisbert E. Comparative study of the gut microbial communities collected by scraping and swabbing in a fish model: a comprehensive guide to promote non-lethal procedures for gut microbial studies // Front. Vet. Sci. – 2024. - V. 11. – P.1374803.
161. Saad A.M., Sitohy M.Z., Sultan-Alolama M.I., El-Tarabily K.A., El-Saadony M.T. Green nanotechnology for controlling bacterial load and heavy metal accumulation in Nile tilapia fish using biological selenium nanoparticles biosynthesized by *Bacillus subtilis* AS12 // Frontiers in Microbiology. – 2022. – V.13. – P.1015613.

162. Saeki E.K., Martins H.M., Camargo L.C., Anversa L., Tavares E.R., Yamada-Ogatta S.F., Lioni L.M.Y., Kobayashi R.K.T., Nakazato G. Effect of Biogenic Silver Nanoparticles on the Quorum-Sensing System of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and PA14 // *Microorganisms*. – 2022. – V.10(9). – P.1755.
163. Sakthivel N., K. Velayudhannair Role of nanotechnology in aquaculture disease management: a comparative review // *Aquaculture and fisheries*. – 2026. – V. 11. – I. 5. – P. 868-877.
164. Samanth M., Bhat M. Synthesis and Importance of Coumarin Derivatives in Medicinal Chemistry: A Comprehensive Review // *Russ J Bioorg Chem*. – 2024. – V.50. – P. 1672–1691.
165. Segata N., Izard J., Waldron L., Gevers D., Miropolsky L., Garrett W.S., Huttenhower C. Metagenomic Biomarker Discovery and Explanation // *Genome Biol*. – 2011. – V. 12. – P. R60.
166. Shaalan M.I., El-Mahdy M.M., Theiner S. In vitro assessment of the antimicrobial activity of silver and zinc oxide nanoparticles against fish pathogens // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 2017. – V.59. – I. 49. – P. 1-11.
167. Shaw B. J., Handy R. D. Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions // *Environment International*. – 2011 - V. 37. – I. 6. – P. 1083-1097.
168. Sieler Jr. M.J., Al-Samarrie C.E., Kasschau K.D., Kent M.L., Sharpton T.J. Modeling the zebrafish gut microbiome's resistance and sensitivity to climate change and parasite infection // *Front. Microbiomes*. - 2025. – V.4. – P. 1605168.
169. Sielska A., Skuza L. Copper nanoparticles in aquatic environment: release routes and oxidative stress-mediated mechanisms of toxicity to fish in various life stages and future risks // *Current issues in molecular biology*. – 2025. – Vol. 47. – I.6. – P. 19-28.
170. Soares M. S., Singh R., Kumar S., Jha R., Nedoma J., Martinek R., Marques C. The role of smart optical biosensors and devices on predictive analytics for the future of aquaculture systems // *Optics & Laser Technology*. - 2024. – V. 177. – P. 111049.

171. Sohail Y., Raza N., Shakeel N., Raza H., Manzoor S. , Yasmin G., Iqbal A., Manzoor S., Albaqami M.D., Wabaidur M. S. Polyaniline-coated nanoparticles of zinc oxide and copper oxide as antifungal agents against *Aspergillus parasiticus* // *Frontiers in Plant Science*. - 2022. – V. 13. – P. 925451.
172. Spilsbury F., Foysal M.J., Tay A., Gagnon M.M. Gut Microbiome as a Potential Biomarker in Fish: Dietary Exposure to Petroleum Hydrocarbons and Metals, Metabolic Functions and Cytokine Expression in Juvenile *Lates calcarifer* // *Front. Microbiol.* – 2022. – V.13. – P.827371.
173. Su X., Liu B., Gong F., Yin J., Sun Q., Gao Y., Lv Z., Wang X. Isofraxidin attenuates IL-1 β -induced inflammatory response in human nucleus pulposus cells // *Journal of Cellular Biochemistry*. - 2019. - V. 20(8). - P.13302-13309.
174. Sugita H. Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish // *Aquaculture*. – 1996. – V. 145. – P. 195-203.
175. Sullam K.E., Essinger S. D., Lozupone C. A., O'Connor M. P., Rosen G. L., Knight R., Kilham S. S., Russell J. A. Environmental and Ecological Factors Shaping the Gut Microbiota of Fish // *Molecular Ecology*. - 2012. – V. 21. – I. 13. – P. 3363 – 3378.
176. Sultana S., Khan M.N., Hossain M.S., Dai J., Rahman M.S., Salimullah M. Community Structure and Functional Annotations of the Skin Microbiome in Healthy and Diseased Catfish, *Heteropneustes fossilis* // *Front. Microbiol.* - 2022. - V. 13. – P. 856014.
177. Sun Y., Zong W., Wang J., He J., Zhang J., Han T. Astaxanthin enhances antioxidant capacity to alleviate thermal stress-induced liver inflammation in largemouth bass (*Micropterus salmoides*): a multi-omics insight into glutathione metabolism remodeling // *Frontiers in Marine Science*. – 2025. – V.12. – P.1595039.
178. Sylvain F.É., Cheaib B., Llewellyn M., Gabriel Correia T., Barros Fagundes D., Luis Val A., Derome N. PH drop impacts differentially skin and gut

microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Sci Rep. - 2016. –V.6. – P.32032.

179. Talwar C., Nagar S., Lal R., Negi R.K. Fish Gut Microbiome: Current Approaches and Future Perspectives // Indian J Microbiol. – 2018. – V.58(4). – P.397-414.

180. Tan N., Yazıcı-Tütüniş S., Bilgin M., Tan E., Miski M. Antibacterial Activities of Pyrenylated Coumarins from the Roots of *Prangos hulusii* // Molecules. - 2017. Vol. 22(7). - P.1098.

181. Tarnecki A.M., Burgos F.A., Ray C.L., Arias C.R. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics // J Appl Microbiol. – 2017. – Vol.123(1). – P.2-17.

182. Tong T., Fang K., Thomas S. A., Kelly J.J., Gray K. A., Gaillar J.-F. Chemical Interactions between Nano-ZnO and Nano-TiO₂ in a Natural Aqueous Medium // Environmental Science & Technology. – 2014. – V. 48. – I. 14. – P. 7924–7932.

183. Van Kessel M.A., Dutilh B.E., Neveling K. Pyrosequencing of 16S rRNA gene amplicons to study the microbiota in the gastrointestinal tract of carp (*Cyprinus carpio* L.) // AMB Expr . – 2011. – V.1. – I. 41. – P. 20-47.

184. Vajagathali M., Jesu A. Unveiling the trifecta of cyanobacterial quorum sensing: LuxI, LuxR and LuxS as the intricate machinery for harmful algal bloom formation in freshwater ecosystems // Science of The Total Environment. – 2024. – V. 924. – P.171644.

185. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis: Springer: Cham, Switzerland. – 2016. – P. 2197-5736.

186. Wolska K.I., Grudniak A.M., Markowska K. Inhibition of Bacterial Quorum Sensing Systems by Metal Nanoparticles // Metal Nanoparticles in Pharma. – 2017. - V.7. – P. 123–138.

187. Xu S., Zhan L., Tang W., Wang Q., Dai Z., Zhou L., Feng T., Chen M.I, Wu T., Hu E. Microbiota Process: A Comprehensive R Package for Deep Mining Microbiome // Innovation. - 2023. – Vol. 4. – P.100388.

188. Yan W., Lien H.-L., Koel B.E., Zhang W. Iron nanoparticles for environmental clean-up: recent developments and future outlook // *Environmental Science: Processes & Impacts*. - 2013. – Vol. 15. – I. 1. - P. 63-77
189. Yang S.-T., Wang X., Wang H., Lu F., Luo P.G., Cao L., Meziani M.J., Liu J.-H., Liu Y., Chen M. Carbon dots as nontoxic and high-performance Fluorescence imaging agents // *The journal of physical chemistry*. - 2009. – V. 113. - P. 18110–18114.
190. Yi L., Yu L., Chen S., Huang D., Yang C., Deng H., Hu Y., Wang H., Wen Z., Wang Y., Tu Y. The regulatory mechanisms of cerium oxide nanoparticles in oxidative stress and emerging applications in refractory wound care // *Frontiers in Pharmacology*. – 2024. – V. 15. – P.1439960.
191. Yang L., Ding Y., Shen J., Wei Y., Wang Ch. A novel fluorescent off-on probe based on 4-methylumbelliferone for highly sensitive determination of tyrosinase // *New Journal of Chemistry*. – 2022. – V.46. – P. 9923-9930.
192. Yukgehnash K., Kumar P., Sivachandran P., Marimuthu K., Arshad A., Paray B.A., Arockiaraj J. Gut microbiota metagenomics in aquaculture: factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish // *Rev Aquacult*. – 2020. – V. 12. - P.1903-1927.
193. Zhang H., Nan Z.-D., Shang Y., Zhu Y.-D, Sun R., Tian J.-J., Jiang Z.-B., Ma X.-L., Bai Ch. Systematic review of natural coumarins in plants (2019–2024): Chemical structures and pharmacological activities // *Phytochemistry*. – 2025. – V.235. – P. - 114480,
194. Zeng Y., Chang F., Liu Q., Duan L., Li D., Zhang H. Recent advances and perspectives on the sources and detection of antibiotics in aquatic environments // *Analytical methods in chemistry*. - 2022. – V. 25. – P. 5091181.
195. Zh. Ren, Fu R., Li S., Huixue L., Zijia B., Yu T., Zhang G. Unraveling biological behavior and influence of magnetic iron-based nanoparticles in algal-bacterial systems: A comprehensive review // *Science of The Total Environment*. – 2024. – V. 915. – P.169852.

