



hydrological drought in the Saxon villages area (Transylvania, Romania) // Atmosphere. 2021. Vol. 12. P. 1209

Buisson L., Grenouillet G., Villéger S., Canal J., Laffaille P. Toward a loss of functional diversity in stream fish assemblages under climate change // Global change biology. 2013. Vol. 19. № 2. P. 387–400.

Comte L., Grenouillet G., Do stream fish track climate change? Assessing distribution shifts in recent decades // Ecography. 2013. Vol. 36. № 11. P. 1236–1246.

Matthews W. Patterns in freshwater fish ecology. Springer Science & Business Media. 2012. 779 p.

## **Изучение влияния азотистых соединений на гистологическую структуру жабр и почек рыб в условиях замкнутых водоемов**

А.А. Бакиева, И.М. Жаркова, С.С. Кобегенова, Д.Ю. Гусейнова, А. Мауталиева

Казахский Национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан,  
adelb4450@gmail.com

### **Введение**

Одна из главных проблем рыбного хозяйства заключается в недостаточной очистке вод внутри установок замкнутого водоснабжения. Вследствие этого, продукты жизнедеятельности рыб имеют тенденцию накапливаться в виде органических веществ, разлагаемых на более токсичные соединения. В частности, существует угроза накопления азотных соединений из-за неисправности фильтров, пренебрежением процесса денитрификации и своевременной замены воды. При разведении и выращивании рыб в замкнутых водоемах особое внимание уделяется трансформации в воде азотных соединений - азотному циклу. Разложение биологических отходов рыб ведет к повышению в среде количества аммиака ( $\text{NH}_3$ ), который подвергается нитрификации за счет бактерий и перерабатывается в токсичные нитриты ( $\text{NO}_2$ ), а затем в нитраты ( $\text{NO}_3$ ). При накоплении в достаточном количестве азотные соединения могут привести к ряду патологических изменений в органах рыб, снижению иммунитета, понижению репродуктивной способности, а также в крайних случаях привести к летальному исходу. Выбор тиляпии в качестве объекта для исследования объясняется тем, что данный вид является одним из самых перспективных объектов аквакультуры в Республике Казахстан. Этот вид играет большую роль в пищевой промышленности и экономике благодаря следующим преимуществам: терпимость к высоким концентрациям химических веществ, интенсивный рост и нетребовательность к условиям питания и размножения. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение влияния азотистых соединений на жабры и почки рыб вида *Oreochromis niloticus* в условиях закрытых водоемов.

### **Материалы и методики**

Внутри аквариума экспериментальной группы рыб искусственно поддерживался уровень загрязнения биологическими отходами. Общий объём аквариума составлял 40 л. Для обеспечения стрессового состояния особей подменной воды было решено пренебречь. По окончании каждого периода эксперимента (14 дней, 28 дней, 44 дня) проводился гидрохимический анализ воды, включающий в себя следующие параметры: концентрация нитритов, нитратов, фосфатов, углекислого газа, водородный показатель pH и общая жёсткость воды (gH). Для выявления динамики восстановления внутренних органов рыб было решено провести ряд мероприятий по



стабилизации среды внутри аквариума, согласно ПДК (Жигин, 2011) посредством установления фильтров, своевременной подмены воды и регулирования количества корма.

23 декабря 2021 года в аквариальную лабораторию КазНУ им. аль-Фараби были доставлены взрослые особи тилапии нильской (*Oreochromis niloticus*), выращенные в условиях закрытых водоемов. Период адаптации рыб занял 3 недели. Контрольная группа рыб включала в себя 4 особи. Экспериментальная группа состояла из 16 рыб, разделённых на 3 партии для удобства проведения гистопатологического анализа. По завершению обеспечения стабилизации среды внутри аквариума, также был отобран ихтиологический материал в виде 4-х особей для повторного проведения гистологического исследования. Морфометрические показатели рыб измерялись по методике Siddique S. (2011), коэффициент упитанности по Фультону был определён согласно методике, предложенной Rehulka J. и Minarik B. (2007). Забой и последующее вскрытие особей осуществлялись после окончания каждого периода эксперимента. Гистологическая обработка материала производилась на основе технологии, предложенной Роскиным Г.И. и коллегами (Роскин и др., 1957).

