



# Изменения гидрохимических параметров водной среды и биохимических показателей сыворотки крови рыб от плотности посадки в УЗВ

DOI: 10.36038/0131-6184-2024-3-71-79

Обзорная статья  
УДК 639.2/3

**Климук Анастасия Алексеевна** – младший научный сотрудник Центра аквакультуры факультета биотехнологий и рыбного хозяйства  
*E-mail: klimukanastasia27@gmail.com*

**Головачева Наталья Алексеевна** – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры биологии и биоинформатики факультета биотехнологий и рыбного хозяйства  
*E-mail: molekula00@inbox.ru*

**Царьков Максим Денисович** – инженер 1-ой категории Центра Аквакультуры факультета биотехнологий и рыбного хозяйства  
*E-mail: aellesisk@gmail.com*

**Семеряков Юлий Васильевич** – аспирант по направлению подготовки 4.3.3. «Пищевые системы» факультета биотехнологий и рыбного хозяйства  
*E-mail: leto0190@mail.ru*

**Шкель Андрей Анатольевич** – кандидат химических наук, доцент кафедры биологии и биоинформатики факультета биотехнологий и рыбного хозяйства  
*E-mail: ee1402@mail.ru*

**Адрес:** МГУТУ им. Разумовского (ПКУ) – Россия, 109004, Москва, ул. Земляной Вал, 73

**Аннотация.** В данной работе были исследованы 10 биохимических параметров сыворотки крови радужной форели, выращенной в системе установок замкнутого водоснабжения (УЗВ), при различных плотностях посадки: контроль (10,8 кг/м<sup>3</sup>), УЗВ №1 (14,4 кг/м<sup>3</sup>) и УЗВ №2 (18 кг/м<sup>3</sup>) в хроническом опыте, длительностью 60 суток. Выявлено, что при повышении плотности посадки рыб до 18 кг/м<sup>3</sup> за период 30 сут. в холодноводной системе УЗВ накапливались токсичные соединения азота в форме нитритов, концентрация которых составляла 0,19 мг/л. Далее, при продолжении длительного опыта, показано, что на 60 сут. в воде УЗВ №1 и №2 за пределами ПДК находились показатели нитритов и нитратов в концентрациях 0,1 и 0,16 мг/л, соответственно, при этом не приводящие к летальному исходу объектов выращивания. Показано, что при повышении в воде концентраций нитритов и нитратов в УЗВ №2 за пределы нормы выходили биохимические показатели крови рыб: уровень аспартатаминотрансферазы увеличивался на 58%, креатинина – на 7,32%, щелочной фосфатазы – на 64,1% и лактатдегидрогеназы – на 37,8%, сигнализирующие о нарушении физиологического статуса работы печени и почек. По результатам работы определено, что исследование 10 биохимических параметров крови радужной форели является показательной системой по определению статуса здоровья рыб во время их культивирования в условиях хронического стресса из-за повышенной плотности посадки в УЗВ.

**Ключевые слова:** радужная форель, нитриты, нитраты, биохимия крови, плотность посадки, *Oncorhynchus mykiss*, установка замкнутого водоснабжения

**Для цитирования:** Климук А.А., Головачева Н.А., Царьков М.Д., Семеряков Ю.В., Шкель А.А. Изменения гидрохимических параметров водной среды и биохимических показателей сыворотки крови рыб от плотности посадки в УЗВ // Рыбное хозяйство. 2024. № 3. С. 71-79. DOI: 10.36038/0131-6184-2024-3-71-79

## CHANGES IN HYDROCHEMICAL PARAMETERS OF THE AQUATIC ENVIRONMENT AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF FISH BLOOD SERUM FROM THE PLANTING DENSITY IN THE ULTRASOUND

**Anastasia A. Klimuk** – Junior researcher at the Aquaculture Center of the Faculty of Biotechnology and Fisheries

**Natalia A. Golovacheva** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Bioinformatics, Faculty of Biotechnology and Fisheries

**Maxim D. Tsarkov** – Engineer of the 1<sup>st</sup> category of the Aquaculture Center of the Faculty of Biotechnology and Fisheries

**Yuliy V. Semeryakov** – postgraduate student in the field of training 4.3.3. «Food systems» of the Faculty of Biotechnology and Fisheries

**Andrey A. Shkel** – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Bioinformatics, Faculty of Biotechnology and Fisheries

**Address:** MGUTU named after Razumovsky (PCU) – Russia, 109004, Moscow, Zemlyanoy Val str., 73

**Annotation.** In this work, 10 biochemical parameters of blood serum of rainbow trout grown in a system of closed-loop water supply installations (SLV) at various planting densities were studied: control (10.8 kg/m<sup>3</sup>), SLV No. 1 (14.4 kg/m<sup>3</sup>) and SLV No. 2 (18 kg/m<sup>3</sup>) in a chronic experiment lasting 60 days. It was revealed that with an increase in the planting density of fish to 18 kg/m<sup>3</sup> over a period of 30 days, toxic nitrogen compounds in the form of nitrites accumulated in the cold-water system of the ultrasonic system, the concentration of which was 0.19 mg/l. Further, with the continuation of a long-term experiment, it was shown that on the 60<sup>th</sup> day in the water of UZV No. 1 and No. 2 outside the MPC there were indicators of nitrites and nitrates in concentrations of 0.1 and 0.16 mg/l, respectively, while not leading to a fatal outcome of the growing objects. It was shown that with an increase in the concentrations of nitrites and nitrates in the water in ultrasound No. 2, the biochemical parameters of fish blood exceeded the norm: the level of aspartate aminotransferase increased by 58%, creatinine – by 7.32%, alkaline phosphatase – by 64.1% and lactate dehydrogenase – by 37.8%, signaling a violation of the physiological status of the liver and kidneys. Based on the results of the work, it was determined that the study of 10 biochemical parameters of the blood of rainbow trout is an indicative system for determining the health status of fish during their cultivation under chronic stress due to increased planting density in the ultrasound.