196. Zhang B., Xiao J., Liu H., Zhai D., Wang Y., Liu S., Xiong F., Xia M. Vertical habitat preferences shape the fish gut microbiota in a shallow lake // *Front. Microbiol.* – 2024. – Vol.15. – P.1341303.
197. Zhang T., Qi M., Wu Q., Xiang P., Tang D., Li Q. Recent research progress on the synthesis and biological effects of selenium nanoparticles // *Frontiers in Nutrition.* – 2023. – V. 10. – P.1183487.
198. Zhang, X. Ultrasensitive Field-Effect Biosensors Enabled by the Unique Electronic Properties of Graphene / X. Zhang, Q.Jing, S. Ao, G. F. Schneider, D. Kireev, Z. Zhang, W. Fu // *Small.* – 2020. - T. 16. – P. 1902820.
199. Zhou L., Lin Y., Huang Z., Ren J., Qu X. Carbon nanodots as fluorescence probes for rapid, sensitive, and label-free detection of Hg²⁺ and biothiols in complex matrices // *Chemical communications.* – 2012. – V. 48. – P. 1147–1149.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621117

**Интенсивность роста карпа при включении в рацион
умбеллиферона**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсанович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № **2026620785**

Дата поступления **10 марта 2026 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных **16 марта 2026 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e477ad38d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621074

База данных гематологических показателей карпа на фоне действия умбеллиферона

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU), Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна (RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № 2026620797

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 13 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7aadd8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.03.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621087

Влияние умбеллиферона на динамику живой массы карпа

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*

Заявка № 2026620800

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Ресстре баз данных 13 марта 2026 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7add38d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 09.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621095

**Морфо-физиологические показатели карпа при
включении в рацион умбеллиферона**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*

Заявка № 2026620799

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 13 марта 2026 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621126

Влияние умбеллиферона на физиологическое состояние карпа

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № 2026620791

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Ресстре баз данных 16 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570c4f73ad38d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621130

**Элементный состав мышечной ткани карпа под
влиянием умбеллиферона**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет имени
В.А.Бондаренко» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU), Мирошникова
Елена Петровна (RU), Килякова Юлия Владимировна (RU),
Маленкина Ксения Александровна (RU), Сарайкин Александр
Иванович (RU)*



Заявка № **2026620784**

Дата поступления **10 марта 2026 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных **16 марта 2026 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 26.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621208

**Динамика живой массы карпа на фоне действия
умбеллиферона**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № 2026620816

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 20 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7ad38d531b4b8818e75f29506
Владелец: *Зубов Юрий Сергеевич*
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621267

**Влияние умбеллиферона на содержание макро- и
микроэлементов в мышечной ткани карпа**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсанович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № 2026620793

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 24 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621357

**Влияние ультрадисперсных частиц железа на
углеродной матрице на динамику живой массы карпа**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсанович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*



Заявка № 2026620806

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 27 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2026621369

**Концентрация химических элементов в мышечной
ткани карпа при включении в рацион умбеллиферона**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет» (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсанович (RU),
Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия
Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна
(RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*

Заявка № 2026620804

Дата поступления 10 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 27 марта 2026 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4f7a4d8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2861430

Способ повышения эффективности выращивания карпа

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Оренбургский государственный университет" (RU)*

Авторы: *Аринжанов Азамат Ерсаинович (RU), Мирошникова Елена Петровна (RU), Килякова Юлия Владимировна (RU), Маленкина Ксения Александровна (RU), Сарайкин Александр Иванович (RU)*

Заявка № 2025134610

Приоритет изобретения 08 декабря 2025 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 05 мая 2026 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 08 декабря 2045 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4f7a4d3d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