### Результаты и обсуждение

На протяжении всего периода исследования производился гидрохимический анализ воды в экспериментальном аквариуме на количественное содержание таких химических веществ, как нитриты ( $\text{NO}_2$ ), нитраты ( $\text{NO}_3$ ), фосфаты ( $\text{PO}_4$ ), углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ), а также водородный показатель pH и общая жесткость (гН) с последующим анализом и сравнения полученных данных. По истечению каждого этапа эксперимента (14 дней, 24 дня, 48 дней) производился расчет средних значений концентраций. После стабилизации среды в экспериментальном аквариуме был проведен повторный анализ воды в целях наблюдения динамики восстановления химических показателей, согласно технологическим нормам (Жигин, 2011). Ниже в таблицах 1 и 2 представлены результаты гидрохимического анализа воды контрольной и экспериментальной группы тилапий в УЗВ до и после стабилизации среды, а также допустимые показатели концентраций веществ в виде средних значений согласно каждому периоду эксперимента.

Табл. 1 – Результаты гидрохимического анализа воды контрольного аквариума и сравнение показателей с технологическими нормами (Жигин, 2011)

Параметры воды		Аквариум контрольной группы	ПДК
$\text{NO}_2$ , мг/л	М	0.05	0.1-0.2
	min-max	0.01-0.09	
$\text{NO}_3$ , мг/л	М	30	До 60
	min-max	15-55	
рН	М	7.1	6.8-7.2
	min-max	6.9-7.3	
гН, Н <sup>0</sup>	М	3	5-8
	min-max	3-5	
$\text{PO}_4$ , мг/л	М	0.5	0.2-0.5
	min-max	0.3-1	
$\text{CO}_2$ , мг/л	М	12	25
	min-max	4.9-15	

Табл. 2 – Результаты гидрохимического анализа воды экспериментальной группы рыб в течении 3-х периодов опыта и во время стабилизации среды

Параметры воды		1 период (14 дней)	2 период (28 дней)	3 период (44 дня)	Период стабилизации среды
NO <sub>2</sub> , мг/л	М	2	0.5	0.5	0.05
	min-max	0.2-4	0.1-3.7	0.05-3	0-0.2
NO <sub>3</sub> , мг/л	М	70	55	65	25
	min-max	30-80	25-60	20-70	15-30
рН	М	7	7	7	7
	min-max	6.8-7.2	7-7.4	7-7.2	6.8-7.4
gH, Н°	М	5	3	3	5
	min-max	5	3-5	3-4	4-7
PO <sub>4</sub> , мг/л	М	8	6.5	6	5.5
	min-max	4-9	3-10	4-8	2-6
CO <sub>2</sub> , мг/л	М	7.9	8	6	17.7
	min-max	4-9.9	3.3-11.2	4-8	7.9-24.2

Исходя из табличных данных, можно сделать вывод о том, что в контрольном аквариуме гидрохимические параметры воды соответствовали ПДК. В экспериментальном аквариуме наблюдался повышенный уровень содержания нитритов (NO<sub>2</sub>), нитратов (NO<sub>3</sub>) и фосфатов (PO<sub>4</sub>); уровень водородного показателя рН, углекислого газа (CO<sub>2</sub>) и общей жесткости (gH) оставались в предельно-допустимых значениях на протяжении всего времени исследования. Так, по истечению первых 14 дней в экспериментальном аквариуме средний показатель NO<sub>2</sub> был равен 2 мг/л, что превышало норму в 10 раз; параметры NO<sub>3</sub> сохранялись на уровне 70 мг/л, что также являлось превышением допустимых значений для закрытых водоемов. Количественное содержание фосфатных соединений колебалось на уровне 8-9 мг/л. Это является самым критическим показателем для воды по сравнению с последующими периодами, поскольку технологическая норма была превышена в 16 раз. После 28 дней эксперимента наблюдалось снижение уровня нитритов (0.5 мг/л), однако данный показатель также находился за пределами допустимых значений, поскольку превышал норму в 2.5 раза. Следует отметить, что уровень нитратов значительно понизился до отметки 55 мг/л, что соответствовало установленным нормативам; количественное содержание фосфатов по прежнему оставалось повышенным (6.5 мг/л) в 13 раз. По истечению 44 дней опыта гидрохимические параметры воды не претерпели значительных изменений; наблюдалось небольшое понижение уровня фосфатов (6 мг/л) и повышение концентрации нитратов на 10 мг (65 мг/л) по сравнению с предыдущим периодом. В период стабилизации среды практически все химические показатели воды в экспериментальном аквариуме находились в пределах допустимых значений. Однако, было выявлено повышенное содержание PO<sub>4</sub> (6 мг/л), что являлось превышением нормы в 11 раз.