**Keywords:** rainbow trout, nitrites, nitrates, blood biochemistry, planting density, *Oncorhynchus mykiss*, closed water supply installation

**For citation:** Klimuk A.A., Golovacheva N.A., Tsarkov M.D., Semeryakov Yu.V., Shkel A.A. (2024). Changes in hydrochemical parameters of the aquatic environment and biochemical parameters of fish blood serum from the planting density in the ultrasound // Fisheries. No. 3. Pp. 71-79. DOI: 10.36038/0131-6184-2024-3-71-79

Рисунки и таблица – авторские / The drawings and table were made by the author

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что радужная форель (*Oncorhynchus mykiss*) является основным объектом холодноводной аквакультуры РФ. В регионах, где существуют подходящие природно-климатические условия, распространённой формой промышленного рыбоводства форелевых является садковое выращивание [3]. В центральной России радужная форель выращивается в основном садковым методом в глубоководных пресноводных водоемах и в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ)

[2]. Данные технологии предусматривают увеличенные плотности посадки для получения максимального рыбоводного эффекта за короткий промежуток времени. Содержание форели в УЗВ подразумевает постоянное ее выращивание при пониженных температурах водной среды (от 11 до 18 °С), в условиях обильного кормления, приводящего к накоплению в водной среде токсических продуктов метаболизма (соединений азота). Это негативно сказывается на работе установки, а именно – биофильтра (с азотфиксирующими

и нитрифицирующими бактериями в наполнителе), так как в холодной воде активность ассоциаций нитрифицирующих бактерий снижается [39], а высокая нагрузка системы аммонием, нитритами, нитратами и другими биогенными соединениями приводит к существенному ухудшению качества воды в УЗВ и может быть решена только регулярной подменой чистой водой [15] – приблизительно 10-18% от общего объема рыбоводной системы в сутки.

Наиболее важными для мониторинга токсичности водной среды в рыбоводных процессах являются аммонийные соли (предельно допустимые концентрации (ПДК) для воды рыбохозяйственного назначения которых составляют: аммоний (2,0 мг/л), нитрит-ион (3,0 мг/л) и нитрат-ион (45,0 мг/л) [7].

Очевидно, что ухудшение качества воды в УЗВ, при индустриальном выращивании лососевых, приводит к патологическим отклонениям в физиологических параметрах рыб, вызывая вспышки инфекционных и паразитологических заболеваний, ухудшая рыбопродукционные характеристики объектов выращивания [36; 16]. Наиболее токсичным элементом в водной среде для лососевых является нитрит [14]. Хорошо известно, что токсичность нитритов активизирует отток калия из скелетных мышц и эритроцитов крови, что приводит к нарушениям внутриклеточного и внеклеточного уровней  $K^+$ . Перенос нитритов через мембрану эритроцитов приводит к окислению гемоглобина до метгемоглобина, что нарушает транспорт  $O_2$  крови, приводя к гипоксии тканей и органов рыб.

Для оценки физиологических параметров культивируемых рыб, при гипоксии и иных заболеваниях, вызванных токсичностью элементов азотного ряда в водной среде, обычно измеряют уровни нитритов и хлоридов в организме рыб, не

учитывая важные биохимические органно-тканевые параметры [27]. Поэтому целью данной работы являлось сравнительное изучение 10 биохимических параметров крови *Oncorhynchus mykiss* при различных плотностях посадки в УЗВ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект исследования и условия содержания

Эксперимент был проведен на инфраструктурных ресурсах уникальной научной установки (УНУ) НТИРФ Рег №3662433 «Научно-исследовательский комплекс передовых технологий аквакультуры и гидроэкологии» – Универсальном мультипрофильном стенде аквабиотехнологий МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ). *Объект исследования* – особи радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) весом  $450,0 \pm 30,0$  г, которые содержались в условиях установок замкнутого водоснабжения (УЗВ) с объемом рыбоводных ёмкостей 800 л ( $120 \times 90 \times 80$  см, Ш×Д×В), при температуре воды 16-17 °С, фотопериод 12:12 (рис. 1). Плотность посадки в контрольной группе составила 30 особей радужной форели ( $10,8 \text{ кг/м}^3$ ). В первой группе (УЗВ №1) – 40 особей ( $14,4 \text{ кг/м}^3$ ) и во второй группе (УЗВ №2) – 50 особей ( $18 \text{ кг/м}^3$ ). Эксперимент проводился в трехкратной повторности длительностью 60 суток; всего было задействовано 360 рыб.

Рыб кормили ежедневно (два раза в день в 10:00 и 18:00) коммерческим продукционным экструдированным комбикормом Sorrens Supreme-21 (Ø6 мм) (Нидерланды) по согласно принятым нормативам (суточная норма кормления составила 1,8%).

### Гидрохимические измерения

Показатели воды измерялись в начале, на 30 сут. и в конце опыта до кормления рыбы. Из-



а)



б)

**Рисунок 1.** Рыбоводные линии установки замкнутого водоснабжения (а и б)

**Figure 1.** Fish hatchery lines of closed water supply installation (a and b)

меряли 8 параметров: растворенный кислород ( $O_2^-$ ), pH (водородный показатель/показатель кислотности), аммонийный азот ( $NH_4^+$ ), нитриты ( $NO_2^+$ ), нитраты ( $NO_3^+$ ), фосфаты ( $PO_4^{3-}$ ), содержание меди ( $Cu_2^+$ ) и железа суммарного ( $Fe_2^+$  и  $Fe_3^+$ ). Использовали сертифицированное оборудование (спектрофотометр ПЭ-5400ВИ (Россия) и pH-метр-иономер «Эксперт-001» (Россия), согласно общепринятым методикам (ПНД Ф. 14.1: 2: 4.112-97; РД 52.24.394-95; ПНД Ф 14.1:2:4.4-95; ПНД Ф 14.1:2:43-95).

### Биохимический анализ

Анализ сыворотки крови проводили в конце эксперимента в каждой опытной группе, случайным образом отбирая по 3 рыбы без видимых повреждений. Взятие крови в количестве 1-1,2 мл производили до кормления из хвостовой вены; в качестве анестетика использовали раствор MS-222 (10 мг/л).

Биохимический анализ включал ряд показателей, отражающих состояние белкового (общий белок, альбумины, глобулины) и углеводного (глюкоза) обменов, а также – определение маркеров функции печени (аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) и щелочная фосфатаза) и почек (мочевина, креатинин). АСТ, АЛТ, креатинин и мочевину в сыворотке определяли при помощи биохимического анализатора CS-T240 (Китай) с использованием готовых реактивов (наборов), поставляемых компанией Spinreact Co (Испания), следуя инструкциям производителя. Уровни глюкозы в крови (ммоль/л) измеряли с использованием ферментных наборов, полученных от Bio-Merieux (Франция) [41]. Общий белок и альбумины сыворотки определяли согласно Doumas и др. [18] и Reiner [35], а содержание глобулинов рассчитывали математически.

**Статистический анализ** биохимических показателей крови рыб, как гидрохимических показателей, проводили с использованием критерия Манна-Уитни. Для анализа биохимических показателей рыб, выращиваемых при разной плотности посадки, использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным *post hoc* анализом по критерию Тьюки. Оценку нормальности распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. При определении нормальности выборок и сравнения их использовали стандартный уровень значимости  $p=0,05$ . Статистический анализ данных производился с использованием GraphPad Prism version 9.0 software (GraphPad, San Diego, CA, USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Гидрохимические показатели водной среды

Температура воды при выращивании форели колебалась от 16 до 17 °C и в среднем составляла

$16 \pm 1,2$  °C. Некоторые из исследованных показателей воды за все время эксперимента не подвергались значительным изменениям и приняты далее в качестве констант ( $O_2$ , pH,  $NH_4^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Cu_2^+$  и Fe (сумм.)). Так, показатель кислородного насыщения ( $O_2$ ) находился выше нормы (от 7 до 8 мг/л [1] и составлял  $9,8 \pm 0,5$  (1 сут.),  $9,82 \pm 0,6$  (30 сут.) и  $10 \pm 0,3$  (60 сут.) мг/л в среднем во всех опытных УЗВ.

Показатель кислотности (водородный показатель, pH), также был в пределах нормы для выращивания радужной форели (pH=7,0). Нейтральная кислотность водной среды была во всех опытных УЗВ в начале и на 30 сут. эксперимента. На 60 сут. эксперимента pH была 7,0 только в контрольной водной среде и в УЗВ №1, а в УЗВ №2 реакция среды была незначительно сдвинута в сторону слабокислой –  $6,4 \pm 0,4$ .

Концентрации аммонийного азота в опыте не выходили за пределы нормы (2,0 мг/л) и составляли в среднем:  $0,03 \pm 0,01$  (1 сут.),  $0,05 \pm 0,01$  (30 сут.) и  $0,2 \pm 0,02$  (60 сут.). Фосфат-ион в водной среде опытных УЗВ также не превышал норму на протяжении всего опыта и составлял в среднем  $0,07 \pm 0,02$  (1 сут.),  $0,06 \pm 0,02$  (30 сут.) и  $0,1 \pm 0,02$  мг/л (60 сут.). Ионы меди на протяжении эксперимента в воде опытных УЗВ согласовывались и составляли 0,001 мг/л. Железо суммарное во всех группах на протяжении опыта превышало нормы ПДК (0,1 мг/л) и составляло  $0,15 \pm 0,01$  мг/л.

Параметры азотного ряда могут оказывать токсическое действие и влиять на физиологическое состояние организма. Показатели содержания нитратов и нитритов, при использовании плотности посадки форели от 10,8 до 18,0 кг/м<sup>3</sup>, представлены на рисунке 2. Нитриты к концу эксперимента (60 сут.) не выходили за пределы нормы содержания во всех опытных группах (рис. 2а).

Фиксация увеличения нитратов была выявлена только на 60 сут. опыта в УЗВ №2 (рис. 2б), и составляла  $50,5 \pm 4,2$  мг/л, что значительно превосходило контрольные значения в 3,6 раз ( $p < 0,05$ ), и превышало норму в 1,12 раз.

### Биохимический анализ сыворотки крови

Результаты анализов крови являются важными показателями при оценке здоровья рыб [19; 42], поскольку на параметры крови влияют как внутренние, так и внешние факторы среды [30]. При этом, биохимические анализы крови являются функциональными показателями для понимания физиологического состояния организма рыб [6].

При плотности посадки от 14,4 до 18,0 кг/м<sup>3</sup>, содержание в крови сывороточных белков находилось в пределах нормы. Однако показатель белкового обмена в контрольной группе был незначительно выше, чем в опытных группах на 4,46 и

6,14%, соответственно, и составил  $35,8 \pm 1,71$  г/л, хотя это увеличение статистической достоверности не имело.