**Жабры.** При гистологическом исследовании жабр 1-ой экспериментальной группы по истечению 14 дней с начала эксперимента у большинства особей наблюдалась гиперплазия первичного жаберного эпителия, которая приводила к сращению вторичных жаберных ламелл (рис. 1).

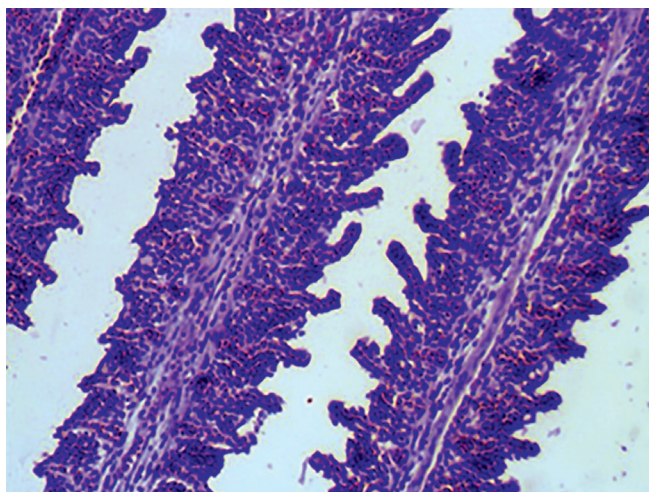


Рис. 1 – Жабры нильской тилляпии из 1-ой экспериментальной группы (14 дней). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

При гистологическом изучении жабр 3-й партии особей, отобранных после 44 дней эксперимента у большинства из них наблюдался отек и гиперплазия первичного и вторичного жаберного эпителия, деструкция первичных и вторичных жаберных ламелл, а также крючковидное искривление последних (рис. 3). У некоторых рыб были обнаружены очаги некроза первичного жаберного эпителия. Наблюдался отек и расслоение первичных ламелл (рис. 4).

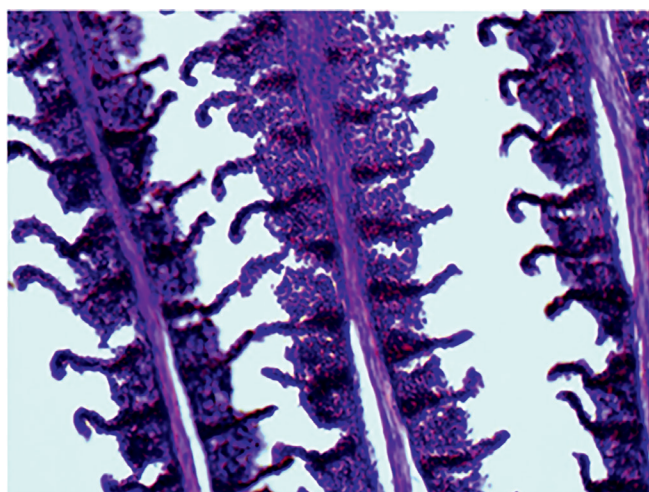


Рис. 3 – Жабры нильской тилляпии. Гиперплазия и деструкция жаберных ламелл у особей 3-й экспериментальной группы (44 дня). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

После истечения 28 дней эксперимента была отобрана 2-ая партия ихтиологического материала в общем количестве 4 рыбы. При комплексном гистопатологическом исследовании у большинства особей в жабрах было обнаружено укорочение и срастание вторичных жаберных ламелл. Во многих участках наблюдалась гиперплазия первичного жаберного эпителия. Помимо этого, присутствовала дилатация сосудов в первичном слое жаберного эпителия, стаз крови с расслоением на плазму и форменные элементы (рис. 2).

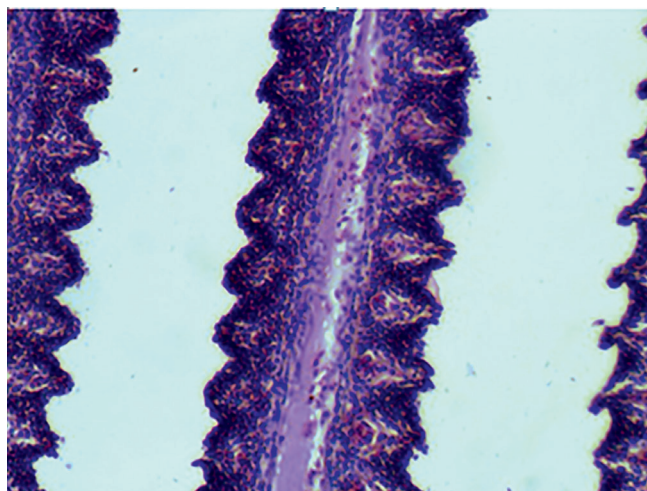


Рис. 2 – Срастание вторичных ламелл и гиперплазия слоев жаберного эпителия у особей нильской тилляпии 2-ой экспериментальной группы (28 дней). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