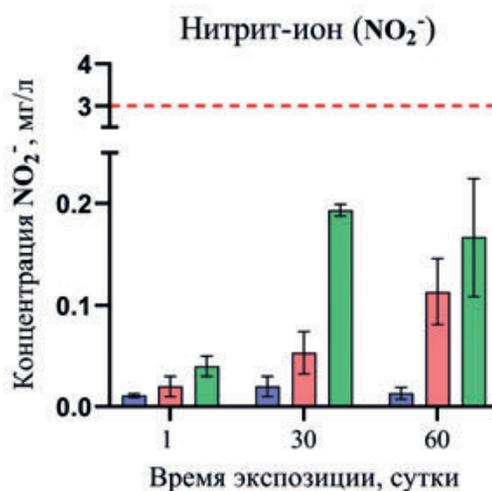
Как известно, глюкоза является связующим звеном между энергетическими и пластическими функциями углеводов [19]. Кроме того, глюкоза в крови у животных и рыб оценивается как маркер стресса, при котором в организме одним из первых в крови повышается её уровень. Это связано с поступлением адреналина в кровь, повышением концентрации и вязкости крови и пр. Глюкоза была повышена во всех группах (контроль, УЗВ №1, УЗВ №2) относительно нормы в 2 раза, соответственно на 103,7%, 48,1% и 134,6%. Повышение уровня глюкозы может свидетельствовать о развитии начальных стадий патологических процессов [40].

Кроме того, согласно результатам проведения биохимического анализа сыворотки крови рыб, на 60 сут. эксперимента в группе 1 и 2 были выявлены значительные отклонения от нормы по следующим параметрам: АСТ, креатинин, щелочная фосфатаза и ЛДГ.

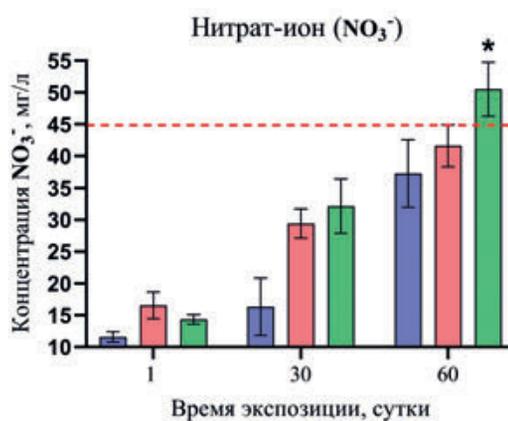
Повышение уровня АЛТ и АСТ в крови рыб является показателями токсичности воды [37] и представляют собой критические данные в диагностике функций пищеварения и целостности печени, сердечной мышцы и других внутренних органов [29; 33].

В результате проведенных экспериментов показано, что плотность посадки рыб  $14,4 \text{ кг/м}^3$  (УЗВ №1) достоверно увеличивает концентрацию фермента аспаргиновой аминотрансферазы (АСТ) в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), превышающую норму на 11%. Также наблюдалось увеличение АСТ у рыб группы УЗВ №2 в 2,4 раза, по сравнению с показателями контрольной группы, что выше нормальных значений на 58%. Зарегистрировано увеличение фермента аланинаминотрансферазы (АЛТ) на 27 и 31%, по отношению к значению нормы в обеих опытных группах. Данные ферменты могут служить маркерными показателями, отражающими начальные нарушения в печени и других внутренних органах. Проведенные исследования показали, что выявленные изменения активности сывороточных аминотрансфераз, на фоне разной плотности посадки (УЗВ №1 и №2), обусловлено высоким уровнем анаболических процессов азотистых веществ. При этом зафиксировано, что в сыворотке крови рыб с плотностью посадки  $10,8 \text{ кг/м}^3$  уровень АСТ и АЛТ не выходил за пределы физиологической нормы и составлял  $465,3 \pm 43,6$  и  $16,7 \pm 3,41$  Ед/л.

Следовательно, уровень активности АЛТ и АСТ в сыворотке крови рыб, с плотностью посадки  $10,8 \text{ кг/м}^3$ , может свидетельствовать о лучшем использовании углеводов при получении энергии, а также замедлять катаболизм белка



а)



б)

■ Контроль ( $10,8 \text{ кг/м}^3$ )  
 ■ УЗВ 1 ( $14,4 \text{ кг/м}^3$ )  
 ■ УЗВ 2 ( $18,0 \text{ кг/м}^3$ )

**Рисунок 2.** Концентрации показателей азотного ряда на протяжении эксперимента: а – концентрации нитритов; б – концентрации нитратов. **Примечание:** красной пунктирной линией обозначены ПДК

**Figure 2.** Concentrations of nitrogen series indicators during the experiment: a – concentrations of nitrites; b – concentrations of nitrates.

**Note:** the red dotted line indicates the MPC

и повышать защитные функции печени даже при воздействии высокотоксичных веществ [20; 24].

Основным продуктом распада белков в организме является мочевины, с которой выводится ненужный организму азот. Концентрация мочевины в сыворотке крови повышается при различных патологиях мочеполовой системы. Анализируя полученные результаты, можно отметить, что показатели мочевины в сыворотке крови рыб оставались в пределах нормы, независимо от плотности посадки форели.

Известно, что уровень креатинина измеряется для оценки функционального состояния почек и рассматривается в качестве клиренсового показателя способности почек к фильтрации [12]. В данном исследовании наиболее значимые отличия установлены для креатинина, уровень которого в крови рыб с плотностью посадки 18,0 кг/м<sup>3</sup> (УЗВ №2) превысил контроль в 2 раза ( $p < 0,05$ ), что выше нормы на 7,32%. Креатинин был повышен и у рыб с плотностью посадки 14,4 кг/м<sup>3</sup> (УЗВ №1) на 0,27%, относительно нормы (22,1–66,19 мкмоль/л). Ранее было установлено, что креатинин может повышаться при воздействии различных токсичных веществ [23].

Достаточно информативным показателем состояния биохимического статуса рыб является активность щелочной фосфатазы. Активность щелочной фосфатазы у рыб контрольной группы была в пределах физиологической нормы. Но в опытных группах активность щелочной фосфатазы превышала показатели нормы для рыб. Так, в крови форели группы УЗВ №2 уровень щелочной фосфатазы был в 1,8 раз ( $p < 0,05$ ) выше по сравнению с контролем, что превышало показатели нормы на 64,1%. Кроме того, уровень щелочной фосфатазы был повышен и у рыб опытной группы УЗВ №1 на 51% выше нормы, но достоверных отличий с контрольными показателями не имела.

Лактадегидрогеназа является цинксодержащим внутриклеточным ферментом, катализирующим окисление молочной кислоты, до образования пирувата, его содержат практически все клетки организма. Заболевания, характеризующиеся разрушением клеток, сопровождаются повышением активности ЛДГ, что может быть отнесено и к патологическому действию на органы факторов, сопровождающих стресс-реакцию. Уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке

крови рыб в опытной группе УЗВ №2 был увеличен в 4 раза ( $p < 0,05$ ) (что выше нормы на 37,8%), по сравнению с контрольными данными, при этом в контрольной группе показатель ЛДГ был ниже нормы на 37,7%.

### ОБСУЖДЕНИЕ

#### Изменение гидрохимических параметров водной среды в зависимости от плотности посадки рыб в УЗВ

По литературным данным известно, что ухудшение гидрохимических параметров водной среды в УЗВ оказывает непосредственное влияние на физиологические процессы рыб. Так, при повышении концентрации нитритов в воде, наблюдается нарушение функционирования жаберного аппарата из-за изменения осмотического баланса [14]. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что лососевые относятся к числу рыб, наиболее чувствительных к нитриту [27]. Поскольку нитрит повышает долю метгемоглобина в крови, он снижает общую кислород-переносящую способность крови [43]. В нашей работе повышенные концентрации NO<sub>2</sub> в воде были вызваны нарушением работы биологических фильтров в УЗВ №2 на 2-й стадии нитрификации [34], то есть процесс окисления NO<sub>2</sub> до NO<sub>3</sub> был замедлен, что сопровождалось нарушениями в работе печени и почки форели, повышением ферментной активности аспаргиновой аминотрансферазы, креатинина, ЩФ и ЛДГ. Стоит отметить, что авторы, изучающие гипокалиемию в тканях карповых и лососевых, выдвинули гипотезу о приспособительной реакции многих видов рыб к повышенной концентрации нитритов и пришли к выводам, что гипокалиемия является сопутствующим признаком регенерации рыб после длительного воздействия низких кон-

**Таблица 1.** Биохимические показатели крови *Oncorhynchus mykiss* на 60 сутки опыта в экспериментальных УЗВ / **Table 1.** Biochemical parameters of *Oncorhynchus mykiss* blood on the 60<sup>th</sup> day of the experiment in experimental ultrasound

Параметр, ед. изм.	Норма [38; 21; 32]	Экспериментальные группы		
		Контроль (10,8 кг/м <sup>3</sup> )	УЗВ №1 (14,4 кг/м <sup>3</sup> )	УЗВ №2 (18,0 кг/м <sup>3</sup> )
АСТ, Ед/л	234,6-712,8	465,3±43,6	790,9±20,9*	1129,2±214,5
АЛТ, Ед/л	7,8-21,0	16,7±3,41	26,6±4,02	27,5±6,36
Мочевина, мкмоль/л	0,56-2,82	2,32±0,11	1,73±0,35	2,77±0,4
Креатинин, мкмоль/л	22,1-66,19	32,2±4,54	66,4±10,5	71,0±12,25*
Общий белок, г/л	30,0-40,0	35,8±1,71	34,2±1,9	33,6±7,91
Альбумин, г/л	12,0-16,0	14,58±1,12	15,67±4,66	16,2±1,4
Глобулин, г/л	17,0-24,0	17,5±4,32	16,4±1,35	17,2±2,6
Щелочная фосфатаза, Ед/л	114,1-143,2	130,3±22,5	216,4±6,46	235,0±29,72*
Глюкоза, ммоль/л	1,92-2,7	5,5±0,79	4,0±0,85	6,3±0,6
ЛДГ, Ед/л	1020,0-1798,0	635,7±166,9	1419,0±639,2	2477,7±603,5*

Примечание: \* - достоверное отличие от контроля при  $p < 0,05$

центраций нитритов, то есть показательным маркером их акклиматизационной способности [26]. Эта гипотеза может быть подтверждена результатами 48-суточного эксперимента, проведенного Doblander и Lackner [17] на форели. В этом случае рыба подверглась воздействию 0,32 мг/л  $\text{NO}_2$ , что способствовало накоплению нитритов в крови до высоких уровней (до 100 раз выше, чем в среде содержания), при этом продолжительное воздействие привело к 5-кратному снижению концентрации нитритов в крови. Поэтому, по мнению авторов, отравления нитритами могут быть обратимы.

### **Изменения биохимических параметров крови рыб при воздействии нитрит- и нитрат-ионов**

Биохимические анализы крови являются функциональными показателями для понимания физиологического состояния организма рыб [5]. В результате проведенного содержания и кормления форели с разной плотностью посадки установлено, что уровень глюкозы во всех группах (контроль, УЗВ №1, УЗВ №2) был увеличен в 2 раза, соответственно – на 103,7%, 48,1% и 134,6%. Повышенное содержание глюкозы в крови, наблюдаемое на протяжении эксперимента, возникло вследствие острой стрессовой реакции рыб на присутствие нитрита и, связанным с этим, повышением в крови концентрации гормонов стресса [4].