**Почки.** После 14 дней эксперимента при гистологическом исследовании 1-й партии особей нильской тилляпии в почках выявился отек и полнокровие почечных клубочков. У большинства рыб отмечалось частичное или полное сужение просвета проксимальных канальцев за счет увеличения объема клеток. Также, отмечалось сужение мочевого полости и пролиферация мезангиоцитов почечных клубочках, что могло быть последствием воздействия токсических веществ при повышенных дозах (рис. 5).

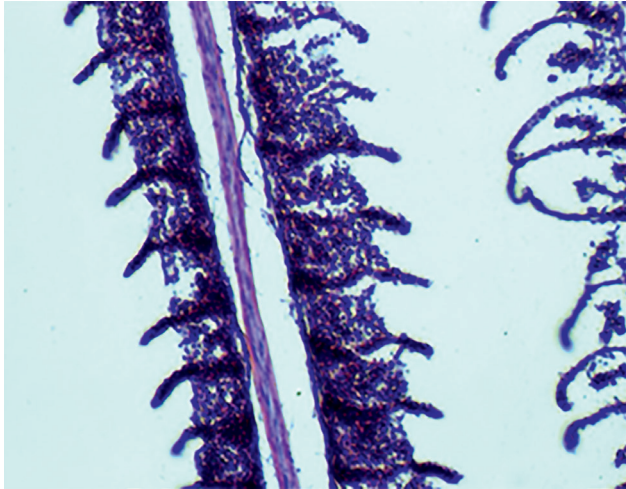


Рис. 4 – Жабры нильской тилапии. Некроз и расслоение жаберных ламелл у рыб 3-й экспериментальной группы (44 дня). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

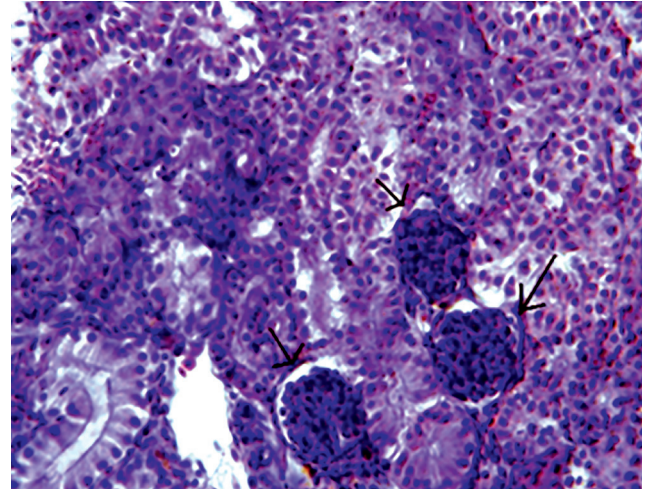


Рис. 5 – Почки экспериментальной группы тилапий после 14 дней эксперимента. Полнокровие и отек клубочков, сужение просвета проксимальных канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

В ходе гистологического исследования 2-ой партии рыб в почках после 28 дней эксперимента был обнаружено резкое расширение мочевого пространства клубочка нефрона; в некоторых участках клубочек имел рыхлую структуру. У многих рыб отмечалась деструкция, отслоение эпителиального слоя проксимального канальца, и сужение просвета. Помимо этого, у эпителия проксимального канальца наблюдалось нарушение целостности клеток и выход ядер наружу (рис. 6).

На заключительных этапах исследования (44 дня) у рыб 3-й группы в почках наблюдались обширные очаги некроза и разрушение целостности проксимальных канальцев, сопровождающееся увеличением просвета и размытием клеточных границ. Помимо этого, отмечался периваскулярный отек сосуда. На некоторых зонах можно увидеть вышедшие наружу ядра (рис. 7).

На период стабилизации среды в экспериментальном аквариуме при гистологическом анализе почек особей отмечалось незначительное сужение просветов проксимальных канальцев, а также их деформация. Также, была отмечена деструкция кубического эпителия в некоторых участках проксимальных канальцев (рис. 8).