Считается, что гипоксия печени лежит в основе механизма острой токсичности нитритов, создавая подходящие условия для токсического потенциала [13]. Таким образом, возникают необратимые повреждения биохимии и ультраструктуры печени на митохондриальном уровне. Кроме того, нитриты нарушают множество физиологических функций, включая ионорегуляторные, дыхательные, сердечно-сосудистые, эндокринные и выделительные процессы [22]. Системные повреждения печени, в результате длительного воздействия нитритов, подтверждаются нашими данными, так как ферментативная реакция этого органа была значительно увеличена, что сопровождалось повышением в крови ферментов АСТ и щелочной фосфатазы (сигналы о разрушении гепатоцитов), и маркера тканевой деструкции – ЛДГ, который является активным ферментом в работе печени и почки. Так, плотность посадки рыб 14,4 кг/м<sup>3</sup> (УЗВ №1) привела к достоверному увеличению концентрации в крови аспаргиновой аминотрансферазы (АСТ) в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ), превышающую норму на 11%. Также наблюдалось увеличение АСТ у рыб группы УЗВ №2 в 2,4 раза, по сравнению с контрольными показателями, что выше нормы на 58%. Уровень

лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови рыб в опытной группе УЗВ №2 был увеличен в 4 раза ( $p < 0,05$ ) (что выше нормы на 37,8%), по сравнению с контрольными данными, при этом в контрольной группе показатель ЛДГ был ниже нормы на 37,7%.

Ранее установлено, что креатинин может повышаться при воздействии различных токсичных веществ [23]. По окончании эксперимента было зарегистрировано увеличение уровня креатинина в крови рыб с плотностью посадки 18,0 кг/м<sup>3</sup> (УЗВ №2), что в 2 раза превысило контрольные показатели и составило  $71,0 \pm 12,25$  мкмоль/л. Креатинин был повышен и у рыб с плотностью посадки 14,4 кг/м<sup>3</sup> (УЗВ №1) на 0,27% относительно нормы ( $22,1\text{--}66,19$  мкмоль/л). Используемый в качестве индикатора состояния почечной активности, креатинин был значительно увеличен из-за формирования патологической реакции организма рыб на соединения азота в водной среде, что привело к нарушению выделительной системы, увеличению содержания креатинина в крови и, как следствие, повреждению осморегуляторной функции [31].

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Обработка полученных результатов позволяет сделать вывод о наличии взаимосвязи 10 биохимических показателей крови с повышенными концентрациями ионов азотного ряда в водной среде. Показано достоверное увеличение в кровотоке рыб, содержащихся в группе с высокой плотностью посадки (УЗВ №2), ферментов АСТ на 58%, креатинина – на 7,32%, щелочной фосфатазы – на 64,1% и ЛДГ – на 37,8%. Это происходит в результате длительного содержания рыб в водной среде при повышенных концентрациях нитритов, количество которых в УЗВ №2 на 60 сут. эксперимента составляло  $0,16 \pm 0,05$  мг/л.

Регулирование плотности посадки товарных рыб является основополагающим параметром для успешного выращивания форели в холодноводной системе УЗВ. Весовые характеристики живой рыбы, при выращивании в УЗВ, определили оптимальные плотности 10,8 кг живой биомассы на 1 м<sup>3</sup>, что является безусловным оптимумом по гидрохимическим показателям водной среды и подтверждается биохимическим анализом сыворотки крови исследуемых рыб.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Вклад в работу авторов: Климук А.А. – идея работы, подготовка введения, заключения, статистический анализ данных, оформление графического материала; Головачева Н.А. – подготовка результатов и материалов и методов, окончательная проверка статьи; Царьков М.Д. – подготовка статьи к публикации, написание обсуждения; Семеряков Ю.В. – подготовка и анализ литературы*

ных источников; Шкель А.А. – обработка результатов исследования.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Contribution to the work of the authors: Klimuk A.A. – the idea of the work, preparation of the introduction, conclusion, statistical analysis of data, design of graphic material; Golovacheva N.A. – preparation of results and materials and methods, final verification of the article; Tsarkov M.D. – preparation of the article for publication, writing a discussion; Semeryakov Yu.V. – preparation and analysis literary sources; Shkel A.A. – processing of research results.

## ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Есавкин Ю.И., Панов В.П., Золотова А.В., Завьялов А.П. Рост радужной форели в зависимости от температуры воды и концентрации кислорода. Мат. межд. науч.-практ. конф. «Развитие аквакультуры в регионах: проблемы и возможности». 2011. с. 84-90
2. Жигин А.В., Максименкова А.А. Опыт форелеводства в замкнутых системах. Мат. межд. науч.-практ. конф. «Новейшие генетические технологии для аквакультуры». 2020. с. 185-193
3. Крюков В.И., Зарубин А.В. Рыбоводство. Садковое выращивание форели в Центральной России. – Орёл: Автограф. 2011. 32 с.
4. Лапирова Т.Б. Влияние нитрит-ионов на некоторые показатели крови плотвы (*Rutilus rutilus* L.) при краткосрочном воздействии // Вода: химия и экология. 2016. № 2. с. 83-87
5. Микодина Е.В., Шатуновский М.И. Физиолого-биохимические исследования функционального гомеостаза рыб // Вопросы иктиологии. 2013. Т. 53. № 1. С. 113-113
6. Мингазова М.С., Мирошникова Е.П., Кляквова Ю.В., Аринжанов А.Е. Биологическое действие кормовых добавок на организм карпа // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 3. С. 121-137.
7. Онищенко Г.Г. СанПин 2.1. 4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества // М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 2002
8. ПНД Ф 14.1:2:4.4-95 «Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации нитрат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с салициловой кислотой». – ИС «Техэксперт: 6 поколение» Интранет. 2017. 18 с.
9. ПНД Ф 14.1:2:43-95. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации нитрит-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с реактивом Грисса – Москва: 2004.
10. ПНД Ф. 14.1: 2: 4.112-97 //Методика измерений массовой концентрации фосфат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с молибдатом аммония. 2011.
11. РД 52.24.394-95 Методические указания. Определение ионов аммиака в водах с использованием ионоселективного электрода [Методические указания. Определение ионов аммиака в водах с использованием ионоселективного электрода]. ГХИ. Ростов-на-Дону. 1995. 9 с.
12. Тупикин В.Д., Полина Ю.В., Уврова И.А. [и др.]. Эффекты низкоинтенсивного электромагнитного излучения в структуре почек и надпочечников изолированно и при стрессе // Астраханский медицинский журнал. 2010. № 1. С. 282-285
13. Arillo A. et al. Biochemical and ultrastructural effects of nitrite in rainbow trout: Liver hypoxia as the root of the acute toxicity mechanism // Environmental Research. 1984. Т. 34. № 1. С. 135-154
14. Bodansky O. Methemoglobinemia and methemoglobin-producing compounds. Pharmacol. Rev. 1951. 3. Pp. 144-196
15. Cohen Y. Biofiltration—the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review // Bioresource technology. 2001. Т. 77. № 3. С. 257-274
16. Deborah T. Westin Nitrate and Nitrite Toxicity to Salmonoid Fishes, The Progressive Fish-Culturist, 1974. 36:2. Pp.86-89
17. Doblander C., Lackner R. Oxidation of nitrite to nitrate in isolated erythrocytes: a possible mechanism for adaptation to environmental nitrite. // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1997. 54. Pp. 157-161.
18. Dumas B. T., Bayse D. D., Carter R. J., Peters Jr T. & Schaffer R. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. // Clinical chemistry. 1981. 27(10). Pp. 1642-1650.
19. Golovacheva NA, Ponomarev AK, Nikiforov-Nikishin DL, Brezhnev LL. The experience of using a mineral chelate additive for growing juveniles of the African sharptooth catfish (*Clarias Gariepinus*) in a recirculating aquaculture system. Published in SciELO Brazil 29 Aug 2022. // Brazilian Journal of Biology. 2024. 84:e265119. doi: 10.1590/1519-6984.265119
20. González JD, Silva-Marrero JI, Metón I, Caballero-Solares A, Viegas I, Fernández F, Miñarro M, Fàbregas A, Ticó JR, Jones JG, Baanante IV. Chitosan-mediated shRNA knockdown of cytosolic alanine aminotransferase improves hepatic carbohydrate metabolism. // Marine Biotechnology. 2016. 18(1) Pp. 85-97. doi: 10.1007/s10126-015-9670-8
21. Imani M., Halimi M., Khara H. Effects of silver nanoparticles (AgNPs) on hematological parameters of rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss* // Comparative Clinical Pathology. 2015. Т. 24. Pp. 491-495
22. Jensen F.B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. // Comp. Biochem. Physiol. A. 2003. 135. Pp. 9-24
23. Kanu KC, Okoboshi AC, Otitolaju AA. Haematological and biochemical toxicity in freshwater fish *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* following pulse exposure to atrazine, mancozeb, chlorpyrifos, lambda-cyhalothrin, and their combination. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. // Toxicology & Pharmacology. 2023. 270. P. 109643. doi: 10.1016/j.cbpc.2023.109643
24. Kesbic OS, Acar U, Hassaan MS, Yilmaz S, Guerrera MC, Fazio F. Effects of tomato paste by-product extract on growth performance and blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). Animals (Basel). 2022. 12(23):3387. doi: 10.3390/ani12233387
25. Kroupova H. et al. Nitrite influence on fish: a review // Veterinarni medicina-praha. 2005. Т. 50. № 11. P. 461
26. Kroupova H., Machova J., Piacikova V., Blahova J., Dobsikova R., Novotny L., Svobodova Z. Effects of subchronic nitrite exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2008. 71(3). 0-820. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.01.015