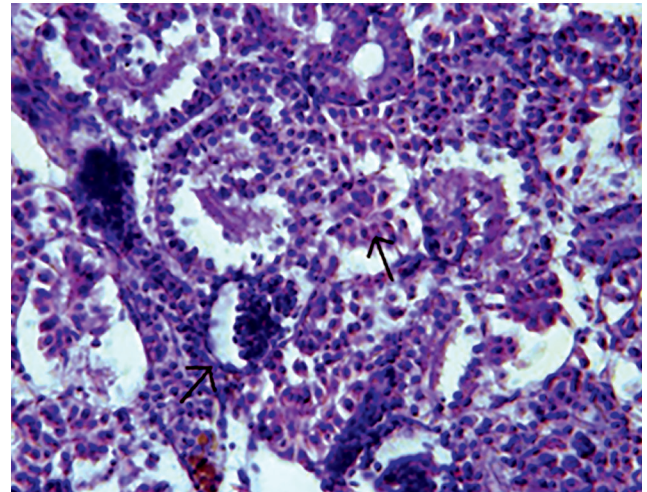


Рис. 6 – Отек межклубочкового пространства. Разрушение клеточной структуры эпителиального слоя проксимальных канальцев и его сужение по истечению 28 дней эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

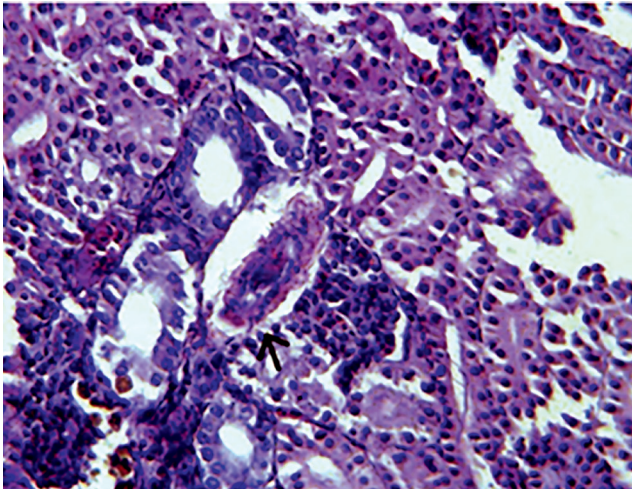


Рис. 7 – Почки экспериментальных рыб поле 44 дней опыта. Некроз проксимальных канальцев. Периваскулярный отек. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

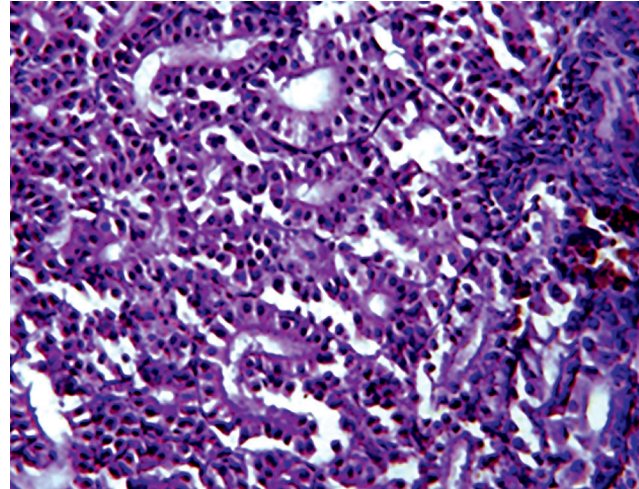


Рис. 8 – Нарушение структуры проксимальных канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200

Полученные данные средних показателей соматического индекса массы почки рыб контрольной и экспериментальной групп были подвергнуты тщательной статистической обработке. Достоверность различий полученных результатов оценивалось с помощью теста Стьюдента при  $p < 0,05$ . На рисунке 9 также показано, что средние показатели индекса массы почки 1, 2 и 3 экспериментальных групп значительно отличаются от контрольной группы в сторону понижения, что может говорить о патологическом состоянии органа при высоких концентрациях токсичных веществ в воде.