27. Lewis Jr W.M., Morris D.P. Toxicity of nitrite to fish: a review // Transactions of the American fisheries society. 1986. T. 115. №. 2. Pp. 183-195
28. Lewis William M., Morris Donald P. Toxicity of Nitrite to Fish. // A Review. Transactions of the American Fisheries Society. 1986. 115(2). Pp. 183-195. doi:10.1577/1548-8659(1986)115<183:TONTF>2.0.CO;2
29. Liu WB, Wang MM, Dai LY, Dong AH, Yuan XD, Yuan XD, Yuan SL, Tang Y, Liu JH, Peng LY, Xiao YM. Enhanced immune response improves resistance to cadmium stress in triploid crucian carp. // Frontiers in Physiology. 2021. 12:666363. doi: 10.3389/fphys.2021.666363
30. Ma L, Kaneko G, Xie J, Wang G, Li Z, Tian J, Zhang K, Xia Y, Gong W, Li H, Yu E. Safety evaluation of four faba bean extracts used as dietary supplements in grass carp culture based on hematological indices, hepatopancreatic function and nutritional condition. Peer J. 2020. 8:e9516. doi: 10.7717/peerj.9516
31. Marshall W.S. et al. The physiology of fishes. 2005
32. Nabi N, Ahmed I, Wani GB. Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. // Saudi journal of biological sciences. 2022 29(4) Pp. 2942-2957. doi: 10.1016/j.sjbs.2022.01.019
33. Nabi N., Ahmed I., Wani G.B. Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells // Saudi Journal of Biological Sciences. 2022. T. 29. №. 4. Pp. 2942-2957
34. Neissi A, Rafiee G, Farahmand H, Rahimi S, Mijakovic I. Cold-Resistant Heterotrophic Ammonium and Nitrite-Removing Bacteria Improve Aquaculture Conditions of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). // Microb Ecol. 2020 Aug. 80(2) Pp. 266-277. doi: 10.1007/s00248-020-01498-6. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32162039; PMCID: PMC7371659
35. Reiner M. (ed.). Standard methods of clinical chemistry. // Elsevier. 2012. T. 1
36. Russell N. J. et al. Membranes as a target for stress adaptation // International journal of food microbiology. 1995. T. 28. №. 2. Pp. 255-261
37. Singh R, Wang Z, Marques C, Min R, Zhang B, Kumar S. Alanine aminotransferase detection using TIT assisted four tapered fiber structure-based LSPR sensor: From healthcare to marine life. // Biosensors and Bioelectronics. 2023. 236. 115424. doi: 10.1016/j.bios.2023.115424
38. Skonberg D.I. et al. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquaculture. 1997. T. 157. №. 1-2. Pp. 11-24
39. Taotao Z. et al. Nitrogen removal efficiency and microbial community analysis of ANAMMOX biofilter at ambient temperature // Water Science and Technology. 2015. T. 71. №. 5. Pp. 725-733
40. Tomasso J. R. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals // Reviews in Fisheries Science. 1994. T. 2. №. 4. Pp. 291-314
41. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor // Annals of clinical Biochemistry. 1969. T. 6. №. 1. C. 24-27
42. Ullah M, Yousafzai AM, Muhammad I, Ullah SA, Zahid M, Khan MI, Khan K, Khayyam, Nayab GE, Aschner M, Alsharif KF, Alzahrani KJ, Khan H. Effect of cypermethrin on blood hematology and biochemical parameters in fresh water fish *Ctenopharyngodon idella* (Grass Carp). // Cell and Molecular Biology. 2022. 68(10-10). Pp. 15-20. doi: 10.14715/cmb/2022.68.10.3
43. Westin D.T. Nitrate and nitrite toxicity to salmonoid fishes // The Progressive Fish-Culturist. 1974. T. 36. №. 2. C. 86-89

## LITERATURE AND SOURCES

1. Yesavkin Yu.I., Panov V.P., Zolotova A.V., Zavyalov A.P. (2011). Growth of rainbow trout depending on water temperature and oxygen concentration. Mat. international scientific and practical conference "Development of aquaculture in the regions: problems and opportunities". Pp. 84-90. (In Russ.)
2. Zhigin A.V., Maksimenkova A.A. (2020). The experience of trout farming in closed systems. Mat. international scientific practice. conf. "The latest genetic technologies for aquaculture". Pp. 185-193. (In Russ.)
3. Kryukov V.I., Zarubin A.V. (2011). Fish farming. Cage trout farming in Central Russia. – Orel: Autograph. 32 p. (In Russ.)
4. Lapirova T.B. (2016). The effect of nitrite ions on some blood parameters of roach (*Rutilus rutilus* L.) with short-term exposure // Water: chemistry and ecology. No. 2. Pp. 83-87. (In Russ.)
5. Mikodina E.V., Shatunovsky M.I. (2013). Physiological and biochemical studies of functional homeostasis of fish // Questions of ichthyology. Vol. 53. No. 1. Pp. 113-113. (In Russ.)
6. Mingazova M.S., Miroshnikova E.P., Kilyakova Yu.V., Arinzhanov A.E. Biological effect of feed additives on the body of carp // Animal husbandry and feed production. 2023. Vol. 106, No. 3. Pp. 121-137. (In Russ.)
7. Onishchenko G.G. (2002). SanPiN 2.1. 4.1074-01. Drinking water. Hygienic requirements for the water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control // Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Russian Federation. (In Russ.)
8. HDPE F 14.1:2:4.4-95 "Quantitative chemical analysis of waters. The method of measuring the mass concentration of nitrate ions in drinking, surface and wastewater by photometric method with salicylic acid". – IS "Techempert: 6th generation" Intranet. 2017. 18 p. (In Russ.)
9. MON F 14.1:2:43-95. Quantitative chemical analysis of waters. Method of measuring the mass concentration of nitrite ions in drinking, surface and wastewater by photometric method with Grissa reagent - Moscow: 2004. (In Russ.)
10. HDPE F. 14.1: 2: 4.112-97 //The method of measuring the mass concentration of phosphate ions in drinking, surface and wastewater by photometric method with ammonium molybdate. 2011. (In Russ.)
11. RD 52.24.394-95 Guidelines. Determination of ammonia ions in waters using an ion-selective electrode [Guidelines. Determination of ammonia ions in waters using an ion-selective electrode]. GHEE. Rostov-on-Don. 1995. 9 p. (In Russ.)
12. Tupikin V.D., Polina Yu.V., Uvrova I.A. [et al.]. Effects of low-intensity electromagnetic radiation in the structure of the kidneys and adrenal glands in isolation and under stress // Astrakhan Medical Journal. 2010. No. 1. Pp. 282-285. (In Russ.)

Материал поступил в редакцию / Received 12.02.2024  
Принят к публикации / Accepted for publication 02.04.2024