### Выводы

В работе представлены результаты хронического эксперимента воздействия азотистых соединений на жабры и почки рыб вида *Oreochromis niloticus*. В результате патогистологического исследования показано, что хроническое воздействие продуктов метаболизма на 14 день эксперимента ( $\text{NO}_2$  – 2 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 70 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 8 мг/л) в жабрах привело к гиперплазии первичного и вторичного жаберного эпителия. На 28 день эксперимента ( $\text{NO}_2$  – 0.5 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 55 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 6.5 мг/л) в жабрах на фоне гиперплазии отмечалось укорочение и срастание вторичных жаберных ламелл и нарушение микроциркуляторного русла. По завершению 44 дня эксперимента ( $\text{NO}_2$  – 0.5 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 65 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 6 мг/л) на фоне вышеперечисленных патологий отмечались очаги



Рис. 9 – Средние значения соматического индекса массы почки контрольной группы; экспериментальной группы до и после стабилизации среды



некроза и деструкция жаберных ламелл. При воздействии продуктов метаболизма по истечению первых 14 дней эксперимента ( $\text{NO}_2$  – 2 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 70 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 8 мг/л) в почках наблюдалось нарушение микроциркуляторного русла, пролиферация мезангиоцитов в почечных клубочках, а также очаговый некроз эпителия проксимальных канальцев. Через 28 дней опыта ( $\text{NO}_2$  – 0.5 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 55 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 6.5 мг/л) в почках отмечалось резкое расширение мочевого пространства клубочков, отслоение эпителия и деструкция проксимальных канальцев. На заключительном этапе хронического эксперимента после 44 дней ( $\text{NO}_2$  – 0.5 мг/л;  $\text{NO}_3$  – 65 мг/л;  $\text{PO}_4$  – 6 мг/л) на фоне вышеперечисленных патологических процессов в почках наблюдались обширные очаги некроза эпителия проксимальных канальцев. Таким образом, воздействие метаболитов вызвали на начальных стадиях опыта компенсаторно-приспособительные реакции в жабрах и почках, а длительное влияние вызвали нарушение микроциркуляторного русла и некроз эпителия и канальцев почки. При стабилизации среды в экспериментальном аквариуме в жабрах и почках сохранились вышеперечисленные патологические реакции, выраженных улучшений не наблюдалось.

Изучение соматического индекса массы почки рыб показало его достоверное снижение относительно контроля уже по истечению первых 14 дней опыта в 2 раза при  $p < 0.05$ . После 28 и 44 дня эксперимента средние показатели соматического индекса массы почек экспериментальных особей также были ниже контрольных значений в 1.5 раз при  $p < 0.05$ , что могло говорить о потенциальных нарушениях обмена веществ в организме. Средние показатели соматического индекса массы почек рыб после стабилизации среды были максимально приближены к параметрам контрольной группы, что говорит о потенциальной возможности восстановления органа при изменении условий содержания в лучшую сторону

### Литература

Грушко М.П., Федорова Н.Н. Морфологические и функциональные особенности кроветворных органов каспийской воблы (*Rutilus rutilus caspicus*) в современных экологических условиях // Экология животных: электрон. научн. журнал. 2007. № 4. С. 59-63.

Грушко М.П., Федорова Н.Н., Айтимова А.А. Гистологический анализ состояния тканей внутренних органов сельди-черноспинки *Alosa kessleri kessleri* // Известия ТИНРО. 2017. Т. 188. С.155-161.

Микрякова Р.В., Криксунова Е.А., Микрякова Д.В. Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов // Расширенные материалы IV Международной конференции. Борок, 2015. 588 с.

Минеев А.К. Гистопатологии жабр у карповых рыб из загрязненного участка р. Позимь (Удмуртская Республика) // Промысловые виды и их биология. Труды ВНИРО. 2017. Т. 167. С. 52-56.

Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М.: Советская наука, 1957. 467 с

Солдатов В.К. Промысловая ихтиология. Образовательная платформа Юрайт. 2020. С. 564-572.

Черкесова Д.У., Шахназарова А.Б. Токсическое воздействие нитритов на организм // Экология животных: электрон. науч. журнал. 2009. № 4. С. 148-151.

Ягов Г.В. Определение общего азота в пробах воды // Вода: Химия и Экология. 2014. № 5. С. 82-85.

Abdel-Aziz E.H., Abdu S., Ali T.E., Fouad H.F. Haemopoiesis in the head kidney of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae): a morphological (optical and ultrastructural) study // Fish physiology and biochemistry. 2010. № 3. P. 323–336.

Abdulhadi A. Histopathological changes in gills, liver and kidney of fresh water fish, *Tilapia zillii*, exposed to aluminum // International journal of Pharmacy & Life sciences. 2019. Vol. 3. P. 33-38.

Řehulka J., Minařík B. Blood parameters in brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease // Aquaculture Research. 2007. Vol. 38. P. 1182–1197.